



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE PVOH/NCC REVESTIDOS COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÃO COMO EMBALAGENS
FLEXÍVEIS ATIVAS**

THIAGO PÉRICLES MARTINS FERREIRA

Orientadora: Profa. Dr^a. Amélia Severino Ferreira e Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Eliton Souto de Medeiros

JOÃO PESSOA –PB
2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE PVOH/NCC REVESTIDOS COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÃO COMO EMBALAGENS
FLEXÍVEIS ATIVAS**

THIAGO PÉRICLES MARTINS FERREIRA

Tese apresentada à banca examinadora
do Programa de Pós Graduação em
Engenharia de Materiais da
Universidade Federal da Paraíba,
como exigência para obtenção do
título de Doutor em Ciência e
Engenharia de Materiais

Orientadora: Profa. Dr^a. Amélia Severino Ferreira e Santos
Co-orientador: Prof. Dr. Eliton Souto de Medeiros

JOÃO PESSOA –PB
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383d Ferreira, Thiago Péricles Martins.

Desenvolvimento de filmes de PVOH/NCC revestidos com nanopartículas de prata para aplicação como embalagens flexíveis ativas / Thiago Péricles Martins Ferreira. - João Pessoa, 2021.

115 f. : il.

Orientação: Amélia Severino Ferreira e Santos.

Coorientação: Eliton Souto de Medeiros.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Embalagens ativas. 2. Nanopartículas de prata. 3. SBSp. 4. Reticulação. I. Santos, Amélia Severino Ferreira e. II. Medeiros, Eliton Souto de. III. Título.

UFPB/BC

CDU 621.798(043)

“O horizonte é sempre mais nobre e a estrada mais sublime, quando a oração permanece na alma em forma de confiança e de luz” (André Luiz).

Dedico este trabalho a minha família, meus filhos Klinsthyann Medeiros e Marina Ferreira, tudo o que faço, penso e desejo é para a felicidade de vocês. E para a minha eterna namorada, Rafaella Ferreira, que ao menor traço de fraqueza meu, qualquer ponta de desilusão, está sempre ao meu lado, dando apoio, amor e carinho. Te amo!

VITAE DO CANDIDATO

Engenharia de Alimentos, pela Universidade Federal da Paraíba - UFPB (2008)

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE PVOH/NCC REVESTIDOS COM
NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA APLICAÇÃO COMO EMBALAGENS
FLEXÍVEIS ATIVAS**

Por

Thiago Péricles Martins Ferreira

Tese julgada para obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de
Materiais** e aprovada em sua forma final pelo programa de Pós-Graduação em Ciência
e Engenharia de Materiais da Universidade Federal da Paraíba.

(Assinado digitalmente em 22/03/2021 18:37)
AMELIA SEVERINO FERREIRA E SANTOS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1753238

(Orientadora)

(Assinado digitalmente em 08/03/2021 09:45)
ELITON SOUTO DE MEDEIROS
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1717727

(Co-orientador)

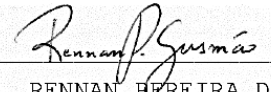
(Assinado digitalmente em 22/03/2021 15:54)
ITAMARA FARIAS LEITE
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
1855735

(Examinador interno do programa)

Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO - UFPB/PPCEM
(Examinador externo ao Programa)



Prof. Dr. MAURICIO PINHEIRO DE OLIVEIRA
(Examinador externo à Instituição)



Prof. Dr. RENNAN PEREIRA DE GUSMAO
(Examinador externo à Instituição)



THIAGO PERICLES MARTINS FERREIRA
(Discente)

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus e a Jesus, por me dar a capacidade e fé para sonhar e trilhar o caminho com serenidade, paz, resiliência e sabedoria atrás desse sonho.

A minha avó Ana Maria, minha Mãe Maria Goreti, minhas tias Maria Cristina e Isabel Sheila, meu tio Francisco Pércles, meus primos Vinicius Falcão, Victoria Steveson, Bruno Ferreira, Rafaela Ferreira, Pedro Steveson, Karolina Ferreira e Breno Ferreira que sempre me deram apoio, inspiração, admiração e suporte para realização desse trabalho.

A minha família, Rafaella Ferreira, minha esposa, Klinsthyann Medeiros e Marina Ferreira, meus filhos, por acreditar que sou capaz de modificar nossas vidas, por ter paciência nos momentos difíceis, por todo carinho e amor por mim.

Aos amigos Marcos Antônio, prof. Jose Marques (Zé marques), Sebastião, Florzinha, Danielle Atanásio, Ubirajara que sempre tiveram uma palavra de apoio, uma inspiração durante esta trajetória.

Aos amigos Fagner Ferraz, Renata Ferraz e Rômulo Jorge, que sempre acreditaram no meu potencial e sempre com palavras de sabedoria, não deixavam a sombra da desistência tomar lugar dos raios da esperança.

Aos professores Doutores Amélia Severino e Eliton de Medeiros, que me abraçaram no início dessa trajetória no meu mestrado, e vem sempre me desafiando, me despertando, para me tornar um excepcional profissional na minha área.

Aos amigos que a ciência me agraciou, Eudes Leonan, Neymara Nepomuceno, Rebeca Tibau, Adillys Marcelo, Ítalo Souza, Lucas Ricardo, Carolina de Almeida, Ana Amélia, Raquel Cardoso, Rogerson Ramos, Kaline Nascimento, enfim a todos que de uma forma ou de outra colaboraram com não só a elaboração deste trabalho como também a minha jornada acadêmica.

Ao grande Vascão que sempre descontraíu os momentos de tensão e proporcionou aquelas risadas e brincadeiras importantes nessa caminhada.

Aos amigos do LABIAL – UFPB, na figura do prof. Fábio Sampaio e Alexandre Junior, por toda presteza e esclarecimentos na parte da microbiologia realizada neste trabalho.

A Luciana Galvão, pesquisadora do IPT-SP, pelas caracterizações realizadas.

Ao meu amigo de pesquisa, Eliandro Teles, que nos momentos mais complicados na realização desse trabalho, demonstrou uma capacidade de ver o lado positivo e uma grande presteza nas realizações das diferentes tarefas executadas na realização deste trabalho.

Ao meu amigo, irmão, Igor Fernandes, o pera, por todo o alto astral, pelas palavras de confiança, por todas as perturbações, por estar junto e torcendo para que todo no final desse certo, grande abraço amigo.

Obrigado a todos os professores que me ajudaram a compreender e consolidar os conhecimentos adquiridos neste doutorado.

A CAPES e ao CNPQ por financiar os experimentos e fornecer a bolsa de estudos a qual fui contemplado.

Bem a todos que com alguma parcela de contribuição estiveram presentes em minha vida neste momento, trazendo uma palavra amiga, um sorriso sincero, um olhar generoso, enfim, uma boa energia para a minha caminha, a todos vocês meu sincero agradecimento e muita paz para todos nós.

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AC – Ácido cítrico

Ag⁺ - íon de prata

AgNPs – Nanopartículas de prata

AgPer – Nanopartículas de prata obtidas por extrato de pereiro

AgUmb – Nanopartículas de prata obtidas por extrato de umbaúba

ALG – Algodão do mangue

CIM - concentração inibitória mínima

DLS – Espalhamento dinâmico de luz

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DSC – Calorimetria exploratória diferencial

EDS – Espectroscopia de energia dispersiva

FTIR - Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

GL - Glicerol

ICP/AES - Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente

JUR – Jurema Preta

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

NCC - Nanocristais de celulose

PER – Pereiro

PVOH – Poli (álcool vinílico).

SBS – *Solution blow spinning* (fiação por sopro em solução)

SBSp – *Solution blow spraying* (pulverização por sopro em solução)

UMB – Umbaúba

UV-Vis - Espectroscopia no ultravioleta visível

WVTR - Taxa de transmissão de vapor de água

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Unidade de repetição do PVOH (100% de hidrólise) (ASLAM et al., 2018).	21
Figura 2 - Fórmula estrutural do ácido cítrico (SABZI et al., 2020).....	22
Figura 3 - Esquema de possíveis mecanismos de reticulação. A) Reticulação química com o agente reticulante incorporado na ligação. B) Reticulação química com o agente reticulante não incorporado na ligação (FABRA et al., 2016).....	23
Figura 4 - Estrutura molecular do glicerol (UCPINAR; AYTAC, 2019)	24
Figura 5-Unidade de repetição da celulose (FERRER; PAL; HUBBE, 2017)	27
Figura 6- Representação esquemática da atividade antimicrobiana da prata (HAJIPOUR et al, 2012).....	30
Figura 7-Possível mecanismo de ação dos flavonoides para redução de AgNO ₃ em Ag ⁰ (SAXENA et al., 2012).	32
Figura 8-Possível mecanismo de redução de prata (JAIN; MEHATA, 2017).	32
Figura 9 - Fluxograma das atividades realizada	47
Figura 10- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de Pereiro, usando uma placa de aquecimento.....	50
Figura 11- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de Jurema preta, usando uma placa de aquecimento	50
Figura 12- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de umbaúba, usando uma placa de aquecimento	51
Figura 13- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de algodão praieiro, usando uma placa de aquecimento	52
Figura 14-Placas de culturas utilizadas no ensaio	61
Figura 15-Microplacas utilizadas para realização da fluorescência	62
Figura 16-Espectros de UV-vis das AgNPs sintetizadas através dos extratos estudados: a) AgNPs (Pereiro), b) AgNPs (Umbaúba), c) AgNPs (Jurema) e d) AgNPs (Algodão)	64
Figura 17-Diâmetros médios das AgNPs obtidas por extrato de: a) Pereiro, b) Umbaúba, c) Jurema-preta e d) Algodão do mangue	66
Figura 18-Espectro de FTIR das AgNPs sintetizadas por extratos de: a) Pereiro, b) Umbaúba, c) Jurema-preta e d) Algodão do mangue.....	67
Figura 19-Ensaio de CIM das AgNPs produzidas.....	71

Figura 20 - Fotografias dos filmes produzidos de acordo com as formulações propostas e com 95 mm de diâmetro: a) formulação A; b) formulação B; c) formulação C; d) formulação D; e) formulação E; f) formulação F; g) formulação G; h) formulação H; i) formulação I; j) formulação J; k) formulação K.....	72
Figura 21- Valores da resistência à tração dos filmes produzidos	74
Figura 22- Valores de alongamento na ruptura dos filmes produzidos.....	74
Figura 23-Valores do módulo de elasticidade dos filmes produzidos.....	75
Figura 24-Valores da resistência a tração dos filmes produzidos	77
Figura 25-Valores de alongamento na ruptura dos filmes produzidos.....	78
Figura 26-Valores do módulo de elasticidade dos filmes produzidos.....	78
Figura 27-Imagens em 2D e 3D por perfilometria das amostras: a) PVOH, b) PVOH/GL2,5/AC, c) PVOH/NCC/GL2,5/AC, d) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer*.	81
Figura 28-Imagens em 2D e 3D por perfilometria das amostras: e) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer**, f) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb*, g) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb**	82
Figura 29- Micrografia de MEV da superfície das amostras: a) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer*), b) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer**), c) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb*) e d) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb**).	83
Figura 30- Mapeamento da prata (pontos brancos) na superfície nas amostras por EDS: a) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer*), b) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer**), c) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb*) e d) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb**).	84
Figura 31-Valores médios do ângulo de contato dos filmes produzidos.....	86
Figura 32 - Gráfico da permeabilidade ao vapor de água.....	88
Figura 33 - Valores dos nº de biofilmes aderidos nas amostras	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Formulações dos filmes para testes	55
Tabela 2-Formulações dos filmes reticulado e plastificado sem e com adição das AgNPs.	58
Tabela 3-Valores de CIM das AgNPs contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 19095 ...	70
Tabela 4 - Valores de CIM das AgNPs contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	70
Tabela 5 - Dados do ensaio de resistência à tração (para 5 corpos de prova)	73
Tabela 6 - Dados do ensaio de resistência à tração dos filmes da formulação proposta sem e com diferentes tipos de AgNPs e com o processo de incorporação das AgNPs por dois métodos distintos.	77
Tabela 7 - Teor de prata nos revestimentos	85
Tabela 8 - Valores do ângulo de contato para os filmes produzidos	86
Tabela 9 - Valores de WVTR das amostras produzidas	88
Tabela 10 - Média dos resultados obtidos pelo teste (em valores percentuais relativos)	90

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizadas nanopartículas de prata (AgNPs) biogênica, a partir de quatro tipos de extratos de plantas oriundas dos biomas caatinga e mata atlântica brasileira e caracterizadas com relação ao tamanho das partículas e propriedades antimicrobianas. Os resultados de espalhamento dinâmico de luz (DLS) mostraram que as AgNPs tiveram os seguintes tamanhos médios de AgNPs de acordo com o extrato utilizado: pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) – 10 nm, umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.) – 16 nm, algodão do mangue (*Hibiscus pernambucensis* Arruda) – 20 nm e jurema preta (*Mimosa hostilis* Poir) – 25 nm. Os testes de concentração inibitória mínima (CIM) demonstraram que as AgNPs sintetizadas possuem propriedades antimicrobianas para *E. coli* e *S. aureus* em sua concentração inicial e ao diluí-las em 50%, só as oriundas de pereiro e umbaúba mantiveram sua atividade antimicrobiana. Paralelamente, foram desenvolvidos filmes de PVOH contendo 3 % (m/m) de NCC, reticulados com ácido cítrico (AC) e plastificados com glicerol (GL) e avaliadas suas propriedades mecânicas e físicas. A partir da formulação de PVOH/NCC/AC/GL (67/3/27,5/2,5) que obteve simultaneamente melhores propriedades visuais, de flexibilidade e resistência mecânica foi avaliado o caráter antimicrobiano do filme com a incorporação das AgNPs obtidas do extrato do pereiro e da umbaúba direto na solução polimérica ou aspergidas por *solution blow spraying* (SBSp) sobre o filme ainda em fase de evaporação do solvente. Já para o comportamento bactericida, filmes com AgNP aspergida por SBSp obtiveram o mesmo caráter antimicrobiano que aqueles preparados por solução, mesmo contendo um teor de prata mais baixo, conforme determinado por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES). Logo, a técnica de SBSp mostrou-se mais eficaz para produzir filmes antimicrobianos com teores reduzidos de AgNPs na sua composição.

Palavras-chaves: *nanopartículas de prata, embalagens ativas, SBSp, reticulação*

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	8
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS	13
RESUMO.....	14
SUMÁRIO	15
1-INTRODUÇÃO	12
2 – ASPECTOS TEÓRICOS	15
2.2 – Nanotecnologia aplicada em embalagens de alimentos.	17
2.3.1 – Poli(álcool vinílico) (PVOH).....	20
2.5 – Embalagens antimicrobianas.....	25
2.6 – Nanomaterias estudados.....	26
2.6.2 – Nanopartículas de prata: características e formas de obtenção.	28
2.7 – Biomas da Caatinga e Mata Atlântica: plantas estudadas	33
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	38
4. OBJETIVOS	45
Objetivos específicos	45
5. MATERIAIS E MÉTODOS	47
As etapas de produção e caracterização dos trabalhos realizados estão descritas no fluxograma da Figura 9.....	47
5.1 Materiais	48
5.2 - Síntese e caracterização de nanopartículas de prata biogênica (AgNPs)	48
5.2.1 – Produção dos extratos.....	48
5.3 - Preparação e caracterização dos filmes de PVOH/NCC reticulados.....	54
5.3.2 - Preparação da solução de PVOH	54
5.3.3 – Formulações de PVOH/NCC/Ácido cítrico/Glicerol.....	55
5.3.4 – Produção filme reticulado e plastificado com adição das AgNPs.....	57
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	64
6.1 Síntese e caracterização de nanopartículas de prata biogênica (AgNPs)	64
6.1.1 - Espectroscopia no ultravioleta visível (UV-vis)	64
6.1.2 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	65

6.1.3- Análise dos extratos pós síntese das AgNPs por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	67
6.1.4 – Determinação da Concentração inibitória mínima (CIM).....	70
6.2 – Definição do teor de glicerol na formulação de PVOH/NCC/Ácido cítrico/Glicerol.....	71
6.2.1 – Avaliação Visual dos filmes obtidos	71
6.2.2 – Resistência à tração	73
6.3 – Caracterização dos filmes de PVOH/NCC/AC/GL^{2.5}/AgNPs.....	76
6.3.1 – Resistência à tração	76
6.3.2 - Análise Rugosimétrica (Sa e Sz).....	80
6.3.3 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS)	83
6.3.4 - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES)	85
6.3.5 – Determinação do ângulo de contato	86
6.3.7 - Taxa de transmissão de vapor de água (WVTR)	88
6.3.8 - Análise de formação de biofilme por fluorescência	90
7 – CONCLUSÕES.....	93
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	95

1-INTRODUÇÃO

A produção de embalagens caracteriza-se pela sua diversidade interna e cada um dos seus setores afeta individualmente a situação do mercado. Os requisitos para embalagens e artigos destinados a entrar em contato direto com os alimentos estão crescendo sistematicamente. Devido ao crescente interesse dos consumidores no consumo de produtos in natura com vida útil estendida e qualidade controlada, os fabricantes têm que disponibilizar embalagens modernas e seguras. É um desafio para a indústria de embalagens de alimentos e também atua como uma força motriz para o desenvolvimento de novos e aprimorados conceitos de tecnologia de embalagem. Portanto, os produtores de embalagens estão buscando soluções que permitam melhorar as propriedades dos materiais de embalagem, como barreira adequada a gases, proteção UV, prolongamento do período de armazenamento, transparência e desempenho ambiental(WYRWA; BARSKA, 2017)

Tais embalagens são conhecidas como embalagens ativas, pois, além de atuarem como uma barreira a agentes externos, apresentam alguma outra função desejável como, por exemplo, aumentar a vida de prateleira ou corrigir deficiências presentes na embalagem convencional. No Brasil, o desenvolvimento destas embalagens ainda é pequeno, faltando até uma legislação para a sua regulação, a qual orienta seguir as orientações da Food and Drug Administration (FDA) e órgãos europeus.

O desenvolvimento de embalagens com polímeros derivados de fontes renováveis e/ou biodegradáveis tem sido almejado para minimizar os impactos ambientais desses produtos desde sua síntese até seu descarte. Esse conceito somado a uma propriedade funcional, seja propriedade de barreira a gases ou antimicrobiana, por exemplo, pode ainda garantir a integridade e aumentar o tempo de prateleira do alimento, além de reduzir a ingestão de conservantes na dieta diária da população. Por sua abundância, caráter renovável, baixa dureza e baixa densidade, materiais baseados em celulose têm sido amplamente explorados.

Dentre inúmeros polímeros biocompatíveis e recicláveis pode-se citar o poli(álcool vinílico) (PVOH). Este biopolímero possui excelentes propriedades de formação de filme e não causa efeito toxicológico no corpo humano, pois é

biocompatível. Filmes feitos deste material possuem boa estabilidade química em solventes apolares e são biodegradáveis (ASLAM; KALYAR; RAZA, 2018).

O poli(álcool vinílico) (PVOH) é um polímero sintético, biodegradável, hidrofílico, não tóxico e resistente à maioria dos compostos (hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, óleos, cetonas e ésteres) e solventes orgânicos (ASLAM; KALYAR; RAZA, 2018). Ele contém um grande número de grupos hidroxila (dependendo do seu grau de hidrólise) e tem tendência a absorver a água rapidamente. As características de solubilidade em água dos polímeros, sobretudo os naturais, limitam seus usos. A reticulação então vem como ferramenta para contornar esse problema. Agentes reticulantes são moléculas de massa molar menor que as moléculas da cadeia principal do polímero e que possuem ou não grupos funcionais ativos, responsáveis pela formação de ligações cruzadas entre as moléculas do polímero, formando uma rede tridimensional estável. A formação dessa rede modifica as propriedades do material reticulado, dependendo da densidade das ligações cruzadas e da relação de *mols* do agente reticulante e dos grupos funcionais do polímero.

Nanocristais de celulose, também reportados na literatura como *whiskers*, nanofibras, cristalitos ou cristais de celulose, são domínios cristalinos de fontes celulósicas isoladas por meio de hidrólise ácida, assim chamados devido a suas características físicas de rigidez, de espessura e de comprimento (LIMA e BORSALI, 2004). Os NCCs são constituídos de domínios cristalinos de celulose que apresentam diferentes e interessantes propriedades mecânicas, óticas e térmicas, quando comparados com as estruturas celulósicas de maior dimensão.

No caso de embalagens flexíveis várias aplicações exigem insolubilidade em água e por isso, muito importante reticulá-lo para ampliar suas aplicações. O ácido cítrico (AC) apresenta grupos funcionais carboxilas e hidroxilas, sendo o principal ácido existente nas frutas cítricas. É um ácido orgânico que pode ser utilizado como agente reticulante durante o processamento de materiais, abrindo novas possibilidades para a utilização de materiais originalmente sensíveis à água (SILVA, 2016).

Porém, a utilização de ácido cítrico como agente reticulante diminui o alongamento de ruptura, tornando o material menos dúctil (BIRCK *et al* 2014.; SONKER *et al.*, 2016). Para minimizar tal efeito causado pelo ácido cítrico, optou-se por utilizar o glicerol (GL), como agente plastificante. Os plastificantes são substâncias empregadas

com o objetivo de aumentar a flexibilidade de polímeros e consequentemente, melhorar sua processabilidade e propriedades mecânicas.

Por último, visando agregar propriedades antimicrobianas ao filme a ser utilizado como embalagem flexível, optou-se entre as várias nanopartículas de metais nobres pelas nanopartículas de prata (AgNPs) devido às suas propriedades distintas, que incluem, estabilidade química, atividade catalítica e antibacteriana. Geralmente, as nanopartículas são preparadas por uma variedade de métodos químicos e físicos que são bastante caros e não sustentáveis, pois envolvem o uso de produtos químicos tóxicos e perigosos que são responsáveis por vários riscos biológicos. O desenvolvimento de processos experimentais de inspiração biológica para a síntese de nanopartículas é um importante ramo da nanotecnologia e dentre eles destaca-se a síntese verde de AgNPs, a qual é realizada usando plantas, microorganismos e outros biopolímeros (CHUNG *et al.*, 2016). Especificamente, o uso de plantas para a síntese de nanopartículas oferece uma ampla gama de benefícios sobre outros métodos de síntese biológica, pois não requer a manutenção de culturas de células e incorpora suporte para a síntese em larga escala de nanopartículas. Além disso, pode fornecer agentes naturais capazes de estabilizar a suspensão coloidal de nanopartículas de prata (AHMED *et al.*, 2015).

Desta forma, foi proposto nesse trabalho estudar as propriedades mecânicas, morfológicas, de barreira ao vapor de água e antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus* dos filmes, preparados por *casting*, de PVOH/NCC reticulados com AC e plastificados com GL, contendo AgNPs incorporadas diretamente na solução polimérica ou aspergidas por SBSp sobre o filme ainda em fase de evaporação do solvente. Estas AgNPs foram obtidas por meio da síntese biológica utilizando extratos de plantas oriundas dos biomas caatinga e mata atlântica brasileira, avaliando o poder redutor dessas espécies.

2 – ASPECTOS TEÓRICOS

2.1 – Embalagens de alimentos: importância e evolução

Na sociedade de hoje, a embalagem tem o uso generalizado e essencial. Ela envolve, reforça, protege, reduz o desperdício, mantém a qualidade e segurança dos alimentos, desde o processamento à fabricação, através da manipulação e armazenamento para o consumidor final. Sem embalagem, o manuseio de alimentos seria um exercício confuso, ineficiente e caro, como também o marketing moderno de consumo seria praticamente impossível (BRADLEY *et al* 2011;HAN *et al.*2018).

Embalagem para alimentos, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é o invólucro, recipiente ou qualquer forma de acondicionamento, removível ou não, destinada a cobrir, empacotar, envasar, proteger ou manter, especificamente ou não, matérias-primas, produtos semielaborados ou produtos acabados. Incluído dentro do conceito de embalagem se encontram as embalagens primárias, secundárias e terciárias (ANVISA - 2008).

As condições para as embalagens com a finalidade de entrar em contato com os alimentos estão modificando sistematicamente. Há um grande clamor do mercado consumidor por alimentos mais próximos ao natural e com sua vida de prateleira e qualidade ampliada, desta forma, a indústria de embalagens tem um desafio de desenvolver embalagens seguras e modernas e ao mesmo tempo que não agredam a natureza. É um desafio para a indústria e também atua como uma força motriz no desenvolvimento de novas tecnologias e novos e aprimorados conceitos na tecnologia de embalagens.(BARSKA e WYRWA 2017).

São encontrados registros do uso de embalagens com a finalidade de proteção de alimentos desde o século XVIII. Com a chegada do século XX, surgiram os avanços na tecnologia e o uso de tecnologia para as embalagens também foi aprimorada e utilizada nos dias atuais (HAN *et al.*2018). Essas inovações melhoraram ainda mais a qualidade dos alimentos, a segurança dos alimentos e o prazo de validade.

As inovações nas embalagens começaram mais cedo na forma de maquinaria de embalagem acionada eletricamente, latas metálicas, embalagens assépticas, embalagens flexíveis, folhas de alumínio e impressão flexográfica. Além disso, a introdução de vários

materiais, por exemplo, polímeros de poliéster, polipropileno e poli (cloreto de vinila) levaram a drástica evacuação de embalagens de metal, papelão e vidro para embalagens plásticas e flexíveis. Além disso, no século XX, mais avanços na tecnologia de embalagens apareceram como embalagens inteligentes e embalagens ativas (eliminadores de oxigênio, agentes antimicrobianos, controladores de respiração e absorvedores de ar/odor). As mudanças emergentes na indústria de embalagens fortaleceram a economia melhorando a segurança alimentar, a qualidade e minimizando as perdas de produtos. Uma vez que estas ideias mais recentes de embalagens ativas, inteligentes e bioativas tiveram um impacto maior na comercialização de alimentos, o seu modo de ação e adequação para aplicações alimentares(MAJID *et al.*2018)

Estudos recentes sobre o impacto do ciclo de vida de vários materiais de embalagem aumentaram a conscientização e disponibilizaram informações úteis que podem representar a base para escolhas ambientalmente sustentáveis. Segundo PEELMAN *et al.* (2013), a sustentabilidade da embalagem de alimentos pode ser alcançada em três níveis:

- 1) das matérias-primas: o uso de materiais reciclados e de recursos renováveis são duas estratégias para reduzir a emissão de CO₂ e recursos fósseis;
- 2) da produção, através de processos mais eficientes em termos energéticos;
- 3) no gerenciamento de resíduos, considerando reutilização, reciclagem e biodegradação.

Nesse sentido, muito esforço tem sido dedicado a diminuir os impactos da embalagem, pelo desenvolvimento de novos materiais de base biológica e pela otimização do uso de embalagens e melhoria do desempenho de materiais que, por sua vez, permite mudanças para embalagens mais leves e finas. Por outro lado, as inovações de embalagem foram desenvolvidas, com o objetivo de aumentar a qualidade do produto embalado, prolongando a vida útil e, finalmente, reduzindo a possibilidade de os alimentos se transformarem em resíduos (LICCIARDELLO 2017).

Estudos para a utilização de materiais poliméricos biodegradáveis vêm crescendo a cada ano, tendo em vista a vasta disponibilidade do mesmo e as questões ambientais, mas um fator limitante no seu uso é que, os polímeros obtidos por fontes naturais possuem em sua maioria baixa propriedade mecânica em comparação aos polímeros obtidos de fontes de petróleo. Assim uma possibilidade de sanar essas deficiências é a pesquisa de

nanocompósitos com o uso de nanopartículas de reforço, ou nanocargas, que sejam também de fontes renováveis, como também nanopartículas incorporadas a este nanocompósito com a finalidade de ampliar certas características dessas nanopartículas, por exemplo, características antimicrobianas.(MATERIAIS *et al.* 2014)

A nanotecnologia está sendo considerada uma ferramenta importante para a melhoria de materiais avançados. O mercado europeu de nanomateriais gerou mais de US\$ 2,5 milhões em 2015 e espera-se que alcance cerca de US\$ 9 milhões em receitas até 2022 (PRIMOŽIČ *et al.*, 2021). A nanotecnologia universal associada às embalagens de alimentos foi de US \$ 4,13 bilhões em 2008, o que é previsível, para cerca de 12% da taxa de aumento anual. Por meio dessa tendência global, é previsível que a nanotecnologia ofereça o principal impulso no progresso de novos sistemas de aplicações de embalagens para satisfazer os requisitos do mercado consumidor (YOUSSEF e EL-SAYED 2018).

2.2 – Nanotecnologia aplicada em embalagens de alimentos.

Seguindo a tendência mundial, a nanotecnologia oferece o principal impulso de novas tecnologias aplicadas às embalagens para atender as demandas do mercado consumidor.

A nanotecnologia tem-se comprovado como a mais promissora estratégia de inovação tecnológica no setor, tendo em vista, as recentes melhorias nas embalagens de alimentos, com a melhoria de propriedades mecânicas e de barreiras, o desenvolvimento das embalagens ativas e inteligentes, por exemplo, as com indicação de patógenos, as antimicrobianas, onde os aspectos de qualidade e segurança dos alimentos são assegurados (MAJID *et al.*, 2018).

Atualmente, muitos produtos nanotecnológicos estão em desenvolvimento no mundo e já existem diversos deles sendo comercializados no mercado. Sabe-se que a maior parte dos investimentos nessa área vem de países desenvolvidos. O Brasil tem realizado bons investimentos na área de nanotecnologia e espera-se nos próximos anos muitas inovações para o mercado nacional (PEREIRA *et al.*, 2020). Os materiais manipulados em escala nanométrica geram as chamadas “nanopartículas e nanoestruturas” com diferentes tamanhos, formas e estruturas. Além do tamanho, as propriedades fundamentais de nanoestruturas e nanopartículas dependem também da sua

composição, morfologia, ou seja, anisotropia dimensional, estrutura, cristalinidade, razão de aspecto e fase do nanomaterial (THAKKAR *et al.*, 2009, JIN *et al.*, 2010, SAU *et al.*, 2012).

O uso de nanocompósitos nas embalagens de alimentos vem ocupando lugar de destaque no mercado internacional e muitas novidades neste campo serão lançadas em breve.

Vários nanocompósitos poliméricos foram explorados para criar o material ideal para embalagens de alimentos. Nanolamelas de argila e silicato, nanopartículas de SiO₂, grafeno, nanocristais de amido e nanofibras à base de celulose têm sido usadas como nanocargas para melhorar as propriedades da barreira do polímero (TRIPATHI *et al.*, 2018)

2.3- Biopolímeros e embalagens de alimentos

A utilização de plásticos, vidro e metais em aplicações de embalagem como materiais não biodegradáveis e não renováveis aumentou a preocupação em relação à contaminação ambiental e, portanto, exige-se uma gestão segura desses resíduos. As abordagens ultrapassadas para tratamento de resíduos pós-consumo de plástico consistem em queima e aterro, o que representa um risco à nossa saúde e ao meio ambiente. (BRATOV *et al.*, 2015) Portanto, existe uma demanda do consumidor por produtos que sejam ecologicamente corretos, seguros e não tóxicos. Por outro lado, as limitações dos recursos de petróleo fóssil obrigaram a economia a se concentrar em recursos alternativos de origem florestal e agrícola, ou até mesmo sintéticos, mas com uma fácil degradação.

Transparência, flexibilidade, resistência mecânica e estabilidade dimensional também são outros requisitos almejados em embalagens de alimentos. Atendendo a esses requisitos, existem os polímeros sintéticos, tais como: poli(cloreto de vinilideno) (PVDF), poli[etileno-co-(álcool vinílico)] (EVOH) e náilon (YANG *et al.*, 2011). No entanto, esses polímeros não são biodegradáveis e quando descartados no final de sua vida útil, acumulam-se nos aterros sanitários, uma vez que os índices de reciclagem dos mesmos são relativamente baixos. Além disso, se incinerados suas emissões de carbono não são neutras.

O desperdício de plástico, especialmente as embalagens clássicas de alimentos, está impondo rapidamente um sério problema ambiental em todo o mundo. Este comportamento pode ser exemplificado com um consumo de, em média, um milhão de garrafas plásticas são compradas por minuto e 4 – 12 milhões de toneladas de resíduo plástico indo para os oceanos (SCIENCE, 2020). Recentemente, há um interesse maior no uso de materiais de embalagem sustentáveis, pois geralmente são funcionais e mais ecológicos. Isso resulta no aumento de sua participação no volume geral de embalagens plásticas. Diferentes preocupações, especialmente ambientais, levaram a um aumento da demanda pelo uso de materiais de fontes renováveis e biodegradáveis para aplicações em embalagens (KUMAR *et al.*, 2011; TRACHE *et al.*, 2017).

.O desenvolvimento de embalagens plásticas derivados de fontes renováveis, biodegradáveis ou não, tem sido almejado para minimizar os impactos ambientais desses produtos desde sua síntese até seu descarte. Especificamente, no caso de embalagens ativas há ainda a possibilidade de aumentar o tempo de prateleira do produto com a incorporação de agentes antimicrobianos na embalagem. Se a matriz polimérica da embalagem tiver alta barreira ao oxigênio e ao vapor de água, por exemplo, a integridade e o tempo de prateleira dos alimentos podem aumentar ainda mais.

O surgimento de novas tecnologias levou ao desenvolvimento de biopolímeros sintéticos que incluem poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(álcool vinílico) (PVOH) e poli(succinato de butileno) (PBS) (RHIM *et al.*, 2013). As propriedades dos biopolímeros são bastante aprimoradas com a incorporação de reforços nanométricos, como durabilidade, flexibilidade, alto brilho e resistência à tração, por exemplo. A incorporação de nanopartículas como dióxido de titânio, óxido de zinco, silicato, argila, nanocelulose, nanopartículas de prata etc. aos biopolímeros não apenas melhora as propriedades mecânicas e de barreira, mas também apresenta outras funções, como atividade antimicrobiana, biodetecção e propriedades de absorção de oxigênio (YOUSSEF e EL-SAYED, 2018). Na escala nanométrica, o tamanho do material de enchimento é reduzido de tal forma que aumenta a área da superfície, resultando em uma grande área interfacial entre o biopolímero e a nanocarga (SARWAR *et al.*, 2018).

Assim uma alternativa que atende a esses requisitos são os filmes e revestimentos à base de celulose/PVOH com incorporação de agentes antimicrobianos como as nanopartículas de prata biogênica (AgNPs). A celulose, como matriz polimérica, é um polímero natural abundante na natureza e que possui excelente propriedades de barreira

em alguns casos, devido à presença de ligações de hidrogênio em sua estrutura (YANG *et al.*, 2011; MINELLI *et al.*, 2010; VARTIAINEN *et al.*, 2016). Entretanto, suas propriedades de barreira são dependentes das condições de umidade atmosférica, pois as moléculas de água penetram entre as cadeias de celulose e tendem a inchar sua estrutura, reduzindo suas propriedades de barreira (VARTIAINEN *et al.*, 2016).

Nesse contexto, os nanocristais de celulose (NCC), constituídos a partir de domínios cristalinos de celulose (PEREIRA *et al.*, 2014), são uma alternativa viável, pois possuem alta cristalinidade, o que reduz o efeito plastificante da água na estrutura da celulose, e são capazes de formar filmes transparentes por *casting* a partir da evaporação de água. Além disso, eles possuem alta razão de aspecto, baixa densidade, baixo coeficiente de expansão térmica, natureza não-abrasiva, rigidez (150 GPa) equivalente à fibra de kevlar e resistência à tração (7,5 GPa) duas vezes maior que dessa fibra (DUFRESNE, 2012; DURAN *et al.*, 2011; HABIBI *et al.*, 2010; MOON *et al.*, 2011).

2.3.1 – Poli(álcool vinílico) (PVOH)

A unidade de repetição do PVOH é mostrada na Fig. 1. Foi sintetizado pela primeira vez em 1924 por Hermann e Haehnel por saponificação de poli(acetato de vinila) com solução de hidróxido de sódio, resultando em uma solução de PVOH. Os atributos físico-químicos e mecânicos do PVOH são governados pelo número de grupos hidroxila presentes no PVOH. Para a produção comercial de PVOH, a matéria-prima básica para a obtenção do PVOH é o poli(acetato de vinila). A hidrólise alcalina parcial controlada (saponificação) do poli(acetato de vinila) é realizada onde o grupo éster do acetato de vinila é parcialmente substituído pelo grupo hidroxila em um meio de hidróxido de sódio aquoso. O precipitado dessa reação é chamado PVOH (ASLAM *et al.*, 2018).

O poli(álcool vinílico) (PVOH) é um polímero sintético linear e semicristalino, insípido, inodoro, atóxico, biocompatível, termoestável, possui transparência, grande resistência dielétrica e excelente capacidade de armazenamento de carga (SAINI *et al.*, 2017). Seus atributos mecânicos, ópticos e elétricos podem ser facilmente adaptados por dopagem com nano enchimentos. O PVOH está disponível no mercado em diferentes grades com base na viscosidade e grau de hidrólise. Os principais produtores de PVOH são Europa, Japão, EUA e China. A unidade de repetição do PVOH é mostrada na figura 1.

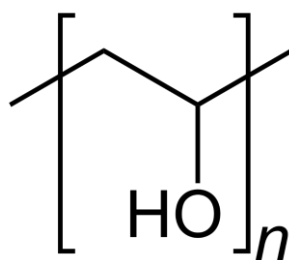


Figura 1-Unidade de repetição do PVOH (100% de hidrólise) (ASLAM *et al.*, 2018).

2.4 – Agentes reticulantes e plastificantes

As características de solubilidade em água dos polímeros, sobretudo os naturais, limitam seus usos, como também, a baixa estabilidade dos filmes de PVOH em meio aquoso diminuem suas propriedades de barreira. A reticulação então vem como ferramenta para contornar esses problemas. As formulações de filme envolvem, frequentemente, a presença de pelo menos um agente formador de filme (macromolécula), solvente (água, etanol, outros) e substâncias que mudam as propriedades dos filmes como agentes plastificantes e reticulantes (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

2.4.1 – Agentes reticulantes: o ácido cítrico

Os agentes reticulantes interconectam moléculas, aumentam a massa molar e geralmente fornecem uma melhora nas propriedades mecânicas e na estabilidade dimensional. Vários tipos de agentes reticulantes e técnicas de reticulação são usados, dependendo do tipo de biopolímero a ser reticulado e as propriedades desejadas. Recentemente, foi demonstrado que ácidos carboxílicos podem reticular alguns polímeros em condições secas ou úmidas para melhorar suas propriedades de tração e aumentar sua estabilidade dimensional em condições aquosas (REDDY *et al.*, 2015).

O ácido cítrico (AC), figura 2, é um ácido orgânico que pode reagir com grupos hidroxila e amina de biopolímeros e, conseqüentemente, atuar como um reticulante verde para eles. Dessa forma, o AC pode ser utilizado no processamento de materiais, abrindo

novas possibilidades para a utilização de materiais originalmente solúveis e instáveis em meio aquoso. Além disso, a reticulação de polímeros com AC fornece alguns grupos carboxílicos livres que podem aumentar a biocompatibilidade, ajustar a hidrofilicidade da superfície do polímero e aumentar o número de sítios de ligação disponíveis para bioconjugação e atividade antibacteriana (SABZI *et al.*, 2020).

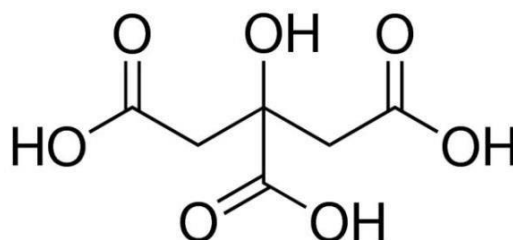


Figura 2 - Fórmula estrutural do ácido cítrico (SABZI *et al.*, 2020)

Os três grupos carboxila nas moléculas de ácido cítrico podem interagir com os grupos hidroxila da molécula de PVOH através da formação de ligações ésteres, o que contribui para a diminuição da natureza hidrofílica do mesmo. Essa reação pode contribuir para melhorar as propriedades de barreira ao vapor de água da matriz de polimérica devido à redução de grupos hidroxila disponíveis, ao mesmo tempo em que diminuem os fenômenos de cristalização e retrogradação dos polímeros (LAGARÓN *et al.*, 2016). Um possível mecanismo de reticulação foi apresentado por FABRA *et al.* 2016, demonstrado na figura 3.

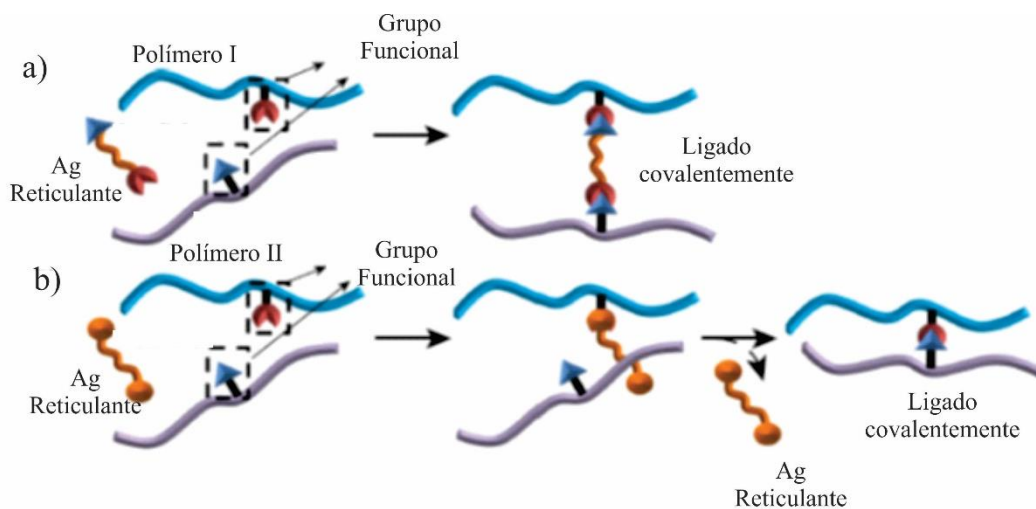


Figura 3 - Esquema de possíveis mecanismos de reticulação. A) Reticulação química com o agente reticulante incorporado na ligação. B) Reticulação química com o agente reticulante não incorporado na ligação (FABRA *et al.*, 2016).

2.4.2 – Agentes plastificantes: o glicerol

Um dos problemas apresentados por filmes à base de celulose é a diminuição das suas propriedades mecânicas como também essas propriedades são afetadas pelo uso do ácido cítrico como reticulante, como dito anteriormente. Algumas estratégias eficazes para melhorar o desempenho mecânico incluem a combinação de celulose com outros polímeros biodegradáveis ou a adição de plastificantes. Permite melhorar as propriedades do filme enquanto mantém a biodegradabilidade (CAZÓN *et al.*, 2018).

O conselho da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) definiu um plastificante como “uma substância ou material incorporado em uma matriz (geralmente um plástico ou elastômero) para aumentar sua flexibilidade, trabalhabilidade ou distensibilidade”. Essas substâncias reduzem a tensão de deformação, dureza, massa específica, viscosidade e carga eletrostática de um polímero, ao mesmo tempo em que aumentam a flexibilidade da cadeia de polímero, a resistência à fratura e a constante dielétrica (ROSEN, 1993). Outras propriedades também são afetadas, como grau de cristalinidade, propriedades ópticas, condutividade elétrica, comportamento do fogo e resistência à degradação biológica, entre outras propriedades físicas (BIAŁECKA-FLORJAN *et al.*, 2007).

Plastificantes são compostos não voláteis geralmente de baixa massa molar. A baixa massa molar de um plastificante permite que o mesmo ocupe espaços entre cadeias poliméricas. Isso altera a organização molecular tridimensional, reduzindo a energia necessária para o movimento molecular e a formação de ligações de hidrogênio entre as cadeias, dependendo do tipo de plastificante utilizado. Como consequência, observa-se um aumento no volume livre e na mobilidade molecular(VIEIRA *et al.*, 2011).

Os plastificantes mais comuns incluem diferentes tipos de polióis, trióis, sorbitol, lipídios, oligossacarídeos, ftalatos e sacarose. Entre estes, o glicerol é dos plastificantes eficientes e bastante utilizado. Porque, ele tem uma natureza mais hidrofílica em comparação com o sorbitol e também as moléculas de glicerol são menores. O glicerol é um composto líquido de alto ponto de ebulição, solúvel em água e de sabor doce. É uma boa escolha para os filmes de embalagens de alimentos devido à propriedade não tóxica (UCPINAR e AYTAC, 2019).

O glicerol é o mais simples dos álcoois e é conhecido por propano-1,2,3-triol de acordo com a IUPAC. Também é conhecido comercialmente como glicerina, 1,2,3-propanotriol, tri-hidroxipropano, glicerol ou álcool glicídico. O glicerol é um líquido oleoso; é viscoso, inodoro, incolor e tem um sabor adocicado. O glicerol é um líquido que contém três grupos hidroxila hidrofílicos, conforme apresentado na figura 4. A glicerina é muito viscosa: a temperaturas normais, permanece um líquido viscoso mesmo a 100% de concentração sem cristalizar. A baixas temperaturas, as soluções concentradas de glicerina tendem a super esfriar como fluido de alta viscosidade. A viscosidade aumenta no início até se tornar rapidamente vítrea em torno de -89 °C. Soluções aquosas de glicerina (em diferentes concentrações) tendem a ter viscosidade mais baixa (QUISPE; CORONADO; CARVALHO, 2013)

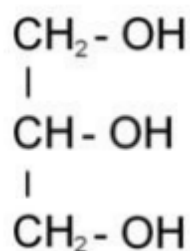


Figura 4 - Estrutura molecular do glicerol (UCPINAR; AYTAC, 2019)

2.5 – Embalagens antimicrobianas

Um dos principais destaques no desenvolvimento de embalagens ativas envolve a incorporação direta de agentes antimicrobianos na embalagem. Esse procedimento é um meio conveniente de prolongar a vida de prateleira do alimento e ao mesmo tempo reduzir a quantidade de conservantes utilizados em sua formulação. Logo, atende à demanda atual dos consumidores que é a busca por alimentos minimamente processados e livre de conservantes (SUPPAKUL *et al.*, 2003; OLIVEIRA, 2004).

Os agentes antimicrobianos podem ser incorporados diretamente ao material da embalagem, estar em rótulos/etiquetas ou ainda, contidos em sachês. Na maioria dos alimentos sólidos e semi-sólidos, o crescimento microbiano é superficial. A aplicação de fungicidas em ceras e outros revestimentos comestíveis já são utilizados em produtos como queijos e frutas (MOUSAVI *et al.*, 2018).

As embalagens antimicrobianas são divididas em dois grupos. No primeiro, o agente migra para a superfície do produto, enquanto no segundo eles são efetivos contra o crescimento microbiano superficial, sem a necessidade de migração para o produto, no caso de sólido. A substância antimicrobiana que é incorporada ao material da embalagem pode suprimir contaminação microbiana, alargando a fase de retardamento e/ou reduzindo a taxa de crescimento ou inativação de microorganismos por contato (QUINTAVALLA *et al.*, 2002). Logo, em ambos os casos, um intenso contato entre o produto e o agente antimicrobiano é necessário, o que torna a tecnologia atrativa para alimentos acondicionados a vácuo (VERMEIREN *et al.*, 2002).

Deve-se considerar, na seleção do agente antimicrobiano, seu mecanismo de inibição, natureza química, migração e difusão do agente da embalagem para o alimento, tipo e população de microrganismos, fisiologia do microrganismo-alvo, processo de fabricação e processabilidade do material de embalagem e aspectos relacionados à legislação. Além de características físico-químicas do alimento como: pH, umidade e composição (VERMEIREN *et al.*, 2002).

Diferentes tipos de nanomateriais, como cobre, zinco, titânio (RETCHKIMAN-SCHABES *et al.*, 2006), magnésio, ouro (GU *et al.*, 2003), alginato (AHMAD *et al.*, 2005) e prata, vêm sendo utilizados como agentes antimicrobianos. Mas as nanopartículas de prata provaram ser mais eficazes, uma vez que tem uma vasta ação antimicrobiana contra bactérias, vírus e outros microrganismos eucariotos (BRODY *et al.*, 2001; GONG

et al., 2007). Íons de cobre também podem destruir microrganismos, mas são considerados tóxicos quando em contato com alimentos, além de serem catalisadores de reações de oxidação, podendo, portanto, acelerar outras reações de degradação.

Alguns fatores podem afetar a efetividade da embalagem antimicrobiana, como as características do agente antimicrobiano (solubilidade e tamanho da molécula/partícula) e do alimento, condições de estocagem e distribuição (tempo e temperatura), método de preparo do filme e interação entre agente antimicrobiano e polímero (DAWSON *et al.*, 2003; CHA *et al.*, 2004).

2.6 – Nanomaterias estudados

2.6.1 – Nanocristais de celulose (NCC)

A celulose é o composto orgânico de maior abundância na crosta terrestre, sendo o principal componente da biomassa. Os materiais provenientes deste biopolímero vêm sendo utilizados pela sociedade há centenas de anos. É considerada uma fonte virtual inesgotável de matéria-prima que atende à crescente demanda por produtos verdes e biocompatíveis. Todavia a sociedade moderna demanda o desenvolvimento de novos materiais com alto desempenho, para aplicações tradicionais, num formato relativamente novo como as embalagens antibacterianas e biodegradáveis (MOON *et al.* 2011).

Por milênios, a celulose tem sido usada na forma de madeira e fibras vegetais como fonte de energia, para materiais de construção e roupas. Desde os papiros egípcios, os produtos de celulose têm desempenhado um papel central na gravação e transmissão da cultura humana. Como matéria-prima química, a celulose é utilizada há cerca de 150 anos. A exploração de celulose é conhecida desde o início da civilização, desde roupas e papel a serem usados como materiais de construção; no entanto, nas últimas décadas, atraiu muita atenção e crescente interesse devido à sua abundância e versatilidade no processamento em nanoescala na indústria em forma de nanomateriais de celulose (TRACHE *et al.*, 2017).

A celulose é classificada como um carboidrato, podendo ser sintetizada a partir de monossacarídeos ou hidrolisada a monossacarídeos. A unidade repetitiva do polímero de

celulose é conhecida por celobiose e é composta por duas moléculas de glicose unidas por ligações β -1,4-glicosídicas (Fig. 5). Devido a essa estrutura, a celulose estabelece fortes ligações de hidrogênio, tendo assim uma forte tendência a formar cristais, o que a torna insolúvel em água e na maior parte dos solventes orgânicos (SEEFELDT 2012).

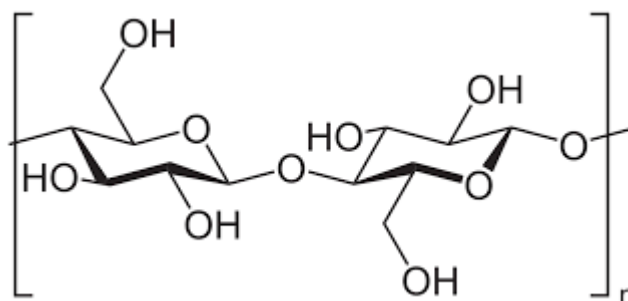


Figura 5-Unidade de repetição da celulose (FERRER; PAL; HUBBE, 2017)

Nanocristais de celulose são partículas de celulose em forma de agulha com pelo menos uma dimensão igual ou inferior a 100 nm e com uma natureza altamente cristalina. Eles podem ser produzidos a partir de diversos materiais de partida, por exemplo, celulose de algas, celulose bacteriana, fibras de algodão, celulose microcristalina, tunicina e polpa de madeira.(TRACHE *et al.*, 2017).

Os NCCs são constituídos de domínios cristalinos de celulose que apresentam diferentes e interessantes propriedades mecânicas, óticas e térmicas quando comparados com as estruturas celulósicas de maior dimensão. Isso acontece porque, com a extração da celulose em escala nanométrica, a maioria dos defeitos associados à estrutura hierárquica de um organismo vegetal podem ser removidos, produzindo a base de construção para a preparação de uma nova geração de materiais, como os compósitos baseados em celulose. As principais características que estimulam o uso de NCC como agentes de reforço de polímeros são sua grande área superficial específica (estimada em várias centenas de $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) e seu módulo de elasticidade muito alto (aproximadamente 150 GPa), aliada a uma baixa densidade ($1,6 \text{ g cm}^{-3}$), biodegradabilidade, biocompatibilidade e possibilidade de funcionalização química devido à presença de hidroxilas superficiais (SAMIR *et al.* 2005).

A inserção de NCCs em polímeros biodegradáveis (obtidos de fonte natural ou sintética) tem sido mencionada na literatura como uma excelente alternativa para

melhoria em algumas de suas propriedades como as mecânicas, de barreira e térmicas (PEREIRA *et al.*, 2014).

2.6.2 – Nanopartículas de prata: características e formas de obtenção.

A prata metálica foi usada durante séculos como um antisséptico e é conhecida por ser atóxica para o ser humano em baixas concentrações (ppm) e relativamente inerte (OLIVEIRA, 2004). Como exemplo, tem-se que na antiguidade a prata era utilizada em recipientes de água e também, na prevenção de deterioração de líquidos e alimentos. Os íons de prata eram geralmente utilizados no tratamento de queimaduras e como agentes quimioterápicos contra patologias provocadas por bactérias, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae* (CHOPRA, 2007). Além de sua baixa toxicidade para seres humanos, a prata possui várias propriedades benéficas que a torna uma excelente candidata para uso como um material antimicrobiano.

A atividade antimicrobiana da prata tem sido estudada em diferentes campos da medicina para reduzir infecções, bem como prevenir colonização bacteriana em superfícies de prótese e cateteres. Seu uso também se estende em materiais odontológicos, materiais têxteis e da indústria de alimentos, como superfícies de aço inoxidável (GUZMÁN *et al.*, 2009).

Um estudo recente de nanopartículas de prata com tamanhos de 44, 50, 25 e 35 nm que foram preparadas com a utilização de glucose, galactose, maltose e lactose, respectivamente, mostrou que as menores partículas de prata (25 nm) apresentaram maior atividade antimicrobiana, enquanto as partículas maiores (50 nm) teve o menor efeito antimicrobiano (PANACEK *et al.*, 2006).

Em relação à forma das nanopartículas, a que apresentou melhor atividade antibacteriana foi a de formato triangular, enquanto as de forma de bastonetes exibiu um desempenho inferior (PAL *et al.*, 2007).

O controle do tamanho e forma das nanopartículas é realizado por muitas técnicas, incluindo métodos físicos e químicos, que foram desenvolvidas para preparar nanopartículas metálicas. A redução química é o método mais frequentemente aplicado para a preparação de AgNPs como dispersões coloidais estáveis em água e solvente orgânicos (TAO *et al.*, 2006). Os redutores comumente usados são: boridretos, citratos, ascorbatos e hidrogênio elementar (AHMADI *et al.*, 1996). A redução dos íons de prata

em solução aquosa geralmente produz prata coloidal com diâmetros de partícula de diversos nanômetros. Inicialmente, a redução de vários complexos com íons de Ag^+ levam à formação de átomos de prata (Ag^0), que é seguido pela aglomeração. Essas aglomerações eventualmente levam à formação de partículas de Ag coloidais (KAPOOR *et al.*, 1994).

A combinação da nanotecnologia com o seu efeito antimicrobiano bastou para a prata se tornar um dos campos mais promissores da ciência, bem como de interesse comercial. De todos os nanomateriais, independente das questões regulamentares ainda não estarem definidas precisamente, a nanop prata tem o maior grau de comercialização. Não se restringe apenas a aplicações médicas, mais de 100 produtos de consumo com nanop prata já podiam ser encontrados no mercado em 2007, como exemplo tem-se: forros internos em frigoríficos, máquinas de lavar, cosméticos ou produtos de higiene (cremes, loções, sabonetes, desodorantes, escovas de dente, pasta de dente, etc.), talheres ou superfícies de contato com alimentos (tábuas de corte, bancadas, contentores, transportadores), têxteis (vestuário, roupa interior, meias, estofados), brinquedos, sistemas de purificação de água ou ar e assim por diante (RAND *et al.*, 2004; LAGARON *et al.*, 2011).

A ação antimicrobiana dos íons de prata não é totalmente compreendida, porém o efeito dos íons de prata nas bactérias pode ser observado pelas mudanças estruturais e morfológicas (Figura 6). As nanopartículas de prata, assim como os íons de prata têm a capacidade de ancorar na parede celular bacteriana e depois penetrar no seu interior, causando mudanças estruturais na membrana celular como, por exemplo, aumento da porosidade, o que altera sua permeabilidade e pode levar à morte da célula. Também já se relatou que na liberação dos íons de prata pelas nanopartículas, estes íons podem interagir com os grupos tiol de muitas enzimas e proteínas vitais, tornando-as inativas (KLABUNDE, 2001; PRABHU *et al.*, 2012).

Outro mecanismo sugere que no interior das membranas, as AgNPs e os seus íons ligam-se com o enxofre e fósforo do DNA e com isso, a molécula de DNA muda para a forma condensada e perde sua habilidade de divisão celular, levando à morte celular (FENG, 2000; MORONES *et al.*, 2005; DAMM *et al.*, 2008; LEVIN *et al.*, 2009).

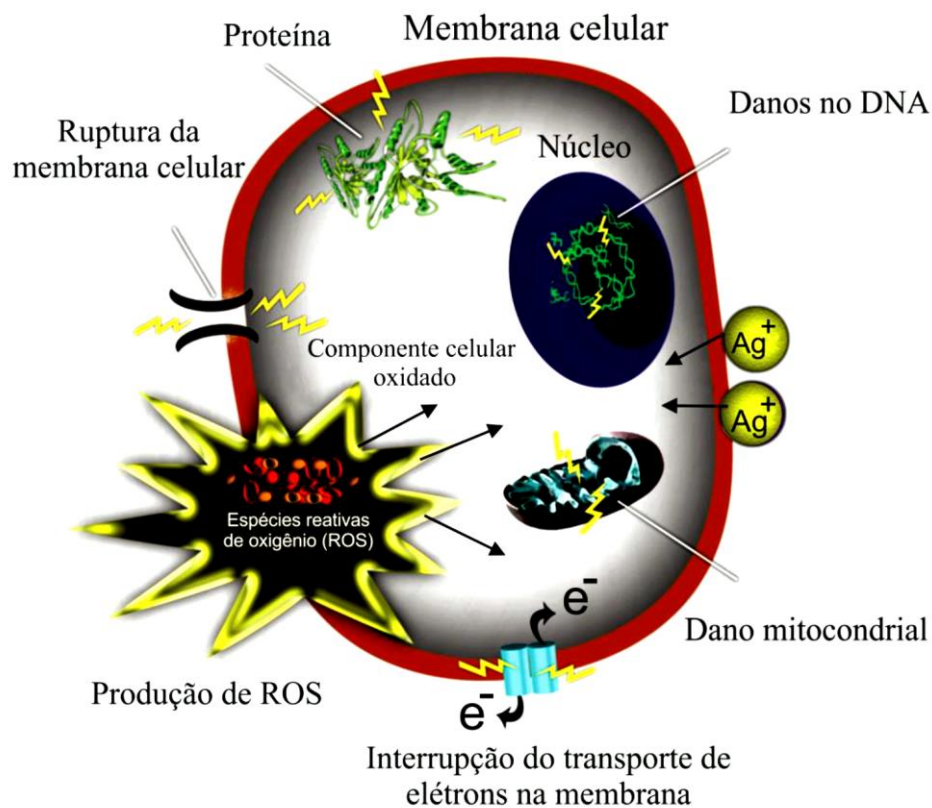


Figura 6- Representação esquemática da atividade antimicrobiana da prata (HAJIPOUR *et al*, 2012).

Os métodos de obtenção das nanopartículas normalmente usadas são os métodos químico ou físicos. A síntese de nanopartículas por vários métodos químicos e físicos convencionais já está estabelecida na comunidade científica. Os métodos químicos precisam de reagentes perigosos e tóxicos para o meio ambiente. Os métodos físicos requerem muita energia e manutenção sob pressão controlada. Embora existam vários métodos convencionais usados para obter AgNPs (por exemplo: solução, reações químicas / fotoquímicas em micelas reversas, decomposição térmica de diferentes compostos de prata, rotas eletroquímica, sonoquímica, radiação e assistida por microondas), eles geralmente envolvem produtos químicos perigosos, conversões de baixa composição, altos requisitos de energia e purificações desnecessárias (KUMAR *et al.*, 2019; SORESCU e NU, 2016).

Desta forma, visualizando toda esta problemática apresentada pelos métodos convencionais de obtenção de nanopartículas, deve-se buscar alternativas menos ofensivas e perigosas ao meio ambiente. A natureza desenvolveu vários processos para a síntese de materiais inorgânicos com escala de micro e nanométrica, que contribuíram

para o desenvolvimento de uma área de pesquisa relativamente nova e amplamente inexplorada, baseada na biossíntese dos nanomateriais. A síntese usando organismos biológicos é compatível com os princípios da química verde. A "síntese verde" das nanopartículas faz uso de reagentes ecológicos, não tóxicos e seguros. Nanopartículas sintetizadas usando técnicas biológicas ou tecnologia verde têm naturezas diversas, com maior estabilidade e dimensões apropriadas, pois são sintetizadas usando um procedimento de uma etapa. Nanopartículas de prata podem ser sintetizadas usando uma variedade de métodos, incluindo técnicas químicas, físicas, biológicas e híbridas. Portanto, a síntese biológica de nanopartículas é um método de redução biológica em uma única etapa e menos energia é usada para sintetizar materiais ecológicos (PARVEEN *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, química verde e métodos biossintéticos tornaram-se maneiras mais atraentes de obter AgNPs. Esses métodos não convencionais usam microorganismos biológicos (por exemplo: bactérias, fungos, algas marinhas, leveduras) ou diferentes extratos de plantas alcoólicas ou aquosas. A síntese verde tem múltiplas vantagens em relação às rotas clássicas: é econômica, ecológica e não requer alta pressão, energia, temperatura ou o uso de reagentes químicos tóxicos (SORESCU e NU, 2016).

2.6.3 – Nanopartículas de prata biogênicas: redução via extrato de plantas

O uso de plantas para a síntese de AgNPs ganhou força e importância na última década, porque é rápido, não afeta o meio ambiente, nenhum patógeno é usado e todo o processo envolve uma técnica de etapa única. Os extratos de plantas contêm uma combinação de biomoléculas (por exemplo: enzimas, polissacarídeos, alcalóides, taninos, fenóis, terpinóides e vitaminas) que são de grande valor medicinal e, embora estruturas complexas, são benignas para o meio ambiente. Presume-se que os componentes flavonóides e terpenóides do caldo foliar são capazes de estabilizar a formação de AgNPs, enquanto os componentes poliois heterocíclicos e solúveis em água são responsáveis pela redução dos íons prata, demonstrado na figura 7. Além disso, é sabido que os AgNPs obtidos a partir do extrato da planta exibem uma cor acastanhada em soluções aquosas devido à excitação das vibrações plasmáticas na superfície (JACKSON, 2018; LOGESWARI *et al.*, 2015).

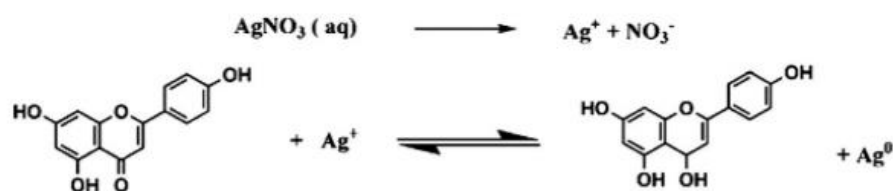


Figura 7-Possível mecanismo de ação dos flavonoides para redução de AgNO_3 em Ag^0 (SAXENA *et al.*, 2012).

O mecanismo exato e responsável pelas nanopartículas sintéticas mediadas por plantas ainda precisa ser elucidado. Foi proposto que proteínas, aminoácidos, ácido orgânico, vitaminas e metabólitos secundários, como flavonóides, alcalóides, polifenóis, terpenóides, compostos heterocíclicos e polissacarídeos, desempenham papéis significativos na redução de sal metálico e, além disso, atuam como tamponadores e agentes estabilizadores para nanopartículas sintetizadas, como apresenta a figura 8 (SINGH *et al.*, 2016).

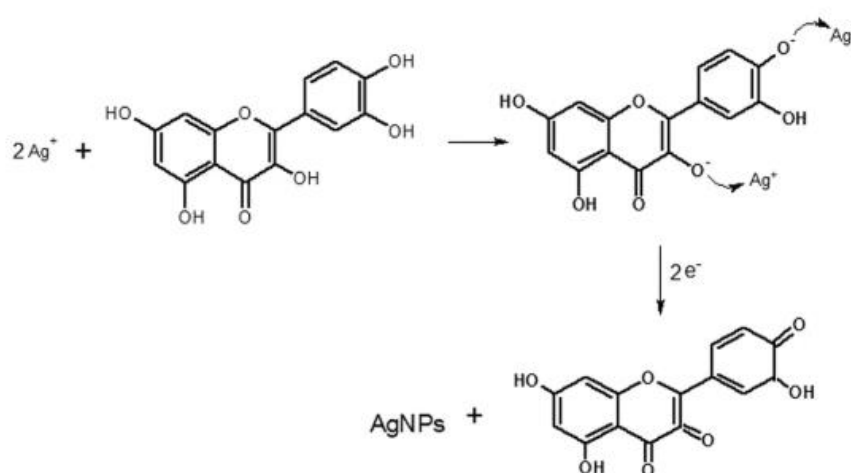


Figura 8-Possível mecanismo de redução de prata (JAIN; MEHATA, 2017).

A combinação de NPs (nanopartículas) utilizando plantas é extremamente prática e, dessa maneira, pode ser utilizada como uma opção monetária e importante para a geração em escala expansiva de nanopartículas. Tendo em vista essa tendência de busca

por novas rotas de obtenção de nanopartículas de prata, se faz necessário um estudo de obtenção utilizando plantas dos biomas da Caatinga e da Mata Atlântica. Assim foram estudadas 2 plantas oriundas do bioma da Caatinga, são elas: pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) e jurema preta (*Mimosa tenuiflora* Poir.). Outras duas plantas bioma da Mata Atlântica também foram estudados, sendo elas: umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.) e algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda).

2.7 – Biomas da Caatinga e Mata Atlântica: plantas estudadas

A mata atlântica brasileira era parcialmente contínua, no tempo das chegadas das caravelas portuguesas, abrangendo cerca de território nacional. Seu campo florestal se estendia ao longo da costa e adentrava no interior, ocupando totalmente o que hoje chamamos de estado do Rio de Janeiro e Espírito Santo e parcialmente os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco. Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí (MOURA, 2015).

.

A floresta atlântica é considerada a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, sendo que originalmente se estendia de forma contínua ao longo do litoral brasileiro, alcançando o leste do Paraguai e o nordeste da Argentina. No passado, ela cobria mais de 1,5 milhão de km², sendo que 92% desta área encontrava-se no Brasil. Atualmente, estima-se que mais de 93% de sua cobertura original tenha sido destruída ao longo do processo de ocupação histórica do litoral brasileiro. Apesar de seu atual status de conservação, ela é considerada um dos 25 biomas com maior biodiversidade no mundo, abrigando mais de 8000 espécies endêmicas, incluindo plantas vasculares, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (SANTANA *et al.*, 2008).

A elevada biodiversidade da floresta atlântica é função das variações ambientais do bioma. Um dos fatores mais importantes que contribui para esta variação é sua extensão em latitude, que abrange 38°. Variações de altitudes constituem outro importante fator que contribui para a ocorrência de alta diversidade biológica, dado que as matas se estendem do nível do mar à uma altitude de 1.800 metros. Além disso, as matas do interior diferem consideravelmente das matas do litoral, proporcionando uma maior variedade de

hábitats e nichos. Estes fatores em conjunto resultam numa diversidade única de paisagens, que abrigam extraordinária biodiversidade (MOURA, 2015).

Ao perceber tamanha biodiversidade, se faz necessário uma verificação das potências tecnológicas oriundas da mata atlântica, através da sua flora rica pode-se obter resultados satisfatórios utilizando seus recursos, por exemplo, produção de nanopartículas de prata através de extratos de plantas da mata atlântica.

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro, ocupando, aproximadamente, uma área de 734.478 km², que corresponde a cerca de 70% da região nordeste e 11% do território nacional. O nome “Caatinga” possui origem tupi-guarani e significa “floresta branca”. Essa denominação representa as características da vegetação desse ecossistema, cujas folhas caem no período de seca. A Caatinga localiza-se na Região Nordeste do Brasil e compreende os estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Maranhão, Alagoas, Pernambuco, Sergipe e Bahia. Também ocorre em algumas faixas da Região Sudeste que ficam ao norte do estado de Minas Gerais. Apesar de sua importância ecológica, calcula-se que 40 mil km² da Caatinga já foram transformados em quase deserto, o que é explicado pelo corte da vegetação para servir como lenha e pelo manejo inadequado do solo (SOUZA 2021).

O clima que predomina na Caatinga é o semiárido. Ele constitui uma característica importante que determina a natureza da Caatinga. O clima semiárido possui uma precipitação (quantidade de chuva) em torno de 800mm por ano. Em períodos mais chuvosos pode chegar a 1.000mm por ano e nos mais secos, apenas 200mm por ano. A temperatura média anual varia de 25°C a 30°C e é mais ou menos constante em toda região. O sistema de chuvas divide o ano em dois períodos: o chuvoso e o seco. O período chuvoso é curto, de 3 a 5 meses de duração, geralmente de janeiro a maio. As chuvas são torrenciais e irregulares concentradas nesses primeiros meses do ano. O período seco ou estiagem ocorre, na maior parte do ano, de 7 a 9 meses, entre junho e dezembro. O semiárido é uma das regiões secas mais quentes do planeta. No período seco, a temperatura do solo pode chegar a 60°C e o sol forte acelera a evaporação das águas dos lagos e rios (ASSOCIAÇÃO DA CAATINGA, bioma caatinga, Disponível em: <https://www.acaatinga.org.br/sobre-a-caatinga/>. Acesso em: 09 de setembro de 2021).

A vegetação da Caatinga tem como característica principal o fato de se adaptar à aridez do solo e à escassez de água na região. Quando as condições de umidade do solo

são mais favoráveis, a caatinga se assemelha à mata, onde são encontradas árvores como o juazeiro, também conhecido por juá, ou laranjeira do vaqueiro, a aroeira e a baraúna. Nas áreas mais secas, de solo raso e pedregoso, a caatinga se reduz a arbustos e plantas tortuosas, mais baixas, deixando o solo parcialmente descoberto. Nas regiões mais secas aparecem também plantas cactáceas, como o facheiro, o mandacaru, o xique-xique, que servem de alimento para os animais, na época de seca, e as bromeliáceas (macambira). Algumas palmeiras e o juazeiro, que possuem raízes bem profundas para absorver água do solo, não perdem as folhas (FUNDAÇÃO JOAQUIM NABUCO, saiba quais as características da caatinga, Disponível em: <https://www.fundaj.gov.br/index.php/conselho-nacional-da-reserva-da-biosfera-da-caatinga/9193-saiba-quais-sao-as-caracteristicas-da-caatinga>. Acesso em: 09 de setembro 2021).

Na Caatinga existem aproximadamente 5.311 espécies de plantas, destas no mínimo 1.547 são endêmicas (IBGE). A Caatinga não é homogênea, possui uma variedade de vegetações classificadas como fitofisionomias (fito = planta e fisionomia = aparência, significa o aspecto visual da vegetação), por isso é comumente denominada por caatingas, no plural. Devido às irregularidades no regime hídrico da caatinga, com chuvas concentradas em apenas um período do ano, a vegetação deste bioma desenvolveu uma série de características e adaptações para permitir a sua sobrevivência. Essas características são chamadas de xeromorfismo (do grego xeros: seco, e morphos: forma) e é a condição mais marcante da vegetação da Caatinga. Muitas plantas adotam a estratégia de escape ou fuga da escassez de água, acelerando e diminuindo o seu ciclo de vida ou adiando o período de germinação para períodos com maior umidade no solo. Elas germinam, florescem e morrem no período chuvoso para aproveitar a água disponível no ambiente. Um exemplo são as plantas herbáceas, como o capim e plantas rasteiras (SENA, 2011).

Assim foram realizados experimentos para produção de nanopartículas de prata utilizando os seguintes grupos oriundos da flora da mata atlântica e da caatinga: Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.), Umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.), Jurema preta (*Mimosa hostilis* Poir.) e Algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda).

- Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* Poir.): conhecida popularmente por jurema-preta, é uma árvore de porte pequeno muito conhecida pelos espinhos que cobrem os seus ramos. Possui tronco com casca de cor castanho escuro e ramos de cor castanho

avermelhada. Essa espécie floresce durante um longo período do ano, porém predominantemente durante a estação seca. Suas inflorescências são reunidas em espigas, formadas por flores brancas, pequenas, e suavemente perfumadas, que fornecem recursos florais, pólen e néctar, para muitas espécies de abelhas, vespas, moscas e outros insetos. A jurema-preta é uma espécie muito importante para a manutenção da biodiversidade e funcionamento do ecossistema. Além disso, devido ao seu crescimento rápido e a sua capacidade de rebrota essa espécie é muito importante para a restauração de áreas degradadas (IMPERATRIZ-FONSECA *et al.*, [S.d.]).

- Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) é uma espécie vegetal endêmica da Caatinga que tem ampla dispersão em toda a zona de savana, sendo geralmente encontrada no Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco e Paraíba. Possui porte arbustivo-arbóreo podendo atingir cerca de 8 metros de altura, caule ereto com casca lisa, acinzentada com lenticelas brancas, suas folhas são simples, alternas, ovais, glabras ou pilosas, coriáceas com tamanho variando de 4 a 9 centímetros, possui flores agrupadas em cimeiras terminais com em média de 10 a 15 flores de coloração branca e odor agradável, estas dão origem a frutos lenhosos e achatados com 5 a 6 cm de comprimento e coloração castanho-claro, o fruto contém sementes aladas, planas e papiráceas sendo assim, dispersas pelo vento (MAIA-SILVA *et al.*, 2012).
- Umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.): é conhecida popularmente como imbaúba, embaúba ou umbaúba e apresenta floração de março a abril e frutificação de março a maio é facilmente reconhecida no campo por suas folhas simples, alternas e palmatilobadas, que lembram uma mão aberta, sendo a face inferior da folha avermelhada (CARVALHO *et al.*, 2012). Produz grande quantidade de sementes e frutos anualmente, sendo muito apreciados pela fauna silvestre que espalha as sementes por toda floresta onde vivem. Sua altura pode variar de 5-30m, dependendo da espécie. Espécies do gênero são conhecidas por possuírem madeira muito leve e esbranquiçada, sendo o tronco ereto e sem ramificações (CARVALHO *et al.*, 2012, BERG, 1978).
- Algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda): Popularmente é conhecida como guanxuma-do-mangue, algodão-da-índia, algodão-da-praia e embira-do-mangue. Planta nativa que ocorre nas costas tropicais da Flórida até o Brasil, em áreas de mangue e restinga. É um arbusto que, se conduzido, porta-se como uma pequena árvore, podendo ser usado com muito sucesso na arborização urbana. É vista, com

muita frequência, nos mangues e orlas vegetadas. Suas folhas com a coloração verde-escuro brilhante, não têm muitos lobos como em outras espécies do gênero. Folhas maiores tendem a desenvolver nectários também em algumas nervuras. Estas estruturas exsudam um líquido adocicado que atrai certos tipos de formigas, as quais (teoricamente) ajudariam a defender a planta contra herbívoros. Sua flor tem coloração amarela, inclusive os estigmas. Possui um leve perfume e costuma ser voltada para os lados ou ligeiramente para baixo (LIU *et al* 2014).

3. REVISÃO DA LITERATURA

Diversos pesquisadores vêm com o passar dos anos aprofundando seus conhecimentos na produção de filmes de biopolímeros, com incorporação de nanocristais de celulose e agentes plastificantes e reticulantes, como também, incorporação de agentes antimicrobianos e suas ações.

BIRCK *et al.* (2014) propôs uma rota verde para a preparação de filmes fundidos insolúveis em poli(álcool vinílico) (PVOH) com potencial aplicação como embalagem antimicrobiana. Os primeiros filmes de PVOH foram preparados a partir de diferentes soluções aquosas e analisados por Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e Análise Dinâmica Mecânica (DMA) para determinar suas propriedades físicas sob duas condições de armazenamento. Para obter filmes insolúveis, o PVOH foi então reticulado por ácido cítrico (AC). Em outro estudo, NOSHIRVANI *et al.* (2016) comparou as propriedades de barreira, mecânica e térmica de dois tipos de nanocompósitos amido-poli(álcool vinílico) com montmorilonita (MMT) sódica, ou nanocristais de celulose.

A influência das nanopartículas de prata (AgNPs) nas propriedades do poli(álcool vinílico) (PVOH) foi investigada no estudo desenvolvido por MBHELE *et al.* (2003). O nanocompósito foi preparado misturando uma solução coloidal consistindo em nanopartículas de prata com uma solução aquosa de PVOH em proporções apropriadas.

Nanocristais de celulose (NCCs) isolados de fibras de pseudoestemes de bananeira (BPF) da variedade Pacovan foram utilizados como cargas em uma matriz de poli(álcool vinílico) (PVOH) para produzir um nanocompósito. Aumentar a concentração dos NCCs em até 3% melhorou significativamente as propriedades mecânicas do nanocompósito afirmou PEREIRA *et al.* (2014) em seus estudos.

SHI *et al.* (2008) preparou filmes de amido/poli(álcool vinílico) (PVOH) com concentrações variadas 5 a 30% em massa de ácido cítrico (AC) por evaporação do solvente e depois, moldagem por compressão à 140 ° C. Os efeitos do AC na estrutura química, propriedades térmicas, grau de intumescimento, propriedades mecânicas, cristalinidade e citotoxicidade foram investigados.

O estudo desenvolvido por DURMAZ *et al.* (2019) teve por objetivo investigar o efeito da concentração de glicerol (GL) nas propriedades de filmes da blenda poli(álcool vinílico) /caseína (PVOH/CAS). Os filmes foram preparados pelo método de evaporação do solvente, utilizando diferentes concentrações de GL. As propriedades estruturais, mecânicas, térmicas, de barreira e hidrofílicas-hidrofóbicas dos filmes foram investigadas.

No trabalho apresentado por SONKER *et al.* (2017) foi desenvolvido filmes biocompatíveis e de alta resistência a base de nanocompósitos de poli(álcool vinílico) (PVOH) com nanocristais de celulose bacteriana (BNCCs) reticulados com ácido cítrico (AC). Os ensaios de hemocompatibilidade e biocompatibilidade mostram que o composto de alta resistência desenvolvido não é tóxico para o sangue e é favorável ao crescimento celular. A partir da resistência e biocompatibilidade mencionadas, foi proposto seu uso para o desenvolvimento de bioimplantes.

Outros estudos foram desenvolvidos visando avaliar o uso de agentes plastificantes e reticulantes em filmes. Entre eles, destaca-se o trabalho desenvolvido por REDDY e YANG (2009), o qual mostra que o ácido cítrico pode reticular o amido e melhorar sua resistência à tração, estabilidade térmica e inibir/impedir a dissolução dos filmes de amido na água e no ácido fórmico.

Estudou-se também a influência do ácido cítrico (AC) nas propriedades estruturais e físico-químicas de blendas de amido de milho com policaprolactona (PCL) e glicerol. Os filmes foram processados no estado fundido e moldados por compressão. Os resultados obtidos apontaram uma melhor interação entre cadeias de PCL e do amido na presença do AC, beneficiando quantitativamente apenas as propriedades do filme com uma baixa proporção de PCL. O amido composto com pequenas quantidades de PCL, usando glicerol e AC, pode fornecer filmes com melhores propriedades funcionais, do que os filmes de amido puro (LAGARÓN *et al.*, 2016).

As nanopartículas de prata também tem sido alvo de estudos durante anos. Como resultado há um aumento considerável nos números de publicações e um crescente número de novas rotas de obtenção, como também da sua aplicabilidade no dia-a-dia e da explanação de seus mecanismos de ação nas células bacterianas.

RADHESKUMAR e MUNSTEDT (2006) produziram um polipropileno (PP) contendo prata com eficácia antimicrobiana e observaram que a liberação de íons de prata

do nanocompósito de PP/AgNPs não é apenas um fenômeno de superfície, mas há contribuição também das AgNPs contidas na massa polimérica. Assim, as características de liberação de Ag^+ depende das características das AgNPs e da matriz polimérica utilizada.

DEL NOBILE *et al.* (2004) estudou sobre a atividade antimicrobiana de um revestimento de poli(óxido de etileno) contendo prata aplicado sobre um substrato de polietileno. Mesmo aglomerados de prata com tamanho de 90 nm, depositados por plasma, mostraram alta atividade bactericida contra *Alicyclobacillus acidoterrestris*, prolongando a vida de prateleira do suco da maçã.

DAMM *et al.* (2006) compararam a eficácia de nano e microcompósitos de poliamida 6 com prata e verificaram que nanocompósitos com baixo teor de prata apresentaram uma eficácia muito maior contra *Escherichia coli*, do que microcompósitos com um teor de prata mais elevado.

SANTIAGO-SILVA *et al.* (2009) avaliaram a eficiência antimicrobiana de filmes de celulose contendo pediocina (ALTA 2551) na preservação de presunto fatiado. Os filmes foram testados contra *Listeria innocua* e *Salmonella choleraesuis* e mostraram-se mais eficientes na inibição de *L. innocua*, tendo reduzido o seu crescimento em até dois ciclos logarítmico, em relação ao tratamento controle após 15 dias de estocagem.

O estudo desenvolvido por DAKAL *et al.* apresenta uma visão abrangente da resposta celular induzida por AgNPs em bactérias e células humanas. Os AgNPs induzem, influenciam e modulam diversos processos celulares, bioquímicos, metabólicos e inflamatórios que são responsáveis pela atividade antimicrobiana multifacetada das AgNPs para combater a resistência a múltiplas drogas em bactérias. Além disso, alguns outros aspectos dos medicamentos baseados em AgNPs, incluindo propriedades físico-químicas das AgNPs; resposta citotóxica, genotóxica e inflamatória dos AgNPs às células humanas; e a aplicação de AgNPs na terapêutica e na entrega direcionada de medicamentos também foram revisadas (DAKAL *et al.*, 2016).

SYAFIUDDI *et al.* (2017) revisaram criticamente as AgNPs sob a perspectiva de tendências de pesquisa, consumo global, síntese, propriedades e desafios futuros. Além disso, as AgNPs podem ser potencialmente explorados para várias aplicações. Os desafios futuros da sua síntese, sua liberação no ambiente e a ampliação da produção, conforme apresentado na revisão, sugerem vários potenciais tópicos para trabalhos futuros

disponíveis para promover um uso mais seguro e eficiente dessas nanopartículas. Isso exige um conjunto adequado de políticas para as AgNPs, desde a produção até a utilização, bem como seus efeitos em diversas indústrias e no meio ambiente (SYAFIUDDIN *et al.*, 2017).

PEREIRA *et al.* (2013), por sua vez, buscaram otimizar a produção de nanopartículas de prata a partir de uma nova rota de síntese, bem como avaliar sua capacidade antimicrobiana por diferentes metodologias. Observou-se que o rendimento na produção das nanopartículas de prata aumentou, à medida que a concentração do surfactante usado na dispersão foi também aumentada. Constatação explicada pelo fato da reação de formação das nanopartículas se caracterizar como uma síntese micelar. Os resultados obtidos no teste de adesão bacteriana mostraram que a adesão de *Staphylococcus aureus* e *Listeria innocua* foi menor nas superfícies com as nanopartículas de prata. As nanopartículas de prata também foram capazes de reduzir o número de bactérias aderidas em diferentes superfícies de aço inoxidável, superfícies estas, comumente utilizadas nas indústrias de alimentos. Portanto, as nanopartículas de prata obtidas nesse trabalho apresentam-se eficientes como agentes antimicrobianos, com potencial uso como sanitizantes na indústria de alimentos (PEREIRA *et al.*, 2013).

GOUR e JAIN (2019) abordaram as perspectivas dos métodos verdes que utilizam metabólitos vegetais na síntese de partículas metálicas. Nas estratégias verdes, os metabólitos vegetais e substâncias naturais são utilizados para orquestrar a formação das nanopartículas para aplicações farmacêuticas e outras. Alguns métodos de caracterização também foram revisados, juntamente com as potenciais aplicações das nanopartículas (GOUR e JAIN, 2019).

Em um outro estudo, KHAN *et al.* (2018) compila brevemente a síntese química das nanopartículas de prata e a compara com protocolos “verdes” baseados nas lições aprendidas com a síntese química. A síntese de AgNPs com diferentes extratos vegetais e as fitomoléculas associadas, seus efeitos químicos e biológicos e seu efeito na síntese de partículas são descritos e colocados em perspectiva para melhorar os protocolos verdes. A funcionalização da superfície de AgNPs por fitomoléculas e os mecanismos de suas aplicações biomédicas são resumidos (KHAN e ADIL, 2018).

Já HUSSAIN *et al.* (2017) apresenta a potência dos flavonóides na biossíntese de AgNPs, como agente redutor e de mapeamento para o desenvolvimento de AgNPs de

tamanho e forma uniformes. Uma ênfase no importante papel do FTIR na identificação dos principais grupos funcionais dos flavonóides para a síntese de AgNPs foi revisada. As AgNPs têm uma ampla gama de aplicações industriais, médicas e agrícolas e também apresentam riscos potenciais à saúde humana. Verificou-se ainda a ausência de artigo que discuta o papel dos flavonóides vegetais na síntese verde de AgNPs coloidais (HUSSAIN *et al.*, 2017).

SONDI e SALOPEK-SONDI (2004) relataram a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata contra *E. coli* na forma de um modelo para as bactérias gram-negativas. A partir das imagens do MEV, foram observadas a formação de agregados constituídos por nanopartículas de prata e células bacterianas mortas. Observou-se também que as nanopartículas de prata interagem com os elementos de construção da membrana bacteriana e causam danos à célula. A análise de microscopia eletrônica de transmissão (MET) e estudos de microscopia de energia dispersiva (EDAX) confirmaram a incorporação de nanopartículas de prata na membrana celular, o que foi reconhecido pela formação de depressões na superfície da célula. Eles já previam que os nanomateriais poderiam vir a ser simples, eficazes e adequados para a formulação de novos tipos de materiais antibacterianos.

SILEIKA *et al.* (2011) empregaram uma técnica de imersão simples para depositar polidopamina sobre substrato de policarbonato via polimerização de dopamina. Nanopartículas de prata foram reduzidas *in situ* e depositada sobre os substratos de polidopamina. Outra camada de polidopamina modificada por enxertia com poli(etileno glicol) (PEG) por meio da reação com grupo quinonas foi em seguida depositada sobre o revestimento, resultando em 3 camadas assim dispostas: polidopamina + AgNPs + polidopamina enxertada com PEG. A liberação de íons de prata a partir deste revestimento foi mantida por pelo menos 10 dias. Este revestimento multicamada de película fina demonstrou uma dupla função antibacteriana contra *E. coli*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, devido às nanopartículas de prata e a resistência à incrustação oferecida pelo PEG.

A síntese verde de nanopartículas também foi realizada por JACKSON *et al.* (2018). Nitrato de prata foi utilizado como precursor da prata, enquanto os sucos de frutas cítricas (*Citrus sinensis*, *Citrus limetta*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus paradisi*) foram utilizados como agentes redutores e estabilizadores. A formação de nanopartículas foi confirmada com a mudança visível da cor de incolor para marrom avermelhado

característico. As nanopartículas de prata sintetizadas a partir do suco de limão, uva e laranja apresentaram atividade antimicrobiana de amplo espectro contra organismos Gram-positivos e Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) (JACKSON, 2018).

Três flavonóides diferentes provenientes de plantas cítricas, hesperidina, naringina e diosmina, foram utilizados para a síntese de AgNPs (SAHU *et al.*, 2016). O efeito bactericida contra patógenos comuns e a citotoxicidade das nanopartículas de prata sintetizadas em células leucêmicas promielocíticas humanas (HL-60) foram investigados. Concluiu-se que as AgNPs sintetizadas usando naringina, como agente redutor, apresentaram maior estabilidade e melhores atividades antibacterianas e citotóxicas (SAHU *et al.*, 2016).

No estudo realizado por AHMED *et al.* (2015) uma abordagem rápida e simples foi aplicada para a síntese de nanopartículas de prata usando extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. O extrato da planta atua tanto como agente redutor, quanto como agente de nivelamento. Os resultados confirmaram que o protocolo proposto como métodos físicos/químicos convencionais de obtenção de AgNPs foram simples, rápidos, de etapa única, ecologicamente corretos, não tóxicos e alternativos. Foram necessários apenas 15 minutos para a conversão dos íons de prata em nanopartículas de prata à temperatura ambiente, sem o envolvimento de qualquer produto químico perigoso (AHMED *et al.*, 2015).

A síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) usando extrato de resíduo de açafrão (*Crocus sativus L.*) e sua atividade antibacteriana contra seis bactérias foram estudadas por BAGHERZADE *et al.* (2017). Foi demonstrado com sucesso a síntese de AgNPs usando extrato aquoso de resíduo de açafrão como método verde, sem nenhum agente estabilizante e redutor químico. As AgNPs biossintetizadas apresentaram efeito antibacteriano significativo, contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella flexneri* e *Bacillus subtilis*, podendo ser utilizadas em aplicações biomédicas (BAGHERZADE *et al.*, 2017).

A revisão realizada por PRABHU *et al.* (2012) fornece uma visão abrangente sobre o mecanismo de ação, produção, aplicações na área médica e as preocupações com a saúde e o meio ambiente que supostamente são causadas por essas nanopartículas. Os autores focaram na síntese eficaz e eficiente de nanopartículas de prata, enquanto

exploraram suas várias perspectivas de aplicações, além de tentar entender o cenário atual nos debates sobre a toxicidade relacionada às nanopartículas (PRABHU e POULOSE, 2012).

SONG *et al.* (2009) utilizaram cinco extratos de folhas de plantas (*Pinus*, *Caqui*, *Ginkgo*, *Magnólia* e *Platanus*) e comparou-os quanto ao processo de síntese de nanopartículas de prata metálicas. Nanopartículas de prata estáveis foram formadas pelo tratamento da solução aquosa de AgNO_3 com os extratos de folhas das plantas como agente redutor de Ag^+ para Ag^0 . Esse método ambientalmente amigável de produção de nanopartículas de prata biológica forneceu taxas de síntese mais rápidas ou comparáveis às de métodos químicos e pode potencialmente ser usado em várias áreas de contato humano, como cosméticos, alimentos e aplicações médicas (YONG *et al.*, 2009).

Nanopartículas de prata (AgNPs) também foram rapidamente sintetizadas pelo tratamento de íons de prata com extrato de *Capsicum annuum L* (LI *et al.*, 2007). Os resultados indicaram que os grupos amina das proteínas desempenharam um papel redutor e controlador durante a formação das AgNPs nas soluções e que a estrutura secundária das proteínas mudou após a reação com os íons de prata. Foi sugerido um modelo de nucleação e para demonstrar o possível mecanismo de formação de AgNPs no extrato de *Capsicum annuum L* (LI *et al.*, 2007).

Tendo em vista os inúmeros estudos e a busca por novas perspectivas para conciliar novas técnicas e novos materiais objetivando uma aplicabilidade no uso diário da população, este trabalho teve por objetivo estudar as propriedades mecânicas, morfológicas, de barreira ao vapor de água e antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus* dos filmes de PVOH/NCC reticulados com AC e plastificados com GL contendo AgNPs. A escolha das AgNPs foi baseada na síntese verde realizada utilizando quatro tipos diferentes de plantas oriundas da mata atlântica nordestina e que resultou em nanopartículas com menor tamanho e maior atividade antimicrobiana. Adicionalmente, foi avaliada ainda a sua forma de incorporação sobre o filme polimérico por dois processos distintos: direto na solução polimérica e por SBSp.

4. OBJETIVOS

Obter e caracterizar filmes de PVOH/NCC reticulados com ácido cítrico (AC), plastificados com glicerol (GL) e revestidos com AgNPs biogênica, visando sua aplicação em embalagens flexíveis ativas para alimentos.

Objetivos específicos

- Obter os NCC a partir do algodão comercial utilizando o processo de hidrólise ácida;
- Obter os extratos das plantas Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.), Umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.), Jurema preta (*Mimosa hostilis* Poir.) e Algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda) e caracterizar por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).
- Obter e caracterizar as nanopartículas de prata biogênica utilizando extratos das plantas Pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.), Umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.), Jurema preta (*Mimosa hostilis* Poir.) e Algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda) por espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis), espectrofotometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) de determinação da concentração inibitória mínima (CIM).
- Obter filmes de PVOH/NCC reticulados com AC, sem e com AgNPs, por *casting*, utilizando até duas AgNPs com menor tamanho da partícula obtida e melhor atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus*.
- Determinar a permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração, o ângulo de contato, perfilometria e caracterizar sua integridade estrutural e morfológica por FTIR e MEV dos diferentes filmes de PVOH/NCC/AC/GL com e sem AgNPs.
- Determinar a atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus* nos filmes de PVOH/NCC/AC/GL sem e com AgNPs, em função do potencial de inibição da formação do biofilme por fluorescência.
- Determinar dos teores de nanopartículas de prata nos filmes de PVOH/NCC/AC/GL/AgNPs por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES).

- Avaliar comparativamente a incorporação das AgNPs diretamente na formulação e por aspersão sobre os filmes por SBSp, com relação ao caráter antimicrobiano e à disposição das AgNPs.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

As etapas de produção e caracterização dos trabalhos realizados estão descritas no fluxograma da Figura 9.

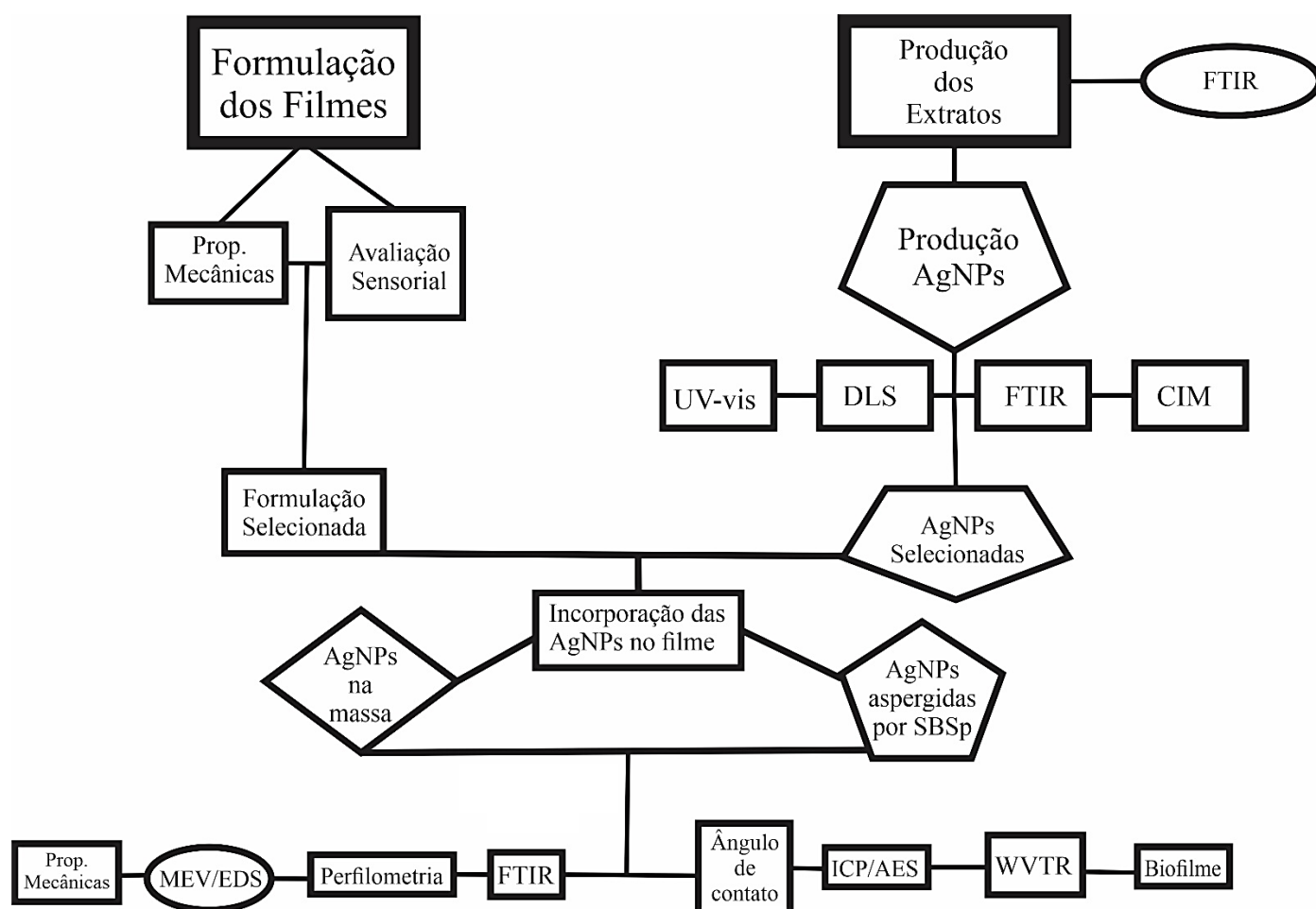


Figura 9 - Fluxograma das atividades realizada

5.1 Materiais

Para a produção dos NCC, como fonte de celulose foi utilizado algodão comercial YORK S.A. O PVOH utilizado foi o CELVOL 325 (% hidrólise – 98 ~ 98,8; viscosidade 28~32) fabricado pela KURARAY S.A. Foram utilizados ainda ácido sulfúrico (QUÍMICA MODERNA), ácido cítrico (QUÍMICA MODERNA) e glicerol bidestilado (FORTQUIM) todos com pureza analítica e utilizados sem nenhum procedimento adicional de purificação. Reagentes inorgânicos tais como: ácido nítrico a 65% (QUÍMICA MODERNA) também foram utilizados.

Para a produção das AgNPs, foram utilizados, nitrato de prata (AgNO_3) (SIGMA-ALDRICH), com 99% de pureza analítica, água deionizada e as cascas e folhas utilizadas foram extraídas do trecho de mata atlântica e da caatinga existente no campus I da UFPB e na área rural da cidade de Nova Palmeira/PB, respectivamente.

Nos ensaios microbiológicos foram utilizados agar BHI (*brain heart infusion*), *Hueller Hinton* ágar e kit de LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability L13152 (Invitrogen, Molecular Probes, Eugene, Estados Unidos).

5.2 - Síntese e caracterização de nanopartículas de prata biogênica (AgNPs)

5.2.1 – Produção dos extratos

A - Pereiro - Caules da árvore pereiro (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.) foram obtidos de uma propriedade rural na cidade de Nova Palmeira-PB, (-6°42'47.7" S 36°23'52.9" W) e posteriormente foram levadas para o Laboratório de materiais e Biosistemas. As cascas desses caules foram extraídas, lavadas com água destilada, secas para retirada do excesso de água remanescente da lavagem. Posteriormente, foram pesados 20 gramas de casca e colocados em um béquer com 500 mL de água destilada sob aquecimento simples por 60 a 90 minutos a uma temperatura de 60 a 95 °C. Após 20 minutos do início da ebulição foi interrompido o aquecimento e obtido o extrato de coloração marrom escuro por filtração em peneira para retirar as partes grandes e depois, por filtração à vácuo, utilizando um papel de filtro com poros de aproximadamente 8 µm. O extrato

obtido foi mantido sob refrigeração para sua conservação.

B - Jurema Preta - Caules da árvore jurema preta (*Mimosa hostilis* Poir.) foram obtidos de uma propriedade rural na cidade de Nova Palmeira-PB, ($-6^{\circ}42'47.7''$ S $36^{\circ}23'52.9''$ W) e posteriormente foram levadas para o Laboratório de materiais e Biosistemas. Foram utilizados os mesmos métodos de obtenção usados para a obtenção do extrato de pereiro.

C - Umbaúba – Para a produção do extrato foram utilizadas folhas extraídas de plantas Umbaúba (*Cecropia hololeuca* Miq.), oriundas de trechos de mata atlântica no campus I da UFPB, (-7.142299560411262 , -34.85029577384598) onde estas folhas foram lavadas e secas para retirar o excesso de água existentes. Foram utilizados os mesmos métodos de obtenção usados para a obtenção do extrato de pereiro.

D - Algodão da Praia - Para a produção do extrato foram utilizadas folhas extraídas de plantas Algodão da praia (*Hibiscus pernambucensis* Arruda), oriundas de trechos de mata atlântica no campus I da UFPB, (-7.142299560411262 , -34.85029577384598) onde estas folhas foram lavadas e secas para retirar o excesso de água existentes. Foram utilizados os mesmos métodos de obtenção usados para a obtenção do extrato de pereiro.

5.2.2 – Síntese das nanopartículas de prata biogênica (AgNPs)

Para a síntese das AgNPs, foi utilizado a metodologia proposta por MURUGAN *et al.* (MURUGAN *et al.*, 2014) com algumas modificações de acordo com estudos preliminares, onde foram avaliados resultados de UV-Vis e o tamanho de partículas e polidispersividade das partículas por DLS, de acordo com cada extrato utilizado.

AgNPs/Pereiro – Após a obtenção do extrato de pereiro, foi preparado uma solução aquosa de 1mM de AgNO_3 , utilizando água deionizada. Desta solução aquosa de AgNO_3 , foram retirados 90 mL e colocados no agitador magnético para melhor solubilização, numa temperatura de $(40 \pm 5) ^{\circ}\text{C}$. Ao atingir a temperatura desejada, foram vertidos 10mL de extrato e deixados sob agitação por ≈ 70 minutos para finalizar todo o processo de redução do AgNO_3 em

nanopartículas, com obtenção de uma solução de cor escura, conforme mostra a figura 10.



Figura 10- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de Pereiro, usando uma placa de aquecimento

AgNPs/Jurema – Para a preparação das AgNPs reduzidas por jurema, foi utilizado 99 mL de uma solução aquosa de 1mM de AgNO_3 preparada com água deionizada. Esta solução (Figura 11) foi colocada em um agitador magnético e aquecidas a uma temperatura de $(85 \pm 5)^\circ\text{C}$, ao atingir essa temperatura foi adicionado 1 mL de extrato de jurema obtido anteriormente e colocados em agitação constante por um período de ≈ 35 minutos, onde após esse tempo a redução foi concluída e as AgNPs foram colocadas em um recipiente âmbar e guardadas sob refrigeração

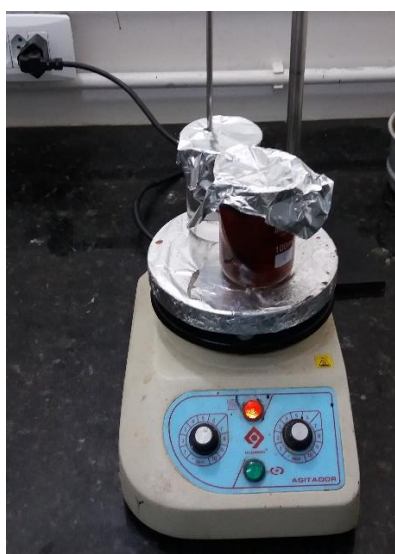


Figura 11- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de Jurema preta, usando uma placa de aquecimento

AgNPs/Umbaúba – Para o processo de produção de AgNPs utilizando o extrato de umbaúba, foi utilizado uma solução aquosa inicial de 1mM de AgNO_3 , onde esta solução foi colocada em agitação e aquecimento até 40 ± 5 °C. Ao atingir esta temperatura foi adicionado 10mL de extrato de umbaúba a solução e permaneceu sob aquecimento e agitação por um tempo ≈ 30 minutos para término do processo, obtendo uma coloração mais clara em relação às outras AgNPs obtidas, conforme mostra a figura 12.



Figura 12- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de umbaúba, usando uma placa de aquecimento

AgNPs/Algodão – Uma solução de 1mM de solução aquosa de AgNO_3 foi utilizada como precursora, onde o AgNO_3 foi solubilizado com água deionizada. Esta solução (Figura 13) foi aquecida até uma temperatura de 85 ± 5 °C, onde ao chegar nessa temperatura, foi adicionado 10 mL de extrato e mantendo essa temperatura e a agitação por ≈ 70 minutos para finalizar a redução da Ag^+ .



Figura 13- Preparação de AgNPs obtidas a partir do extrato de algodão praieiro, usando uma placa de aquecimento

5.2.3 - Espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis)

Com a finalidade de observar a banda característica das AgNPs foi realizado os ensaios de ultravioleta e visível (UV-Vis). O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro UV-Vis, modelo UV-1800, da marca SHIMADZU. A reflectância foi convertida em absorbância através de uma simples manipulação matemática. A análise por espectroscopia óptica nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) é utilizada para constatar a formação das AgNPs, mostrando sua banda de ressonância.

5.2.4 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

O diâmetro médio e a distribuição de tamanho das AgNPs foram determinados pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), utilizando um equipamento de potencial zeta ZETASIZER NANO, MALVERN. As amostras foram diluídas em água na relação de 1:10 e uma alíquota de aproximadamente 1,5 mL foi adicionada em uma cubeta de poliestireno e analisada com ângulo de 90° e temperatura de 25°C. As análises foram realizadas em triplicata e utilizando o índice de refração da prata ($n=0.135$) e a absorção de $k=3.99$, valores fornecidos pelo site da fabricante do equipamento.

5.2.5 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia FTIR foi realizada para descobrir e examinar os grupos funcionais presentes nos extratos, que podem ser responsáveis pela redução e estabilização das AgNPs. Os extratos recém obtidos e os extratos após redução/estabilização das AgNPs foram congelados e logo após o congelamento, foram liofilizados. Os pós obtidos foram prensados com brometo de potássio (KBr) na forma de pastilhas. Os espectros de FTIR foram obtidos por transmitância em um espectrofotômetro SHIMADZU IRAfinnity num intervalo de 4000-400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras.

5.2.6 – Ensaio Microbiológicos

5.2.6.1 – Microorganismos

As análises foram realizadas utilizando cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 8739 e *Staphylococcus aureus* ATCC 19095, todas pertencentes ao Laboratório de Biologia Bucal – LABIAL do Departamento de Odontologia da Universidade Federal da Paraíba e oriundas da Fiocruz – Rio de Janeiro. As culturas bacterianas foram mantidas em BHI (*brain heart infusion*), contendo 20% de glicerol em criotubos a -20 °C, para sua conservação.

5.2.6.2 – Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das AgNPs

Para preparação do inóculo, as cepas bacterianas foram cultivadas em BHI (*brain heart infusion*) a 37 °C, por 24h. Posteriormente foi realizada a leitura da densidade óptica à 625 nm correspondente a densidade para obtenção de uma massa celular de 8 log de unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL) para ambos os tipos de cepas.

As AgNPs foram, então, diluídas em BHI de maneira a se obter diferentes concentrações a serem testadas. Para determinação da CIM contra as bactérias testadas utilizou-se concentrações que variaram de 2000 a 0,976 mg/mL das AgNPs produzidas.

A CIM das nanopartículas foi determinada por meio do método de microdiluição em caldo (CLSI, 2015). Para tanto, foi feita a utilização de microplaca de 96 poços contendo BHI, o inóculo das cepas teste e os diferentes AgNPs em diferentes concentrações. Além disso, foi adicionado um controle sem adição das AgNPs e um outro controle de esterilidade do BHI sem adição de qualquer substância ou cepa teste. Foi considerada a CIM, como a menor concentração capaz de inibir o crescimento visível das cepas testadas em BHI.

5.3 - Preparação e caracterização dos filmes de PVOH/NCC reticulados

5.3.1 - Extração de NCC por hidrólise ácida

As fibras de algodão foram tratadas em uma solução aquosa de ácido sulfúrico (1:1) (m/v) a 45°C por 1 hora sob agitação constante, promovendo a quebra das cadeias de celulose da fase amorfa. A razão de fibras de algodão por solução utilizada foi de 5g por 100 mL. Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm na centrífuga *Centerium Scientific K3 Series* por 15 minutos para remoção do ácido, sendo o processo repetido por duas vezes.

Posteriormente as amostras de NCC ficaram sob fluxo contínuo de água em membrana diálise por 72h para eliminação dos resíduos do processo de extração e até que atingisse pH neutro, controlado com papel indicador de pH. Depois, o material disperso em água foi armazenado sob refrigeração.

5.3.2 - Preparação da solução de PVOH

Para o preparo das soluções fez-se uma solução de 5% (m/m) de PVOH em água. A amostra foi colocada em um frasco juntamente com água destilada e dispersa sob agitação e sem aquecimento, por volta de 30 minutos. Em seguida, a mesma foi colocada sob agitação constante em um frasco de banho maria em óleo mineral numa temperatura entre 80° e 90°C até a completa solubilização e por fim, armazenada sob refrigeração.

5.3.3 – Formulações de PVOH/NCC/Ácido cítrico/Glicerol

Os filmes de PVOH/NCC/AC/GL foram preparados via *casting*, ou seja, evaporação de solvente. As formulações iniciais foram preparadas seguindo as composições propostas na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1-Formulações dos filmes para testes

	%			
	PVOH	NCC	GL	AC
PVOH	100	-	-	-
PVOH/NCC	97	3	-	-
PVOH/GL ^{2,5}	97,5	-	2,5	-
PVOH/AC	70	-	-	30
PVOH/NCC/GL ^{2,5}	94,5	3	2,5	-
PVOH/NCC/AC	67,9	3	-	29,1
PVOH/GL ^{2,5} /AC	68,25	-	2,5	29,25
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC	66,15	3	2,5	28,35
PVOH/NCC/GL ^{5,0} /AC	64,4	3	5	27,6
PVOH/NCC/GL ^{7,5} /AC	62,5	3	7,5	27
PVOH/NCC/GL ¹⁰ /AC	60,9	3	10	26,1

Foi utilizado uma solução aquosa de 0,05 g/mL de PVOH aquecida em banho-maria a 75°C, sob agitação constante, na qual foi adicionado os teores propostos de glicerol, onde estes teores foram (m/m) em relação à massa de PVOH e 3% m/m de NCC, também, em relação à matriz de PVOH permanecendo sob agitação por 1 h.

Na sequência, seguiu-se à adição de AC na proporção proposta pelas formulações acima citadas também em relação ao PVOH (m/m). A solução ficou sob agitação(rotação) por mais 1 h. A solução obtida foi vertida em placas de teflon com volume fixo de 10mL por filme/forma e mantida por 2 horas a 75°C em estufa com circulação e renovação de ar, Q314M223, da QUIMIS aparelhos científicos Ltda. Na sequência, o filme obtido foi submetido a um tratamento térmico a 120° por 1 h em estufa a vácuo para assegurar a reticulação do filme (SONKER *et al.*, 2016).

O teor de NCC utilizado para formulações seguiu os estudos de CHO & PARK (2011) e GONZALEZ *et al.* (2014), e os teores de glicerol foram testados sob orientação dos estudos relatados por VIERA *et al.* (2011) e por UCPINAR e AYTAC (2019), deixando os valores do AC constante na proporção sugerida para a variação do glicerol

(CHO; PARK, 2011; GONZALEZ *et al.*, 2014; UCPINAR e AYTAC, 2019). Além desses estudos, a literatura nos aponta que para que proporcione um melhoramento das propriedades mecânicas e de barreira, um nanocompósito de PVOH e NCC, deve possuir pequenas quantidades de nanocristais de celulose, tendo em vista que, ao utilizar uma grande quantidade de NCC as propriedades citadas não serão atendidas, pois os NCC têm grande tendência à aglomeração em virtude dos grupos hidroxilas superficiais (DUFRESNE, 2013; TAN *et al.*, 2015).

Para escolha da formulação em que será incorporado o agente antimicrobiano, AgNPs, os filmes produzidos pelas formulações sugeridas acima na tabela 1 foram submetidos a uma avaliação visual, cujo principal objetivo era ver os aspectos de incorporação de todos os componentes das formulações, como por exemplo, exsudação, oriunda do glicerol. Outra caracterização realizada nos filmes foi ensaio de tração, visando verificar as características mecânicas dos filmes produzidos.

5.3.3.1 – Avaliação Visual

Os filmes foram preparados em moldes circulares de alumínio com revestimento de teflon com diâmetro aproximado de 95 mm, tendo sido depositados cerca de 10ml de solução em cada uma. A espessura de cada um foi medida por um micrômetro digital western 02230, tendo sido obtida uma média referente à medida de 10 pontos. O aspecto visual quanto à exsudação do glicerol dos filmes foi acompanhado a temperatura ambiente durante 7 dias, através de inspeção visual e sensorial.

5.3.3.2 – Ensaio de tração

O comportamento mecânico dos filmes em suas diferentes composições foi estudado através do ensaio de tração em um equipamento modelo INSTRON 3365 com capacidade máxima de 5 KN. Os corpos de prova foram confeccionados obedecendo à norma ASTM D 882. Os parâmetros utilizados durante o ensaio foram uma velocidade de carregamento de 10 mm/min e uma distância entre as garras de 10 mm. Para cada tipo de amostra foi determinada a resistência à tração, o alongamento e o módulo de elasticidade. Foram ensaiados 5 corpos de prova na forma de tiras de (60x10) mm, para cada amostra de filme, tendo sido retirados do dessecador com pentóxido de fósforo

(P₂O₅) imediatamente antes do teste e após no mínimo 48 horas de armazenamento nessas condições. Os resultados apresentados são a média e desvio padrão de 5 corpos de prova de cada formulação. Estes parâmetros podem ser usados para descrever como as propriedades mecânicas dos filmes se correlacionam com as suas estruturas.

5.3.4 – Produção filme reticulado e plastificado com adição das AgNPs.

Após a análise dos ensaios prévios (subitens 5.3.3.1 e 5.3.3.2) realizados com as formulações da Tabela 1, a formulação que apresentou melhor resistência à tração, sem exudação do glicerol foi:

PVOH (67%) /NCC (3%) /AC (27,5%) /GL (2,5%)

A partir desta formulação, ou seja, aquela com 2,5% de glicerol em massa, foi adicionado AgNPs por dois métodos diferentes e avaliada a eficácia desses métodos de aplicação na ação bactericida do filme. A primeira forma foi adição das soluções aquosas das AgNPs faltando 20 minutos do término do processo de incorporação dos demais itens, e a segunda forma, foi através da técnica SBSp, onde as amostras foram retiradas da estufa no final do processo, em torno de 30 minutos e aplicadas as AgNPs por aspersão através de SBSp, usando os seguintes parâmetros: pressão – 60 psi, distancia de trabalho – 25 cm e taxa de injeção – 0,5 mL/min. Para ambas as formas foram utilizados 2 mL de solução aquosa das AgNPs. Para efeitos de comparação, foram preparados filmes de PVOH puro e da matriz de PVOH aditivada sem e com NCC (Tabela 2).

Tabela 2-Formulações dos filmes reticulado e plastificado sem e com adição das AgNPs.

	%			
	PVOH	NCC	GL	AC
PVOH	100	X	X	X
PVOH/GL ^{2,5} /AC	67,5	X	2,5	30
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC	67	3	2,5	27,5
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	67	3	2,5	27,5
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	67	3	2,5	27,5
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	67	3	2,5	27,5
PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	67	3	2,5	27,5

AgNPs incorporada na solução filmogênica / AgNPs aspergida por SBSp*

Os filmes obtidos foram caracterizados por ensaio de tração, conforme metodologia descrita no subitem 5.3.3.2. As demais caracterizações estão descritas a seguir.

5.3.4.1 – Molhabilidade por ângulo de contato

O ângulo de contato com a água (CA) das formulações sugeridas foram medidas usando a metodologia proposta por (DEHNAVI *et al.*, 2013) e as diretrizes gerais da norma D7334 – 08. Foi montado um sistema óptico de medição de CA com um suporte com regulagem de altura e uma câmera de alta velocidade. As medições foram feitas imediatamente após o gotejamento de 5 µL de água deionizada na superfície da amostra por uma micropipeta fixada a uma altura de 3 mm, com temperatura ambiente de 22°C e umidade relativa de 37%. As imagens geradas foram tratadas e os ângulos medidos usando o software Image J. Os resultados foram obtidos a partir da média de no mínimo 5 leituras realizadas em diferentes partes dos filmes.

5.3.4.3 - Análise Rugosimétrica (Sa e Sz)

Com a finalidade de observar a morfologia dos filmes obtidos foram realizadas a análise da rugosidade de superfície (Sa e Sz) por um aparelho de perfilometria óptica sem

contato (CCI MP, Taylor Hobson, Inglaterra) (conectado a uma unidade computadorizada contendo o software Talysurf CCI (Taylor Hobson, Inglaterra) para obtenção dos dados.

Utilizou-se um *cutoff* de 0,8 μm com uma lente 50x e velocidade de escaneamento de 1x no modo xy. Realizou-se cinco mensurações para cada corpo-de-prova (n=20), sendo uma na área central e as demais de acordo com a movimentação da lente 2mm para a direita, para a esquerda, para baixo e para cima, seguindo o desenho de uma cruz. A rugosidade final dos padrões Sa e Sz (μm) foi obtida através da média dos cinco pontos de cada corpo-de-prova.

5.3.4.4 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS)

As análises da seção transversal dos filmes e os mapeamentos da prata por EDS foram obtidos utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura MIRA 3 TESCAM OXFORD INSTRUMENTS acoplado com um detector de energia dispersiva de raios X (EDS). As amostras das formulações sugeridas foram fraturadas criogenicamente e colocadas no suporte e foram revestidas com uma camada de ouro de 1-10nm usando um *Sputter Coater* de plasma de argônio modelo EMITECH K550X e observadas com uma tensão de aceleração entre 5-20kV.

5.3.4.5 - Determinação do teor de prata dos revestimentos

5.3.4.5.1 – Preparação das amostras

As amostras foram postas em cadinhos e queimadas em bico de Bunsen para decomposição controlada da fração polimérica. Depois, a amostra resultante foi calcinada em mufla utilizando uma taxa de aquecimento de 1°C/min da temperatura ambiente até 800°C com isoterma de 2 h a 800°C. Terminada a programação de aquecimento, a mufla foi automaticamente desligada e deixada até no mínimo 100°C para retirada dos cadinhos que foram transferidos para dessecador.

As cinzas resultantes de cada amostra foram recolhidas num recipiente fechado e diluídas em 10 mL de ácido nítrico a 65 % (m/v), utilizado para garantir limpeza completa dos cadinhos. Esse procedimento foi realizado em triplicata nos filmes onde a AgNPs foi

adicionada, tanto direto na formulação, quanto aspergidas. Um branco, isto é, uma amostra contendo apenas PVOH também foi preparada para detectar eventual interferência do PVOH nos resultados do teor de prata.

5.3.4.5.2 - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES)

A determinação do teor de prata nas amostras, dissolvidas em ácido nítrico e preparadas conforme subitem 5.3.4.5.1, foi efetuada utilizando um espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP 03) da Varian, modelo Vista MPX. Um nebulizador de vidro foi utilizado para introdução das amostras no ICP-AES. O gás utilizado para geração do plasma foi o argônio comercial (99,997%) com fluxo de 15 L/min, o qual também foi utilizado como gás de nebulização e auxiliar num fluxo de 0,7 e 1,5 L/min, respectivamente. Essa análise foi realizada em triplicata e o limite de detecção do método foi de 0,03 µg/L.

5.3.4.6 - Taxa de transmissão de vapor de água (WVTR)

O procedimento foi baseado no ASTM E96-00 (ASTM, 2000) e por (GATTO *et al.*, 2019). Cinco amostras em forma de disco fixadas no topo das células de permeabilidade, onde 3 contendo pentóxido de fósforo (P₂O₅). As células foram acondicionadas em dessecador contendo solução salina saturada (cloreto de sódio) a uma umidade relativa de 50 ± 5% e mantidas em uma estufa com temperatura controlada (45 ± 1) °C. Usando uma escala analítica, o ganho de massa do sistema (célula e amostra) foi determinado em intervalos de tempo, durante 168 horas. A taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) (gH₂O / m²h) foi calculada usando a formula abaixo, onde G (g) é o peso ganho pelo sistema, A (m²) é a área exposta à transmissão de vapor e t (h) é o número de horas que a amostra passou na câmara.

$$WVTR = G / (A.t)$$

5.3.4.7 – Avaliação antimicrobiana de filmes de AgNPs em modelo de biofilme microbianos.

Para o estudo de formação de biofilmes foram utilizados corpos de prova de 8 mm de diâmetro de inox, fabricados em torneiro mecânico. Os filmes de PVOH 100% e com AgNPs, foram depositados em uma de suas faces e aderidos com fita dupla face.

Os corpos de prova foram colocados e imersos em placas para cultura de células de 24 poços (Figura 14) imersos em 1,6 mL de ágar BHI (Brain Heart Infusion caldo HiMedia™) e 0,4 mL de inóculo bacteriano padronizado para 0,5 na Escala de Mcfarland. Depois, essas placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 24 horas.



Figura 14-Placas de culturas utilizadas no ensaio

As espécies bacterianas testadas foram *Staphylococcus aureus* ATCC e *Escherichia coli* ATCC. Concluído o período de incubação, os corpos de prova foram então imersos suavemente em solução salina estéril a 0,9% por 30 segundos até a remoção do excesso de células planctônicas sobre sua superfície. Para remoção do biofilme e sua posterior análise, os corpos de prova foram transferidos para novas placas de cultura de células estéreis contendo 2 mL de solução salina estéril a 0,9% e levados ao sonicador por 2 minutos.

A solução contendo o conteúdo celular do biofilme desorganizado ou desagregado foi quantificada por fluorescência e uma alíquota de 30 μ L desta foi transferida para microplacas pretas (FLUOTRACTM, Greiner Bio-One, Ray Lab, New Zealand) próprias para fluorescência (figura 15). Cada poço contendo as soluções analisadas recebeu mais 30 μ L da solução do usando kit de LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability L13152 (Invitrogen, Molecular Probes, Eugene, Estados Unidos) (SVENSSON *et al.*; 2014).

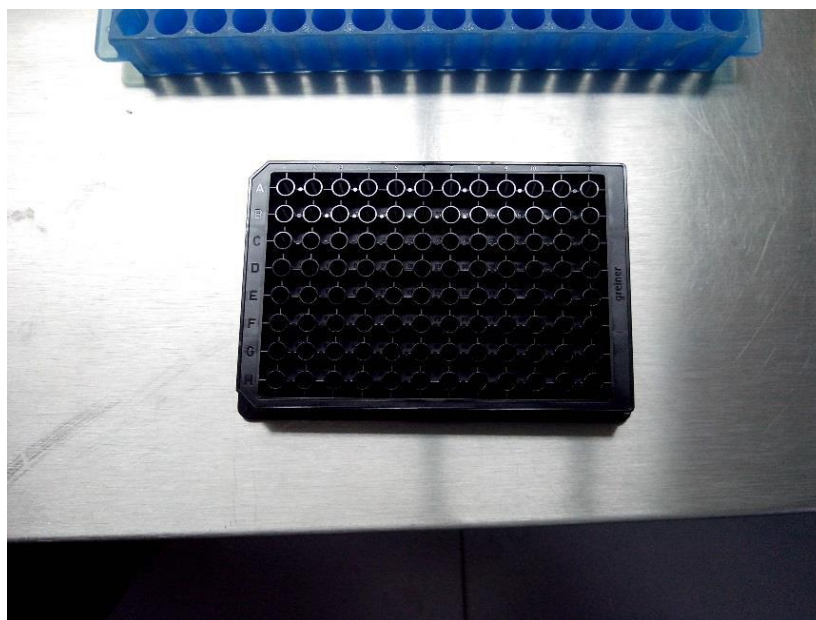


Figura 15-Microplacas utilizadas para realização da fluorescência

Para análise do biofilme, foi preparado um referencial de calibração de 2 pontos a partir de um inóculo preparado previamente, sendo um ponto contendo 100% de bactérias vivas e outro contendo 100% de bactérias mortas, isto é, bactérias submetidas à imersão em álcool isopropílico a 70% por 1 hora, centrifugadas a 5000 rpm por 10 minutos, tendo descartado o sobrenadante e recuperado a massa bacteriana suspensa em solução salina a 0,9%. Os dois pontos referenciais foram colocados na concentração de 0,5 da Escala de McFarland.

Após cada poço da placa de fluorescência receber 30 μ L da solução contendo biofilme e 30 μ L do reagente de fluorescência, esta foi coberta com alumínio para evitar exposição à luz por 10 minutos. Decorrido este tempo, as placas foram analisadas em aparelho analisador tipo FLUOstar OPTIMA (BMG Labtech) (FILOCHE, WONG e SISSONS, 2010).

O reagente possui dois corantes (SYTO 9 e Iodeto de propídio) que permitem identificar células com membrana celular danificada. O SYTO 9 (verde) cora geralmente todas as bactérias numa população, tanto aquelas com membranas intactas, quanto aquelas com membranas danificadas. O iodeto de propídio (vermelho) penetra apenas bactérias com membranas danificadas, causando uma redução na fluorescência do corante SYTO9, quando os dois corantes estão presentes na amostra. A excitação/emissão máximas para estes corantes são cerca de 480/500 nm para SYTO9 e 490/635 nm para o iodeto de propídio (NETUSCHIL *et al.* 2014).

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Síntese e caracterização de nanopartículas de prata biogênica (AgNPs)

6.1.1 - Espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis)

Os espectros de UV-Vis das AgNPs sintetizadas através dos extratos obtidos estão apresentados na figura 16.

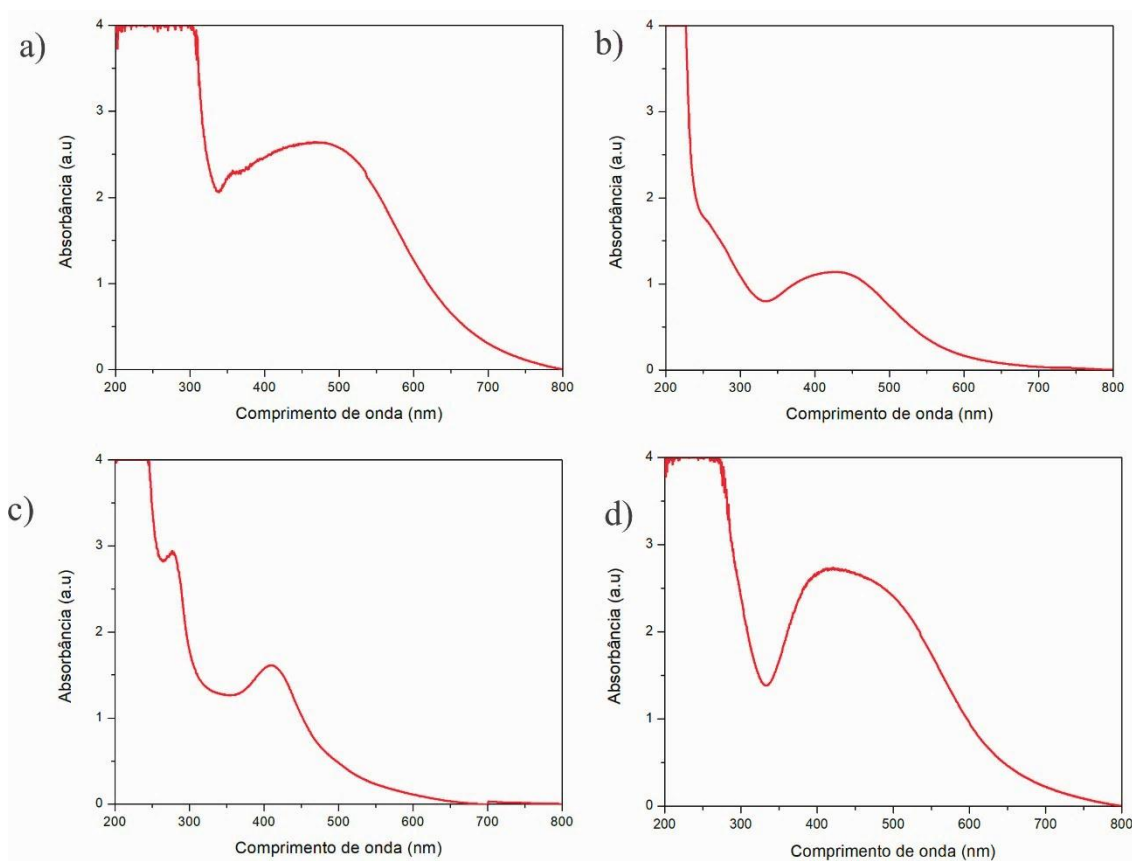


Figura 16-Espectros de UV-Vis das AgNPs sintetizadas através dos extratos estudados: a) AgNPs (Pereiro), b) AgNPs (Umbaúba), c) AgNPs (Jurema) e d) AgNPs (Algodão)

A ressonância plasmática de superfície dos AgNPs mostrou um pico perto de 450 nm nos espectros UV-Vis, com alguns deslocamentos, o que corresponde à absorbância dos AgNPs. Estes picos indicam a redução de nitrato de prata em AgNPs.

WANG *et al.* (2008) evidenciou em seus estudos que o comprimento de onda característico da absorção das AgNPs ocorre em torno de 400 nm e a posição da banda de absorção está diretamente relacionada ao tamanho médio das partículas, sendo menor quanto menor o comprimento de onda do máximo de absorção. Assim, partículas maiores

levam ao deslocamento da banda de absorção para comprimentos de onda maiores e quando o deslocamento é para comprimentos de onda menores, partículas de menor dimensão são formadas. Além disso, o formato das nanopartículas também depende da posição da banda de absorção, sendo mais circular, quanto mais próximo de 400 nm for o seu máximo de absorção (YAN *et al.*, 2012)

Desta forma pode ser observado que os espectros de UV-Vis das AgNPs sintetizadas a partir do pereiro apresenta uma banda próxima aos 400 nm, mas de forma bastante espaçada, indicando uma possível forma bimodal (formas e tamanhos) das suas partículas, como também as partículas sintetizadas pelo extrato de algodão da praia e umbaúba. O extrato de jurema produziu partículas com uma certa uniformidade em suas partículas de acordo com espectro encontrado.

6.1.2 - Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Os diâmetros médios das AgNPs obtidas através dos extratos sintetizados propostos estão descritos na figura 17. O diâmetro médio obtido pelo método de utilização do extrato de pereiro como agente redutor (Figura 17a) foi de 10 nm, com uma distribuição dos tamanhos de partículas de 0,486. Este parâmetro de distribuição dos tamanhos de partículas está relacionado com a pluralidade dos tamanhos obtidos, ou seja, este valor de 0,486 indica a presença de partículas com vários tamanhos e é considerado alto, pois o valor ideal seria próximo a zero. Como pode ser observado na figura 17a, tem-se também a presença de partículas com diâmetros menores, ou seja, entre 2 – 6 nm.

Os fitoconstituintes do extrato de umbaúba conseguiram reduzir a prata para partículas de diâmetro médio de 16 nm com uma distribuição dos tamanhos de partículas de 0,313 (Figura 17b), menor que a do pereiro. Apesar de ser um valor abaixo de 0,5, apresentou partículas com diâmetros maiores na faixa de 30 a 100 nm e de 200 a 900 nm.

Na figura 17c pode-se observar que foram obtidas partículas com diâmetro médio de 25 nm pela síntese por jurema-preta, com um valor de distribuição dos tamanhos de partículas de 0,311. Já o diâmetro médio e o valor da distribuição dos tamanhos de partículas encontrado nas AgNPs obtidas com o extrato de algodão do mangue (Figura 17d) foi, respectivamente, de 20 nm e 0,331. Ambas AgNPs apresentaram partículas com diâmetros maiores na faixa de 50 a 110 nm, no caso do extrato de jurema-preta e nas faixas de 40 a 100 nm e 150 a 500 nm, no caso do extrato de algodão do mangue.

A presença de partículas com diâmetros maiores confirma os valores relativamente altos encontrados para a distribuição dos tamanhos de partículas, como também os espectros de UV-Vis que indicaram este comportamento.

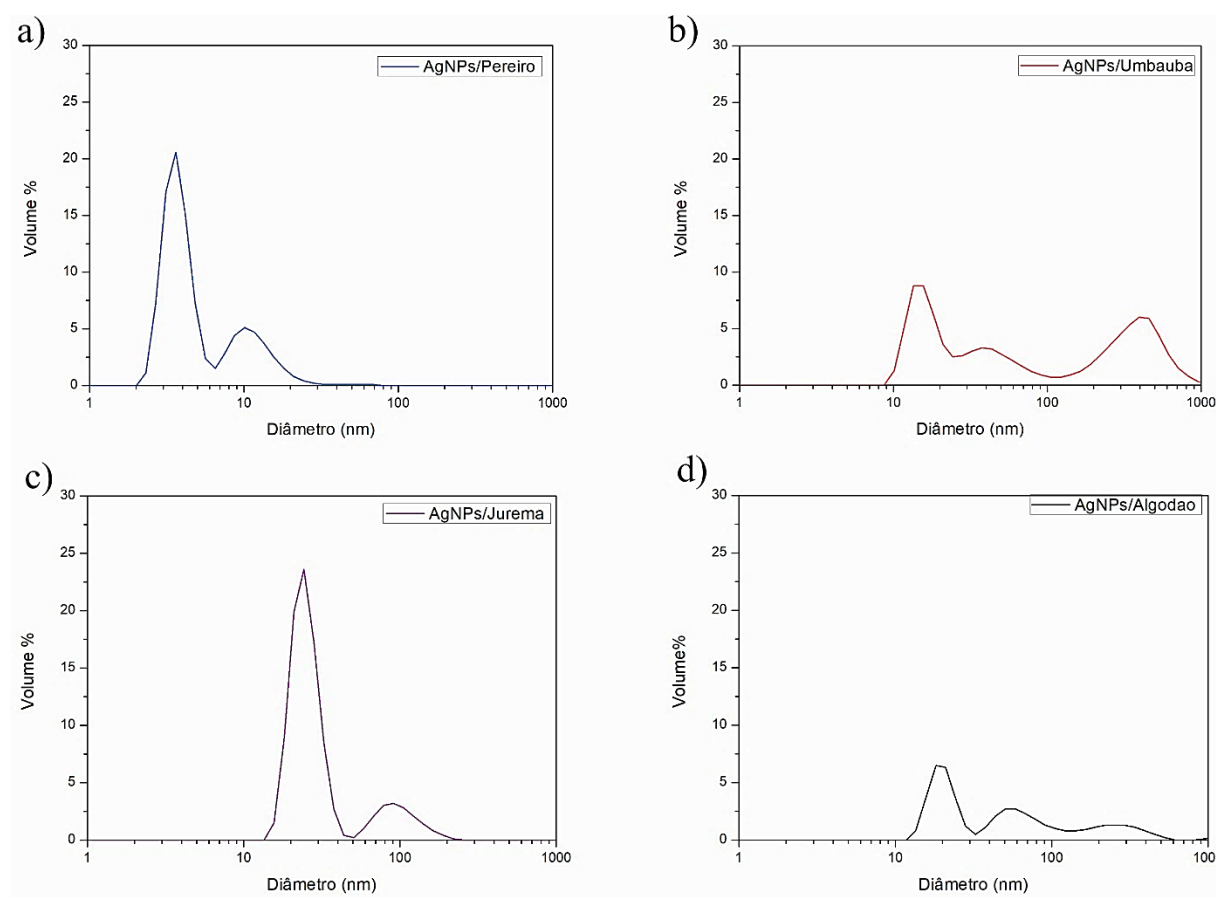


Figura 17-Diâmetros médios das AgNPs obtidas por extrato de: a) Pereiro, b) Umbaúba, c) Jurema-preta e d) Algodão do mangue

Com esses resultados podemos afirmar que esses extratos utilizados tem bom potencial para redução e formação das AgNPs. Sorescu e Nu (2016), por exemplo, realizaram sínteses de AgNPs com extratos de folhas e flores de vários tipos de plantas, entre elas, *Abutilon Indicum*, *Bergenia Ciliata*, *Clitoria Ternatea*, *Cochlospermum Religiosum*, *Dianthus Caryophyllus*, *Garcinia Mangostana*, *Hyacinthus Orientalis*, *Pinus Eldarica*, *Rumex Hymenosepalus* e *Saraca Indica*, e obtiveram nanopartículas com uma faixa de diâmetro de 2-40 nm para a *Rumex Hymenosepalus* e 90-110 nm para *Abutilon Indicum*. Os tamanhos obtidos também estão dentro da mesma faixa do encontrado por David *et al.* (2014) que utilizou extrato de *Momordica charantia* como agente redutor de nanopartículas de prata, obtendo nanopartículas com um tamanho médio de 10-50 nm.

6.1.3- Análise dos extratos pós síntese das AgNPs por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As espectroscopias de FTIR das AgNPs sintetizadas a partir dos extratos estudados estão mostradas na figura 18.

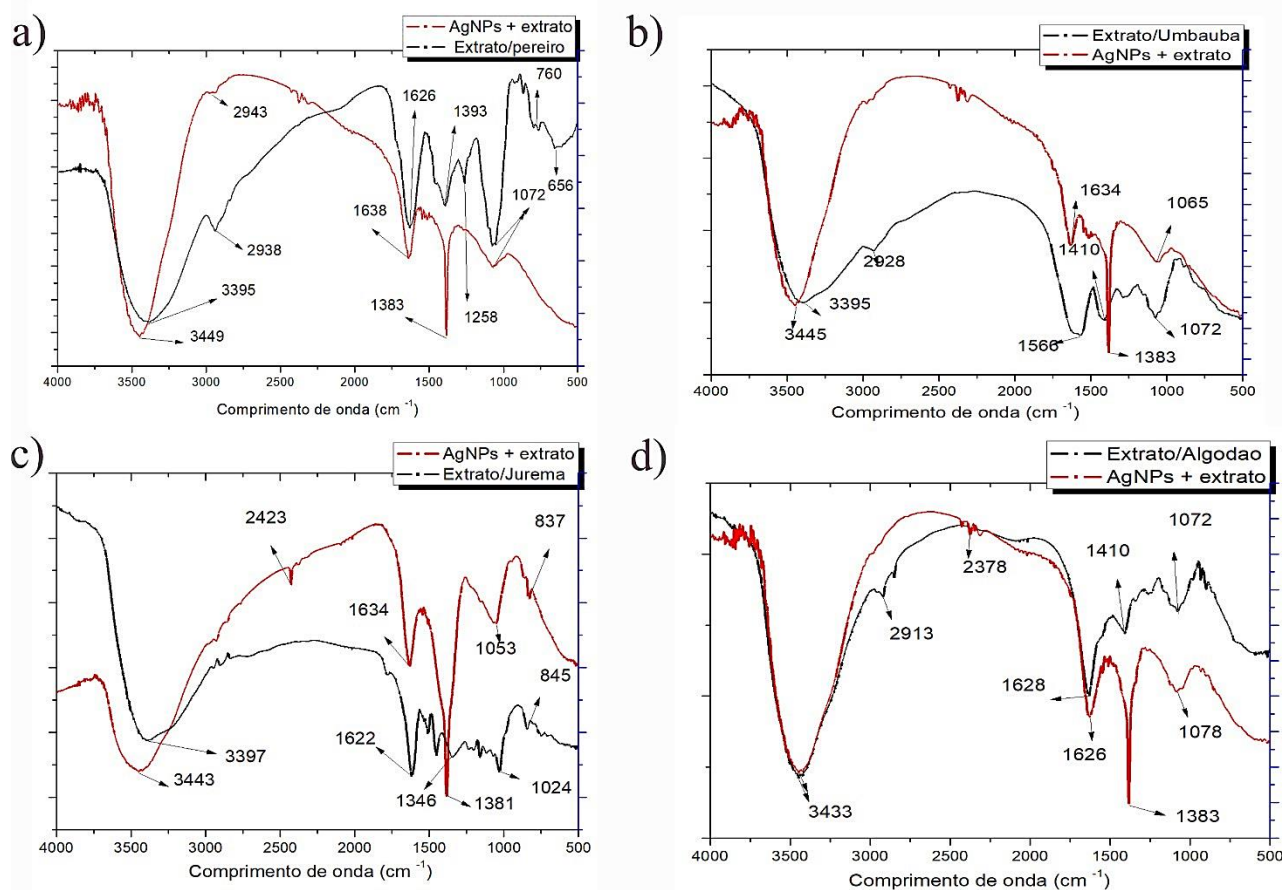


Figura 18-Espectro de FTIR das AgNPs sintetizadas por extratos de: a) Pereiro, b) Umbaúba, c) Jurema-preta e d) Algodão do mangue

De acordo com o espectro de FTIR obtido para as AgNPs, pode-se observar bandas de absorção para as AgNPs/pereiro (figura 18a) em 3449, 2943, 1638, 1383 e 1072 cm^{-1} . Com relação a banda de 3449 cm^{-1} pode-se afirmar que se trata da banda do grupo -OH, oriundo da água, mas o grupo amina tem sua banda característica na faixa de 3300-3400 cm^{-1} e pode estar encoberto pela banda do grupo -OH. A banda de 2943 refere-

se à ligação C-H, possivelmente oriunda de um grupo alifático. A região próxima da banda de 1638 está relacionada com a dupla de anéis aromáticos corroborando com a suposição da banda na faixa dos 3449 cm^{-1} . As demais bandas, 1383 e 1072 cm^{-1} , estão ligadas a vibração do alongamento N-H e um estiramento ou flexão da banda relacionada ao grupo $\text{CH}_2\text{-O}$, respectivamente. Já para o espectro do extrato de pereiro, temos as seguintes bandas: 3395, 2938, 1626, 1393, 1258, 1072, 760 e 656 cm^{-1} , indicando a presença dos grupos hidroxila, oriundo de grupos fenóis/água, alongamentos C – H, ligações duplas carbono-carbono ($\text{C} = \text{C}$), alquil e grupos C – O na amostra. Assim, esses grupos funcionais estariam envolvidos no encapsulamento dos nanomateriais produzidos e sua eventual estabilização no meio de reação, como também o sucesso na obtenção das nanopartículas (ATLI *et al.*, 2019; PAUL *et al.*, 2013; REHAN *et al.*, 2019).

A figura 18b mostra as seguintes bandas para o extrato de umbaúba puro: 3445, 1634, 1383 e 1065 cm^{-1} . As bandas encontradas se aproximam muito das obtidas para o pereiro, fazendo supor que ambos extratos apresentam os mesmos fitoconstituintes. Para a nanopartículas/extrato de umbaúba temos: 3395, 2928, 1566, 1410 e 1072 cm^{-1} . Mais uma vez os espectros apresentam comportamento muito próximo um dos outros, confirmando a hipótese acima sugerida (MOHSIN *et al.*, 2019).

O espectro do extrato de jurema preta (figura 18c) apresenta as bandas características: 3397, 1622, 1346, 1024 e 845 cm^{-1} . A banda larga em 3397 cm^{-1} é devido ao alongamento O-H em álcoois e fenóis, sobreposta ou não ao alongamento N-H de aminas. As bandas em 1622 e 1346 cm^{-1} surgem do alongamento $\text{C} = \text{O}$ e do alongamento $\text{-C} - \text{O}$ dos ésteres, respectivamente. A existência de uma banda em 1024 cm^{-1} está provavelmente relacionada ao modo de alongamento -C-O-C- , e a banda 845, relacionada a dissulfetos (AZARBANI e SHIRAVAND, 2020; VADIVELU *et al.*, 2020). Para as AgNPs/extratos temos: 3443, 2423, 1634, 1381, 1053, 837 cm^{-1} . Todas as bandas descritas correspondem aos grupos funcionais dos compostos químicos presentes no extrato da jurema preta, que sofrem um deslocamento nos valores do número de onda e uma diminuição em suas intensidades, devido à interação desses grupos funcionais com as AgNPs (HERNÁNDEZ-MORALES *et al.*, 2019).

O espectro na cor preta da figura 18d representa o FTIR do extrato da planta algodão do mangue que exibe bandas de absorção em 3433 e 2913 cm^{-1} , representando o alongamento de O-H e C-H, respectivamente. A banda de absorção localizada em torno de 1628 cm^{-1} representa a vibração N-H. A presença da banda em 1410 cm^{-1} é

relacionado ao alongamento da ligação C-H. A banda em 1072 cm^{-1} foi atribuída ao alongamento C-O (ONTONG *et al.*, 2019).

A presença dos grupos fenólicos, que teoricamente são responsáveis pela substituição dos íons, está representada nas regiões de $1315\text{-}1037$, 1600 , 1456 e 3400 cm^{-1} , onde a banda proeminente na faixa próxima dos 1600 cm^{-1} é devido ao alongamento da ligação C=C do anel aromático, confirmando assim sua presença. Comportamento semelhante foi observado por RAMASAMY *et al.* (2016) no extrato de *Pedaliium murex* utilizado em seu estudo. A banda em torno de $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ foi atribuída ao grupo amina N-H presentes em todos extratos utilizados, como também referente a absorção de umidade do ambiente (3400 cm^{-1} , grupo -OH). De acordo com o estudo de JAIN *et al.* (2008), a quercetina, um flavonoide fenólico, apresenta bandas de absorção nas seguintes regiões: 1639 e 3264 cm^{-1} . Desta forma, pode-se supor a presença da quercetina nas plantas usadas e ela ser a responsável pela redução da prata (JAIN e MEHATA, 2017).

As aminas primárias e secundárias são identificadas nas regiões de $3500 - 3100\text{ cm}^{-1}$, para seu estiramento, e $1640 - 1550\text{ cm}^{-1}$, para seu dobramento, conforme PAVIA *et al.* (2008). As espectroscopias das AgNPs desses autores (PAVIA *et al.*, 2008) mostraram picos proeminentes próximos de 1100 , 1390 , 1700 e 3400 cm^{-1} devido ao alongamento das ligações C-N (amidas alifáticas), grupo C-H, os alongamentos das ligações C=O e O-H, respectivamente. Em particular, a banda intensa e larga de absorção em torno de 3400 cm^{-1} , presente em todos os FTIR, corresponde às vibrações de alongamento da ligação OH do composto fenólico como o ácido gálico, podendo indicar o envolvimento do grupo funcional OH na redução dos íons Ag^+ .

Os espectros de absorção de FTIR indicam que o pico de vibração de alongamento do grupo carbonil (1700 cm^{-1}) mudou em relação aos extratos puros. Como os compostos fenólicos são facilmente oxidados para formar quinonas, essa mudança pode indicar que o produto da redução da prata pelo ácido gálico pode ser um composto quinoide. As bandas de absorção que aparecem no espectro de FTIR dos extratos também podem ser vistas nos espectros de FTIR de AgNPs/extratos. Isso mostra que os fitoconstituintes podem proteger as AgNPs da agregação (DAVID *et al.*, 2014).

6.1.4 – Determinação da Concentração inibitória mínima (CIM)

Para determinação da CIM contra as bactérias testadas utilizou-se concentrações que variaram de 2000 a 0,976 mg/mL das AgNPs produzidas (figura 19). Na concentração mais alta testada, as AgNPs conseguiram exercer efeito antimicrobiano contra as cepas, seja ela Gram positiva ou Gram negativa. Com a redução da concentração em 50 % (1000mg/mL) das AgNPs, apenas as amostras PER (pereiro), UMB (umbaúba) e ALG (algodão) apresentaram atividade bactericida, mas ao diminuir essa concentração, já não é possível identificar esse comportamento (Tabela 3). No que se refere aos efeitos das nanopartículas de prata contra *E. coli* observou-se que a prata apresentou o mesmo comportamento bactericida quando utilizada a concentração de 2000 mg/mL (Tabela 4). Para a redução da concentração em 50% (1000mg/mL), só foi observado este comportamento para PER e UMB. Para a amostra ALG não obteve nenhum resultado para a *E. coli*.

Tabela 3-Valores de CIM das AgNPs contra *Staphylococcus aureus* ATCC 19095

	ALG	JUR	PER	UMB
CIM	1000mg/mL	2000mg/mL	1000mg/mL	1000mg/mL

Tabela 4 - Valores de CIM das AgNPs contra *Escherichia coli* ATCC 8739

	ALG	JUR	PER	UMB
CIM	ND	2000mg/mL	1000mg/mL	1000mg/mL

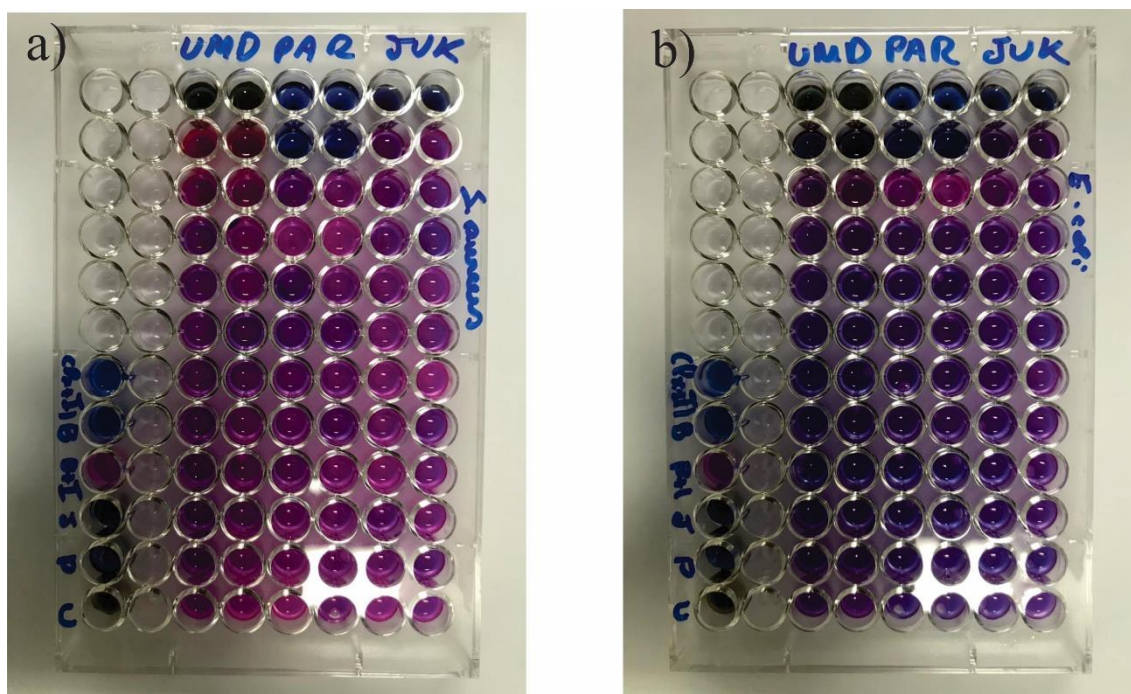


Figura 19-Ensaio de CIM das AgNPs produzidas.

6.2 – Definição do teor de glicerol na formulação de PVOH/NCC/Ácido cítrico/Glicerol

6.2.1 – Avaliação Visual dos Filmes

As fotografias dos filmes obtidos são apresentadas na figura 20. Os filmes obtidos sem incorporação de glicerol (GL) apresentaram um aspecto quebradiço e opaco. Ao adicionar os teores de GL propostos, foi observada uma melhor flexibilidade, mas também foi observado um comportamento de exsudação nos filmes para teores de GL acima de 2,5 % em massa. Logo, o teor de glicerol incorporado nos filmes ficou limitado a 2,5 % em massa. A espessura média dos filmes obtidos em todas as formulações foi de $0,075 \pm 0,002$ mm.

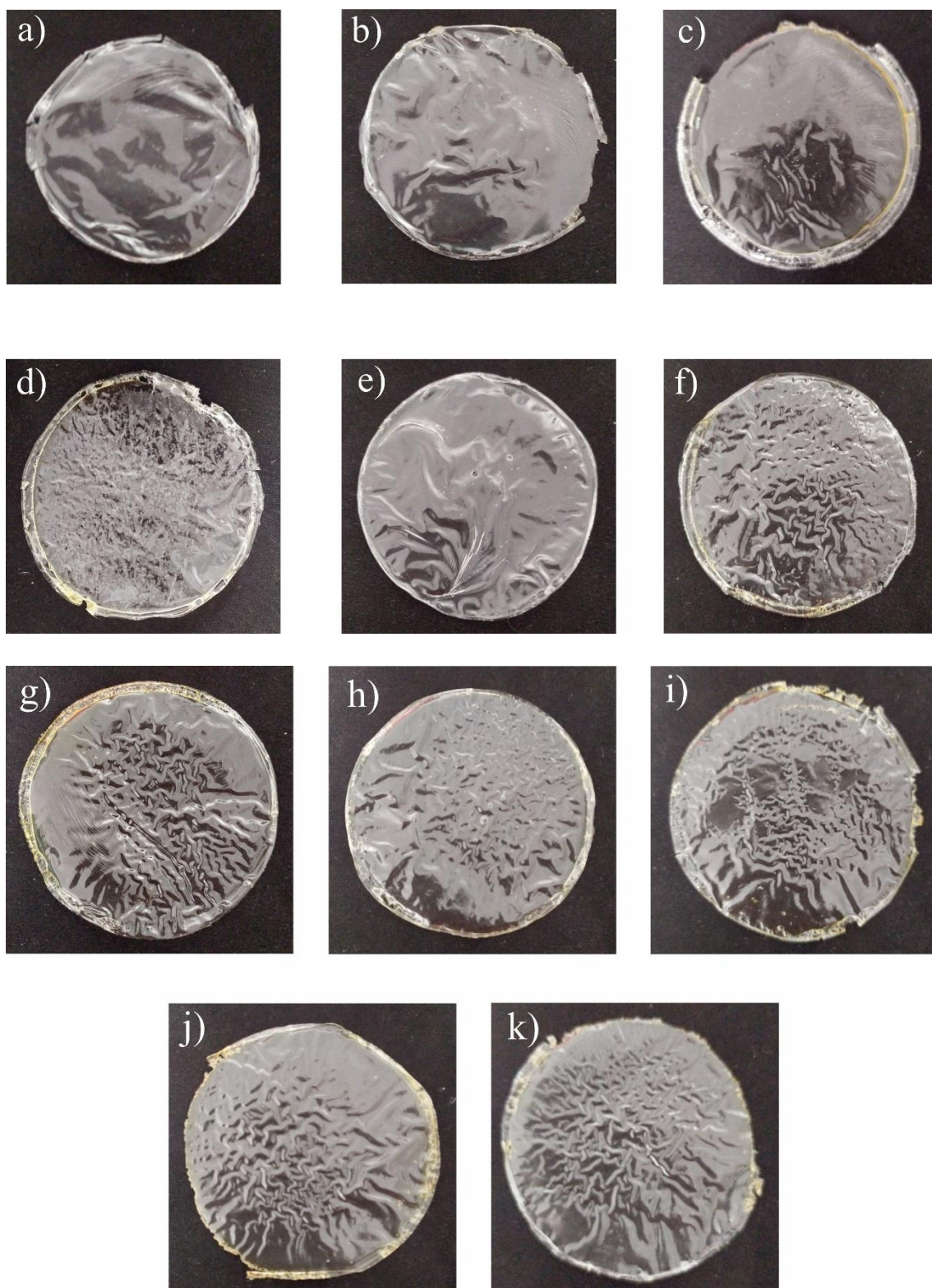


Figura 20 - Fotografias dos filmes produzidos de acordo com as formulações propostas e com 95 mm de diâmetro: a) formulação A; b) formulação B; c) formulação C; d) formulação D; e) formulação E; f) formulação F; g) formulação G; h) formulação H; i) formulação I; j) formulação J; k) formulação K

6.2.2 – Resistência à tração

Os parâmetros de tensão de ruptura (RT), alongamento na ruptura ($\% \epsilon$) e módulo de elasticidade (E) refletem as características mecânicas principais de filmes poliméricos empregados na indústria de embalagens. Sabe-se e que essas propriedades estão intimamente relacionadas com a composição química e estrutura desses filmes (DEBEAUFORT *et al.*, 1997) A Tabela 5 resume os resultados de RT, $\% \epsilon$ e E de filmes PVOH contendo diferentes composições e teores de glicerol, representados graficamente nas Figuras 21 a 23.

Tabela 5 - Dados do ensaio de resistência à tração (para 5 corpos de prova)

Amostra	Tensão de ruptura-RT (Mpa) $\pm \sigma^*$	Alongamento na ruptura ($\% \epsilon$) $\pm \sigma^*$	Módulo de elasticidade-E (MPa) $\pm \sigma^*$
A - PVOH	21,30 $\pm$ 1,55	11,03 $\pm$ 1,95	144,46 $\pm$ 6,05
B - PVOH/NCC	10,87 $\pm$ 1,42	6,15 $\pm$ 0,81	95,43 $\pm$ 3,23
C - PVOH/GL ^{2,5}	20,86 $\pm$ 0,33	14,18 $\pm$ 1,20	140,86 $\pm$ 5,75
D - PVOH/AC	10,74 $\pm$ 1,83	32,29 $\pm$ 2,99	78,96 $\pm$ 5,93
E- PVOH/NCC/GL ^{2,5}	8,63 $\pm$ 1,16	14,57 $\pm$ 0,42	69,15 $\pm$ 0,86
F- PVOH/NCC/AC	9,46 $\pm$ 0,40	64,01 $\pm$ 3,90	31,24 $\pm$ 1,32
G- PVOH/GL ^{2,5} /AC	5,710 $\pm$ 0,78	58,017 $\pm$ 5,57	12,994 $\pm$ 0,48
H-PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC	4,58 $\pm$ 0,74	64,27 $\pm$ 2,34	16,64 $\pm$ 0,92
I -PVOH/NCC/GL ^{5,0} /AC	3,82 $\pm$ 0,68	103,04 $\pm$ 3,46	7,98 $\pm$ 0,94
J -PVOH/NCC/GL ^{7,5} /AC	5,07 $\pm$ 0,29	139,55 $\pm$ 0,98	9,29 $\pm$ 0,39
K - PVOH/NCC/GL ¹⁰ /AC	5,14 $\pm$ 0,36	126,07 $\pm$ 3,36	9,68 $\pm$ 0,95

* σ – desvio padrão

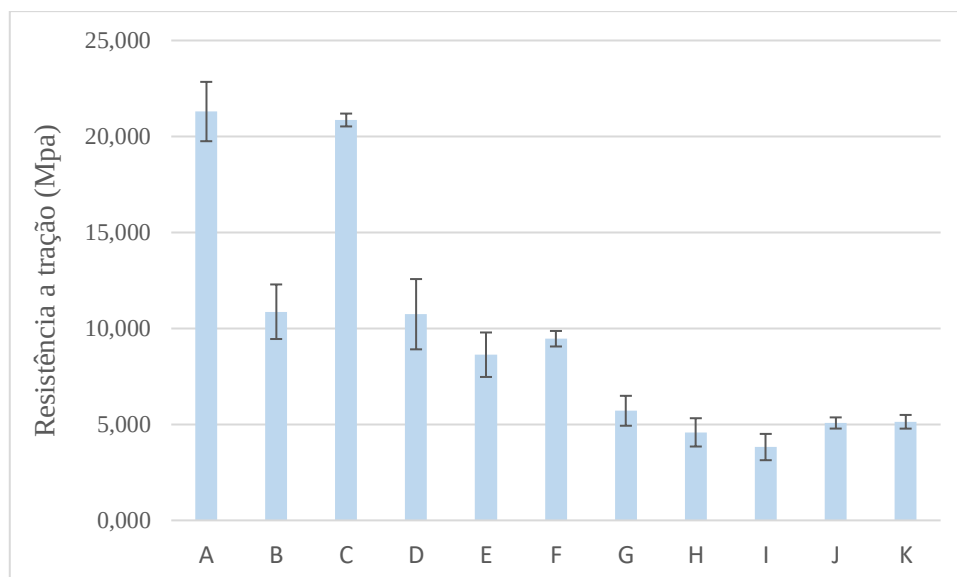


Figura 21- Valores da resistência à tração dos filmes produzidos

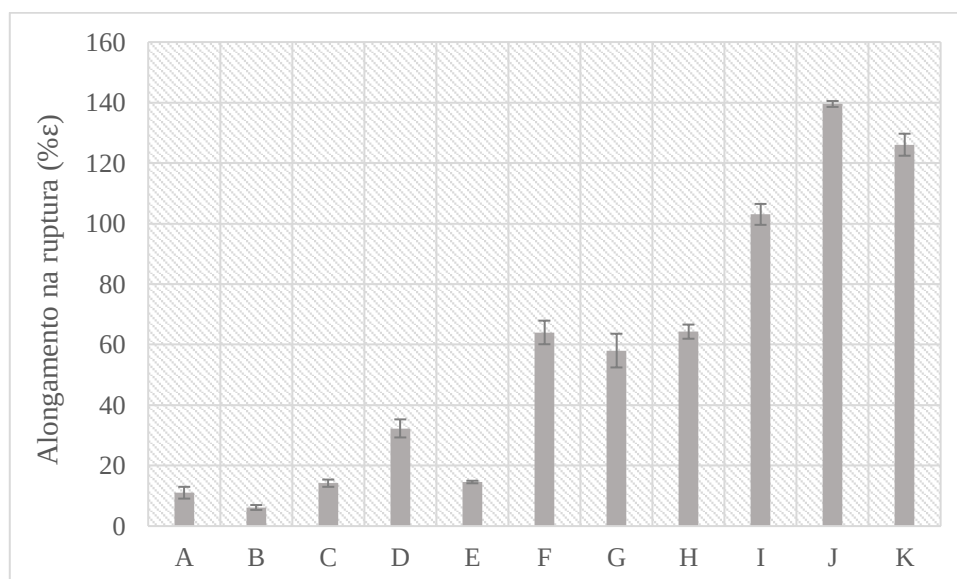


Figura 22- Valores de alongamento na ruptura dos filmes produzidos

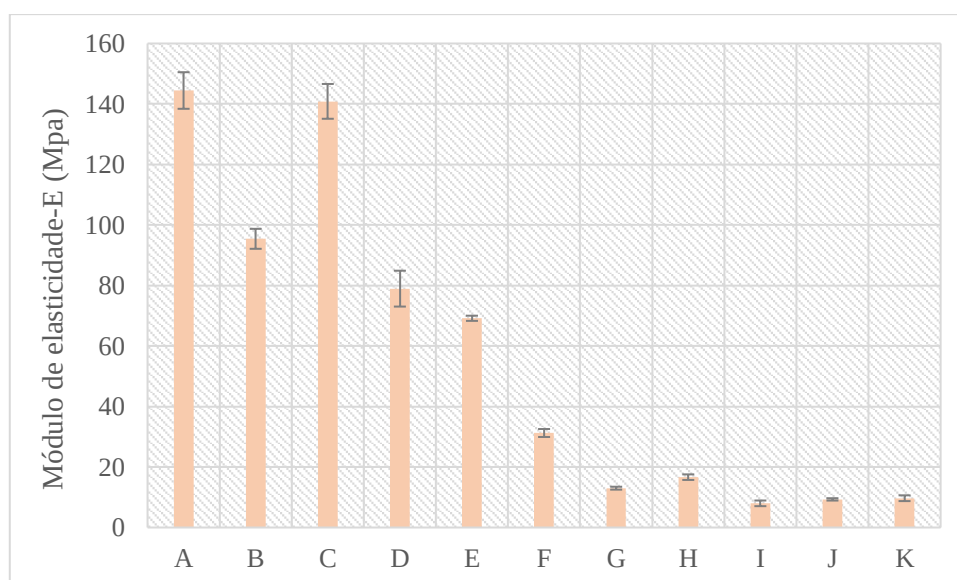


Figura 23-Valores do módulo de elasticidade dos filmes produzidos

Pode-se observar, de uma forma geral, que os filmes plastificados com glicerol apresentaram menor RT e uma tendência de queda na resistência à medida que este plastificante foi adicionado. O glicerol age como plastificante causando uma redução das interações intermoleculares e aumentando o volume livre do sistema e conduzindo a um aumento no alongamento dos filmes. Pode ainda aumentar o conteúdo de umidade devido os grupos hidroxilas do glicerol favorecem a ligação com moléculas de água. A extensão do alongamento na ruptura define a ductilidade do material, sendo maior quanto maior for o alongamento (UCPINAR ec AYTAC, 2019).

Nota-se que o comportamento de alongamento foi também afetado pela ação do reticulante (AC) nos filmes obtidos. Na Tabela 3, percebe-se que a influência do reticulante no % ϵ chega a ser maior que a influência do plastificante a base de GL, quando em concentrações de até 2,5%. A composição D apresenta um (% ϵ) de 32,28% contra 14,17 e 11,03 % das composições C e A, respectivamente. De acordo com CHAMBI *et al.* (2006), para filmes reticulados a porcentagem de alongamento na ruptura pode ser maior do que para filmes não reticulados, desde que exista muitas ligações fracas do tipo van der Waals, intercaladas com pequenos sítios de ligações fortes.

O módulo de elasticidade (E) foi calculado pela curva de tensão versus deformação, dentro do limite elástico. É um parâmetro que caracteriza a rigidez do filme, possibilitando informações a respeito da dureza ou da resistência que este apresenta à

deformação elástica. Quanto maior o módulo, maior será a resistência à deformação e rigidez do material, ou seja, o filme apresenta menor flexibilidade. Para misturas poliméricas o E é fortemente dependente da composição. De uma forma geral pode-se observar que o módulo de elasticidade diminui com o aumento do teor de plastificante. Isto se deve ao fato de que os plastificantes conseguem penetrar no filme aumentando o volume livre entre as moléculas dos polímeros, aumentando desta forma a elasticidade dos filmes (PORTO, 2007).

Sabe-se que para além de boas propriedades mecânicas, aspectos estéticos ou visuais são fatores relevantes para aplicação em produtos comerciais. Assim, fica evidente a necessidade de um conjunto de propriedades e características. Portanto, para aplicação de nanopartículas de prata e estudo de inibição bacteriana foi selecionado a **formulação H, ou seja, PVOH (67%) /NCC (3%) /AC (27,5%) /GL (2,5%)**, como a mais apropriada por conciliar boas propriedades mecânicas e visuais. Formulações contendo mais que 2,5 % de GL, embora tenham tido um ótimo desempenho de alongamento na ruptura, apresentaram exsudação, indicando que houve extrapolação do limite de solubilidade de GL na matriz de PVOH.

6.3 – Caracterização dos filmes de PVOH/NCC/AC/GL^{2,5}/AgNPs

6.3.1 – Resistência à tração

Apesar do objetivo principal da incorporação das nanopartículas de prata nos filmes de embalagem seja seu caráter antimicrobiano, melhorando a segurança alimentar, existem alguns benefícios adicionais que podem ser obtidos com esse aditivo. Conforme KUORWEL *et al.* (2015) muitos autores têm reportado uma sinergia nas propriedades mecânicas em decorrência de incorporação de nanopartículas de prata em filmes poliméricos. Os valores de RT, % ϵ e E para os compósitos PVOH/NCC/AC/GL^{2,5}/AgNPs são apresentados na Tabela 6, as representações gráficas individuais dessas propriedades mecânicas são mostradas nas Figuras 24 a 26.

Tabela 6 - Dados do ensaio de resistência à tração dos filmes da formulação proposta sem e com diferentes tipos de AgNPs incorporadas por dois métodos distintos.

Amostra	Tensão de ruptura -RT (MPa) $\pm \sigma$	Alongamento na ruptura (% ϵ) $\pm \sigma$	Módulo de elasticidade -E (MPa) $\pm \sigma$
H ₁ - PVOH	9,43 $\pm$ 1,39	64,69 $\pm$ 2,25	82,36 $\pm$ 5,54
H ₂ - PVOH/GL ^{2,5} /AC	5,08 $\pm$ 0,41	107,27 $\pm$ 8,65	8,37 $\pm$ 0,40
H ₃ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC	8,54 $\pm$ 0,84	18,61 $\pm$ 0,77	94,91 $\pm$ 5,18
H ₄ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	9,01 $\pm$ 0,64	24,72 $\pm$ 1,66	217,99 $\pm$ 17,01
H ₅ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	9,82 $\pm$ 0,05	20,29 $\pm$ 1,42	220,28 $\pm$ 3,22
H ₆ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	6,05 $\pm$ 1,22	42,80 $\pm$ 2,05	14,38 $\pm$ 3,77
H ₇ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	4,05 $\pm$ 0,13	34,01 $\pm$ 2,56	12,95 $\pm$ 2,18

*AgNPs incorporada na solução filmogênica /** AgNPs aspergida por SBSp/PER-Pereiro/UMB-Umbaúba; σ – desvio padrão

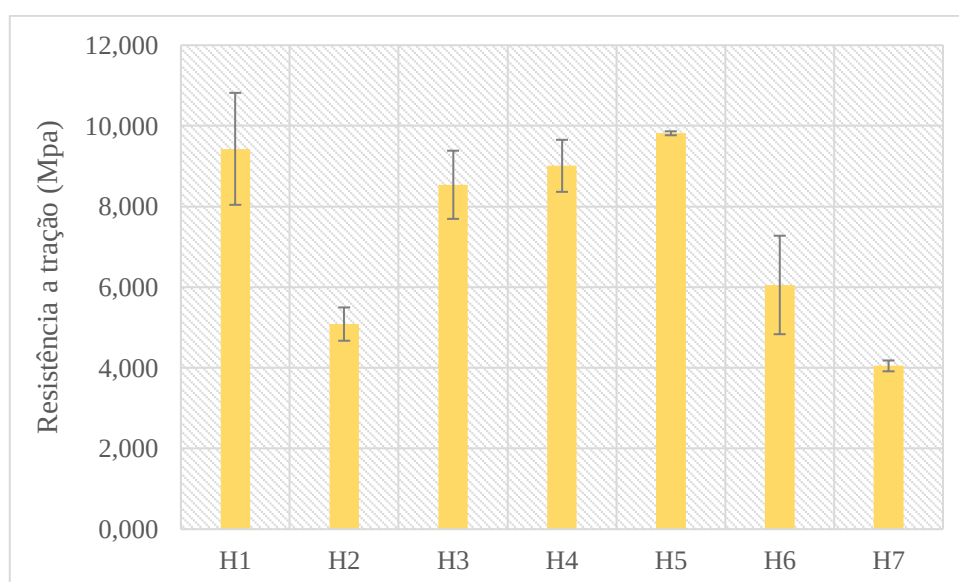


Figura 24-Valores da resistência a tração dos filmes produzidos

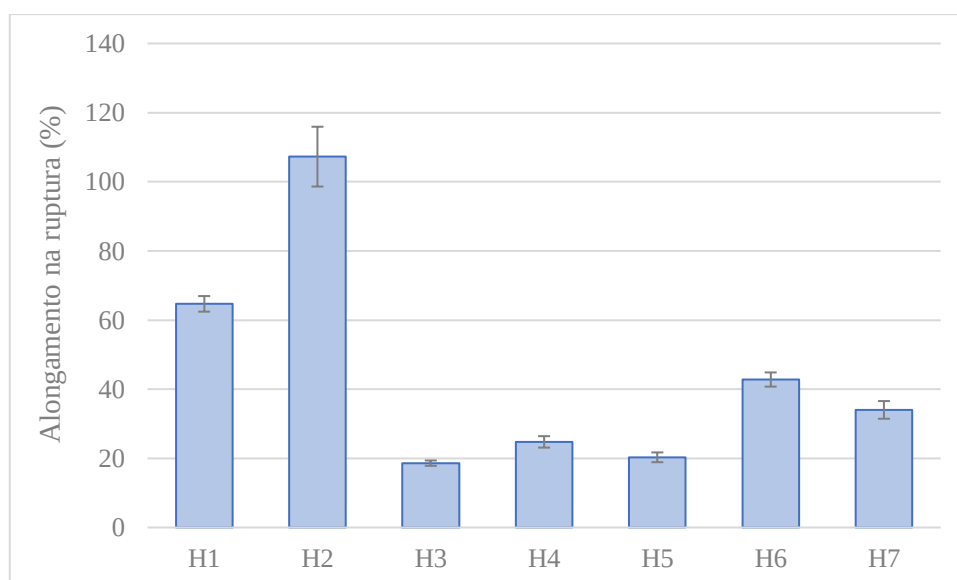


Figura 25-Valores de alongamento na ruptura dos filmes produzidos

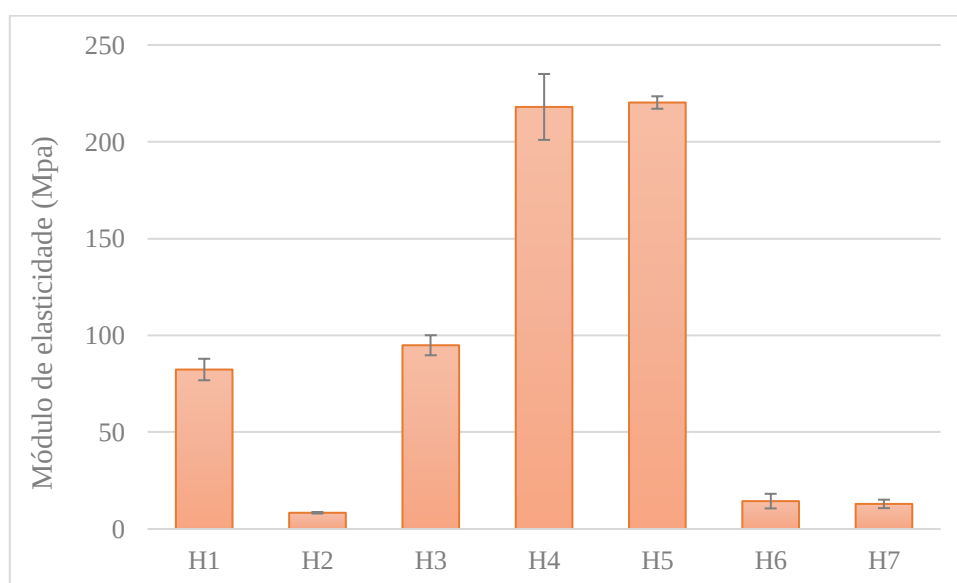


Figura 26-Valores do módulo de elasticidade dos filmes produzidos

Os filmes contendo AgNPs, apresentaram melhores resultados nas propriedades mecânicas comparado aos filmes sem adição de AgNps. Sabe-se que nano cargas tem potencial maior de conferir melhorias nas propriedades gerais de compósito em detrimento de micro cargas, o caráter nanométrico possibilita interações desta mesma ordem de grandeza, resultando em propriedades finais muito mais pronunciadas (KUORWEL *et al.*, 2015). O aumento da resistência mecânica pode ser atribuído à boa interação física entre a matriz polimérica e as AgNPs. Conforme SARWAR *et al.*, 2018

a distribuição das AgNPs cria um grande contato interfacial com matrizes de polímeros. Sendo as interações de interface entre carga e matriz os principais responsáveis pelas propriedades finais em materiais compósitos (SCHADLER *et al.*, 2007).

Os autores RHIM *et al.* (2006), LAVORGNA *et al.* (2014), EMAMIFAR *et al.* (2010) e JAIN *et al.*, (2008) reportaram comportamento semelhante nas propriedades mecânicas quando da adição de nanopartículas de prata, registrando incremento nas propriedades de (RT) e (E) com consequente redução do (% ϵ).

Apesar de um comportamento geral de redução do (% ϵ) com a adição de AgNps quando comparado a filme puro, filmes contendo AgNPs provenientes do extrato de umbaúba obtiveram melhores resultados no alongamento na ruptura, fato este que pode estar relacionado com os componentes do extrato que inibem a aglomeração das partículas de AgNPs mas não impedem a interação das partículas com a matriz, como pode estar acontecendo nos filmes com adição de AgNPs provenientes do extrato de pereiro. Observa-se ainda que as amostras D e E, contendo AgNPs obtidas do pereiro apresentaram maior (E), o que pode ser atribuído à menor dimensão média das AgNPs, 10,03 nm, provenientes deste extrato como verificado nos ensaios de DLS. Quanto menor o tamanho das partículas maior será área superficial implicando em maiores interações de superfície, justificando a propriedade (E) destacada quando comparado aos filmes contendo AgNPs obtidas de umbaúba.

Quanto ao mecanismo de incorporação das AgNps nos filmes, percebe-se que as propriedades alcançadas pela incorporação de AgNPs diretamente na solução filmogênica foram mais expressivas, a exceção da elongação na ruptura a qual é coerente com o elevado módulo de elasticidade apresentado. Tais propriedades destacadas provavelmente relacionam-se tanto com o tipo de extrato, pereiro ou umbaúba, quanto com a dispersão e distribuição das nanopartículas de prata no interior da matriz polimérica, visto que as AgNPs atuam, além da ação antimicrobiana, também como carga no compósito PVOH/NCC/AC/GL^{2,5}/AgNPs. No entanto acredita-se que a função bactericida das AgNPs é melhor explorada nos filmes cujas AgNPs foram incorporadas via SBS, possibilitando maior região de contato com o ambiente externo a superfície do filme.

6.3.2 - Análise Rugosimétrica (S_a e S_z)

A morfologia e a topografia das amostras produzidas estão apresentadas nas figuras 27 e 28.

De acordo com as imagens obtidas pode-se observar que mesmo os filmes sem incorporação de AgNPs possuem grande rugosidade, indicando ser uma característica do processo de fabricação que utiliza estufa de circulação forçada de ar. Apesar de outros processos de fabricação (spin coating, SBSp) terem sido utilizados, não se obteve sucesso na formação do filme com a concentração/viscosidade da solução de PVOH estudada. Outra possível causa é a liberação de água durante o processo de conformação do filme e a reticulação do filme, tendo em vista, o grande número de hidroxilas presente nos constituintes do filme e a reação com o ácido cítrico, resultando em liberação de água e podendo ser a causa também dessa rugosidade.

Outro ponto observado pelas imagens é a formação de grandes “poros” nas amostras E e G que são referentes às com adição de AgNPs por SBSp. Este comportamento pode estar relacionado com a aspersão de água no filme e também, com a pressão exercida pelo ar do sistema de SBSp, apresentando grandes realces em sua morfologia. A morfologia de picos e vales podem ser as AgNPs aspergidas, o que favorecerá a ação antimicrobiana da nanopartícula no filme.

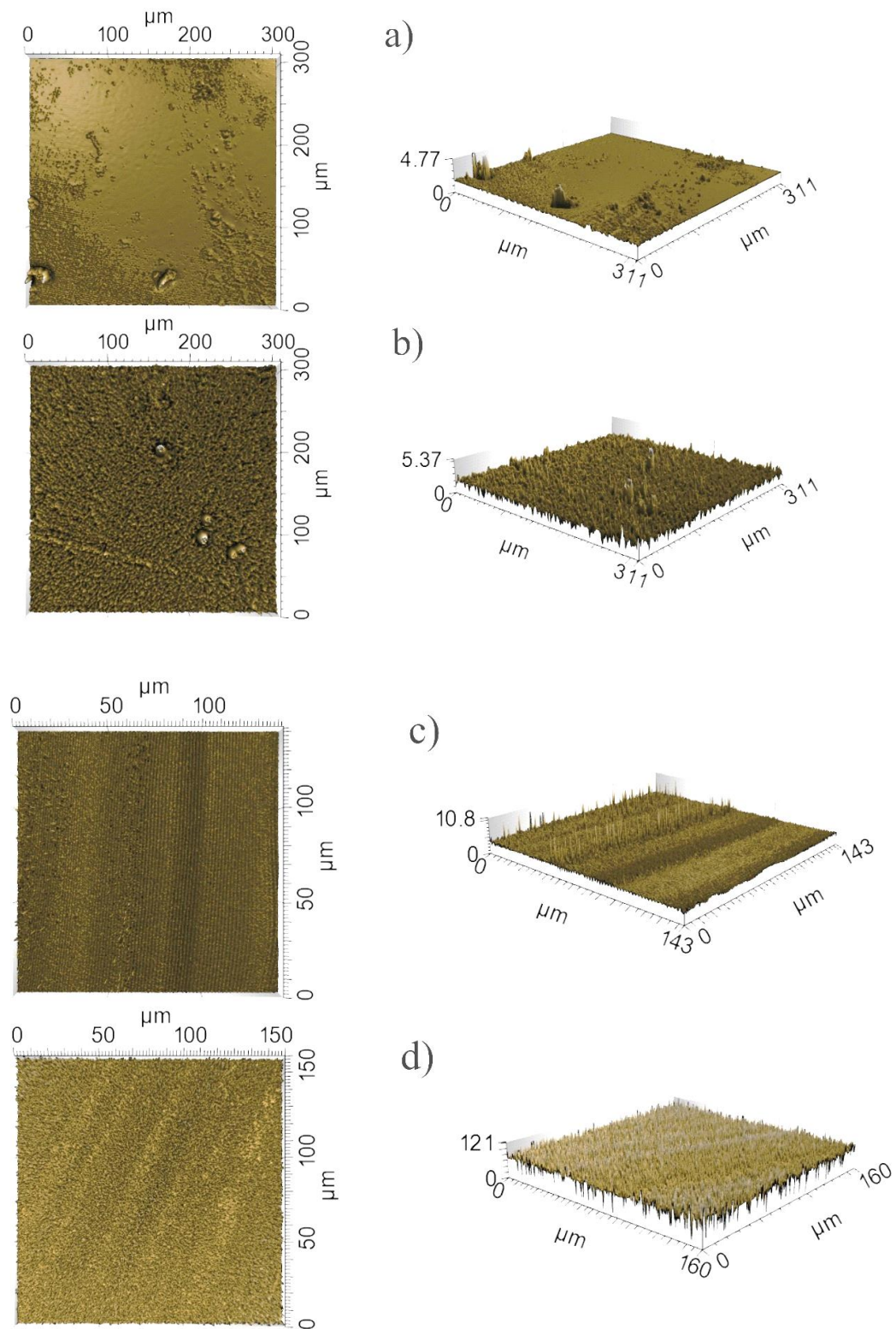
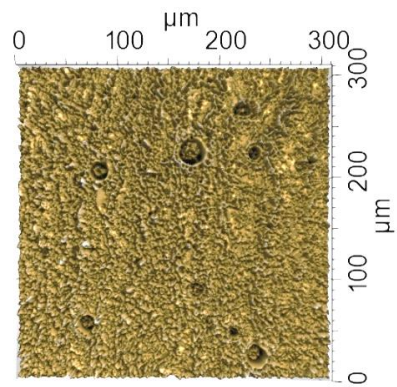
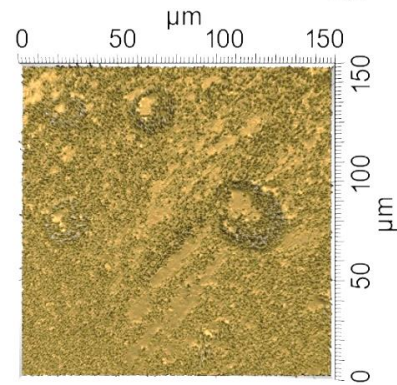
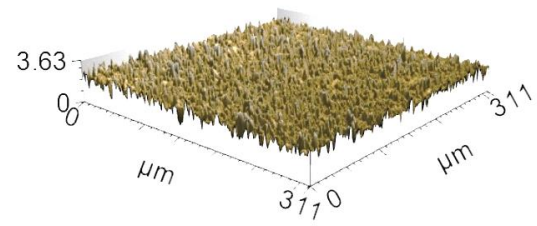


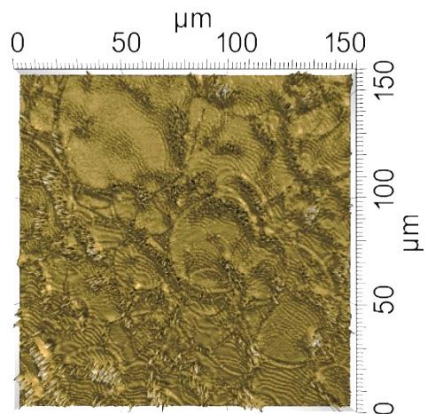
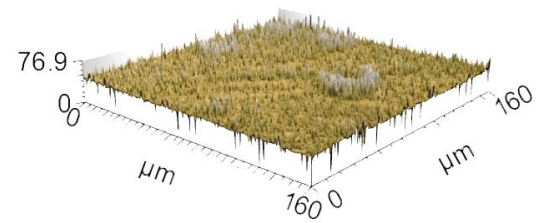
Figura 27-Imagens em 2D e 3D por perfilometria das amostras: a) PVOH, b) PVOH/GL2,5/AC, c) PVOH/NCC/GL2,5/AC, d) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer*.



e)



f)



g)

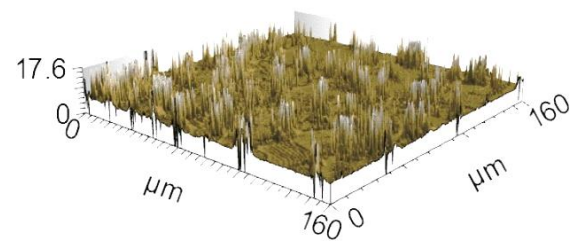


Figura 28-Imagens em 2D e 3D por perfilometria das amostras: e) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer**, f) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb*, g) PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb**

6.3.3 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada a espectrometria de energia dispersiva de raios-X (EDS)

As micrografias de MEV e o mapeamento da prata dos filmes H4 (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Per*}), H5 (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Per**}), H6 (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Umb*}) e H7 (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Umb**}) estão apresentados nas figuras 29 e 30, respectivamente.

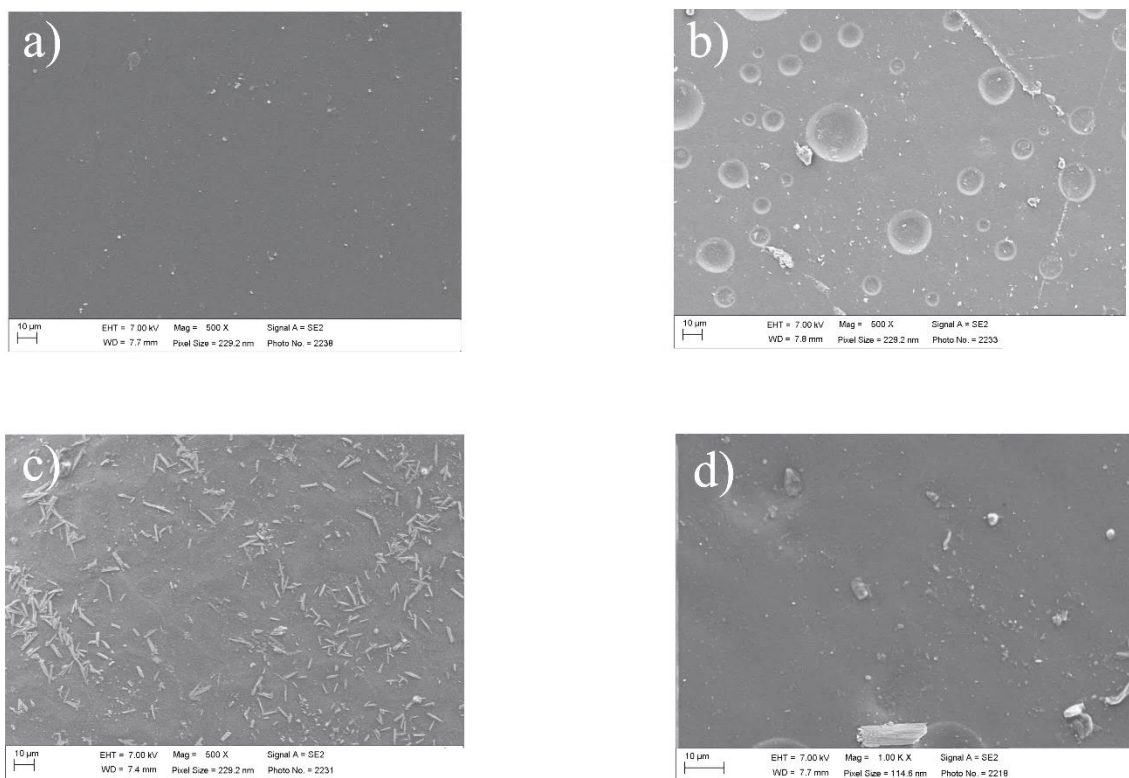


Figura 29- Micrografia de MEV da superfície das amostras: a) (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Per*}), b) (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Per**}), c) (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Umb*}) e d) (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Umb**}).

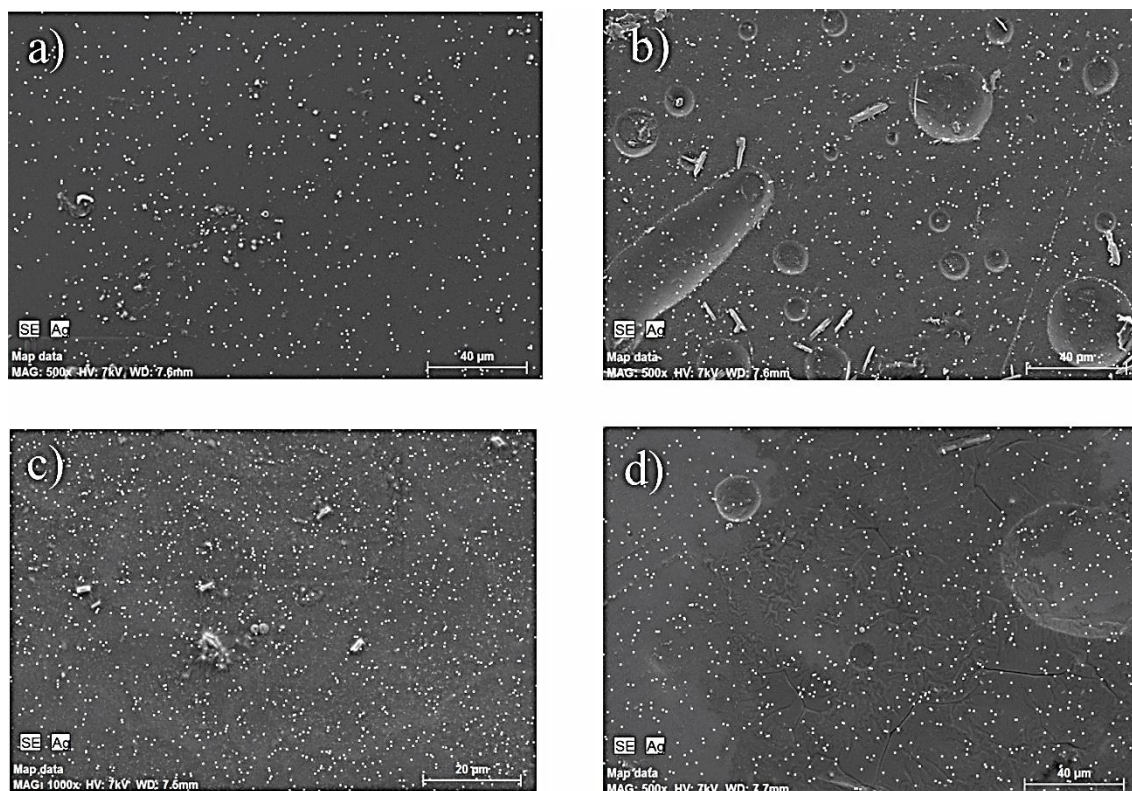


Figura 30- Mapeamento da prata (pontos brancos) na superfície nas amostras por EDS: a) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer*), b) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgPer**), c) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb*) e d) (PVOH/NCC/GL2,5/AC/AgUmb**).

As micrografias dos filmes produzidos apresentaram boa incorporação da mistura (NCC, ácido cítrico, glicerol e AgNPs) na matriz polimérica PVOH, onde a única exceção foi a amostra do filme H5 (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Umb*}) que ainda apresentou NCC em sua superfície, em forma de aglomeração, possivelmente pela sua migração para a superfície durante a preparação dos filmes.

Resultado similar ao encontrado no trabalho, foi exposto por SARWAR *et al.*, onde fora incorporado a matriz de PVOH, NCC e AgNPs e estudados suas propriedades, onde por imagens de MEV, ele mostrou a incorporação dos constituintes e em algumas situações a não incorporação total das nanopartículas (NCC/AgNPs) (SARWAR *et al.*, 2018).

O mapeamento das amostras identificou a presença das AgNPs, conforme ilustrado na figura 30 pelos pontos brancos nas micrografias das amostras estudadas. Onde podemos também observar uma boa dispersão das AgNPs indiferente do método de aplicação, por SBSp ou adicionando na mistura filmogênica.

6.3.4 - Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-AES)

As amostras com a adição de AgNPs apresentaram os seguintes teores de prata como expostos na tabela 7

Tabela 7 - Teor de prata nos revestimentos

Amostras	Teor Ag ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) *
H ₁ - PVOH	0,0269 $\pm$ 0,0009
H ₄ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	2,2981 $\pm$ 0,1686
H ₅ -PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	0,296 $\pm$ 0,0664
H ₆ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	2,452 $\pm$ 0,2822
H ₇ -PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	0,378 $\pm$ 0,0151

* Valores da média e desvio padrão(σ) da triplicata.

Conforme esperado os maiores valores foram obtidos pelas amostras que tem a incorporação das AgNPs durante o processo de formação do filme, apesar de apresentar grande desvio padrão, onde se justifica, em virtude de utilizar as nanopartículas em solução aquosa sem perdas, como ocorre na aspersão aleatória sobre os filmes.

A amostra A, que representa o PVOH puro, apresentou teores de Ag em virtude de possível contaminação. Porém o teor encontrado é significativamente menor que aquele obtido nas amostras contendo AgNPs. Os resultados dos filmes aspergidos por SBSp, apresentam uma diminuição dos teores, pois não é possível garantir que toda Ag aspergida seja incorporada no filme, apenas ajusta-se os parâmetros de trabalho (WD, Pressão, Taxa de injeção) para minimizar as perdas.

6.3.5 – Determinação do ângulo de contato

As imagens e os resultados das medidas de ângulo de contato (em graus °) constam da Tabela 8 e Figura 31.

Tabela 8 - Valores do ângulo de contato para os filmes produzidos

Amostras	Ângulo de contato (°) * $\pm \sigma$
H ₁ - PVOH	22,78 $\pm$ 3,28
H ₂ - PVOH/GL ^{2,5} /AC	51,26 $\pm$ 2,67
H ₃ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC	53,36 $\pm$ 2,66
H ₄ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	57,61 $\pm$ 3,72
H ₅ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	42,27 $\pm$ 3,12
H ₆ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	37,26 $\pm$ 5,00
H ₇ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	27,94 $\pm$ 3,39

*Valores correspondentes a média e desvio padrão(σ) de 5 medidas

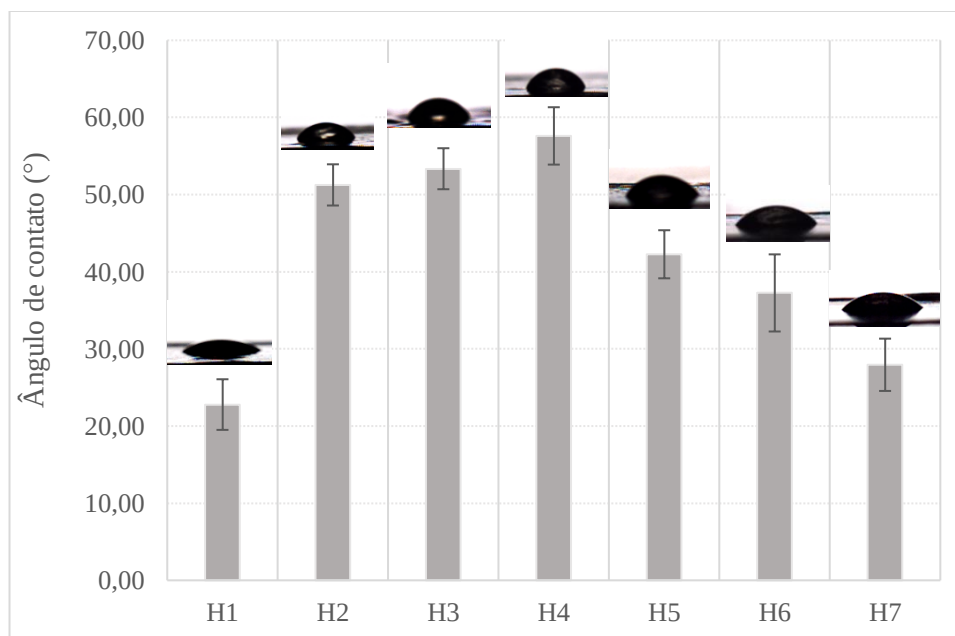


Figura 31-Valores médios do ângulo de contato dos filmes produzidos

Como demonstra a tabela 8 e a figura 31, os ângulos de contato das formulações aumentaram em relação ao polímero puro, onde a formulação H₄ (PVOH/NCC/GL^{2,5}/AC/Ag^{Per*}) com a adição das AgNPs de pereiro direto na formulação

obteve o melhor resultado, ou seja, obtendo o maior caráter hidrofóbico. Comportamento este justificado pela interação das AgNPs com a matriz polimérica como dito anteriormente e também, uma melhor reticulação da amostra utilizada. Conforme observado, uma das finalidades do processo de reticulação foi uma melhor interação das ligações entre o PVOH e o NCC, dificultando uma ligação com a água, melhorando assim o caráter hidrofóbico do filme.

Os resultados obtidos foram bons quando comparados com alguns estudos realizados, como o de KUCHAIYAPHUM *et al.* (2014), que produziu os filmes de PVOH / amido de arroz / fibra de seda (PVOH / RS / SF) que foram modificados pela adição de glicerol, onde ele conseguiu um aumento significativo em suas amostras (em média um aumento de 40 ° no ângulo de contato). Além disso, os filmes modificados com glicerol tratados com etanol também apresentaram maior grau de intumescimento com solubilidade constante e melhores propriedades mecânicas

Em outro trabalho realizado, ZHANG *et al.* (2019) sintetizaram filmes de hidrogel de PVOH/ carboximetil quitosana / cianidina (PVOH / CMCS / CY) e verificou suas propriedades, sendo uma delas a sua hidrofobicidade através do ângulo de contato. O ângulo de contato dos filmes de hidrogel de PVOH / CMCS / CY foi maior que o dos filmes de PVOH / CMCS, indicando que os filmes de hidrogel de PVOH / CMCS / CY eram mais hidrofóbicos que os filmes de PVOH / CMCS devido à presença de CY (ZHANG *et al.*, 2019), comportamento semelhante ao trabalho proposto.

WU *et al.* estudou o efeito da reticulação induzida por ácido cítrico (CA) na estrutura e propriedades do filme composto de amido de batata (PS) / quitosana (CS), onde em virtude da reticulação, os valores dos ângulos de contatos dos filmes PS / CS reticulados sem e com CA, onde aumentou de 34,47 ° para 56,43 ° (com adição de 15% CA), indicando que a hidrofobicidade da superfície dos filmes PS / CS foi melhorada. Isso pode estar relacionado à formação de grupos éster hidrofóbico entre o ácido cítrico e os polissacarídeos, levando a uma diminuição no número de grupos polares, dificultando a absorção de água da superfície do filme (WU *et al.*, 2019).

6.3.7 - Taxa de transmissão de vapor de água (WVTR)

Os efeitos da adição dos NCC e a reticulação dos filmes por ácido cítrico na taxa de transmissão de vapor de água (WVTR) está apresentada na tabela 9.

Tabela 9 - Valores de WVTR das amostras produzidas

Amostras	WVTR(g/m ² h) ± σ
H ₁ - PVOH	1,9481 ± 0,028
H ₂ - PVOH/GL ^{2,5} /AC	1,4996 ± 0,0921
H ₃ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC	1,4518 ± 0,3248
H ₄ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	1,7426 ± 0,2390
H ₅ -PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	1,3181 ± 0,2425
H ₆ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	1,4675 ± 0,1747
H ₇ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	1,2899 ± 0,2652

*AgNPs incorporada na solução filmogênica /** AgNPs aspergida por SBSp/PER-Pereiro/UMB-Umbaúba; σ – desvio padrão

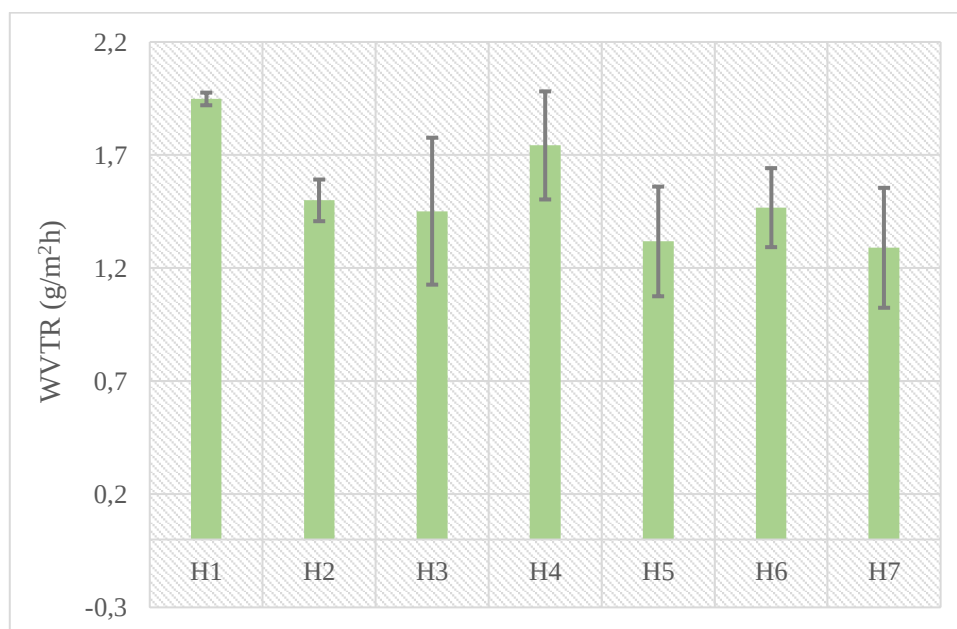


Figura 32 - Gráfico da permeabilidade ao vapor de água

De acordo com os resultados obtidos podemos observar que a reticulação reduziu a taxa de transmissão ao vapor de água, cerca de 23%. Já a adição do NCC não teve o

efeito desejado. A única amostra que o resultado foi significativo, foi a amostra H₄, onde ocorreu uma boa redução da WVTR, em relação a amostra A que representa o PVOH puro. Possivelmente a adição das AgNPs diretamente na formulação pode estar ajudando ao aumento da WVTR na amostra H₄, tendo em vista o comportamento da amostra H₃. Esse comportamento destaca a diminuição da WVTR das amostras que foram aspergidas as AgNPs por SBSp em relação àquelas que foram inseridas na solução polimérica. Possivelmente, o processo de retirar as amostras para aspersão e também a adição de mais solvente (água) no filme pode estar prejudicando os valores de WVTR em comparação aos filmes com AgNPs na formulação.

Estes comportamentos das amostras podem ser explicados possivelmente pela natureza hidrofílica do NCC e das AgNPs, a qual não sobrepõe ao efeito barreira advindo da adição de reticulante (ZHANG *et al.*, 2016). Outro ponto que pode estar influenciando o comportamento de barreira ao vapor d'água do filme é a utilização do glicerol como plastificante, sabendo que o glicerol é bastante hidrofílico e pode estar atrapalhando a esperada propriedade de barreira que os NCC agregariam ao filme.

LUÍS *et al.* (2014) obteve em seu trabalho uma redução para a taxa ao incorporar na matriz de PVOH 5% de NCC. De acordo com os autores, a adição de NCC diminuiu a WVP dos filmes por ampliar o caminho através do filme que as moléculas de água devem passar ocupando os espaços entre as moléculas da matriz polimérica (LUÍS *et al.*, 2014). Como nesse trabalho, a adição de NCC não alterou a WVTR da matriz polimérica. A interação dos NCC com a mesma, provavelmente, foi afetada pela presença dos agentes reticulante e plastificante.

No que se refere à adição de ácido cítrico, o estudo de OLIVEIRA *et al.* (2017) foi conduzido para avaliar os efeitos combinados de um nanoreforço (NCC) e um reticulador (ácido cítrico) nas propriedades de tração, barreira e resistência à água de filmes de pectina de casca de banana, a fim de avaliar se essa combinação de aditivos resulta em filmes com propriedades melhoradas, quando comparado com o uso individual de cada aditivo. Esses autores observaram que os filmes apresentaram diminuição da permeabilidade ao vapor de água com o aumento do teor de NCC. A diminuição do WVTR foi efetiva em 2,5% em peso para filmes sem AC e em 5% em peso para filmes contendo AC, e é atribuída ao caminho tortuoso induzido pelos NCCs para transmissão de vapor de água (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Esses resultados corroboram com aqueles

observados nesse trabalho e indicam que concentrações maiores de NCC poderiam induzir uma melhora nas propriedades de barreira dos filmes.

6.3.8 - Análise de formação de biofilme por fluorescência

A Figura 33 e a tabela 10 mostra porcentagens de células viáveis (com membrana celular intacta, e, portanto, com alguma capacidade de sobrevivência) aderidas à superfície (biofilme) dos discos em relação à Escala de McFarland (topo de 100%). Embora o erro estatístico seja muito grande (esperado nesse tipo de experimento) observa-se significância estatística em relação aos grupos estudados (com prata) e os controles negativos para cada bactéria isoladamente.

Tabela 10 - Média dos resultados obtidos pelo teste (em valores percentuais relativos)

Amostras	% de células viáveis	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
	média $\pm \sigma$	média $\pm \sigma$
Controle - PVOH	134,27 $\pm$ 14,424	67,16 $\pm$ 12,048
H ₄ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per*}	66,94 $\pm$ 40,132	101,65 $\pm$ 17,165
H ₅ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Per**}	127,8 $\pm$ 26,108	65,27 $\pm$ 16,797
H ₆ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb*}	61,37 $\pm$ 8,74	114,71 $\pm$ 6,332
H ₇ - PVOH/NCC/GL ^{2,5} /AC/Ag ^{Umb**}	78,89 $\pm$ 35,193	110,82 $\pm$ 11,732

σ – desvio padrão

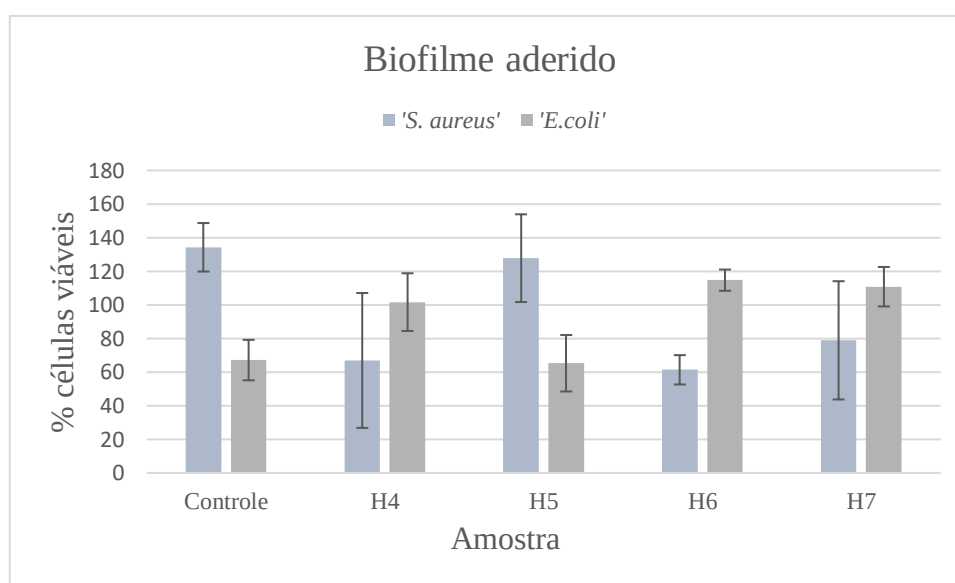


Figura 33 - Valores dos n° de biofilmes aderidos nas amostras

De acordo com os resultados obtidos podemos ver que os filmes tem um caráter inibidor na formação de biofilme para a espécie bacteriana *S. aureus*, até mesmo a amostra do filme E, que corresponde à adição de AgNPs/pereiro por SBSp, que possui um valor um pouco maior que o controle adicionando o valor do desvio padrão. Outro ponto a destacar que não houve muita influência a forma de aplicação da prata, no caráter bactericida do filme, pois os valores obtidos foram muito similares para ambas as formas.

Para *E. coli* ocorreu um comportamento incomum, onde só a amostra H₅ possui um valor maior, se adotado o desvio padrão, que a amostra controle. Este comportamento pode ser explicado pelo fato que durante o processo de redução da prata pode ter acontecido alguma modificação metabólica na prata, como essa mudança pode ter ocorrido no processo de formação do filme, onde os materiais praticamente estimularam o crescimento de *E. coli* em biofilme. Adotando que o meio de cultura é o mesmo, houve em parte um suporte para melhor crescimento de *E. coli*, seja por fator de superfície ou fator metabólico, tendo em vista que o resultado esperado seria a redução da formação de biofilme, pois a *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa e as nanopartículas de prata possuem caráter eletropositivo, facilitando sua ação bactericida. Fato similar foi descrito por SONOHARA *et al.* e por DUTRA *et al.* que demonstraram em seus trabalhos as diferentes estruturas e características das bactérias estudadas, *E. coli* (Gram-negativa) e *S. aureus* (Gram-positiva) (DUTRA *et al.*, 2018; SONOHARA *et al.*, 1995).

Outra questão que poderia justificar tão comportamento está relacionado a hidrofobicidade. Uma característica atípica da membrana externa de Gram-negativas é a distribuição assimétrica dos lipídeos sobre as faces externa e interna. A face externa contém todos os lipopolissacarídeos (LPS), enquanto a face interna contém a maioria dos fosfolipídeos. Os LPS contém mais carga por unidade de área que os fosfolipídeos e a maioria desta carga é aniônica em pH neutro, devido à exposição de grupos carboxil e fosforil que podem ser ionizados. A face externa é altamente carregada e altamente interativa com cátions. Evidências sugerem que a presença de LPS na superfície celular de Gram-negativas tende a tornar a célula bacteriana mais hidrofílica e a perda de LPS da superfície celular torna a superfície mais hidrofóbica. Hidrofobicidade de *S. aureus* é estimada em 80% e de *E. coli* em 60%. E quanto à carga: tende a tornar a célula bacteriana

mais hidrofílica e a perda de LPS da superfície celular torna a superfície mais hidrofóbica (JOSHI *et al.*; 2020)

Outro fato que pode justificar tal comportamento, que a produção das NCC por ácido sulfúrico, como foi utilizado neste trabalho, possuem grupos éster sulfato carregados negativamente em sua superfície que induz a repulsão eletrostática para produzir uma dispersão coloidal altamente estável, carregando assim os NCC com carga eletronegativa (GRISHKEWICH *et al.*, 2017). Então podemos supor que ocorre uma interação eletrostática entre as AgNPs (positiva) e as NCC negativas, dificultando a ação antimicrobiana da AgNP, tendo em vista que as bactérias Gram-negativas, tende a ser mais afetadas pela AgNP, em virtude da sua membrana plasmática ser carregada negativamente.

Outro ponto que poderá explicar a melhor ação antimicrobiana das AgNPs em relação ao *S. aureus* em detrimento a *E. coli* e as características de interações lipídio-lipídio da membrana plasmática da *S. aureus* que é menos resistente a formação de poros do que a da membrana do *E. coli*, onde esta fragilidade pode ser explicada através da mobilidade dos lipídios que formam a membrana (PIGGOT *et al.*, 2011).

7 – CONCLUSÕES

Os resultados encontrados demonstram a possibilidade de obtenção de nanopartículas de prata utilizando os extratos de plantas oriundas dos biomas caatinga e mata atlântica. Todos os extratos apresentaram banda de absorção de UV-Vis próximo a 420 nm, característico das AgNPs e tamanho médio de partículas entre 10 e 25 nm, mas com uma distribuição dos tamanhos das partículas elevada, ou seja, entre 0,311 e 0,486. Dentre os extratos preparados, destaca-se que o extrato de algodão da praia que não teve efeito contra *E. coli* e o extrato de jurema-preta contra *S. aureus.*, ambos excluídos da etapa de incorporação das nanopartículas nos filmes. Dessa forma, a continuidade do trabalho foi realizada utilizando as AgNPs sintetizadas com o extrato do pereiro e da umbaúba por apresentarem menor tamanho de partícula e atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*.

Os espectros de FTIR dos extratos puros apresentaram de forma similar para todos os casos as seguintes bandas: 3500-3200, 1100 e 680-600 cm^{-1} . As bandas em torno de 3500-3200 cm^{-1} , 1620 cm^{-1} e 1450 cm^{-1} representam o grupo O-H de composto aromático, presentes em todos extratos utilizados e com maior ênfase no extrato de pereiro. Esses compostos aromáticos, provavelmente, foram os responsáveis pela redução da prata.

Na escolha da formulação do filme, os ensaios de tração e inspeção visual determinou que a formulação que obteve melhor resultados simultâneo nas duas caracterizações foi a PVOH (67%) /NCC (3%) /AC (27,5%) /GL (2,5%). Desta forma, após a seleção da formulação, os filmes obtidos foram caracterizados, visando obter um filme com uma melhor performance em suas características mecânicas e nas suas propriedades de barreira. Além desses aspectos, o método de incorporação das AgNPs no filme foi avaliado. Para as propriedades mecânicas, os resultados apresentaram uma melhoria em relação ao polímero puro. A adição da AgNPs na matriz filmogênica acarreta uma melhoria nas propriedades mecânicas dos filmes em comparação aos sem adição, onde pode-se explicar esse comportamento em virtude da interação das AgNPs e os constituintes da matriz por sua relação superfície/volume.

Para as propriedades de barreira ao vapor de água foi observada uma melhoria nessa propriedade apenas em função da adição do agente reticulante. Por último, tem-se que os filmes apresentaram comportamento antimicrobiano muito próximo em relação ao método de incorporação. Desta forma, pode-se sugerir que em relação à aplicação das

AgNPs, o método de SBSp é o mais recomendado, pois apresenta o mesmo desempenho antimicrobiano e nas demais propriedades, contudo com um teor de AgNPs menor. Logo, a exposição dos consumidores às nanopartículas de prata é menor, tornando a embalagem flexível ativa mais segura e apta a atender as exigências de toxicidade à saúde pública dos órgãos reguladores nacionais e internacionais.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AHMED, Shakeel *et al.* REVIEW A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications : A green expertise. *Journal of Advanced Research*, v. 7, n. 1, p. 17–28, 2016. DOI: 10.1016/j.jare.2015.02.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jare.2015.02.007>.

AHMED, Shakeel; AHMAD, Mudasar; SWAMI, Babu Lal. ScienceDirect Green synthesis of silver nanoparticles using Azadirachta indica aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, v. 9, n. 1, p. 1–7, 2015. DOI: 10.1016/j.jrras.2015.06.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jrras.2015.06.006>.

ASLAM, Muhammad; KALYAR, Mazhar Ali; RAZA, Zulfiqar Ali. Polyvinyl alcohol: A review of research status and use of polyvinyl alcohol based nanocomposites. *Polymer Engineering and Science*, v. 58, n. 12, p. 2119–2132, 2018. DOI: 10.1002/pen.24855. .

ATLI, Aycan *et al.* St. Lucie cherry, yellow jasmine, and madder berries as novel natural sensitizers for dye-sensitized solar cells. *International Journal of Energy Research*, v. 43, n. 8, p. 3914–3922, 2019. DOI: 10.1002/er.4538. .

AZARBANI, Farideh; SHIRAVAND, Sima. Green synthesis of silver nanoparticles by Ferulago macrocarpa flowers extract and their antibacterial, antifungal and toxic effects. *Green Chemistry Letters and Reviews*, v. 13, n. 1, p. 41–49, 2020. DOI: 10.1080/17518253.2020.1726504. .

BAGHERZADE, Ghodsieh; TAVAKOLI, Maryam Manzari; NAMAIEI, Mohammad Hasan. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 3, p. 227–233, 2017. DOI: 10.1016/j.apjtb.2016.12.014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.12.014>.

BARSKA, Anetta; WYRWA, Joanna. Innovations in the food packaging market - Intelligent packaging - A review. *Czech Journal of Food Sciences*, v. 35, n. 1, p. 1–6, 2017. DOI: 10.17221/268/2016-CJFS. .

BIRCK, C *et al.* New crosslinked cast films based on poly (vinyl alcohol): Preparation and physico-chemical properties. v. 8, n. 12, p. 941–952, 2014. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2014.95. .

BRATOV, Amra *et al.* Application of polymer nanocomposite materials in food packaging. v. 7, p. 86–94, 2015. DOI: 10.17508/CJFST.2015.7.2.06. .

CAZÓN, Patricia; VÁZQUEZ, Manuel; VELAZQUEZ, Gonzalo. Cellulose-glycerol-polyvinyl alcohol composite films for food packaging : Evaluation of water adsorption , mechanical properties , light-barrier properties and transparency. *Carbohydrate Polymers*, v. 195, n. May, p. 432–443, 2018. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.04.120. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.120>.

CHO, Mi Jung; PARK, Byung Dae. Tensile and thermal properties of nanocellulose-reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 17, n. 1, p. 36–40, 2011. DOI: 10.1016/j.jiec.2010.10.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2010.10.006>.

CHUNG, Ill-min *et al.* Plant-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles : Their Characteristic Properties and Therapeutic Applications. *Nanoscale Research Letters*, 2016. DOI: 10.1186/s11671-016-1257-4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s11671-016-1257-4>.

CLEMENT JACKSON, Tenderwealth. Comparison of Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles Biosynthesized from Some Citrus Species. *American Journal of Nano Research and Applications*, v. 6, n. 2, p. 54, 2018. DOI: 10.11648/j.nano.20180602.12. .

DAKAL, Tikam Chand *et al.* Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, n. NOV, p. 1–17, 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01831. .

DAVID, Samuel Alwin *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles by Momordica charantia leaf extract: Characterization and their antimicrobial activities. *J. Nat. Prod. Plant Resour*, v. 4, n. 6, p. 1–8, 2014. Disponível em: <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>.

MOURA, F. B. P. A Mata Atlântica em Alagoas. *Serie Conversando Ciências em Alagoas*, n. August, p. 88, 2015. .

DEHNAVI, Arefeh Sadat *et al.* Preparation and characterization of polyethylene/silver nanocomposite films with antibacterial activity. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 127, p. 1180–1190, 2013. DOI: 10.1002/app.37594. .

DUTRA, Tatiane Viana *et al.* Capacity of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to

produce biofilm on stainless steel surfaces in the presence of food residues. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 42, n. 4, p. 1–6, 2018. DOI: 10.1111/jfpp.13574. .

FERRER, Ana; PAL, Lokendra; HUBBE, Martin. Nanocellulose in packaging: Advances in barrier layer technologies. *Industrial Crops and Products*, v. 95, p. 574–582, 2017. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.11.012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.012>.

GATTO, Mariane *et al.* PT SC. *Carbohydrate Polymers*, 2019. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.01.053. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.053>.

GONZALEZ, Jimena S. *et al.* Poly(vinyl alcohol)/cellulose nanowhiskers nanocomposite hydrogels for potential wound dressings. *Materials Science and Engineering C*, v. 34, n. 1, p. 54–61, 2014. DOI: 10.1016/j.msec.2013.10.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.10.006>.

GRISHKEWICH, Nathan *et al.* Recent advances in the application of cellulose nanocrystals. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 29, p. 32–45, 2017. DOI: 10.1016/j.cocis.2017.01.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2017.01.005>.

HAN, Jia Wei *et al.* Food Packaging: A Comprehensive Review and Future Trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 17, n. 4, p. 860–877, 2018. DOI: 10.1111/1541-4337.12343. .

HERNÁNDEZ-MORALES, Liliana *et al.* Study of the green synthesis of silver nanoparticles using a natural extract of dark or white *Salvia hispanica* L. seeds and their antibacterial application. *Applied Surface Science*, v. 489, n. February, p. 952–961, 2019. DOI: 10.1016/j.apsusc.2019.06.031. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.06.031>.

HUSSAIN, Mubashir *et al.* Applications of Plant Flavonoids in the Green Synthesis of Colloidal Silver Nanoparticles and Impacts on Human Health Applications of Plant Flavonoids in the Green Synthesis of Colloidal Silver Nanoparticles and Impacts on Human Health. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, n. December, 2017. DOI: 10.1007/s40995-017-0431-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40995-017-0431-6>.

IMPERATRIZ-FONSECA, Vera Lucia *et al.* *Guia de Plantas*. [S.l: s.n.], [S.d.].

OLIVEIRA, T. I. S.; ROSA, M. F.; RIDOUT, M. J.; CROSS, K.; BRITO, E. S.; SILVA, L. M. A.; MAZZETTO, S. E.; WALDRON, K. W.; AZEREDO, H. M. C. Bionanocomposite films based on polysaccharides from banana peels. *International Journal of Biological Macromolecule* 101:1-8 2017

JAIN, Siddhant; MEHATA, Mohan Singh. Medicinal Plant Leaf Extract and Pure Flavonoid Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles and their Enhanced Antibacterial Property. *Scientific Reports*, n. November, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-15724-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-15724-8>.

JOSHI, Abhayraj S.; SINGH, Priyanka; MIJAKOVIC, Ivan. Interactions of gold and silver nanoparticles with bacterial biofilms: Molecular interactions behind inhibition and resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 20, p. 1–24, 2020. DOI: 10.3390/ijms21207658. .

GOUR, Aman; JAIN, Narendra Kumar. Advances in green synthesis of nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, v. 47, n. 1, p. 844–851, 2019. DOI: 10.1080/21691401.2019.1577878. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1577878>.

KHAN, Mujeeb; ADIL, Farooq. Plant extracts as green reductants for the synthesis of silver nanoparticles : lessons from chemical Synthesis of Ag NPs with chemical. 2018. DOI: 10.1039/c8dt01152d. .

KUCHAIYAPHUM, Pusita *et al.* Hydrophobicity enhancement of the polyvinyl alcohol/rice starch/silk fibroin films by glycerol. *Applied Mechanics and Materials*, v. 446–447, p. 360–365, 2014. DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMM.446-447.360. .

KUMAR, Indramani; MONDAL, Moumita; SAKTHIVEL, Natarajan. *Chapter 3 - Green synthesis of phytogenic nanoparticles*. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102579-6.00003-4>.

KUMAR, Sachin; PANDA, Achyut K.; SINGH, R. K. A review on tertiary recycling of high-density polyethylene to fuel. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 55, n. 11, p. 893–910, 2011. DOI: 10.1016/j.resconrec.2011.05.005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.05.005>.

LAGARÓN, José M.; LÓPEZ-RUBIO, Amparo; JOSÉ FABRA, María. Bio-based packaging. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 133, n. 2, 2016. DOI: 10.1002/app.42971. .

LI, Shikuo *et al.* Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annum* L . extract { . p. 852–858, 2007. DOI: 10.1039/b615357g. .

LICCIARDELLO, Fabio. Packaging, blessing in disguise. Review on its diverse contribution to food sustainability. *Trends in Food Science and Technology*, v. 65, p. 32–39, 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.05.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.05.003>.

LOGESWARI, Peter; SILAMBARASAN, Sivagnanam; ABRAHAM, Jayanthi. Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 19, n. 3, p. 311–317, 2015. DOI: 10.1016/j.jscs.2012.04.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2012.04.007>.

LUÍS, André *et al.* Improvement of polyvinyl alcohol properties by adding nanocrystalline cellulose isolated from banana pseudostems. *Carbohydrate Polymers*, v. 112, p. 165–172, 2014. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.05.090. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.05.090>.

MAJID, Ishrat *et al.* Novel food packaging technologies: Innovations and future prospective. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, v. 17, n. 4, p. 454–462, 2018. DOI: 10.1016/j.jssas.2016.11.003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2016.11.003>.

MATERIAIS, Departamento De Engenharia De *et al.* Quim. Nova, v. 37, n. 7, p. 1209–1219, 2014. .

MOHSIN, Ghassan Faisal *et al.* PCA-based identification and differentiation of FTIR data from model melanoidins with specific molecular compositions. *Food Chemistry*, v. 281, n. December 2018, p. 106–113, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.12.054. .

MOUSAVI, Amin *et al.* Food and Bioproducts Processing Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging : An overview of approaches and interactions. *Food and Bioproducts Processing*, v. 111, p. 1–19, 2018. DOI: 10.1016/j.fbp.2018.05.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.001>.

MURUGAN, Kasi *et al.* Biosynthesis of silver nanoparticles using *Acacia leucophloea*

extract and their antibacterial activity. p. 2431–2438, 2014.

NOSHIRVANI, N.; GHANBARZADEH, B.; HADI FASIHI, H.; ALMASI, H. Starch–PVA Nanocomposite Film Incorporated with Cellulose Nanocrystals and MMT: A Comparative Study. *International Journal of Food Engineering*, 12(1), 37-48, 2016.

ONTONG, Julalak C. *et al.* Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles using Senna alata bark extract and its antimicrobial mechanism through enhancement of bacterial membrane degradation. *Journal of Microbiological Methods*, v. 165, n. July, p. 105692, 2019. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.105692. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105692>.

PARVEEN, Khadeeja; BANSE, Viktoria; LEDWANI, Lalita. Green Synthesis of Nanoparticles: Their Advantages and Disadvantages. v. 020048, 2016. DOI: 10.1063/1.4945168. .

PAUL, J A John; SELVI, B Karunai; PALANISAMY, Al. Synthesis of silver nanoparticles from the leaf extract of selected plants. *Nano Science and Nano Technology: An Indian Journal*, v. 8, n. 1, p. 1–7, 2013. .

PAVIA, D.L. *et al.* Introdução a Espectroscopia. *Introduction to spectroscopy*, p. 708, 2008. .

PEREIRA *et al.* Utilizando Nova Síntese E Avaliação Da Sua Ação Optimization of Production of Silver Nanoparticles Produced By New Synthesis and Evaluation of Its Sanitizing Action. p. 506–515, 2013. .

PEREIRA *et al.* Active and Intelligent Packaging: Security, Legal Aspects and Global Market. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 8, p. 61766–61794, 2020. DOI: 10.34117/bjdv6n8-164. .

PIGGOT, Thomas J.; HOLDBROOK, Daniel A.; KHALID, Syma. Electroporation of the E. coli and S. aureus membranes: Molecular dynamics simulations of complex bacterial membranes. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 115, n. 45, p. 13381–13388, 2011. DOI: 10.1021/jp207013v. .

PRABHU, Sukumaran; POULOSE, Eldho K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. p. 1–10, 2012.

QUISPE, César A.G.; CORONADO, Christian J.R.; CARVALHO, João A. Glycerol:

Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 27, p. 475–493, 2013. DOI: 10.1016/j.rser.2013.06.017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.017>.

REDDY, Narendra; REDDY, Roopa; JIANG, Qiuran. Crosslinking biopolymers for biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, v. 33, n. 6, p. 362–369, 2015. DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.03.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.03.008>.

REHAN, Mohamed *et al.* Green and Sustainable Encapsulation of Guava Leaf Extracts (*Psidium guajava* L.) into Alginate/Starch Microcapsules for Multifunctional Finish over Cotton Gauze. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2019. DOI: 10.1021/acssuschemeng.9b04952. .

SABZI, Mohammad *et al.* pH-dependent swelling and antibiotic release from citric acid crosslinked poly(vinyl alcohol) (PVA)/nano silver hydrogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 188, n. December 2019, p. 110757, 2020. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110757. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110757>.

SAHU, Nidhi *et al.* Synthesis of silver nanoparticles using flavonoids : Hesperidin , naringin and diosmin , and their antibacterial effects and cytotoxicity Synthesis of silver nanoparticles using flavonoids : hesperidin , naringin and diosmin , and their antibacterial effe. n. July, 2016. DOI: 10.1007/s40089-016-0184-9. .

SANTANA, Gindomar Gomes *et al.* Herpetofauna em um fragmento de Floresta Atlântica no Estado da Paraíba, Região Nordeste do Brasil. *Biotemas*, v. 21, n. 1, p. 75–84, 2008. DOI: 10.5007/2175-7925.2008v21n1p75. .

SARWAR, Muhammad Salman *et al.* Preparation and characterization of PVA/nanocellulose/Ag nanocomposite films for antimicrobial food packaging. *Carbohydrate Polymers*, v. 184, n. January, p. 453–464, 2018. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.12.068. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.068>.

SCIENCE to Enable Sustainable Plastics - A white paper from the 8th Chemical Sciences and Society Summit (CS3), 2020. Disponível em: <https://rsc.li/sustainable-plastics-report>.

SINGH, Priyanka *et al.* Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and

Microorganisms. *Trends in Biotechnology*, v. 34, n. 7, p. 588–599, 2016. DOI: 10.1016/j.tibtech.2016.02.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.02.006>.

SONKER, Amit Kumar *et al.* Development of Polyvinyl Alcohol Based High Strength Biocompatible Composite Films. *Macromolecular Chemistry and Physics*, v. 218 (15), p. 1700130, 2017. DOI: 10.1002/macp.201700130. .

SONKER, Amit Kumar *et al.* Synergistic effect of cellulose nanowhiskers reinforcement and dicarboxylic acids crosslinking towards polyvinyl alcohol properties. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, v. 54, n. 16, p. 2515–2525, 2016. DOI: 10.1002/pola.28129. .

SONOHARA, Ritsu *et al.* Difference in surface properties between Escherichia coli and Staphylococcus aureus as revealed by electrophoretic mobility measurements. *Biophysical Chemistry*, v. 55, n. 3, p. 273–277, 1995. DOI: 10.1016/0301-4622(95)00004-H. .

SORESCU, Ana-alexandra; NU, Alexandrina. Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. n. July, 2016. DOI: 10.18638/scieconf.2016.4.1.386. .

SYAFIUDDIN, Achmad *et al.* A Review of Silver Nanoparticles: Research Trends, Global Consumption, Synthesis, Properties, and Future Challenges. *Journal of the Chinese Chemical Society*, v. 64, n. 7, p. 732–756, 2017. DOI: 10.1002/jccs.201700067. .

TRACHE, Djalal *et al.* Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. *Nanoscale*, v. 9, n. 5, p. 1763–1786, 2017. DOI: 10.1039/c6nr09494e. .

TRIPATHI, R. M. *et al.* Antibacterial activity of poly (vinyl alcohol) - Biogenic silver nanocomposite film for food packaging material. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, v. 9, n. 2, 2018. DOI: 10.1088/2043-6254/aac4ec. .

UCPINAR, Bedriye; AYTAC, Ayse. Poly (vinyl alcohol) and casein films : The effects of glycerol amount on the properties of films To cite this article Ucpinar Durmaz B , Aytac A . Poly (vinyl alcohol) and casein films : The effects of glycerol Poly (vinyl alcohol) and casein films. 2019. .

VADIVELU, Bharathi *et al.* Synthesis of silver nanoparticles from fish scale extract of cyprinus carpio and its decolorization activity of textile dyes. *Journal of Environmental*

Treatment Techniques, v. 8, n. 3, p. 870–874, 2020. .

VIEIRA, Melissa Gurgel Adeodato *et al.* Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, v. 47, n. 3, p. 254–263, 2011. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>.

WU, Hejun *et al.* Food Hydrocolloids Effect of citric acid induced crosslinking on the structure and properties of potato starch / chitosan composite films. *Food Hydrocolloids*, v. 97, n. March, p. 105208, 2019. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105208. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105208>.

WYRWA, Joanna; BARSKA, Anetta. Innovations in the food packaging market: active packaging. *European Food Research and Technology*, v. 243, n. 10, p. 1681–1692, 2017. DOI: 10.1007/s00217-017-2878-2. .

YAN, Y. *et al.* Release behavior of nano-silver textiles in simulated perspiration fluids. *Textile Research Journal*, v. 82, p. 1422–1429, 2012. DOI: 10.1177/0040517512439922. .

YONG, Jae; BEOM, Song Æ; KIM, Soo. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. p. 79–84, 2009. DOI: 10.1007/s00449-008-0224-6. .

YOUSSEF, Ahmed M.; EL-SAYED, Samah M. Bionanocomposites materials for food packaging applications: Concepts and future outlook. *Carbohydrate Polymers*, v. 193, n. February, p. 19–27, 2018. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.03.088. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.088>.

ZHANG, Xi Feng *et al.* Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 9, 2016. DOI: 10.3390/ijms17091534. .

ZHANG, Xiaojuan *et al.* In Situ Preparation and Properties of Poly(vinyl alcohol)/Carboxymethyl Chitosan/Cyanidin Hydrogel Films. *Journal of Nanomaterials*, v. 2019, 2019. DOI: 10.1155/2019/7510573. .

SILVA, G. T. (2016-a) ‘*Blendas poliméricas de poli (álcool vinílico) e carboximetilcelulose com aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos.*’ Dissertação – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

- SILVA, I. D. (2016-b). *Estudo de blendas poliméricas constituídas por goma xantana e poli (álcool vinílico) reticuladas com ácido cítrico para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos*. Dissertação – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.
- BRADLEY, E.L. *et al.* (2011) - *Applications of nanomaterials in food packaging with a consideration of opportunities for developing countries*. -Trends in Food Science & Technology 22, 604-610
- PEELMAN, N., RAGAERT, P., DE MEULENAER, B., ADONS, D., PEETERS, R., CARDON, L., VAN IMPE, F., & DEVLIEGHERE, F. (2013). *Application of bioplastics for food packaging*. Trends in Food Science & Technology, 32(2), 128-141
- THAKKAR, K.N.; MHATRE, S.S.; PARIKH, R.Y.; *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: NBM 2010; 6:257-262. (2009).
- JIN, R.; QIAN, H.; WU, Z.; ZHU, Y.; Zhu, M., MOHANTY, A.; GARG, N.; J. Phys. Chem. Lett., 1, 2903. (2010).
- SAU, T.K.; ANDREY, L. - *Rogach.Complex-shaped Metal Nanoparticles: Bottom-Up Syntheses and Applications, First Edition*. By Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim, Germany (2012).
- RHIM, J.-W., PARK, H.-M., Ha, C.-S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging applications. Progress in Polymer Science, 38(10), 1629–1652.
- CLARIANT, ®Mowiol Polivinyll Alcohol 1999, em <http://www2.cbm.uam.es/confocal/Manuales/mowiol.pdf>, Acessado em 05/09/2019.
- I. SAINI, A. SHARMA, R. DHIMAN, S. AGGARWAL, S. RAM, AND P.K. SHARMA, J. ALLOY. Compd, 714, 172 (2017)
- VARTIAINEN, J.; SHEN, Y.; KALJUNEN, T.; MALM, T.; VAHA-NISSI, M.; PUTKONEN, M.; HARLIN, A. *Bio-based multilayer barrier films by extrusion, dispersion coating and atomic layer deposition*. Applied Polymer Science, v. 133, 2016.
- YANG, Q.; FUKUZUMI, H.; SAITO, T.; ISOGAI, A.; ZHANG, L. *Transparent Cellulose Films with High Gas Barrier Properties Fabricated from Aqueous Alkali/Urea Solutions*. Biomacromolecules, n. 12, p. 2766-2771, 2011.

YANG, Q.; SAITO, T.; ISOGAI, A. *Transparent, Flexible, and High-Strength Regenerated Cellulose/Saponite Nanocomposite Films with High Gas Barrier Properties*. Journal Applied Polymer Science, p. 3168-3174, 2013.

PEREIRA, F. V.; PAULA, E. L.; MESQUITA, J. P.; LUCAS, A. A.; MANO, V. *Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiação*. Química Nova, v. 37, n. 7, p. 1209-1219, 2014

DUFRESNE, A. *Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials*. Walter de Gruyter Incorporated, 2012.

DUFRESNE, A. *Nanocellulose: a new age less bionanomaterial*. Materials Today, v. 16, n 6, pp. 220-227, 2013.

DURÁN, N.; LEMES, A. P.; DURÁN, M.; FREER, J.; BAEZA, J. *A minireview of cellulose nanocrystals and its potential integration as co-product in bioethanol production*. J. Chil. Chem. Soc., 56 (2), 2011.

HABIBI, Y.; LUCIA, L. A.; ROJAS, O. J. *Cellulose nanocrystals: chemistry, self-assembly, and applications*. Chem. Reviews, 110 (6), 3479, 2010.

MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. *Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites*. Chem. Soc. Reviews, 40 (7), 3941, 2011.

<https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-0000/>; acessado em 05/09/2019.

<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/polyvinyl-alcohol-market>; acessado em 05/09/2019.

MOON, R. J.; Martini, A.; Nairn, J.; Simonsen, J.; Youngblood, J.; Chem. Soc. Rev. 2011, 40, 3941

SEEFELDT, A. T. *Obtenção de nanocompósitos de poli (ácido láctico) e nanocristais de celulose de casca de soja*. 2012. 58 f. Monografia – Química Industrial – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

LIMA, M. M. S., BORSALI, R. (2004): *Rodlike Cellulose Microcrystals: Structure, Properties, and Applications*. Macromol. Rapid Commun. 25: 771-787.

SAMIR, M.; Alloin, F.; Dufresne, A.; *Biomacromolecules* 2005, 6, 612.

PEREIRA, F. V.; PAULA, E. L.; MESQUISA, J. P.; LUCAS, A. A.; MANO, V. Bionanocompósitos preparados por incorporação de nanocristais de celulose em polímeros biodegradáveis por meio de evaporação de solvente, automontagem ou eletrofiação. *Quim. Nova*, v. 37, no. 7, 1209-1219, 2014.

ROSEN SL. *Fundamental principles of polymeric materials*. New York: Wiley; 1993.

BIAŁECKA-FLORJAN' czyk E, FLORJAN' czyk Z. *Solubility of plasticizers, polymers and environmental pollution*. In: Letcher T, editor. *Biology*. New York: Elsevier; 2007. p. 397–407

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S.W.; - *Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications* – *Journal of Food Science*. Vol. 68, Nr. 2, (2003).

OLIVEIRA, L.M. – *Revisão: Os principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas*, *Brazilian J. Food Technology*, v.7.nº2 p.161-165 – 2004.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L.; - *Antimicrobial food packaging in meat industry*. - *Meat Scienc*, 62, 73–380, (2002).

VERMEIREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; - *Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts*. - *Food Additives and Contaminants*, London, 19, 163-171, (2002).

RETKHKIMAN-SCHABES, O.S.; CANIZAL, G.; BECERRA-HERRERA, R.; ZORRILLA, C.; LIU, H.B. ASCENCIO, J.A.; - *Biosynthesis and characterization of Ti/Ni bimetallic nanoparticles*. - *Opt. Mater*: 29, 95–9, (2006).

GUO, L.; - *Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications*. - *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 439, 69– 83, (2013).

AHMAD, Z.; PANDEY, R.; SHARMA, S.; KHULLER, GK.; - *Alginate nanoparticles as antituberculosis drug carriers: formulation development, pharmacokinetics and therapeutic potential*. - *Ind J Chest Dis Allied Sci*; 48, 171–6, (2005).

GONG, P.; LI, H.; HE, X.; WANG, K.; HU, J.; TAN, W. *et al.* - *Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄Ag nanoparticles*. - *Nanotechnology*: 18, 604–11, (2007).

- DAWSON, P.L.; HIRT, D.E.; RIECK, J.R.; ACTON, J.C.; SOTTHIBANDHU, A.; - *Nisin release from films is affected by both protein type and film-forming method*. - Food Research International, 36,959-968, (2003).
- CHA, D.S.; COOKSEY. K.; CHINNAN, M.S.; PARK, H.J.; - *Release of nisin from various heat-pressed and cast films*. - Lebensm-Wiss. u-Technology, 36,209-213, (2004).
- MODY, V.V.; NOUNOU, M.I.; BIKRAM, M. *Novel nanomedicine-based MRI contrast agents for gynecological malignancies*. Adv Drug Deliv Rev.; 61:795–807. (2009).
- THAKKAR, K.N.; MHATRE, S.S.; PARIKH, R.Y.; *Biological synthesis of metallic nanoparticles*. Nanomedicine: NBM 2010; 6:257-262. (2009).
- TAN Y, DAI Y, LI Y, ZHUA D. *Preparation of gold, platinum, palladium and silver nanoparticles by the reduction of their salts with a weak reductant–potassium bitartrate*. J Mater Chem; 13:1069-75 (2003).
- TAN, B. K.; CHING, Y. C.; POH, S. C.; ABDULLAH, L. C.; GAN, S. N. *A review of natural fiber reinforced poly (vinyl alcohol) based composites: Application and opportunity*. Polymers, v. 7, pp. 2205-2222, 2015.
- SALATA, O.V.; *J.Nanobiotechnology*, 2, 1-6, (2004).
- KLABUNDE, K. J. – *Nanoscale materials in chemistry*, -New York: John Wiley & Sons, Inc., (2001).
- PANACEK A.; KVITEK L.; PRUCEK R.; KOLAR M.; VECEROVA R.; N. PIZUROVA N.; SHARMA V.K.; NEVECNA T.; ZBORIL R.; - *Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity-*, J. Phys. Chem. B 110, (2006).
- GUZMÁN, M.G.; DILLE, J.; GODET, S. - *Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity*. International Journal of Chemical and Biomolecular Engineering, v. 2, n. 3, p. 104-111, (2009).
- AHMADI T. S.; WANG Z. L.; GREEN T. C.; HENGLEIN A.; EL-SAYED M.- *Shape-Controlled Synthesis of Colloidal Platinum Nanoparticles*. Science, - 272, 1924-1926 (1996).

PAL S.; TAK Y.K.; SONG J.M.; - *Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium Escherichia coli* - Appl. Environ. Microbiol. 73, 1712–1720, (2007).

KAPOOR S.; LAWLESS D.; KENNEPOHL P.; MEISEL D.; SERPONE N.; - *Reduction and aggregation of silver ions in aqueous gelatin solutions*. - Langmuir, 10, 3018-3022, (1994).

TAO, A.; SINSEKMSUKSAKU, P.; YANG, P. - *Polyhedral silver nanocrystals with distinct scattering signatures*. - Angewandte Chemie, 45, 4597-4601, (2006).

RAND R.B.; PEUMANS P.; FORREST S.R.; - *Long-range absorption enhancement in organic tandem thin-film solar cells containing silver nanoclusters*. - J. Appl. Phys. 96, 7519–7526 (2004).

LAGARON, J.M.; LOPEZ, R. A.; OCIO, M. J.; - *Antimicrobial Polymers*. - Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, (2011).

DAMM, C.; MÜNSTEDT, H.; RÖSCH, A. - *The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano and microcomposites*. In: Materials Chemistry and Physics, v. 108, n. 1, p. 61-66, (2008).

FENG, Q. L.; WU, J.; CHEN, G. Q.; CUI, F. Z.; KIM, T. N.; KIM, J. O. - *A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus*. In: Journal of Biomedical Materials Research, v. 52, p. 662-668, (2000).

MORONES, J. R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍREZ, J. T.; YACAMAN, M. J. - *The bactericidal effect of silver nanoparticles* - Nanotechnology, v. 16, p. 2346-2353 - Bristol (2005).

PRABHU, S.; POULOSE, E.K.; - *Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects* - International Nano Letters, 2:32, (2012).

MAIA-SILVA, Camila *et al.* - *Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga*. - Fundação Brasil Cidadão, Fortaleza, 2012.

CLSI M07-A10. - *Methods for Dilution Antimicrobial Tests for Bacteria that Grow Aerobically.: Approved Standard*. -Tenth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.

- CARVALHO, L. T. de. *et al.* *Conhecendo espécies de plantas da Amazônia: Imbaúba vermelha (Cecropia palmata Willd. – Urticaceae)*. Comunicado Técnico 238. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2012. Disponível em: acesso em: 08 out. 2019.
- BERG, C. C. - *Espécies de Cecropia da Amazônia Brasileira*. - Acta Amazonica. p.149-182. 1978.
- LIU, X.; LU, Y.; XUE, Y.; ZHANG, X. - *Testing the importance of native plants in facilitation the restoration*. - Forest Ecology and Management, Beijing, v. 322, n.15, p. 19-25, 2014.
- DAMM, C.; MÜNSTEDT, H.; RÖSCH, A. - *The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano and microcomposites*. In: Materials Chemistry and Physics, v. 108, n. 1, p. 61-66, (2008).
- DEL NOBILE, M. A.; CANNARSI, M.; ALTIERI, C.; SINIGAGLIA, M.; FAVIA, P.; IACOVIELLO, G.; *et al.* - *Effect of Ag-containing nanocomposite active packaging system on survival of Alicyclobacillus acidoterrestris*. - Journal of Food Science, 6, 379,383, (2004).
- RADHESHKUMAR, C.; MUNSTEDT, H.; - *Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites—Ag⁺ release measured by anode stripping voltammetry* - Reactive & Functional Polymers, 66 ,780–788, (2006).
- SANTIAGO-SILVA, P.; SOARES, N.F.S.; NOBREGA, J.E.; JUNIOR, M.A.W.; BARBOSA, K.B.F.; VOLP, A.C.P.; ZERDAS, E.R.M.A.; WURLITZER, N.J.; - *Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA_ 2351) on preservation of sliced ham*. - Food Control, 20, 85-89, (2009).
- SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B.; - *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria*. - J Colloid Interface, 275,177–82, (2007).
- SILEIKA, T.S.; KIM, H.-D.; MANIAK, P.; MESSERSMITH, P.B.; - *Antibacterial performance of polydopamine-modified polymer surfaces containing passive and active components*. - ACS Appli. Mater. Interfaces 3, 4602–4610, (2011).
- NETUSCHIL, L. *et al.*; - *Confusion over live/dead stainings for the detection of vital microorganisms in oral biofilms - which stain is suitable?* - BMC Oral Health, 14:2, (2014).

PORTO L. C. *Filmes Formados por Gelatina e Poli (acrilamida-co-ácido acrílico): Efeito da composição, do plastificante e agente reticulante nas propriedades térmicas, mecânicas e absorção de água*. Dissertação – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

JASMINI, L.; ADNAN, S. *Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose From Acacia mangium and its reinforcement potential*. Carbohydrate Polymers, v. 161, pp. 166–171, 2017.

KUORWEL, Kuorwel K. *et al. Review of mechanical properties, migration, and potential applications in active food packaging systems containing nanoclays and nanosilver*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, v. 14, n. 4, p. 411-430, 2015.

DEBEAUFORT, Frédéric; VOILLEY, Andrée. *Methylcellulose-based edible films and coatings: 2. Mechanical and thermal properties as a function of plasticizer content*. Journal of Agricultural and food chemistry, v. 45, n. 3, p. 685-689, 1997.

CHAMBI, Hulda; GROSSO, Carlos. *Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase*. Food research international, v. 39, n. 4, p. 458-466, 2006.

SCHADLER, Linda S. *et al. Designed interfaces in polymer nanocomposites: A fundamental viewpoint*. MRS bulletin, v. 32, n. 4, p. 335-340, 2007.

EMAMIFAR, Aryou *et al. Preparation and evaluation of nanocomposite LDPE films containing Ag and ZnO for food-packaging applications*. In: Advanced Materials Research. Trans Tech Publications Ltd, 2010a. p. 1228-1232.

EMAMIFAR, Aryou *et al. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, v. 11, n. 4, p. 742-748, 2010b.

GUO, Liya *et al. -Polymer/nanosilver composite coatings for antibacterial applications*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 439, p. 69-83, 2013.

KANMANI, Paulraj; RHIM, Jong-Whan. *Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films*. Food chemistry, v. 148, p. 162-169, 2014.

JAIN S, Ghosh AK, Kulshreshtha B. - *Processing and properties of polyethylene-based nanocomposite films with antimicrobial activity*. Int J Plast Technol 12(1):943–55, 2008.

LAVORGNA, M. *et al.* - *Multifunctional chitosan nanocomposites: The effect of silver supported on montmorillonite platelets on barrier and mechanical properties*. In: AIP Conference Proceedings. American Institute of Physics, 2014. p. 442-445.

NI Z, WANG Z, SUN L, LI B, ZHAO Y. 2014. Synthesis of poly acrylic acid modified silver nanoparticles and their antimicrobial activities. Mater Sci Eng C 41:249–54

RHIM, Jong-Whan *et al.* *Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity*. Journal of agricultural and food chemistry, v. 54, n. 16, p. 5814-5822, 2006.

SADEGHNEJAD, Abdolhamid *et al.* *Antibacterial nano silver coating on the surface of polyethylene films using corona discharge*. Surface and Coatings Technology, v. 245, p. 1-8, 2014.

PRIMOŽIČ, M.; KNEZ, Ž.; LEITGEB, M. *(Bio)Nanotechnology in Food Science—Food Packaging*. Nanomaterials, 11, 292. <https://doi.org/10.3390/nano11020292-2021>.

SVENSSON S, FORSBERG M, HULANDER M, VAZIRISANI F, PALMQUIST A, LAUSMAA J, THOMSEN P, TROBOS M. - *Role of nanostructured gold surfaces on monocyte activation and Staphylococcus epidermidis biofilm formation*. - International journal of nanomedicine. 2014; 9:775.