

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
CURSO DE GRADUAÇÃO DE QUÍMICA MEDICINAL**

RITA DE CÁSSIA DOS REIS SCHMIDT

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE PECTINA E PVA
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA VERDES: PERSPECTIVA
PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS
ANTIBACTERIANAS E BIODEGRADÁVEIS**

PORTO ALEGRE

2023

RITA DE CÁSSIA DOS REIS SCHMIDT

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE PECTINA E PVA
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA VERDES: PERSPECTIVA
PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS
ANTIBACTERIANAS E BIODEGRADÁVEIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de
Química Medicinal da Universidade Federal de Ciências da
Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção
do grau de Bacharela em Química Medicinal.

Orientadora: Profª Dra. Monique Deon

PORTO ALEGRE

2023

Catálogo na Publicação

Schmidt, Rita de Cássia dos Reis

PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE PECTINA E PVA
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA VERDES: PERSPECTIVA PARA
APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS ANTIBACTERIANAS E
BIODEGRADÁVEIS / Rita de Cássia dos Reis Schmidt. --
2023.

54 p. : 30 cm.

Monografia (trabalho de conclusão de curso) --
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto
Alegre, Curso de Química Medicinal, 2023.

Orientador(a): Monique Deon.

1. Nanopartículas de Prata. 2. Biopolímeros. 3.
Pectina. 4. Alcool Polivinílico. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

RITA DE CÁSSIA DOS REIS SCHMIDT

**PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE PECTINA E PVA
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA VERDES: PERSPECTIVA
PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS
ANTIBACTERIANAS E BIODEGRADÁVEIS**

Aprovado em 17 de janeiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dr^a Tanira Alessandra Silveira Aguirre

Prof^o Dr^o Tiago Espinosa de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao curso de Química Medicinal da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto alegre, como o requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química Medicinal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Monique Deon

AGRADECIMENTOS

Ao meu Pai e Madrasta, Guilherme e Vitória por todo apoio ao longo desses seis anos, à minha mãe Nermi que mesmo estando longe esteve presente em toda minha jornada, sem vocês à chegada até aqui não seria possível. Obrigada por nunca me deixarem desistir.

Agradeço à minha orientadora Dr^a Monique Deon por todo o conhecimento compartilhado comigo, pela paciência, confiança e pelo apoio em cada etapa na conclusão deste trabalho, seu incentivo foi fundamental para meu amadurecimento como profissional e pesquisadora.

À todos que me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho: aos Técnicos do Laboratório 320, Laíse, Amanda, Felipe e Vanessa por me acompanharem durante meus experimentos; ao Prof. Marcelo, pelo auxílio nas medidas de UV-Vis dos filmes, ao Prof. Ruy, pelo acesso a bioimpressora, e demais equipamento como DLS, Zetasizer e texturômetro, à Thayse e Nadine pelo acompanhamento das medidas e ao João pelo auxílio com a plotagem dos gráficos de DLS.

Aos colegas e grandes amizades que fiz na UFCSPA, o convívio diário e todos os momentos compartilhados com vocês amenizaram as angústias e as dificuldades encontradas pelo caminho.

Ao meu amor Ronaldo, por todo apoio, paciência e por me acompanhar ao longo desses anos.

Muito Obrigada!

RESUMO

A crescente preocupação com a segurança e qualidade dos alimentos embalados vem sendo cada vez mais discutida nos meios acadêmicos e industriais. Por outro lado, a agravante preocupação gerada pela contaminação ambiental por plásticos, que levam centenas de anos para se decompor, instiga o interesse do uso de biopolímeros para o desenvolvimento de bioplásticos/plásticos biodegradáveis, os quais se decompõem em condições adequadas de umidade e disponibilidade de oxigênio. Partindo desse pressuposto, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver filmes de pectina, combinados ou não com álcool polivinílico (PVA), contendo nanopartículas de prata (AgNPs) com perspectiva de aplicação em embalagens de alimentos biodegradáveis e com potencial antibacteriano. As AgNPs, que sabidamente apresentam atividade antimicrobiana, foram sintetizadas utilizando os princípios dos métodos verdes, ou seja, minimizando o consumo e geração de substâncias perigosas. Após a obtenção e caracterização, as AgNPs foram incorporadas no processo de produção de filmes de pectina (Pec) obtidos por *casting*, e pectina combinadas com PVA (Pec/PVA) por impressão 3D. Os filmes foram caracterizados quanto às suas propriedades ópticas e mecânicas. A dispersão aquosa de AgNPs, bem como as AgNPs em meio sólido (filmes), permaneceram estáveis por, pelo menos, cinco meses. A incorporação das AgNPs nos filmes de Pec/PVA não alteraram as propriedades mecânicas dos filmes. Desta forma, os filmes obtidos apresentam estabilidade e são potenciais materiais para o desenvolvimento de embalagens antimicrobianas biodegradáveis.

Palavras-chave: Nanopartículas de prata, biopolímeros, pectina, álcool polivinílico, embalagens biodegradáveis.

ABSTRACT

The growing concern with the safety and quality of package foods has been increasingly discussed in academic and industrial fields. In contrast, the aggravating concern generated by environmental contamination by plastics, which take hundreds of years to decompose, instigates the interest in the use of biopolymers for the development of bioplastics, which decompose under adequate conditions of humidity and oxygen availability. Based on this assumption, this study aimed the development of pectin films, combined or not with polyvinyl alcohol (PVA), containing silver nanoparticles (AgNPs) for the study of their application in biodegradable and antibacterial food packages. The AgNPs, knowingly recognized by their antimicrobial activity, were synthesized using the principles of green methods, minimizing the consumption and generation of hazardous substances. After being obtained and characterized, AgNPs were incorporated in the production process of pectin films (Pec) obtained by casting, and pectin combined with PVA (Pec/PVA) by 3D printing. The films were characterized in terms of their optical and mechanical properties. The AgNPs aqueous dispersion and AgNPs in solid medium (films) remained stable for at least 5 months. The incorporation of AgNPs in the Pec/PVA films did not change the mechanical properties of the films. In this way, the films obtained are stable and potential materials for the development of biodegradable antimicrobial packaging.

Keywords: Silver nanoparticles, biopolymers, pectin, polyvinyl alcohol, biodegradable packaging.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFIA	12
2.1 BIOPOLÍMEROS	13
2.1.1 Polissacarídeos	14
2.2 FILMES BIOPOLIMÉRICOS	15
2.2.1 Filmes de Pectina	16
2.2.2 Filmes de PVA	17
2.2.3 Métodos de obtenção de filmes	18
2.2.3.1 Método <i>Casting</i>	18
2.2.3.2 Método por Impressão 3D	18
2.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA	19
2.3.1 Síntese de nanopartículas de prata por métodos químicos e físicos	20
2.3.2 Síntese verde de nanopartículas de prata	21
2.3.3 Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 INTRODUÇÃO

As embalagens, sendo elas: de vidro, plástico ou metal desempenham um papel fundamental na indústria de alimentos. As quais, além de conter o produto, são peças fundamentais para sua conservação, garantido seu frescor, sabor e valor nutricional; e muitas vezes são responsáveis por prolongar a vida útil e pelo fornecimento de alimentos mais seguros (HENRIQUE SILVA, [s.d.]; VIDEIRA-QUINTELA; MARTIN; MONTALVO, 2021).

As embalagens de plástico estão entre as mais comuns na indústria de alimentos, sendo leves, flexíveis e de custo comparativamente baixo. Algumas embalagens desse material podem ser facilmente reutilizadas, outras não, e o impacto do plástico no meio ambiente se torna cada vez mais agravante, quando não reutilizado ou reciclado (FAO,2021). Recentemente, a demanda por materiais de embalagens que utilizam biopolímeros como precursores vem surgindo, especialmente devido às crescentes preocupações ambientais levantadas pelo uso de materiais plásticos descartáveis e não biodegradáveis à base de petróleo. (SHANKAR et al., 2016)Os chamados “bioplásticos” têm recebido considerável interesse como materiais alternativos aos plásticos fabricados convencionalmente, pois podem se degradar sob condições apropriadas de umidade, temperatura e disponibilidade de oxigênio sem produzir nenhum resíduo tóxico (KUMAR et al., 2018) Dentro dessa perspectiva, vários tipos de biopolímeros vêm sendo estudados para o desenvolvimento de embalagens de alimentos biodegradáveis com o objetivo de driblar os impactos ambientais causados por plásticos convencionais.

O desperdício de alimentos também carrega um grande fardo ambiental, pois, significa a perda de recursos para sua produção como: água, solo, energia, entre outros. Além de contribuírem significativamente para as emissões globais de gases do efeito estufa (FAO, 2021). Segundo a *American Institute for Packaging and Environment* (AMERIPEN), identifica-se que estratégias de otimização de embalagens podem desempenhar um papel importante na luta contra desperdícios de alimentos, em especial para alimentos frescos (AMERIPEN, 2018). Além disso, a qualidade e a segurança dos alimentos, são as principais preocupações dos consumidores, indústrias alimentícias e órgãos reguladores em todo o mundo; devido ao crescimento da demanda por alimentos frescos, limpos e fabricados de forma higiênica e com vida útil prolongada, sem contaminação por microrganismos (KUMAR et al., 2021b). É reconhecido que os alimentos, em geral, podem

constituir um excelente habitat para inúmeras espécies de microrganismos. A presença de agentes bacterianos em alimentos está condicionada a vários fatores, podendo já estar nos alimentos ou alcançar estes por meio de variadas formas de contaminação, tais como manipuladores, meio ambiente ou serem intencionalmente adicionados a eles (GRUSPAN, 1996). E, dentro dessa perspectiva as infecções causadas por microrganismos e a resistências a antibióticos apresentada por muitas bactérias que contaminam produtos alimentícios, tornam-se agravantes no tratamento das doenças infecciosas e um grande desafio para pesquisadores da área.

Portanto, o implemento de tecnologias em embalagens plásticas vem ganhando um interesse crescente entre setores acadêmico e industrial, o que promete apresentar bons resultados frente à impactos ambientais gerados tanto pelo desperdício de alimentos, quanto por resíduos plásticos não reciclados. (VIDEIRA-QUINTELA; MARTIN; MONTALVO, 2021).

Entre as tecnologias de embalagens mais recentes, estão os biopolímeros biodegradáveis combinados com nanocompósitos. Nanomateriais à base de metais e seus óxidos, além de híbridos orgânicos-inorgânicos, auxiliam garantindo segurança adequada, maior vida útil e prevenção de contaminação microbiana em diferentes alimentos (DEY; PANDEY; RAWTANI, 2022). Entre os nanocompósitos, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm atraído muita atenção nesse “novo conceito” de embalagens de alimentos, devido a sua alta atividade antimicrobiana frente a uma gama de microrganismos. (SHANKAR et al., 2016).

Por outro lado, os métodos convencionais de síntese de AgNPs empregam reagentes tóxicos ou exigem alto consumo de energia durante o processo, sendo esta a razão pela qual muitos pesquisadores vêm empregando a química verde como um meio alternativo para a síntese de AgNPs (JORGE DE SOUZA; ROSA SOUZA; FRANCHI, 2019a). A abordagem da química verde na síntese de nanopartículas metálicas é baseada no uso de biomoléculas como agentes redutores e estabilizantes, que contribuem para o aumento da biocompatibilidade e bioatividade das AgNPs, além de serem ecologicamente corretos (ALI et al., 2021).

Apesar de suas vantagens, a síntese verde de AgNPs apresentam muitos desafios a serem vencidos, o principal deles é o controle do tamanho, morfologia, estabilidade e propriedades (químicas e físicas). Essas características são fortemente influenciadas pelas condições da reação, ou seja, a cinética de interação entre os íons metálicos com o agente de redução; o que, muitas vezes, suprime o uso de biomoléculas como agentes redutores, as quais apresentam limitações frente aos

redutores utilizados convencionalmente. Em decorrência disso, Sharma e colaboradores (2008, p. 85), relataram alguns métodos de síntese verde de AgNPs que utilizaram agentes redutores bastante promissores, sendo que as AgNPs apresentaram tamanhos adequados de partículas entre 10-80 nm e estabilidade dois meses após a síntese.

Filmes compósitos de polímero-metais apresentam potencial promissor para serem utilizados na indústria de embalagens de alimentos. Atividades antimicrobianas, efeitos antioxidantes são algumas das propriedades ativas que as nanopartículas metálicas podem adicionar aos filmes biopoliméricos. Em consequência disso, a sua aplicação como opções de embalagens de alimentos tem um efeito positivo na extensão da vida útil, segurança e qualidade dos alimentos. (VIDEIRAQUINTELA; MARTIN; MONTALVO, 2021).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BIOPOLÍMEROS

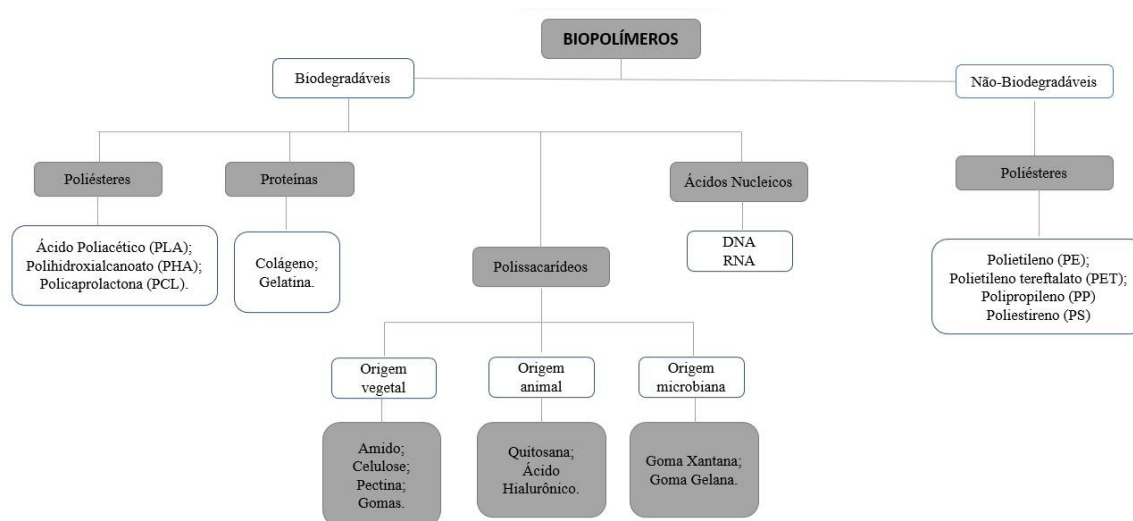
Polímeros são macromoléculas compostas por milhares da mesma ou de diferentes unidades monoméricas unidas por ligações covalentes na forma de cadeia. E podem ser classificados como naturais ou sintéticos, dependendo de sua origem. Monômeros produzidos sinteticamente resultam em polímeros sintéticos; já se os monômeros forem de origem natural, ou seja, encontrados na natureza, o polímero resultante será conhecido como biopolímero. (PRIYADARSHI et al., 2022a).

Biopolímeros, bioplásticos ou plásticos biodegradáveis são materiais poliméricos em que pelo menos uma etapa do processo de degradação é através do metabolismo de organismos naturais (RHIM; PARK; HA, 2013). Os biopolímeros podem ser divididos em três grandes gerações (PINTO et al., 2021; PRIYADARSHI et al., 2022a):

- I) Biopolímeros extraídos da biomassa como: resíduos agrícolas, de processamento animal, florestais ou oceânicos, por exemplo, polissacarídeos e proteínas de origem animal e vegetal.
- II) Polímeros sintetizados artificialmente usando as unidades monomérica bio-originadas ou bioderivadas por meio de rotas sintéticas clássicas de polímeros, como por exemplo, ácido polilático ou polilactídeo (PLA), tereftalato e polietileno de base biológica (Bio-PET) e bio-poliiolefinas.
- III) Polímeros produzidos por microrganismos selvagens ou geneticamente modificados, por exemplo, celulose bacteriana e polihidroxialcanoatos (PHA), polihidroxibutirato (PHB) e polihidroxivalerato (PHV).

Os biopolímeros de segunda geração preservam o uso de mistura plástica de base petroquímica que pode resultar na degradação parcial dos plásticos em microplásticos, persistindo nos danos ao meio ambiente. Já os biopolímeros extraídos da biomassa, os quais exploram recursos naturais de materiais à base de plantas, garantem a capacidade desses biopolímeros de biodegradação, sem deixar microplásticos e seus subprodutos acumulados no meio ambiente (DEVADAS et al., 2021). A Figura 1 abaixo apresenta as diferentes classes de biopolímeros de acordo com sua degradabilidade:

Figura 1: Classificação dos biopolímeros biodegradáveis e não-biodegradáveis.



Fonte: Adaptado de SAMROT et al., 2020.

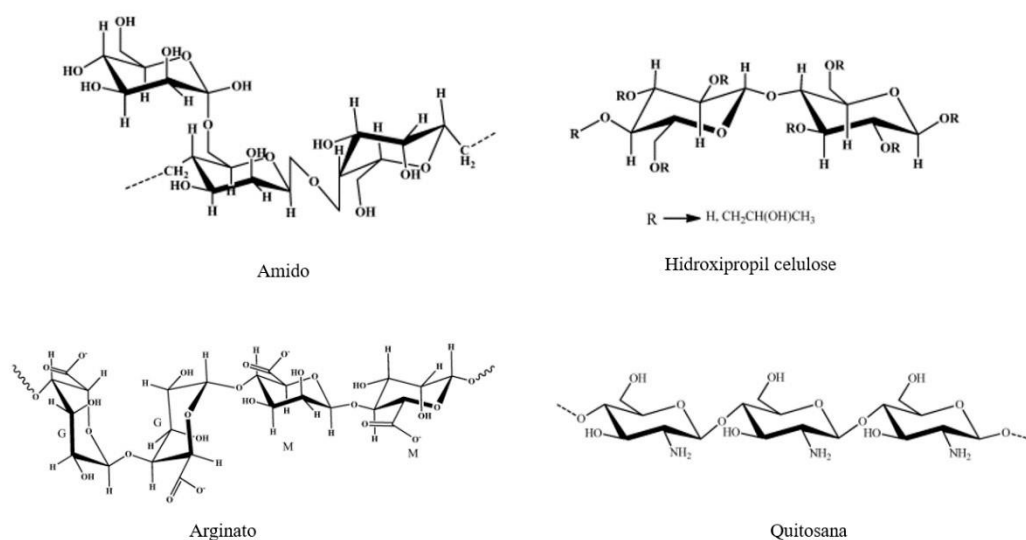
Em comparação com os polímeros sintéticos, os biopolímeros são relativamente muito mais simples, mas apresentam montagens muito mais precisas e complexas, o que lhes permitem adotar estruturas 3D bem definidas (SAMROT et al., 2020). Essa complexidade molecular da biomassa vegetal e bacteriana fornece uma riqueza de polímeros naturais de base biológica, bem como matérias primas monoméricas para a produção de bioplásticos (KARAN et al., 2019).

A produção de biopolímeros tem chamado atenção de pesquisadores como um plástico alternativo e biodegradável para suprir as necessidades do dia-a-dia e auxiliar na diminuição de resíduos plásticos no meio ambiente (DEVADAS et al., 2021). Em uma pesquisa apresentada por Smithers Pira (apud PANTANI, 2015, p. 42597) espera-se que a demanda por bioplásticos em embalagens aumente a uma taxa anual composta estimada de 33% até 2023, à medida que os materiais se tornam mais baratos e as melhorias nas propriedades levem a uma maior variedade de aplicações.

2.1.1 Polissacarídeos

Os polissacarídeos são macromoléculas de carboidratos compostos pela repetição de subunidades de monossacarídeos, unidos por ligações glicosídicas e, podem ser categorizados de acordo com sua composição química (homo ou heteropolissacarídeo), estrutura (linear ou ramificada), função no organismo (polissacarídeos estruturais, de armazenamento), carga (catiônica, aniônica e neutra) ou fonte (origem animal, vegetal e microrganismos) (RADHAKRISHNAN et al., 2017). Na Figura 2, pode-se observar a estrutura de alguns polissacarídeos.

Figura 2: Estrutura dos polissacarídeos.



Fonte: Adaptado de RADHAKRISHNAN et al., 2017.

Como observado, os polissacarídeos possuem diversos grupos funcionais, incluindo $-OH$, $COOH$, $-NH_2$ e $-OSO_3$, o que os torna uma classe de biopolímeros com propriedades ajustáveis, sendo esse, um diferencial em comparação com outras biomoléculas (BILAL et al., 2021). Além disso, os polissacarídeos vêm ganhando um espaço interessante no campo da pesquisa em biomateriais nos últimos anos, devido as suas propriedades com alta biocompatibilidade e biodegradabilidade.

(RADHAKRISHNAN et al., 2017). As aplicações de polissacarídeos como plásticos biodegradáveis são amplamente estudadas há algum tempo e, por conta de suas propriedades se tornaram estruturas interessantes na aplicação promissora em materiais de embalagens de alimentos (BILAL et al., 2021; KAKAR et al., 2021). Devido à estrutura de rede compacta dos polissacarídeos, eles são boas barreiras de dióxido de carbono, mas são pobres barreiras de vapor. Portanto, eles limitam sua aplicação em embalagens de alimentos. Mas essas limitações muitas vezes podem ser contornadas por estratégias que vem sendo utilizadas, como a adição de partículas inorgânicas resistentes à água, combinação com lipídios hidrofóbicos, reticulação de polímeros e fabricação de filmes com multicamadas para melhorar as propriedades de barreira e resistência à água (MOHAMED; ELSAKHAWY; EL-SAKHAWY, 2020). Por conta disso, um material base dessas biomoléculas que vêm chamando atenção da indústria alimentícia são as bionanoestruturas, onde polissacarídeos são explorados para fornecer funcionalidade química a uma série de nanoestruturas inorgânicas, entre elas: nanopartículas de ouro e prata, nanotubos de carbono, nanopartículas magnéticas, pontos quânticos; o que resulta em uma série de biomateriais híbridos com várias aplicações, inclusive na tecnologia alimentar (KAKAR et al., 2021).

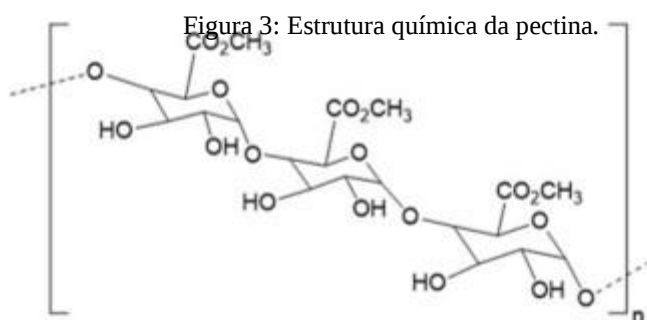
2.2 FILMES BIOPOLIMÉRICOS

2.2.1 Filmes de Pectina

Na última década (2010-2020) a demanda por pectina vem crescendo em ritmo acelerado. Apesar do aumento dos preços das matérias primas, Ciriminna e colaboradores (2016, p.17) já tratavam a pectina como um potencial substituinte à biopolímeros que têm sido usados em larga escala, por conta de seu baixo custo. Cinco anos depois, analistas de mercado de polímeros alimentares relataram que a pectina havia se tornado o terceiro biopolímero alimentar (depois da gelatina e do amido), com vendas em 2020 superiores a US\$ 1,25 bilhões e uma produção global de 70 mil toneladas, tornando-se um dos polímeros naturais mais valorizados (CIRIMINNA et al., 2022).

A pectina é uma fibra dietética solúvel com ácido D- galacturônico como unidade estrutural básica, que está conectada por ligações α - 1,4- glicosídicas como apresentado na Figura 3(LIN et al.,

2022). A pectina pode ser amplamente encontrada em vegetais e frutas como no bagaço de maçã e casca de frutas cítricas (MOHAMED; EL-SAKHAWY; EL-SAKHAWY, 2020).



Fonte: Adaptado de MOHAMED et al, 2020.

Filmes e revestimentos de pectina podem ser usados como materiais de embalagens à base de biopolímeros. Eles podem ser fabricados pela homogeneização de uma solução aquosa de pectina na presença de plastificante, seguida da evaporação da umidade (NASTASI et al., 2022). O processo de formação do filme pode ser afetado por vários fatores, como conformação estrutural do biopolímero, compatibilidade dos componentes do filme, condições de preparação, etc. Durante o processo, os plastificantes são frequentemente incorporados como aditivos para modificar a conformação tridimensional, pois acredita-se que a pectina com maior teor de estrutura linear possui maior viscosidade, o que é benéfico para a formação do filme; além disso, os agentes plastificantes podem ser utilizados para aumentar a cadeia molecular, mobilidade e diminuir a coesão da matriz do filme, a fim de contribuir para a morfologia da estrutura contínua do filme à base de pectina (HUANG et al., 2021).

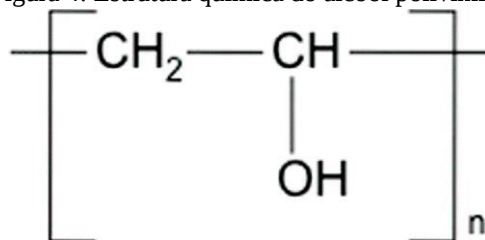
As propriedades distintas das pectinas, como baixo custo, flexibilidade estrutural e propriedade de polimerização, podem potencializar sua aplicação em materiais ativos de embalagem de alimentos na indústria alimentícia (HUANG et al., 2021; KUMAR et al., 2020; LIN et al., 2022; SHANKAR et al., 2016). Uma abordagem que vem ganhando bastante atenção dos pesquisadores é a chamada “embalagem ativa”, a qual está sendo usada para preservar e prolongar a vida útil dos alimentos, garantindo sua segurança, integridade e qualidade. Filmes de pectina, não apresentam propriedades antibacterianas consideráveis, mas podem ser aprimoradas com a implementação de

compostos funcionais em sua estrutura, como óleos essenciais, compostos fenólicos, nanopartículas metálicas, ácidos graxos e outros compostos bioativos (KUMAR et al., 2020). As pectinas funcionalizadas com nanopartículas metálicas, por exemplo, apresentam atividade antibacteriana contra uma variedade de patógenos de origem alimentar como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Vibrio cholera* (SGANZERLA et al., 2020; SHANKAR et al., 2016).

2.2.2 Filmes de PVA

O álcool polivinílico (PVA) é uma substância alcóolica com cadeia molecular carregada com um grande número de grupos hidroxilas, o que também torna o PVA um polímero hidrofílico (ZHU et al., 2022).

Figura 4: Estrutura química do álcool polivinílico.



Fonte: Adaptado de KUDO et al., 2014.

O PVA está entre os biopolímeros mais estudados para a obtenção de materiais biodegradáveis, o qual pode ser rapidamente degradado no solo, além de apresentarem baixo custo de aquisição (ZHU et al., 2022). Os filmes de PVA são atóxicos, inodoros, incolores e biodegradáveis. Eles também têm alta resistência mecânica e resistência química e propriedades físicas robustas. Devido às vantagens apresentadas, torna o PVA uma matriz ideal para nanocompósitos poliméricos (TSOU et al., 2022).

Apesar das propriedades únicas do PVA, algumas propriedades, como sua alta hidrofiliabilidade, impede seu uso em muitas aplicações, porém essas propriedades podem ser melhoradas utilizando uma variedade de biopolímeros, como por exemplo, a quitosana, um biopolímero bastante hidrofóbico (OUN et al., 2022).

2.2.3 Método de obtenção dos filmes

2.2.3.1 Método Casting

O método *casting*, o qual se trata basicamente do espalhamento do gel em uma superfície para a formação do filme, é o método mais comumente usado para a formação de um filme em escala de laboratório e piloto (SUHAG et al., 2020). Este método envolve três etapas para a preparação do filme a partir de biopolímeros: i) Solubilização do biopolímero em um solvente adequado para a formação do gel, ii) espalhamento do gel no molde, iii) Secagem do gel (RHIM et al., 2006).

O primeiro passo para a obtenção do filme para o método casting é a produção do gel que será “espelhado” na superfície de secagem, essa etapa depende da solubilidade do polímero, dessa forma é necessário a escolha correta do biopolímero e do solvente utilizado (JENSEN et al., 2015). O próximo passo é a etapa na qual o gel é despejado no molde predefinidos ou em placas de vidro revestidas com teflon. E, por último o processo de secagem, que fornece tempo suficiente para a evaporação do solvente que forma um filme de polímero que adere a superfície do molde (JENSEN et al., 2015).

As principais vantagens do método casting de formação dos filmes é a facilidade de fabricação sem o uso de equipamentos especializados, tendo um baixo custo de fabricação (SUHAG et al., 2020). Por ser um método úmido leva a uma melhor interação partícula-partícula, tornando o empacotamento de partícula mais homogêneo (YANG; YU; HUANG, 2011).

Dentre as principais desvantagens do método casting estão: i) restrição das formas, ii) potencial retenção de solventes tóxicos dentro do polímero, iii) desnaturação de proteínas e outras moléculas que são introduzidas nos polímeros usando solventes, iv) restrição na quantidade de filme criado e v) diferentes níveis de evaporação (SUHAG et al., 2020).

2.2.3.2 Método por Impressão 3D

A impressão tridimensional (impressão 3D), também conhecida como manufatura aditiva (MA), vem ganhando atenção de vários campos, principalmente para a obtenção de filmes biopoliméricos (SIRIPONGPREDA et al., 2023).

O princípio básico da impressão 3D é construído pela adição de materiais de uma camada por camada, onde cada camada é feita por fatias bidimensionais (2D), tiradas de um modelo 3D Computer Aided Design (CAD) (RYAN et al., 2022).

Existem seis métodos principais de MA, cada um oferece diferentes acabamentos, resoluções e propriedades físicas. A partir da literatura relatadas, os principais métodos de MA incluem sistemas baseados em extrusão: modelagem de deposição de filamento (MDF), fabricação de filamentos fundidos (FFF), escrita direta de tinta (EDT) impressão à jato de tinta (IJT) e sinterização seletiva à laser (SSL) (RYAN et al., 2022).

As vantagens das tecnologias MA para a obtenção de filmes em relação ao método casting incluem: i) tempo de fabricação curtos, ii) operação fácil, iii) projetos flexíveis com formas complexas e iv) uso amplo na indústria para prototipagem rápida para avaliar processos de fabricação (SUN et al., 2022). Uma das principais desvantagens da obtenção dos filmes por método 3D em relação ao método casting é a alto custo para a fabricação dos filmes, o qual necessita de equipamentos (impressoras 3D) especializados para técnica.

2.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

No atual século, a aplicação da nanotecnologia está amplamente difundida globalmente, abrangendo uma ampla gama de aplicações em vários campos, como saúde, biotecnologia, segurança nacional, tecnologia da informação e nanoeletrônica (CHAN et al., 2022). Dentro dessa ciência estão as nanopartículas, que são partículas com diâmetros que variam entre 1 e 100 nm. Elas ganharam destaque substancial nos últimos anos, devido à alta eficiência em relação à superfície/volume de sua estrutura, apresentando propriedades químicas, físicas e biológicas aprimoradas por conta de seu tamanho nanométrico (VISHWANATH; NEGI, 2021). A composição material de nanopartículas pode incluir vários metais (óxidos e sais metálicos), elementos não metálicos (como nanotubos de carbono, grafenos e fulerenos), nanomateriais orgânicos (NPs à base de lipídios) ou então, híbridos e compósitos (polímeros, cerâmicas, cimentos, etc)(MAŤÁTKOVÁ et al., 2022).

Particularmente, nanopartículas de metais nobres têm ganhado atenção no campo da nanotecnologia, por apresentarem características físico-químicas, optoeletrônicas e bioquímicas

singulares, podendo ser utilizadas para diversos fins em aplicações industriais e farmacêuticas (PIRTARIGHAT; GHANNADNIA; BAGHSHAHI, 2019). Como resultado, as nanopartículas de prata (AgNPs) despertam muito interesse, não apenas na indústria farmacêutica como um potencial substituto para antibióticos, mas também na indústria têxtil, em particular na filtração da água (ONG; NYAM, 2022). Porém, o atributo que mais incita a curiosidade de pesquisadores são suas propriedades antibacterianas, concedendo o uso das AgNPs como conservante de cosméticos e suplementos alimentares, como agente anti-infeccioso; além de diversos estudos de suas aplicações em curativos para queimaduras e machucados (GAJBHIYE; SAKHARWADE, 2016).

As AgNPs podem ser obtidas por diferentes métodos de sínteses: químicos, físicos e biológicos. A redução da prata coloidal é, talvez, a abordagem mais popular para produzir AgNPs (CAMACHO-JIMÉNEZ; ÁLVAREZ-SÁNCHEZ; MEJÍA-RUÍZ, 2020). Entre as sínteses mais utilizadas está também a aprimoração da síntese verde de AgNPs, pois ela promete reduzir os resíduos tóxicos gerados por sínteses convencionais, além de ocorrerem em condições mais brandas.

2.3.1 Síntese de nanopartículas de prata por métodos químicos e físicos

Além de bastante comuns, muitos são os métodos químicos utilizados para a síntese de AgNPs (ZHANG et al., 2016). A redução química é o método mais frequentemente aplicado e implica basicamente na redução de um íon Ag^+ em Ag^0 . Normalmente, nesse método de síntese, são necessários três reagentes principais: um sal metálico, agente redutor e um agente estabilizante (ZHANG et al., 2016). O precursor metálico comumente utilizado é o nitrato de prata (AgNO_3); dentre agentes redutores empregados incluem citrato, ascorbato, borohidreto, e gás hidrogênio; esses serão responsáveis pela redução dos íons de prata em solução aquosa, produzindo prata coloidal com diâmetros de partículas em nanômetros (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).

O uso de agentes redutores fortes, como no caso do borohidreto de sódio, muitas vezes pode ocasionar em nanopartículas bem pequenas e pouco monodispersas, o que leva à uma agregação e formação de partículas maiores. Para contornar isso, é necessário nas sínteses de AgNPs o uso de agentes estabilizantes, a fim de evitar a aglomeração indesejada dos coloides (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009). Os agentes estabilizantes normalmente utilizados são surfactantes e ligantes ou polímeros

com grupos funcionais específicos, como polivinilpirrolidina e polietilenoglicol, pois possuem características que impedem a agregação das nanopartículas (VISHWANATH; NEGI, 2021). O método por redução química apresenta grandes vantagens em relação aos altos rendimentos, mas também grandes desvantagens em relação a utilização de reagentes tóxicos em seu processo de síntese.

Além dos métodos químicos, as AgNPs podem ser sintetizadas por métodos físicos. Nos métodos físicos as AgNPs, podem ser preparadas por evaporação-condensação, utilizando-se um forno tubular à pressão atmosférica; ou métodos mais convencionais incluindo “descarga de faísca” e pirólise (CHAE; LEE; JOO, 2019; MALEKZADEH; HALALI, 2011). Entre as vantagens dos métodos físicos estão a velocidade de obtenção das AgNPs e a não utilização de solventes tóxicos. Entre as desvantagens, pode-se considerar um baixo rendimento e alto consumo de energia em seu processo (ZHANG et al., 2016).

Apesar de bastante eficientes, as sínteses de AgNPs convencionais consomem altas energias e/ou utilizam reagentes tóxicos. Dessa forma, para minimizar os impactos gerados por esses métodos de síntese, estão sendo estudados e implementados métodos que fazem o uso de agentes redutores e estabilizantes não tóxicos, considerando a economia no aporte de energia e outras características citadas anteriormente (JORGE DE SOUZA; ROSA SOUZA; FRANCHI, 2019b).

2.3.2 Síntese verde de nanopartículas de prata

As sínteses verdes de AgNPs são bastante estudadas na atualidade, pois prometem minimizar a geração de subprodutos inutilizáveis e tóxicos, por meio da construção de procedimentos sustentáveis, confiáveis e ecologicamente corretos (KUMAR et al., 2021a).

Os métodos de síntese verde de AgNPs envolvem três etapas principais, que devem ser avaliadas com base na perspectiva da química verde: (I) seleção do solvente do meio; (II) seleção do agente redutor benigno; (III) seleção de agentes estabilizantes eficientes e não tóxicos (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).

Na literatura está apresentado cinco diferentes métodos de síntese verde para a obtenção AgNPs (AL-KHATTAF, 2021):

- I) Método de polissacarídeo: Neste método, normalmente as AgNPs, são preparadas utilizando água como solvente e polissacarídeos como agentes redutores e/ou agentes estabilizantes.
- II) Método de Tollens: É o método que combina o reagente de Tollens e polissacarídeos em uma única fase biossintética. Neste caso, os açúcares apresentam um papel fundamental como agentes redutores dos íons de Ag^+ , onde, combinadas com o reagente de Tollens, são capazes de produzir AgNPs com alto grau de controle de tamanho e forma (AL-KHATTAF, 2021).
- III) Método de irradiação: São muitos os métodos de irradiação que podem ser utilizados para a síntese de AgNPs, entre eles: irradiação a laser, irradiação de micro-ondas, irradiação ionizante, irradiação gama. Este último método é bastante adequado e eficaz para o controle de tamanho de NPs metálicas (AL-KHATTAF, 2021; SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).
- IV) Método biológico: Neste método, a obtenção das AgNPs se dá por meio da redução dos íons de Ag^+ por combinação com biomoléculas encontradas em extratos de plantas, fungos ou bactérias (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).
- V) Método de polioxometalatos: Os polioxometalatos (POMs), são um vasto grupo de óxidos metálicos moleculares. Os POMs solúveis são eficientes na síntese de NPs de metais nobres, a qual acontece por meio de reações redox multieletrônicas (ALKHATTAF, 2021).

2.3.3 Atividade antibacteriana de nanopartículas de prata

No decorrer das últimas décadas, houve um aumento importante no desenvolvimento de fármacos que atuam combatendo infecções bacterianas, o que revolucionou o tratamento médico e ocasionou uma queda drástica na mortalidade causadas por doenças microbianas (SILVEIRA et al., 2006). Entretanto, a disseminação desses fármacos combinada com o mau uso destes, acelerou o processo natural de resistência das bactérias contra os antibióticos, devido ao fato de que o ambiente natural microbianos são produzidos por população microbianas com ferramenta de competição por

recursos nutricionais dentro do micro-habitat que ocupa, fazendo com que os microrganismos “mais resistentes” sobrevivam com o passar do tempo e de acordo com as condições presentes em seu habitat (DA COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

As AgNPs apresentam atividade antibacteriana única contra uma ampla gama de microrganismos, além de ser estudada como uma promissora alternativa para a resistência antibacteriana (SHANKAR et al., 2016). Os efeitos antimicrobianos de íons de prata são bem conhecidos, porém os mecanismos pelos quais as AgNPs agem contra microrganismos ainda não são bem elucidados. Com seu tamanho nanométrico, as AgNPs, apresentam uma maior superfície de contato possibilitando sua entrada na célula e, conseqüentemente, promovendo a inibição do crescimento microbiano (NEL et al., 2006).

Entre os possíveis mecanismos pelos quais as AgNPs inibem o crescimento microbiano, incluem uma ligação forte dos íons de prata Ag^+ com os grupos tiol, carregados negativamente, presentes na membrana celular, gerando espécies reativas em oxigênio (ERO), o que irá causar alterações na permeabilidade da membrana e no ciclo redox do citosol, acúmulo de radicais intracelulares e dissipação da força motriz de prótons na síntese de ATP (CHOI; HU, 2008). Devido a isso, o DNA pode perder sua capacidade de replicação, implicando na morte celular (MORONES et al., 2005).

Por terem grande potencial antimicrobiano as nanoestruturas de metal/óxido, vêm tornando-se as nanocargas mais utilizadas em estudos para sua aplicação em embalagens de alimentos (PRIYADARSHI et al., 2022b). De um modo geral, o potencial antibacteriano de metais é conhecido desde os tempos antigos, por exemplo, a utilização de recipientes de cobre e prata para armazenar e conservar água e alimentos. E, ainda hoje, embalagens e compostos metálicos são amplamente utilizados na indústria de alimentos (PRIYADARSHI et al., 2022b).

Dentro dessa perspectiva, por meio de pesquisa Badwaik e colaboradores (2022, p 516), trazem as AgNPs, como uma das nanopartículas metálicas mais aceitas para estudos de embalagens de alimentos devido à sua propriedade antibacteriana de amplo espectro e, sua facilidade na incorporação e estabilização em matriz polimérica (V.; BADWAIK, 2022).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, S. et al. **The avenue of fruit wastes to worth for synthesis of silver and gold nanoparticles and their antimicrobial application against foodborne pathogens: A review.** *Food Chemistry* Elsevier Ltd, , 15 out. 2021.
- AL-KHATTAF, F. S. **Gold and silver nanoparticles: Green synthesis, microbes, mechanism, factors, plant disease management and environmental risks.** *Saudi Journal of Biological Sciences* Elsevier B.V., , 1 jun. 2021.
- BILAL, M. et al. **Polysaccharides-based bio-nanostructures and their potential food applications.** *International Journal of Biological Macromolecules* Elsevier B.V., , 15 abr. 2021.
- CAMACHO-JIMÉNEZ, L.; ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, A. R.; MEJÍA-RUÍZ, C. H. **Silver nanoparticles (AgNPs) as antimicrobials in marine shrimp farming: A review.** *Aquaculture Reports* Elsevier B.V., , 1 nov. 2020.
- CHAE, S. Y.; LEE, S. Y.; JOO, O. S. Directly synthesized silver nanoparticles on gas diffusion layers by electrospray pyrolysis for electrochemical CO₂ reduction. *Electrochimica Acta*, v. 303, p. 118–124, 20 abr. 2019.
- CHAN, S. S. et al. **Prospects and environmental sustainability of phyconanotechnology: A review on algae-mediated metal nanoparticles synthesis and mechanism.** *Environmental Research* Academic Press Inc., , 1 set. 2022.
- CHOI, O.; HU, Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environmental Science and Technology*, v. 42, n. 12, p. 4583–4588, 15 jun. 2008.
- CIRIMINNA, R. et al. **Pectin: New science and forthcoming applications of the most valued hydrocolloid.** *Food Hydrocolloids* Elsevier B.V., , 1 jun. 2022.
- DA COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. *Estação Científica (UNIFAP)*, v. 7, n. 2, p. 45, 23 ago. 2017.
- DEVADAS, V. V. et al. **Algae biopolymer towards sustainable circular economy.** *Bioresource Technology* Elsevier Ltd, , 1 abr. 2021.
- DEY, A.; PANDEY, G.; RAWTANI, D. **Functionalized nanomaterials driven antimicrobial food packaging: A technological advancement in food science.** *Food Control* Elsevier Ltd, , 1 jan. 2022.
- GAJBHIYE, S.; SAKHARWADE, S. Silver Nanoparticles in Cosmetics. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, v. 06, n. 01, p. 48–53, 2016.

GRUNSPAN, E. D. et al. Microbial Contamination in Minced Meat of butcher shops of Santa Maria, RS, Brazil. **Ciência Rural**, v. 26, n. 0103–8478, p. 263–266, 1996.

HENRIQUE SILVA, L. **EMBALAGENS PARA ALIMENTOS**. [s.l: s.n.].

HUANG, J. et al. **Pectin-based active packaging: A critical review on preparation, physical properties and novel application in food preservation**. **Trends in Food Science and Technology**Elsevier Ltd, , 1 dez. 2021.

JENSEN, A. et al. Development and characterization of soy protein films incorporated with cellulose fibers using a hot surface casting technique. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 162–170, 1 jan. 2015.

JORGE DE SOUZA, T. A.; ROSA SOUZA, L. R.; FRANCHI, L. P. **Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity**. **Ecotoxicology and Environmental Safety**Academic Press, , 30 abr. 2019a.

JORGE DE SOUZA, T. A.; ROSA SOUZA, L. R.; FRANCHI, L. P. **Silver nanoparticles: An integrated view of green synthesis methods, transformation in the environment, and toxicity**. **Ecotoxicology and Environmental Safety**Academic Press, , 30 abr. 2019b.

KAKAR, M. U. et al. **A review on polysaccharides from Artemisia sphaerocephala Krasch seeds, their extraction, modification, structure, and applications**. **Carbohydrate Polymers**Elsevier Ltd, , 15 jan. 2021.

KARAN, H. et al. **Green Bioplastics as Part of a Circular Bioeconomy**. **Trends in Plant Science**Elsevier Ltd, , 1 mar. 2019.

KUDO, K. et al. Structural changes of water in poly(vinyl alcohol) hydrogel during dehydration. **The Journal of Chemical Physics**, v. 140, n. 4, p. 044909, 31 jan. 2014.

KUMAR, J. A. et al. **A focus to green synthesis of metal/metal based oxide nanoparticles: Various mechanisms and applications towards ecological approach**. **Journal of Cleaner Production**Elsevier Ltd, , 15 nov. 2021a.

KUMAR, M. et al. **Emerging trends in pectin extraction and its anti-microbial functionalization using natural bioactives for application in food packaging**. **Trends in Food Science and Technology**Elsevier Ltd, , 1 nov. 2020.

KUMAR, S. et al. Biodegradable hybrid nanocomposites of chitosan/gelatin and silver nanoparticles for active food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 178–184, 1 jun. 2018.

KUMAR, S. et al. **Plant extract mediated silver nanoparticles and their applications as antimicrobials and in sustainable food packaging: A state-of-the-art review**. **Trends in Food Science and Technology**Elsevier Ltd, , 1 jun. 2021b.

LIN, D. et al. **The structure, properties and potential probiotic properties of starch-pectin blend: A review**. **Food Hydrocolloids**Elsevier B.V., , 1 ago. 2022.

- MALEKZADEH, M.; HALALI, M. Production of silver nanoparticles by electromagnetic levitation gas condensation. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, n. 1, p. 441–445, 15 mar. 2011.
- MAŤÁTKOVÁ, O. et al. **Antimicrobial properties and applications of metal nanoparticles biosynthesized by green methods**. **Biotechnology Advances** Elsevier Inc., , 2022.
- MOHAMED, S. A. A.; EL-SAKHAWY, M.; EL-SAKHAWY, M. A. M. **Polysaccharides, Protein and Lipid -Based Natural Edible Films in Food Packaging: A Review**. **Carbohydrate Polymers** Elsevier Ltd, , 15 jun. 2020.
- MORONES, J. R. et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, n. 10, p. 2346–2353, 1 out. 2005.
- NASTASI, J. R. et al. **Pectin-based films and coatings with plant extracts as natural preservatives: A systematic review**. **Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 fev. 2022.
- NEL, A. et al. **Toxic potential of materials at the nanolevel**. **Science**, 3 fev. 2006.
- ONG, W. T. J.; NYAM, K. L. **Evaluation of silver nanoparticles in cosmeceutical and potential biosafety complications**. **Saudi Journal of Biological Sciences** Elsevier B.V., , 1 abr. 2022.
- OUN, A. A. et al. Recent advances in polyvinyl alcohol-based composite films and their applications in food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, p. 100991, 1 dez. 2022.
- PINTO, L. et al. **Biopolymer hybrid materials: Development, characterization, and food packaging applications**. **Food Packaging and Shelf Life** Elsevier Ltd, , 1 jun. 2021.
- PIRTARIGHAT, S.; GHANNADNIA, M.; BAGHSHAHI, S. Green synthesis of silver nanoparticles using the plant extract of *Salvia spinosa* grown in vitro and their antibacterial activity assessment. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 1–9, mar. 2019.
- PRIYADARSHI, R. et al. **Antimicrobial nanofillers reinforced biopolymer composite films for active food packaging applications - A review**. **Sustainable Materials and Technologies** Elsevier B.V., , 2022a.
- PRIYADARSHI, R. et al. **Antimicrobial nanofillers reinforced biopolymer composite films for active food packaging applications - A review**. **Sustainable Materials and Technologies** Elsevier B.V., , 2022b.
- RADHAKRISHNAN, J. et al. **Injectable and 3D Bioprinted Polysaccharide Hydrogels: From Cartilage to Osteochondral Tissue Engineering**. **Biomacromolecules** American Chemical Society, , 9 jan. 2017.
- RHIM, J. W. et al. Effect of the processing methods on the performance of polylactide films: Thermocompression versus solvent casting. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, n. 6, p. 3736–3742, 15 set. 2006.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. **Bio-nanocomposites for food packaging applications. Progress in Polymer Science**Elsevier Ltd, , 2013.

RYAN, K. R. et al. Additive manufacturing (3D printing) of electrically conductive polymers and polymer nanocomposites and their applications. **eScience**, v. 2, n. 4, p. 365–381, 1 jul. 2022.

SAMROT, A. V. et al. **Production, characterization and application of nanocarriers made of polysaccharides, proteins, bio-polyesters and other biopolymers: A review. International Journal of Biological Macromolecules**Elsevier B.V., , 15 dez. 2020.

SGANZERLA, W. G. et al. Bioactive food packaging based on starch, citric pectin and functionalized with *Acacia senegal* waste by-product: Characterization and application in the postharvest conservation of apple. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 147, p. 295–303, 15 mar. 2020.

SHANKAR, S. et al. Preparation of pectin/silver nanoparticles composite films with UV-light barrier and properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 842–849, 1 nov. 2016.

SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. **Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. Advances in Colloid and Interface Science**, 30 jan. 2009.

SILVEIRA, G. P. et al. **ESTRATÉGIAS UTILIZADAS NO COMBATE A RESISTÊNCIA BACTERIANA**Quim. Nova. [s.l: s.n.].

SIRIPONGPREDA, T. et al. Emerging 3D printing based on polymers and nanomaterial additives: Enhancement of properties and potential applications. **European Polymer Journal**, v. 184, p. 111806, 7 fev. 2023.

SUHAG, R. et al. Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. **Food Research International**, v. 136, p. 109582, 1 out. 2020.

SUN, Y. et al. Application of 3D printing & 3D bioprinting for promoting cutaneous wound regeneration. **Bioprinting**, v. 28, p. e00230, 1 dez. 2022.

TSOU, C. H. et al. High-performance antibacterial nanocomposite films with a 3D network structure prepared from carboxylated graphene and modified polyvinyl alcohol. **Progress in Organic Coatings**, v. 166, p. 106805, 1 maio 2022.

V., A.; BADWAIK, L. S. **Recent advancement in improvement of properties of polysaccharides and proteins based packaging film with added nanoparticles: A review. International Journal of Biological Macromolecules**Elsevier B.V., , 1 abr. 2022.

VIDEIRA-QUINTELA, D.; MARTIN, O.; MONTALVO, G. **Recent advances in polymer-metallic composites for food packaging applications. Trends in Food Science and Technology**Elsevier Ltd, , 1 mar. 2021.

VISHWANATH, R.; NEGI, B. **Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. Current Research in Green and Sustainable Chemistry** Elsevier B.V., , 1 jan. 2021.

YANG, J.; YU, J.; HUANG, Y. Recent developments in gelcasting of ceramics. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 31, n. 14, p. 2569–2591, 1 nov. 2011.

ZHANG, X. F. et al. **Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches.** *International Journal of Molecular Sciences* MDPI AG, , 13 set. 2016.

ZHU, L. et al. Characterization of polyvinyl alcohol-nanocellulose composite film and its release effect on tetracycline hydrochloride. **Industrial Crops and Products**, v. 188, p. 115723, 15 nov. 2022.

PREÂMBULO

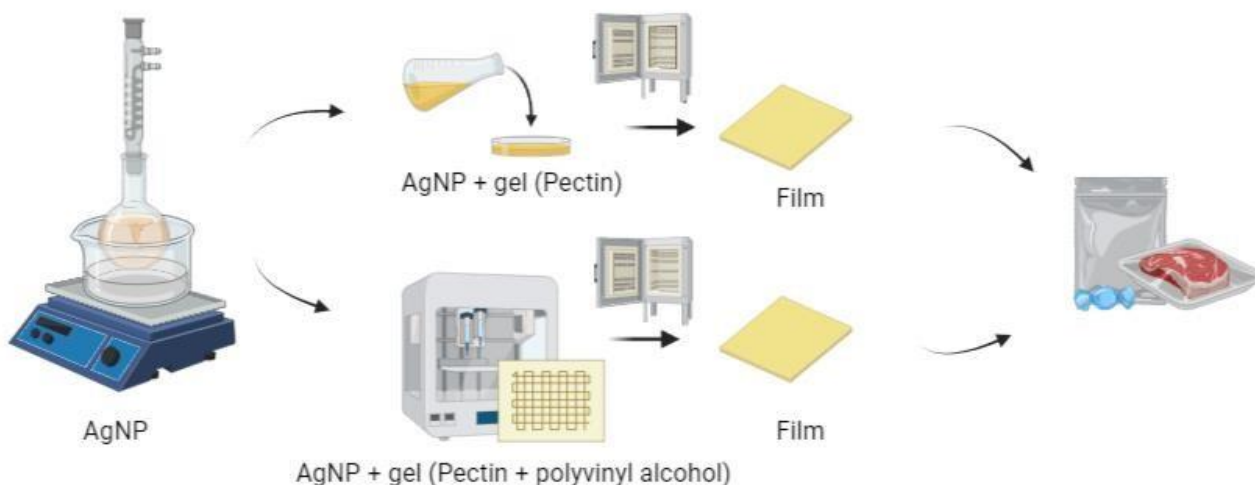
PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE PECTINA E PVA CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA VERDES: PERSPECTIVA PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS ANTIBACTERIANAS E BIODEGRADÁVEIS

(A ser submetido à Revista Química Nova)

<http://quimicanova.sbq.org.br/conteudo.asp?page=2>.

(Fator de Impacto 0,961)

GRAPHICAL ABSTRACT



Pectin films containing AgNP prepared by casting method and pectin-polyvinyl alcohol containing AgNP obtained by 3D printing: perspective for application in biodegradable food packages **Preparo e caracterização de filmes de pectina e PVA contendo nanopartículas de prata verdes: perspectiva para aplicação em embalagens de alimentos antibacterianas e biodegradáveis**

Rita de Cássia R. Schmidt^a , Monique Deon^{a*} 

^aDepartamento de Farmacociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, 90050-170 Porto Alegre – RS, Brasil

-----*marque uma alternativa, não apague o texto em azul*-----

() Manuscrito com material suplementar

(x) Manuscrito sem material suplementar

*e-mail: ritaschmidt22@gmail.com

ORCID- Rita C. R. Schmidt <https://orcid.org/0000-0002-4569-8575>

*e-mail: monique.deon@ufcspa.edu.br

ORCID – Monique Deon: <https://orcid.org/0000-0002-9889-7420>

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PECTIN AND PVA FILMS CONTAINING GREEN SILVER NANOPARTICLES: PERSPECTIVE FOR APPLICATION IN ANTIBACTERIAL AND BIODEGRADABLE FOOD PACKAGES

The growing concern with the safety and quality of package foods has been increasingly discussed in academic and industrial fields. In contrast, the aggravating concern generated by environmental contamination by plastics, which take hundreds of years to decompose, instigates the interest in the use of biopolymers for the development of bioplastics, which decompose under adequate conditions of humidity and oxygen availability. Based on this assumption, this study aimed the development of pectin films, combined or not with polyvinyl alcohol (PVA), containing silver nanoparticles (AgNPs) for the study of their application in biodegradable and antibacterial food packages. The AgNPs, knowingly recognized by their antimicrobial activity, were synthesized using the principles of green methods, minimizing the consumption and generation of hazardous substances. After being obtained and characterized, AgNPs were incorporated in the production process of pectin films (Pec) obtained by casting, and pectin combined with PVA (Pec/PVA) by 3D printing. The films were characterized in terms of their optical and mechanical properties. The AgNPs aqueous dispersion and AgNPs in solid medium (films) remained stable for at least 5 months. The incorporation of AgNPs in the Pec/PVA films did not change the mechanical properties of the films. In this way, the films obtained are stable and potential materials for the development of biodegradable antimicrobial packaging.

Keywords: Silver nanoparticles, biopolymers, pectin, polyvinyl alcohol, biodegradable packaging.

INTRODUÇÃO

As embalagens, sendo elas de vidro, plástico ou metal, desempenham um papel fundamental na indústria de alimentos. Além de conter o produto, elas são peças fundamentais para sua conservação, garantindo frescor, sabor e valor nutricional. Adicionalmente, muitas vezes são responsáveis por prolongar a vida útil e pelo fornecimento de alimentos mais seguros.¹

As embalagens de plástico estão entre as mais comuns na indústria de alimentos, sendo leves, flexíveis e de custo comparativamente baixo. Algumas embalagens desse material podem ser facilmente reutilizadas, outras não, e o impacto do plástico no meio ambiente se torna cada vez mais

agravante, quando não reutilizado ou reciclado.² Recentemente, a demanda por materiais de embalagens que utilizam biopolímeros como precursores vem surgindo, especialmente devido às crescentes preocupações ambientais levantadas pelo uso de materiais plásticos descartáveis e não biodegradáveis à base de petróleo.³ Os chamados “bioplásticos” têm recebido considerável interesse como materiais alternativos aos plásticos fabricados convencionalmente, pois podem se degradar sob condições apropriadas de umidade, temperatura e disponibilidade de oxigênio sem produzir nenhum resíduo tóxico.⁴ Dentro dessa perspectiva, vários tipos de biopolímeros vêm sendo estudados para o desenvolvimento de embalagens de alimentos biodegradáveis com o objetivo de driblar os impactos ambientais causados por plásticos convencionais.

O desperdício de alimentos também carrega um grande fardo ambiental, pois significa a perda de recursos para sua produção como: água, solo, energia, entre outros; além de contribuírem significativamente para as emissões globais de gases do efeito estufa.² Segundo a *American Institute for Packaging and Environment* (AMERIPEN), identifica-se que estratégias de otimização de embalagens podem desempenhar um papel importante na luta contra desperdícios de alimentos, em especial para alimentos frescos.⁵ Além disso, a qualidade e a segurança dos alimentos são as principais preocupações dos consumidores, indústrias alimentícias e órgãos reguladores em todo o mundo devido ao crescimento da demanda por alimentos frescos, limpos e fabricados de forma higiênica e com vida útil prolongada, sem contaminação por microrganismos.⁶ É reconhecido que os alimentos, em geral, podem constituir um excelente habitat para inúmeras espécies de microrganismos. A presença de agentes bacterianos em alimentos está condicionada a vários fatores, podendo já estar nos alimentos ou alcançar estes por meio de variadas formas de contaminação, tais como manipuladores, meio ambiente ou serem intencionalmente adicionados a eles.⁷ E, dentro dessa perspectiva, as infecções causadas por microrganismos e a resistências a antibióticos apresentada por muitas bactérias que contaminam produtos alimentícios tornam-se agravantes no tratamento das doenças infecciosas e um grande desafio para pesquisadores da área.

Portanto, o implemento de tecnologias em embalagens plásticas vem ganhando um interesse crescente entre setores acadêmico e industrial, o que promete apresentar bons resultados frente à impactos ambientais gerados tanto pelo desperdício de alimentos, quanto por resíduos plásticos não reciclados.¹

Entre as tecnologias de embalagens mais recentes, estão os biopolímeros biodegradáveis combinados com nanomaterias. Nanomateriais à base de metais e seus óxidos, além de híbridos

orgânicos-inorgânicos, auxiliam garantindo segurança adequada, maior vida útil e prevenção de contaminação microbiana em diferentes alimentos.⁸ Entre os nanomateriais, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm atraído muita atenção nesse “novo conceito” de embalagens de alimentos, devido a sua alta atividade antimicrobiana frente a uma gama de microrganismos.³

Por outro lado, os métodos convencionais de síntese de AgNPs empregam reagentes tóxicos ou exigem alto consumo de energia durante o processo, sendo esta a razão pela qual muitos pesquisadores vêm empregando a química verde como um meio alternativo para a síntese de AgNPs.⁹ A abordagem da química verde na síntese de nanopartículas metálicas é baseada no uso de biomoléculas como agentes redutores e estabilizantes, que contribuem para o aumento da biocompatibilidade e bioatividade das AgNPs, além de serem ecologicamente corretos.¹⁰

Apesar de suas vantagens, a síntese verde de AgNPs apresentam muitos desafios a serem vencidos, o principal deles é o controle do tamanho, morfologia, estabilidade e propriedades (químicas e físicas). Essas características são fortemente influenciadas pelas condições da reação, ou seja, a cinética de interação entre os íons metálicos com o agente de redução. Esse fator muitas vezes suprime o uso de biomoléculas como agentes redutores, as quais apresentam limitações frente aos redutores utilizados convencionalmente. Em decorrência disso, Sharma e colaboradores¹¹ relataram alguns métodos de síntese verde de AgNPs que utilizaram agentes redutores bastante promissores, sendo que as AgNPs apresentaram tamanhos adequados de partículas entre 10-80 nm e estabilidade dois meses após a síntese.

Filmes compósitos de polímero-metais apresentam potencial promissor para serem utilizados na indústria de embalagens de alimentos. Atividades antimicrobianas e efeitos antioxidantes são algumas das propriedades ativas que as nanopartículas metálicas podem adicionar aos filmes biopoliméricos. Em consequência disso, a sua aplicação como opções de embalagens de alimentos tem um efeito positivo na extensão da vida útil, segurança e qualidade dos alimentos.¹

Diante disso, neste trabalho, objetiva-se realizar a síntese e caracterização de nanopartículas de prata utilizando métodos verdes e estudar sua implementação em filmes de pectina e de pectina/PVA.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes

Para a síntese das nanopartículas, foram utilizados nitrato de prata (Vetec, 99%), maltose (ACS Científica, 92,0%), sacarose (Synth, 99%) e gelatina em pó (Vetec, 99,5%). Na preparação dos géis precursores aos filmes, pectina alimentícia (Levviale – Yantai), álcool polivinílico (SigmaAldrich, 87-90% hidrolisado, MW = 30000-70000) e glicerol U.S.P. (Synth) foram empregados.

Todas as soluções foram preparadas utilizando água destilada.

Nanopartículas de Prata

Síntese das nanopartículas de prata

Foram realizadas duas sínteses de AgNPs distintas, modificando apenas seu agente redutor. Na primeira síntese foi utilizada sacarose como agente redutor (AgNPs/S) e na segunda síntese foi utilizado maltose (AgNP/M) como agente redutor.

Em um balão de fundo redondo, foram preparados 30 mL de uma solução de gelatina (1%) em água destilada e submetidos a agitação contínua e aquecimento à 70 °C. Após a obtenção de uma solução límpida, foram adicionados 7,5 mL de uma solução de nitrato de prata (20 mmol L⁻¹) para a formação de Ag⁺-gelatina. Em seguida foi adicionado uma solução 100 mmol L⁻¹ do açúcar de interesse (4,00 mL de sacarose ou 3,75 mL de maltose), para que houvesse a redução da Ag⁺ a Ag⁰. A reação foi mantida em agitação e aquecimento à 75 °C durante 24 h. Foram retiradas alíquotas durante intervalos de 1, 5 e 24 h, a fim de monitorar a formação das nanopartículas.

Além das AgNPs, foram preparadas sob as mesmas condições mais duas reações: controle (branco) de sacarose (Br-S) e de maltose (Br-M), onde o volume de solução do precursor de Ag⁺ (7,5 mL) foi substituído por água destilada. Os brancos foram preparados para avaliar interação das nanopartículas, quando incorporadas nos filmes.

Caracterização das nanopartículas de prata

O Espectrofotômetro de Ultravioleta-Visível (marca Shimadzu, modelo UV-1800) localizado na Central Analítica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), foi utilizado para analisar a formação das nanopartículas ao longo da reação e sua estabilidade temporal,

por meio da observação das bandas de ressonância plasmônica no espectro nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm.

A técnica de espalhamento de luz dinâmico (DLS) foi realizada para avaliar a distribuição de tamanho das nanopartículas sintetizadas, sendo que o equipamento utilizado para esse experimento foi o Zetasizer Nano ZS Malvern do Laboratório 405 da Faculdade de Farmácia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), com as seguintes condições: índice de refração da prata: 0,135, coeficiente de absorção de 3,999, índice de refração da água de 1,330 e viscosidade de 0,8872 cP, tempo de equilíbrio de 60 s e temperatura de 25 °C. As amostras foram diluídas utilizando-se um fator de diluição de 1/100 em água ultrapura. A carga superficial das AgNPs foi avaliada por meio da análise do Potencial Zeta, sendo utilizado novamente o equipamento Zetasizer Nano ZS Malvern, com tempo de leitura de 110 s por amostra, com intervalos de medição de 10 s, e as amostras foram diluídas (1/50) em solução de NaCl 0,01 mol L⁻¹.

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi realizada utilizando o microscópio eletrônico JEM-1011 TEM, operando à 100 kV. Para a análise, duas gotas da amostra de cada AgNPs, sem diluição, foram gotejadas em grids de cobre recobertas com filme de carbono. As amostras foram enviadas para o Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LMCE) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em Florianópolis-SC.

Filmes de Pec-AgNPs preparados pelo método *casting*

Preparação dos filmes de Pec-AgNPs

Inicialmente, os filmes de Pec-AgNPs obtidos nesse estudo foram preparados pelo método *casting*, a partir de um gel contendo 5% m/m de pectina e 2,5% m/m de glicerina. Para isso, em 9,60 mL de dispersão contendo AgNPs (AgNP/S, para filmes Pec-AgNP/S; e AgNP/M, para filmes PecAgNP/M;) foram adicionados 500 mg de pectina e 250 mg de glicerina, a mistura foi aquecida à 65 °C e submetida a agitação contínua por 30 min. Os filmes de Pec-BrS e Pec-BrM, foram preparados sob as mesmas condições: em 9,60 mL de solução (BrS, para o preparado dos filmes Pec-BrS; e BrM para o preparo dos filmes Pec-BrM) foram adicionados 500 mg de pectina e 250 mg de glicerina e mantidos à 65 °C e agitação constante por 30 min. Além desses, foi preparado uma solução contendo somente pectina (500 mg), glicerina (250 mg) e água destilada (9,60 mL). Os géis formados foram

espalhados em Placas de Petri (90×15 mm) devidamente niveladas. Os filmes obtidos foram mantidos em dessecador por 24 h e, por fim, levados à uma estufa à 37 °C por 8 h.

Caracterização dos filmes de Pec-AgNPs

Os filmes de Pec-AgNP, Pec-Br e Pec-H₂O, foram caracterizados usando um espectrofotômetro de UV-Vis-NIR (Varian Cary 5000) do Laboratório de Laser e Óptica localizado no Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A análise foi realizada por transmissão total nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm, a fim de avaliar a presenças das NPs nos filmes Pec-AgNP e compará-los com os demais filmes sem a presença de AgNPs.

Para avaliar o tempo de desintegração dos filmes em água, cada amostra (n = 3) foi cortada em dimensões de 10×10 mm e imersa em 50 mL de água destilada, sob agitação moderada e temperatura ambiente até total desintegração do filme.

Filmes de Pec/PVA-AgNPs preparados por impressão 3D

Preparação dos géis/tintas para impressão 3D

De forma a obter filmes com maior reprodutibilidade, controle de tamanho, espessura e, conseqüentemente, de quantidade de AgNPs, filmes também foram preparados por impressão 3D. Como prova de conceito, géis de Pec/PVA para a impressão 3D foram preparados apenas contendo AgNP/S, devido sua maior estabilidade coloidal. O PVA foi adicionado para contribuir na printabilidade e nas propriedades mecânicas dos filmes. Para a preparação de 10 g do gel de Pec/PVAAgNP, foi utilizado uma proporção m/m de 5% de pectina, 5% de PVA e 15% de glicerina. Os géis de Pec-AgNP e PVA-AgNP, foram preparados separadamente, onde 500 mg de cada polímero e 750 mg de glicerina foram adicionados em 3,75 mL de dispersão de AgNP/S, sob agitação constante e aquecimento à 65 °C durante 30 min. Em seguida, os géis foram misturados para a formação de um gel Pec/PVA-AgNP e mantidos sob agitação e aquecimento à 65 °C por 15 min. Após a mistura resfriada, o gel foi acondicionado nas seringas de impressão e mantidos à 5 °C até o momento da impressão dos filmes. Géis controle de Pec/PVA foram preparados sob as mesmas condições,

substituindo o volume de dispersão de AgNP/S (3,75 mL) por Br/S (Pec/PVA-Br) ou água destilada (Pec/PVA-H₂O).

Impressão dos filmes Pec/PVA-AgNPs

Os filmes de Pec/PVA foram impressos em quadriplicata com formato de caixa (50 mm de comprimento, 10 mm de largura e 0,81 mm de espessura). A impressora usada foi a 3DBioEdPrinterV2 da marca BioEdTech do Laboratório de Nanocarreadores e Impressão 3D em Tecnologia Farmacêutica, localizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os parâmetros de impressão foram ajustados no software PrusaSlicer com as seguintes configurações: padrão de preenchimento retilíneo alinhado, espaçamento entre linhas 0,1 mm, ângulo de preenchimento 45°, diâmetro da ponteira de extrusão 0,41 mm, altura da camada de 0,41 mm, número de camadas 2, comprimento do âncora de impressão de 1 mm, velocidade de impressão 20 mm/s e temperatura de impressão ambiente (25 °C). Após impressos, os filmes foram armazenados em um dessecador por 8 h e, após, colocados em estufa à 37 °C por 8 h.

Caracterização dos filmes de Pec/PVA

Os filmes de Pec/PVA-AgNP, Pec/PVA-Br e Pec/PVA-H₂O foram caracterizados usando um espectrofotômetro de UV-Vis-NIR (Varian Cary 5000) por transmissão total nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm,

As propriedades mecânicas dos filmes de Pec/PVA foram medidas com o texturômetro Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido) do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico localizado na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), equipado com célula de carga de 50 kg e garras (A/TG). Os filmes impressos com tamanhos de 50×10×0,81 mm foram acoplados verticalmente a uma distância padrão de 30 mm, em seguida o filme foi esticado em uma velocidade de 0,5 mm/s até seu rompimento. Os dados obtidos do experimento foram analisados no software Expoente (Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido).

Para avaliar o tempo de desintegração dos filmes em água, amostras ($n = 3$) de 10×10 mm foram imersas em 50 mL de água destilada, sob agitação moderada e temperatura ambiente até total desintegração do filme.

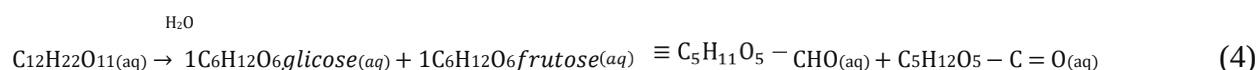
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nanopartículas de prata verdes

A escolha da gelatina como agente estabilizante nas AgNP foi justificada pela sua boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades as quais à favorecem frente a outros agentes estabilizantes verdes, como, por exemplo, a presença de grupos amina na sua estrutura, que contribui na estabilização, impedindo a agregação das nanopartículas.^{12,13} Oluwafmi e colaboradores^{13,14} propuseram as reações químicas para o processo de síntese de AgNPs sintetizadas com maltose e estabilizadas com gelatina, como apresentado nas equações abaixo:



O potencial redutor da maltose e da sacarose está atrelado ao grupamento obtido a partir da hidrólise dessas moléculas. Quando hidrolisada, a maltose resulta em duas moléculas de glicose (aldohexose); a sacarose, por sua vez, quando hidrolisada resulta em uma molécula de glicose (aldohexose) e uma de frutose (ceto-hexose). Aldeídos, por natureza são agentes redutores mais eficientes em comparação com a cetonas, as quais reagem como redutores apenas com agentes oxidantes fortes. Dito isso, a formação das nanopartículas com esses agentes redutores pode ser explicada meio de uma reação redox, onde o grupamento aldeído da glicose obtido por meio da hidrólise desses açúcares é responsável por reduzir a Ag^+ em solução em Ag^0 .¹⁵



Porém, diferentemente do que ocorre na hidrólise da maltose (3), onde há a oxidação de duas moléculas de aldeído (glicose) em ácido glucônico, na sacarose haverá somente a oxidação de uma molécula de aldeído (glicose) em ácido glucônico,¹⁶ restando uma molécula de frutose não oxidada:



A Figura 1 apresenta imagens das sínteses de AgNP realizadas a partir de diferentes agentes redutores. Após 24 h de reação, AgNP passaram de uma aparência incolor para uma coloração castanha; as AgNP sintetizadas com sacarose como agente redutor apresentaram-se em tons de castanho mais escuro (Figura 1a) em comparação com as AgNP sintetizadas utilizando maltose como agente redutor (Figura 1b). Essa mudança na coloração do sistema ao longo da reação para tons de amarelo acastanhado é um indicativo qualitativo da formação de prata em escala nanométrica,¹⁷ onde os diferentes tons e colorações apresentados por AgNP estão diretamente ligadas aos diferentes métodos de síntese, bem como a variação de agentes redutores, estabilizantes e concentrações deles,¹⁸ o que influencia também no tamanho e estabilidade das AgNPs.¹⁹

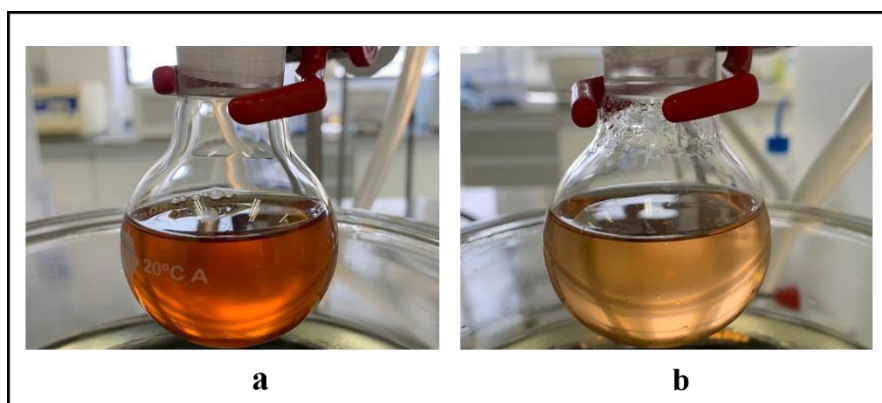


Figura 1. AgNPs após 24 h de reação com **(a)** sacarose como agente redutor; e **(b)** com maltose como agente redutor.

Espectrofotometria de UV-Vis das AgNPs

Com a retirada das alíquotas do meio reacional nos tempos de 1, 5 e 24 h para análise por UVVis (Figura 2), foi possível avaliar a cinética da reação de formação das nanopartículas, através do aparecimento de bandas de ressonância plasmônica entre os comprimentos de onda de 400 e 500 nm.^{14,15} Assim como Oluwafemi e colaboradores^{13,14}, foi possível relatar saturação na formação de AgNP após 24 h de reação. Essas observações são bastante comuns, por esse método se tratar de uma síntese *bottom-up* (“de baixo para cima”), onde o fenômeno de saturação na formação das AgNP pode ser explicado pela teoria de LaMer,²⁰ no qual a síntese química consiste em quatro etapas: redução (neste caso, da Ag^+ a Ag^0); nucleação (formação dos *clusters*), crescimento (crescimento dos aglomerados de átomos para escalas nanométricas) e estabilização (consumo de todos os reagentes, saturação da reação e estabilização termodinâmica de tamanho das AgNP).²¹

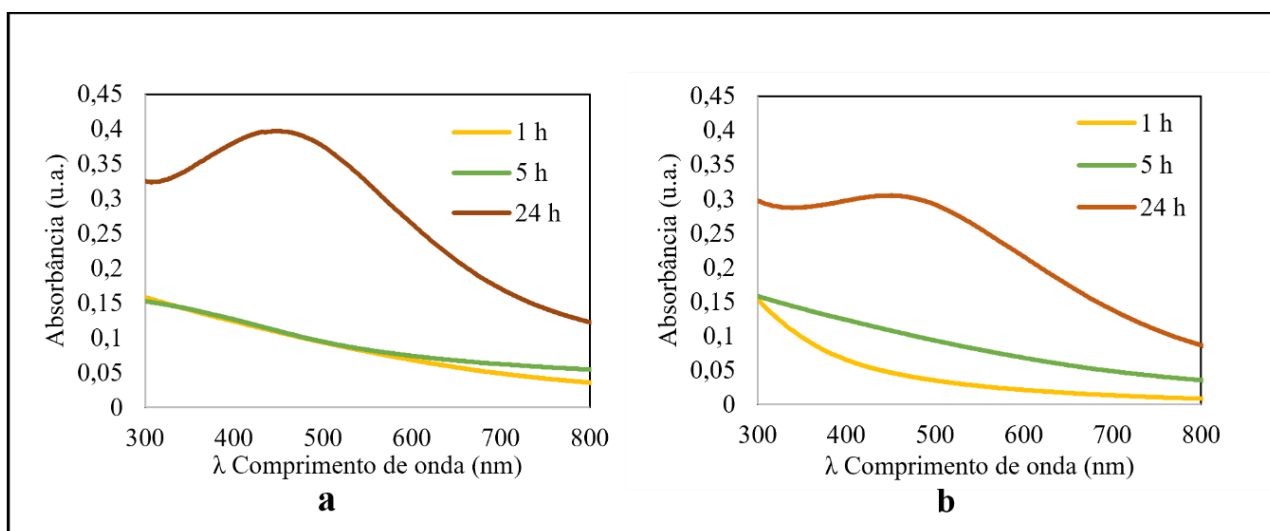


Figura 2. Espectro de UV-Vis das alíquotas retiradas do meio de reação nos tempos de 1, 5 e 24 h para AgNPs **(a)** sintetizadas com sacarose, **(b)** sintetizadas com maltose

Ainda na observação dos espectros de UV-Vis (Figura 2), é possível realizar uma breve comparação entre as bandas de ressonância plasmônica das AgNP/S e AgNP/M, onde podemos observar que as AgNP/S (Figura 2a) apresentam uma banda centrada em 450 nm, já as AgNP/M apresentam uma banda deslocada para a região do vermelho (480 nm), o que pode indicar a presença de nanopartículas com tamanhos maiores. Além disso, é possível notar que a banda em AgNP/M apresenta-se mais alargada em comparação a AgNP/S, o que também pode indicar uma distribuição maior em relação ao tamanho de partículas.¹⁵ Como analisado anteriormente, a maltose quando hidrolisada apresenta-se como um agente redutor mais eficaz em comparação à sacarose. Isso

pressupõe um menor tempo de reação para a formação das AgNP/M, o que pode também ser observado na Figura 2b, onde se tem indícios do aparecimento da banda de ressonância plasmônica no tempo de 5 h de reação. Tendo esses fatores em consideração, podemos avaliar que a reação de AgNP/M apresentou a etapa de redução mais rápida em relação à AgNP/S. Com isso, e com base na teoria de LaMer²², as etapas de nucleação e crescimento acontecem simultaneamente, aumentando a polidispersividade de tamanho, o que justifica a menor intensidade e maior largura da banda no final da reação (Figura 2b).

A estabilidade de nanopartículas metálicas sintetizadas por métodos verdes vem sendo foco de diversos estudos pelo mundo,²³ pois apesar de ambientalmente eficientes, as sínteses verdes apresentam muitos desafios, sendo um dos principais a estabilidade dessas partículas com o passar do tempo. A dificuldade em mantê-las monodispersas e em escalas nanométricas por muito tempo acaba reduzindo sua aplicabilidade.¹¹ Em vistas disso, ao decorrer desse estudo foi avaliada a estabilidade das nanopartículas em dispersão ao longo de 5 meses (Figura 3), por meio da avaliação dos espectros de ressonância plasmônica na região do UV-Vis.

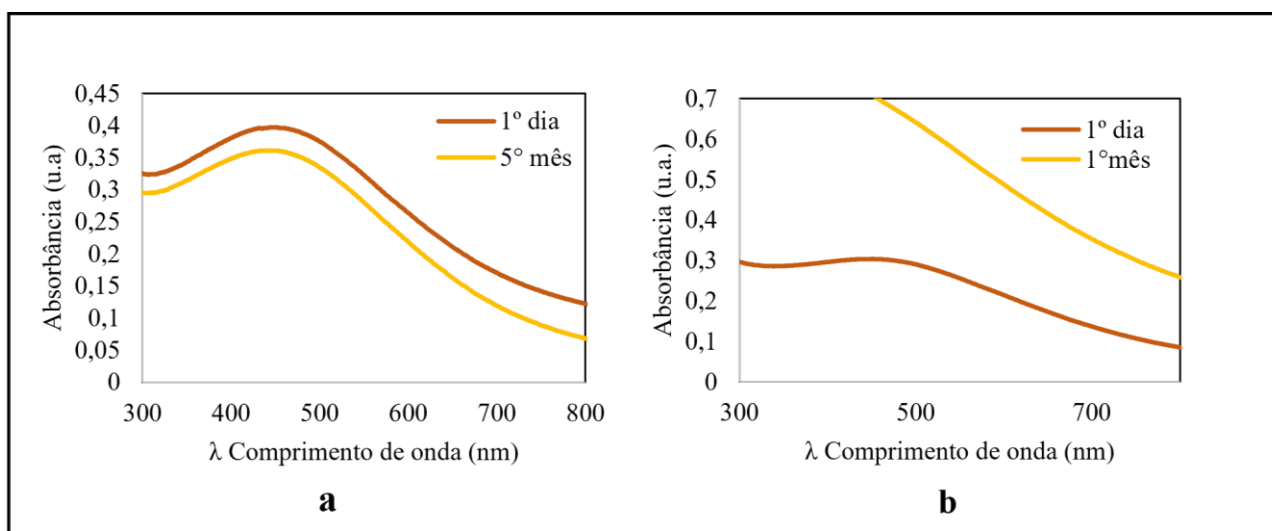


Figura 3. Espectro de UV-Vis de **(a)** AgNP-S após um dia de síntese e após 5 meses; e **(b)** AgNP-M após um dia de síntese e após 1 mês.

Apesar de ambas as metodologias de síntese terem utilizado gelatina como agente estabilizante, as AgNP/S continuaram estáveis em dispersão aquosa 5 meses após sua síntese, diferentemente das AgNP/M que, como mostrado em seu espectro (Figura 3b), não apresentava mais

sua banda de ressonância plasmônica definida após 1 mês. Como já mencionando anteriormente, a maltose é composta por duas moléculas de glicose que contém em sua estrutura um grupamento aldeído com potencial redutor amplamente conhecido; nesse caso, ambas as moléculas poderão ser oxidadas para a redução da prata. No caso da sacarose, quando sofre hidrólise, resulta em uma molécula de glicose (grupo aldeído) e outra de frutose com um grupamento cetona de baixo potencial redutor, ou seja, na dispersão contendo sacarose, haverá uma menor concentração de agente redutor (glicose) para reagir com os íons Ag^+ em comparação com a dispersão contendo maltose. Nesse caso, a menor concentração de glicose (agente redutor) pode influenciar também na estabilização das nanopartículas pois, de acordo com a teoria de LaMer²⁰, a cinética da reação acontecerá de forma mais devagar e seletiva, possibilitando a separação das etapas de nucleação e crescimento, dando origem a nanopartículas monodispersas e termodinamicamente mais estáveis.¹⁵

Análise de DLS e Potencial Zeta das AgNPs

A técnica de DLS (espalhamento de luz dinâmico) foi utilizada para avaliar a distribuição de tamanhos das nanopartículas. A análise de DLS mostrou que o tamanho médio das partículas sintetizadas com sacarose (AgNP/S) (Figura 4) são de 207,7 nm e o valor de PDI (índice de polidispersividade) foi de 0,173.

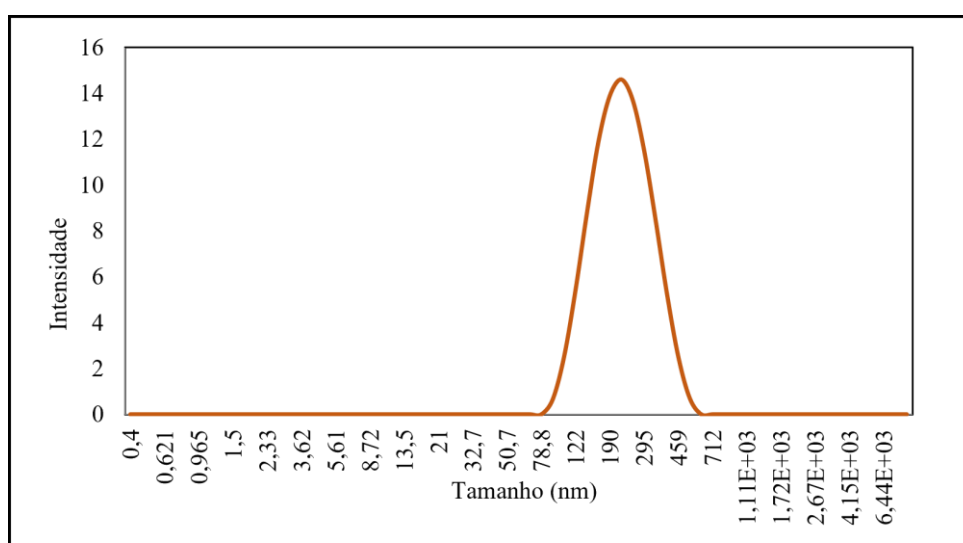


Figura 4. Distribuição do diâmetro de AgNP/S obtidos por DLS

As partículas sintetizadas com maltose como agente redutor (AgNP/M) obtiveram um diâmetro médio de 165,5 nm (Figura 5) e PDI de 0,480, sendo esse último maior em comparação às AgNP/S, o que indica que as nanopartículas sintetizadas com sacarose apresentam tamanho mais homogêneo em relação as sintetizadas com maltose.²⁴ A polidispersividade das AgNP/M é claramente observada na distribuição de tamanho de partículas, onde obteve-se partículas de tamanhos variados de 100 à 1000 nm. Essa observação vai de acordo com a análise da banda de ressonância plasmônica (Figura 2b), onde a presença da banda alargada indica também a maior distribuição no tamanho de partículas. É importante ressaltar que o diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas é afetado pelas camadas elétricas em suas superfícies e pelos agentes estabilizantes presentes na dispersão.²⁵

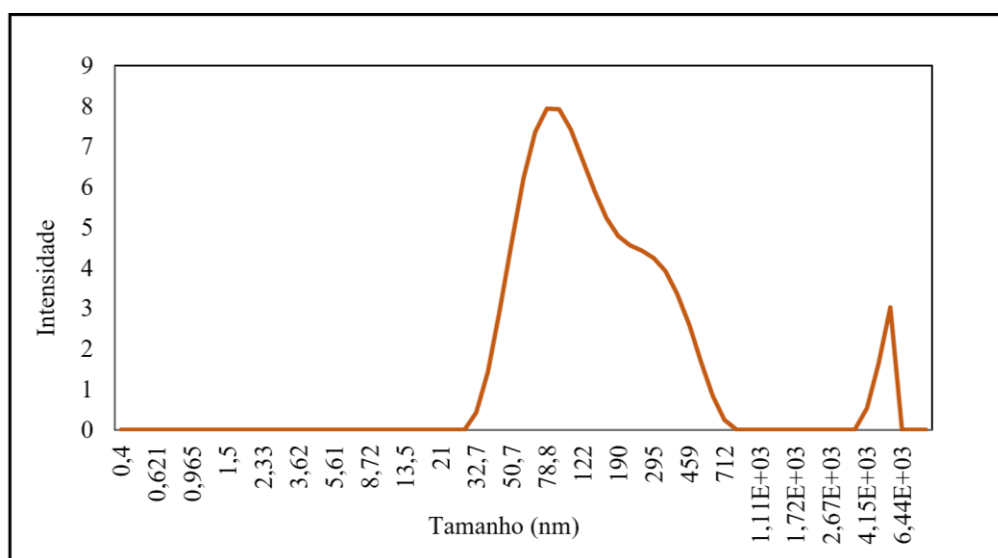


Figura 5. Distribuição do diâmetro de AgNPs/M obtidos por DLS

O potencial Zeta foi usado para determinar a carga superficial das nanopartículas, o que ajuda a indicar a estabilidade do sistema. Valores de potencial Zeta superiores a ± 30 mV sugerem que a repulsão entre as partículas é maior, portanto, a chance de aglomeração será menor, levando a uma maior estabilidade do sistema.²⁶ As AgNP/S apresentaram um potencial Zeta de -7,67 mV e as AgNP/M apresentaram um potencial Zeta de -3,34 mV. A gelatina é composta por diversos aminoácidos, especialmente glicina, prolina e alanina, apresentando, portanto, grupamentos aminas (podendo estar protonados e carregados positivamente) e ácidos carboxílicos (podendo estar desprotonados e carregados negativamente). Desta forma, a gelatina é uma macromolécula anfótera, apresentando ponto isoelétrico entre 4-5, que pode chegar até 9 dependendo do tipo de gelatina (tipo

A ou B). No ponto isoelétrico, o potencial Zeta da gelatina tende a ser nulo (ou próximo de zero), indicando que os grupamentos ácidos e básicos da gelatina encontram-se igualmente ionizados. Em valores de pH neutro, ou seja, acima do seu ponto isoelétrico, a gelatina deve apresentar valores ligeiramente negativos, como os observados neste trabalho.²⁷ E, quando as cadeias de proteínas são altamente carregadas negativamente ou positivamente, a repulsão eletrostática impedirá a aglomeração das cadeias poliméricas, impedindo também a aglomeração da AgNPs.²⁸

Apesar de ambas não estarem dentro da faixa ideal (acima ± 30 mV) para que as AgNP não aglomerem-se,²⁹ ainda assim, entre as duas AgNP sintetizadas, é possível observar que as AgNP/S apresentam maior carga em módulo em comparação às AgNP/M, portanto, maior estabilidade coloidal, corroborando com as demais análises apresentadas até o momento.

Microscopia eletrônica de transmissão

A morfologia das AgNPs foi caracterizada por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e as imagens obtidas estão apresentadas na Figura 6. É possível observar que as nanopartículas sintetizadas com maltose e sacarose como agente redutor e gelatina como estabilizante apresentaram formatos esféricos, conforme esperado pelos dados de espectroscopia na região do UV-Vis, uma vez que nanopartículas anisotrópicas apresentam mais do que uma banda de ressonância plasmônica no espectro.³⁰ Na Figura 7, podemos observar o histograma da distribuição dos tamanhos das AgNPs sintetizadas, tanto as AgNP/S quanto as AgNP/M apresentaram tamanho médio próximo de 15 nm, porém ao realizar uma análise das Figuras 6 e 7, podemos visualizar a maior distribuição de tamanho das AgNP/M, confirmando sua maior polidispersividade e corroborando os demais resultados de DLS e espectros de ressonância plasmônica na região do UV-Vis analisados anteriormente.

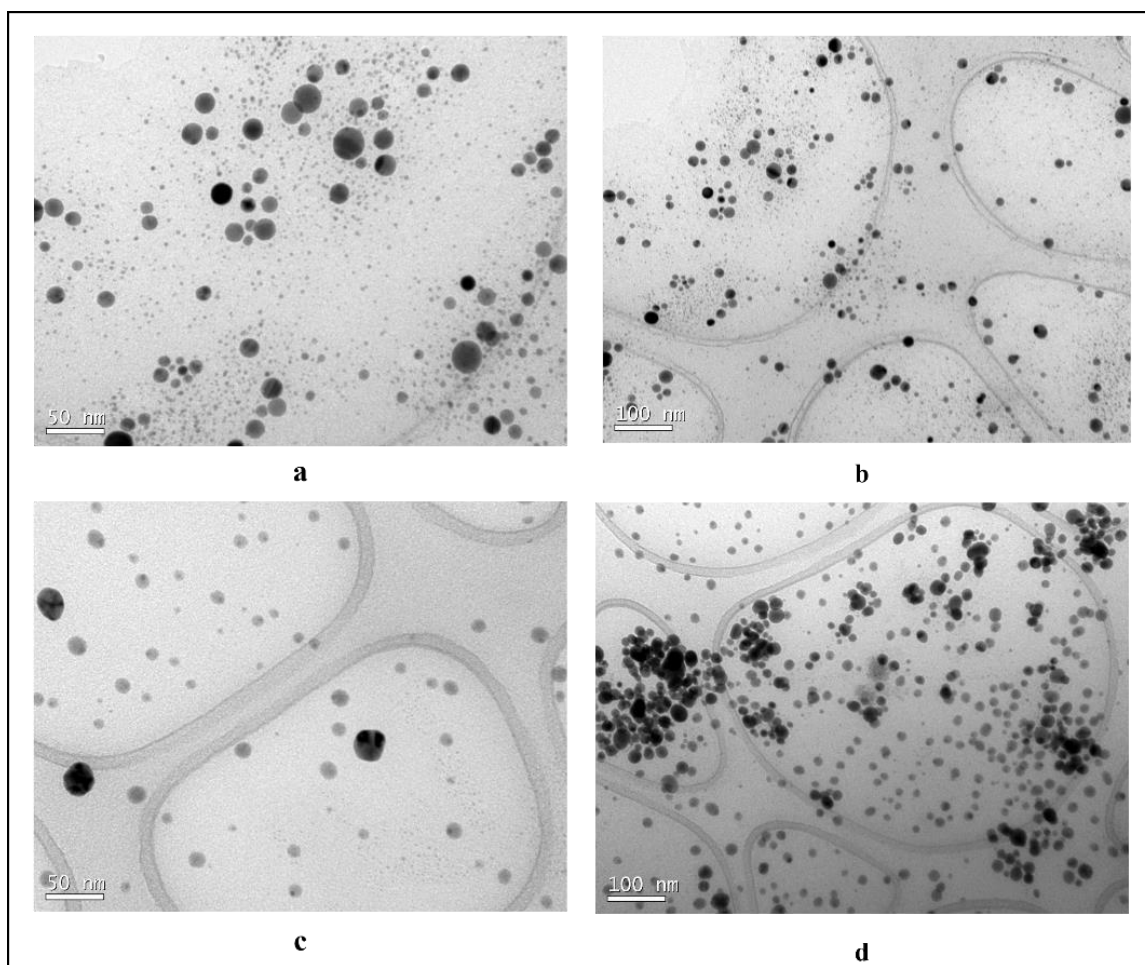


Figura 6. Imagens de MET em diferentes magnificações das (a) e (b) AgNP/S; e (c) e (d) AgNP/M

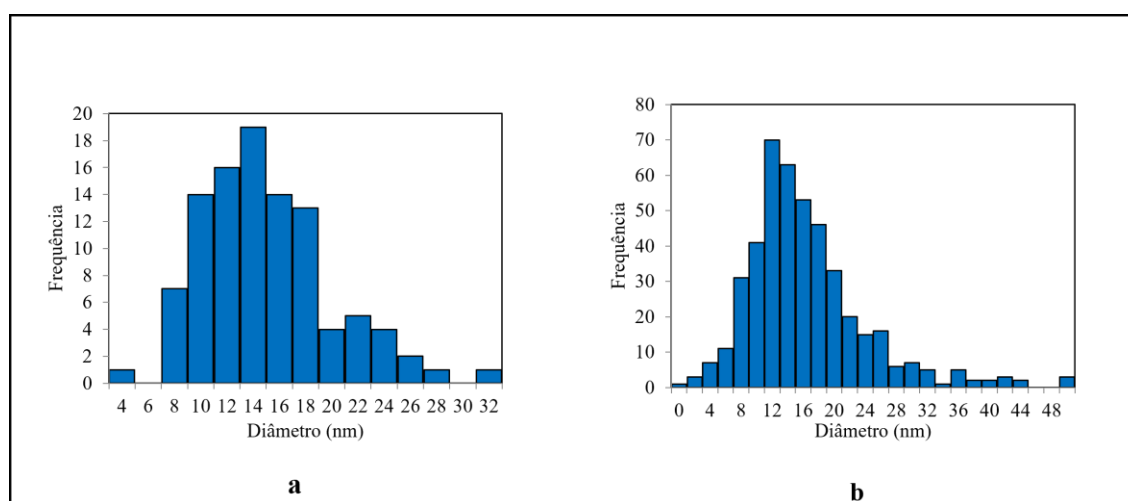


Figura 7. Histograma do diâmetro das AgNPs (a) AgNP/S (população de 101 NPs) e (b) AgNP/M (população de 446 NPs)

Filmes de Pec-AgNPs preparados pelo método *casting*

Espectrofotometria de UV-Vis dos filmes de Pec-AgNP

Todos os filmes de pectina preparados pelo método *casting* (Pec-AgNP/S, Pec-AgNP/M, Pec-Br/S, Pec-Br/M e Pec-H₂O) apresentaram-se, após secagem, flexíveis e com boa elasticidade. As propriedades ópticas dos filmes foram determinadas a partir de medidas de transmitância total na faixa de comprimentos de onda de 200 à 800 nm e os espectros obtidos estão apresentados na Figura 8. Os dados de transmitância total dos filmes estão apresentados como 100-%T para melhor visualização e comparação. É possível notar a banda de absorção plasmônica característica de AgNP³¹ nos filmes Pec-AgNP/S e Pec-AgNP/M, bem como sua ausência nos demais filmes que não continham a dispersão de NPs, o que confirma o sucesso da incorporação das AgNP/S e AgNP/M na matriz biopolimérica.

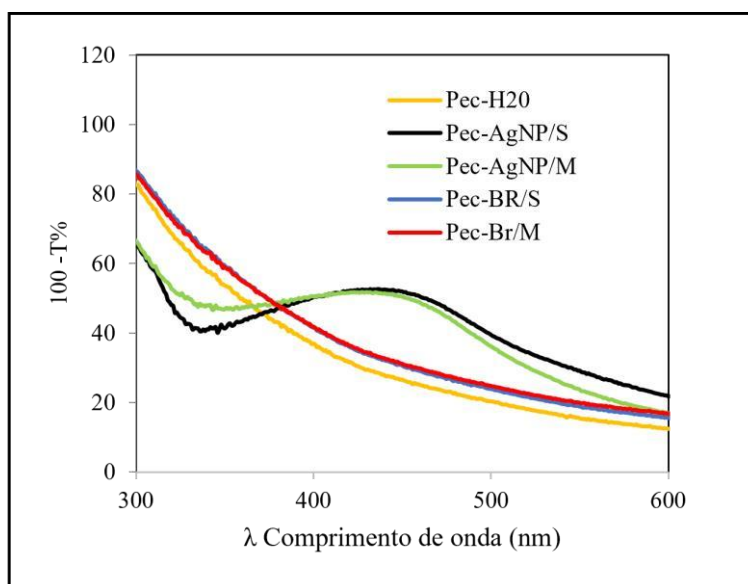


Figura 8. Espectro de UV-Vis dos filmes de Pectina preparados pelo método *casting* (Pec-AgNP/S, Pec-AgNP/M, Pec-Br/S, Pec-Br/M e Pec-H₂O).

Assim como em meio aquoso, a estabilidade das nanopartículas presentes nos filmes (meio sólido) também foi avaliada ao longo de 5 meses. Os espectros obtidos estão apresentados na Figura 9.

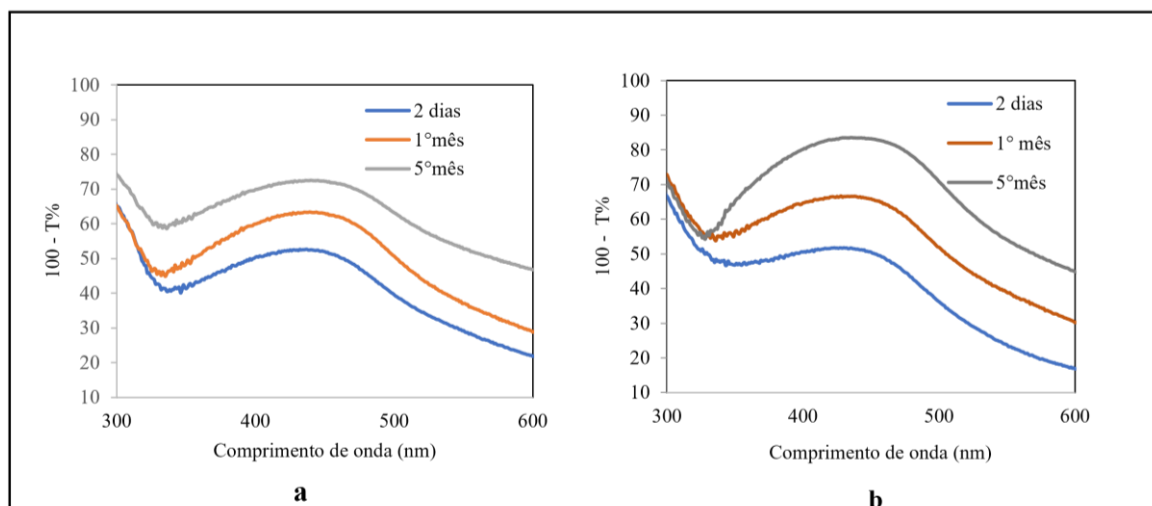


Figura 9. Espectro de UV-Vis de **(a)** Filmes de Pec-AgNP/S após dois dias de síntese e após 5 meses; e **(b)** Filmes de Pec-AgNP/M após dois dias de síntese e após 5 meses.

É possível notar que, diferentemente da dispersão aquosa (Figura 3b) na qual as AgNP/M não mantiveram-se estáveis durante o primeiro mês, no filme Pec-AgNP/M as mesmas apresentaram-se estáveis durante, pelo menos 5 meses, o que propicia o uso das AgNP/M em nanocompósitos biopoliméricos. Essa diferença de estabilidade em relação a dispersão aquosa e dos filmes, pode ser explicada por analogia com os estados físicos da matéria (sólido, líquido e gasoso), pois quando incorporadas aos filmes, as AgNPs estão presentes em um meio sólido, o que diminui energia cinética entre as partículas, fazendo com que elas permaneçam estáveis por mais tempo em comparação com a dispersão aquosa, onde as AgNPs estão mais suscetíveis à desestabilização

Desintegração dos filmes de Pec-AgNPs preparados pelo método casting

De forma a avaliar a interação dos filmes com a água, primeiramente foram realizados testes de inchamento, para análise de ganho de massa dos filmes quando em contato com a água. Porém esse teste foi inconclusivo, pois os filmes se desintegram rapidamente. Dessa forma, foi realizado testes de desintegração para avaliar o tempo de que o filme iria levar até solubilizar-se totalmente em

excesso de água. Os ensaios foram realizados em triplicata e o tempo médio para a desintegração total dos filmes está apresentado na Figura 10. Apesar da solubilidade da pectina em pó ser fortemente influenciada pela temperatura,³² os géis de pectina apresentam uma solubilidade maior, pois sofrem ação do glicerol presente em seu preparo, o qual auxilia nas propriedades mecânicas agindo como agente plastificante, porém afeta sua solubilidade, deixando os filmes mais solúveis em água.³³

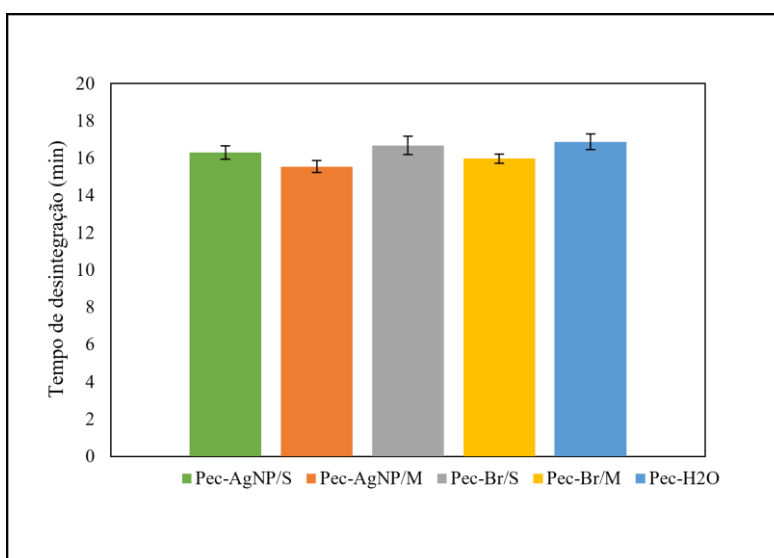


Figura 10. Gráfico de desintegração dos filmes de pectina obtidos por casting (Pec-AgNP/S, Pec-AgNP/M, Pec-Br/S, Pec-Br/M e Pec-H₂O)

Filmes de Pec/PVA-AgNPs preparados por impressão 3D

Os filmes de pectina contendo AgNPs, além de estáveis quanto à presença de nanopartículas, apresentaram-se bastante flexíveis. Porém, dadas as propriedades elásticas e adesivas da pectina, os filmes eram de difícil manuseio. Para explorar as potencialidades de manufatura de filmes poliméricos é comum preparar blends de (bio)polímeros que sinergicamente combinem suas características, seja para alterar as propriedades de solubilidade, seja para otimizar as propriedades mecânicas dos filmes. Pensando nisso, o álcool polivinílico (PVA) surgiu como uma boa alternativa para adição dessas características, uma vez que o PVA apresenta alta solubilidade em água comparado à pectina,³⁴ além de estudos anteriores comprovarem uma maior rigidez em filmes contendo esse polímero³⁵

Como prova de conceito, géis de pectina/PVA foram preparados contendo AgNP/S e utilizados na obtenção de filmes através de uma diferente estratégia de manufatura: a impressão 3D. A impressão 3D traz algumas vantagens frente ao método *casting*, sendo as principais delas: customização de tamanho e formato; controle fino da quantidade de material depositado e, consequentemente, personalização da quantidade de ativo incorporada; prototipagem rápida; e reprodutibilidade entre impressos, o que garante uniformidade nas propriedades físicas e mecânicas.³⁶

Espectrofotometria de UV-Vis dos filmes de Pec/PVA impressos em 3D

Os filmes de Pec/PVA, após impressos e secos em estufa, continuaram apresentando boa flexibilidade, propriedades características de filmes pectina,³⁷ e baixa adesão a superfícies (menos colantes), o que facilitou seu manuseio. As propriedades ópticas dos filmes foram determinadas medindo a transmitância total em comprimentos de onda de 200 à 800 nm (Figura 11). Foi possível certificar a presença das AgNPs nos filmes preparados com as dispersões (Pec/PVA-AgNP/S) pelo processo de absorção observado na região de 450 nm, um indicativo da presença de AgNPs esféricas no filme de Pec/PVA, assim como observado anteriormente para os filmes de Pec-AgNP/S.

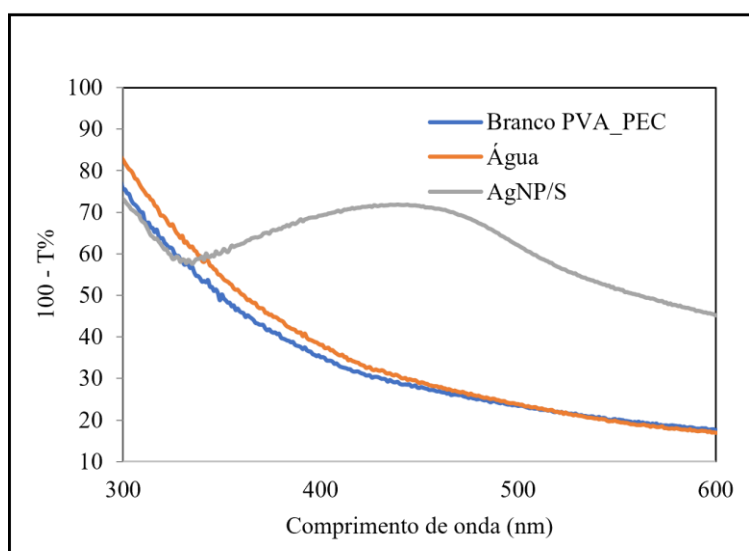


Figura 11. Espectro na região do UV-Vis para os filmes de Pec/PVA.

Propriedades mecânicas dos filmes de Pec/PVA impressos em 3D

As propriedades mecânicas dos filmes se referem, principalmente, a faixa de estresse que eles podem suportar quando aplicados, por exemplo, em embalagens de alimento e, normalmente são representados pela resistência à tração (RT) e alongamento na ruptura (AR).³⁸ Dessa forma, propriedades mecânicas dos filmes de Pec/PVA foram investigadas em relação a esses parâmetros e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 12.

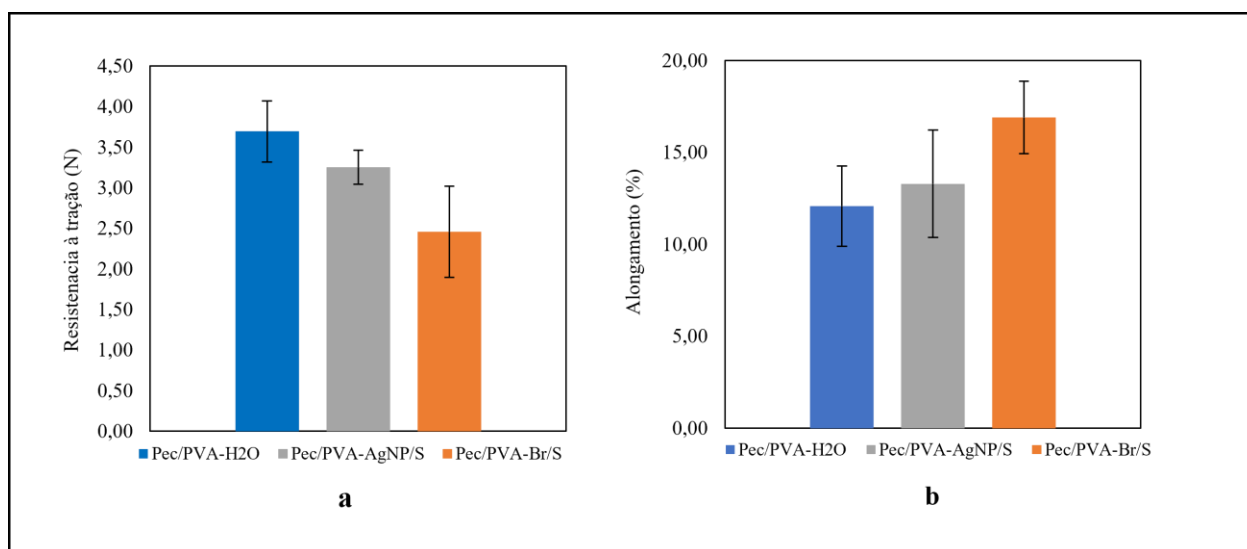


Figura 12. (a) Resistência à tração e (b) alongamento dos filmes de Pec-PVA impressos em 3D.

É possível observar, levando em consideração o desvio padrão de cada amostra, que não houve diferença significativa na RT e AR entre os filmes de Pec/PVA-H₂O e Pec/PVA-AgNP/S, podendo considerar que a implementação das AgNPs nos filmes não compromete suas propriedades mecânicas de origem. É possível notar também que os filmes de Pec/PVA-H₂O apresentaram uma maior resistência à tração e menor alongamento na ruptura quando comparados com os filmes Pec/PVABr/S, ou seja, os filmes estendem-se à uma distância maior antes de quebrar. Os valores de RT e AR observados neste trabalho para filmes de pectina/PVA são compatíveis com outros já reportados na literatura para blendas poliméricas contendo pectina.³⁹

Desintegração dos filmes de Pec/PVA impressos em 3D

Semelhante ao que ocorreu com os filmes de Pec-AgNPs, os filmes de Pec/PVA impressos também se desintegram logo que submetidos aos testes de inchamento, o que era esperado, levando

em consideração que o PVA apresenta uma hidrofiliabilidade amplamente conhecida e maior que a pectina.³⁴ Quanto ao tempo de desintegração (Figura 13), os filmes combinando os dois biopolímeros desintegrou-se em um tempo 34% menor que os filmes contendo somente pectina (Figura 10). Porém, esse fator de solubilidade não se deve somente à presença de PVA, mas também ao aumento da quantidade de glicerol presente no filme, o qual, como dito anteriormente, influencia no aumento da afinidade dos filmes com a água.³³

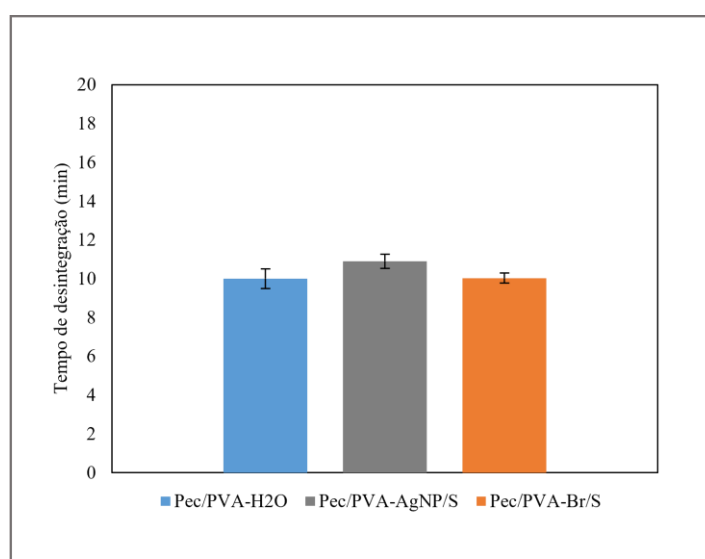


Figura 13. Ensaio de desintegração dos filmes de Pec/PVA.

A vida útil do alimento está associada a transferência de água entre o alimento e a atmosfera, portanto, uma função importante das embalagens de alimentos é reduzir a transferência de água.⁴⁰ Neste contexto, a rápida desintegração dos filmes de pectina/PVA em água limitaria sua aplicação no desenvolvimento de embalagens para alimentos de natureza úmida. Entretanto, diversos outros alimentos secos, como pães, cereais e frutas com casca, são deteriorados por ação fúngica que pode ser combatida por filmes contendo agentes antimicrobianos, como AgNPs. A avaliação da atividade antimicrobiana das dispersões verdes de AgNPs sintetizadas nesse trabalho, bem como dos filmes de biopolímeros produzidos, são passos seguintes na avaliação dos materiais, não apenas para o desenvolvimento de embalagens ativas para alimentos, mas também para outros horizontes de aplicação, como revestimento de superfícies passíveis de contaminação microbiológica e curativos antissépticos.

Outra preocupação importante de ser mencionada é que a completa desintegração do filme resultaria na liberação das AgNPs que, embora sintetizadas com uma abordagem que minimiza a produção de compostos perigosos, ainda não possuem avaliação integral de riscos à saúde humana. Mesmo assim, a obtenção de filmes nanocompósitos de biopolímeros contendo AgNPs é um importante passo no desenvolvimento de embalagens ativas. A síntese verde de AgNPs, sua incorporação em filmes de biopolímeros sem alteração nas propriedades mecânicas, bem como sua estabilidade ao longo de, pelo menos, cinco meses, destaca a abordagem como promissora. Um balanço adequado entre velocidade de desintegração e fácil degradação em condições adequadas de água e oxigênio, bem como aumento da resistência à transferência de umidade, serão alvo de estudos futuros através da incorporação de outros biopolímeros e/ou agentes de *crosslink* que reduzam a solubilidade aquosa da pectina, com mínima interferência na estabilidade das AgNPs. Adicionalmente, novas tecnologias avançadas de manufatura, como a impressão 3D, aliam-se à nanotecnologia como ferramentas de customização de tamanho e formato, além da elevada precisão de impressão que garante o controle da quantidade de agente ativo e a uniformidade de espessura e de propriedades mecânicas.

CONCLUSÃO

A síntese sustentável de AgNPs foi realizada utilizando redutores e estabilizante não agressivos ao meio ambiente, como maltose e sacarose, e gelatina, respectivamente. Com a utilização de ambos os redutores, foram obtidas nanopartículas esféricas com tamanho médio de 15 nm, resultados comprovados por MET, porém, como foi possível analisar pelas técnicas de DLS as AgNPs sintetizadas com sacarose apresentaram uma distribuição de tamanho menor em relação as AgNPs sintetizadas com maltose. As dispersões aquosas de AgNPs reduzidas por sacarose permaneceram estáveis por, pelo menos, 5 meses, como resultado da maior estabilidade termodinâmica proporcionada pelo redutor, nas condições de síntese utilizadas. Apesar das AgNPs estabilizadas por maltose não apresentarem-se temporalmente estáveis em dispersão aquosa, elas apresentam boa estabilidade quando incorporadas a filmes de biopolímeros, o que não descarta sua aplicação para esses fins.

Filmes de pectina contendo as AgNPs verdes foram obtidos pelo método de *casting* e a presença das AgNPs foi identificada nos filmes mesmo após 5 meses, indicando sua boa estabilidade.

Buscando otimizar as propriedades mecânicas e sensoriais (menor adesividade) dos filmes, uma blenda de pectina/PVA contendo AgNPs foi preparada e empregada com sucesso na preparação de filmes por impressão 3D. Apesar de haver vários estudos relacionados a filmes de pectina e sua aplicabilidade em embalagens de alimento, ainda não há pesquisas das propriedades e aplicabilidade de filmes de pectina combinados com PVA. A tecnologia de impressão 3D também é inovadora e proporciona customização e maior uniformidade das estruturas impressas. Ambos os filmes preparados, pectina e pectina-PVA contendo ou não AgNPs, apresentaram rápida desintegração em contato com a água, o que apresenta-se como um desafio a ser contornado para seu uso como embalagem de alimentos úmidos. Mesmo assim, os filmes de pectina-PVA contendo AgNPs, além da esperada atividade antimicrobiana das AgNPs, apresentam propriedades mecânicas, sensoriais e ópticas úteis para o desenvolvimento de plásticos biodegradáveis, considerando seu uso também em outras aplicações.

REFERÊNCIAS

1. Videira-Quintela, D.; Martin, O.; Montalvo, G.; *Trends Food Sci Technol* **2021**, 109, 230.
[<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.020>]
2. Rebello, F.; *Revista Agroambiental* **2009**, 156.
3. Shankar, S.; Tanomrod, N.; Rawdkuen, S.; Rhim, J. W.; *Int J Biol Macromol* **2016**, 92, 842.
[<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.107>] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27492557>
4. Kumar, S.; Shukla, A.; Baul, P. P.; Mitra, A.; Halder, D.; *Food Packag Shelf Life* **2018**, 16, 178.
[<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.008>]
5. Ameripen; *AMERIPEN* **2018**, <https://www.ameripen.org/page/FoodWaste>
6. Kumar, S.; Basumatary, I. B.; Sudhani, H. P. K.; Bajpai, V. K.; Chen, L.; Shukla, S.; Mukherjee, A.; *Trends Food Sci Technol* **2021**, 112, 651. [<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.031>]
7. Grunspan, E. D.; Ulon, S. N.; Santos, A. F.; Herrmann, G. P.; Shirmer, V. R.; *Ciência Rural* **1996**, 26, 263.
8. Dey, A.; Pandey, G.; Rawtani, D.; *Food Control* **2022**, 131,

[<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108469>]

9. Jorge de Souza, T. A.; Rosa Souza, L. R.; Franchi, L. P.; *Ecotoxicol Environ Saf* **2019**, *171*, 691.

[<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.095>] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30658305>

10. Ali, A.; Ahmed, S.; *J Agric Food Chem* **2018**, *66*, 6940.

[<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01052>] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29878765>

11. Sharma, V. K.; Yngard, R. A.; Lin, Y.; *Adv Colloid Interface Sci* **2009**, *145*, 83.

[<https://doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18945421>

12. Darroudi, M.; Khorsand Zak, A.; Muhamad, M. R.; Huang, N. M.; Hakimi, M.; *Mater Lett*

2012, *66*, 117. [<https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2011.08.016>]

13. Oluwafemi, O. S.; Lucwaba, Y.; Gura, A.; Masabeya, M.; Ncapayi, V.; Olujimi, O. O.; Songca,

S. P.; *Colloids Surf B Biointerfaces* **2013**, *102*, 718.

[<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.09.001>]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23104035>

14. Oluwafemi, O. S.; Vuyelwa, N.; Scriba, M.; Songca, S. P.; *Mater Lett* **2013**, *106*, 332.

[<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.05.001>]

15. Filippo, E.; Serra, A.; Buccolieri, A.; Manno, D.; *J Non Cryst Solids* **2010**, *356*, 344.

[<https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2009.11.021>]

16. Tomotani, E.; Bioconversão de sacarose em ácido glicônico e frutose usando reator com membrana, Universidade de São Paulo, 2006

17. Khan, M.; Ahmad, F.; Koivisto, J. T.; Kellomäki, M.; *Colloids and Interface Science*

Communications **2020**, *39*, [<https://doi.org/10.1016/j.colcom.2020.100322>]

18. Huang, T.; Xu, X. H. N.; *J Mater Chem* **2010**, *20*, 9867. [<https://doi.org/10.1039/C0JM01990A>]

19. Rivero, P. J.; Goicoechea, J.; Urrutia, A.; Matias, I. R.; Arregui, F. J.; *Nanoscale Res Lett* **2013**,

- 8, 1. [<https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-438/FIGURES/10>]
20. WSR, T.; RdS, P.; AC, L.; JdS, C.; MP, M.; D, G.; **2021**,
[<https://doi.org/10.1590/SCIELOPREPRINTS.3329>]
21. ALVAREZ, L.; *Univ. Federal ES* **2018**
22. Eletrônico, A.; Sabino Da Silva, L.; Zanatta, R.; Raia, R. Z.; Miguel, S.; Marcucci, P.; Cher, G. G.; Arroyo, P. A.; **[s.d.]**
23. Kumar, J. A.; Krithiga, T.; Manigandan, S.; Sathish, S.; Renita, A. A.; Prakash, P.; Prasad, B. S. N.; Kumar, T. R. P.; Rajasimman, M.; Hosseini-Bandegharaei, A.; Prabu, D.; Crispin, S.; *J Clean Prod* **2021**, 324, [<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129198>]
24. Albernaz, V.; *UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA* **2014**
25. Alharbi, N. S.; Alsubhi, N. S.; Felimban, A. I.; *J Radiat Res Appl Sci* **2022**, 15, 109.
[<https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012>]
26. Umai, D.; Vikranth, A.; Meenambiga, S. S.; *Mater Today Proc* **2021**, 44, 3647.
[<https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.10.681>]
27. Brescovici, L.; *Univ. Federal do PR* **2017**
28. Chen, H.; Mcquarrie, S.; Abrams, D.; *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2006**,
<https://www.researchgate.net/publication/6936863>
29. Alshameri, A. W.; Owais, M.; Altaf, I.; Farheen, S.; *OpenNano* **2022**, 8, 100084.
[<https://doi.org/10.1016/J.ONANO.2022.100084>]
30. Avila, P.; Molina, J.; *J Chem Educ* **2021**
31. Khare, S.; Singh, R. K.; Prakash, O.; *Results Chem* **2022**, 4, 100447.
[<https://doi.org/10.1016/J.RECHEM.2022.100447>]
32. *FOOD INGREDIENTS BRASI* **2014**, www.revista-fi.com
33. Mehraj, S.; Sistla, Y. S.; *Electronic Journal of Biotechnology* **2022**, 55, 27.

[<https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2021.11.004>]

34. Zhou, Q.; Chen, J.; Wang, C.; Yang, G.; Janaswamy, S.; Xu, F.; Liu, Z.; *Ind Crops Prod* **2022**, *188*, 115669. [<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.115669>]

35. Li, X.; Liu, Y.; Ren, X.; *Int J Biol Macromol* **2022**, *216*, 86.
[<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.06.188>]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35788002>

36. Deon, M.; dos Santos, J.; de Andrade, D. F.; Beck, R. C. R.; *Int J Pharm* **2022**, *628*,
[<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122293>]

37. Priyadarshi, R.; Kim, S. M.; Rhim, J. W.; *Food Chem* **2021**, *347*, 129022.
[<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129022>]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33482482>

38. Zhang, W.; Cao, J.; Jiang, W.; *Food Hydrocoll* **2022**, *128*, 107594.
[<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.107594>]

39. Yu, Z.; Li, B.; Chu, J.; Zhang, P.; *Carbohydr Polym* **2018**, *184*, 214.
[<https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.12.043>]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29352914>