

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**LETÍCIA PAPAES VANIN**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ANTIMICROBIANAS  
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE  
EMPREGANDO EXTRATO AQUOSO DE MACELA (*Achyrocline satureioides*)**

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

**LETÍCIA PAPAES VANIN**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ANTIMICROBIANAS  
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE  
EMPREGANDO EXTRATO AQUOSO DE MACELA (*Achyrocline satureioides*)**

**OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF ANTIMICROBIAL PACKAGES  
CONTAINING SILVER NANOPARTICLES OBTAINED BY GREENS SYNTHESIS  
USING AQUEOUS MACELA EXTRACT (*Achyrocline satureioides*)**

Trabalho de Conclusão de curso de Graduação,  
apresentada como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves

**CAMPO MOURÃO**

**2021**



**4.0 Internacional**

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**LETÍCIA PAPAES VANIN**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE EMBALAGENS ANTIMICROBIANAS  
CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA OBTIDAS POR SÍNTESE VERDE  
EMPREGANDO EXTRATO AQUOSO DE MACELA (*Achyrocline satureioides*)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

01/12/2021: primeiro de dezembro de 2021.

---

Odinei Hess Gonçalves  
Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Evandro Bona  
Doutor em Ciências de Alimentos  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini  
Doutora em Química e Fisiologia de Microrganismos  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente quero agradecer a Deus por ter me concedido esta oportunidade de estudar e fazer uma graduação pela qual batalhei muito e tê-la concluído com graça e determinação.

Agradeço aos meus pais, Neuzeli Donizeti Papaes Vanin e Marcelo Vanin por terem me ajudado nessa oportunidade e por todos os caminhos já percorridos até aqui, a minha irmã por ter permanecido ao meu lado em todos os momentos, me apoiando e incentivando através dessa jornada, a minha querida tia Mirela Vanin dos Santos Lima, por ter além de me orientado em muitos momentos no decorrer desses anos, ter sido uma ótima professora e fundamental no meu caminho me dando toda a assistência e muito amor e carinho nessa etapa.

Ao meu orientador Odinei Hess Gonçalves por toda a dedicação, incentivo, paciência e por todos os ensinamentos e aprendizagens no decorrer de todo o estudo e tempo para a conclusão desse trabalho, a professora Fernanda Vitória Leimann pelo aprendizado em todas as análises que me ajudou a realizar.

Aos meus amigos e colegas que estiveram comigo durante toda essa jornada, perto ou distantes, mas que de alguma forma estiveram comigo me apoiando e torcendo durante todo o caminho pelo meu sucesso, me dando muito apoio e carinho.

Aos participantes da banca, por me concederem a oportunidade de tê-los como banca e pelas sugestões e contribuições para que este trabalho contribuísse para o mundo acadêmico de forma adequada.

A todos vocês que fizeram minha jornada incrível, minha gratidão, meu carinho e meu muito obrigada!

## RESUMO

Materiais nanoestruturados tem se destacado no mercado atualmente por possuírem diferentes aplicabilidades. Entre eles se encontra as nanopartículas de prata (AgNPs) que se destacam na indústria alimentícia, em materiais odontológicos e embalagens visto que apresentam ótima atividade antimicrobiana, boa condutividade e possuem alto efeito catalítico. Em decorrência disso, a síntese verde atualmente vem sendo utilizada como uma alternativa sustentável visando substituir reagentes químicos e seu impacto ambiental para o meio ambiente e para a saúde. Assim, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar AgNPs utilizando o processo de síntese verde, empregando extrato aquoso da macela, e preparar filmes de amido de mandioca pela técnica *casting* com a suspensão de AgNPs, bem como analisar as características dos materiais poliméricos obtidos. Para tanto, as AgNPs foram obtidas utilizando-se 25mL de solução aquosa contendo 7,5% do extrato vegetal (macela), 2% ou 5% (v/v) de solução a 1% (m/v) do agente capeante (PVA ou PVP ou citrato de sódio) (com e sem ajuste de pH para 8,5), então 250mL de solução de nitrato de prata (0,02 mmol) foi gotejada na solução do extrato. As suspensões contendo as AgNPs foram caracterizadas por Uv-Vis, DLS, Potencial Zeta, TGA, DSC e atividade antimicrobiana pela técnica do disco difuso. Então três experimentos foram selecionados a partir da análise dos resultados do tamanho das nanopartículas, estabilidade da suspensão, e atividade antimicrobiana, portanto a suspensão destas AgNPs foi empregada para a obtenção dos filmes de amido de mandioca. O método *casting* foi utilizado, amido de mandioca foi dispersado na suspensão de AgNPs, aquecido sob agitação até a temperatura de gelatinização do amido, mantido por 10 minutos, ácido cítrico adicionado e após resfriamento do sistema para 60° C glicerol foi adicionado, o gel obtido foi vertido em formas de silicone e foram secos em estufa com circulação de ar à 50° C por 24 horas. Os filmes foram caracterizados por DSC, teste de tração, espessura, umidade, gramatura, solubilidade, e atividade antimicrobiana pela técnica do disco difuso. Através das análises de UV-Vis, DSC e TGA observou-se que a macela desempenhou um papel de agente redutor. Com a análise do DLS observamos o tamanho das partículas e através do Potencial Zeta a estabilidade da suspensão que sofreram influência da mudança de pH, do tipo e da concentração do agente capeante empregado, e foi possível verificar ainda que as suspensões de AgNPs obtidas apresentaram boa capacidade antimicrobiana. A técnica *casting* para obtenção dos filmes de amido contendo AgNPs se mostrou simples e adequada, e

após a análise dos resultados de caracterização dos filmes verificou-se que os filmes obtidos apresentaram satisfatória atividade antimicrobiana, e que as AgNPs com os capeantes agiram de forma a deixar os filmes mais flexíveis, porém menos resistentes, podendo se sugerir que as AgNPs com capeantes funcionaram como plastificante. Assim, pode-se concluir que a síntese verde é um processo promissor para a obtenção de AgNPs, e que estas podem ser empregadas para a obtenção de filmes poliméricos antimicrobianos destinados por exemplo, para embalagens.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de prata; síntese verde; atividade antimicrobiana; amido de mandioca; embalagem.

### **ABSTRACT**

Nanostructured materials have stood out in the market today and have different applicability. Among them are silver nanoparticles (AgNPs) that stand out in the food industry, in dental materials and packaging as they have excellent antimicrobial activity, good conductivity and have a high catalytic effect. As a result, green synthesis is currently being used as a sustainable alternative to replace chemical reagents and their environmental impact on the environment and health. Thus, the objective of this work was to synthesize and characterize AgNPs using the green synthesis process, using an aqueous macela extract, and to prepare cassava starch films by the casting technique with the suspension of AgNPs, as well as to analyze the characteristics of the polymeric materials obtained. Therefore, the AgNPs were obtained using 25mL of aqueous solution containing 7.5% of the plant extract (macela), 2% or 5% (v/v) of a 1% (m/v) capping agent solution (PVA or PVP or sodium citrate) (with and without pH adjustment to 8.5), then 250mL of silver nitrate solution (0.02 mmol) was dropped into the extract solution. Suspensions containing AgNPs were characterized by UV-vis, DLS, Zeta Potential, TGA, DSC and antimicrobial activity by the diffuse disk technique. Then 3 experiments were selected from the analysis of the results of nanoparticles size, suspension stability, and antimicrobial activity, then the suspension of these AgNPs was used to obtain cassava starch films. The casting method was used, where cassava starch was dispersed in the suspension of AgNPs, then the system was heated under stirring to the starch gelatinization temperature, kept for 10 minutes, then citric acid was added and after cooling the system to 60° Glycerol was added, the gel

obtained was poured into silicone molds and dried in a study with air circulation at 50°C for 24 hours. The films were characterized by DSC, tensile test, thickness, moisture, weight, solubility, and antimicrobial activity by the diffuse disc technique. Through the analysis of UV-Vis, DSC and TGA it was observed that the macela played a role of reducing agent. With the DLS analysis we observed the particle size and through the Zeta Potential the stability of the suspension that were influenced by the change in pH, type and concentration of the capping agent used, and it was also possible to verify that the AgNPs suspensions obtained presented good antimicrobial ability. The casting technique to obtain starch films containing AgNPs proved to be simple and adequate, and after analyzing the results of the characterization of the films, it was verified that the films obtained presented satisfactory antimicrobial activity, and that the AgNPs with capping agents acted in such a way as to leaving the films more flexible, but less resistant, suggesting that AgNPs with capping acted as a plasticizer. Thus, it can be concluded that green synthesis is a promising process for obtaining AgNPs, and that these can be used to obtain antimicrobial polymeric films intended, for example, for packaging.

**Keywords:** SILVER NANOPARTICLES; green synthesis; antimicrobial activity; starch; package.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1	Objetivos Gerais .....	11
2.2	Objetivos Específicos .....	11
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>12</b>
3.1	Nanopartículas de prata .....	12
3.2	Síntese Verde .....	12
3.3	Macela .....	13
3.4	Amido .....	14
3.4.1	Amilopectina .....	14
3.4.2	Amilose .....	15
3.5	Plastificantes .....	16
3.6	Filmes de Amido .....	17
3.7	Atividade Antimicrobiana das AgNPs .....	18
<b>4</b>	<b>MATERIAIS, MÉTODOS E PROCEDIMENTOS</b> .....	<b>19</b>
4.1	Materiais .....	19
4.2	Obtenção do extrato aquoso de macela .....	19
4.3	Obtenção das nanopartículas de prata (AgNPs) .....	19
4.4	Caracterização das nanopartículas de prata (AgNPs) .....	20
4.4.1	Caracterização por Espectroscopia UV-Vis .....	20
4.4.2	Caracterização por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) .....	20
4.4.3	Caracterização por Potencial Zeta .....	21
4.4.4	Caracterização antimicrobiana pelo método disco-difusão .....	21
4.4.5	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA) .....	22
4.5	<b>Elaboração e caracterização do filme de amido</b> .....	<b>23</b>
4.5.1	Produção dos filmes .....	23
4.5.2	Caracterização dos filmes quanto às análises .....	23
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
5.1	<b>Análise das nanopartículas de prata</b> .....	<b>27</b>
5.1.1	Caracterização por Espectroscopia UV-Vis .....	27
5.1.2	Caracterização por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Caracterização por Potencial Zeta e Caracterização Antimicrobiana pelo Método Disco-Difusão .....	28
5.2	<b>Análise dos filmes de amido</b> .....	<b>31</b>



5.2.2	Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) .....	33
5.2.3	Tração .....	33
5.2.4	Atividade Antimicrobiana pelo Método Disco-Difusão .....	34
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>36</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente no mercado tem-se destacado materiais nanoestruturados por possuírem uma vasta aplicabilidade, como o emprego de nanopartículas de prata na indústria alimentícia, em materiais odontológicos e em diversas embalagens, visto que, este material possui importantes propriedades como alto efeito catalítico, grande área superficial, condutividade, e possui atividade antimicrobiana (ANTUNES *et al.*, 2013).

Para que qualquer material possa ser classificado como nano, deve apresentar dimensões numa escala de 1 a 100 nanômetros. Esta escala proporciona a este material maior área de superfície, possibilitando assim, torná-lo mais reativo, apresentando propriedades químicas, físicas e biológicas únicas, como mostra a Figura 1 (GRASSIAM, 2008).

**Figura 1 – Fatores relacionados com as propriedades das nanopartículas.**



**Fonte: Albernaz (2014).**

A síntese verde vem sendo requerida com o objetivo da utilização de solventes biológicos, como uma alternativa sustentável para a substituição dos reagentes químicos de alto impacto ambiental ou para a saúde humana. Em geral, os solventes biológicos possuem boa biocompatibilidade e biodegradabilidade além de baixo custo (IRAVANI, 2011).

Segundo Kumar e colaboradores (2010), esta reação de síntese verde e o produto que será formado, pode ser afetado pela parte da planta que será utilizada para a preparação do extrato aquoso, além de afetar também o solvente que será utilizado. Já Akhtar e colaboradores (2013) dizem que variações como pH, tempo de

reação, e concentração das nanopartículas, podem levar a obtenção de características morfológicas distintas nas nanopartículas que serão obtidas.

As nanopartículas de prata (AgNPs), dispersas em água, podem se tornar um sistema coloidal, que possuem propriedade antimicrobiana, assim, sendo empregada em materiais cirúrgicos e de higiene. Estudos afirmam que esta atividade antimicrobiana ocorre quando as AgNPs entram em contato com as células dos agentes microbianos, assim, ocorrendo o rompimento da membrana bacteriana. Em seguida, essas nanopartículas penetram em sua parede celular na membrana plasmática, liberando íons de prata dentro do citoplasma desta célula, ocorrendo a desativação das estruturas vitais das bactérias (SILVA *et al.*, 2018).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos Gerais**

Este trabalho teve por objetivo sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata obtidas por síntese verde, empregando extrato de macela como agente redutor e agentes capeantes para estabilizar a suspensão.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Obter e caracterizar material polimérico biodegradável a partir de amido de mandioca contendo nanopartículas de prata.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Nanopartículas de prata

A metodologia mais utilizada para realizar a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) é uma redução química com o intuito de obter-se uma solução coloidal estável em solventes orgânicos ou água. Para esta redução, normalmente utiliza-se ascorbato, hidrogênio elementar, borohidreto ou citrato. Esta redução do íon de prata ( $\text{Ag}^+$ ) ajuda na formação de átomos de prata ( $\text{Ag}^0$ ), e assim forma a aglomeração de partículas que quando em solução aquosa produzem a prata coloidal. Quando essas partículas se tornam coloidais elas ficam muito menores do que o comprimento de onda da luz visível, e assim a solução apresentará uma cor amarelada e terá uma banda intensa entre 380-400 nm e as menos intensas com maior comprimento de onda no espectro de absorção (SHARMA, 2008).

Em consequência de serem partículas nanoestruturadas, estas adquirem novas propriedades óticas como absorção de luz pela prata metálica, em um comprimento de onda, onde o metal quando presente em sua forma iônica, não tem absorção (SILVA, 2014).

#### 3.2 Síntese Verde

A síntese verde tem como objetivo substituir os reagentes químicos através da redução do metal com a utilização de agentes redutores de baixa ou nenhuma toxicidade, tornando-se uma alternativa sustentável (ALBERNAZ, 2014). Pode-se citar métodos como o de polissacarídeos, de polioxometalatos, por irradiação, de Tollens e os biológicos (SHARMA *et al.*, 2009).

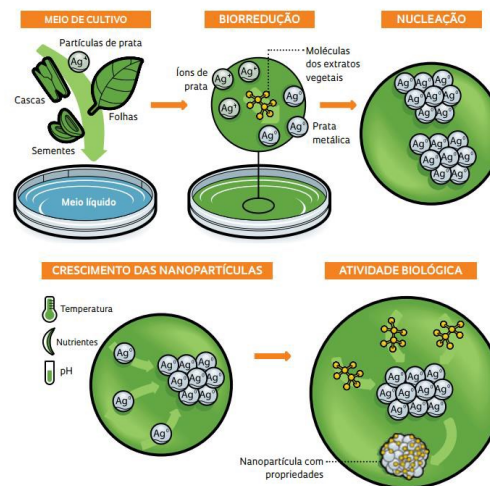
No método biológico é utilizado extratos vegetais que possuem moléculas que são capazes de reduzir os íons metálicos a NPs utilizando apenas uma etapa. Essa redução será a redução do íon ( $\text{Ag}^+$ ) para sua forma metálica ( $\text{Ag}^0$ ). É uma etapa onde as condições de temperatura e pressão são normais e ocorre de forma rápida. Pode ser chamada também de biorredução por ocorrer de forma biológica através de agentes redutores de origem biológica, como as plantas. Entre esses agentes vegetais existem os metabólitos hidrossolúveis de plantas (compostos fenólicos, terpenóides,

alcalóides), grupos funcionais (álcool, aminas e aldeídos), compostos heterocíclicos, ácido tânico, enzimas, polissacarídeos, flavonoides, proteínas, aminoácidos e ácido cítrico. Estes compostos podem ser encontrados em folhas, talos, sementes e até em sua mistura.

Este método possui suas vantagens em relação ao método químico pois as plantas produzem biomoléculas funcionais que reduzem os íons metálicos e aderem à superfície dessas NPs produzindo assim característica como, estabilidade, proteção, alto rendimento e baixo custo de produção (ALBERNAZ, 2014; SILVA, 2014; MITTAL *et al.*, 2013).

Para a utilização do extrato de plantas para formação de NPs, de forma geral, o extrato obtido é misturado a uma solução aquosa de sal metálico, normalmente nitrato de prata onde irá ocorrer a biorredução, como pode ser observado na Figura 2. As características que podem afetar a velocidade de reação são: pH, temperatura, concentração do extrato e a concentração do sal metálico (MITTAL *et al.*, 2013).

**Figura 2 – Esquema de crescimento das AgNPs.**



Fonte: Silva (2014).

### 3.3 Macela

A macela (*Achyrocline satureioides*) é uma erva da flora brasileira e pode ser conhecida por “macelinha”, “macela de travesseiro”, “camomila nacional” dentre outros. As flores de macela são normalmente usadas pela população como estofa de

travesseiro para bebês, pois acredita-se que esta erva tenha efeito calmante. Suas flores possuem um aroma agradável e a infusão destas com suas folhas supostamente alivia dores de cabeça, cólicas e problemas estomacais.

Esta planta é considerada um símbolo oficial do Rio Grande do Sul, onde existe tradição para sua colheita. Em cosméticos a macela também pode atuar como um clareador natural para cabelos e é o principal componente ativo para alguns shampoos (JHON, 2017).

### 3.4 Amido

O carboidrato mais abundante encontrado em plantas, que está presente nos tecidos na forma de grânulo é o amido. Existem diversas fontes de amido como trigo, arroz, batata, milho, mandioca entre outros. Suas propriedades funcionais dependem da sua fonte botânica e que pode ser afetada por pH, força iônica do meio, composição do sistema e modificações químicas (FAMÁ *et al.*, 2005).

Sua estrutura apresenta elementos de carbono, hidrogênio e oxigênio com proporção de 6:10:5 respectivamente ( $C_6H_{10}O_5$ ) (HAY, 2002).

O grânulo de amido é um carboidrato de reserva, e é formado pela mistura de dois polissacarídeos, a amilopectina e a amilose, cujas proporções variam dependendo da sua origem botânica. Estes dois componentes têm como diferença a disposição no interior do grânulo, peso molecular e grau de polimerização (TESTER *et al.*, 2004).

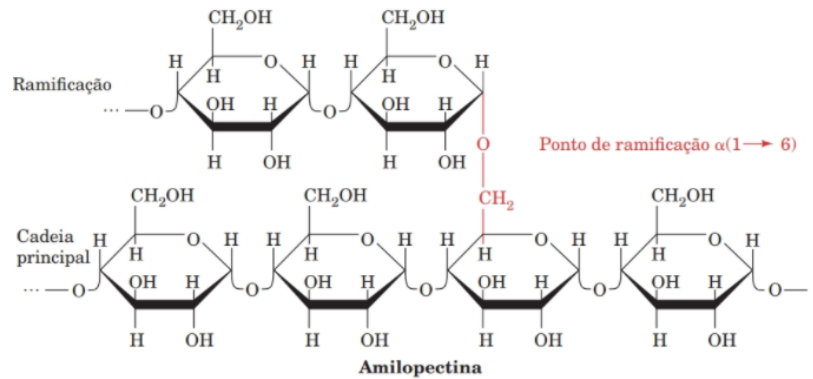
#### 3.4.1 Amilopectina

A amilopectina é formada por unidades de alfa-D-glucopiranosose e possui cerca de 20 a 25 repetições unidas por ligações alfa (1 – 4), e essas cadeias são unidas entre si através de ligações alfa (1 – 6) (DENARDIN; SILVA, 2009).

Ela apresenta estruturas helicoidais duplas, que são estabilizadas por pontes de hidrogênio nos agrupamentos das hidroxilas, que irão originar regiões cristalinas dos grânulos. Possui uma região amorfa que é formada por cadeias de amilose e

ramificações de amilopectina (SOUZA; ANDRADE, 2000). Sua estrutura é apresentada na Figura 3.

**Figura 3 – Representação da estrutura da amilopectina.**



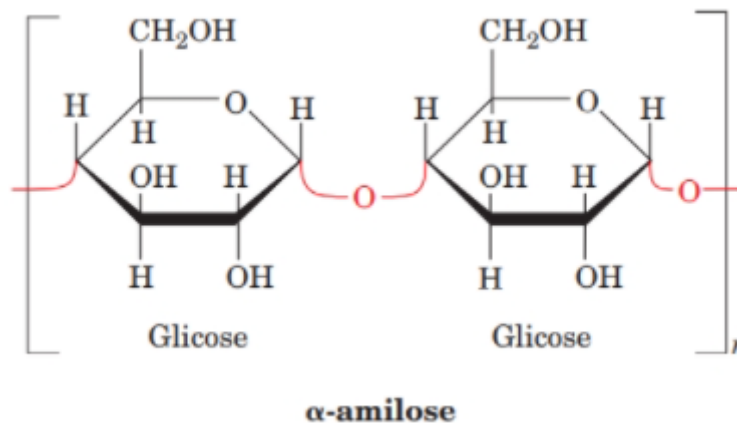
**Fonte: Voet (2013).**

### 3.4.2 Amilose

A amilose é um polissacarídeo linear formado por unidades de D-glucopirranose que são unidos por ligações glicosídicas alfa (1 – 4). Possui uma estrutura helicoidal apresentada na Figura 4.

Através da sua forma linear e suas ligações glicosídicas, obtém-se hélices com o interior hidrofóbico e que pode acomodar moléculas como iodo, ácido graxo entre outras (KISTER; FENNEMA, 1986).

**Figura 4 – Representação da estrutura da amilose.**



**Fonte: Voet (2013).**



O amido é um carboidrato insolúvel em água em decorrência de suas pontes de hidrogênio, que existem entre as cadeias lineares de amilose e a amilopectina, formando assim, as regiões de micelas cristalinas. O grânulo de amido possui a capacidade de absorver até 30% de água e caso seja exposto a um determinado tempo e temperatura o volume dos seus grãos podem aumentar, assim, começando a absorção da água em excesso. Seu volume aumenta por conta da quebra de ligações mais fracas da ponte de hidrogênio existentes entre as cadeias de amilopectina e amilose, assim, a água ficará ligada entre essas cadeias. A partir disso, a água e o amido juntos serão transformados em uma pasta gelatinosa, viscosa e de coloração leitosa. Essa transformação ocorre através do aquecimento desse amido com água e esse processo é chamado de gelatinização (BOBBIO, 1992). Pode ocorrer também, outro processo, a fusão, que ocorre quando o amido é aquecido com pequenas quantidades de água. Nesse processo ocorre o rompimento do grânulo do amido e irá ter uma necessidade de aquecimento com temperaturas muito mais elevadas para se atingir a gelatinização (MALI *et al.*, 2004).

A retrogradação é o processo que ocorre após a gelatinização, onde as moléculas de amido podem se reassociar pelas pontes de hidrogênio, assim se tornando uma estrutura ordenada podendo formar uma estrutura cristalina. Esse processo possui a característica de envelhecer os filmes de amido, tornando-os quebradiços e rígidos (MALI *et al.*, 2004).

Outros nomes para o amido de mandioca são: fécula, polvilho doce ou goma e, são extraídos da raiz da mandioca. É um amido de coloração branca, inodoro e não possui sabor (ARIENTE *et al.*, 2005). É composto de 17% a 20% de amilose, 82% de amilopectina, 0,1% de lipídeos, 0,1% de proteínas, 0,2% de cinzas e 0,02% de fósforo (ABAM, 2010).

### **3.5 Plastificantes**

Plastificantes são compostos de baixo peso molecular, não voláteis e são utilizados nas indústrias de polímeros como aditivos (VIEIRA *et al.*, 2011). Possuem a função de diminuir algumas características do polímero como: viscosidade, dureza, tensão de deformação e cargas eletrostáticas. Também são responsáveis pelo aumento da flexibilidade das cadeias dos polímeros, a constante dielétrica e

resistência a fratura (POMMET *et al.*, 2003; POMMET *et al.*, 2005; VIEIRA *et al.*, 2011).

Atuam como solventes quando são adicionados aos polímeros, de forma que suas moléculas penetram na fase polimérica, assim, fazendo um rearranjo conformacional. Pode ocorrer de o plastificante ser compatível com o polímero que é utilizado na base do filme, assim, as moléculas do plastificante ficam centralizadas entre as macromoléculas e assim ocorre a separação entre elas, o que irá aumentar a mobilidades das cadeias. Os grupos dos polímeros irão interagir com os grupos polares do plastificante e os grupos apolares agirão como espaçadores entre os dipolos, que resultará em uma liberdade molecular e será mantida assim a coesão global da estrutura (CARR, 2007).

### 3.6 Filmes de Amido

Quando o amido está gelatinizado e o solvente adicionado está sendo seco ocorre a formação de um filme. A técnica mais comum que é utilizada neste processo é a de *casting*, onde faz-se dispersão, solubilização e assim a gelatinização do amido no solvente, onde normalmente é utilizado água, com formação de uma solução filmogênica. Após a formação desta solução, ela é colocada em um suporte e seca através do método de evaporação, onde o solvente é evaporado. Com a gelatinização térmica dos grânulos por conta do excesso de água, a amilopectina e a amilose ficam paralelamente e se aproximam para ocorrer a formação das ligações de hidrogênio entre as hidroxilas dos polímeros adjacentes. A capacidade de formar um filme se dará devido a capacidade de o amido romper sua estrutura cristalina após sua gelatinização. Ocorre então a reorganização formando uma matriz continua que originará os filmes (MALI *et al.*, 2004; MORAIS, 2009).

O filme feito de amido possui algumas vantagens como a biodegradabilidade, transparência e sua flexibilidade, e possui alta higroscopicidade e fragilidade como desvantagens. Quando feitos apenas de amido se tornam quebradiços por conta da alta força intermolecular tornando-os assim com uma baixa resistência mecânica (TÁPIA-BLÁCIDO *et al.*, 2004; GHANBARZADEH *et al.*, 2010). Assim, com o intuito de melhorar a flexibilidade emprega-se a utilização dos plastificantes, tonando os filmes mais flexíveis, fáceis de processar e mais macios (MILES *et al.*, 1975)

### 3.7 Atividade Antimicrobiana das AgNPs

Atualmente, a classificação das bactérias se dá de acordo com a estrutura de sua membrana, as Gram-positivas não possuem camada externa, elas possuem uma camada espessa de peptidoglicana, e as Gram-negativas apresentam uma estrutura mais complexa, possuindo uma dupla camada onde uma é uma camada de peptidoglicano (2-3 nm) que está entre a membrana citoplasmática e o exterior da membrana (SHARMA *et al.*, 2008). Bactérias como *E.coli* e *P. aeruginosa* que são Gram-negativas e *B. cereus* e *S. aureus* que são Gram-positivas são as mais comuns observadas em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) (SHARMA *et al.*, 2008).

Entre os materiais com ação antimicrobiana pode-se destacar a prata metálica, que têm sua atividade antimicrobiana aumentada quando está em uma nanoescala, assim possuindo maior eficiência. Estudos propõe que sua ação ocorre quando as nanopartículas de prata (AgNPs) se aderem à superfície da membrana celular e ocorre a variação da permeabilidade e das funções respiratórias das células, e ainda, outros estudos propõe que podem penetrar no interior da bactéria além de interagir com a membrana (SHARMA *et al.*, 2008).

## **4 MATERIAIS, MÉTODOS E PROCEDIMENTOS**

### **4.1 Materiais**

A macela (*Achyrocline satureioides*) seca (folha, caule e flores) foi adquirida no comércio na cidade de Campo Mourão – PR. Água tipo 1 foi utilizada na obtenção do extrato e do filme. Poli (vinil álcool) (PVA) (Sigma – Aldrich), poli (vinil pirrolidona) (PVP) (Sigma – Aldrich), citrato de sódio e nitrato de prata (100%) (Plant-Lab) foram utilizados na obtenção das nanopartículas de prata.

### **4.2 Obtenção do extrato aquoso de macela**

Para a obtenção deste extrato foi utilizada a metodologia descrita por Filip et al. (2000), com modificações. 20g do vegetal foram adicionados em um béquer e em seguida adicionados 200mL de água tipo 1, aquecendo-se em seguida até a temperatura de ebulição e mantendo a uma temperatura controlada de 80°C por 15 minutos. Após, o material foi filtrado a vácuo e o extrato obtido avolumado em um balão volumétrico de 200mL com água tipo 1.

### **4.3 Obtenção das nanopartículas de prata (AgNPs)**

Para a obtenção destas nanopartículas foi utilizada a metodologia descrita por Albernaz (2014) com modificações. Preparou-se 25mL de uma solução aquosa contendo 7,5% (v/v) do extrato vegetal, 0%, 2% ou 5% (v/v) de solução à 1% (m/v) do agente capeante PVA, PVP ou citrato de sódio (com e sem ajuste de pH para 8,5). Nesta solução, foi gotejado 250 mL de solução de nitrato de prata (0,02 mmol). O processo de gotejamento foi realizado sob agitação magnética e temperatura ambiente. Os experimentos estão apresentados no Quadro 1.

**Quadro 1 – Dados dos experimentos para a obtenção das nanopartículas.**

Código	pH	Tipo de Capeante	Capeante [%]
MC1A	*	Isento	0
MC2A	8,5	Isento	0
MC3A	*	PVP	2%
MC4A	8,5	PVP	2%
MC5A	*	PVP	5%
MC6A	8,5	PVP	5%
MC7A	*	Citrato	2%
MC8A	8,5	Citrato	2%
MC9A	*	Citrato	5%
MC10A	8,5	Citrato	5%
MC11A	*	PVA	2%
MC12A	8,5	PVA	2%
MC13A	*	PVA	5%
MC14A	8,5	PVA	5%

\* pH não modificado

Fonte: Autoria própria (2018).

#### 4.4 Caracterização das nanopartículas de prata (AgNPs)

##### 4.4.1 Caracterização por Espectroscopia UV-Vis

Para avaliar a síntese de nanopartículas foi utilizado o espectrofotômetro UV-Visível (OCEAN OPTICS, USB650UV), e uma cubeta de quartzo, onde a amostra é colocada para análise. Para que pudesse ser visualizado o pico de absorção das amostras, e que este pico estivesse dentro dos limites de detecção do equipamento, realizou-se a diluição das amostras com água tipo 1 quando necessário. Analisou-se os picos das regiões de 380-450nm.

##### 4.4.2 Caracterização por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Esta caracterização permitiu determinar o diâmetro hidrodinâmico das partículas que estão suspensas através do espalhamento de luz. Utiliza-se o

movimento Browniano para determinação deste diâmetro, quando esta partícula está em dispersão dentro do meio. Para a realização desta análise, foi utilizada a metodologia de Malvern (2004). Todas as medidas foram realizadas, empregando o equipamento Zetasizer modelo Nano ZS90 Malvern, do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG – PR.

#### 4.4.3 Caracterização por Potencial Zeta

O potencial zeta é o potencial elétrico resultante da distribuição de cargas que indiretamente determinam a estabilidade das nanopartículas em suspensão coloidal. Logo, a análise de potencial zeta, é usada para determinar a carga que está na superfície das partículas, que se refere à carga da bicamada elétrica que recobre determinada partícula, sendo utilizado como um indicativo de estabilidade desta partícula. Indica assim, se existe maior ou menor estado de agregação entre essas partículas, sugerindo a probabilidade de ocorrência de floculação ou sedimentação no meio que se encontram. Estas medidas foram realizadas no equipamento Zetasizer modelo Nano ZS90 Malvern, do Complexo de Laboratórios Multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG – PR.

#### 4.4.4 Caracterização antimicrobiana pelo método disco-difusão

Para a avaliação antimicrobiana das nanopartículas de prata (AgNPs), utilizou-se o método de disco-difusão de Kirby-Bauer, com algumas adaptações (HUDZICKI, 2009). Nesse método qualitativo, discos feitos de papel filtro são impregnados com a solução do agente antimicrobiano estudado, que é depositado em placas de petri contendo ágar Müller-Hinton preparado antecipadamente e contaminado com as soluções padronizadas de microrganismos. Após o tempo de incubação destes microrganismos, avalia-se se o agente foi capaz ou não de inibir o crescimento do microrganismo.

Para o preparo dos microrganismos, foram utilizadas cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella sp.* (ATCC 700623) e *Bacillus cereus* (ATCC 14579), retiradas do acervo da UTFPR-Campo

Mourão, que foram reativas em tubos de ensaio contendo caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) estéril, e incubadas em estufa à 37°C até a obtenção de turbidez deste caldo. Assim, o caldo contendo o crescimento dos microrganismos foi utilizado no método de esgotamento por estrias, e após 24 horas de incubação à 37°C, foram selecionadas cinco unidades formadoras de colônias de cada microrganismo, que em seguida foram adicionadas ao caldo MHB (*Müller-Hinton Broth*) procedendo incubação por 6 horas em estufa bacteriológica à 37°C. Ao fim, estes caldos foram padronizados com o auxílio da escala de McFarland (0,5).

Para o preparo dos discos, estes foram feitos de papel filtro, com 2mm, esterilizados em autoclave e impregnados em triplicata com as soluções contendo as AgNPs de cada experimento descrito na Tabela 1, mergulhando-se estes discos nas soluções com o auxílio de uma pinça estéril.

Utilizando um *swab*, foi realizada a contaminação das placas de petri com as soluções padronizadas contendo os microrganismos. Em seguida foram adicionados os discos contendo as soluções de AgNPs, de forma que cada solução contendo as AgNPs de cada procedimento realizado, em triplicata, foi avaliada em cada um dos 4 tipos de microrganismos em estudo. Como padrão de referência utilizou-se discos contendo antibióticos Ampicilina (AMP10); Azitromicina (AZI 15); Clorafenicol (CLO30) e Gentamicina (GEN10) da marca Laborclin. Todas as placas foram incubadas a 37°C por cerca de 24 horas e ao final deste tempo, realizou-se as análises através da medida do alo de inibição.

#### 4.4.5 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Análise Termogravimétrica (TGA)

Análises de DSC e TGA foram realizadas com o objetivo de avaliar as propriedades térmicas das AgNPs. Para tanto, um Analisador Termogravimétrico (TGA), marca Perkin Elmer, modelo STA 6000 foi empregado. As amostras foram inseridas em porta-amostra de alumínio seladas, uma taxa de aquecimento de 10°C/min de 40°C a 900°C sob atmosfera de nitrogênio a 50 mL/min foi empregada.

## 4.5 Elaboração e caracterização do filme de amido

### 4.5.1 Produção dos filmes

Amido de mandioca (6,075 g) (Amafil) foi disperso em 180 mL da solução contendo as nanopartículas de prata, preparadas conforme item 4.3. Então, procedeu-se a agitação e aquecimento da mistura até 90°C em agitador magnético com aquecimento, mantendo o sistema à 90°C por 10 min. Para a gelatinização do amido. Em seguida, adicionou-se ácido cítrico (0,1305 g) (Alphatec), e após resfriamento até 60°C, foi adicionado o glicerol (2,472 g) (Alphatec), plastificante. A solução geleificada foi vertida em formas de silicone e secas em estufa com circulação de ar (marca Cinlab) a 50°C por aproximadamente 48h. Implementou-se o mesmo procedimento para preparar o “branco”, usando água destilada no lugar da dispersão das nanopartículas de prata.

### 4.5.2 Caracterização dos filmes quanto às análises

#### 4.5.2.1 Espessura

A partir dos filmes produzidos, foram cortadas 5 amostras de cada filme em tamanhos de 3x1 cm, e com a utilização de um micrometro digital da marca Pantec, mediu-se a espessura destas amostras. Para melhor resultado, foram medidos 3 pontos aleatórios de cada amostra e calculada a média para cada amostra (BEHRECHEN, 2014).

#### 4.5.2.2 Gramatura

A gramatura foi feita em duplicata, através da metodologia proposta por Sarantópoulos *et al.* (2002). Assim, uma área de 2cm<sup>2</sup> do filme foi pesada em uma balança analítica (marca Bioscale), para determinação de massa. Então a gramatura (g.cm<sup>-2</sup>) foi calculada através da Equação 1.

$$G = \frac{P}{A} \quad (1)$$



Sendo:

G = gramatura ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )

P = massa do filme (g)

A = área do filme ( $\text{cm}^2$ )

#### 4.5.2.3 Solubilidade

A determinação da solubilidade em água foi realizada em duplicata, onde as amostras foram cortadas em 2x2 cm e secas a 50°C por aproximadamente 2 horas, e em seguida pesadas em balança analítica (marca Bioscale). Estas amostras foram colocadas em erlenmeyer contendo 50mL de água destilada e colocadas sob agitação constante de 50rpm, por aproximadamente 24 horas, em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a filtração e o resíduo seco à 105°C por 24 horas em uma estufa de circulação de ar (marca Cinlab), que após a secagem, foram pesadas em balança analítica. A solubilidade é expressa em porcentagem de massa solubilizada, em relação a sua massa inicial (GONTARD, 1994).

#### 4.5.2.4 Umidade

Através da metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), as análises de umidade dos filmes foram realizadas em duplicata. Utilizou-se cadinhos de porcelana secos à 105°C por 2 horas em estufa (marca Cinlab). Após a secagem, estes foram resfriados em dessecador, então—as amostras foram adicionadas aos cadinhos e realizou-se a pesagem em balança analítica (marca Bioscale). Após, foram colocados em estufa com circulação de ar a 105°C por 24 horas, seguindo-se o resfriamento em dessecador, e posteriormente foram pesados. O cálculo da porcentagem de umidade foi realizado conforme equação 2.

$$\text{Umidade (\%)} = \frac{A-B}{C} \times 100 \quad (2)$$

Sendo:

A = massa inicial (cadinho + amostra) (g)

B = massa final (cadinho + amostra seca) (g)

C = massa da amostra inicial (g).

#### 4.5.2.5 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Análises de DSC foram realizadas com o objetivo de avaliar as propriedades térmicas dos filmes e a influência das AgNPs nestes. Para tanto, um Analisador Termogravimétrico (TGA), marca Perkin Elmer, modelo STA 6000 foi empregado. As amostras foram inseridas em porta-amostra de alumínio seladas, uma taxa de aquecimento de 10°C/min de 40°C a 250°C sob atmosfera de nitrogênio a 50 mL/min foi empregada.

#### 4.5.2.6 Tração

Os testes de tração foram realizados em quintuplicata de acordo com a metodologia American Society for Testing and Material (ASTM D-882-00, 2001), para tanto um equipamento texturomêtro (TA-XT Express Enhanced Stable Micro Systems) foi empregado. As amostras foram cortadas conforme Figura 5 e, acondicionadas em dessecador contendo solução salina saturada de nitrato de magnésio ( $Mg(NO_3)_2$ ) para obter umidade relativa de aproximadamente 57%, por 48 horas. As películas foram ajustadas às garras pneumáticas do equipamento, a uma distância de 15 mm entre as garras, e uma velocidade de tração de cerca de 1mm/s foi utilizada. Foi determinado a resistência máxima a tração (MPa), alongamento na ruptura (%) e módulo de elasticidade ou de Young (MY), através das seguintes equações 3, 4 e 5, respectivamente:

- Resistência máxima de tração: (MPa)

$$RT = \frac{F_{m\acute{a}x}}{A_s} \quad (3)$$

- Alongamento na ruptura: (%)

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (4)$$

- Módulo de elasticidade:

$$MY = \frac{RT}{\varepsilon} \quad (5)$$

Sendo:

$RT$  = resistência à tração

$F_{\text{máx}}$  = força máxima na ruptura

$A_s$  = área da seção transversal do corpo de prova

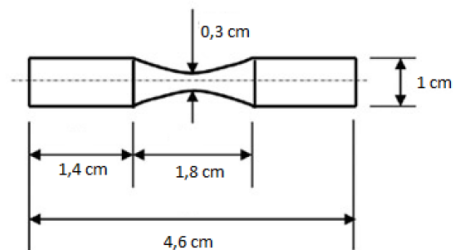
$\varepsilon$  = alongação

$\Delta L$  = variação no comprimento do corpo de prova

$L_0$  = comprimento inicial do corpo de prova

$MY$  = módulo de Young

**Figura 5 – Dimensões do corpo de prova para o ensaio de tração.**



**Fonte: American Society for Testing and Material (ASTM D-882-00, 2001).**

#### 4.5.2.7 Atividade Antimicrobiana pelo Método Disco-Difusão

A partir da metodologia descrita do item 4.4.4, foi realizada a análise antimicrobiana dos filmes, com algumas modificações. Foram cortadas amostras dos filmes nas dimensões de 2mm de diâmetro. Observou-se sua propriedade antimicrobiana através do aparecimento de halos de inibição ao redor das amostras.

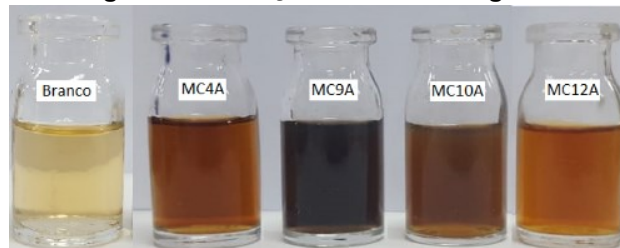
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise das nanopartículas de prata

#### 5.1.1 Caracterização por Espectroscopia UV-Vis

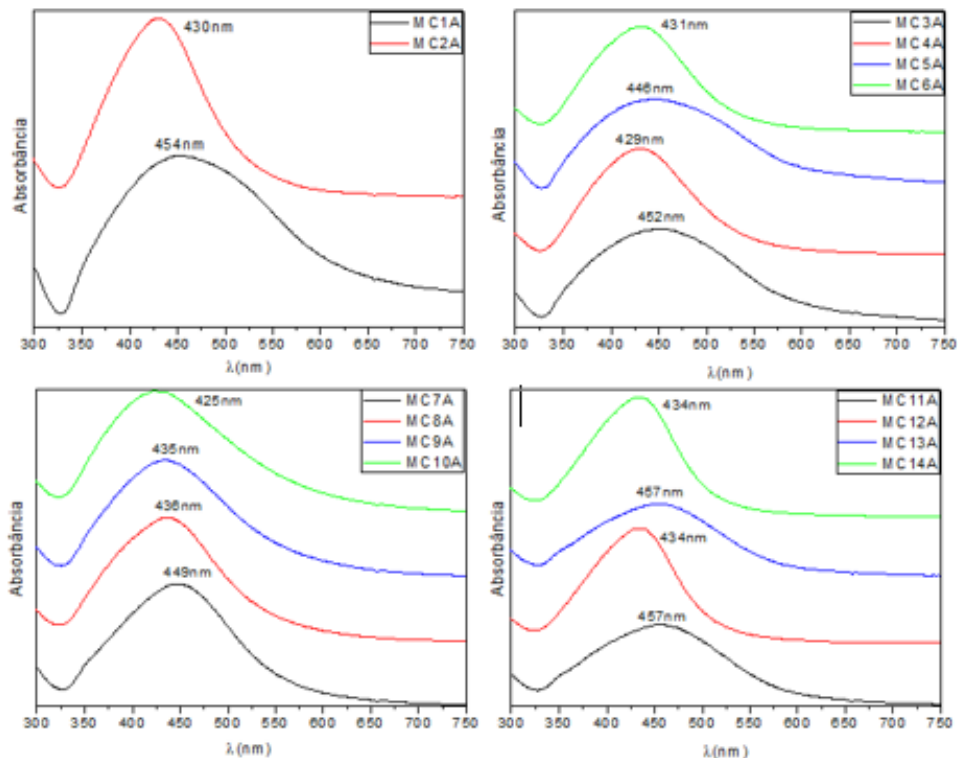
Podemos observar através do resultado apresentado na Figura 6 a alteração de coloração amarelo claro (amostra branco) para a coloração marrom claro ou escuro (amostras contendo AgNPs), sugerindo assim a formação das AgNPs por síntese verde. Com a análise do UV-Vis foi possível observar a presença de picos de absorção de 425nm a 457nm que demonstra a formação de nanopartículas em todos os experimentos conforme a Figura 7, confirmando a observação visual feita e apresentada na Figura 6. De acordo com Zhang e Noguez (2008) as nanopartículas de prata apresentam essa coloração devido ao seu tamanho e formato, com a coloração amarela sendo característica de nanopartículas esféricas possuindo um diâmetro de 10-20nm com uma absorbância apresentada de 400nm; já as nanopartículas que apresentam diâmetros maiores podem apresentar coloração verde, laranja e até violeta.

**Figura 6 – Imagem das soluções contendo AgNPs e do branco.**



**Fonte: Autoria própria (2018).**

**Figura 7 – Resultado das análises de espectroscopia UV-Vis**



Fonte: Autoria própria (2018).

### 5.1.2 Caracterização por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Caracterização por Potencial Zeta e Caracterização Antimicrobiana pelo Método Disco-Difusão

Os resultados das análises de DLS, potencial Zeta e antimicrobiana são apresentados no Quadro 2. Podendo-se observar pelos resultados da análise de DLS que a amostras que tiveram o pH alterado para 8,5 apresentaram diâmetro médio maior e índice de polidispersão (PDI) menor que àquelas sem alteração do pH.

Também pode-se observar que apesar dos picos de absorção obtidos através da análise de UV-Vis serem maiores que 420nm a análise de DLS apresentou diâmetro médio das nanopartículas variando de 8,658nm até 50,16nm. Tais resultados observados neste trabalho estão de acordo e concordam com a literatura (LOO *et al.*, 2012).

Após a utilização de agentes capeantes, a fim de aumentar a estabilidade das nanopartículas em suspensão, pôde-se observar através da análise de potencial Zeta que os valores estão próximos a zero, sugerindo falta de estabilidade das suspensões.

Porém os experimentos MC9A e MC10A onde o agente capeante utilizado foi o citrato de sódio, apresentaram Potencial Zeta de -27,9mV e -24,8mV, respectivamente, sugerindo estabilidade para estas soluções, visto que de acordo com Rocha (2010) as nanopartículas apresentam estabilidade quando o valor de potencial zeta for menor ou igual a -30mV ou maior ou igual a 30mV.

**Quadro 2 – Resultado das análises de DLS, UV-Vis e Disco-difusão**

Código	Z (nm)	PDI	$\lambda$ (nm)	Médias dos halos de inibição (mm)			
	(DLS)	(DPS)	UV-vis	E. coli	S. aureus	Salmonella	B. cereus
MC1A	20,23	0,903	430	1,11	4	3,77	1,38
MC2A	32,93	0,612	454	1,66	4,22	3,22	1,44
MC3A	12,1	1	452	4,11	3,13	1,66	1,77
MC4A	25,53	0,352	429	2,11	3,66	1,44	2,33
MC5A	8,658	0,941	446	1,55	4,44	1,55	2
MC6A	30,87	0,352	431	1	4,88	1	1,83
MC7A	24,25	0,585	449	1,31	4	1,11	1,33
MC8A	38,99	0,422	436	3,11	*	0,94	1,88
MC9A	24,32	0,575	435	1,83	3,66	0,91	2
MC10A	38,25	0,472	425	0,88	4,55	0,5	2,44
MC11A	13,75	1	457	1,11	4,44	*	1,11
MC12A	50,16	0,292	434	1,38	4,11	*	1,44
MC13A	23,84	0,69	457	1,77	4	*	1
MC14A	44,79	0,319	434	2,22	2,77	1,16	1

Z-diâmetro médio das nanopartículas, PDI-índice de polidispersão

\*Sem formação de halo

Fonte: Autoria própria (2018).

Observando os resultados, referentes ao tamanho dos halos de inibição, da análise antimicrobiana no Quadro 2, e comparando tais resultados com a classificação da capacidade antibacteriana sugerida por de Pollini *et al.* (2011), tem-se:

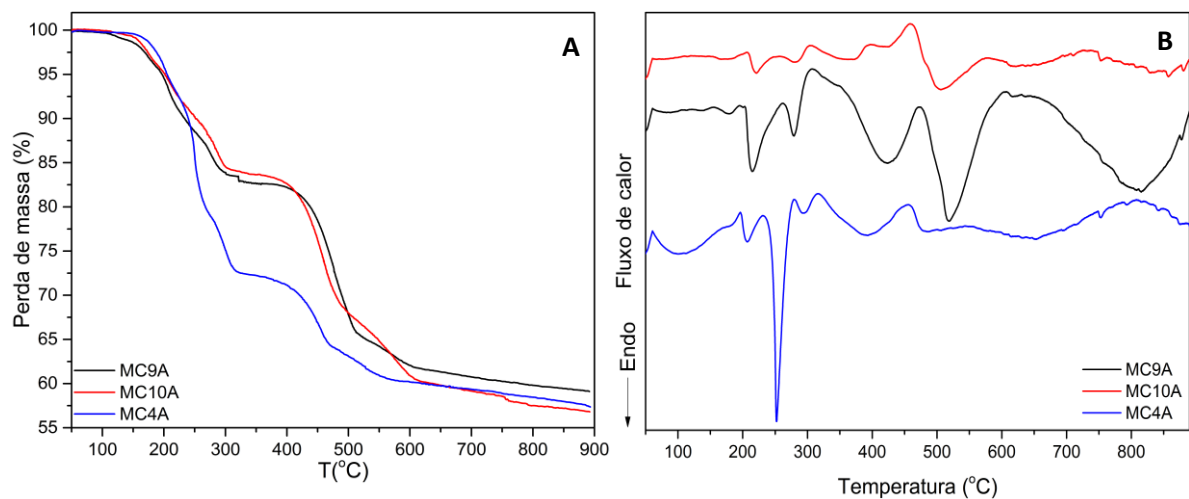
- (i) capacidade antibacteriana suficiente: quando não há formação do halo, mas não há crescimento bacteriano sobre a amostra, situação observada para a amostra MC8A contra *S. aureus*, e para as amostras MC11A, MC12A e MC13A contra *Salmonella*;
- (ii) capacidade antibacteriana razoavelmente boa: quando há halo <1mm, situação observada para a amostra MC10A (0,88 mm) contra *E.coli* e

para as amostras MC10A (0,5mm), MC9A (0,91mm) e MC8A (0,94mm) contra *Salmonella*;

- (iii) capacidade antibacteriana boa: quando há halo >1mm, situação observada para as demais amostras contra os microrganismos estudados.

Neste sentido pode-se concluir que de um modo geral as amostras contendo AgNPs possuem potencial antimicrobiano.

**Figura 8 – Resultado da análise de TGA (figura 8A): fluxo de calor x temperatura. Resultado da análise de DSC (8B): perda de massa x temperatura.**



**Fonte: Autoria própria (2021).**

A Figura 8 A e B mostra as curvas de TGA e DSC, respectivamente. para nanopartículas de prata sintetizadas por extrato de macela com capeantes PVP ou citrato de sódio. A perda total de massa foi de cerca de 55 a 60 % sugerindo que as partículas metálicas estão recobertas por biomoléculas e ou pelos agentes capeantes. O gráfico TGA apresenta degradação desde 200° C até em torno de 500° C possivelmente devido à presença de compostos orgânicos oriundos do processo de síntese verde e dos agentes capeantes empregados. Observa-se que praticamente não houve degradação acima de 500° C devido ao metal prata presente nas amostras.

Analisando as curvas de DSC Figura 8B, observa-se picos de fusão variando entre 200 e 600° C, sugerindo que estes se referem aos compostos, que não a prata metálica, presentes nas nanopartículas obtidas, concordando com a análise de TGA.

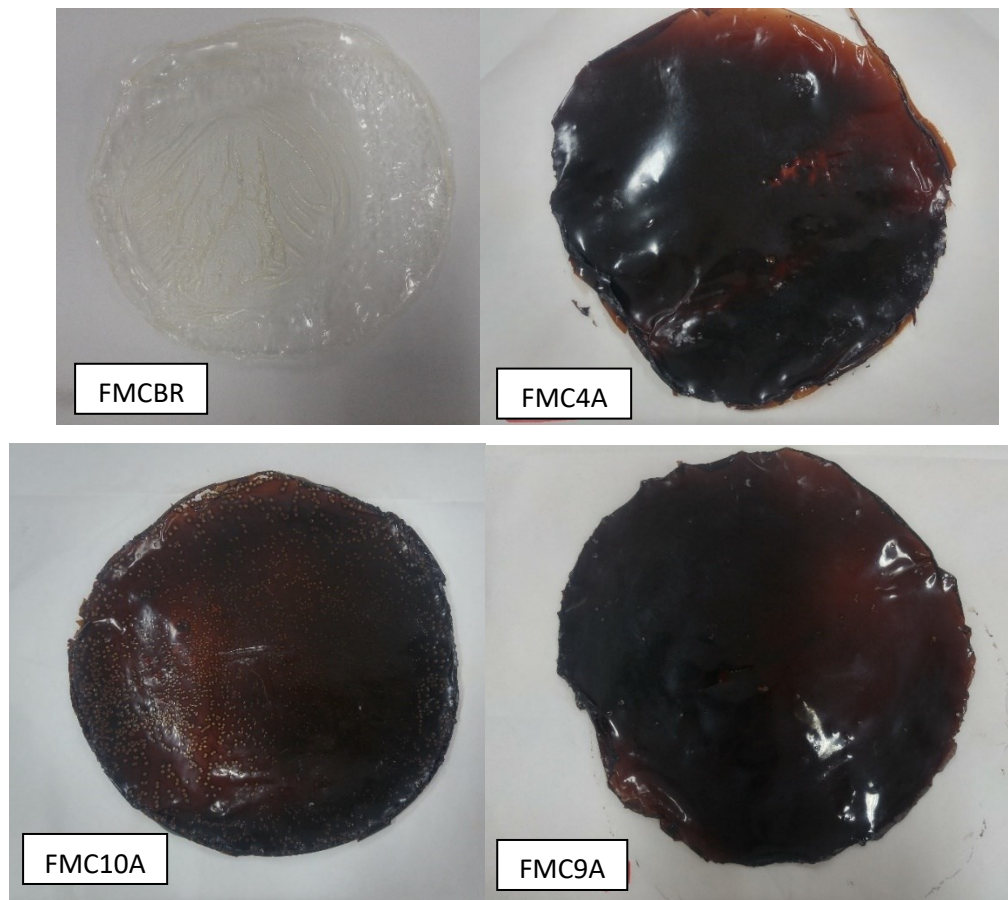
Pode-se observar ainda para as amostras MC9A e MC10A um largo pico em torno de 800 a 850° C sugerindo a fusão da prata metálica. Sampaio e Viana (2018) observaram em seu trabalho de síntese verde de nanopartículas de prata, picos de fusão da prata metálica em torno de 970° C, obtido por análise de DSC.

A partir da análise dos resultados de caracterização das AgNPs, três experimentos foram escolhidos, em função da atividade antimicrobiana, estabilidade da dispersão e tamanho das nanopartículas, para preparar (item 4.5.1) e caracterizar filmes de amido antimicrobiano.

## 5.2 Análise dos filmes de amido

A Figura 9 apresenta fotografias dos filmes obtidos.

Figura 9 – Filmes de amido.



Fonte: Autoria própria (2021).



O Quadro 3 apresenta os resultados de espessura, gramatura, solubilidade e umidade dos filmes obtidos.

**Quadro 3 – Resultados de espessura, gramatura, solubilidade e umidade dos filmes obtidos em diferentes condições.**

<b>Filmes</b>	<b>Espessura (mm)</b>	<b>Gramatura (g.cm<sup>-2</sup>)</b>	<b>Solubilidade (%)</b>	<b>Umidade (%)</b>
<b>FMCBR</b>	0,2338 ± 0,0182	67,8163 ± 0,5665	20,4008 ± 1,5895	16,8574±0,7036
<b>FMC4A</b>	0,0563 ± 0,0092	93,1915 ± 3,2915	23,4133 ± 0,3249	13,1725 ± 0,1263
<b>FMC10A</b>	0,0828 ± 0,0063	67,8163 ± 4,8080	32,6336 ± 2,2451	16,1871 ± 0,0797
<b>FMC9A</b>	0,2220 ± 0,0269	96,6800 ± 1,6800	19,2498 ± 0,5975	9,0173 ± 0,8926

Fonte: Autoria própria (2021).

A partir dos valores encontrados para as espessuras e seus respectivos desvios padrões para cada amostra de filme, pode-se observar grandes variações nas espessuras, às quais podem ser justificadas em decorrência do equipamento utilizado, estufa com circulação de ar, onde as bandejas apresentaram desnivelamentos e assim os filmes não ficam homogêneos quando colocados na estufa para secagem. Essas variações podem implicar em problemas na embalagem, baixo desempenho mecânico e perda em sua barreira.

A gramatura é a variável e se correlaciona diretamente com as barreiras do filme e sua resistência mecânica. Quando os filmes apresentam gramatura maiores, eles apresentam resistências mecânicas maiores (SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

Assim, como pode ser observado na tabela, o FMC4A e o FMC9A foram os que apresentaram maior gramatura, em relação ao FMCBR e ao FMC10A.

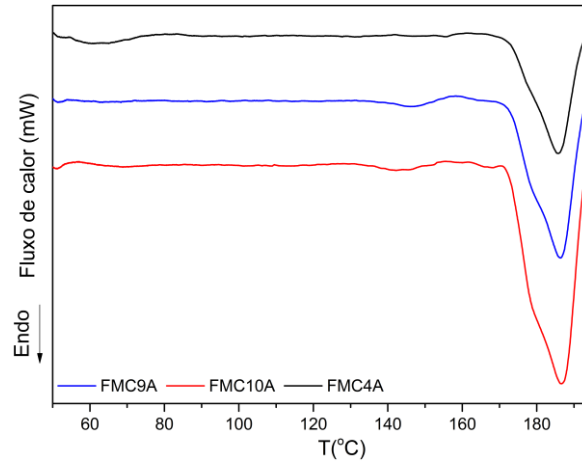
Pode-se observar que os filmes apresentaram uma baixa porcentagem de solubilidade com um baixo desvio padrão. Segundo Da Matta *et al.* (2011) a solubilidade é uma propriedade importante para a avaliação dos filmes. Esta propriedade pode atuar como proteção para materiais quando a atividade de água presente é alta e até quando esses filmes podem ser comestíveis.

Observando os valores de umidade das amostras, estas apresentam valores parecidos umas com as outras, com um baixo padrão pequeno. Isso demonstra que o processo de secagem dos filmes apresenta-se estável e igualmente proporcional.

### 5.2.2 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

Na Figura 10 estão apresentados os resultados da caracterização térmica dos filmes produzidos.

**Figura 10 – Resultado da análise de DSC de fluxo de calor x temperatura dos filmes.**



**Fonte: Autoria própria (2021).**

Analisando a Figura 10 é possível observar que as nanopartículas de prata, bem como os capeantes, não alteraram as características térmicas do filme de amido, pois pode-se observar a fusão cristalina do amido em torno de 185° C como esperado.

### 5.2.3 Tração

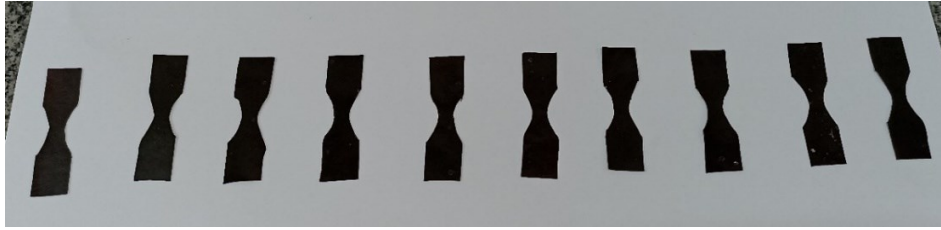
Os resultados das propriedades mecânicas da análise de tração, que são resistência mecânica (RT), módulo de Young (MY) e alongamento na ruptura (E) estão dispostos no Quadro 4, e a Figura 11 apresenta os corpos de prova utilizados para a análise.

**Quadro 4 – Resultado da análise de tração.**

Filmes	RT (MPa)	E (%)	MY
<b>FBR</b>	96,8200±5,9340	20,1300±8,7191	1951,0560±451,6054
<b>FMC4A</b>	21,2860±5,9538	122,7940±20,0012	6041,7220±2680,7635
<b>FMC9A</b>	15,9580±0,8765	125,4640±29,9981	3468,9340±2037,5406
<b>FMC10A</b>	66,4840±25,2874	147,8620±35,0874	5581,8420±1099,1916

**Fonte: Autoria própria (2021).**

**Figura 11 – Corpos de prova das amostras para ensaio de tração.**



**Fonte: Autoria própria (2021).**

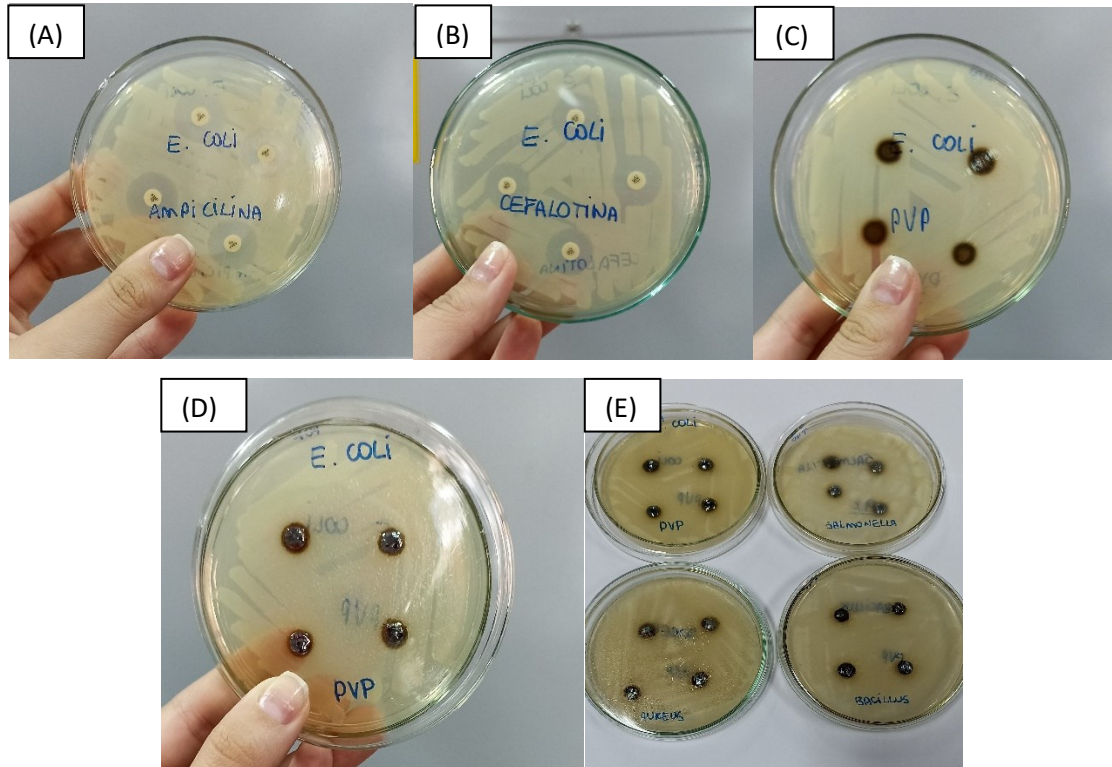
Pode-se observar que as AgNPs com capeantes promoveram aumento da alongação (E) e diminuição da força necessária para a ruptura (RT) das amostras quando se compara as amostras FMC4A, FMC9A e FMC10A com a FBR, amostra branco, sem AgNPs. Esse resultado indica que os filmes com AgNPs e capeantes ficaram mecanicamente menos resistentes e mais flexíveis, podendo-se sugerir que as AgNPs com capeantes agiram como plastificantes no processo de obtenção dos filmes.

Podemos observar que com a alteração das propriedades mecânicas com a adição do capeante e do extrato, foi obtido filmes com menor resistência mecânica, através da redução à resistência à tração e do módulo de Young e obteve-se um filme com maior flexibilidade com relação aos valores no alongamento de ruptura se compararmos com o filme branco (BONILLA *et al.*, 2014).

#### 5.2.4 Atividade Antimicrobiana pelo Método Disco-Difusão







Observando os resultados apresentados da análise disco-difusão (Figura 12), embora não tenha sido observada a formação de halo ao redor da amostra, também não houve sua contaminação, ou seja, crescimento microbiano sobre ela. Segundo Pollini *et al.* (2013), essa ausência de crescimento bacteriano em cima da amostra sugere um resultado de inibição “suficiente” ou satisfatório (Figura 13), e assim podemos concluir que o filme apresenta atividade antimicrobiana.

Figura 12 – (A) e (B) formação dos halos de inibição; (C) e (D) amostras sem formação de halos de inibição; e (E) conjunto de amostras sem halos de inibição para qualquer microrganismo.



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 13 – Capacidade antimicrobiana, teste disco-difusão.

Zona de inibição no disco	Aspecto visual	Resultado de inibição
Presença (> 1 mm)		Bom
Presença (< 1 mm)		Consideravelmente bom
Ausência de crescimento bacteriano		Suficiente
Limite de crescimento bacteriano		Limite
Amostra parcialmente habitada por bactérias (50%)		Insuficiente
Amostra totalmente habitada por bactérias		Insuficiente

Fonte: Pollini et al. (2011).

## 6 CONCLUSÃO

Após análise dos resultados pôde-se concluir que a síntese verde é um processo simples e rápido para a obtenção de partículas metálicas de prata, e que o extrato de macela agiu como agente redutor da prata permitindo a obtenção de prata metálica de tamanho nanométrico. É possível indicar também que os agentes capeantes, PVP ou citrato de sódio empregados junto com o extrato de macela proporcionaram maior estabilidade às suspensões de AgNPs. As AgNPs obtidas apresentaram boa capacidade antimicrobiana, a qual foi observada também nos filmes de amido preparados com as suspensões de AgNPs e agentes capeantes, porém a capacidade antimicrobiana observada nos filmes foi menor que àquela observada nas AgNPs, sugerindo que a concentração de AgNPs presentes nas suspensões provavelmente não foi suficiente para proporcionar uma alta atividade antimicrobiana nos filmes. A técnica *casting* para obtenção dos filmes de amido com AgNPs se mostrou simples e adequada, e os filmes obtidos além de apresentarem satisfatória atividade antimicrobiana, mostraram-se mais flexíveis, porém menos resistentes quando comparados aos filmes sem as AgNPs. Logo conclui-se que as AgNPs com os capeantes podem ter agido como plastificante no processo de obtenção dos filmes de amido. Desta forma é possível dizer que a síntese verde é um processo promissor para a obtenção de AgNPs, e que estas podem ser empregadas para a obtenção de filmes poliméricos antimicrobianos destinados a diversas aplicações como por exemplo, para embalagens.

## REFERÊNCIAS

ABAM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE AMIDO DE MANDIOCA. Disponível em: [www.abam.com.br](http://www.abam.com.br). Acesso em: 02 set. 2021.

AKHTAR, M. S.; PANWAR, J.; YUN, Y.-S. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 1, n. 6, p. 591-602, 2013. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/278785701\\_Biogenic\\_synthesis\\_of\\_metallic\\_nanoparticles\\_by\\_plant\\_extracts](https://www.researchgate.net/publication/278785701_Biogenic_synthesis_of_metallic_nanoparticles_by_plant_extracts). Acesso em: 18 nov. 2021.

ALBERNAZ, V. L. **Síntese verde de nanopartículas de prata com extrato aquoso de folhas de *Brosimum gaudichaudii*, caracterização físicoquímica, morfológica e suas aplicações no desenvolvimento de um nanobiossensor eletroquímico**. 2014. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2014.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. **Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheet**. ASTM D882-00. Philadelphia, p. 9, 2001. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/7225/1/filmespoliestirenocurcuminacurcuma.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2021.

ANTUNES, F. S.; BERGMANN, C. P.; DAL'ACQUA, N.; GIOVANELA, M. Síntese, caracterização e aplicações de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**. 1. ed. v.9, p. 20-26, 2013.

ARIENTE, M. *et al.* Competitividade na indústria de fécula de mandioca: estudo exploratório. **Revista FAE**, Curitiba, v. 8, n. 2 p. 53-60, jul./de. 2005. Disponível em: <https://revistafae.fae.edu/revistafae/article/view/385>. Acesso em: 12 out. 2021.

BEHRENCHE, L. **Desenvolvimento de filmes biodegradáveis de amido incorporados com zeólita**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Tecnologia de Alimentos) – Curso de Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014. Disponível em: [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2508/1/CM\\_COALM\\_2013\\_2\\_09.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2508/1/CM_COALM_2013_2_09.pdf). Acesso em: 05 ago. 2020.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, p. 60-62, 2001.

BONILLA, J.; FORTUNATI, E.; ATARÉS, L.; CHIRALT, A.; KENNY, J. M. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films. **Jornal Food Hydrocolloids**, Reino Unido, v. 35, p. 463–470, 2014. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.07.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.002>. Acesso em: 22 jun. 2021.

CARR, L. G. **Desenvolvimento de Embalagem Biodegradável tipo Espuma a partir de Fécula de Mandioca**. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/3/3137/tde-08012008-150706/pt-br.php>. Acesso em: 07 fev. 2021.

DA MATTA, M. D. *et al.* Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 21, n. 1, p. 67-72, 2011. Disponível em: <https://revistapolimeros.org.br/journal/polimeros/article/doi/10.1590/S0104-14282011005000011>. Acesso em: 24 maio 2020.

DERNADIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura de Grânulos de Amido e sua relação com as propriedades físicas- químicas. **Ciência Rural**, Santa Maria- RS, 2008. DOI: 10.1590 / S0103-84782009005000003. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/250025391\\_Estrutura\\_dos\\_granulos\\_de\\_amido\\_e\\_sua\\_relacao\\_com\\_propriedades\\_fisico-quimicas](https://www.researchgate.net/publication/250025391_Estrutura_dos_granulos_de_amido_e_sua_relacao_com_propriedades_fisico-quimicas). Acesso em: 03 ago. 2020.

FAMÁ, L., ROJAS, A.M., GOYANES S., GERSCHENSON, L. Mechanical Properties of Tapioca-starch Edible Films Containing Sorbates. **LWT – Food Science and Technology**, v.38, p.631- 639, 2005. Disponível em: [https://www.academia.edu/21968647/Mechanical\\_properties\\_of\\_tapioca\\_starch\\_edible\\_films\\_containing\\_sorbates?auto=download](https://www.academia.edu/21968647/Mechanical_properties_of_tapioca_starch_edible_films_containing_sorbates?auto=download). Acesso em: 02 maio 2019.

FILIP, R.; SILVINIA, M. S.; LOTITO, B.; FERRARO, G; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of Ilex Paraguariensis and related species. **Nutrition Research**, Buenos Aires, Argentina, v. 20, p. 1437-1446, 2000. DOI: 10.1016 / S0271-5317 (00) 80024-X Disponível em: [https://www.academia.edu/7829685/Antioxidant\\_activity\\_of\\_Ilex\\_paraguariensis\\_and\\_related\\_species](https://www.academia.edu/7829685/Antioxidant_activity_of_Ilex_paraguariensis_and_related_species). Acesso em: 27 jul. 2021.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Physical Properties of Edible Modified Starch/CarboxymethylCellulose Films. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.11, n. 4, p. 697-702, 2010. DOI: 10.1016 / j.ifset.2010.06.001. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20103372028>. Acesso em: 31 out. 2020.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.29, p. 39-50, 1994. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301486213>. Acesso em: 05 fev. 2021.

GRASSIAN, V. H. When size really matters: size-dependent properties and surface chemistry of metal and metal oxide nanoparticles in gas and liquid phase environments. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 112, n. 47, p. 18303-18313, 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp806073t>. Acesso em: 24 jan. 2019.

- HAY, M. **The Extent of Gelatinisation and Change to the Microstructure of Starch as a Result of Extrusion Processing**. 2002. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Queensland, 2002. Disponível em: [http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5008/1/CM\\_COEAL\\_2015\\_2\\_19.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5008/1/CM_COEAL_2015_2_19.pdf). Acesso em: 21 out. 2021.
- HUDZICKI, J. Kirby- Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society for Microbiology**, 2009. Disponível em: <https://asm.org/Protocols/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Pro>. Acesso em: 15 mar. 2018.
- IRAVANI, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. **Green Chemistry**, v. 13, n. 10, p. 2638-2650, 2011.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: IMESP, 2008.
- JHON, L. **Conexão planeta- Inspiração para a ação**. 2017. Disponível em: <https://conexaoplaneta.com.br/blog/macela-nossa-planta-calmante-antisseptica-digestiva-e-antioxidante-finalmente-esta-ao-alcance-dos-agricultores/>. Acesso em: 09 dez. 2021.
- KESTER, J. J. & FENNEMA O. R. Edible films and coatings: a review. **Journal Food Technology**, v. 40, p. 47-59, 1986.
- KUMAR, V.; YADAV, S. C.; YADAV, S. K. *Syzygium cumini* leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 85, n. 10, p. 1301-1309, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jctb.2427>. Acesso em: 31 mar. 2020.
- LOO, Y. Y.; CHIENG, B. W.; NISHIBUCHI, M.; RADU, S. Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia Sinensis*. **International Journal of Nanomedicine**, v.7, p.4263-4267, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418103/>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; GARCIA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Barrier. **Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films**. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2, p.129-135, 2004.
- MALVERN. Zetasizer Nano Series User Manual. **User Manuals**, England, 2004. Disponível em: [http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer\\_Nano\\_user\\_manual\\_Man0317-3131.1pdf](http://www.biophysics.bioc.cam.ac.uk/files/Zetasizer_Nano_user_manual_Man0317-3131.1pdf). Acesso em: 06 out. 2021.



MITTAL, A. K.; CHRISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 2, p. 346-356, mar./apr. 2013. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975013000050>. Acesso em: 03 nov. 2021.

MORAES, J. O. **Propriedades de Filmes de Amido Incorporados de Nanoargilas e Fibras de Celulose**. 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico (CTC), Florianópolis, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/92616>. Acesso em: 22 out. 2020.

POLLINI, M.; PALADINI, F.; CATALANO, M.; TAURINO, A. *et al.* Antibacterial coatings on haemodialysis catheters by photochemical deposition of silver nanoparticles. **Journal of Materials Science in Medicine**, v. 22, p. 1712-1720, 2011.

POMMET, M.; REDL, A.; MOREL, M. H.; GUILBERT, S. Study of wheat gluten plasticization with fatty acids. **Polymer**, v. 44, n. 1, p. 115-122, 2003.

POMMET, M.; REDL, A.; GUILBERT, S.; MOREL, M. H. Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic material. **Journal of cereal Science**, v. 45, n. 1, p. 81-91, 2005.

ROCHA, R. R. **Química Verde: Síntese de nanopartículas de prata utilizando extratos vegetais**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/171440>. Acesso em: 23 abr. 2019.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; *et al.* **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação das propriedades**. CETEAI/ITAL, Campinas, 2002.

SHARMA, V. K.; YNGARD, R. A.; LIN, Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 145, p. 83-96, 2009. Disponível em: <https://vjs.ac.vn/index.php/jst/article/view/15451>. Acesso em: 17 fev. 2019.

SILVA, R. L. C. G.; SILVA, H. F. O.; GASPAROTTO, L. H. S.; CASELI, L. How the interaction of PVP- stabilized Ag nanoparticles with models off cellular membranes at the air-water interface is modulated by the monolayer composition. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 512, p. 792-800, 2018. DOI: 10.1016 / j.jcis.2017.10.091. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021979717312602?via%3Di> hub. Acesso em: 23 mar. 2019.

SILVA, L. P. Nanopartículas verdes: Plantas do cerrado são usadas na produção de nanossistemas para controle de patógenos e pragas da agricultura, entre outras aplicações. **Pesquisa FAPESP**, São Paulo (SP), 2014. ed 223. p. 70-73, 2014. Disponível em: [http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2014/09/070-073\\_Nanoverde\\_223.pdf?7ba38f](http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2014/09/070-073_Nanoverde_223.pdf?7ba38f). Acesso em: 02 nov. 2021.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Paulo, v.10, n. 1, p.24-30, 2000.

TÁPIA-BLÁCIDO, D.; SOBRAL, P. J.; MENEGALLI, F. C. Development and characterization of biofilms based on Amaranth flour (*Amaranthus caudatus*). **Journal of Food Engineering**, v.67, p. 215-223, 2004. Disponível em: [https://catalogo.latu.org.uy/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=989](https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/doc_num.php?explnum_id=989). Acesso em: 16 abr. 2019.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.151-165, 2004.

VOET, D; VOET, J. G. **Bioquímica**. Porto Alegre: Grupo A, 2013. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582710050/>. Acesso em: 18 novembro 2021.

ZANELA, J. **Desenvolvimento e caracterização de material biodegradável a base de amido e poli (vinil álcool)**, 2013. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013. Disponível em: [https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UEL\\_86fa65e1c1c7288014501c14747fe1e2](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UEL_86fa65e1c1c7288014501c14747fe1e2). Acesso em: 23 nov. 2021.

ZHANG, J, Z; NOGUEZ, C. Plasmonic optical properties and applications of metal nanostructures. **Plasmonics**, v.3, p.127-150, 2008.