

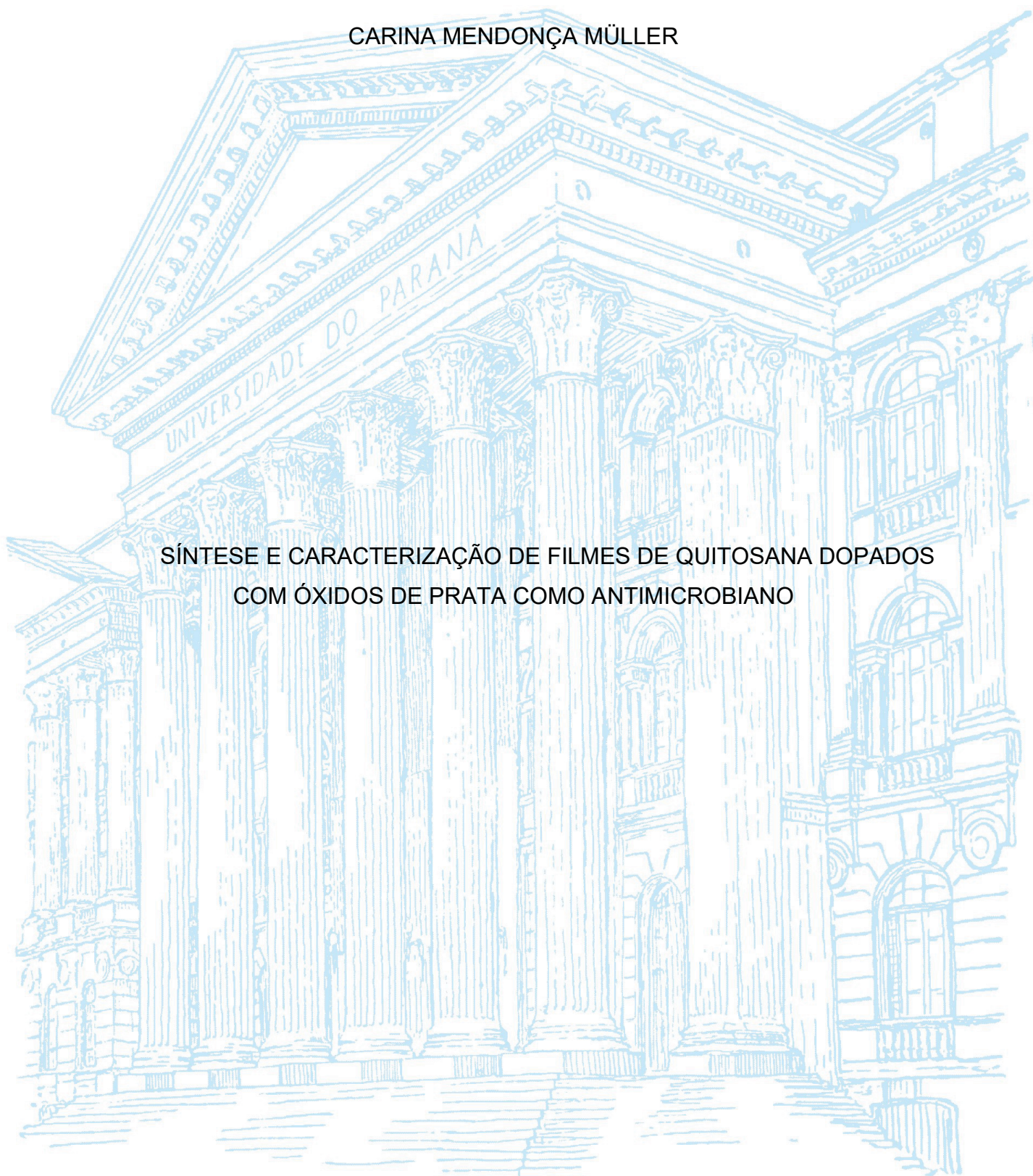
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CARINA MENDONÇA MÜLLER

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA DOPADOS  
COM ÓXIDOS DE PRATA COMO ANTIMICROBIANO

JANDAIA DO SUL

2023



CARINA MENDONÇA MÜLLER

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE QUITOSANA DOPADOS  
COM ÓXIDOS DE PRATA COMO ANTIMICROBIANO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia Ambiental, Setor Palotina - PR, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Leda da Maria Saragiotto Colpini

JANDAIA DO SUL

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M958s MÜLLER, Carina Mendonça  
Síntese e caracterização de filmes de quitosana dopados com óxidos de prata como antimicrobiano/ Carina Mendonça Müller. Jandaia do Sul: 2023. 69 fls.: il.

Profª Drª Leda Maria Saragiotto Colpini  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Campus Palotina. Curso de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia Ambiental.

1. Quitosana. 2. Nanotecnologia . 3. Biopolímero. I. Colpini, Leda Maria Saragiotto . orient. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD: 606



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR PALOTINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA E  
TECNOLOGIA AMBIENTAL - 40001016173P5

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **CARINA MENDONÇA MÜLLER** intitulada: **Síntese e Caracterização de Filmes de Quitosana Dopados com Óxidos de Prata Como Antimicrobiano**, sob orientação da Profa. Dra. LEDA MARIA SARAGIOTTO COLPINI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 02 de Março de 2023.

Assinatura Eletrônica

02/03/2023 15:10:50.0

LEDA MARIA SARAGIOTTO COLPINI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/03/2023 15:07:40.0

HELTON JOSE ALVES

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/03/2023 18:54:13.0

DIRLEI DIEDRICH KIELING

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - CAMPUS JANDAIA DO SUL)

---

RUA PIONEIRO, 2153 - Palotina - Paraná - Brasil  
CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8500 - E-mail: ppgeta@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.  
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 281444

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prrpg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp>  
e insira o código 281444

Dedico este trabalho aos meus pais, por acreditarem nos meus sonhos, apesar de todas as dificuldades.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pelo dom da vida, em meio à tantas adversidades.

Ao meu pai e minha mãe, Rani Müller de Souza e Eliana Regina Tinoco de Mendonça, pelo sacrifício, amor e por tentar acreditar na minha profissão e no meu verdadeiro dom de lecionar como arquiteta e urbanista.

Ao meu filho João Pedro Müller Grou, que sabia o quanto era importante tudo isso. Garantir-se de tal forma um futuro melhor.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Leda Maria Saragiotto Colpini, pela amizade, colaboração científica e apoio irrefutável ao meu sonho, quando já desacreditava em fazer o mestrado, por causa da minha idade já avançada.

Ao Prof. Dr. Helton José Alves, da UFPR – Setor Palotina, por gentilmente nos ceder a quitosana, que contribuiu para todos os experimentos nessa dissertação.

Ao doutorando William Gustavo Sganzerla, da UNICAMP, pelo auxílio nos preparos dos filmes.

Ao doutorando Luiz Eduardo Nochi de Castro, que teve muita paciência comigo nos laboratórios da UFPR, para a realização de diversos processos experimentais apresentados neste trabalho.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Dirlei Diedrich Kieling, que me ensinou muito sobre os experimentos na área de microbiologia, realizados neste trabalho.

A todos os meus professores do PPGETA, em especial à Leda Maria Saragiotto Colpini, Ralpho Rinaldo dos Reis e Silvio Cesar Sampaio.

Aos professores avaliadores externos da minha banca de qualificação: Dr. Robie Allan Bombardelli (UNIOESTE) e Dr. Walter Anibal Rammazzina Filho (UTFPR), que me deram muitas orientações e ajustes importantes para um bom entendimento deste trabalho.

Aos meus colegas do grupo PPGETA, onde estávamos uns apoiando aos outros, com muita serenidade e companheirismo, mesmo ao meio do caos da Pandemia de COVID-19.

As minhas amigas Juliane Franzon e Priscilla dos Santos Augusto, que mesmo morando em outras localidades, nunca pouparam esforços para me incentivar e sempre acreditaram na minha capacidade.

Ao meu grupo “Os resistentes da UEL”, onde todos os colegas de faculdade demonstraram foco e muita maturidade, onde a grande maioria escolheu o caminho da educação e do conhecimento científico.

Ao PPGETA, no qual proporcionou uma troca de experiências e conhecimento amplos e diversificados.

*“Educar verdadeiramente não é ensinar fatos novos ou enumerar fórmulas prontas, mas sim preparar a mente para pensar.” (Albert Einstein)*

## RESUMO

Nos últimos anos têm surgido diversos produtos com propriedades antimicrobianas como vidros, cerâmicas, plásticos, produtos têxteis, tintas etc. A quitosana é um biopolímero versátil, suas características físicas e químicas podem ser variadas, dependendo do processo de produção do material. Neste sentido, esse trabalho visou sintetizar e caracterizar filmes de quitosana com óxidos de prata para aplicação antimicrobiana. Os óxidos mistos, foram sintetizados a base de prata, suportados em titânia pelo método clássico da impregnação por excesso de solvente. Para o desenvolvimento dos filmes, a quitosana utilizada foi de 85 GD e com massa média de 120 KDa, na forma de pó, proveniente da carapaça do camarão. Os filmes obtidos foram caracterizados quanto aos aspectos visuais, propriedades estruturais, morfológicas, físicas, ópticas, de barreiras e mecânicas e denominados como F1 (quitosana), F2 (quitosana + TiO<sub>2</sub>), F3 (quitosana + Ag<sub>2%</sub>/TiO<sub>2</sub>) e F4 (quitosana + Ag<sub>10%</sub>/TiO<sub>2</sub>). Todos os filmes apresentaram excelentes resultados para continuidade e manuseabilidade, de acordo com a análise visual. Enquanto para a homogeneidade, o filme F1 apresentou excelente resultado, F2 e F4 bons resultados e F3 deficiente, essa deficiência, provavelmente deve-se ao fato do filme possuir algumas partículas insolúveis presentes. As propriedades estruturais identificadas por Espectroscopia na região do infravermelho, apresentou regiões características atribuídas a ligação oxigênio e titânio nos óxidos e ligações características da quitosana foram observadas nos filmes, no entanto, com a incorporação de prata nenhuma banda foi observada a ligação Ag-TiO<sub>2</sub>. Em relação a propriedade morfológica realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura, os filmes F1 e F2, se mostraram homogêneos e com superfície contínua, já quando a prata foi adicionada, nota-se que nos filmes F3 e F4, as rugas começaram a aparecer na superfície, ou seja, pequenas rachaduras uniformes, permitindo visualizar claramente partículas maiores formadas pela aglomeração de Ag-TiO<sub>2</sub>. Quanto as propriedades físicas, os filmes foram estatisticamente similares ( $p \leq 0,05$ ) e das propriedades ópticas os resultados de transmitância e opacidade dos filmes, revelaram que são inversamente proporcionais, pois quanto maior a transmitância de um filme, menor a opacidade. A análise de variância mostrou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos, em todos os parâmetros de cor. Como apresentado nas análises visuais, a superfície dos filmes, com a adição de prata produziu materiais mais opacos, afetando a cor, resultando em filmes mais escuros para F3 e F4. Nas propriedades mecânicas, o aumento na concentração de prata, diminuiu significativamente o alongamento na ruptura, causando um comportamento antiplasticidade, diminuindo a flexibilidade do filme F4. Em relação a permeabilidade ao vapor de água, os filmes foram considerados como barreira moderada. Nos testes de atividade antimicrobiana efetuados com as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, o filme F4 foi o de maior destaque, atingindo 40% de inativação frente a bactéria *E. coli*. De acordo com os resultados, os filmes produzidos com quitosana a base de prata, apresentaram características promissoras para atuarem como filmes ativos com propriedade antimicrobiana.

Palavras-chave: TiO<sub>2</sub>; Polímero; Compósito; Nanotecnologia; Bactericida.

## ABSTRACT

In recent years, several products with antimicrobial properties have emerged, such as glass, ceramics, plastics, textile products, paints, etc. Chitosan is a versatile biopolymer, and its physical and chemical characteristics can vary depending on the material's production process. In this sense, this study aimed to synthesize and characterize chitosan films with silver oxides for antimicrobial application. The mixed oxides were synthesized based on silver supported in titania using the classic solvent excess impregnation method. For film development, chitosan with a mass average of 120 KDa and 85 GD, in powder form, from shrimp shell was used. The obtained films were characterized for visual aspects, structural, morphological, physical, optical, barrier, and mechanical properties, named as F1 (chitosan), F2 (chitosan + TiO<sub>2</sub>), F3 (chitosan + Ag<sub>2%</sub>/TiO<sub>2</sub>), and F4 (chitosan + Ag<sub>10%</sub>/TiO<sub>2</sub>). All films presented excellent results for continuity and handling, according to visual analysis. While for homogeneity, film F1 showed an excellent result, F2 and F4 showed good results, and F3 showed deficiency, probably due to the presence of some insoluble particles in the film. The structural properties identified by Infrared Spectroscopy presented characteristic regions attributed to the oxygen and titanium bond in the oxides, and characteristic bonds of chitosan were observed in the films. However, no band was observed for Ag-TiO<sub>2</sub> bonding after silver incorporation. Regarding the morphological property performed by Scanning Electron Microscopy, films F1 and F2 showed homogeneity and continuous surface. When silver was added, it was noticed that wrinkles began to appear on the surface of films F3 and F4, i.e., small uniform cracks, allowing the larger particles formed by Ag-TiO<sub>2</sub> agglomeration to be clearly visible. Concerning physical properties, the films were statistically similar ( $p \leq 0.05$ ), and for optical properties, the results of the films' transmittance and opacity revealed that they are inversely proportional. As shown in visual analysis, the surface of films with silver addition produced more opaque materials, affecting color and resulting in darker films for F3 and F4. In terms of mechanical properties, an increase in silver concentration significantly decreased the elongation at break, causing an anti-plastic behavior, decreasing the flexibility of film F4. Regarding water vapor permeability, the films were considered moderate barriers. In the antimicrobial activity tests performed with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria, film F4 stood out, reaching 40% inactivation against *E. coli*. According to the results, films produced with chitosan based on silver showed promising characteristics to act as active films with antimicrobial properties.

Keywords: TiO<sub>2</sub>; Polymer; Composite; Nanotechnology; Bactericide.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE AUTOLIMPEZA.....	20
FIGURA 2 – DIMINUIÇÃO DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO CATALISADOR....	21
FIGURA 3 – IMAGENS EM PERSPECTIVA TRIDIMENSIONAL DAS CÉLULAS UNITÁRIAS .....	23
FIGURA 4 – FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA .....	38
FIGURA 5 – ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FT-IR) .....	39
FIGURA 6 – MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS MATERIAIS .....	41
FIGURA 7 – MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS FILMES ....	42
FIGURA 8 – FORMAÇÃO DOS HALOS DE INIBIÇÃO E AUSÊNCIA DE HALO .....	50

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – VISÃO GERAL DO MERCADO DE FOTOCATALISADORES.....	23
GRÁFICO 2 – RESULTADOS DAS PROPRIEDADES FÍSICAS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA .....	45
GRÁFICO 3 – PERMEABILIDADE DE VAPOR DE ÁGUA DOS FILMES .....	49

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – MASSAS DE PRECURSOR METÁLICO DE Ag UTILIZADAS PARA CADA ÓXIDO MISTO.....	30
TABELA 2 – AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA .....	37
TABELA 3 – PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA.....	47
TABELA 4 – PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES DE QUITOSANA .....	48
TABELA 5 – CONCENTRAÇÃO DE <i>E. COLI</i> E <i>S. AUREUS</i> INOCULADA E REMANESCENTE NOS FILMES APÓS 240 min. DE CONTATO.....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

- Ag - Elemento químico prata
- Ag<sup>+</sup> - íons prata
- AgNO<sub>3</sub> - Nitrato de prata
- BHI - *Brain Heart Infusion*
- BiO<sub>3</sub> - Óxido de Bismuto
- CAGR - *Compound Annual Growth Rate*
- CdS - Sulfeto de cádmio
- COVID-19 - *Coronavirus disease 2019*
- DNA - ácido desoxirribonucleico
- Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> - Óxido de ferro III
- F1 - Filme de Quitosana pura
- F2 - Filme de Quitosana + Dióxido de Titânio
- F3 - Filme de Quitosana + 2% de Prata + Dióxido de Titânio
- F4 - Filme de Quitosana + 10% de Prata + Dióxido de Titânio
- h - Hora
- KDa - Kilo Dalton
- Milli-Qplus - sistemas de purificação de água ultrapura
- min - Minuto
- MRSA- *Staphylococcus aureus* resistente à metilina
- NaCl - Cloreto de sódio
- PCA - Análise de componentes principais
- rpm - Rotações por minuto
- TiO<sub>2</sub> - Dióxido de Titânio
- UFC - Unidades Formadoras de Colônias
- US\$ - *United States Dollar*
- UV - Ultravioleta
- µL - Microlitro
- WO<sub>3</sub> - Óxido de tungstênio
- ZnO - Óxido de zinco
- ZnS - Sulfeto de zinco

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
3.1 QUITOSANA .....	18
3.2 MATERIAIS AUTOLIMPANTES E ANTIMICROBIANOS .....	19
3.3 CATALISADORES .....	21
3.4 BACTÉRIAS .....	25
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	<b>29</b>
4.1 MATERIAL E MÉTODOS .....	29
4.2 SÍNTESE DOS ÓXIDOS MISTOS .....	29
4.2.1 Preparação dos filmes .....	30
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	31
4.3.1 Aspectos visuais .....	31
4.3.2 Propriedade estrutural .....	31
4.3.3 Propriedade morfológica .....	31
4.3.4 Propriedades físicas .....	31
4.3.5 Propriedades ópticas .....	32
4.3.6 Propriedades mecânicas .....	33
4.3.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) .....	34
4.4 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES .....	34
4.4.1 Ensaio 1 – Teste de difusão em disco .....	34
4.4.2 Ensaio 2 – Teste de inativação .....	35
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	36
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	37
5.1.1 Aspectos visuais .....	37
5.1.2 Propriedade estrutural .....	38
5.1.3 Propriedade morfológica .....	40
5.1.4 Propriedades físicas .....	43
5.1.5 Propriedades ópticas .....	45
5.1.6 Propriedades mecânicas .....	48

5.1.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA) .....	48
5.2 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES.....	50
5.2.1 Ensaio 1 – Teste de difusão em disco.....	50
5.2.2 Ensaio 2 – Teste de inativação .....	51
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, o setor da construção civil vem ganhando destaque ao redor do mundo por oferecer soluções para as necessidades habitacionais e comerciais da sociedade. Como forma de contribuir para a inovação e sustentabilidade deste setor, tem-se notado um aumento na popularidade dos materiais autolimpantes. Estes materiais possuem a capacidade de manter sua aparência limpa e livre de sujeira, sem necessidade de limpeza frequente, o que traz diversas vantagens econômicas e ambientais (AKBARI et al., 2016). Ademais, a poluição urbana é um problema que tem crescido significativamente e traz impactos negativos tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Além disso, a necessidade de constante limpeza e reparação das edificações também é uma questão relevante, devido ao seu alto custo de manutenção (KROGMANN et al., 2016). Nesse sentido, pesquisadores têm explorado o uso de fotocatalisadores na criação de materiais autolimpantes com propriedades antimicrobianas, como forma de abordar estes problemas (NOGUERA et al., 2011; HAN et al., 2020).

A adição de propriedades antimicrobianas aos materiais autolimpantes pode ajudar a prevenir a disseminação de bactérias e outros microrganismos nas superfícies das edificações (CHEUNG et al., 2017), sendo uma estratégia eficaz para prevenir a disseminação de patógenos em ambientes urbanos (RAMASWAMY et al., 2018). Segundo KAUR et al. (2022), diversos produtos com propriedades antimicrobianas têm surgido nos últimos anos, compartilhando a capacidade de decompor matérias nocivas e apresentando, portanto, características autolimpantes. A fabricação de revestimentos autolimpantes com propriedades antimicrobianas através do uso de fotocatalisadores tem sido investigada em diversos estudos (KIM et al., 2011; LI et al., 2019). A utilização destes materiais pode ajudar a reduzir o uso de água e produtos químicos de limpeza, trazendo benefícios ecológicos significativos (KAMAT et al., 2019).

A fim de avaliar a eficácia dos materiais autolimpantes, é essencial realizar testes antimicrobianos para determinar se eles são capazes de inibir o crescimento de bactérias e outros tipos de contaminação (KONG et al., 2020; GAO et al., 2019).

Uma das maneiras mais eficazes de realizar esses testes é através da utilização de biofilmes (SHAN; LI, 2019; LI et al., 2020). Apesar da eficiência do dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) como um dos catalisadores mais utilizados, a utilização de materiais autolimpantes na construção civil enfrenta desafios, como a resistência à abrasão e aos danos mecânicos, bem como o seu custo elevado, que podem limitar sua aplicação em larga escala (MA; YANG, 2020; SUN et al., 2019; ZHANG, et al. 2018; WANG; JIANG, 2017; LIU et al., 2016). De acordo com SOUZA et al. (2017), a durabilidade dos materiais autolimpantes pode ser afetada pela sua menor resistência à abrasão e danos mecânicos, enquanto SANTOS et al. (2019) destacam que os custos podem ser um obstáculo para sua adoção em larga escala na construção civil.

A quitosana, um polissacarídeo derivado de fontes animais, tem sido amplamente estudada por suas propriedades antibacterianas e antifúngicas, o que a torna uma opção promissora para a utilização em materiais autolimpantes (LIU et al., 2016; ZHANG et al., 2019). Além disso, a quitosana pode ser facilmente modificada para melhorar suas propriedades de limpeza e sua compatibilidade com outros materiais (XU et al., 2020). Para avaliar a eficácia da quitosana como biofilme, foi utilizado neste estudo uma mistura com óxidos de titânia e prata para conferir propriedades antimicrobianas.

O teste foi realizado utilizando duas bactérias amplamente empregadas em testes antimicrobianos: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A finalidade dessas análises foi verificar se o biofilme possui a capacidade de inibir o crescimento de bactérias e apresentar propriedades antibacterianas quando for aplicado em materiais autolimpantes. De acordo com FOSTER et al (2010a e 2010 b), embora a quitosana seja uma opção promissora, a adição de óxidos de titânia e prata pode representar desafios em relação à sua durabilidade, além de aumentar o custo dos materiais autolimpantes.

Portanto, este trabalho demonstra a importância do uso de materiais autolimpantes como uma solução promissora para os desafios enfrentados pela construção civil, especialmente no que diz respeito à sustentabilidade e à redução de custos de manutenção. Além disso, a adição de propriedades antimicrobianas a esses materiais pode ajudar a prevenir a disseminação de bactérias e outros

microrganismos nas superfícies das edificações. Embora haja desafios a serem enfrentados, como a resistência à abrasão e aos danos mecânicos, bem como o custo elevado, os materiais autolimpantes continuam sendo uma área de pesquisa promissora e com potencial para trazer grandes benefícios ambientais e econômicos para a indústria da construção civil (DONG et al., 2020; ZARI et al., 2019).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho tem como objetivo geral, sintetizar e caracterizar filmes de quitosana com titânia e óxidos de prata para aplicação antimicrobiana.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Preparar, pelo método de impregnação por excesso de solvente, os óxidos mistos de Ag/TiO<sub>2</sub>, contendo proporções nominais de prata (2% e 10%);
- b) Desenvolver e sintetizar filmes a base de quitosana, dopados ou não com prata, pelo método de casting;
- c) Caracterizar a morfologia dos óxidos e filmes obtidos pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura de raios X;
- d) Caracterizar estruturalmente os óxidos e filmes obtidos pela técnica de Espectroscopia na região do infravermelho;
- e) Caracterizar os filmes quanto às propriedades visuais (continuidade, homogeneidade e manuseabilidade), físicas (espessura, gramatura, densidade e solubilidade), ópticas, de barreira e mecânicas (resistência a tração, alongamento na ruptura e módulo de Young);
- f) Avaliar o comportamento antimicrobiano dos filmes frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 QUITOSANA

A quitosana é um biopolímero natural derivado da desacetilação da quitina, composto por unidades repetitivas de N-acetilglucosamina e glucosamina. Seus derivados são polissacarídeos biodegradáveis, atóxicos e biocompatíveis, com propriedades antimicrobianas, antifúngicas e quelantes de metais. Na fase sólida, a quitosana é semicristalina e geralmente solúvel em ácidos orgânicos diluídos como ácido acético, cítrico ou tartárico, entre outros (FLORÉZ et al., 2022).

O desenvolvimento de membranas poliméricas a partir da quitosana produzida com quitina extraída da carapaça de camarão visa aproveitar esse polímero que hoje é descartado, e ao mesmo tempo desenvolver uma membrana de troca protônica, com elevado desempenho e baixo custo.

A quitosana é um copolímero versátil, devido suas características físicas e químicas. A sua versatilidade faz com que seja possível produzir membranas diferentes. Entre as variáveis que influenciam nas características das membranas de quitosana, a espessura e a massa molar são as que mais interferem na condutividade da membrana polimérica (POLINARSKI et al., 2021). Por possuir uma versatilidade química, biodegradabilidade e vasta disponibilidade a quitosana tem potencial para ser utilizada em diversas áreas tecnológicas, como biotecnologia, cosméticos, processamento de alimentos, produtos biomédicos, sistemas de liberação controladas de fármacos, catalisadores e mais recentemente existem estudos do uso de filmes de quitosana como membrana de troca protônica em células a combustível (WANG; XING, 2017; LI et al., 2018a).

Atualmente seu potencial antimicrobiano sugere sua aplicação na preservação de alimentos em diferentes fases de processamento. Entre os diversos estudos, pode-se citar a incorporação em filmes comestíveis com gelatina (WANG et al., 2021), filmes biodegradáveis para aplicações em embalagens de alimentos (PRIYADARSHI; RHIM, 2020). Isto, porque a aplicação deste biopolímero visa agregar valor ao material devido suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes, bem como garantir uma melhor propriedade a barreira de umidade ao material, bem

como aumentar a homogeneidade e resistência a tração dos filmes (PRIYADARSHI; RHIM, 2020; REN et al., 2017).

Segundo ARANAZ et al. (2021), estudos publicados com quitosana indicam sua aplicação para fins industriais, devido às suas características como flexibilidade, durabilidade, resistência, tenacidade e alta resistência à quebra (PRIYADARSHI et al., 2018), capacidade de filme transparente e biodegradabilidade (FONSECA-GARCÍA et al., 2020).

### 3.2 MATERIAIS AUTOLIMPANTES E ANTIMICROBIANOS

Desta forma, surge a necessidade de garantir que os materiais utilizados para estes fins possuam verificação e certificação de sua atividade antimicrobiana, pois nos processos industriais modernos há grande exigência de reprodutibilidade das propriedades dos produtos, o que implica em desenvolvimento e aplicação de metodologias de mensuração.

Diversas propriedades e metodologias de análises já se encontram bem estabelecidas e normatizadas, enquanto outros procedimentos devem ainda ser desenvolvidos ou implantados. Diferentes processos são utilizados para conferir características antimicrobianas a materiais, tais como a aderência de metais com propriedades bactericidas ou óxidos catalisadores em sua superfície.

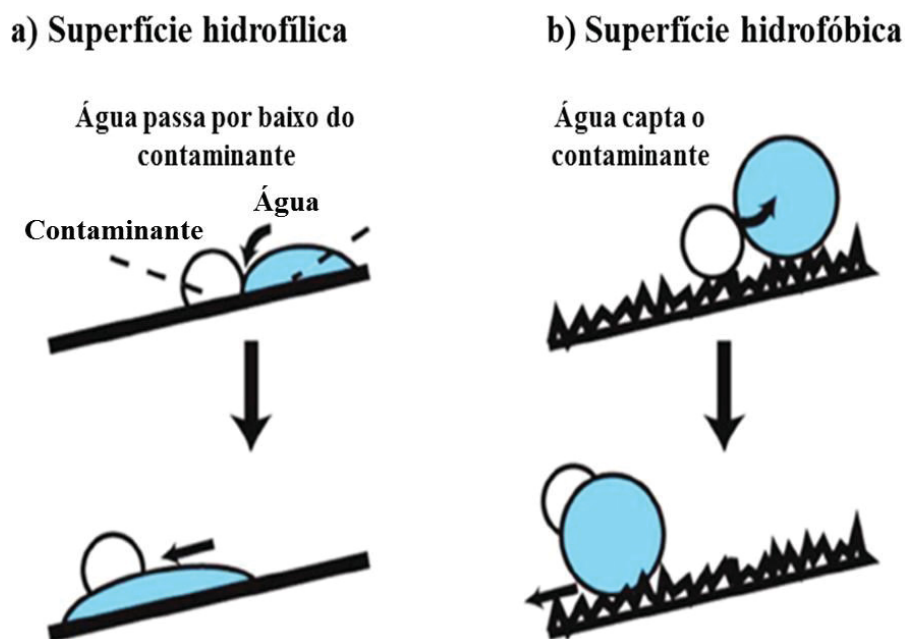
Os metais possuem um efeito antimicrobiano devido às suas características oligodinâmicas, no qual verifica-se a capacidade dos metais de interagir com as células bacterianas, inibindo ou matando os microrganismos presentes na superfície. Essa interação é causada pela liberação de íons metálicos, como prata, cobre, zinco, ferro, entre outros, que atuam na destruição de bactérias, fungos e vírus. Por outro lado, os óxidos, como o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), possuem propriedades antimicrobianas devido à reação de fotocatalise. Isso significa que, quando esses materiais são expostos à luz ultravioleta, eles produzem radicais livres, que são espécies químicas altamente reativas. Esses radicais livres podem oxidar e decompor substâncias orgânicas, incluindo materiais biológicos, como bactérias e vírus, destruindo-os efetivamente (SÁNCHEZ-LÓPEZ et al., 2020; ZHAO et al., 2021; FUJISHIMA et al., 2000; HOFFMANN et al., 1995).

Portanto, tanto os metais quanto os óxidos têm a capacidade de matar microrganismos e apresentam propriedades antimicrobianas, mas seus mecanismos de ação são diferentes.

De acordo com FOSTER et al. (2010a), misturas de fotocatalisador e metal são adicionadas em películas finas à superfície de revestimentos cerâmicos a fim de conferir propriedades antimicrobianas e autolimpantes. Estes materiais vêm sendo amplamente estudados em diversas aplicações, como tecidos, vidros para janelas, materiais de construção, espelhos de carro e painéis solares. Além disso, os materiais autolimpantes possuem a vantagem de serem facilmente limpos por um fluxo de água natural, reduzindo custos de manutenção.

Esses materiais são divididos em duas categorias, de acordo com a hidrofiliicidade de sua superfície, hidrofílica e hidrofóbica, em que as gotas de água se aderem ou são repelidas, respectivamente (BANERJEE et al., 2015):

FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE AUTOLIMPEZA



LEGENDA: Representação esquemática do processo de autolimpeza em a) superfície hidrofílica e b) superfície hidrofóbica.

FONTE: BANERJEE et al. (2015).

Para que a proliferação dos microrganismos aconteça no revestimento cerâmico, devem estar disponíveis água, nutrientes e temperatura adequada, sendo que os dois últimos itens variam de acordo com a necessidade de cada organismo.

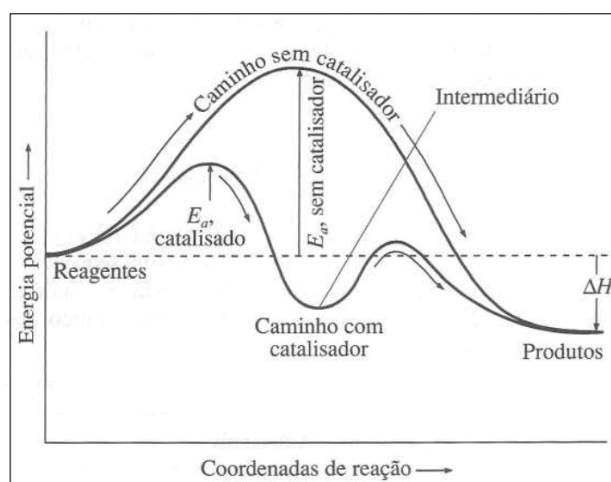
A melhor prevenção contra os microrganismos nocivos é evitar ou reduzir sua proliferação. O uso de filtros e de materiais de construção antimicrobianos são os sistemas mais eficientes para solução deste problema, principalmente em ambientes internos (FOSTER et al., 2010a; REN et al., 2017).

### 3.3 CATALISADORES

Um catalisador é uma substância que pode ser adicionada à reação para aumentar a sua velocidade, sem ser consumida no processo. Isso significa que, ao final da reação, o catalisador está presente na mesma quantidade que foi adicionado no início. Ele atua, simplesmente, mostrando um mecanismo alternativo para a reação, sendo que, neste a energia de ativação é menor que o mecanismo convencional ou não-catalisado.

Na Figura 2, pode-se comparar a mesma reação com e sem a presença de catalisador, onde cada máximo de energia potencial apresentado corresponde à formação de um complexo ativado (RUSSELL, 1994).

FIGURA 2 – DIMINUIÇÃO DA ENERGIA DE ATIVAÇÃO PELO CATALISADOR



FONTE: RUSSELL, 1994, p. 60.

LEGENDA: Representação comparativa do processo de reação com e sem a presença de um catalisador.

Os fotocatalisadores mais utilizados no mercado e em pesquisas são:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{CdS}$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{BiO}_3$  e  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Dentre estes, o material que é mais estudado quanto às propriedades fotocatalíticas é o dióxido de titânio (COLPINI et al., 2008).

Estes materiais atuam como potenciais agentes fotocatalisadores, podem sofrer adição de algumas espécies químicas como metais, óxidos ou outros semicondutores, para que suas propriedades sejam alteradas com o objetivo de aumentar a eficiência e o rendimento do fotocatalisador (MOREIRA, 2011).

Em geral, os três fatores que mais influenciam na fotoatividade do material são, segundo GONZALÉZ et al. (2016):

- I. Os relacionados com a microestrutura do revestimento, como os agentes dopantes (metais) e a área superficial;
- II. Os relacionados ao tipo de poluente alvo, como a afinidade com o material biológico ou químico a ser degradado preferencialmente e o mecanismo de degradação fotocatalisador-molécula orgânica.
- III. Os relacionados com o meio ambiente: temperatura, luminosidade incidente, concentração de poluentes, concentração de oxigênio e umidade.

Conforme SAMU et al. (2016) os fotocatalisadores são geralmente nanopartículas de óxidos semicondutores e podem ser empregados na purificação de água, conversão de energia solar, redução de  $\text{CO}_2$  e também como agentes antimicrobianos. Outra aplicação dos materiais fotocatalíticos é a degradação dos compostos nitrosos e o efeito autolimpante (BANERJEE et al., 2015).

De acordo com MORDOR INTELLIGENCE (2022) estima-se que o mercado de promitente, avaliado em US\$ 19.726,25 milhões em 2020, deve atingir US\$ 37.431,22 milhões em 2026 para registrar um CAGR de 52,7% durante o período de previsão (2021-2026), conforme o gráfico 1. A alta demanda por dióxido de titânio e o aumento das aplicações de tratamento de água e purificação do ar provavelmente impulsionarão a demanda pelo mercado de fotocatalisadores.

O dióxido de titânio encontra sua ampla aplicação na autolimpeza e, portanto, amplamente utilizado em materiais de construção, tintas e revestimentos e plásticos que respondem por mais de 80% do consumo mundial, o que se prevê impulsionar o crescimento do mercado estudado. Acredita-se que a região da Ásia-

Pacífico domine o mercado global com a maior parte do consumo vindo da China, Índia e outros.

GRÁFICO 1 – VISÃO GERAL DO MERCADO DE FOTOCATALISADORES

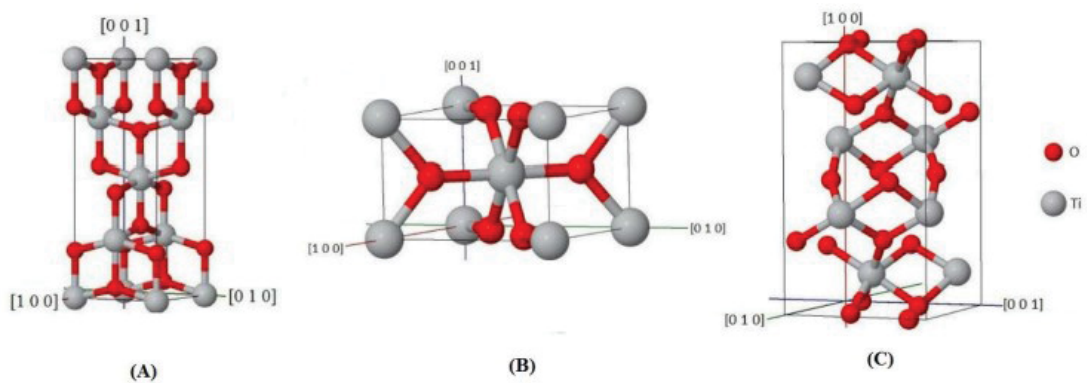


FONTE: MORDOR INTELLIGENCE, 2022.

LEGENDA: Previsão de crescimento do mercado de fotocatalisadores (2021 - 2026).

De acordo com MADHAVI et al. (2015) as formas mais comuns do  $\text{TiO}_2$  são anatase e rutila, ambos de estrutura tetragonal; e outra forma pouco comum é a brookita o qual é mais raro e instável. As duas primeiras são as formas mais favoráveis para que ocorra a fotocatalise, sendo que anatase é mais eficiente.

FIGURA 3 – IMAGENS EM PERSPECTIVA TRIDIMENSIONAL DAS CÉLULAS UNITÁRIAS



FONTE: ANTON (2015), p. 38.

LEGENDA: Imagens em perspectiva tridimensional, obtidas pelo programa Jmol, das células unitárias das fases: (A) anatase, (B) rutila e (C) brookita.

A anatase é a que mais chama atenção tecnológica devido a sua aplicação em células fotovoltaicas, fotocatalisadores e sua propriedade antimicrobiana, tanto para bactérias gram-positivas quanto gram-negativas (AHMAD; SARDAR, 2013).

As principais características do  $\text{TiO}_2$  como fotocatalisador são: estabilidade química, baixo custo (quando comparado a outros materiais fotocatalíticos), alta taxa de recuperação após uso e efetividade de degradação de componentes orgânicos (NAKATA; FUJISHIMA, 2012).

De acordo com ATHANASEKOU et al. (2015), o catalisador em forma de pó ou solução aquosa pode ser aplicado em diferentes tipos de materiais como polímeros, têxteis, cerâmicas, etc. na forma de camadas finas (películas) evitando os problemas tecnológicos associados à separação/ recuperação das partículas do fotocatalisador, porém a aplicação da película fotocatalítica pode resultar em uma perda significativa de atividade devido à redução da área superficial quando comparado ao catalisador em pó.

Além da propriedade antimicrobiana que pode ser conferida aos revestimentos cerâmicos a partir da aderência de catalisador em sua superfície, os materiais fotocatalíticos também agregam outras propriedades em diversos materiais utilizados no dia a dia.

O efeito antimicrobiano de um fotocatalisador com um metal incorporado ocorre devido à combinação de duas propriedades distintas: as propriedades fotocatalíticas do óxido e as propriedades antimicrobianas do metal. Por um lado, o óxido utilizado como fotocatalisador, geralmente dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), tem a capacidade de decompor substâncias orgânicas em contato com a luz ultravioleta, gerando espécies reativas de oxigênio, como radicais livres e peróxidos. Essas espécies têm a capacidade de oxidar e degradar a parede celular de microrganismos como bactérias, fungos e vírus, matando-os ou inativando-os. Por outro lado, o metal incorporado no fotocatalisador, como a prata (Ag), apresenta propriedades antimicrobianas intrínsecas, que podem matar microrganismos através da liberação de íons metálicos. Esses íons têm a capacidade de interagir com a parede celular de bactérias, fungos e vírus, inibindo ou matando esses microrganismos. Com a combinação dessas duas propriedades, a fotocatalise e a propriedade antimicrobiana do metal, proporciona um efeito sinérgico que pode ser

mais efetivo na eliminação de microrganismos do que o uso isolado de cada uma dessas propriedades (SÁNCHEZ-LÓPEZ et al. 2020; KAUR et al. 2022).

De acordo com MCEVOY e ZHANG (2014), diversos estudos mostraram uma eficiência de desinfecção microbiana por fotocatalisadores de dióxido de titânio com prata incorporada, sendo que estes materiais com camada fotocatalítica possuíam atividade de inativação de células no escuro e a mesma era maximizada quando exposta à luz UV.

O mecanismo de ação bactericida da prata foi proposto como sendo proporcionado pela absorção de íons de prata pela parede celular microbiana, a qual é carregada negativamente, provocando assim a inativação das enzimas celulares, interferindo na permeabilidade da membrana e conduzindo a morte do microrganismo.

Nos últimos anos, o surgimento de microrganismos resistentes a múltiplos fármacos levou ao aumento de pesquisas sobre alternativas para combater a resistência de fungos e bactérias já que representa um risco a saúde humana (GILL et al., 2015; SEDGHI; SHAHBANI, 2016). Óxidos metálicos foram identificados como potenciais agentes antimicrobianos no combate a diferentes microrganismos (AZAM et al., 2012).

### 3.4 BACTÉRIAS

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria gram-negativa em forma de bastonete que apresenta uma parede celular composta por peptidoglicano, lipopolissacarídeos e proteínas. Além disso, possui um flagelo que permite a movimentação em meio líquido e pili ou fímbrias que são estruturas filamentosas que ajudam na aderência a superfícies. A *E. coli* é uma bactéria aeróbia facultativa que fermenta a glicose e outros açúcares, apresentando um único cromossomo circular de DNA e plasmídeos que conferem características adicionais à bactéria. É capaz de crescer em uma ampla faixa de pH e temperatura, o que a torna bastante versátil e capaz de se adaptar a diferentes condições ambientais. No entanto, algumas cepas podem causar doenças em seres humanos (RILEY et al. 2020; KAPER et al., 2004).

*Escherichia coli* é considerada habitante natural do trato intestinal de animais e do homem, mas também aparece como um importante agente de sintomas como: diarreias, infecções urinárias, mastites, septicemias, meningites. Tem sido responsável por causar diarreia seguida de morte em crianças de países em desenvolvimento, assim como colite hemorrágica, síndrome urêmica hemolítica em crianças e adultos em países desenvolvidos. Veículos de infecção têm sido alimentos de origem animal, água e alimentos mal lavados como frutas, verduras e raízes (DROLET et al., 1994; SUSSMAN, 1997; TRABULSI; CAMPOS, 1999; GUTH et al., 2002; YATSUYANAGI et al., 2002).

A habilidade de *E. coli* em causar doença em humanos é devida à presença de vários fatores de virulência localizados em genes plasmidiais e/ou cromossomais (DONNENBERG; WHITTAM, 2001). A patogenicidade do microrganismo está relacionada à forma como a bactéria se liga à célula do hospedeiro, à produção de toxinas e a sua invasão (SEARS; KAPER, 1996; FARMER III, 1999).

O crescimento e sobrevivência da *E. coli* são influenciados por vários fatores, incluindo a disponibilidade de nutrientes, temperatura e pH. ROBINSON et al. (2011) destacam a importância da regulação dos sistemas de transporte de nutrientes na bactéria para o seu crescimento e sobrevivência.

A resistência antimicrobiana é um problema crescente em todo o mundo, e a *E. coli* não é exceção. TURNIDGE et al. (2009) relatam que a resistência da *E. coli* aos antibióticos é amplamente disseminada, tornando o tratamento de infecções causadas por esta bactéria cada vez mais difícil.

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva, no formato cocos, cujo diâmetro oscila entre 0,5 e 1,5 micras. Caracterizam-se porque dividem-se em grupos que assemelham com cachos de uva (HARRIS et al., 2002). Este grupo de bactérias são imóveis, não esporuladas e, geralmente, não capsuladas, apresentando positividade para catalase (KONEMAN et al., 1997), com exceção das espécies *S. saccharolyticuse*, *S. aureus subsp. anaerobius*, que são catalase negativa (BERTRAND et al., 2012).

A superfície externa da maioria das cepas de *S. aureus* contém o fator de coagulação, coagulase ligada, que se liga ao fibrinogênio e o converte em fibrina

insolúvel, sendo importante fator de virulência. A sua detecção é utilizada para identificação desta espécie (LIMA et al., 2015).

Este grupo de microrganismos ainda tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio de até 15% e a produção de enterotoxina acontece em concentrações de sal de até 10%, o que faz com que os alimentos curados também sejam veículos potenciais de intoxicação (SANTANA et al., 2010). Quanto à atividade de água ( $a_w$ ) os estafilococos são únicos em sua capacidade de se multiplicarem em alimentos com valores de atividade de água inferiores ao normalmente considerados mínimos para outras bactérias halófilas. O valor mínimo de  $a_w$  é 0,86, apesar de já ter sido relatada a multiplicação desses microrganismos em alimentos com  $a_w$  de 0,83 (WONG; BERGDOLL, 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2005). A presença de outros microrganismos também é um ponto importante, pois os estafilococos são considerados mal competidores (LOIR et al., 2003).

Além disso, o *S. aureus* também é conhecido por ser uma das principais causas de infecções hospitalares e de difícil controle devido à sua capacidade de adquirir resistência a vários tipos de antibióticos (CARLING et al., 2019). As infecções hospitalares são particularmente preocupantes devido à presença frequente de cepas resistentes a múltiplos antibióticos, conhecidas como MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina). O MRSA é uma das principais preocupações de saúde pública em todo o mundo e é responsável por uma grande proporção de infecções nos hospitais (HILTY et al., 2010; TURNIDGE et al., 2009).

O teste antimicrobiano em biofilmes permite avaliar a eficácia dos materiais autolimpantes contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, que são conhecidas por causar doenças humanas e infecções hospitalares.

Diversos estudos têm sido conduzidos para avaliar a eficácia de materiais autolimpantes com propriedades antimicrobianas contra biofilmes de *E. coli* e *S. aureus*. LIU et al. (2020) demonstraram que revestimentos de vidro contendo Ag e Ti reduziram significativamente a aderência bacteriana e a viabilidade dos biofilmes de *E. coli* e *S. aureus*. GAO et al. (2018) mostraram que um revestimento de poliuretano contendo Zn e Ti apresentou atividade antimicrobiana superior aos revestimentos convencionais contra *E. coli* e *S. aureus* em biofilmes. Esses estudos

e outros fornecem evidências de que os materiais autolimpantes com propriedades antimicrobianas podem ser eficazes na prevenção e redução de UFC de *E. coli* e *S. aureus*.

O uso de materiais autolimpantes é uma estratégia importante para prevenir a disseminação de bactérias em diferentes ambientes, e pode contribuir significativamente para a saúde pública e o bem-estar da sociedade. É importante destacar a necessidade de mais pesquisas nesta área, a fim de continuar avaliando e melhorando a eficácia desses materiais na prevenção de infecções (LI et al., 2018b; DROLET et al., 1994; SUSSMAN, 1997; TRABULSI; CAMPOS, 1999).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os reagentes e solventes utilizados neste trabalho são de grau analítico. A água empregada na síntese dos materiais foi de qualidade Milli-Qplus com resistividade de aproximadamente 18 MΩcm.

O método de preparação assim como o suporte é de fundamental importância para o desempenho dos materiais, desta forma, neste trabalho, os óxidos mistos, foram sintetizados a base de prata, suportados em titânia pelo método clássico da impregnação por excesso de solvente (CASTRO et al., 2022).

Para o desenvolvimento dos filmes, a quitosana utilizada foi de 85 GD e com massa média de 120 KDa, na forma de pó, proveniente da carapaça do camarão, fornecida pelo Laboratório de Materiais e Energias Renováveis (LABMATER), UFPR/Setor Palotina.

Os filmes obtidos foram caracterizados quanto as propriedades visuais, estruturais, morfológicas, físicas, ópticas, de barreira e mecânicas.

Os estudos da atividade antimicrobiana dos filmes foram efetuados com as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

### 4.2 SÍNTESE DOS ÓXIDOS MISTOS

Para se utilizar o óxido de titânio (TiO<sub>2</sub>, Êxodo Científica) como suporte, na preparação dos óxidos mistos, o mesmo foi submetido a uma etapa de secagem, realizada em estufa por 21 horas à 120 °C.

Os óxidos mistos foram preparados nas proporções de 2% e 10% (m/m) em relação à massa de óxido de titânio (Tabela 1). Inicialmente, 30 g de TiO<sub>2</sub> previamente seco foi dissolvido em água, formando uma pasta fina, posteriormente adicionado o precursor metálico (AgNO<sub>3</sub>, Sigma-Aldrich) já dissolvido em água. Após, a solução pronta foi mantida em rotação constante (120 rpm) por 17 horas em um evaporador rotativo, na temperatura ambiente. O excesso de solvente foi eliminado por evaporação a vácuo, no evaporador rotativo com aquecimento de

aproximadamente 80 °C. Em seguida, o material foi retirado do balão e seco em estufa durante 21 horas à 120 °C, sendo então calcinado com rampa de aquecimento a 400 °C por 5 horas.

Para se estudar o efeito da concentração de prata (Ag) nas propriedades dos materiais, os óxidos mistos descritos foram obtidos contendo proporções de Ag variando em 2% e 10% em massa, sendo representados, respectivamente por: Ag<sub>2%</sub>/TiO<sub>2</sub> e Ag<sub>10%</sub>/TiO<sub>2</sub>.

TABELA 1 – MASSAS DE PRECURSOR METÁLICO DE Ag UTILIZADAS PARA CADA ÓXIDO MISTO

Óxidos mistos	Massa <sup>1</sup> (g)
2% Ag/TiO <sub>2</sub>	0,9638
10% Ag/TiO <sub>2</sub>	5,2477

FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: <sup>1</sup> Massa de nitrato de prata adicionado à solução.

#### 4.2.1 Preparação dos filmes

Os filmes de quitosana foram preparados empregando o método de *casting* de acordo com os procedimentos de KAISTNER et al. (1996) e ROHR (2007), com modificações. O filme controle foi preparado solubilizando-se 1,5 g de quitosana em 150 mL de solução de ácido acético (0,5% v/v) durante uma noite, após isso 10 g de glicerol foram adicionados a mistura para servir como agente plastificante sob agitação magnética à 40 °C durante 24 h e em seguida durante 15 minutos em banho ultrassônico. Em seguida, 20 g de cada solução filmogênica foram transferidos para placas de Petri ( Ø = 9 cm) e secos em estufa de circulação a 30 °C por 48 h, esse filme foi identificado como F1. Para os demais filmes foram adicionados separadamente, 5% dos catalisadores TiO<sub>2</sub>, Ag<sub>2%</sub>/TiO<sub>2</sub> e Ag<sub>10%</sub>/TiO<sub>2</sub> (m = 0,075 g) na mesma solução filmogênica (F1) e foram identificados como, F2, F3 e F4, respectivamente.

## 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

### 4.3.1 Aspectos visuais

Os filmes foram avaliados visualmente quanto a continuidade (ausência de rupturas e fraturas após a secagem), homogeneidade (ausência de partículas insolúveis visíveis, zonas de opacidade ou de cores diferenciadas) e manuseabilidade (possibilidade de manusear o filme sem riscos de ruptura), segundo RACHTANAPUN et al. (2021).

### 4.3.2 Propriedade estrutural

Nesta análise foi utilizada a Espectroscopia na Região do Infravermelho (FT-IR). Os espectros na região do infravermelho foram obtidos empregando-se pastilhas dos materiais dispersos em KBr, na região de 4000-500  $\text{cm}^{-1}$  em espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Frontier da UTFPR – Campus de Pato Branco.

### 4.3.3 Propriedade morfológica

Para a caracterização morfológica foi utilizado um Microscópio eletrônico de varredura (MEV), VEGA 3, modelo Tescan. As amostras foram espalhadas no porta amostra sobre uma fita de carbono dupla face, posteriormente secas e metalizadas com uma fina camada de ouro na superfície ("*sputtering*"). As micrografias foram obtidas em diversos aumentos em módulo SE com detector de elétrons secundários. As análises foram realizadas na UFPR/Setor Palotina.

### 4.3.4 Propriedades físicas

As propriedades físicas dos filmes foram determinadas com base na espessura ( $\epsilon$ ), gramatura (G), densidade ( $\rho$ ) e solubilidade dos filmes. A espessura foi determinada pela média das amostras com dez medidas em posições aleatórias

usando paquímetro digital (MTX/316119). A gramatura (G) por meio da razão entre a massa do filme dividida pela respectiva área ocupada. Enquanto a densidade ( $\rho$ ) foi determinada, conforme WANG et al. (2013). Os filmes foram cortados ( $2 \times 2$  cm), pesados ( $m_0$ ) e secos ( $105$  °C) por 24 h. Após a pesagem dos filmes secos ( $m_1$ ), as amostras foram imersas em água destilada (50 mL) e agitadas em uma mesa de agitação vertical (100 rpm, 24 h,  $25$  °C). As amostras de filmes foram submetidas à secagem em estufa ( $105$  °C, 24 h) e pesadas novamente ( $m_2$ ). Então, a solubilidade em água (%) conteúdo foi calculada de acordo com a equação (1), onde  $m_1$  é o peso seco (g) e  $m_2$  é o peso após solubilização (g), segundo SGANZERLA et al. (2020).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100 \quad (1)$$

#### 4.3.5 Propriedades ópticas

A transmitância dos filmes foi avaliada nos comprimentos de onda ultravioleta (UV) (250 nm) e visível (Vis) (600 nm) (espectrofotômetro UV-Vis, Drawell, EEQ90111.UV-B). A análise foi realizada em triplicata. Os resultados foram expressos em porcentagem de transmitância (%), e então, a opacidade foi calculada de acordo com a Eq. (2) e expresso em Abs mm. Já a análise de cor foi realizada com auxílio de um colorímetro (CM-600d, Konica Minolta, Osaka, Japan), onde se obteve os parâmetros de cor CIELab  $L^*$  (luminosidade/brilho),  $a^*$  (vermelho/verde) e  $b^*$  (amarelo/azul), já o Chroma ( $C^*$ ) e ângulo de matiz ( $H^\circ$ ) foram calculados através das equações (3) e (4).

$$\text{Opacity} \left[ \frac{\text{Abs}}{\text{mm}} \right] = \frac{\text{Absorbance}_{600\text{nm}}}{\text{Thickness (mm)}} \quad (2)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3)$$

$$H^\circ = \text{tg}^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (4)$$

onde:

A diferença de cor total ( $\Delta E_{ab}$ ) dos filmes funcionalizados com  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ag}_{2\%}/\text{TiO}_2$  e  $\text{Ag}_{10\%}/\text{TiO}_2$  foi calculada de acordo com a equação (5), e o filme controle de quitosana foi usado como padrão.

$$\Delta E_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (5)$$

onde:

$$\Delta a^* = a^*_{\text{controle}} - a^*_{\text{amostra}}; \Delta b^* = b^*_{\text{controle}} - b^*_{\text{amostra}}; \Delta L^* = L^*_{\text{controle}} - L^*_{\text{amostra}}$$

#### 4.3.6 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram realizadas usando um texturômetro TA (TX2-Plus, Stable Micro Systems), de acordo com o método ASTM (ASTM, 2012).

Os filmes ( $75 \times 25$  mm) foram usados para quantificar a resistência à tração (Eq. 6), alongamento na ruptura (Eq. 7) e módulo de *Young* (Eq. 8). Antes da medição, os filmes foram balanceados por uma semana a umidade relativa de  $75 \pm 10\%$ , em dessecador com solução saturada de NaCl a  $25 \pm 2$  °C.

$$\text{Resistência à tração (MPa)} = \frac{F_{\max}}{\varphi} \quad (6)$$

$$\text{Alongamento na ruptura(\%)} = \frac{\Delta l}{l_0} \times 100 \quad (7)$$

$$\text{Módulo de Young(MPa)} = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (8)$$

onde:

$F_{\max}$  é a força máxima;  $\varphi$  é a área da seção transversal inicial;  $\Delta l$  é a razão entre o comprimento do filme no ponto de ruptura da amostra;  $l_0$  é o comprimento inicial da seção do filme;  $\sigma$  é a deformação exercida; e  $\varepsilon$  é a deformação sofrida pelo material.

#### 4.3.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Na determinação de permeabilidade foi utilizado o método gravimétrico adaptado da normativa E96-65 da ASTM (1995), este valor foi obtido através da equação (9).

$$PVA = \frac{TPVAx\varepsilon}{Ax\Delta Px \left( \frac{UR_1 - UR_2}{100} \right)} \quad (9)$$

onde:

TPVA (g) é a massa absorvida nos dias de incubação,  $\varepsilon$  (mm) é a espessura do filme, A (m<sup>2</sup>) é a área de permeabilidade, P é a pressão de saturação do vapor de água a 25 °C, UR<sub>1</sub> é a umidade relativa do sal presente no interior do dessecador e UR<sub>2</sub> a umidade relativa do CaCl<sub>2</sub> presente no interior da cápsula.

#### 4.4 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES

Os experimentos foram realizados no Laboratório Multiusuário de Pesquisa II da Universidade Federal do Paraná, Campus Avançado de Jandaia do Sul. Todo material utilizado foi previamente preparado e esterilizado em autoclave a 121 °C por 15 min e os ensaios foram conduzidos em condições assépticas (SILVA et al., 2018).

##### 4.4.1 Ensaio 1 – Teste de difusão em disco

Neste ensaio a atividade antimicrobiana dos filmes (F1, F2, F3 e F4) foi investigada pelo método de difusão em disco (Kirby-Bauer), seguindo as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). Foram utilizadas duas cepas bacterianas, sendo uma Gram-negativa (*Escherichia coli*

ATCC 25922) e outra Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Com o auxílio de uma alça bacteriológica, foram retiradas 3 alçadas de cada cepa criopreservada em glicerol e inoculadas em 5 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), em triplicata. Os tubos com o inóculo foram incubados a  $37 \pm 1$  °C por 24 horas. Transcorrido este tempo de incubação, cada suspensão bacteriana foi diluída com solução salina ( $\text{NaCl } 9 \text{ g.L}^{-1}$ ) de modo a obter uma suspensão com turbidez de 0,5 na escala de *McFarland*, correspondente a  $1-2 \times 10^8 \text{ UFC.mL}^{-1}$  (SGANZERLA et al., 2020). Após, cada suspensão bacteriana foi homogeneizada em vórtex e inoculada, com o auxílio de um swab, em placas com ágar Müller-Hinton, espalhando de forma suave sobre a superfície do ágar em cinco direções diferentes e aguardado 15 min para que o meio absorvesse completamente o inóculo. Com auxílio de uma pinça metálica, discos de 6 mm de cada um dos filmes (F1, F2, F3 e F4) foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do ágar, exercendo leve pressão com as costas da pinça, mantendo-se uma distância de aproximadamente 2-3 cm entre os discos. Utilizou-se como controle negativo discos com água destilada (20  $\mu\text{L}$ ) e como controle positivo discos com cloranfenicol (30  $\mu\text{g}$ ). O teste foi realizado em triplicata, para cada cepa bacteriana. As placas foram incubadas em estufa a  $35 \pm 1$  °C por 24 horas e os halos de inibição foram medidos com auxílio de paquímetro.

Para verificar a pureza e integridade do inóculo foi efetuado um teste de coloração de Gram, conforme descrito por SILVA et al. (2018). Para tanto, foi realizado um cultivo em ágar PCA e, a partir de colônias isoladas, foi obtido o esfregaço de cada bactéria (*E. coli* e *S. aureus*) em lâminas microscópicas, em triplicata. Após a fixação do esfregaço na lâmina, as bactérias foram coradas com cristal violeta (Gram-positivas) e com safranina (Gram-negativas). As lâminas foram deixadas secar ao ambiente e a seguir foram observadas no microscópio óptico com aumento de 1000 vezes.

#### 4.4.2 Ensaio 2 – Teste de inativação

Neste ensaio a atividade antimicrobiana dos filmes (F1, F2, F3 e F4) foi investigada empregando-se o princípio do método de lavagem, aplicado na coleta de

amostras de superfícies (SILVA et al., 2018), com adaptações. Para tanto, foi preparada uma suspensão bacteriana de cada cepa em caldo BHI para ser utilizada como inóculo nos testes. A seguir, 10 µL do inóculo foi dispensado cuidadosamente sobre a superfície de cada filme (1 cm<sup>2</sup>). Transcorridos 240 min de repouso em temperatura ambiente (25 °C), cada filme foi lavado com 10 mL de água peptonada 0,1% sob agitação em vórtex por 30 seg. A seguir, foram preparadas diluições seriadas em 9 mL de água peptonada 0,1% até a diluição 10<sup>-6</sup> e realizou-se o plaqueamento de cada diluição para contagem do número de bactérias remanescentes em cada filme.

A contagem de *E. coli* foi determinada por semeadura em superfície em placas com ágar MacConkey sorbitol, após incubação a 37 °C por 24 h (HWANG; HUANG, 2018). A contagem de *S. aureus* foi determinada utilizando ágar Baird-Parker suplementado com emulsão telurito gema de ovo, semeadura em superfície e incubação das placas a 37 °C por 48 h (ZOCHE et al., 2012). Os resultados foram expressos em logaritmo decimal do número de unidades formadoras de colônias por unidade de área superficial (log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup>).

#### 4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos os dados obtidos no experimento foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA), e a diferença entre as médias foi verificada pelo teste de *Tukey* ( $p < 0,05$ ), utilizando o software Statistica® (StatSoft Inc., versão 10.0, Tulsa, OK, EUA).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES

#### 5.1.1 Aspectos visuais

A partir do desenvolvimento dos filmes incorporados com quitosana, realizou-se a avaliação visual, por imagem, com base nos parâmetros de continuidade, homogeneidade e manuseabilidade, conforme Tabela 2.

TABELA 2 – AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS VISUAIS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA

Ensaio	Continuidade	Homogeneidade	Manuseabilidade
F1	***	***	***
F2	***	**	***
F3	***	.	***
F4	***	**	***

FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Nota: \*\*\* excelente, \*\* boa, . deficiente.

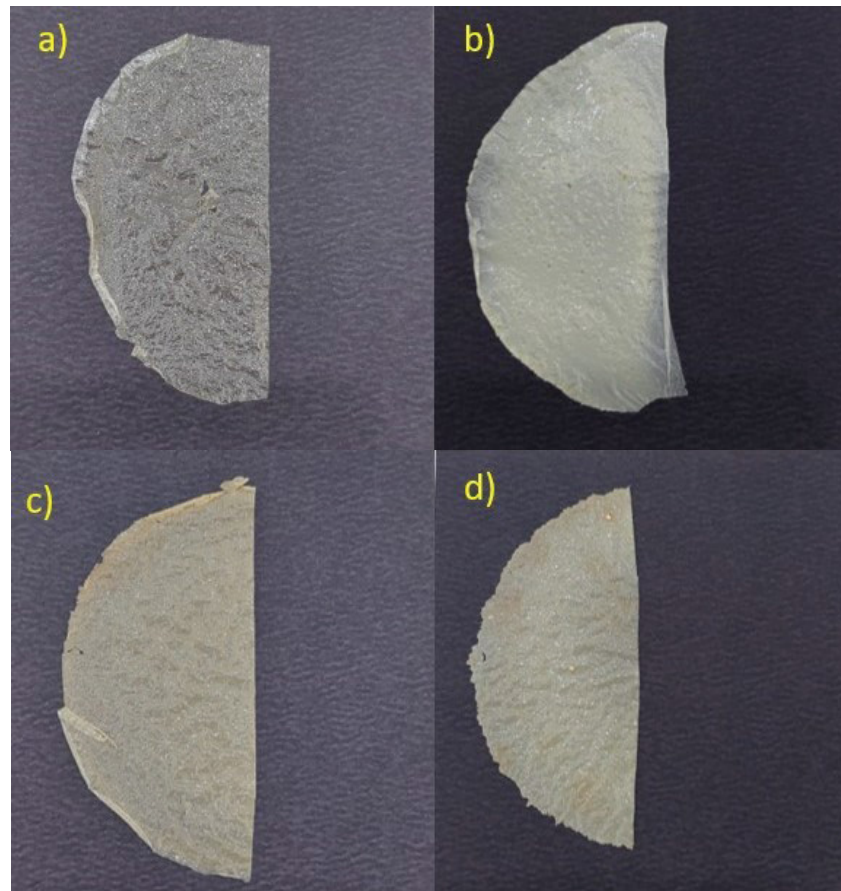
Todos os filmes apresentaram excelentes resultados para continuidade e manuseabilidade, de acordo com a análise visual. Enquanto para a homogeneidade, o filme F1 apresentou excelente resultado, F2 e F4 bons resultados e F3 deficiente. Essa insuficiência em F3, provavelmente deve-se ao fato do filme possuir algumas partículas insolúveis presentes.

Os filmes de quitosana com prata (F3 e F4) apresentaram pontos cinzentos granulados com aspecto opaco, diferentemente dos filmes F1 e F2 que se mostraram levemente translúcidos.

RACHTANAPUN et al. (2021), também desenvolveram filmes à base de quitosana e incorporados com extrato de cúrcuma, e eles apresentaram homogeneidade e ausência de partículas insolúveis. Enquanto BUENO et al. (2021), ao analisar filmes compostos por quitosana, zeína e álcool polivinílico, concluíram que em filmes cujo teor de quitosana e zeína foram maiores, houve maior rugosidade, presença de glóbulos acumulados e, também heterogeneidade.

Resultados semelhantes foram encontrados por FARIAS (2016) ao analisar filmes de amido de polpa de acerola elaborados pela técnica de *casting*. DIAS (2008), ao analisar filmes feitos com amido de arroz adicionado de glicerol observou que os filmes apresentaram excelente ou boa manuseabilidade. A formulação F1 apresentou os melhores resultados em todos os parâmetros analisados, quando comparados aos demais. Na Figura 4 foi possível observar os filmes desenvolvidos.

FIGURA 4 – FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA



FONTE: o Autor (2022).

LEGENDA: Imagens dos filmes incorporados com quitosana: a) F1, b) F2, c) F3 e d) F4.

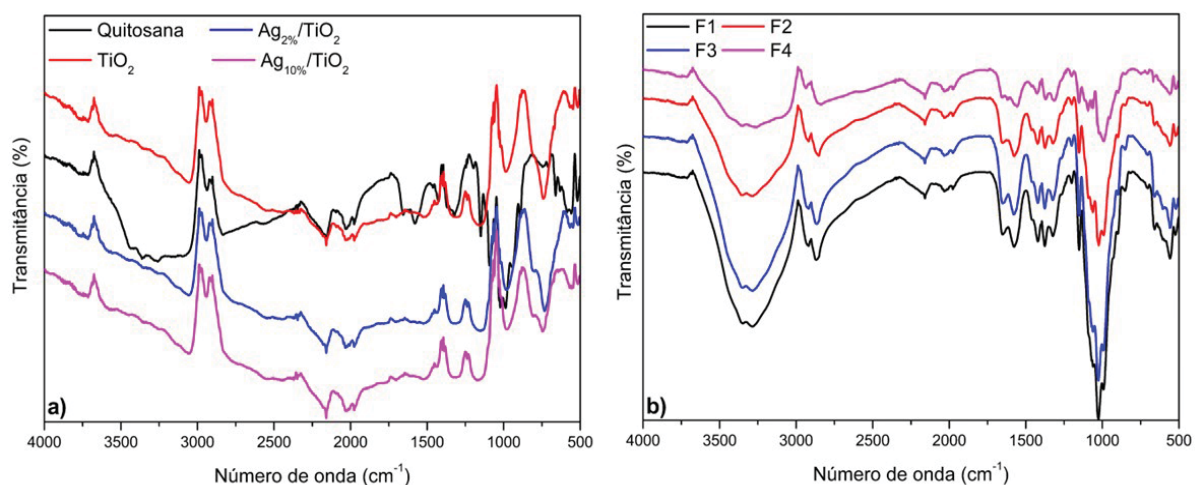
### 5.1.2 Propriedade estrutural

Na Figura 5 estão apresentados os espectros FT-IR, sendo (a) quitosana, titânia e óxidos mistos e (b) dos filmes. No espectro (a) as bandas características do  $\text{TiO}_2$  foram identificadas em  $570 \text{ cm}^{-1}$  e atribuída à ligação de oxigênio e titânio (Ti-

O-Ti) (ALSHARAEH et al., 2017; SAFAEI; TARAN, 2017) nota-se um pequeno ombro em  $1638\text{ cm}^{-1}$ , em relação aos modos de desdobramento da água e Ti-OH (CHELLI et al., 2018; LEÓN et al., 2017), e na região de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , a banda larga refere-se à vibração de estiramento do grupo OH (LEÓN et al., 2017). A banda em  $1383\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída à fase anatase da titânia (NARAYANA et al., 1998). Em relação a incorporação de prata no suporte de titânia não foi observada nenhuma banda como resposta à ligação Ag-TiO<sub>2</sub>.

Nos espectros (b), nota-se novas bandas obtidas bem diferentes daquelas do óxido puro (TiO<sub>2</sub>) e mistos com prata (espectros a), onde foi possível determinar a presença de banda larga na região entre  $3570$  e  $3220\text{ cm}^{-1}$ , correspondendo a vibrações de deformação axial dos grupos O-H (ELLENDERSEN et al., 2018; MEYDANJU et al., 2022; LINA et al., 2020; XAVIER et al., 2021) e N-H (ELLENDERSEN et al., 2018) e outras em  $2980$ - $2840\text{ cm}^{-1}$  equivalente ao grupo C-H (ELLENDERSEN et al., 2018; XAVIER et al., 2021). A região entre  $1520$  e  $1750\text{ cm}^{-1}$  é devido a presença dos grupos funcionais C=O e N-H da quitosana, também presentes no espectro (a) curva em preto (ELLENDERSEN et al., 2018; LINA et al., 2020; XAVIER et al., 2021). Assim como nos filmes (espectros b) e quitosana (a) bandas correspondentes a ligação C-O da quitosana em  $1022$  e  $1072\text{ cm}^{-1}$  foram observadas.

FIGURA 5 – ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FT-IR)



FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: (a) Espectro FT-IR das amostras TiO<sub>2</sub> (curva em vermelho), quitosana (curva em preto), Ag<sub>2%</sub>/TiO<sub>2</sub> (curva em azul) e Ag<sub>10%</sub>/TiO<sub>2</sub> (curva em rosa).

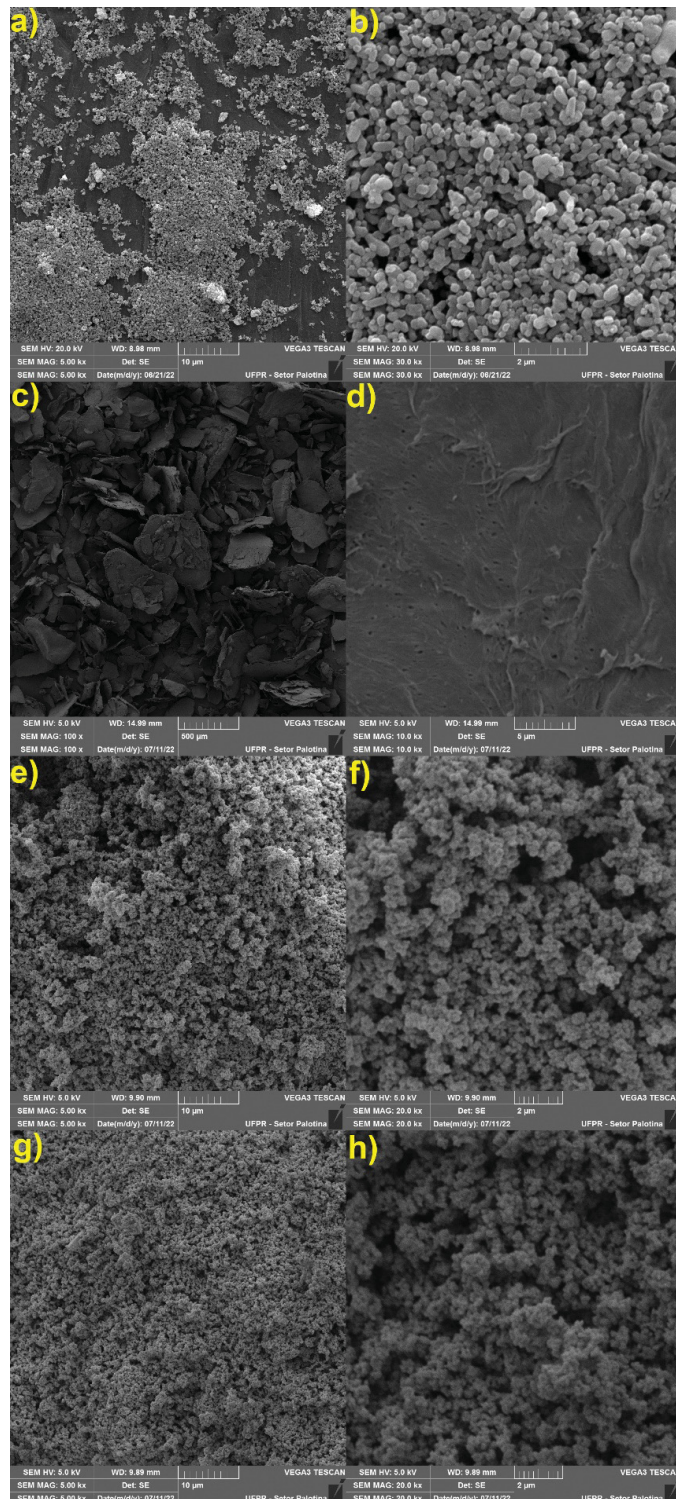
### 5.1.3 Propriedade morfológica

Em relação as propriedades morfológicas dos óxidos e filmes, estas foram avaliadas a partir das micrografias obtidas pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figuras 6 e 7), respectivamente.

Pela Figura 6, nota-se que a micrografia de  $\text{TiO}_2$  (b) exibe um aspecto homogêneo de partículas arredondadas em toda a superfície do material. À medida que é incorporado prata nos óxidos (2% e 10%), (f) e (h), respectivamente, a morfologia dos materiais são modificadas, passando para um aglomerado esponjoso. Nota-se também, nas micrografias de quitosana (c) e (d) que a superfície se apresenta como um material poroso e/ou rugoso, aspecto este semelhante ao observado por BERNARDI et al. (2018).

Em relação as micrografias dos filmes (Figura 7), nos filmes F1 e F2, eles se mostraram homogêneo e com superfície contínua, assim como encontrado por INDRIYATI et al. (2021), que relatou uma maior homogeneidade em filmes incorporados com quitosana. Já quando a prata é adicionada, nota-se que nos filmes F3 e F4, as rugas começaram a aparecer na superfície do filme, ou seja, pequenas rachaduras uniformes, permitindo visualizar claramente partículas maiores formadas pela aglomeração de  $\text{Ag-TiO}_2$ , aspecto semelhante foi visto por MEYDANJU et al. (2022).

FIGURA 6 – MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS MATERIAIS

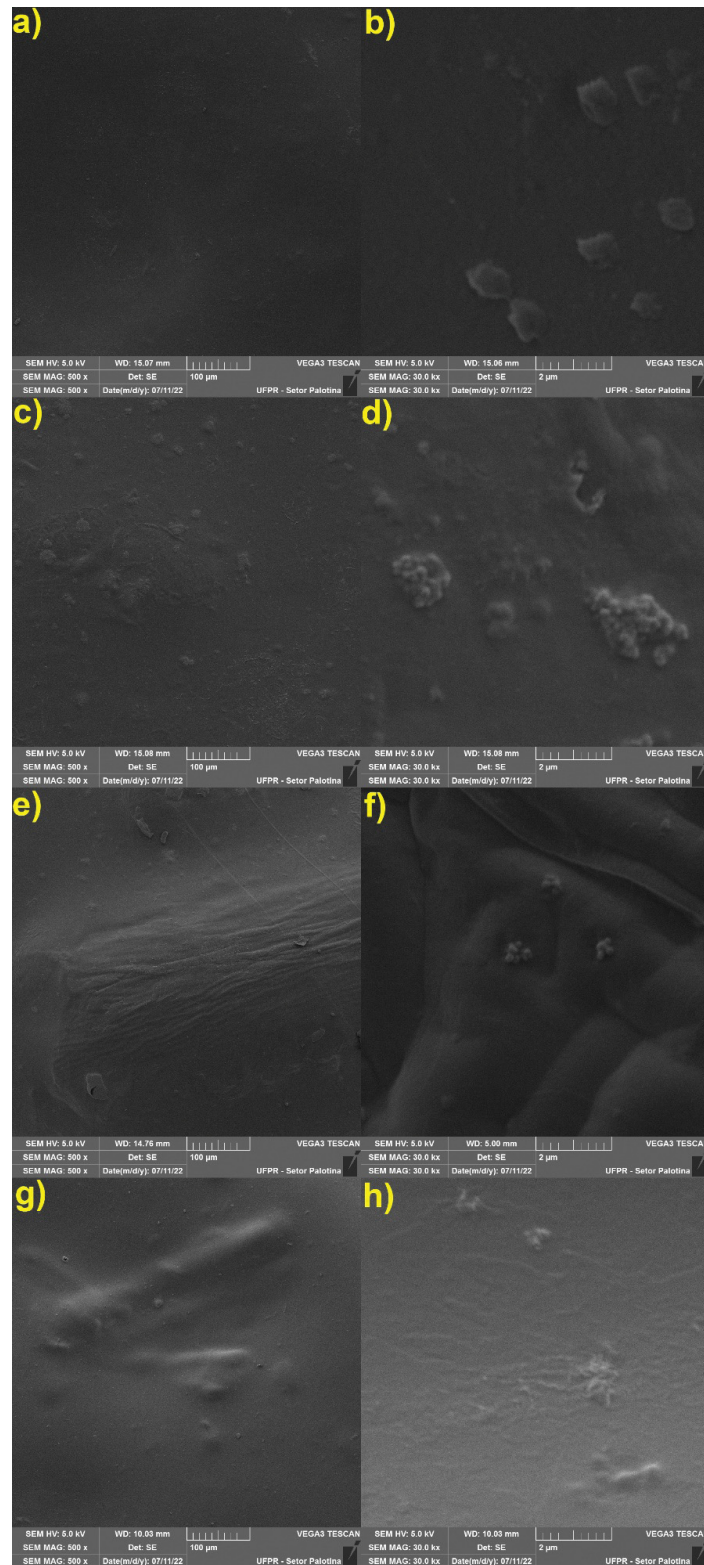


FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Micrografias eletrônicas de varredura dos materiais: a) e b) TiO<sub>2</sub>;

c) e d) quitosana; e) e f) Ag<sub>2</sub>%/TiO<sub>2</sub>; g) e h) Ag<sub>10</sub>%/TiO<sub>2</sub>.

FIGURA 7 – MICROGRAFIAS ELETRÔNICAS DE VARREDURA DOS FILMES



FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Micrografias eletrônicas de varredura dos filmes incorporados com quitosana: a) e b) F1; c) e d) F2; e) e f) F3; g) e h) F4.

#### 5.1.4 Propriedades físicas

Em termos de propriedades físicas, os filmes foram caracterizados quanto a espessura (mm), gramatura ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), densidade ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) e solubilidade (%), conforme expresso no gráfico 2.

Segundo SOBRAL (2000), a espessura de filmes é uma propriedade complexa em processos do tipo “*casting*” devido à dificuldade tanto no controle da relação de massa quanto à remoção deles da superfície nos quais estão aderidos. Além disso, a determinação desta propriedade contribui para o controle da uniformidade e repetibilidade do processo, e também na resistência mecânica e nas propriedades de barreira ao vapor d’água do material. Neste sentido, pode-se observar, no presente estudo que os filmes foram estatisticamente similares ( $p \leq 0,05$ ), em relação a todas as propriedades físicas analisadas no gráfico 2.

No gráfico 2 (a) observa-se os valores médios de espessura que garantem boas características mecânicas aos filmes. Esse resultado é comprovado com a análise de manuseabilidade (Tabela 2), que demonstrou que todas as formulações não se romperam ao serem manuseadas, ou seja, o plastificante (glicerol), interferiu significativamente na flexibilidade dos filmes.

O filme F2 foi o mais espesso entre eles, no entanto quando comparado o efeito da adição de prata, teve um aumento significativo entre os filmes F3 e F4, resultados semelhantes foram relatados por MEYDANJU et al. (2022).

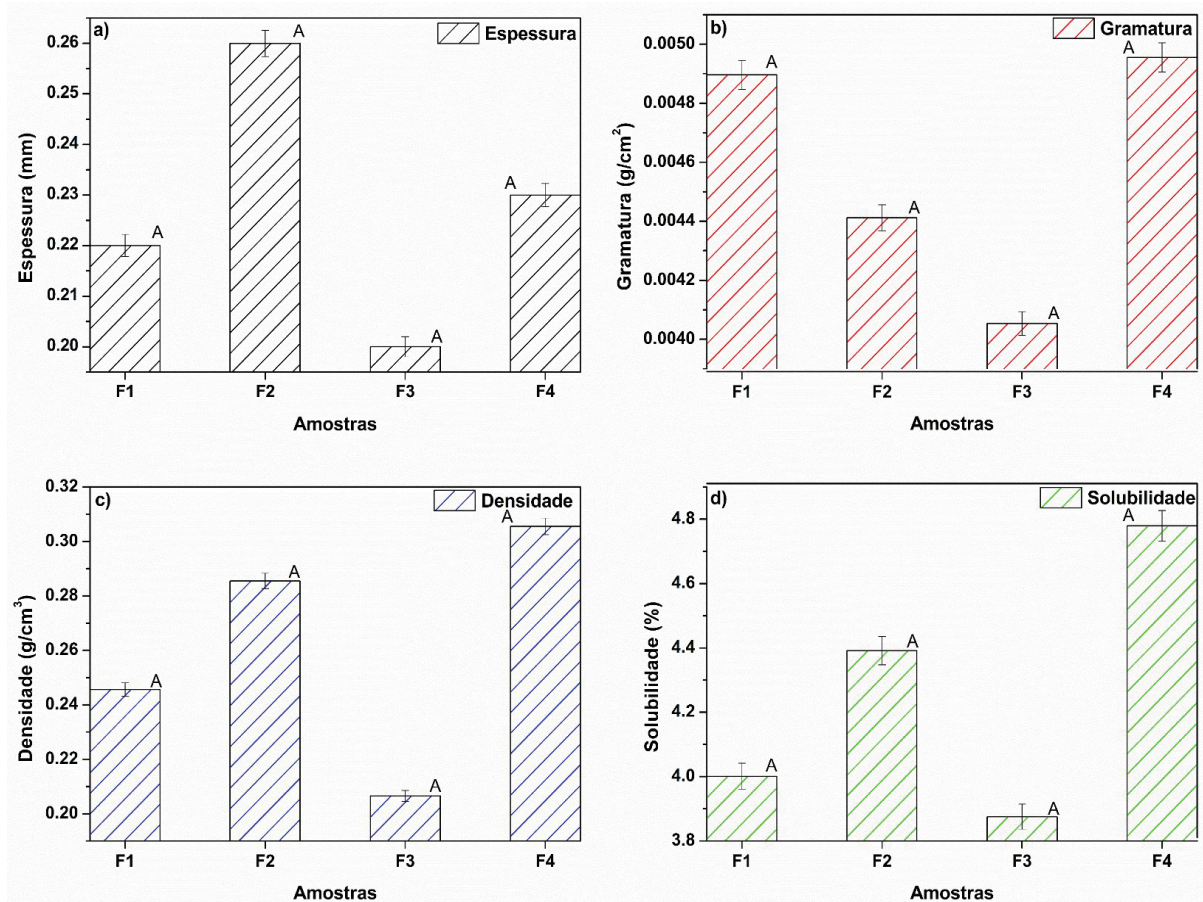
Os parâmetros gramatura e densidade estão diretamente interligados e relacionados à resistência mecânica dos filmes (HENRIQUE et al., 2008). Desta forma, pode-se notar que o filme F4 se diferenciou dos demais, indicando que este pode ser mais resistente frente aos outros filmes, quanto maior a gramatura maior será a resistência mecânica.

A solubilidade dos filmes é um parâmetro fundamental e está ligada as interações intermoleculares entre os seus componentes em termos de hidroflicidade e hidrofobicidade (FERNANDES, 2014; YADAV et al., 2020). A solubilidade pode variar por estar relacionada ao grau de desacetilação da quitosana utilizada, onde um aumento da solubilidade é provocado com o aumento dos grupos aminos livres (CHAN-MATÚ et al., 2021; JAHED et al., 2017)

Quanto à solubilidade, os filmes mantiveram sua integridade após a imersão em água durante 24 horas, o que indica que a rede proteica se manteve intacta. A solubilidade dos filmes produzidos à base de quitosana, apresentam valores inferiores aos da maioria dos biofilmes proteicos relatados na literatura, como por exemplo, filmes à base de proteínas miofibrilares de sardinha, com solubilidade na faixa de 33% a 47% (CUQ et al., 1996); de concentrado proteico de arroz, com 35,3% a 76,4% de solubilidade (SHIH, 1996); de isolado protéico de soro de leite, com valores acima de 50% (FAILEY et al., 1996); de isolado protéico de soja, com solubilidade na faixa de 26,8% a 39,4% (KUNTE et al., 1997) e glúten de trigo, com valores de 31,5% a 100% (GONTARD, 1991). O filme F4 apresentou a maior solubilidade frente aos demais materiais.

Esta variação do percentual de solubilidade nos filmes auxilia na sua aplicabilidade porque filmes com elevada solubilidade podem ser usados como embalagens comestíveis, porções de ingredientes ou aditivos alimentares a serem dispersos, encapsulação de alimentos, entre outros. Assim como filmes com baixa solubilidade, podem ser aplicados em vários alimentos e processos (FARIAS et al., 2012).

GRÁFICO 2 – RESULTADOS DAS PROPRIEDADES FÍSICAS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA



FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Resultados das propriedades físicas dos filmes incorporados com quitosana: a) Espessura; b) gramatura; c) densidade; d) solubilidade. Os resultados são as médias das cinco repetições com as respectivas estimativas de desvio padrão. Letras maiúsculas diferentes representam uma diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) [ANOVA e teste de Tukey].

### 5.1.5 Propriedades ópticas

Na Tabela 3 constam os resultados de transmitância e opacidade dos filmes, os quais são inversamente proporcionais, pois quanto maior a transmitância de um filme, menor a opacidade.

As propriedades físicas e ópticas têm relação direta, visto que filmes mais espessos tendem a ser mais opacos, enquanto filmes com baixos valores de

opacidade são mais finos e transparentes (MALI et al., 2004). A transparência de um filme é um parâmetro importante na avaliação do seu uso (CERQUEIRA, 2012).

Segundo RIGO (2006), a opacidade é influenciada pela concentração de polissacarídeo, de glicerol e suas interações, bem como o efeito de diluição provocado pelo plastificante. Enquanto CERQUEIRA (2012) afirma que a concentração de quitosana é o fator que está diretamente relacionado a opacidade de um filme, seguido pela concentração de plastificante, onde um aumento de quitosana permite a formação de uma rede de polímero mais forte e mais opaco, enquanto em elevados teores de glicerol, há um aumento do volume livre da rede polimérica que irá diminuir a opacidade e ocasionar em uma maior penetração de luz.

A cor pode ser considerada um importante parâmetro de caracterização dos filmes, pois está associada com a matéria-prima utilizada na elaboração dos mesmos (VICENTINI, 2003). A análise de variância mostrou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos, em todos os parâmetros de cor (Luminosidade,  $a^*$  e  $b^*$ ) e confirmada pelo teste de *Tukey* (Tabela 3). Como apresentado nas análises visuais, a superfície dos filmes, com a adição de prata e no teste de opacidade (Tabela 3) produziu materiais mais opacos, afetando a cor, resultando em filmes mais escuros para F3 e F4, resultados semelhantes foram observados por YASSUE-CORDEIRO et al. (2015).

Os valores de  $L^*$  indicam a luminosidade na faixa de 100 (branco) a zero (preto), que o diferencia em claro e escuro. Os filmes apresentaram variação entre 83,50 a 96,85, mostrando diferença de 13,8%, indicando filmes com coloração intermediária. De modo geral, houve uma reduzida luminosidade entre os filmes, que pode estar associada à alta concentração das moléculas na matriz do biofilme, em que foram adicionados 5 g de soluto na solução filmogênica.

O  $a^*$  indica a variação de cor do verde (- 60) ao vermelho (+ 60). Os filmes F3 e F4 mostraram respectivamente variação de 1,96 a 4,54 entre os tratamentos, com valores positivos, indicativo para o componente vermelho, com diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) e confirmado pelo teste de *Tukey*. Enquanto os filmes F1 e F2 mostraram variação de 0,55 a 0,57 entre os tratamentos, com valores negativos, indicativo para o componente verde, sem diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Os valores obtidos do  $b^*$  estão relacionados com variação das cores do azul (- 60) a amarelo (+ 60). Os resultados obtidos mostraram variação entre 6,01 à 23,38, com diferença de 74,3%, com valores positivos para o componente amarelo. Os maiores valores do  $b^*$  foram observados nos filmes com adição de prata, influenciada pela sua coloração amarelada.

TABELA 3 – PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS FILMES INCORPORADOS COM QUITOSANA

Parâmetros	L*	a*	b*	C*	H°	$\Delta E_{ab}$	T <sub>250nm</sub> (%)	T <sub>600nm</sub> (%)	Opacidade (Abs/mm)
<b>F1</b>	96,14 ± 0,60 <sup>A</sup>	-0,55 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,01 ± 0,16 <sup>A</sup>	6,03 ± 0,16 <sup>A</sup>	1,48 ± 0,01 <sup>C</sup>	-	0,24 ± 0,01 <sup>B</sup>	76,70 ± 0,03 <sup>B</sup>	5,93 ± 0,31 <sup>A</sup>
<b>F2</b>	96,85 ± 0,10 <sup>A</sup>	-0,57 ± 0,01 <sup>A</sup>	11,51 ± 0,22 <sup>B</sup>	11,52 ± 0,22 <sup>B</sup>	1,52 ± 0,01 <sup>D</sup>	5,65 ± 0,05 <sup>A</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>A</sup>	30,50 ± 0,07 <sup>A</sup>	14,25 ± 2,28 <sup>B</sup>
<b>F3</b>	83,50 ± 0,14 <sup>B</sup>	4,54 ± 0,04 <sup>C</sup>	23,38 ± 0,24 <sup>D</sup>	23,82 ± 0,25 <sup>D</sup>	1,38 ± 0,01 <sup>A</sup>	22,08 ± 1,58 <sup>C</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>A</sup>	21,40 ± 0,01 <sup>A</sup>	18,00 ± 3,13 <sup>B</sup>
<b>F4</b>	89,58 ± 0,38 <sup>C</sup>	1,96 ± 0,19 <sup>B</sup>	13,88 ± 0,57 <sup>C</sup>	14,01 ± 0,60 <sup>C</sup>	1,43 ± 0,07 <sup>B</sup>	10,55 ± 0,99 <sup>B</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>A</sup>	17,80 ± 0,05 <sup>A</sup>	28,14 ± 4,00 <sup>C</sup>

FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Letras maiúsculas diferentes em cada coluna representam uma diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) [ANOVA e teste de Tukey].

### 5.1.6 Propriedades mecânicas

Os resultados de resistência à tração, módulo de *Young* e alongamento são apresentados na Tabela 4. De maneira geral, com a adição de TiO<sub>2</sub> e Ag, a resistência à tração e o módulo de Young nos filmes diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) frente a amostra F1(100% quitosana), sendo que o filme F3 apresentou os menores valores. O filme F4, com maior concentração de prata, teve o menor valor de alongamento na ruptura, diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) entre os demais filmes. A razão para isso é devido ao comportamento antiplasticidade do TiO<sub>2</sub> –Ag, o que reduz o alongamento nas amostras, reduzindo o volume livre entre as cadeias poliméricas e conseqüentemente reduzindo a flexibilidade do filme (MEYDANJU et al., 2022). De acordo com ALMEIDA et al. (2022), filmes com baixa flexibilidade apresentam alto módulo de Young, ou seja, maior resistência à deformação e rigidez, a amostra F1 (100% quitosana), aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais filmes, apresentou o maior módulo de *Young*, indicando baixa flexibilidade.

TABELA 4 – PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES DE QUITOSANA

Filmes	Resistência à tração (MPa)	Módulo de Young (MPa)	Alongamento na ruptura (%)
F1	17,83 ± 3,55 <sup>a</sup>	34,21 ± 0,45 <sup>a</sup>	90,23 ± 2,06 <sup>a</sup>
F2	12,73 ± 2,48 <sup>b</sup>	30,82 ± 1,89 <sup>b</sup>	93,56 ± 3,14 <sup>a</sup>
F3	10,51 ± 2,72 <sup>b</sup>	27,18 ± 2,36 <sup>b</sup>	94,07 ± 1,18 <sup>a</sup>
F4	13,59 ± 1,64 <sup>b</sup>	31,26 ± 1,65 <sup>b</sup>	56,29 ± 3,94 <sup>b</sup>

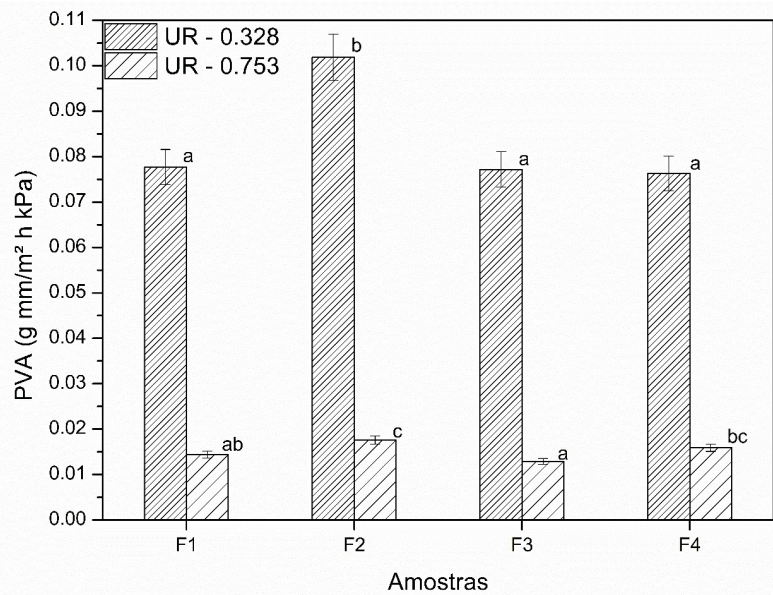
FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Os resultados são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes em cada coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*.

### 5.1.7 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Em termos da permeabilidade ao vapor de água, realizou-se as análises considerando a taxa de permeabilidade, a espessura e a área do filme (gráfico 3).

GRÁFICO 3 – PERMEABILIDADE DE VAPOR DE ÁGUA DOS FILMES



FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os filmes a 33% de umidade relativa. Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença significativa entre os filmes a 75% de umidade relativa pelo teste *Tukey* ( $p \leq 0,05$ ).

De acordo com PAREKH (2010), a permeabilidade ao vapor de água pode ser classificada em barreira fraca, entre 0,4 e 4,2 g mm m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup>, barreira moderada, de 0,004 a 0,4 g mm m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup> e boa barreira, entre 0,0004 e 0,004 g mm m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup>.

No gráfico 3, observou-se os valores de 0,076 a 0,102 g mm m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup> para PVA a 33% de umidade relativa (MgCl<sub>2</sub>), ou seja, os filmes foram considerados uma barreira moderada contra o vapor de água. Onde a incorporação de quitosana ocasionou uma diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre o filme F2 desenvolvido.

Em relação a PVA a 75% de umidade relativa (NaCl) houve variação de 0,013 a 0,018 g mm m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup> kPa<sup>-1</sup>. Sendo que em todos os tratamentos houve diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre os filmes. O filme F3 teve a menor permeabilidade em relação aos demais filmes, enquanto o filme F2 apresentou a maior permeabilidade.

A taxa de permeabilidade ao vapor de água é influenciada pela natureza hidrofílica ou hidrofóbica do material. Pelo gráfico 3, nota-se como resultado da incorporação de Ag na matriz polimérica da quitosana, que a permeabilidade é significativamente reduzida, resultado este considerado positivo.

A PVA também diminui à medida que o tamanho de partícula diminui em filmes devido a caminhos complexos para a passagem da água através da

matriz polimérica. No entanto, esse efeito positivo pode ser reduzido se as partículas aglomerarem durante a formação do biopolímero. Pesquisa semelhante foi realizada por NAWAB et al. (2016), FONSECA-GARCÍA et al. (2020) e MEYDANJU et al. (2022) sobre o efeito de nanopartículas e plastificantes e outros aditivos na solubilidade e permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis. Essas informações parciais confirmam os resultados do presente estudo, quando se adicionou Ag nos filmes de quitosana.

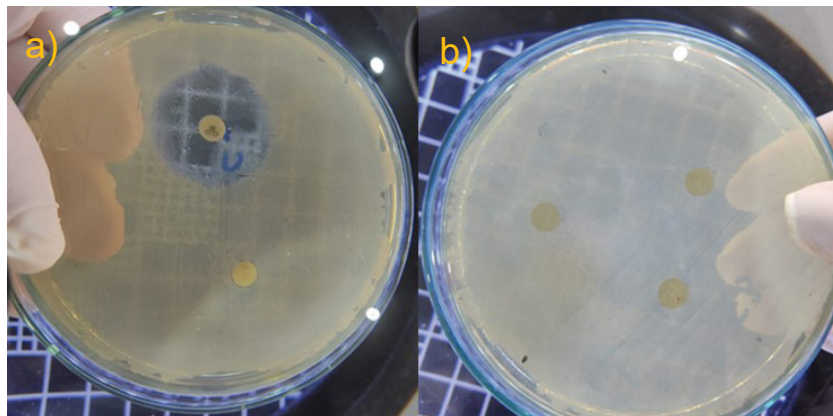
## 5.2 TESTE DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS FILMES

### 5.2.1 Ensaio 1 – Teste de difusão em disco

No teste de difusão em disco, para os controles positivos, foram obtidos halos de inibição de  $28,0 \pm 0,2$  mm para *E. coli* e de  $27,0 \pm 0,2$  mm para *S. aureus*, evidenciando sensibilidade das cepas bacterianas frente ao agente antimicrobiano (cloranfenicol 30 µg) utilizado nos testes (CLSI, 2018).

Para os filmes (F1, F2, F3 e F4), não foi verificada a formação de halos de inibição frente as cepas bacterianas avaliadas (Figura 8b). Este resultado não permite afirmar que os filmes não exercem atividade antimicrobiana, contudo pode-se associar a ausência de halos de inibição a uma baixa solubilidade e/ou baixa taxa de difusão dos componentes dos filmes para o ágar tendo em vista que o método tem por princípio a difusão do antimicrobiano em meio sólido.

FIGURA 8 – FORMAÇÃO DOS HALOS DE INIBIÇÃO E AUSÊNCIA DE HALO



FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Formação dos halos de inibição no controle positivo (a) e ausência de halo nos filmes (b).

Por meio da técnica de coloração de Gram foi possível verificar as características típicas das bactérias, sendo no caso do *S. aureus*, a presença de cocos gram-positivos corados em violeta, com formato esférico e agrupamento como cachos de uvas e, no caso de *E. coli*, a presença de bastonetes gram-negativos corados em vermelho (PELCZAR et al., 1996), comprovando, assim, a pureza e integridade dos inóculos empregados.

### 5.2.2 Ensaio 2 – Teste de inativação

Os resultados das concentrações de *E. coli* e *S. aureus* inoculadas e obtidas para cada um dos filmes (F1, F2, F3 e F4), após 240 min de contato, são apresentados na Tabela 5.

TABELA 5 – CONCENTRAÇÃO DE *E. COLI* E *S. AUREUS* INOCULADA E REMANESCENTE NOS FILMES APÓS 240 min. DE CONTATO.

Concentração	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
	Log <sub>10</sub> UFC/cm <sup>2</sup>	Log <sub>10</sub> UFC/cm <sup>2</sup>
Inoculada	6,25 ± 0,15 <sup>a</sup>	5,06 ± 0,08 <sup>b</sup>
F1	6,58 ± 0,06 <sup>a</sup>	5,65 ± 0,04 <sup>a</sup>
F2	6,70 ± 0,04 <sup>a</sup>	5,85 ± 0,03 <sup>a</sup>
F3	4,29 ± 0,19 <sup>b</sup>	5,33 ± 0,08 <sup>b</sup>
F4	3,73 ± 0,10 <sup>c</sup>	4,64 ± 0,12 <sup>c</sup>

FONTE: O Autor (2022).

LEGENDA: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste de *Tukey*.

Os resultados obtidos no ensaio 2 evidenciaram que os filmes F1 e F2 não apresentaram efeito bactericida frente a *E. coli*, porém podem ter exercido efeito bacteriostático, tendo em vista que não houve aumento significativo no número de bactérias em 240 min de repouso. Por outro lado, os filmes F3 e F4, contendo prata em sua composição, apresentaram efeito bactericida frente a *E. coli*, sendo que o F4 (com maior proporção de prata) foi mais efetivo, tendo inativado 40,4% do número de bactérias inicialmente presentes, com tempo de contato de 240 min. Contudo, frente a *S. aureus*, somente o F4 evidenciou efeito bactericida, com inativação de 8,2% das bactérias no mesmo período de tempo de contato. Nos filmes F1 e F2, na

ausência de atividade antibacteriana frente a *S. aureus*, verificou-se inclusive um aumento do número de bactérias após 240 min de repouso.

Assim, observa-se que a prata é um componente fundamental para a atividade antimicrobiana dos filmes, sendo que o aumento na concentração deste componente, reflete em aumento no efeito antibacteriano. Os resultados mostram, ainda, que a atividade antibacteriana foi influenciada pelo tipo de microrganismo, sendo mais efetiva frente às bactérias Gram-negativas, como é o caso da *E. coli*, do que frente a bactérias Gram-positivas, como o *S. aureus*.

KIM et al. (2007) verificaram maior eficiência bactericida de nanopartículas de prata para *E. coli* do que para *S. aureus*, corroborando com os resultados do presente estudo, e atribuíram esse comportamento as diferenças na estrutura da parede celular entre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. As bactérias Gram-negativas têm uma camada externa de lipopolissacarídeos, que pode dificultar a adesão das nanopartículas de prata e a sua penetração na célula bacteriana. Por outro lado, a camada grossa de peptidoglicano nas bactérias Gram-positivas pode dificultar a liberação de íons de prata e a sua entrada na célula bacteriana.

RUPARELIA et al. (2008), ao conduzir estudos de crescimento com diferentes culturas microbianas na presença de nanopartículas de cobre e prata, observou que o tipo de microrganismo bem como a concentração microbiana inicial influenciam na atividade antimicrobiana e que pode haver diferenças, ainda, entre as cepas de uma mesma espécie.

O mecanismo de ação da prata não está completamente elucidado, contudo existem algumas hipóteses para explicar a sua atividade antibacteriana. Uma das hipóteses propostas é que as partículas de prata interagem com a membrana celular, interferindo na permeabilidade da membrana tornando-a porosa, o que causa a perda de conteúdo intracelular, levando a morte celular. Ainda, as partículas podem passar pelos poros da membrana, resultando na sua difusão no interior da célula onde se ligam a proteínas e enzimas, inativando a replicação do DNA celular (URNUKHSAIKHAN et al., 2021; RUPARELIA et al., 2008). Outra hipótese é que íons prata ( $Ag^+$ ) liberados no meio facilitam a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais provocam a morte celular devido a inativação da replicação do DNA e da produção de ATP (URNUKHSAIKHAN et al., 2021).

## 6 CONCLUSÃO

De acordo com as propriedades visuais, estruturais, morfológicas, físicas, ópticas, de barreira e mecânicas os filmes produzidos com quitosana a base de prata, apresentaram características promissoras para atuarem como filmes ativos com propriedade antimicrobiana. Destaca-se o filme F4, com maior concentração de prata, o efeito bactericida frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, aproximadamente 8 e 40%, respectivamente de inativação. Portanto, ao incorporar características antimicrobianas em materiais com propriedades autolimpantes é uma abordagem eficaz para impedir a propagação de bactérias e outros microrganismos nas superfícies de edifícios, e pode ser utilizada como uma tática preventiva para conter a disseminação de patógenos em ambientes urbanos.

## 7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Estudar as características antimicrobianas com adição de quitosana, prata e titânia, em diversos materiais construtivos;
- b) Realizar um estudo sobre o processo de produção desses materiais autolimpantes, como: revestimentos cerâmicos, tintas, vidros, rejuntas, entre outros;
- c) Ampliar a escala de aplicação de catalisadores nesses produtos;
- d) Tornar os materiais construtivos mais sustentáveis, melhorando a qualidade de vida das pessoas.

## REFERÊNCIAS

- AHMAD, R.; SARDAR, M. **TiO<sub>2</sub> nanoparticles as an antibacterial agent against *E. coli***. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. Nova Deli, p. 3569-3574. 8 ago, 2013.
- AKBARI, H.; POMERANZ, Y.; TAHA, H.; LIU, Y. **Sustainable construction materials**: Clean and durable surfaces. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 57, 1436-1448, 2016.
- ALMEIDA, A. R.; MACIEL, M. V. O. B.; MACHADO, M. H.; SGANZERLA, W. G.; TEIXEIRA, G. L.; DA ROSA, C. G.; BLOCK, J. M.; NUNES, M. R.; BARRETO, P. L. M. **Production of chitosan and poly (vinyl alcohol) films functionalized with hop extract (*Humulus lupulu L. var. Cascade*) for food packaging application**. Food Packaging and Shelf Life 32, 100833, 2022.
- ALSHARAEH, E. H.; BORA, T.; SOLIMAN, A.; AHMED, F.; BHARATH, G.; GHONIEM, M. G.; ABU-SALAH, K. M.; DUTTA, J.; DEBECKER, D. P. **Sol-Gel-Assisted Microwave-Derived Synthesis of Anatase Ag/TiO<sub>2</sub> /GO Nanohybrids toward Efficient Visible Light Phenol Degradation**. Catalysts 2017, 7 (133), 1–11, 2017.
- ANTON, L.; BRAGA, N. **Nanopartículas de TiO<sub>2</sub>: síntese pelo método sol-gel e técnicas de caracterização**. Scientia Amazonia, v.4, n.2, 36-59. 20 ago, 2015.
- ARANAZ, I.; ALCANTARA, A.R.; CIVERA, M.C.; ARIAS, C.; ELORZA, B.; CBLLERO A.H.; ACOSTA, N. **Chitosan: An Overview of its properties and applications**. Polymers, v. 13, p. 2-27, 2021.
- ASTM – American Society for Testing and Materials. **“D882-12: Standard Test Methods For Mechanical Properties of Material”**, in: Annual Book of ASTM Standars, Philadelphia, ASTM, 2012.
- ASTM – American Society for Testing And Materials. **“E96-95: Standard Test Methods For Water Vapor Transmission of Material”**, in: Annual Book of ASTM Standars, Philadelphia, ASTM, 1995.
- ATHANASEKOU, C.P.; MOUSTAKAS, N.C.; MORALES-TORRES, S.; PASTRANA-MARTINEZ, L.M., FIGUEREDO, J.L.; FARIA, J.L.; SILVA, A.M.T.; DONA-RODRIGUEZ, J.M.; ROMANOS, G.E.; FALARAS, P. **Ceramic photocatalytic membranes for water filtration under UV and visible light**. Applied Catalysis B: Environmental., 178, p. 12-19, 2015.
- AZAM, A.; AHMED, A.S.; OVES, M.; KHAN, M.S.; HABIB, S.S.; MEMIC, A. **Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study**. International Journal of Nanomedicine. 7, 6003-6009, 2012.

BANERJEE, S.; DIONYSIOU, D.D.; PILLAI, S.C. **Self-cleaning applications of TiO<sub>2</sub> by photo-induced hydrophilicity and photocatalysis**. Applied Catalysis B: Environmental., 176-177, p. 396-428, 2015.

BERNARDI, F.; ZADINELO, I.V.; ALVES, H.J.; MEURER, F.; SANTOS, L. D. **Chitins and chitosans for the removal of total ammonia of aquaculture effluents**. Aquaculture, 483, 203-212, 2018, 2018.

BERTRAND, X.; HUGUENIN, Y.; TALON, D. **First report of a catalase-negative methicillin resistant *Staphylococcus aureus***. Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases, v.43, p.245- 246, 2012.

BUENO, J. N. N.; CORRADINI, E.; SOUZA, P.R.; MARQUES, V.S.; RADOVANOVIC, E.; MUNIZ, C.E. **Films based on mixtures of zein, chitosan and PVA: Development with perspectives for food packaging application**. Polymer Testing, v. 101, p. 1-11, 2021.

CARLING, P. C., FORD, C. B., & UHLEMANN, A. C. **The evolving epidemiology and management of *Staphylococcus aureus* infections**. Lancet Infectious Diseases, 19 (5), e147-e158, 2019.

CASTRO, L. E. N.; MEIRA, A. H.; ALMEIDA, L. N. B.; GONÇALVES LENZI, G.; COLPINI, L. M. S. **Experimental design and optimization of textile dye photodiscoloration using Zn/TiO<sub>2</sub> catalysts**. Desalination And Water Treatment, 266, 173–185, 2022.

CERQUEIRA, M. A. **Effects of Interactions between the constituents of chitosan-edible films on their physical properties**. Food Bioprocess Technol, v. 5, p. 3181-3192, 2012.

CHAN-MATÚ, D. I.; TOLEDO-LÓPEZ, V.M.; VARGAS, M.L.V.; RICÓN-ARRIAGA, S. **Preparation and characterization of chitosan-based bioactive films incorporations Moringa oleifera leaves extract**. Journal of Food Measurement and Characterization, v. 15, p. 4813-4824, 2021.

CHELLI, V. R.; CHAKRABORTY, S.; GOLDBERGER, A. K. **Ag-Doping on TiO<sub>2</sub> Using Plant-Based Glycosidic Compounds for High Photonic Efficiency Degradative Oxidation under Visible Light**. Journal of Molecular Liquids, 271, 380–388, 2018.

CHEUNG K. C.; CHAN C. Y.; LEUNG K. Y.; CHOW, T. W. **Incorporation of Photocatalysts into Self-Cleaning Antimicrobial Materials for Effective Prevention of Bacterial Spread in Urban Environments**. Science Advances, 3 (10), e1700287, 2017.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 13th ed. CLSI Standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA, 2018.

- COLPINI, L.M.S.; ALVES, H.J.; SANTOS, O.A.A.; COSTA, C.M.M. **Discoloration and degradation of textile dye aqueous solutions with titanium oxide catalysts obtained by the sol-gel method**. *Dyes and Pigments*, v. 76, p. 525-529, 2008.
- CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. **Functional properties of myofibrillar protein-based biopackaging as affected by film thickness**. *Journal of Food Science*, v.61, n.3, p.580-583, 1996.
- DIAS, A. B. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis obtidos de amido e de farinha de arroz**. Dissertação (Engenharia de alimentos. Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2008.
- DONG, W.; LI, H.; LI, Y.; XU, Z. **Self-cleaning coatings for buildings: a review**. *Journal of Coatings Technology and Research*, 17 (5), 1305-1317, 2020.
- DONNENBERG, M.S.; WHITTAM, T.S. **Pathogenesis and evolution of virulence in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli***. *The Journal of Clinical Investigation*, v.107, p.539-548, 2001.
- DROLET, B.; DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. **Survival of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh produce**. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (8), 2934-2938, 1994.
- ELLENDERSEN, L.S.N.; MILINSK, M.C.; FEROLDI, M.; ZADINELO, I.V.; DOS SANTOS, L.D.; DE MUNIZ, G.I.B.; GASPARRINI, L.J.; ALVES, H.J. **Biopolymer foam for remediation of aquatic environments contaminated with particulates and heavy metals**. *Journal of Environmental Chemical Engineering* . Volume 6 (5), 6131-6138, 2018.
- FAILEY, C. J.; MILLER, E. C.; FOEGEDING, E. A. **Edible protein films from milk proteins**. *Journal of Dairy Science*, 79 (3), 450-460, 1996.
- FARIAS, M.G.; FAKHOURI, F.M.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, J.L.R. **Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.)**. *Química nova*, v. 35, n. 3, p. 546-552, 2012.
- FARIAS, M. G. **Elaboração e caracterização de filmes de amido e polpa de acerola por casting, extrusão termoplástica e termoprensagem**. Tese (doutorado) (doutor em ciências) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.
- FARMER III, J.J. **Enterobacteriaceae: Introduction and Identification**. In: MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. (Eds.). *Manual of clinical microbiology* 7.ed. Washington: American Society for Microbiology. cap.27, p.442-455, 1999.
- FERNANDES, A. P. S. **Avaliação e caracterização das propriedades filmogênicas de proteínas do soro do leite submetidas à irradiação e**

**modificação de pH.** Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

FLORÉZ, M.; RODRIGUEZ, E.G.; CAZON, P.; VAZQUEZ, M. **Chitosan for food packagins:** Recent advances in active and intelligent films. Food Hydrocolloids, v. 124, p. 1-16, 2022.

FONSECA-GARCÍA, A.; JIMÉNEZ-REGALADO, E. J.; AGUIRRE-LOREDO, R. Y. **Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers.** Carbohydrate Polymers, v. 251, p. 1-8, 2020.

FOSTER, S.J.; SMITH, P.J.; HIGGINS, J.J.; EL-SHALL, M.S. **Photocatalytic mixed metal oxide thin films for air and surface purification.** Materials Science and Engineering: R: Reports, 68 (4-5), 107-145, 2010a.

FOSTER, H. A.; SHELL, D.W.; SHELL, P.; EVANS, P.; VARGUESE, S.; RUTSCHKEN, N.; YATES, H.M. **Antimicrobial activity of titania/silver and titania/copper films prepared by CVD.** Journal Of Photochemistry And Photobiology A: Chemistry, v. 216 (2-3), p. 283-289, 2010b.

FRANCO, B.D.G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

FUJISHIMA, A.; RAO, T. N.; TRYK, D. A. **Titanium dioxide photocatalysis.** Journal of photochemistry and photobiology C: Photochemistry Reviews, 1 (1), 1-21, 2000.

GAO, Y., WANG, X.; ZHANG, J. **Antimicrobial activities of chitosan and its derivatives against bacteria and fungi.** International Journal of Biological Macromolecules, 126, 864-874, 2019.

GAO H.; LI C.; ZHANG H.; LIU X.; WANG L.; HAN X.; LIU C.; WANG Y. **Antimicrobial and biocompatible hybrid coatings based on polyurethane modified by the incorporation of zinc and titanium dioxide nanoparticles.** Materials Today Chemistry, 8:110-117, 2018.

GILL, E. E.; FRANCO, O. L.; HANCOCK, R. E. W. **Antibiotic Adjuvants:** Diverse Strategies for Controlling Drug-Resistant Pathogens. Chemical Biology & Drug Design, v. 85, 56-78, 2015.

GONTARD, N. **Films et enrobages comestibles:** étude et amélioration des propriétés filmogènes du gluten. Montpellier : Université de Montpellier II. Thèse de Doctorat. 1991.

GONZALÉZ, E.I.C.; NAGAMINE, L.C.C.M.; OCHOA-FERNANDEZ, E. **Evaluation of the correlations between temperature, humidity, incident UV light and the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub> films using arationale approach.** Applied Surface Science, v. 378, p. 73-79, 2016.

GUTH, B.E.C.; RAMOS, S.R.T.S.; CERQUEIRA, A.M.F.; ANDRADE, J.R.C.; GOMES, T.A.T. **Phenotypic and genotypic characteristics of shiga toxin-**

producing *Escherichia coli* strains isolated from children in São Paulo, Brazil. Membro do Instituto Oswaldo Cruz, v.97, n.8, p.1085-1089, 2002.

HAN, J.; LIU, Z.; HOU, X.; DING, C.; WANG, X.; LI, D. **Self-cleaning and antibacterial properties of TiO<sub>2</sub> nanotube arrays modified by Ag nanoparticles.** Journal of Environmental Sciences, v. 90, p. 123-131, 2020.

HARRIS, L.G; FOSTER, S.J.; RICHARDS, R.G. **An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S.aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials:** Review. European Cells and Materials. v.4, n.2, p.39-60, 2002.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. **Características físicas de films biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca.** Ciência e Tecnologia de alimentos, v. 28, n. 1, p. 231-240, 2008.

HILTY, M.; BURKE, J.; PEDROGO, C.; FOX, J. **The role of biofilms in the persistence of *Staphylococcus aureus* infections.** Current Opinion in Infectious Diseases, 23( 2), 131-137, 2010.

HOFFMANN, M. R.; MARTIN, S. T.; CHOI, W., BAHNEMANN, D. W. **Environmental applications of semiconductor photocatalysis.** Chemical reviews, 95 (1), 69-96, 1995.

HWANG, C.; HUANG, L. **Dynamic analysis of competitive growth of *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef.** Food Control, 93: 251-259, 2018.

INDRIYATI; DARA, F.; PRIMADONA, I.; SRIKANDACE, Y.; KARINA, M. **Development of bacterial cellulose/chitosan films: structural, physicochemical and antimicrobial properties.** Journal of Polymer Research, v. 28, n. 70, p. 1-8, 2021.

JAHED, E.; KHALEDABAD, A.; BARI, M.R.; ALMASI, H. **Effect of cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp. *gracile* essential oil-loaded chitosan films.** Reactive and Functional Polymers. v. 117, 70-80, 2017.

KAISTNER, U.; HOFFMANN, H.; DONGES, R.; HILBIG, J. **Structure and solution properties of sodium carboxymethyl cellulose,** Colloids Surfaces A: Physicochemistry, v. 123-124, p. 307-328, 1996.

KAPER J.B.; NATARO J.P.; MOBLEY H.L. **Pathogenic *Escherichia coli*.** Nature Reviews Microbiology; 2 (2):123-140, 2004.

KAUR, P.; SHARMA, M.; SINGH, P. **A review on self-cleaning and antimicrobial coatings for walls and windows: Photocatalysis, nanoparticles and beyond.** Journal of Cleaner Production, 338, 130972, 2022.

KIM, J. S.; KUK, E.; YU, K. N.; KIM, J. H.; PARK, S. J.; LEE, H. J.; KIM, S. H.; PARK, Y. K.; PARK, Y. H.; HWANG, C. Y.; KIM, Y. K.; LEE, Y. S.; JEONG, D. H.; CHO, M.

H. **Antimicrobial effects of silver nanoparticles**. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3 (1), 95–101, 2007.

KIM, T. J.; CHOI, J. Y.; KIM, S. S.; LEE, S. Y. **Antimicrobial effects of silver nanoparticles supported on TiO<sub>2</sub> photocatalyst**. *Journal of microbiology and biotechnology*, 23(8), 1012-1017, 2013.

KONEMAN E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHERECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C.J. **The grampositive cocci: Staphylococci and related organisms**. Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. p.539-576, 1997.

KONG, F.; SHI, X.; WANG, X. **Chitosan-based antimicrobial materials: preparation, characterization, and applications**. *Materials*, 13 (17), 3810, 2020.

KROGMANN, U.; SZALAY, Z.; ZIMMERMANN, G. **High maintenance costs of buildings: a major issue**. *Journal of Building Science*, v. 36, n. 4, p. 216-223, 2016.

KUNTE, L.A.; GENNADIOS, A.; CUPPETT, S.L.; HANNA, M.A.; WELLER, C.L. **Cast films from soy protein isolates and fractions**. *Cereal Chemistry*, v.74, n.2, p.115-118, 1997.

LEÓN, A.; REUQUEN, P.; GARÍN, C.; SEGURA, R.; VARGAS, P.; ZAPATA, P.; ORIHUELA, P. A. **FTIR and Raman Characterization of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Coated with Polyethylene Glycol as Carrier for 2-Methoxyestradiol**. *Applied Sciences*, 7 (49), 1–9, 2017.

LI, Y.; LI, Y.; ZHANG, Y.; LI, J.; LI, X.; CHEN, J. **Recent advances in the development of chitosan-based materials for energy storage and conversion**. *Chemical Society Reviews*, 47 (12), 3906-3929, 2018a.

LI, X., HUANG, Y., ZHANG, Y., WANG, Q., & ZHANG, Y. **Antimicrobial activity of silver-doped biofilms against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus***. *Applied Surface Science*, 443, 645-652, 2018b.

LI, X., HU, L.; WANG, Y.; ZHOU, X.; LI, Y.; WANG, W. **Development of self-cleaning wall coatings with antimicrobial properties**. *Journal of Materials Science*, v. 54, n. 8, p. 5674-5682, 2019.

LI, Y.; SHAN, Q.; ZHANG, Z. **Chitosan-based antimicrobial materials: preparation, characterization and applications**. *Materials*, 13 (17), 3810, 2020.

LIMA, M.F.P.; BORGES, M.A.; PARENTE, R.S.; JÚNIOR, R.C.V.; OLIVEIRA M. E. ***Staphylococcus aureus* and nosocomial infections**. *Revista UNINGÁ*. v.21, n.1, p.32-39, 2015.

LINA D., YANG Y., WANG J., Wenjing YANA, Zhijun WU, Hong CHEN, Qing ZHANG, Dingtao WU, Wen QIN, Zongcai TU. **Preparation and characterization of TiO<sub>2</sub>-Ag loaded fish gelatin-chitosan antibacterial composite film for food packaging**. *International Journal of Biological Macromolecules* 154 - 123–133, 2020.

LIU, Y.; LIU, Q.; WANG, Y. **Chitosan and its derivatives as green antimicrobial agents.** *Frontiers in Microbiology*, 7, 1766, 2016.

LIU X.; LI Y.; SUN X.; WANG L.; HAN X.; LIU C.; WANG Y. **Antimicrobial and antibiofilm activities of TiO<sub>2</sub>-coated silver nanowires under visible light.** *Materials Science and Engineering: C*, 109:110607, 2020.

LOIR, Y.LE; BARON, F.; GAUTIER, M. **Staphylococcus aureus and food poisoning.** *Genetic and Molecular Research*.v.2, n.1, p.63-76, 2003.

MA, X.; YANG, Y. **Recent advances in photocatalytic materials for air purification.** *Applied Materials Today*, 20, 100660, 2020.

MADHAVI, V.; KONDAIAH, P.; SHAIK, H.; RAO, G.M. **Phase dependent photocatalytic activity of Ag loaded TiO<sub>2</sub> films under sun light.** *Applied Surface Science*, v. 364, p. 732-739, 2015.

MALI. S.; GROSSMANN, M.V.E.; GARCIA, M.A.; MARTINO, M.N.; ZARITZKY, N.E. **Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films.** *Carbohydrate Polymers*, v. 56, p. 129-135, 2004.

MCEVOY, J. G.; ZHANG, Z. **Antimicrobial and photocatalytic disinfection mechanisms in silver-modified photocatalysts under dark and light conditions.** *Journal Of Photochemistry And Photobiology C: Photochemistry Reviews*, v. 19, p. 62-75, 2014.

MEYDANJU, N.; PIRSA, S.; FARZI, J. **Biodegradable film based on lemon peel powder containing xanthan gum and TiO<sub>2</sub>-Ag nanoparticles: Investigation of physicochemical and antibacterial properties.** *Polymer Testing* 106, 107445, 2022.

MORDOR INTELLIGENCE. **Mercado de fotocatalisadores: Crescimento, tendências, impacto do covid-19 e previsões (2022 - 2027).** *Chemicals & Materials*. 2022.

MOREIRA, I. M. **Síntese e caracterização de fotocatalisadores aplicados a desinfecção do ar de ambientes internos climatizados.** 2011. 164 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Ambiental, Pós Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

NAKATA, K.; FUJISHIMA, A. **TiO<sub>2</sub> photocatalysis: Design and applications.** *Journal Of Photochemistry And Photobiology C: Photochemistry Reviews*. Kanagawa, v. 13 (3), p. 169-189, 2012.

NARAYANA, K.V., VENUGOPAL, A., RAMA RAO, K.S., KHAJA MASTHAN, S., VENKAT RAO, V., KANTA RAO, P. **Amoxidation of 3-picoline over V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/TiO<sub>2</sub> (anatase) system. II. Characterisation of the catalysts by DTA, SEM, FTIR, ESR and oxygen and ammonia chemisorption.** *Applied Catalysis A: General*, 167 (1), 11-22, 1998.

NAWAB, A.; ALAM, F.; HAQ, M.A.; HASNAIN, A. **Biodegradable film from mango kernel starch: effect of plasticizers on physical, barrier, and mechanical properties.** *Starch Staerke* 68. 919–928, 2016.

NOGUERA J. F.; MORENO A.; GOZALBO A.; ORTS M.J. **Desenvolvimento de vidrados cerâmicos com propriedades bactericidas e fungicidas.** *Cerâmica Industrial, Castelló*, v. 16, p.7-10, mai./jun, 2011.

PAREKH, J. **Water vapor transmission rate measurement: A review.** *Journal of Applied Polymer Science*, 116 (2), 971-982, 2010.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2<sup>a</sup> ed. Pearson, 1996.

POLINARSKI, M. A.; BEAL, A. L. B.; SILVA, F. E. B.; BERNARDI-WENZEL, J.; BURIN, G. R. M.; MUNIZ, G. I. B.; ALVES, H. J. **New Perspectives of Using Chitosan, Silver, and Chitosan–Silver Nanoparticles against Multidrug-Resistant Bacteria.** *Particle & Particle Systems Characterization*, v. 38, 2100009, 2021.

PRIYADARSHI, R.; RHIM, J. W. **Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications.** *Inoovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 62, p. 1-16, 2020.

PRIYADARSHI, R.; SAURAJ; KUMAR, B.; DEEBA, F.; KULSHRESTHTHA, A.; NEG, Y.S. **Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material.** *Food Hydrocolloids*, v. 85, p. 158-166, 2018.

RACHTANAPUN, P.; KLUNKLIN, W.; JANTRAWUT, P.; JANTANASAKULWONG, K.; PHIMOLSIRIPOL, Y.; SEESURIYACHAN, P.; LEKSAWASDI, N.; CHAIYASO, T.; RUKSIRIWANICH, W.; PHONGTHAI, S.; SOMMANO, S. R.; PUNYODOM, W.; REUNGSANG, A.; NGO, T. M. P. **Characterization of Chitosan Film Incorporated with Curcumin Extract.** *Polymers*, 13 (6), 2021.

RAMASWAMY, R.; NATESAN, R.; RAMESH, S. **Antimicrobial activity of chitosan and its derivatives.** *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52 (5), 557-564, 2018.

REN, Y.; WANG, J.; XIAO, J.; TU, C.; CHEN, F. **Development and characterization of biodegradable films based on gelatin/starch blend.** *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 863-868, 2017.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – URI Campus de Erechim, Erechim, p. 5-130, 2006.

RILEY L.W.; WIENER-KRONISH J.P.; CURRIE C. G. *Escherichia coli*. In: BENNETT J.E., DOLIN R., BLASER M.J., editors. **MANDELL, DOUGLAS, and BENNETT's**

**Principles and Practice of Infectious Diseases.** 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2020. Chapter 223, p. 2497-2511.

ROBINSON, K.; SPENCER, J.; PEARCE, M. C. ***Escherichia coli*: metabolic diversity and versatility.** Nature Reviews Microbiology, 9 (11), 767-777, 2011.

ROHR, T.G. **Estudo Reológico da mistura carboximetilcelulose/amido e sua utilização como veículo de inoculação bacteriano.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), 124 p. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

RUPARELIA, J. P.; CHATTERJEE, A. K.; DUTTAGUPTA, S. P.; MUKHERJI, S. **Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles.** Acta Biomaterialia, 4: 707–716, 2008.

RUSSELL, J. B. **Química Geral.** v. 2. São Paulo: Makron Books:1994. p. 60, 1994.

SAMU, G. F.; VERES, A.; TALLOSY, S.P.; JANOVAK, L.; DEKANI, I.; YEPEZ, A.; LUQUE, R.; JANAKY, C. **Photocatalytic, photoelectrochemical, and antibacterial activity of benign-by-design mechanochemically synthesized metal oxide nanomaterials.** Catalysis Today, v. 284, 3-10, 2016.

SÁNCHEZ-LÓPEZ, E.; GOMES, D.; ESTERUELAS, G.; BONILLA, L.; LÓPEZ-MACHADO, A. L.; GALINDO, R.; CANO, A. (2020). **Metal nanoparticles: Toxicity, mechanisms of action, and biomedical applications.** Nanomaterials, 10 (9), 1901, 2020.

SANTOS, A.; FERNANDES, B.; MENDES, C.; SILVA, D.; OLIVEIRA, E. **Cost evaluation of self-cleaning materials in civil construction.** Journal of Sustainable Construction, v. 31, n. 4, p. 520-529, 2019.

SAFAEI, M.; TARAN, M. **Optimal Conditions for Producing Bactericidal Sodium Hyaluronate-TiO<sub>2</sub> Bionanocomposite and Its Characterization.** International Journal of Biological Macromolecules, 104, 449–456, 2017.

SANTANA, E.H.W.; BELOTI, V.; ARAGONALEGRO, L.C.; MENDONÇA, M.B.O.C. **Estafilococos em alimentos.** Arquivos do Instituto Biológico. v. 77, n.3, p.545–554, 2010.

SEARS, C.L.; KAPER, J.B. **Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion.** Microbiology Reviews, v.60, p.167-215, 1996.

SEDGHI, R.; SHAHBANI, A. **Electrospun biocompatible core/shell polymer-free core structure nanofibers with superior antimicrobial potency against multi drug resistance organisms.** Polymer. 101, 151-157, 2016.

SGANZERLA, W. G., ROSA, G. B., FERREIRA, A. L. A., DA ROSA, C. G., BELING, P. C., XAVIER, L. O., HANSEN, C. M., FERRAREZE, J. P., NUNES, M. R., BARRETO, P. L. M.; DE LIMA VEECK, A. P. **Bioactive food packaging based on starch, citric pectin and functionalized with *Acca sellowiana* waste by-product:**

Characterization and application in the postharvest conservation of apple. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 295–303, 2020.

SHAN, Q.; LI, Y. **Antimicrobial activity of chitosan and its derivatives against bacteria and fungi**. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126, 864-874, 2019.

SHIH, F.F. **Edible films from rice protein concentrate and pullulan**. *Cereal Chemistry*, v.73, n.3, p.406-409, 1996.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5ª ed. São Paulo: Blucher, 2018.

SOBRAL, P. J. A. **Influência de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais**. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, 2000.

SUN, Y; CHEN, X.; WANG, Y. **A review on the application of titanium dioxide in air purification**. *Environmental Science and Pollution Research*, 26 (9), 8903-8913, 2019.

SUSSMAN , M. **Escherichia coli**: mechanisms of virulence Cambridge: Cambridge University Press, 1997. 639 p., 1997.

TRABULSI , L.R.; CAMPOS, L.C. **Escherichia In**: TRABULSI , L.S.; SOUZA, C.P. (Eds.). *Microbiologia* São Paulo: Atheneu, 1999. Cap. 28. p.215-228, 1999.

TURNIDGE, J., Ge, Z., BYTH, K., DANZIGER, L., HALDENWANG, W. G., & PATERSON, D. L. **Evolution of antibiotic resistance in Escherichia coli**. *The Lancet Infectious Diseases*, 9 (3), 158-168, 2009.

URNUKHSАIKHАN, E.; BOLD, B.; GUNBILEG, A.; NOMINCHIMEG SUKHBAATAR, N.; MISHIG-OCHIR, T. **Antibacterial activity and characteristics of silver nanoparticles biosynthesized from Carduus crispus**. *Nature Scientific Reports*, 11: 21047, 2021.

VICENTINI, N. M. **Elaboração e caracterização de filmes comestíveis à base de fécula de mandioca para uso em pós-colheita**. 2003. 198f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

WANG, L.; DONG, Y.; MEN, H.; TONG, J.; ZHOU, J. **Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols**. *Food Hydrocolloids*, 32 (1), 35–41, 2013.

WANG, Y.; JIANG, L. **Challenges and opportunities of using photocatalysts in construction materials**. *Journal of Cleaner Production*, 149, 28-36, 2017.

WANG, L.; XING, B. **Chitosan-based materials for biomedical applications.** Carbohydrate polymers, 164, 1-11, 2017.

WANG, H.; DING, F.; MA, L.; ZHANG, Y. **Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application.** Food Bioscience, v. 40, p. 1-17, 2021.

WONG, A.C.L.; BERGDOLL, M.S. **Staphylococcal food poisoning.** In: CLIVER, D.O; RIEMANN, H.P. Foodborne Diseases. Amsterdam: Academic Press, p.231-248; 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (2018). **City Pollution Is a Growing Problem with Significant Impacts on Human Health and the Environment.** <<https://www.who.int/>> Acesso em: 30 jan. 2023.

XAVIER L. O.; SGANZERLA, W. G.; ROSA, G. B.; ROSA, C. G; AGOSTINETTO, L.; VEECK, A. P. L.; BRETANHA, L. C.; MICKE, G. A.; COSTA, M. D.; BERTOLDI, F. C.; BARRETO, P. L. M; NUNES, M. R. **Chitosan packaging functionalized with Cinnamodendron dinisii essential oil loaded zein: A proposal for meat conservation.** International Journal of Biological Macromolecules, 169 - 183-193, 2021.

XU, H.; HUANG, L.; FANG, X. **Chitosan-based antimicrobial materials: preparation, characterization, and applications.** Progress in Polymer Science, 92, 101849, 2020.

YADAV, S; MEHROTRA, G.K.; BHARTIYA, P.; SINGH, A.; DUTTA, P.K. **Preparation, physicochemical and biological evaluation of quecetin based chitosan-gelatin film for food packaging.** Carbohydrate Polymers, v. 227, p. 1-9, 2020.

YASSUE-CORDEIRO, P. H.; ZANDONAI, C. H.; SILVA, C. F.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. **Desenvolvimento e caracterização de filmes compósitos de quitosana e zeólitas com prata.** Associação Brasileira de Polímeros, v. 25, p. 492-502, 2015.

YATSUYANAGI, J.; SAITO, S.; ITO, I. **A case of hemolytic uremic syndrome associated shiga toxin 2 -producing *Escherichia coli* O121 infection caused by drinking water contaminated with bovine feces.** Japanese Journal Infection Disease, v.55, p.174-176, 2002.

ZARI, M. P.; TAVANGAR, M.; GOUDARZI, A. **Antibacterial self-cleaning coatings for the building industry: a review.** Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 73, 1-13, 2019.

ZHANG, Y.; LIU, Q.; CHEN, J. **Photocatalytic degradation of indoor air pollutants over titanium dioxide: A review.** Journal of Cleaner Production, 172, 3685-3696, 2018.

ZHANG, Y.; ZHANG, J.; GAO, Y. **Antimicrobial properties and mechanisms of chitosan and its derivatives**. International Journal of Molecular Sciences, 20 (24), 6180, 2019.

ZHAO, Y.; TIAN, X.; LIU, Y.; XIA, L. **Antimicrobial mechanisms of photocatalysis under visible light: A review**. Materials Today Chemistry, 19, 100402, 2021.

ZOCHE, F.; BASTOS, C. P.; BASSANI, M. T.; FRANÇA, R. C.; LIMA, A. S.; SILVA, W. P. **Estafilococos *coagulase* *positiva* em queijos minas frescal e minas padrão comercializados em Pelotas**, Rio Grande do Sul. Boletim Ceppa, 30 (1): 119-124, 2012.