



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIA DE ALIMENTOS



Área de Concentração: Ciência de Alimentos

INGRID ALVES SANTOS

OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DA SÍNTESE VERDE E
SUA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE NANOCELULOSE PARA APLICAÇÃO COMO
REVESTIMENTO EM FRUTAS

Itapetinga-BA

2024

INGRID ALVES SANTOS

**OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DA SÍNTESE VERDE E
SUA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE NANOCELULOSE PARA APLICAÇÃO COMO
REVESTIMENTO EM FRUTAS**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) como parte integrante das exigências do programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, para obtenção do título de doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Autora: Ingrid Alves Santos

Orientador: *DSc.* Marcelo Franco

Coorientadores: *DSc.* Eduardo Valério de Barros Vilas Boas

DSc. Rafael Carvalho do Lago

Itapetinga-BA

2024

664.09
S235o

Santos, Ingrid Alves.

Obtenção de nanopartículas de prata através da síntese verde e sua incorporação em filmes de nanocelulose para aplicação como revestimento em frutas. / Ingrid Alves Santos. – Itapetinga-BA: UESB, 2024.

170f.

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) como parte integrante das exigências do programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, para obtenção do título de doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Marcelo Franco e coorientação do Prof. D. Sc. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, Prof. D. Sc. Rafael Carvalho do Lago.

1. Filmes celulósicos – Revestimento de frutas. 2. Nanopartículas de prata – Síntese verde. 3. Cacau – Casca da amêndoa – AgNPs. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Franco, Marcelo. III. Vilas Boas, Eduardo Valério de Barros. IV. Lago, Rafael Carvalho do. V. Título.

CDD(21): 664.09

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Filme de nanocelulose
2. Polímeros biodegradáveis

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO


Título: “OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DA SÍNTESE VERDE E SUA INCORPORAÇÃO EM FILMES DE NANOCELULOSE PARA APLICAÇÃO COMO REVESTIMENTO EM FRUTAS”

Autor (a): INGRID ALVES SANTOS


Orientador (a): Prof. Dr. Marcelo Franco

Coorientador: Dr. Eduardo Valerio de Barros Vilas Boas


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de ***DOUTORA EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS***, pela Banca Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 **RENATA CRISTINA FERREIRA BONOMO**
Data: 07/08/2024 12:05:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo
UESB

Documento assinado digitalmente
 **CAROLINA FERREIRA DE MATOS JAURIS**
Data: 07/08/2024 12:11:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof.^a Dr.^a Carolina Ferreira de Matos Jauris
UFSM

Documento assinado digitalmente
 **JANAÍNA SILVA DE FREITAS PEREIRA**
Data: 12/08/2024 11:16:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Janaína Silva de Freitas
UESB

Documento assinado digitalmente
 **RAFAEL CARVALHO DO LAGO**
Data: 08/08/2024 12:18:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rafael Carvalho do Lago
UFLA

Documento assinado digitalmente
 **MARCELO FRANCO**
Data: 08/08/2024 08:10:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcelo Franco
Orientador - UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 07 de agosto de 2024.

*Dedico,
À Deus,
À espiritualidade amiga,
À minha amada irmã, Kimberlly.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, à espiritualidade e aos meus mentores do plano de luz, que me acompanham desde sempre e me ajudaram a ter a coragem necessária para buscar e realizar meus sonhos.

Aos meus amados pais, Aidê e Amilton, por me darem todo o apoio inimaginável para a concretização deste trabalho.

Ao meu orientador, Marcelo Franco, pela dedicação, disponibilidade, incentivo, confiança no meu potencial e pelos valiosos conselhos que me ajudaram a melhorar profissionalmente.

Aos meus coorientadores, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas e Rafael Carvalho do Lago, por todo o conhecimento compartilhado.

À equipe do LPCFH (Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças), por me acolherem com tanto carinho.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade conferida a mim, disponibilidade de infraestrutura e investimento na pesquisa.

À equipe do LME (Laboratório de Microscopia Eletrônica), especialmente à técnica Aline Norberto e ao Professor Eduardo Alves, pela atenção, paciência em compartilhar conhecimentos e pela disponibilização da infraestrutura.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, especialmente ao coordenador Rafael da Costa Ilhéu Fontan e à secretária Jamile Oliveira, pela dedicação e eficiência na solução das demandas, mesmo à distância.

Aos membros da banca examinadora, os doutores Rafael Carvalho do Lago, Janaína Silva de Freitas, Carolina Ferreira de Matos Jauris e Renata Cristina Ferreira Bonomo, pela disponibilidade e pelas valiosas contribuições.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
CAPÍTULO I	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 Embalagens de alimentos	20
2.2 Polímeros biodegradáveis	22
2.3 Nanocelulose	24
2.4 Nanopartículas de prata	27
2.4.1 Síntese verde de AgNPs	30
2.4.2 Resíduo de interesse: casca da amêndoa do cacau	37
2.5 AgNPs e Aplicações em filmes nanocelulósicos	37
REFERÊNCIAS	39
3. OBJETIVOS	54
3.1 Objetivo geral	54
3.2 Objetivos específicos	54
CAPÍTULO II	55
Artigo 1: Cocoa Bean Shell Wastes for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activity Against Foodborne Pathogens	55
Abstract	58
Introduction	59
Materials and methods	60
Obtaining and characterizing the aqueous extract of the cocoa bean shell	60
Optimization of green synthesis and silver nanoparticles characterization	61
Box-Behnken Design	61
Characterization of silver nanoparticles	61
Application of silver nanoparticles	62
Disk diffusion in agar	62
Minimum inhibitory concentration	63

Statistical analysis	63
Results and discussion	64
Characterization of the aqueous extract of the cocoa bean shell.....	64
Optimization of the green synthesis of silver nanoparticles	65
Characterization of Silver Nanoparticles	65
Ultraviolet-Visible Spectroscopy	65
Fourier transform infrared spectroscopy	66
Scanning electron microscope (FEG-SEM), Transmission Electronic Microscopy (TEM) and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis of AgNPs	67
Application of silver nanoparticles in foodborne pathogens	67
Conclusion	69
References	70
Figures	78
Tables.....	81
CAPÍTULO III	84
Artigo 2: Propriedades mecânicas, reológicas, ópticas, antifúngicas e de barreira em bionanocompósitos de amido reforçados com nanocelulose e funcionalizados com AgNPs da casca da amêndoa do cacau	84
Resumo	87
1. Introdução	88
2. Materiais e métodos	90
2.1 Síntese verde da nanopartícula de prata.....	90
2.2 Produção da celulose nanofibrilada de eucalipto	90
2.3 Preparo dos bionanocompósitos	90
2.4 Caracterização dos bionanocompósitos	91
2.4.1 Morfologia	91
2.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	91
2.4.3 Propriedades mecânicas	91
2.4.4 Propriedades de barreira e hidroflicidade	92
2.4.5 Propriedades óticas e espessura.....	93
2.4.6 Análises reológicas.....	93
2.5 Aplicação dos bionanocompósitos em fungos	94
2.6 Planejamento experimental e análise estatística	94
3. Resultados e discussão.....	95

3.1 Morfologia	95
3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	98
3.3 Propriedades mecânicas	99
3.4 Propriedades de barreira e hidroflicidade	101
3.5 Propriedades óticas e espessura.....	103
3.6 Análises reológicas	104
3.7 Aplicação dos bionanocompósitos em fungos	108
3.8 Análise de Componentes Principais.....	109
4. Conclusão.....	111
Referências	111
CAPÍTULO IV	118
Artigo 3: Aplicação de bionanocompósito à base de amido reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata para a manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas.....	118
Resumo	120
1. Introdução.....	122
2. Materiais e métodos	124
2.1 Aquisição da matéria-prima	124
2.2 Preparo da solução filmogênica	124
2.3 Revestimento dos frutos	125
2.4 Delineamento experimental.....	125
2.5 Análises	125
2.5.1 Perda de massa, pH, acidez titulável e sólidos solúveis	126
2.5.2 Parâmetros de coloração	126
2.5.3 Firmeza e análise microestrutural	126
2.5.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante	127
2.5.5 Deterioração dos frutos.....	127
2.6 Análise estatística.....	128
3. Resultados e discussão.....	129
3.1. Perda de massa, SS, pH e AT	129
3.3 Parâmetros de coloração	131
3.4 Firmeza e análise microestrutural	132
3.5 Compostos bioativos e atividade antioxidante	133
3.6 Deterioração dos frutos.....	134
4. Conclusão	135

Referências	136
CONCLUSÃO GERAL.....	146
ANEXOS	147

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 - Métodos usados para a síntese de nanopartículas metálicas	28
---	----

CAPÍTULO II

Figure 1 – Response surface methodology showing the effect of silver nitrate (AgNO_3) concentration and temperature on the average size of silver nanoparticles obtained with cocoa bean shell extract...78	
---	--

Figure 2 – a) UV-visible absorption spectrum referring to silver nanoparticles obtained at the optimal point of green synthesis and b) Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) of silver nanoparticles obtained at the optimal point of green synthesis and cocoa bean shell extract	78
--	----

Figure 3 – Images obtained with FEG-SEM in the magnitude of a) 100 kx and b) 200 kx; TEM in the magnitude of c) 100 kx and d) 300 kx; and e) EDS line scans of silver nanoparticles (AgNPs) at the optimal point of green synthesis.....	79
---	----

Figure 4 – Inhibition halos formed by silver nanoparticles obtained at the optimum point of green synthesis in plates inoculated with a) <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), b) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 22923), c) <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19117), d) <i>Salmonella enterica</i> (S64), e) <i>Cronobacter sakazakii</i> (ATCC 29004) and f) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 18883).....	80
--	----

CAPÍTULO III

Fig. 1. Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC).	96
--	----

Fig. 2. Microscopia de Força Atômica (AFM) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): A) controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); B) com 10% de NFC (Ag-NFC10%); C) com 20% de NFC (Ag-NFC20%); D) com 30% de NFC (Ag-NFC30%); E) com 50% de NFC (Ag-NFC50%); F) efeito da concentração de NFC na rugosidade dos bionanocompósitos, com o modelo ajustado e coeficiente de determinação (R^2). Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha)..	97
---	----

Fig. 3. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC)	98
---	----

Fig. 4. Efeito da concentração de NFC nos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs), com modelo ajustado e coeficiente de determinação R^2 para: A) força de punção; B) resistência a tração e C) módulo de Young. Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha)..	100
---	-----

- Fig. 5.** Efeito da concentração de NFC nos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs), com modelo ajustado e coeficiente de determinação R^2 para: A) solubilidade; B) permeabilidade ao vapor de água (PVA); C) ângulo de contato e D) molhabilidade. Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha) 102
- Fig. 6.** Viscosidade aparente (Pa.s) em função da taxa de deformação (s^{-1}) para os bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC). 106
- Fig. 7.** Módulo de armazenamento (G') e Módulo de Perda (G'') em função da A) frequência angular ($rad\ s^{-1}$), B) da deformação de cisalhamento (%) e da C) tensão de cisalhamento (Pa) para os bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC). 107
- Fig. 8.** Dispersão das componentes principais 1 e 2 para: A) bionanocompósitos de amido com nanopartículas de prata (AgNPs) e NFC: controle (Ag-NFC0%), e adições de 10% (Ag-NFC10%), 20% (Ag-NFC20%), 30% (Ag-NFC30%), e 50% (Ag-NFC50%) de NFC; e B) variáveis: solubilidade, molhabilidade, rugosidade (R), permeabilidade ao vapor de água (PVA), ângulo de contato, parâmetros de cor (L^* , C^* , hue°), opacidade (Opa), índice de consistência (K), índice de comportamento (n), viscosidade aparente (η), força de punção, resistência à tração (Tração) e módulo de Young (MY). 110

CAPÍTULO IV

Figura 1 – Gráficos relativos a (a) perda de massa, (b) sólidos solúveis, (c) pH e (d) acidez titulável em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....140

Figura 2 – Gráficos relativos aos parâmetros de coloração (a) claridade (L^*), (b) cromaticidade (C^*) e (c) tonalidade ($^\circ hue$) em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....141

Figura 3 – Gráfico relativo a firmeza de laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....142

Figura 4 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) da superfície do exocarpo em laranjas ao longo do armazenamento aos 0, 10, 20 e 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com

celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento.....142

Figura 5 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) da secção transversal do exocarpo e mesocarpo de laranjas ao longo do armazenamento aos 0, 10, 20 e 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento.....143

Figura 6 – Gráficos relativos aos (a) compostos fenólicos totais (CFT) e ao (c) ácido ascórbico em laranjas longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....143

Figura 7 – Gráficos relativos a capacidade antioxidante pelos métodos de (a) captura do radical DPPH⁺ (DPPH⁺) e (b) redução do ferro (FRAP) em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....144

Figura 8 – Gráfico relativo a porcentagem de frutos (laranjas) inaptos para o consumo ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.....145

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1 – Estudos envolvendo o uso de resíduos agroindustriais para a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) bem como seu formato, tamanho, potencial zeta e microrganismos alvo da atividade antimicrobiana.....33

CAPÍTULO II

Table 1 – Box-Behnken Design experimental matrix with real and coded values (in parentheses) for the independent variables: time, temperature and silver nitrate concentration and for the dependent variable (response): dynamic light scattering (DLS).....81

Table 2 – Total phenolic compounds (TPC) and individual bioactive compounds (IBC) present in cocoa bean shell extract.....82

Table 3 – Antioxidant activity (AA) of cocoa bean shell aqueous extract by DPPH and ABTS radical scavenging methods, phosphomolybdenum complex and β -carotene/linoleic acid system.....82

Table 4 – Minimum inhibitory concentration (MIC) and inhibition halos formed by silver nanoparticles (AgNPs) and cocoa bean shell extract in plates inoculated with *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).....83

CAPÍTULO III

Tabela 1 – Médias e desvios padrão para espessura, opacidade, claridade (L^*), cromaticidade (C^*) e tonalidade (hue $^\circ$) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC). 104

Tabela 2 – Parâmetros do modelo da Lei da Potência (K e n) e Viscosidade aparente (η) a uma taxa de cisalhamento de 100 s^{-1} dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC). 103

Tabela 3 – Halos de inibição (mm) formados pelos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC). 109

CAPÍTULO IV

Tabela 1 – Mesófilos aeróbios e fungos presentes em laranjas armazenadas a temperatura ambiente ($25 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. 145

SANTOS, I. A. **Obtenção de nanopartículas de prata através da síntese verde e sua incorporação em filmes de nanocelulose para aplicação como revestimento em frutas.** Itapetinga – BA: UESB, 2024. 170p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos).*

RESUMO

A aplicação de revestimentos e filmes com nanomateriais em frutos vem sendo utilizada para promover o aumento da vida útil. A celulose nanofibrilada (NFC) pode melhorar a flexibilidade, durabilidade, estabilidade, resistência à temperatura e umidade, além de aprimorar as propriedades de barreira contra trocas gasosas, aumentando assim a eficiência das embalagens. As nanopartículas de prata (AgNPs) podem conferir aos materiais alta atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de microrganismos. No entanto, os métodos tradicionais da síntese de AgNPs envolvem o uso de solventes tóxicos e a geração de resíduos prejudiciais ao meio ambiente. A síntese verde consiste na aplicação de princípios da química verde como uso de solventes e reagentes não tóxicos, gasto reduzido de energia e uso de matéria-prima renovável. Nesse contexto, objetivou-se obter AgNPs através da síntese verde e realizar sua incorporação em filmes com NFC para aplicação como revestimento em frutas. Para isso, inicialmente investigou-se a utilização da casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.) para a produção de AgNPs, além de sua caracterização e avaliação contra patógenos de origem alimentar. Posteriormente, foi avaliada a influência da adição de AgNPs, e de diferentes concentrações de NFC de eucalipto nas propriedades de bionanocompósitos à base de amido. Em seguida, laranjas foram utilizadas para averiguar a eficácia do bionanocompósito com 30% de NFC na manutenção da qualidade pós-colheita. O extrato proveniente da casca da amêndoa do cacau produziu AgNPs eficientemente com alta área superficial ($74,51 \pm 0,38$ nm) e estabilidade ($-17,97 \pm 0,12$ mV) além de apresentar ação contra *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Cronobacter sakazakii* e *Klebsiella pneumoniae*. Por outro lado, a adição máxima de NFC (50%) estudada e AgNPs em bionanocompósitos promoveu um aumento na resistência à tração em aproximadamente 283,93%, enquanto o módulo de Young também apresentou um aumento significativo de 303,03%, indicando maior rigidez. Já a permeabilidade ao vapor de água foi reduzida em cerca de 47,89%. As curvas de fluxo indicaram um comportamento pseudoplástico e todos os bionanocompósitos apresentaram efeito inibidor contra *Botrytis cinerea* e *Fusarium semitectum*. Em relação à aplicação em laranjas, os resultados mostraram que o bionanocompósito aderiu bem aos frutos, reduzindo a perda de massa e mantendo a firmeza e a integridade estrutural ao longo do armazenamento. Além disso, o bionanocompósito apresentou propriedades antimicrobianas, inibindo o crescimento de microrganismos e preservando a qualidade das laranjas, superando os tratamentos com cera de carnaúba e sem revestimento. Conclui-se, portanto, que é viável utilizar uma abordagem ambientalmente amigável na produção de AgNPs usando a casca da amêndoa do cacau. A combinação de amido, AgNPs e NFC resultou em bionanocompósitos com propriedades melhoradas, sobretudo em termos de resistência a tração, força de punção e eficácia antimicrobiana. O bionanocompósito com 30% de NFC foi eficaz como revestimento para a manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas. Esses materiais podem ser empregados em futuros estudos para explorar diferentes metodologias de aplicação e diversas matrizes alimentares, visando ampliar suas possibilidades de uso. Essas inovações não apenas melhoraram a eficiência dos bionanocompósitos, mas também promovem a utilização de subprodutos agroindustriais, contribuindo para a sustentabilidade ambiental.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas metálicas, *Theobroma cacao* L., filmes nanoestruturados.

* **Orientador:** DSc. Marcelo Franco, UESB.

SANTOS, I. A. **Obtaining silver nanoparticles through green synthesis and their incorporation into nanocellulose films for application as a coating on fruits.** Itapetinga – BA: UESB, 2024. 170p. Thesis (Doctorate in Engineering and Food Science).*

ABSTRACT

The application of coatings and films with nanomaterials on fruits has been used to extend their shelf life. Nanofibrillated cellulose (NFC) can enhance flexibility, durability, stability, and resistance to temperature and humidity, as well as improve barrier properties against gas exchange, thereby increasing packaging efficiency. Silver nanoparticles (AgNPs) can impart high antimicrobial activity to materials against a broad spectrum of microorganisms. However, traditional methods for synthesizing AgNPs involve the use of toxic solvents and the generation of environmentally harmful waste. Green synthesis employs green chemistry principles, such as the use of non-toxic solvents and reagents, reduced energy consumption, and renewable raw materials. In this context, the objective was to obtain AgNPs through green synthesis and incorporate them into NFC films for use as a coating on fruits. To achieve this, the use of cocoa bean shells (*Theobroma cacao* L.) for AgNP production was initially investigated, along with their characterization and evaluation against foodborne pathogens. Subsequently, the impact of incorporating AgNPs and varying concentrations of eucalyptus NFC on the properties of starch-based bionanocomposites was evaluated. Oranges were then used to assess the effectiveness of the bionanocomposite with 30% NFC in preserving postharvest quality. The extract from cocoa bean shells efficiently produced AgNPs with a high surface area (74.51 ± 0.38 nm) and stability (-17.97 ± 0.12 mV), demonstrating action against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Cronobacter sakazakii*, and *Klebsiella pneumoniae*. Additionally, the maximum NFC content studied (50%) and AgNPs in bionanocomposites led to a tensile strength increase of approximately 283.93%, while Young's modulus also showed a significant rise of 303.03%, indicating greater stiffness. Water vapor permeability was reduced by approximately 47.89%. The flow curves demonstrated pseudoplastic behavior, and all bionanocomposites exhibited inhibitory effects against *Botrytis cinerea* and *Fusarium semitectum*. Regarding application on oranges, the results showed that the bionanocomposite adhered well to the fruit, reducing weight loss and maintaining firmness and structural integrity throughout storage. Furthermore, the bionanocomposite exhibited antimicrobial properties, inhibiting microorganism growth and preserving orange quality, outperforming treatments with carnauba wax and no coating. It is therefore concluded that an environmentally friendly approach using cocoa bean shell for AgNP production is feasible. The combination of starch, AgNPs, and NFC resulted in bionanocomposites with enhanced properties, particularly in terms of tensile strength, puncture resistance, and antimicrobial efficacy. The bionanocomposite with 30% NFC was effective as a coating for maintaining the postharvest quality of oranges. These materials can be applied in future studies to explore different application methods and various food matrices, aiming to expand their uses. These innovations not only enhanced bionanocomposite efficiency but also promoted the use of agro-industrial by-products, contributing to environmental sustainability.

KEYWORDS: Metallic nanoparticles, *Theobroma cacao* L., nanostructured films.

* **Advisor:** DSc. Marcelo Franco, UESB.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL
 2. REFERENCIAL TEÓRICO
 3. OBJETIVOS
-

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por materiais biodegradáveis tem estimulado estudos que visam à obtenção de materiais que além de apresentarem excelentes propriedades tecnológicas também não prejudiquem o meio ambiente (Gutiérrez & Alvarez, 2018). Nesse contexto, o setor de embalagens para alimentos tem investido na realização de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de revestimentos comestíveis e filmes, uma vez que as embalagens convencionais levam milhares de anos para degradar (Gutiérrez & Alvarez, 2018; Qasim et al., 2020). Atualmente, a celulose se destaca na obtenção de materiais biodegradáveis devido ao seu baixo custo, excelentes propriedades mecânicas, neutralidade sensorial e não toxicidade (Li et al., 2015a). A celulose, portanto, se qualifica como um material altamente promissor para a substituição de polímeros não totalmente recicláveis e não biodegradáveis (Tkacheva et al., 2013; Li et al., 2015a).

A utilização da celulose em escala nanométrica, comumente denominada de nanocelulose, vem se destacando na área de polímeros pela sua ampla aplicabilidade (Flores-López et al., 2016). Entre os tipos de nanocelulose existentes, destaca-se a celulose nanofibrilada (NFC), também conhecida por outros termos genéricos como celulose nanofibrilar, nanofibras de celulose e celulose microfibrilada (Qasim et al., 2020). Esses termos são utilizados para descrever nanoestruturas de celulose com pelo menos uma de suas dimensões, em escala nanométrica, com diâmetros inferiores a 100 nm e comprimentos de vários micrômetros em que alternam domínios cristalinos e amorfos (Phanthong et al., 2018), geralmente produzida por delaminação da fibra por meio de pressão mecânica (Lago et al., 2020; Silva et al., 2021).

As nanofibrilas de celulose são muito utilizadas para reforço de compósitos como revestimentos de alimentos (Jafari et al., 2018) e, na produção de filmes (Pacaphol et al., 2019), pelas excelentes propriedades físicas e mecânicas (Tayeb et al., 2018). As nanofibrilas também tem sido aplicadas em papéis com o objetivo de melhorar suas propriedades físicas (Taipale et al., 2010; Kose et al., 2015), na produção de embalagens para aumentar o tempo de prateleira de alimentos (Guimarães et al., 2016; Jafari et al., 2018; Pacaphol et al., 2019) e como reforço em matrizes poliméricas a base de amido (Abreu et al., 2015). Um dos sistemas promissores para a melhoria das características dos materiais obtidos utilizando a nanocelulose é a incorporação de nanoestruturas (Brinchi et al., 2013). Algumas nanoestruturas como as nanopartículas metálicas, podem conferir às embalagens nanocelulósicas uma atividade antimicrobiana que quando aplicada a alimentos, pode culminar em uma maior durabilidade do produto (Errokh et al., 2019).

As nanopartículas de prata (AgNPs), dentre as nanopartículas metálicas existentes, se destacam em razão de suas propriedades particulares como as altas atividades catalíticas e antimicrobianas (Rasheed et al., 2017). O uso de AgNPs apresenta como principal vantagem a sua

alta eficácia contra microrganismos deteriorantes sendo mais seguro que fungicidas carcinogênicos (Mathew et al., 2019). Devido a essas propriedades, as AgNPs começaram a ser investigadas quanto ao uso em embalagens de alimentos, com o objetivo de prolongar a vida útil dos produtos (Vieira et al., 2020). Vários métodos para a síntese de AgNPs tem sido relatados, incluindo o método eletroquímico (Nasretdinova et al., 2015) ou redução química, evaporação induzida por calor (Bahiraei et al., 2017), micro-ondas (Sökmen et al., 2017) e o uso da luz solar (Bhaduri et al., 2013). A maioria desses métodos é oneroso, requer alto consumo de energia, envolve a utilização de produtos químicos perigosos e alguns deles produzem quantidades substanciais de subprodutos (Güzel & Erdal, 2018; Alkhulaifi et al., 2020; Gomathi et al., 2020). Em contraposto aos métodos convencionais, a síntese verde de nanopartículas oferece algumas vantagens que incluem o uso de solventes ecológicos e agentes redutores não tóxicos extraídos de plantas, bactérias e fungos, que adicionalmente promovem uma estabilidade aprimorada às nanopartículas (Li et al., 2015b; Soto et al., 2019).

A síntese verde de AgNPs foi alcançada usando extratos de plantas e frutas como *Melissa officinalis* (Ruíz-baltazar et al., 2017), *Artemisia vulgaris* (Rasheed et al., 2017), tamarindo (Jayaprakash et al., 2017), amora andina (Kumar et al., 2017), pitaya (Phongtongpasuk et al., 2016), entre outros. A síntese de AgNPs com extratos de plantas ou frutas envolve a redução química de Ag^+ a Ag^0 por metabólitos secundários (terpenoides, flavonoides e ácidos fenólicos). O uso de resíduos agroindustriais como fonte de produtos químicos redutores tornou-se cada vez mais atraente, trazendo benefícios econômicos consideráveis, especialmente porque esses materiais, são ricos em compostos bioativos como os compostos fenólicos (Kaderides & Goula, 2017). Diferentes resíduos têm sido usados para a síntese de AgNPs, como casca de banana (Ibrahim, 2015), casca de mamão (Balavijayalakshmi & Ramalakshmi, 2017), resíduos de chá (Qing et al., 2017) e casca de laranja (Soto et al., 2019).

As cascas da amêndoa do cacau constituem cerca de 20% da amêndoa do fruto e, portanto, corresponde a uma parte significativa dos resíduos gerados pela indústria cacauieira. Costumeiramente as cascas da amêndoa do cacau são subutilizadas, sendo que na indústria é empregada principalmente como combustível para caldeiras (Arlorio et al., 2005). Dos produtos e subprodutos obtidos a partir do cacau, a casca da amêndoa apresenta elevada concentração de compostos fenólicos com efeito antioxidante significativo e tem demonstrado ser uma fonte rica destes biocompostos (Vásquez et al., 2019). Através da avaliação do potencial bioativo das cascas da amêndoa do cacau, fica evidente que este material é rico em metabólitos secundários (Vásquez et al., 2019), compostos essenciais para a síntese verde de AgNPs. Até o presente momento, não foram encontrados estudos que abordassem a utilização das cascas da amêndoa do cacau para produção de nanopartículas de prata.

A produção de materiais biodegradáveis com diferentes constituintes, como NFC e AgNPs, dá origem a bionanocompósitos que oferecem melhorias significativas devido à escala nanométrica dos constituintes (Puiggali & Katsarava, 2017). Isso se deve à combinação sinérgica entre os diferentes materiais, onde as características de um podem complementar as limitações do outro. A sinergia entre os constituintes dos filmes e revestimentos pode melhorar características como permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração e compressão, e propriedades antimicrobianas (Lago et al., 2020). Essas características são particularmente benéficas para frutas e hortaliças, como as laranjas (*Citrus sinensis* L. Osbeck), que enfrentam diversos desafios pós-colheita, como perda significativa de massa, danos mecânicos, podridão, estresses oxidativos e outros distúrbios bioquímicos e fisiológicos (Lu et al., 2023; Barros et al., 2024).

Posto isso, essa tese visa estudar a obtenção de nanopartículas de prata através da síntese verde e realizar sua incorporação em filmes reforçados com nanocelulose para aplicação como revestimento em frutas. A estrutura deste trabalho está organizada em quatro capítulos principais sendo que neste primeiro é apresentado o referencial teórico utilizado como base para a execução do estudo e os objetivos norteadores da presente pesquisa. No segundo capítulo investigamos o uso da casca da amêndoa do cacau para obtenção de nanopartículas de prata, por meio de síntese verde, além de sua caracterização e posterior avaliação de seu efeito contra patógenos de origem alimentar. O terceiro capítulo é dedicado à avaliação da influência da adição das nanopartículas de prata, obtidas por síntese verde com a casca da amêndoa do cacau, e de diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto nas propriedades de bionanocompósitos à base de amido. Por fim, o quarto capítulo estuda a eficácia do bionanocompósito na manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas. Ademais, os resultados apresentados nesta tese possibilitaram o depósito de um pedido de patente, que está anexado ao documento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Embalagens de alimentos

As embalagens de alimentos desempenham um papel crucial, não apenas para embrulhar, proteger e conservar os alimentos durante o armazenamento, transporte e venda, mas também para atender às exigências regulatórias de segurança e fornecer informações nutricionais aos consumidores (Jorge, 2013; Kusuma et al., 2023). Elaboradas a partir de uma variedade de materiais, como plástico, vidro, papel, metal, madeira e tecidos, essas embalagens são especialmente adaptadas para proteger e preservar as características específicas dos diferentes tipos de alimentos (Alamri et al., 2021).

Dado seu papel crucial na preservação e segurança dos alimentos, as embalagens devem cumprir rigorosos requisitos regulatórios de segurança, garantindo a integridade e a qualidade dos produtos, além de fornecer informações nutricionais aos consumidores (Kusuma et al., 2023). Dentre suas funções destacam-se: a proteção física, que possibilita a formação de uma barreira contra danos mecânicos, impactos, umidade, luz e temperatura excessiva, bem como impedir a entrada de água, ar ou microrganismos; a preservação, que ajuda a prolongar a vida útil dos alimentos, mantendo por mais tempo seu frescor, sabor, textura e valor nutricional; a informação, que possibilita a obtenção de dados nutricionais do produto, ingredientes utilizados, prazo de validade, instruções de armazenamento e preparo, e informações sobre potenciais alérgenos; e a identificação, que por meio de elementos visuais diferencia o produto dos demais existentes no mercado e influencia a decisão de compra do consumidor (Paula & Alves, 2023).

O setor de embalagens faz uso dos diversos materiais já mencionados, dentre estes destacam-se os plásticos devido à sua capacidade de serem moldados em uma ampla gama de produtos (Dhanraj et al., 2022). Os plásticos são polímeros formados por carbono, silício, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e cloro, derivados de fontes como carvão, gás natural e, mais predominantemente, petróleo (Hasan et al., 2016; Dhanraj et al., 2022). Características como a facilidade de processamento, o baixo custo, a robustez mecânica, a eficácia como barreira, a leveza, a transparência e a resistência à tração são amplamente reconhecidas nesses materiais (Attaran et al., 2017). Exemplos de plásticos à base de petróleo utilizados na fabricação de embalagens alimentícias incluem o polietileno tereftalato (PET), o polietileno (PE), o poliestireno (PS) e o polipropileno (PP) (Jorge, 2013; Attaran et al., 2017; Dhanraj et al., 2022).

Apesar das vantagens dos materiais plásticos de fonte petrolífera, eles também apresentam desafios significativos. A fabricação e o descarte inadequado desses materiais resultam na liberação de uma série de compostos tóxicos, como monóxido de carbono, ácido clorídrico, cloro, dioxinas, aminas, furanos, nitretos, benzeno, estireno, butadieno e acetaldeído, que podem prejudicar o meio ambiente e representar riscos à saúde humana (Mangaraj et al., 2018). Há, ainda, a preocupação com

a possibilidade de contaminação dos alimentos por compostos químicos provenientes das embalagens (Sid et al., 2021).

Nos últimos anos a produção de plásticos experimentou um crescimento, alcançando um marco significativo em 2021 com uma produção global totalizando 390,7 milhões de toneladas (Plastics Europe, 2024). Este aumento ocorreu apesar de uma desaceleração temporária em 2020, provocada pelos desafios impostos pela pandemia de Covid-19 ao setor. Dentre a produção total em 2021, foi relatado pela Plastics Europe (2024) em seu relatório bienal que apenas uma fração de 32,5 milhões de toneladas derivou de processos de reciclagem, enquanto 5,9 milhões de toneladas consistiam em plásticos de base biológica.

A reciclagem de embalagens e produtos plásticos é frequentemente sugerida para diminuir os efeitos perigosos dos plásticos no meio ambiente (Qahtani et al., 2021). No entanto, o processo de reciclagem não está isento de riscos, principalmente devido à exposição dos envolvidos no processo a compostos químicos nocivos (He et al., 2015). Segundo He et al. (2015), trabalhadores envolvidos na reciclagem de materiais plásticos, como poliestireno, acrilonitrila-butadieno-estireno (ABS), poliamida e cloreto de polivinila (PVC), estão sujeitos à exposição a produtos químicos orgânicos voláteis, esta exposição tem sido associada ao desenvolvimento de câncer (Briassoulis et al., 2021; Sid et al., 2021).

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), a problemática do plástico no mundo atinge dados preocupantes, com apenas um terço dos plásticos produzidos globalmente destinados a um único uso, contribuindo significativamente para o acúmulo de resíduos. A quantidade de plástico que termina nos oceanos, rios e lagos é surpreendente, equivalendo ao descarte diário de mais de 2000 caminhões de lixo. Anualmente, isso se traduz em aproximadamente 19 a 23 milhões de toneladas de resíduos plásticos que poluem os ecossistemas aquáticos. Este desafio ambiental não somente prejudica os habitats e os processos naturais, mas também tem um impacto direto sobre a vida e a segurança alimentar de milhões de pessoas (ONU, 2024).

A preocupação com a poluição por plásticos inclui os riscos à saúde humana, visto que microplásticos degradados no ambiente marinho são consumidos por espécies marinhas e, ao comer frutos do mar, esses compostos podem ser transferidos para os humanos (Dey et al., 2021; Li et al., 2023). A ingestão de microplásticos induz uma variedade de efeitos tóxicos, incluindo stress oxidativo, distúrbios metabólicos, resposta imunitária, neurotoxicidade, bem como efeitos adversos sobre a saúde reprodutiva e o desenvolvimento de organismos, incluindo potenciais efeitos sobre a fertilidade e o desenvolvimento fetal (Sangkham et al., 2022; Li et al., 2023). Além da variedade de aditivos químicos usados para a produção de plásticos, os microplásticos pode carregar consigo poluentes que se ligam a eles no meio ambiente como bifenilos policlorados (PCBs) e

diclorodifeniltricloroetano (DDT), entre outros compostos orgânicos (Athey et al., 2020; Rios-Fuster et al., 2021).

Além dos problemas gerados pela poluição ambiental, durante o armazenamento e processamento de alimentos, substâncias químicas presentes nas embalagens podem migrar para os alimentos, afetando não apenas o sabor e aroma, mas também potencializando riscos à saúde quando excedem limites seguros preestabelecidos (Guerreiro et al., 2018). Dentre os compostos migratórios estão substâncias como plastificantes, antioxidantes, estabilizadores (tanto dos efeitos da luz quanto do calor), lubrificantes, agentes antiestáticos e monômeros (Graíño et al., 2018). Preocupações específicas surgem com a lixiviação de produtos químicos como antimônio, bisfenol A e ftalatos de materiais plásticos reutilizados que não foram adequadamente limpos (Sid et al., 2021). Estudos indicam que, entre os compostos em embalagens plásticas, pelo menos 148 são perigosos, apresentando propriedades cancerígenas, mutagênicas, tóxicas para a reprodução ou que desregulam o sistema endócrino, e muitos desses compostos permanecem não identificados (Muncke, 2021; Sid et al., 2021).

Diante desse panorama, fica evidente a problemática imposta pela produção em massa de plásticos e pela gestão ineficiente de seus resíduos (Samir et al., 2022). Essas questões são centrais para a busca por soluções sustentáveis que atendam às necessidades ambientais e sociais da humanidade (Cakmak, 2023). Para combater tal desafio, emerge como solução a adoção de polímeros biodegradáveis, uma alternativa que visa reduzir o acúmulo de resíduos plásticos e atenuar os impactos ambientais associados. Essa transição para o uso de materiais biodegradáveis constitui um avanço importante rumo à sustentabilidade, sinalizando uma mudança consciente na forma como produzimos e descartamos produtos plásticos (Zhuang et al., 2024).

2.2 Polímeros biodegradáveis

Polímeros biodegradáveis são materiais que se decompõem completamente sob a ação de microrganismos, transformando-se em dióxido de carbono, metano, água e outros produtos de baixo peso molecular através de processos aeróbicos e anaeróbicos (Cakmak, 2023; Zhuang et al., 2024). Esses polímeros são valorizados por sua capacidade de substituir materiais petroquímicos convencionais de forma econômica e sem prejudicar o meio ambiente (Cakmak, 2023).

Os polímeros biodegradáveis podem ser classificados em polímeros naturais e polímeros sintéticos biocompatíveis com base em suas fontes (Samir et al., 2022). Polímeros naturais, provenientes de fontes renováveis ou biológicas como plantas, animais, organismos marinhos e microrganismos, incluem polissacarídeos como amido, celulose e quitosana, e polímeros proteicos como fibroína de seda, colágeno, seda de aranha e proteínas vegetais (Zhuang et al., 2024). Já os polímeros sintéticos são fabricados por síntese química e incluem variedades biodegradáveis, que

contêm ligações éster, amida ou éter, como ácido polilático (PLA), policaprolactona (PCL), poliuretano (PU), polietilenoglicol (PEG), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), polibutileno succinato (PBS) e álcool polivinílico (PVA) (Doppalapudi et al., 2014; Zhuang et al., 2024).

Dentre os polissacarídeos, o amido se destaca como o mais amplamente empregado na produção de biopolímeros, graças ao seu baixo custo, facilidade de manipulação e vasta disponibilidade na natureza (Gamage et al., 2022). O amido é um polímero formado por abundantes unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas, com sua estrutura composta por amilose linear (20-25%) e amilopectina helicoidal/ramificada (75-80%) (Cakmak, 2023; Zhuang et al., 2024). Para transformar o amido em um biopolímero, é necessário quebrar sua estrutura granular semicristalina através do processo de gelatinização, que converte o amido em uma pasta viscoelástica sob condições específicas na presença de excesso de água e temperatura, desfazendo sua cristalinidade e estrutura molecular original através do rompimento das ligações de hidrogênio (Gamage et al., 2022). Este processo resulta na formação de uma matriz polimérica homogênea, majoritariamente amorfa, que ao reassociar suas moléculas em um fenômeno conhecido como retrogradação ou recristalização, cria uma nova estrutura semicristalina essencial para a produção de filmes de amido (Parker & Ring, 2001; Pérez et al., 2009).

A literatura relata a produção de biopolímeros à base de amido oriundos de diversas fontes, tais como milho (Chavez-Esquivel et al., 2022; Blume et al., 2023; Huang et al., 2024; Srivastava et al., 2024), batata (Rommi et al., 2016; Teixeira & Mastro, 2023; Yang et al., 2023), trigo (Rani et al., 2020; Hosseinpourpia et al., 2021; Mohammed et al., 2023), arroz (Benito-González et al., 2022; Erna et al., 2022; Moin et al., 2024), mandioca (Lago et al., 2021; Costa et al., 2023; Wu et al., 2024), além de fontes não convencionais como banana (Taweecat et al., 2021; Chandrasekar et al., 2023) e quinoa (Araujo-Farro et al., 2010; Pagno et al., 2015; Pająk et al., 2019). Dentre as formas de uso desses biopolímeros destacam-se os filmes, provenientes do processo de secagem após a gelatinização do material, sendo utilizados tanto diretamente na embalagem de alimentos quanto como intermediários entre camadas de produtos alimentícios (Shaikh et al., 2021). Os revestimentos representam outra aplicação importante, funcionando como barreiras protetoras aplicadas diretamente em estado líquido ou semissólido sobre o produto alimentício através de imersão ou pulverização (Amin et al., 2021).

Os polímeros à base de amido, apesar de apresentarem diversas vantagens, como serem provenientes de fontes renováveis e biodegradáveis, tendem a mostrar limitações em termos de propriedades mecânicas, incluindo menor flexibilidade e baixa resistência ao impacto, além de uma permeabilidade ao vapor d'água relativamente alta devido à sua natureza hidrofílica (Díez-Pascual, 2019). As deficiências nas características mecânicas mencionadas podem ser melhoradas por meio

de estratégias como modificações químicas, físicas, enzimáticas ou pela adição de outros componentes (Díez-Pascual, 2019; Lago, 2021).

Se tratando de materiais biodegradáveis, os termos biopolímeros, biocompósitos e bionanocompósitos são frequentemente utilizados na área acadêmica.

Biopolímeros são materiais de origem natural com alto peso molecular, constituídos por unidades repetitivas (monômeros) ligadas por ligações covalentes, como é o caso dos biopolímeros à base de amido (Musa & Bwatanglang, 2020). Biocompósitos referem-se a materiais compostos por dois ou mais componentes distintos, em que pelo menos um deles é biológico, como a combinação de biopolímeros de amido com plastificantes para melhorar suas propriedades mecânicas (Manu et al., 2022). Bionanocompósitos, por outro lado, são uma categoria específica de biocompósitos que incluem pelo menos um material em escala nanométrica (menor ou igual a 100 nm), oferecendo melhorias significativas nas propriedades mecânicas e de barreira em comparação aos biopolímeros e biocompósitos tradicionais (Puiggali & Katsarava, 2017). Isso se deve à combinação sinérgica dos diferentes materiais, onde as características de um podem complementar as limitações do outro. Um exemplo proeminente de reforço em bionanocompósitos são as nanofibrilas celulósicas, que podem significativamente aumentar a rigidez e reduzir a permeabilidade ao vapor d'água dos biopolímeros à base de amido, otimizando suas propriedades mecânicas e de barreira (Lago, 2021).

2.3 Nanocelulose

A celulose, um polissacarídeo linear composto por unidades repetidas de β -D-glucopiranosose unidas por ligações β -(1,4) glicosídicas, possui uma conformação em forma de cadeira e caracteriza-se pela presença de uma extremidade redutora com um grupo hemiacetal e uma extremidade não redutora com um grupo hidroxila (Magalhães et al., 2023; Guan et al., 2024; Jabeen & Atif, 2024). A presença desses grupos hidroxila tornam ainda a celulose altamente reativa e suscetível a modificações químicas ou físicas possibilitando que a celulose seja modificada, enxertada ou reticulada através de métodos químicos ou físicos (Magalhães et al., 2023; Liu et al., 2024). A estrutura da celulose se organiza em regiões amorfas, onde estão desordenadamente emaranhadas, e regiões cristalinas, mais ordenadas e compactadas, resultando em uma estrutura densa (Zuppolini et al., 2022). As transições entre essas regiões são graduais e sem fronteiras definidas, com as áreas amorfas sendo mais susceptíveis à degradação em comparação às áreas cristalinas, que são mais resistentes (Li et al., 2021). Através da quebra dessas estruturas celulósicas, é possível obter a nanocelulose, aproveitando suas propriedades singulares para diversas aplicações (Trache et al., 2020; Liu et al., 2024).

Nanocelulose pode ser definida como a parte dos materiais lignocelulósicos que compreende a celulose cristalina e a celulose amorfa, com pelo menos uma dimensão na escala nanométrica

(Phanthong et al., 2018). A síntese e aplicação desses materiais alcançou um crescimento notável devido à sua natureza biodegradável, grande área superficial específica ($>100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), excelentes propriedades mecânicas, alta resistência química, cristalinidade personalizada e fácil funcionalização da superfície (Shamskar et al., 2019). Existem três principais tipos de nanocelulose: celulose nanocristalina, celulose bacteriana ou microbiana e a celulose nanofibrilada (Mishra et al., 2018). Embora compartilhem uma composição química semelhante, rica em grupos hidroxila, apresentem elevada área superficial, boas propriedades mecânicas, biocompatibilidade e biodisponibilidade, os diferentes tipos variam em morfologia, tamanho de partícula, cristalinidade e certas propriedades, atribuíveis às distintas fontes e métodos de extração (Liu et al., 2024).

A celulose nanocristalina (CNC), também chamada de nanocristais de celulose, apresenta-se geralmente na forma de cristais (ou bastões) com diâmetro de 5 nm a 70 nm e comprimento inferior a 500 nm (Xie et al., 2018; Trache et al., 2020). A CNC é obtida geralmente através de hidrólise ácida ou hidrólise enzimática a partir da polpa de celulose. Os processos de hidrólise ácida precisam passar por condições de reação muito severas que geralmente requerem ácido concentrado, enquanto o processo de hidrólise enzimática requer muito tempo (Xie et al., 2018). O processo de hidrólise se inicia com a remoção dos polissacarídeos ligados à superfície das fibrilas e segue com a clivagem e destruição das regiões amorfas, restando a maior parte dos nanocristais de celulose (Mishra et al., 2018; Trache et al., 2020).

A celulose bacteriana ou microbiana (NCB) é produzida por microrganismos do gênero *Gluconacetobacter*, sendo mais utilizado o microrganismo *Gluconacetobacter xylinus* (*Acetobacter xylinus*) (Trache et al., 2020). O cultivo ocorre em meio rico em glicose, em condições aeróbias e com temperatura controlada, onde as cadeias de glicose produzidas durante a biossíntese são perfiladas pelos poros da parede celular do microrganismo, formando estruturas fibrilares que se agregam em uma rede de nanofibras com diâmetros entre 20-100 nm (Jozala et al., 2016; Trache et al., 2020).

A celulose nanofibrilada (NFC) também chamada de nanofibras, microfibras, celulose nanofibrilar e celulose microfibrilar, consiste em nanofibras de celulose longas, flexíveis e emaranhadas (Khalil et al., 2014). Os métodos mais comuns para obter a NFC utilizam a desintegração mecânica da fibra, em que a polpa celulósica ou outro material de interesse é processado em um moinho com uma superfície móvel e outra fixa, facilitando a fibrilação do material conforme ele passa entre essas superfícies (Nechyporchuk et al., 2016). As forças centrípetas fazem com que a polpa de celulose passe por uma fenda entre as superfícies, que é ajustada de forma a ocorrer contato, ocasionando assim a fibrilação da polpa (Banvillet et al., 2023).

No setor de alimentos a NFC apresenta uma vasta aplicação para a elaboração e reforço de materiais para embalagens, como filmes e embalagens inteligentes. A incorporação da NFC em filmes

e revestimentos para alimentos é interessante, pois a maioria das embalagens é limitada como barreira à umidade e a trocas gasosas, além de serem frágeis, termossensíveis e possuírem elevado custo (Camatari et al., 2018). O uso de nanofibrilas celulósicas pode melhorar a flexibilidade, a durabilidade, a estabilidade, a resistência a temperatura e a umidade, as propriedades de barreira às trocas gasosas, aumentando a eficiência da embalagem e a vida útil dos alimentos, e diminuindo os resíduos de embalagens, contribuindo, assim, com um menor impacto ao meio ambiente (Camatari et al., 2018; Viana et al., 2018; Pacaphol et al., 2019). Diversas pesquisas exploram o uso de nanofibrilas celulósicas provenientes de diferentes fontes na elaboração de filmes e revestimentos comestíveis.

Nascimento et al. (2016), conduziram uma pesquisa que investigou a microestrutura, cristalinidade e estabilidade térmica de nanofibrilas de celulose obtidas de casca de arroz por meio de branqueamento e hidrólise ácida em temperatura amena (45 °C) seguida de ultrassonicação. Os autores analisaram os efeitos da adição de nanofibrilas nas propriedades de filmes de amido produzidos por extrusão e concluíram que a NFC de casca de arroz foi capaz de reduzir a opacidade, a permeabilidade ao vapor de água e ocasionar melhorias nas propriedades mecânicas nos filmes de amido.

Tibolla et al. (2020), realizaram um estudo sobre o isolamento de nanofibras de celulose a partir de cascas de banana verde através de hidrólise ácida e tratamento mecânico. Ao adicionar esta NFC a filmes à base de amido de banana, observaram melhorias significativas nas propriedades de barreira à água e mecânicas dos filmes, com variações notáveis dependendo da concentração de ácido usada para a obtenção da nanocelulose. Os filmes com NFC mostraram menor umidade, solubilidade em água e maior resistência à tração, além de reduzirem a transmissão de UV/luz em comparação com o controle.

Lago et al. (2021), investigaram a adição de nanofibrilas de celulose de palha de trigo em filmes de fécula de mandioca, testando concentrações de 0% a 50%. As nanofibrilas melhoraram as propriedades mecânicas e reduziram a permeabilidade ao vapor de água dos filmes, especialmente nas concentrações de 30% e 50%. Essas concentrações também diminuíram a hidrofobicidade dos filmes, sugerindo uma melhor interação com o amido e tornando-os mais eficazes para embalagens.

Tais estudos evidenciam que a nanocelulose, com sua ampla gama de propriedades desejáveis, abre novas possibilidades para a criação de materiais sustentáveis e biodegradáveis. Seu uso na formulação de filmes não só atende à crescente demanda por soluções ecológicas, mas também melhora significativamente a funcionalidade dos materiais, tornando-os mais resistentes e eficientes na preservação dos alimentos. A busca por embalagens mais eficientes e sustentáveis conduz à exploração de aditivos que possam conferir propriedades antimicrobianas, um aspecto fundamental para prolongar a vida útil dos alimentos. Neste contexto, as nanopartículas de prata surgem como um aditivo promissor, graças às suas conhecidas propriedades antimicrobianas. A integração de

nanopartículas de prata em filmes de nanocelulose representa uma abordagem inovadora que combina a sustentabilidade e biodegradabilidade da nanocelulose com as excepcionais capacidades antimicrobianas das nanopartículas de prata.

2.4 Nanopartículas de prata

As nanopartículas (NPs) metálicas são estruturas que possuem pelo menos 50% de suas partículas com pelo menos uma de suas dimensões entre 1 e 100 nm (Teulon et al., 2018). Estas têm gerado muito interesse por apresentarem propriedades físicas, químicas e/ou biológicas únicas, como alta reatividade, capacidade de penetração celular e comportamento óptico distinto, em comparação a partículas macroestruturadas (Güzel & Erdal, 2018). Devido ao seu tamanho em nanoescala, a razão entre a área de superfície e o volume das NPs aumenta, fazendo com que elas se tornem mais reativas. Além disso, podem surgir comportamentos eletrônicos e ópticos diferenciados, devido ao confinamento eletrônico, característica proeminente nas nanopartículas metálicas (NPMs) (Siddiqi et al., 2018; Teulon et al., 2018).

As nanopartículas de prata (AgNPs) são as nanopartículas metálicas com as propriedades antimicrobianas mais recentemente aplicadas em embalagens de alimentos (Vieira et al., 2020). O uso das AgNPs apresenta diversas vantagens quando comparada aos antimicrobianos químicos usados atualmente: AgNPs podem ser dispersas em uma variedade de solventes (incluindo água, isopropanol e etanol) para produzir suspensões convenientes; têm alta eficácia contra fungos em concentrações mais baixas (Abreu et al., 2015; Khanh et al., 2019; Mathew et al., 2019; Saedi et al., 2020), e podem ser consideradas materiais não tóxicos quando sintetizadas usando compostos não tóxicos, sendo mais segura quando comparada com fungicidas carcinogênicos (Mathew et al., 2019). As AgNPs funcionam bem como compostos antimicrobianos porque ocasionam a formação de espécies reativas de oxigênio capazes de se ligar às proteínas de membrana da célula bacteriana causando alterações estruturais na parede celular e conseqüentemente vazamento de substâncias intracelulares ocasionando a morte celular do microrganismo (Fabrega et al., 2011).

As duas principais metodologias empregadas para a síntese de NPs são conhecidas como abordagens top-down e bottom-up (Figura 1) (Dhaka et al., 2023). Estas estratégias englobam métodos de síntese que se classificam em três categorias principais: químicos, físicos e biológicos. A abordagem top-down, que utiliza métodos físicos, parte de um bloco maior de material e o decompõe progressivamente até atingir a escala nanométrica. Exemplos comuns de técnicas top-down incluem a fotolitografia, moagem, litografia por feixe de elétrons e a gravação com plasma iônico, sendo todas estas voltadas para a produção em larga escala de NPs (Fu et al., 2018). Já a abordagem bottom-up parte de átomos e moléculas que se agregam para formar as nanopartículas. Este método é baseado em processos químicos e biológicos, empregando técnicas como o processamento sol-gel, pirólise a

laser, síntese por pulverização de plasma ou chama, deposição química de vapor, automontagem a partir de moléculas de monômeros, precipitação nanoestrutural por métodos eletroquímicos ou químicos, e a síntese bioassistida (Abid et al., 2022). Comparativamente, a abordagem bottom-up é frequentemente considerada como menos custosa e tóxica do que a top-down, oferecendo uma alternativa mais segura e econômica para a produção de nanopartículas (Dhaka et al., 2023).

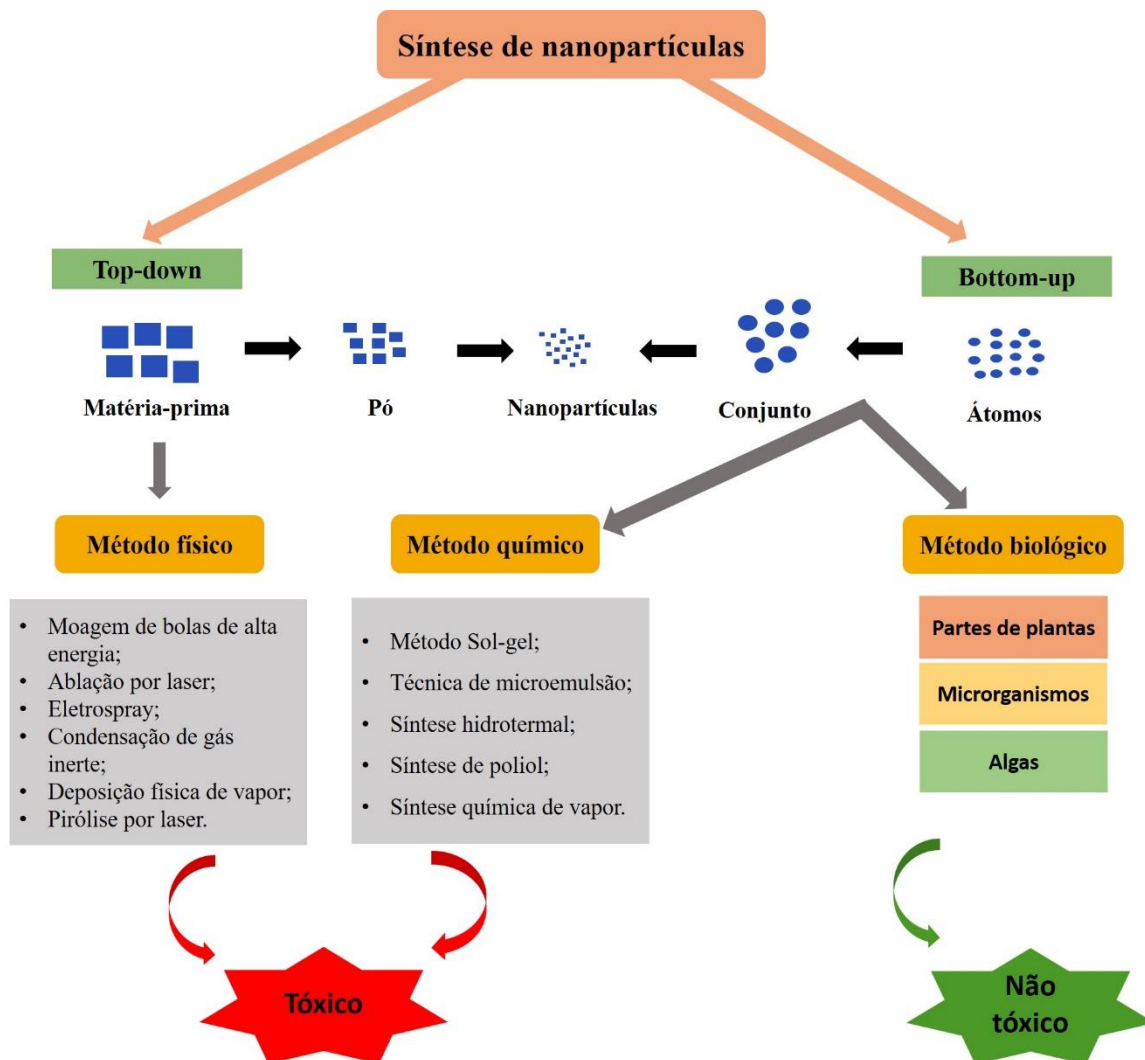


Figura 1 – Métodos usados para a síntese de nanopartículas metálicas.

Fonte: Adaptado de Dhaka et al. (2023)

Os métodos químicos são notáveis pela sua diversidade e eficiência na produção de NPs, incluindo nanopartículas de prata (AgNPs), através de uma variedade de técnicas como o método sol-gel, redução química, deposição química de vapor, microemulsão, redução eletroquímica e síntese de poliol (Jamkhande et al., 2019; Dhaka et al., 2023). Na síntese química de AgNPs, três componentes são essenciais: precursores metálicos, agentes redutores e agentes estabilizantes. Os precursores metálicos comuns são sais de prata, como nitrato de prata (AgNO_3), perclorato de prata (AgClO_4) e tetrafluoroborato de prata (AgBF_4), que são reduzidos a Ag metálico por agentes redutores (Jamkhande et al., 2019). Vários agentes redutores são empregados para essa finalidade, incluindo

citrato de sódio, ascorbato, borohidreto de sódio (NaBH_4), hidrogênio, borohidreto tio-glicerol, 2-mercaptoetanol, o reagente de Tollens e N,N-dimetilformamida (DMF) (Lee & Jun, 2019). Para evitar a aglomeração e manter as nanopartículas estáveis e dispersas, os agentes estabilizantes, como polivinilpirrolidona (PVP), polissacarídeos, álcool polivinílico (PVA), polietilenoglicol (PEG), quitosana, oleilamina e ácido glucônico, são introduzidos. Eles desempenham um papel crucial em manter a dispersão e estabilidade das AgNPs recém-formadas (Lee & Jun, 2019). O controle do tamanho e da forma das AgNPs é fundamental e depende de fatores como as condições de reação (pH, tempo de reação, concentração de sais de prata, agentes redutores e estabilizantes) (McGillicuddy et al., 2017; Satpathy et al., 2018; Vijayaram et al., 2023). Além disso, a morfologia final das NPs é fortemente influenciada pelos processos de nucleação e crescimento subsequente, destacando a importância de um controle preciso sobre as condições de reação para alcançar as características desejadas nas nanopartículas sintetizadas (Dhaka et al., 2023).

Os métodos físicos para a síntese de nanopartículas, incluindo AgNPs, envolvem técnicas diversificadas, tais como ablação a laser, litografia, moagem de bolas, e condensação de vapor. Estes processos podem variar desde métodos mecânicos até técnicas baseadas em vapor, sendo a condensação de vapor uma das mais utilizadas (Jamkhande et al., 2019; Saravanan et al., 2021). Neste método, materiais são vaporizados por uma fonte de calor e, em seguida, rapidamente condensados, permitindo a formação de NPs. Diferentes formas de energia - luminosa, mecânica, térmica, e elétrica - são empregadas para ajustar o tamanho das partículas, com o uso de estabilizadores para prevenir a reagregação e promover a formação de colóides estáveis. A ablação a laser é destacada por criar AgNPs de alta pureza e tamanho controlado através da condensação de nanogotas de prata em um meio líquido de resfriamento (Jamkhande et al., 2019). Alternativamente, a pirólise por spray, uma técnica que envolve a decomposição térmica de uma solução aquosa de precursores de prata em presença de um estabilizador como PVP ou dextrana, permite a síntese de AgNPs monodispersas em uma matriz sem a necessidade de agentes redutores (Jamkhande et al., 2019). Este processo utiliza a atomização ultrassônica e o transporte por gás nitrogênio para proteger as NPs da oxidação, evidenciando a versatilidade e a eficácia dos métodos físicos na produção de nanopartículas (Dhaka et al., 2023).

Os métodos tradicionais de síntese, como os físicos e químicos, embora eficazes, apresentam desafios em termos de custo e impacto ambiental (Osman et al., 2024). Os métodos químicos frequentemente recorrem a substâncias tóxicas e perigosas tanto para o meio ambiente quanto para os seres humanos. Por outro lado, os métodos físicos são caracterizados por seu alto consumo de energia e a necessidade de condições específicas, como temperaturas elevadas e vácuo, além de requererem equipamentos especializados e dispendiosos. Tais métodos também dependem do uso de

agentes estabilizadores e redutores em altas concentrações, que podem ser nocivos à saúde humana e ao meio ambiente (Dhaka et al., 2023).

Atualmente, há um crescente interesse em alternativas mais sustentáveis que reduzam ou eliminem o uso de compostos orgânicos perigosos na síntese de NPs. Assim, a atenção tem se voltado para a síntese verde que oferece uma abordagem mais segura para a produção de NPs (Ali et al., 2021; Osman et al., 2024). O método biológico destaca-se como a opção preferencial para a síntese de NPs, devido a sua eficiência, baixo custo, e minimização de riscos à saúde e ao meio ambiente (Saravanan et al., 2021). Esta abordagem utiliza agentes redutores e estabilizadores naturais, promovendo um processo mais limpo e sustentável. A transição para a síntese biológica de NPs não só atende à demanda por métodos de produção mais seguros e econômicos, mas também alinha a nanotecnologia com os princípios da sustentabilidade ambiental (Dhaka et al., 2023).

Muitos pesquisadores têm sugerido que a abordagem de síntese verde representa uma escolha mais apropriada em comparação com os métodos tradicionais de síntese química e física (Dhaka et al., 2023). Os extratos naturais, como os provenientes de plantas e microrganismos, são utilizados nos processos de síntese biológica. O método de biossíntese que utiliza esses extratos biológicos tem ganhado destaque globalmente devido à presença de diversos metabólitos que não apenas reduzem os íons Ag^+ em AgNPs, mas também os estabilizam, evitando a aglomeração e reduzindo a toxicidade (Saravanan et al., 2021). Além disso, a biossíntese baseada em microrganismos é reconhecida por suas biomoléculas redutoras e de natureza ecologicamente correta. Os compostos fitoquímicos encontrados em extratos naturais, como polissacarídeos, compostos fenólicos, vitaminas, amidas, alcaloides, terpenoides, taninos, ácidos orgânicos e ácidos dicarboxílicos aromáticos, desempenham um papel crucial na redução dos íons Ag^+ em AgNPs durante a síntese biológica (Saravanan et al., 2021).

2.4.1 Síntese verde de AgNPs

As AgNPs podem ser sintetizados por diferentes métodos, sejam eles químicos, físicos ou biológicos (Gomathi et al., 2020). Embora sejam os mais utilizados, os métodos químicos e físicos são onerosos, demorados, prejudiciais ao meio ambiente, utilizam reagentes inflamáveis e tóxicos, e produzem uma quantidade considerável de produtos secundários indesejáveis (Güzel & Erdal, 2018; Soto et al., 2019; Gomathi et al., 2020). Em contrapartida, os métodos biológicos são econômicos, reduzem os gastos com energia e têm uma técnica que traz protocolos benignos ao meio ambiente (Alkhulaifi et al., 2020).

Diante disso, um conceito recentemente apresentado como “síntese verde” consiste na aplicação de princípios da química verde em uma síntese química, como por exemplo, uso de solventes e reagentes não tóxicos, gasto reduzido de energia, reação conduzida a temperatura e

pressão ambiente, matéria-prima renovável, dentre outros (Güzel & Erdal, 2018). Em outras palavras a síntese verde surgiu como uma rota de síntese alternativa, de fácil manuseio e viável aos métodos físicos e químicos, pois é um método mais sustentável, de baixo custo e com geração de produtos menos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente (Salam et al., 2012).

A síntese biológica ou síntese verde é um método que utiliza sistemas biológicos, como plantas e algas, bactérias e fungos, que através de suas proteínas e metabolitos são capazes de transformar íons metálicos em nanopartículas metálicas (Angel et al., 2018). Para a preparação de nanopartículas abordando o método de síntese verde, são necessários a escolha do solvente (de preferência água), um agente redutor e um material para a estabilização das nanopartículas não tóxico (Raveendran et al., 2003).

Dentre os materiais utilizados na síntese verde de AgNPs, extratos provenientes de tecidos e órgãos de plantas têm sido os mais reportados na literatura (Gomathi et al., 2020). Plantas podem atuar como agentes químicos redutores de sais metálicos devido aos seus numerosos componentes. Dentre estes, destacam-se: aminoácidos, compostos fenólicos, terpenoides, ácido cítrico, grupos funcionais (álcoois, aldeídos, amins), compostos heterocíclicos, desidrogenases, CO₂ intracelular, proteínas de membrana, NADP redutases, peptídeos, polissacarídeos, saponinas e ácido tânico (Ingale & Chaudhari, 2013). Alguns desses compostos também podem atuar como agentes estabilizantes, recobrando a superfície das partículas, limitando o seu crescimento excessivo que ocasiona a redução da reatividade das AgNPs (Ingale & Chaudhari, 2013; Gomathi et al., 2020; Vijayaram et al., 2023).

Os compostos fenólicos são os grandes responsáveis pela capacidade de produzir nanopartículas de prata por meio de matrizes vegetais (Kumar et al., 2017). Isso ocorre porque os fitoquímicos apresentam elevada capacidade antioxidante que corrobora para a conversão dos íons Ag⁺ para Ag⁰. Logo, quanto maior a quantidade de agentes redutores, como os compostos fenólicos, maior as chances de sucesso referente à síntese de AgNPs (Soto et al., 2019).

As matrizes vegetais utilizadas para a síntese de AgNPs são diversas, entretanto, o extrato proveniente das folhas (Rasheed et al., 2017) é a escolha mais comum, mas também há estudos reportando o uso de sementes (Vijayaraghavan et al., 2012), cascas (Alkhulaifi et al., 2020; Gomathi et al., 2020) e frutos (Balavijayalakshmi & Ramalakshmi, 2017; Kumar et al., 2017; Odeniyi et al., 2020).

Atualmente, com a crescente preocupação com o meio ambiente, tem-se estimulado o uso ao invés do descarte de resíduos agroindustriais. Estes resíduos são, muitas vezes, ricos em compostos fenólicos com alto potencial antioxidante e, portanto, capazes de serem utilizados para a síntese de AgNPs (Saraiya et al., 2018; Soto et al., 2019; Alkhulaifi et al., 2020; Omran & Baek, 2022). A tabela 1 apresenta uma seleção de estudos que exploram o uso de resíduos agroindustriais na síntese verde de nanopartículas de prata, evidenciando os avanços significativos nesta área de pesquisa. Esses

estudos demonstram a viabilidade de transformar subprodutos, como cascas de frutas (banana, laranja, pinha, cacau, entre outras), sementes (jaca e uva), folhas (abacaxi e couve-flor), e até mesmo a borra de café, em AgNPs. Os resíduos são convertidos em nanopartículas com formatos variados (esférico, irregular, poligonal, triangular, hexagonal), tamanhos que oscilam entre 3 nm e 105 nm, estabilidade variada — avaliada por meio do potencial zeta — e amplo espectro contra microrganismos incluindo bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos. Essas informações destacam as variações nas propriedades das AgNPs a depender da matéria-prima utilizada.

Embora as fontes de investigação de resíduos para a produção de nanopartículas de prata sejam diversas, até o presente momento, nas bases de dados utilizadas pelos autores (Web of Science, PubMed, ScienceDirect, Scopus e SpringerLink) não foram identificadas pesquisas que avaliem especificamente um importante resíduo da indústria de alimentos, a casca da amêndoa do cacau, como precursor na formação de AgNPs. Adicionalmente, há uma carência de estudos focados na aplicação dessas nanopartículas obtidas por síntese verde em alimentos, visando prolongar a vida útil dos mesmos.

Tabela 1 – Estudos envolvendo o uso de resíduos agroindustriais para a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) bem como seu formato, tamanho, potencial zeta e microrganismos alvo da atividade antimicrobiana.

Resíduo utilizado	Formato	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)	Microrganismo alvo	Referência
Casca da banana (<i>Musa paradisiaca</i>)	-	-	-	<i>Candida albicans</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Klebsiella sp.</i>	Bankar et al. (2010)
Casca da laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Esférico	33 para a síntese feita a 25°C; 8 para a síntese feita a 60°C	-	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Kaviya et al. (2011)
Casca da pinha (<i>Annona squamosa</i>)	Esférico irregular	20 a 60	-	-	Kumar et al. (2012)
Semente da jaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.)	Irregular	~10,78	-	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Jagtap e Bapat (2013)
Folhas do abacaxi (<i>Ananas comosus</i>)	Esférico	~12,4	-	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> e <i>Escherichia coli</i>	Emeka et al. (2014)
Semente da uva (<i>Vitis vinífera</i>)	Esférico e poligonal	25 a 35	-28,4	<i>Vibrio alginolyticus</i> , <i>Vibrio anguillarum</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> e <i>Aeromonas punctata</i>	Xu et al. (2015)
Cascas do limão (<i>Citrus limon</i>)	Esférico	10 a 32	-26,1	-	Dauthal e Mukhopadhyay (2015)
Casca da pitaya (<i>Hylocereus undatus</i>)	Esférico	~26	Superior a ±20	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Phongtongpasuk et al. (2016)

Tabela 1 – (continuação)

Resíduo utilizado	Formato	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)	Microrganismo alvo	Referência
Casca do cacau (<i>Theobroma cacao</i>)	Esférico	4 a 32	-	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Aspergillus niger</i>	Lateef et al. (2016)
Vagem da noz de cola (<i>Cola nitida</i>)	Esférico	12 a 80	-	-	Azeez et al. (2017)
Cascas da romã (<i>Punica granatum</i>), laranja (<i>Citrus sinensis</i>), banana (<i>Musa</i> spp.) e maçã (<i>Malus domestica</i>)	Esférico	~25	-	<i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Fusarium</i> e <i>Aeromonas hydrophila</i>	Naganathan e Thirunavukkarasu, (2017)
Casca da laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	-	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella typhimurium</i>	Reena e Menon, (2017)
Casca do caroço do pêsego (<i>Prunus</i> <i>persica</i>)	Ponto	<20	-	-	Khodadadi et al. (2017)
Casca da longana (<i>Dimocarpus longan</i>)	Esférico	~20	-	-	Khan et al. (2018)
Rizoma do <i>Acorus calamus</i>	Esférico	~31,83	-32, 3	-	Nakkala et al. (2018)
Talos da uva (<i>Vitis vinífera</i>)	-	~27,7	-	-	Bastos-Arrieta et al. (2018)
Casca do limão (<i>Citrus limon</i>)	Esférico e irregular	~37,1	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Annu et al. (2018)
Casca da laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Esférico e irregular	~86,4	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Annu et al. (2018)
Casca da laranja-lima (<i>Citrus limetta</i>)	Esférico e irregular	~98,1	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Annu et al. (2018)

Tabela 1 – (continuação)

Resíduo utilizado	Formato	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)	Microrganismo alvo	Referência
Resíduos sólidos do mirtilo (<i>Vaccinium corymbosum</i>) após centrifugação do fruto inteiro	Cúbica	29,4 a 63,1	-35,6 a -20,5	-	Zuorro et al. (2019)
Resíduos sólidos da groselha (<i>Ribes rubrum</i>) após centrifugação do fruto inteiro	Cúbica	25,4 a 64,6	-29,0 a -22,0	-	Zuorro et al. (2019)
Resíduo sólido após o processamento do sapoti (<i>Manilkara zapota</i>)	Esférico	8 a 12	-13,41	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Escherichia coli</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	Vishwasrao et al. (2019)
Resíduo sólido após processamento da uva (<i>Vitis vinífera</i>)	Esférico	3 a 14	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Listeria monocytogenes</i>	Soto et al. (2019)
Resíduo sólido após processamento da laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Esférico	5 a 50	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Listeria monocytogenes</i>	Soto et al. (2019)
Casca do abacaxi (<i>Ananas comosus</i> L.)	Quase esférica	-	-	<i>Bacillus cereus</i> ; <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Enterococcus faecium</i>	Das et al. (2019)
Látex do sapoti (<i>Manilkara zapota</i>)	Esférico	20 a 40	-	-	Thakore et al. (2019)
Bagaço da groselha preta (<i>Ribes nigrum</i>) fornecido por agroindústria	Esférico	40 a 60	-13,41	<i>Escherichia coli</i>	Vorobyova et al. (2020)
Amêndoas da <i>Terminalia bellerica</i>	Esférico	~29,6	-	-	Sherin et al. (2020)
Cascas do tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)	Esférico	21 a 93	-	-	Carbone et al. (2020)
Casca da cebola (<i>Allium cepa</i>)	Esférico	12,5	-	-	Yap et al. (2020)
Resíduo sólido após processamento da uva (<i>Vitis vinífera</i>)	Esférico	20 a 35	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Saratale et al. (2020)
Folhas da couve-flor (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>)	Esférico	5 a 50	-	-	Kadam et al. (2020)
Casca do tamarindo (<i>Tamarindus indica</i>)	Esférico	20 a 52	-	-	Gomathi et al. (2020)

Tabela 1 – (continuação)

Resíduo utilizado	Formato	Tamanho (nm)	Potencial Zeta (mV)	Microrganismo alvo	Referência
Casca do limão (<i>Citrus limon</i>)	Esférico	59,74	-	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Proteus vulgaris</i>	Alkhulaifi et al. (2020)
Casca da noz (<i>Juglans regia</i>)	Esférico	46,2	-41,2	-	Ituen et al. (2021)
Casca da manga (<i>Mangifera indica</i>)	Esférico e elipsoidal	25 a 70	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Xing et al. (2021)
Casca da tangerina (<i>Citrus tangerina</i>)	Triangulares, bastonetes, esféricos e hexagonais	5 a 80	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Niluxsshun et al. (2021)
Casca do limão (<i>Citrus limon</i>)	Esférico, ovais e irregulares	10 a 70	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Niluxsshun et al. (2021)
Casca da laranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Esférico e irregulares	10 a 50	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Niluxsshun et al. (2021)
Borra do café (<i>Coffea arabica</i>)	-	~10	-30,5 a -20,7	-	Zuorro et al. (2022)
Casca do coco (<i>Cocos nucifera</i>)	Esférico	60 a 105	-	<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	Khan et al. (2023)
Casca do grão-de-bico preto (<i>Cicer arietinum</i>)	Esférico	~47,46	47,3	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mouriya et al. (2023)
Casca da romã (<i>Punica granatum</i>)	Cristalino	~60	-	-	Rasool et al. (2024)

2.4.2 Resíduo de interesse: casca da amêndoa do cacau

A casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.), um subproduto proveniente da produção de chocolate, é gerada em quantidades aproximadas de 700 mil toneladas anualmente em escala global (Rojo-Poveda et al., 2020). Esse resíduo faz parte da semente e são separadas dos cotilédones junto com o gérmen durante o processo de pré-torrefação ou após o processo de torrefação das amêndoas do cacau (Vásquez et al., 2019). Costumeiramente as cascas da amêndoa do cacau são subutilizadas, sendo que na indústria são empregadas principalmente como combustível para caldeiras (Arlorio et al., 2005). Esta prática desvaloriza a casca da amêndoa do cacau uma vez que esta apresenta elevada concentração de compostos fenólicos com efeito antioxidante e tem demonstrado ser uma fonte rica e menos onerosa biocompostos (Vásquez et al., 2019).

Pérez (2015) avaliando subprodutos do cacau identificaram procianidinas, entre outros compostos, por análise qualitativa dos metabólitos secundários encontrados na casca da amêndoa do cacau. As procianidinas encontradas no cacau são taninos, os quais podem variar de tamanho partindo desde monômeros até polímeros de cadeia longa (Ortega et al., 2010), sendo seu tamanho descrito pelo grau de polimerização (Gu et al., 2006). Também foram identificadas nas cascas da amêndoa do cacau elevada capacidade antioxidante (Lecumberri et al., 2007; Martínez et al., 2012; Vásquez et al., 2019). Esta foi atribuída à presença de polifenóis (catequina, epicatequina e procianidina B2). Todos esses atributos benéficos indicam que este produto pode ser de grande interesse para a indústria, considerando sua potencial aplicação como ingrediente funcional (Lecumberri et al., 2007).

Através da avaliação do potencial bioativo das cascas da amêndoa do cacau, fica evidente que este material é rico em metabólitos secundários (terpenoides, flavonoides e ácidos fenólicos). A casca da amêndoa do cacau é, portanto, um material rico em compostos bioativos que ainda permanece sendo subutilizado e sem mercado definitivo (Vásquez et al., 2019). Este é, portanto, um resíduo com elevado potencial para ser utilizado e adicionado em materiais com maior valor tanto econômico quanto ecológico. Atualmente a produção de AgNPs por síntese verde tem obtido destaque em razão aos seus benefícios frente as sínteses químicas comumente utilizadas, é de conhecimento que a presença de compostos antioxidantes nas matrizes vegetais são pré-requisito para a eficácia da síntese (Alkhulaifi et al., 2020; Gomathi et al., 2020). Portanto, com base na composição em bioativos da casca da amêndoa do cacau pressupõe-se que este seja um material com elevado potencial para ser aplicado na síntese verde de AgNPs.

2.5 AgNPs e Aplicações em filmes nanocelulósicos

A hibridização de nanocelulose com nanopartículas metálicas tem atraído interesse crescente durante a última década (Errokh et al., 2019). A alta área superficial da nanocelulose promove um carregamento estável de NPs em meio aquoso evitando o uso de solventes orgânicos. As

nanoceluloses híbridas têm amplo potencial como biossensores (Wang et al., 2011), embalagem ativa (Azeredo et al., 2017), curativos (Haider et al., 2018) adsorventes e em dispositivos eletrônicos (Errokh et al., 2019).

Mais especificamente, a hibridização de celulose com AgNPs tem sido objeto de extensa pesquisa com o objetivo de conferir atividade antibacteriana forte e durável à celulose, aproveitando a propriedade bactericida da Ag contra uma ampla gama de bactérias, fungos e vírus (Chernousova & Epple, 2013). A imobilização de AgNPs em nanocelulose evita sua agregação durante o crescimento e reduz o risco de lixiviação para o meio circundante (Errokh et al., 2019).

Os filmes e revestimentos que apresentam nanocelulose e AgNPs são basicamente “embalagens ativas”, capazes de cumprir sua função de barreira contra gases, umidade e luz. Além disso, nos casos de predisposição à contaminação microbiológica do alimento, tais embalagens podem atuar como barreira para o crescimento microbiológico pela presença das AgNPs, com um conseqüentemente aumento no tempo de prateleira do alimento (Fernández et al., 2010; Errokh et al., 2019).

Fernández, Picouet e Lloret (2010), empregaram filmes de celulose contendo AgNPs para armazenamento de cortes de melão fresco. Como resultado, durante o período de armazenamento, esses alimentos apresentaram baixa contagem, em média $3 \log_{10}$ UFC.g⁻¹ a menos, de microrganismos mesófilos, psicotróficos e leveduras, em comparação com filmes de celulose sem a presença de AgNPs.

Claro et al. (2019) confeccionaram filmes de nanocelulose de eucalipto e os impregnou com óleo essencial de calêndula e nanopartículas de prata para testar se suas características físicas e químicas poderiam viabilizar sua utilização como curativos para queimaduras. Segundo os autores, os resultados de cicatrização obtidos com estes filmes apresentaram-se bastante semelhantes aos encontrados com curativos fabricados a partir de celulose bacteriana que já são amplamente utilizados como pele artificial, mas que têm baixa eficiência e elevado custo de fabricação. Porém, não foi observado nos filmes ação antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli* nos testes de disco-difusão em ágar (Claro et al., 2019).

Nesse contexto, a junção das nanopartículas de prata proveniente de fontes seguras e não tóxicas, extraídas de forma segura por meio da síntese verde, com a nanocelulose apresenta-se como um produto que deve ser investigado em razão ao seu potencial de dar origem a filmes e/ou revestimentos que apresentem as características mecânicas e de barreira advindas da nanocelulose mas que também tenha um caráter antimicrobiano fornecido pelas AgNPs.

REFERÊNCIAS

- ABID, N.; KHAN, A.M.; SHUJAIT, S.; CHAUDHARY, K.; IKRAM, M.; IMRAN, M.; HAIDER, J.; KHAN, M.; KHAN, Q.; MAQBOOL, M. Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.300, p.102597, 2022.
- ABREU, A.S.; OLIVEIRA, M.; SÁ, A. DE; RODRIGUES, R.M.; CERQUEIRA, M.A.; VICENTE, A.A.; MACHADO, A. V. Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. **Carbohydrate Polymers**, v.129, p.127–134, 2015.
- ALAMRI, M.S.; QASEM, A.A.A.; MOHAMED, A.A.; HUSSAIN, S.; IBRAHEEM, M.A.; SHAMLAN, G.; ALQAH, H.A.; QASHA, A.S. Food packaging's materials: A food safety perspective. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.28, p.4490–4499, 2021.
- ALI, S.; CHEN, X.; AJMAL SHAH, M.; ALI, M.; ZAREEF, M.; ARSLAN, M.; AHMAD, S.; JIAO, T.; LI, H.; CHEN, Q. The avenue of fruit wastes to worth for synthesis of silver and gold nanoparticles and their antimicrobial application against foodborne pathogens: A review. **Food Chemistry**, v.359, p.129912, 2021.
- ALKHULAIFI, M.M.; ALSHEHRI, J.H.; ALWEHAIBI, M.A.; AWAD, M.A.; AL-ENAZI, N.M.; ALDOSARI, N.S.; HATAMLEH, A.A.; ABDEL- RAOUF, N. Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus limon peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.27, p.3434–3441, 2020.
- AMIN, U.; KHAN, M.U.; MAJEED, Y.; REBEZOV, M.; KHAYRULLIN, M.; BOBKOVA, E.; SHARIATI, M.A.; CHUNG, I.M.; THIRUVENGADAM, M. Potentials of polysaccharides, lipids and proteins in biodegradable food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.183, p.2184–2198, 2021.
- ANGEL, A.E.; VIJAYA, J.J.; KAVIYARASU, K.; KENNEDY, L.J.; RAMALINGAM, R.J.; AL-LOHEDAN, H.A. Green synthesis of NiO nanoparticles using Aegle marmelos leaf extract for the evaluation of in-vitro cytotoxicity, antibacterial and photocatalytic properties. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.180, p.39–50, 2018.
- ANNU; AHMED, S.; KAUR, G.; SHARMA, P.; SINGH, S.; IKRAM, S. Fruit waste (peel) as bio-reductant to synthesize silver nanoparticles with antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. **Journal of Applied Biomedicine**, v.16, p.221–231, 2018.
- ARAUJO-FARRO, P.C.; PODADERA, G.; SOBRAL, P.J.A.; MENEGALLI, F.C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, v.81, p.839–848, 2010.
- ARLORIO, M.; COISSON, J.D.; F. TRAVAGLIA; VARSALDI, F.; MIGLIO, G.; LOMBARDI, G.; MARTELLI, A. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* hulls extracted with supercritical CO₂. **Food Research International**, v.38, p.1009–1014, 2005.
- ATHEY, S.N.; ALBOTRA, S.D.; GORDON, C.A.; MONTELEONE, B.; SEATON, P.; ANDRADY, A.L.; TAYLOR, A.R.; BRANDER, S.M. Trophic transfer of microplastics in an estuarine food chain and the effects of a sorbed legacy pollutant. **Limnology and Oceanography Letters**, v.5, p.154–162, 2020.

- ATTARAN, S.A.; HASSAN, A.; WAHIT, M.U. Materials for food packaging applications based on bio-based polymer nanocomposites. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, v.30, p.143–173, 2017.
- AZEEZ, L.; LATEEF, A.; ADEBISI, S.A. Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of *Cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v.7, p.59–66, 2017.
- AZEREDO, H.M.C.; ROSA, M.F.; MATTOSO, L.H.C. Nanocellulose in bio-based food packaging applications. **Industrial Crops and Products**, v.97, p.664–671, 2017.
- BAHIRAEI, M.; NAGHIBZADEH, S.M.; JAMSHIDMOFID, M. Efficacy of an eco-friendly nanofluid in a miniature heat exchanger regarding to arrangement of silver nanoparticles. **Energy Conversion and Management**, v.144, p.224–234, 2017.
- BALAVIJAYALAKSHMI, J.; RAMALAKSHMI, V. Carica papaya peel mediated synthesis of silver nanoparticles and its antibacterial activity against human pathogens. **Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios**, v.15, p.413–422, 2017.
- BANKAR, A.; JOSHI, B.; KUMAR, A.R.; ZINJARDE, S. Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.368, p.58–63, 2010.
- BANVILLET, G.; GRANGE, C.; CURTIL, D.; PUTAUX, J.L.; DEPRES, G.; BELGACEM, N.; BRAS, J. Cellulose nanofibril production by the combined use of four mechanical fibrillation processes with different deconstruction effects. **Cellulose**, v.30, p.2123–2146, 2023.
- BARROS, H.E.A. DE; NATARELLI, C.V.L.; SANTOS, I.A.; SOARES, L.S.; CARVALHO, E.E.N.; OLIVEIRA, J.E. DE; FRANCO, M.; BOAS, E.V. DE B.VI. Development of poly(vinyl alcohol) nanofibers incorporated with aqueous plant extracts by solution blow spinning and their application as strawberry coatings. **Journal of Food Engineering**, v.363, p.111761, 2024.
- BASTOS-ARRIETA, J.; FLORIDO, A.; PÉREZ-RÀFOLS, C.; SERRANO, N.; FIOL, N.; POCH, J.; VILLAESCUSA, I. Green Synthesis of Ag Nanoparticles Using Grape Stalk Waste Extract for the Modification of Screen-Printed Electrodes. **Nanomaterials**, v.8, p.946, 2018.
- BENITO-GONZÁLEZ, I.; ORTIZ-GIMENO, M. DEL M.; LÓPEZ-RUBIO, A.; MARTÍNEZ-ABAD, A.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, A.; MARTÍNEZ-SANZ, M. Sustainable starch biocomposite films fully-based on white rice (*Oryza sativa*) agroindustrial by-products. **Food and Bioproducts Processing**, v.136, p.47–58, 2022.
- BHADURI, G.A.; LITTLE, R.; KHOMANE, R.B.; LOKHANDE, S.U. Green synthesis of silver nanoparticles using sunlight. **Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry**, v.258, p.1–9, 2013.
- BLUME, W.R.; BELTRAMI, L.V.R.; FRANCISQUETTI, E.L.; ZATTERA, A.J.; HANSEN, B.; CATTO, A.L.; BORSOI, C. Effects of different plasticizers on the physicochemical properties of cellulose nanocrystals-reinforced corn starch films. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.41, p.1–13, 2023.

- BRIASSOULIS, D.; PIKASI, A.; HISKAKIS, M. Recirculation potential of post-consumer /industrial bio-based plastics through mechanical recycling - Techno-economic sustainability criteria and indicators. **Polymer Degradation and Stability**, v.183, p.109217, 2021.
- BRINCHI, L.; COTANA, F.; FORTUNATI, E.; KENNY, J. Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass : Technology and applications. **Carbohydrate Polymers**, v.94, p.154–169, 2013.
- CAKMAK, O.K. Biodegradable Polymers—a Review on Properties, Processing, and Degradation Mechanism. **Circular Economy and Sustainability**, v.4, p.339–362, 2023.
- CAMATARI, F.O. DOS S.; SANTANA, L.C.L. DE A.; CARNELOSSI, M.A.G.; ALEXANDRE, A.P.S.; NUNES, M.L.; GOULART, M.O.F.; NARAIN, N.; SILVA, M.A.A.P. DA. Impact of edible coatings based on cassava starch and chitosan on the post-harvest shelf life of mango (*Mangifera indica*) ‘Tommy Atkins’ fruits. **Food Science and Technology**, v.38, p.86–95, 2018.
- CARBONE, K.; ANGELIS, A. DE; MAZZUCA, C.; SANTANGELO, E.; MACCHIONI, V.; CACCIOTTI, I.; PETRELLA, G.; CICERO, D.O.; MICHELI, L. Microwave-assisted synthesis of catalytic silver nanoparticles by hyperpigmented tomato skins: A green approach. **LWT**, v.133, p.110088, 2020.
- CHANDRASEKAR, C.M.; KRISHNAMACHARI, H.; FARRIS, S.; ROMANO, D. Development and characterization of starch-based bioactive thermoplastic packaging films derived from banana peels. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v.5, p.100328, 2023.
- CHAVEZ-ESQUIVEL, G.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.C.; CERVANTES-CUEVAS, H.; ACOSTA, D.; VERA-RAMÍREZ, M.A. Effect of thermo-alkali treatment on the morphological and electrochemical properties of biopolymer electrolytes based on corn starch–Al(OH)₃. **Polymer Bulletin**, v.79, p.5139–5164, 2022.
- CHERNOUSOVA, S.; EPPLE, M. Silver as antibacterial agent: Ion, nanoparticle, and metal. **Angewandte Chemie**, v.52, p.1636–1653, 2013.
- CLARO, F.C.; MATOS, M.; JORDÃO, C.; AVELINO, F.; LOMONACO, D.; MAGALHÃES, W.L.E. Enhanced microfibrillated cellulose-based film by controlling the hemicellulose content and MFC rheology. **Carbohydrate Polymers**, v.218, p.307–314, 2019.
- COSTA, D.S. DA; COSTA, R.M.R.; TAKEUCHI, K.P.; LOPES, A.S. Technological parameters of cassava starch/carboxymethyl cellulose blend-based films added of soy lecithin and tocopherol mix. **Polymer Testing**, v.129, p.108245, 2023.
- DAS, G.; PATRA, J.K.; DEBNATH, T.; ANSARI, A.; SHIN, H.S. Investigation of antioxidant, antibacterial, antidiabetic, and cytotoxicity potential of silver nanoparticles synthesized using the outer peel extract of *Ananas comosus* (L.). **PLoS ONE**, v.14, p. e0220950, 2019.
- DAUTHAL, P.; MUKHOPADHYAY, M. Agro-industrial waste-mediated synthesis and characterization of gold and silver nanoparticles and their catalytic activity for 4-nitroaniline hydrogenation. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v.32, p.837–844, 2015.
- DEY, A.; DHUMAL, C.V.; SENGUPTA, P.; KUMAR, A.; PRAMANIK, N.K.; ALAM, T. Challenges and possible solutions to mitigate the problems of single-use plastics used for packaging food items: a review. **Journal of Food Science and Technology**, v.58, p.3251–3269, 2021.

- DHAKA, A.; MALI, S.C.; SHARMA, S.; TRIVEDI, R. A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. **Results in Chemistry**, v.6, p.101108, 2023.
- DHANRAJ, N.D.; HATHA, A.A.M.; JISHA, M.S. Biodegradation of petroleum based and bio-based plastics: approaches to increase the rate of biodegradation. **Archives of Microbiology**, v.204, p.1–11, 2022.
- DÍEZ-PASCUAL, A.M. Synthesis and Applications of Biopolymer Composites. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, p.2321, 2019.
- DOPPALAPUDI, S.; JAIN, A.; KHAN, W.; DOMB, A.J. Biodegradable polymers—an overview. **Polymers for Advanced Technologies**, v.25, p.427–435, 2014.
- EMEKA, E.E.; OJIEFOH, O.C.; ALERUCHI, C.; HASSAN, L.A.; CHRISTIANA, O.M.; REBECCA, M.; DARE, E.O.; TEMITOPE, A.E. Evaluation of antibacterial activities of silver nanoparticles green-synthesized using pineapple leaf (*Ananas comosus*). **Micron**, v.57, p.1–5, 2014.
- ERNA, K.H.; FELICIA, W.X.L.; ROVINA, K.; VONNIE, J.M.; HUDA, N. Development of curcumin/rice starch films for sensitive detection of hypoxanthine in chicken and fish meat. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v.3, p.100189, 2022.
- ERROKH, A.; MAGNIN, A.; PUTAUX, J.L.; BOUFI, S. Hybrid nanocellulose decorated with silver nanoparticles as reinforcing filler with antibacterial properties. **Materials Science and Engineering C**, v.105, p.110044, 2019.
- EUROPE, P. **Plastics – the Facts 2022**. Disponível em: <<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>>. Acesso em: 12 mar. 2024.
- FABREGA, J.; LUOMA, S.N.; TYLER, C.R.; GALLOWAY, T.S.; LEAD, J.R. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment. **Environment International**, v.37, p.517–531, 2011.
- FERNÁNDEZ, A.; PICOUET, P.; LLORET, E. Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon. **International Journal of Food Microbiology**, v.142, p.222–228, 2010.
- FLORES-LÓPEZ, M.L.; CERQUEIRA, M.A.; RODRÍGUEZ, D.J. DE; VICENTE, A.A. Perspectives on Utilization of Edible Coatings and Nano-laminate Coatings for Extension of Postharvest Storage of Fruits and Vegetables. **Food Engineering Reviews**, v.8, p.292–305, 2016.
- FU, X.; CAI, J.; ZHANG, X.; LI, W. DI; GE, H.; HU, Y. Top-down fabrication of shape-controlled, monodisperse nanoparticles for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.132, p.169–187, 2018.
- GAMAGE, A.; THIVIYA, P.; MANI, S.; PONNUSAMY, P.G.; MANAMPERI, A.; EVON, P.; MERAH, O.; MADHUJITH, T. Environmental Properties and Applications of Biodegradable Starch-Based Nanocomposites. **Polymers**, v.14, p.4578, 2022.
- GOMATHI, A.C.; XAVIER RAJARATHINAM, S.R.; MOHAMMED SADIQ, A.; RAJESHKUMAR, S. Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit

shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.55, p.101376, 2020.

GRAÍÑO, S.G.; SENDÓN, R.; HERNÁNDEZ, J.L.; QUIRÓS, A.R.B. DE. GC-MS Screening Analysis for the Identification of Potential Migrants in Plastic and Paper-Based Candy Wrappers. **Polymers**, v.10, p.802, 2018.

GU, L.; HOUSE, S.E.; WU, X.; OU, B.; PRIOR, R.L. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4057–4061, 2006.

GUAN, Y.; HE, H.; TANG, D.; GUO, P.; HAN, X.; ZHANG, H.; XU, J.; DAI, L.; HUANG, Z.; SI, C. Functional cellulose paper with high transparency, high haze, and UV-blocking for perovskite solar cells. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, v.7, p.1–12, 2024.

GUERREIRO, T.M.; OLIVEIRA, D.N. DE; MELO, C.F.O.R.; OLIVEIRA LIMA, E. DE; CATHARINO, R.R. Migration from plastic packaging into meat. **Food Research International**, v.109, p.320–324, 2018.

GUIMARÃES, I.C.; REIS, K.C. DOS; MENEZES, E.G.T.; RODRIGUES, A.C.; SILVA, T.F. DA; OLIVEIRA, I.R.N. DE; VILAS BOAS, E. V. DE B. Cellulose microfibrillated suspension of carrots obtained by mechanical defibrillation and their application in edible starch films. **Industrial Crops and Products**, v.89, p.285–294, 2016.

GUTIÉRREZ, T.J.; ALVAREZ, V.A. Bionanocomposite films developed from corn starch and natural and modified nano-clays with or without added blueberry extract. **Food Hydrocolloids**, v.77, p.407–420, 2018.

GÜZEL, R.; ERDAL, G. Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications. In: MAAZ, K. **Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications**. 1.ed. Londres: Intechopen, 2018. cap. 1, p.4-16.

HAIDER, A.; HAIDER, S.; KANG, I.K.; KUMAR, A.; KUMMARA, M.R.; KAMAL, T.; HAN, S.S. A novel use of cellulose based filter paper containing silver nanoparticles for its potential application as wound dressing agent. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.108, p.455–461, 2018.

HASAN, A.; AKHTAR, S.; SIDDIQUI, M.H.; SAYEED, U. Role of microbes in degradation of synthetic plastics and manufacture of bioplastics. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.8, p.211-216, 2016.

HE, Z.; LI, G.; CHEN, J.; HUANG, Y.; AN, T.; ZHANG, C. Pollution characteristics and health risk assessment of volatile organic compounds emitted from different plastic solid waste recycling workshops. **Environment International**, v.77, p.85–94, 2015.

HOSSEINPOURPIA, R.; ADAMOPOULOS, S.; ECHART, A.S.; ECEIZA, A. Polyurethane films prepared with isophorone diisocyanate functionalized wheat starch. **European Polymer Journal**, v.161, p.110826, 2021.

HUANG, X.; WANG, F.; HU, W.; ZOU, Z.; TANG, Q.; LI, H.; XU, L. Smart packaging films based on corn starch/polyvinyl alcohol containing nano SIM-1 for monitoring food freshness. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.256, p.128373, 2024.

IBRAHIM, H.M.M. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v.8, p.265–275, 2015.

INGALE, A.G.; CHAUDHARI, A.N. Biogenic Synthesis of Nanoparticles and Potential Applications: An Eco-Friendly Approach. **Nanomedicine & Nanotechnology**, v.4, p.1–7, 2013.

ITUEN, E.; YUANHUA, L.; VERMA, C.; ALFANTAZI, A.; AKARANTA, O.; EBENSO, E.E. Synthesis and characterization of walnut husk extract-silver nanocomposites for removal of heavy metals from petroleum wastewater and its consequences on pipework steel corrosion. **Journal of Molecular Liquids**, v.335, p.116132, 2021.

JABEEN, N.; ATIF, M. Polysaccharides based biopolymers for biomedical applications: A review. **Polymers for Advanced Technologies**, v.35, p.e6203, 2024.

JAFARI, S.M.; BAHRAMI, I.; DEHNAD, D.; SHAHIDI, S.A. The influence of nanocellulose coating on saffron quality during storage. **Carbohydrate Polymers**, v.181, p.536–542, 2018.

JAGTAP, U.B.; BAPAT, V.A. Green synthesis of silver nanoparticles using *Artocarpus heterophyllus* Lam. seed extract and its antibacterial activity. **Industrial Crops and Products**, v.46, p.132–137, 2013.

JAMKHANDE, P.G.; GHULE, N.W.; BAMER, A.H.; KALASKAR, M.G. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.53, p.101174, 2019.

JAYAPRAKASH, N.; VIJAYA, J.J.; KAVIYARASU, K.; KOMBALIAH, K.; KENNEDY, L.J.; RAMALINGAM, R.J.; MUNUSAMY, M.A.; AL-LOHEDAN, H.A. Green synthesis of Ag nanoparticles using Tamarind fruit extract for the antibacterial studies. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v.169, p.178–185, 2017.

JORGE, N. **Embalagens para alimentos**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2013.

JOZALA, A.F.; LENCASTRE-NOVAES, L.C. DE; LOPES, A.M.; CARVALHO SANTOS-EBINUMA, V. DE; MAZZOLA, P.G.; PESSOA-JR, A.; GROTTTO, D.; GERENUTTI, M.; CHAUD, M.V. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.100, p.2063–2072, 2016.

KADAM, J.; DHAWAL, P.; BARVE, S.; KAKODKAR, S. Green synthesis of silver nanoparticles using cauliflower waste and their multifaceted applications in photocatalytic degradation of methylene blue dye and Hg²⁺ biosensing. **SN Applied Sciences**, v.2, p.1–16, 2020.

KADERIDES, K.; GOULA, A.M. Development and characterization of a new encapsulating agent from orange juice by-products. **Food Research International**, v.100, p.612–622, 2017.

KAVIYA, S.; SANTHANALAKSHMI, J.; VISWANATHAN, B.; MUTHUMARY, J.; SRINIVASAN, K. Biosynthesis of silver nanoparticles using citrus sinensis peel extract and its antibacterial activity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.79, p.594–598, 2011.

KHALIL, H.A.; DAVOUDPOUR, Y.; ISLAM, M.N.; MUSTAPHA, A.; SUDESH, K.;

- DUNGANI, R.; JAWAID, M. Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v.99, p.649–665, 2014.
- KHAN, A.U.; YUAN, Q.; KHAN, Z.U.H.; AHMAD, A.; KHAN, F.U.; TAHIR, K.; SHAKEEL, M.; ULLAH, S. An eco-benign synthesis of AgNPs using aqueous extract of Longan fruit peel: Antiproliferative response against human breast cancer cell line MCF-7, antioxidant and photocatalytic deprivation of methylene blue. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.183, p.367–373, 2018.
- KHAN, H.; RAGHUVANSHI, S.; SAROHA, V.; SINGH, S.; BABA, W.N.; MUDGIL, P.; DUTT, D. Biotransformation of banana peel waste into bacterial nanocellulose and its modification for active antimicrobial packaging using polyvinyl alcohol with in-situ generated silver nanoparticles. **Food Packaging and Shelf Life**, v.38, p.101115, 2023.
- KHANH, L.L.; TRUC, N.T.; DAT, N.T.; NGHI, N.T.P.; TOI, V. VAN; HOAI, N.T.T.; QUYEN, T.N.; LOAN, T.T.T.; HIEP, N.T. Gelatin-stabilized composites of silver nanoparticles and curcumin: characterization, antibacterial and antioxidant study. **Science and Technology of Advanced Materials**, v.20, p.276–290, 2019.
- KHODADADI, B.; BORDBAR, M.; NASROLLAHZADEH, M. Achillea millefolium L. extract mediated green synthesis of waste peach kernel shell supported silver nanoparticles: Application of the nanoparticles for catalytic reduction of a variety of dyes in water. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.493, p.85–93, 2017.
- KOSE, R.; YAMAGUCHI, K.; OKAYAMA, T. Transaction Influence of Addition of Fine Cellulose Fibers on Physical Properties and Structure of Paper. **Sen'i Gakkaishi**, v.71, p.2–7, 2015.
- KUMAR, B.; SMITA, K.; CUMBAL, L.; DEBUT, A. Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.24, p.45–50, 2017.
- KUMAR, R.; ROOPAN, S.M.; PRABHAKARN, A.; KHANNA, V.G.; CHAKROBORTY, S. Agricultural waste Annona squamosa peel extract: Biosynthesis of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.90, p.173–176, 2012.
- KUSUMA, H.S.; YUGIANI, P.; HIMANA, A.I.; AZIZ, A.; PUTRA, D.A.W. Reflections on food security and smart packaging. **Polymer bulletin (Berlin, Germany)**, v.81, p.87–133, 2023.
- LAGO, R.C. DO. **DEVELOPMENT OF STARCH-BASED BIONANOCOMPOSITES REINFORCED WITH NANOFIBRILS OF OAT AND WHEAT INDUSTRY WASTES AND THEIR POST-HARVEST APPLICATION IN FRUITS AND VEGETABLES**. 2021. 231p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.
- LAGO, R.C. DO; OLIVEIRA, A.L.M. DE; DIAS, M.C.; CARVALHO, E.E.N. DE; TONOLI, G.H.D.; BOAS, E.V. DE B.V. Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. **Industrial Crops and Products**, v.148, p.112264, 2020.
- LAGO, R.C. DO; OLIVEIRA, A.L.M.; SANTOS, A. DE A. DOS; ZITHA, E.Z.M.; CARVALHO, E.E.N.; TONOLI, G.H.D.; VILAS BOAS, E.V. DE B. Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier properties of cassava starch – based bionanocomposites. **Industrial Crops & Products**, v.170, p.113816, 2021.

- LATEEF, A.; AZEEZ, M.A.; ASAFA, T.B.; YEKEEN, T.A.; AKINBORO, A.; OLADIPO, I.C.; AZEEZ, L.; OJO, S.A.; GUEGUIM-KANA, E.B.; BEUKES, L.S. Cocoa pod husk extract-mediated biosynthesis of silver nanoparticles: its antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v.6, p.159–169, 2016.
- LU, Q.; YANG, D.; XUE, S. Effects of postharvest gamma irradiation on quality maintenance of Cara Cara navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) during storage. **LWT**, v.184, p.115017, 2023.
- LECUMBERRI, E.; MATEOS, R.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; RUPÉREZ, P.; GOYA, L.; BRAVO, L. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). **Food Chemistry**, v.104, p.948–954, 2007.
- LEE, S.H.; JUN, B.H. Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, p.865, 2019.
- LI, B.F.; MASCHERONI, E.; PIERGIOVANNI, L. The Potential of NanoCellulose in the Packaging Field : A Review, v.28, p.475-508, 2015a.
- LI, D.; LIU, Z.; YUAN, Y.; LIU, Y.; NIU, F. Green synthesis of gallic acid-coated silver nanoparticles with high antimicrobial activity and low cytotoxicity to normal cells. **Process Biochemistry**, v.50, p.357–366, 2015b.
- LI, M.-C.; WU, Q.; MOON, R.J.; HUBBE, M.A.; BORTNER M-C LI, M.J.; WU, Q.; LI, M.; MOON, R.J.; HUBBE, M.A.; BORTNER, M.J. Rheological Aspects of Cellulose Nanomaterials: Governing Factors and Emerging Applications. **Advanced Materials**, v.33, p.2006052, 2021.
- LI, Y.; TAO, L.; WANG, Q.; WANG, F.; LI, G.; SONG, M. Potential Health Impact of Microplastics: A Review of Environmental Distribution, Human Exposure, and Toxic Effects. **Environment & Health**, v.1, p.249–257, 2023.
- LIU, Y.; XU, X.; GAO, M.; GUO, Y.; XU, T.; JIANG, H.; ZHANG, Z.; JI, X.; SI, C. Nanocellulose-based functional materials for physical, chemical, and biological sensing: A review of materials, properties, and perspectives. **Industrial Crops and Products**, v.212, p.118326, 2024.
- MAGALHÃES, S.; FERNANDES, C.; PEDROSA, J.F.S.; ALVES, L.; MEDRONHO, B.; FERREIRA, P.J.T.; RASTEIRO, M. DA G. Eco-Friendly Methods for Extraction and Modification of Cellulose: An Overview. **Polymers**, v.15, p.3138, 2023.
- MANGARAJ, S.; YADAV, A.; BAL, L.M.; DASH, S.K.; MAHANTI, N.K. Application of Biodegradable Polymers in Food Packaging Industry: A Comprehensive Review. **Journal of Packaging Technology and Research**, v.3, p.77–96, 2018.
- MANU, T.; NAZMI, A.R.; SHAHRI, B.; EMERSON, N.; HUBER, T. Biocomposites: A review of materials and perception. **Materials Today Communications**, v.31, p.103308, 2022.
- MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M.A.; FIGUEROA, J.G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. **Food Research International**, v.49, p.39–45, 2012.
- MATHEW, S.; S, S.; MATHEW, J.; RADHAKRISHNAN, E.K. Biodegradable and active nanocomposite pouches reinforced with silver nanoparticles for improved packaging of chicken

sausages. **Food Packaging and Shelf Life**, v.19, p.155–166, 2019.

MCGILLICUDDY, E.; MURRAY, I.; KAVANAGH, S.; MORRISON, L.; FOGARTY, A.; CORMICAN, M.; DOCKERY, P.; PRENDERGAST, M.; ROWAN, N.; MORRIS, D. Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology. **Science of The Total Environment**, v.575, p.231–246, 2017.

MISHRA, R.K.; SABU, A.; TIWARI, S.K. Materials chemistry and the futurist eco-friendly applications of nanocellulose: Status and prospect. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.22, p.949–978, 2018.

MOHAMMED, A.A.B.A.; HASAN, Z.; OMRAN, A.A.B.; ELFAGHI, A.M.; ALI, Y.H.; AKEEL, N.A.A.; ILYAS, R.A.; SAPUAN, S.M. Effect of sugar palm fibers on the properties of blended wheat starch/polyvinyl alcohol (PVA) -based biocomposite films. **Journal of Materials Research and Technology**, v.24, p.1043–1055, 2023.

MOIN, A.; ALI, T.M.; HASNAIN, A. Enhancing functional properties of rice starches through hydroxypropylation for development of reduced-fat white sauces. **Food Chemistry**, v.446, p.138860, 2024.

MOURIYA, G.K.; MOHAMMED, M.; AZMI, A.A.; KHAIRUL, W.M.; KARUNAKARAN, T.; AMIRUL, A.A.A.; RAMAKRISHNA, S.; SANTHANAM, R.; VIGNESWARI, S. Green synthesis of Cicer arietinum waste derived silver nanoparticle for antimicrobial and cytotoxicity properties. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v.47, p.102573, 2023.

MUNCKE, J. Tackling the toxics in plastics packaging. **PLOS Biology**, v.19, p.e3000961, 2021.

MUSA, Y.; BWATANGLANG, I.B. Current role and future developments of biopolymers in green and sustainable chemistry and catalysis. In: MOHAMMAD, F.; JAWAID, M.; AL-LOHEDAN, H. A. **Sustainable Nanocellulose and Nanohydrogels from Natural Sources**. Elsevier, 2020. cap. 6, p.131–154.

NAGANATHAN, K.; THIRUNAVUKKARASU, S. Green way genesis of silver nanoparticles using multiple fruit peels waste and its antimicrobial, anti-oxidant and anti-tumor cell line studies. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v.191, p.012009, 2017.

NAKKALA, J.R.; MATA, R.; RAJA, K.; CHANDRA, V.K.; SADRAS, S.R. Green synthesized silver nanoparticles: Catalytic dye degradation, in vitro anticancer activity and in vivo toxicity in rats. **Materials Science and Engineering: C**, v.91, p.372–381, 2018.

NASCIMENTO, P.; MARIM, R.; CARVALHO, G.; MALI, S. Nanocellulose Produced from Rice Hulls and its Effect on the Properties of Biodegradable Starch Films. **Materials Research**, v.19, p.167–174, 2016.

NASRETDINOVA, G.R.; FAZLEEVA, R.R.; MUKHITOVA, R.K.; NIZAMEEV, I.R.; KADIROV, M.K.; ZIGANSHINA, A.Y.; YANILKIN, V. V. Electrochemistry Communications Electrochemical synthesis of silver nanoparticles in solution. **Electrochemistry Communications**, v.50, p.69–72, 2015.

NECHYPORCHUK, O.; BELGACEM, M.N.; BRAS, J. Production of cellulose nanofibrils: A review of recent advances. **Industrial Crops and Products**, v.93, p.2–25, 2016.

NILUXSSHUN, M.C.D.; MASILAMANI, K.; MATHIVENTHAN, U. Green Synthesis of Silver Nanoparticles from the Extracts of Fruit Peel of Citrus tangerina, Citrus sinensis, and Citrus limon for Antibacterial Activities. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v.2021, p.6695734, 2021.

ODENIYI, M.A.; OKUMAH, V.C.; ADEBAYO-TAYO, B.C.; ODENIYI, O.A. Green synthesis and cream formulations of silver nanoparticles of Nauclea latifolia (African peach) fruit extracts and evaluation of antimicrobial and antioxidant activities. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v.15, p.100197, 2020.

OMRAN, B.A.; BAEK, K.H. Valorization of agro-industrial biowaste to green nanomaterials for wastewater treatment: Approaching green chemistry and circular economy principles. **Journal of Environmental Management**, v.311, p.114806, 2022.

ONU. **World must ‘work as one’ to end plastic pollution: Guterres | UN News**. Disponível em: <<https://news.un.org/en/story/2023/06/1137322>>. Acesso em: 12 mar. 2024.

ORTEGA, N.; ROMERO, M.P.; MACIÀ, A.; REGUANT, J.; ANGLÈS, N.; MORELLÓ, J.R.; MOTILVA, M.J. Comparative study of UPLC-MS/MS and HPLC-MS/MS to determine procyanidins and alkaloids in cocoa samples. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.298–305, 2010.

OSMAN, A.I.; ZHANG, Y.; FARGHALI, M.; RASHWAN, A.K.; ELTAWAIL, A.S.; EL-MONAEM, E.M.A.; MOHAMED, I.M.A.; BADR, M.M.; IHARA, I.; ROONEY, D.W.; YAP, P.S. Synthesis of green nanoparticles for energy, biomedical, environmental, agricultural, and food applications: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v.22, p.841–887, 2024.

PACAPHOL, K.; SERAYPHEAP, K.; AHT-ONG, D. Development and application of nanofibrillated cellulose coating for shelf life extension of fresh-cut vegetable during postharvest storage. **Carbohydrate Polymers**, v.224, p.115167, 2019.

PAGNO, C.H.; COSTA, T.M.H.; MENEZES, E.W. DE; BENVENUTTI, E. V.; HERTZ, P.F.; MATTE, C.R.; TOSATI, J. V.; MONTEIRO, A.R.; RIOS, A.O.; FLÔRES, S.H. Development of active biofilms of quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) starch containing gold nanoparticles and evaluation of antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v.173, p.755–762, 2015.

PAJAŁ, P.; PRZETACZEK-ROŻNOWSKA, I.; JUSZCZAK, L. Development and physicochemical, thermal and mechanical properties of edible films based on pumpkin, lentil and quinoa starches. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.138, p.441–449, 2019.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the Physical Chemistry of Starch. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.1–17, 2001.

PAULA, L.C.P. DE; ALVES, C. Food packaging and endocrine disruptors. **Jornal de Pediatria**, v.100, p. S40-S47, 2023.

PÉREZ, E.; MÉNDEZ, A.; LEÓN, M.; HERNÁNDEZ, G.; SÍVOLI, L. Proximal composition and the nutritional and functional properties of cocoa by-products (pods and husks) for their use in the food industry. **Technology, Rheology, Styling, and Nutrition**, v.10, p.219–234, 2015.

PÉREZ, S.; BALDWIN, P.M.; GALLANT, D.J. Structural Features of Starch Granules I. In: BEMILLER, J.; WHISTLER, R. **Starch**. 3 ed. Academic Press, 2009. cap. 5, p.149–192.

- PHANTHONG, P.; REUBROYCHAROEN, P.; HAO, X.; XU, G.; ABUDULA, A.; GUAN, G. Nanocellulose: Extraction and application. **Carbon Resources Conversion**, v.1, p.32–43, 2018.
- PHONGTONGPASUK, S.; POADANG, S.; YONGVANICH, N. Environmental-friendly method for synthesis of silver nanoparticles from dragon fruit peel extract and their antibacterial activities. **Energy Procedia**, v.89, p.239–247, 2016.
- PUIGGALÍ, J.; KATSARAVA, R. Bionanocomposites. In: JLASSI, K.; CHEHIMI, M. M.; THOMAS, S. **Clay-Polymer Nanocomposites**. Elsevier, 2017. cap 7, p.239–272.
- QAHTANI, S. AL; WUHAYB, F. AL; MANAA, H.; YOUNIS, A.; SEHAR, S. Environmental impact assessment of plastic waste during the outbreak of COVID-19 and integrated strategies for its control and mitigation. **Reviews on environmental health**, v.37, p.585–596, 2021.
- QASIM, U.; OSMAN, A.I.; AL-MUHTASEB, A.H.; FARRELL, C.; AL-ABRI, M.; ALI, M.; VO, D.V.N.; JAMIL, F.; ROONEY, D.W. Renewable cellulosic nanocomposites for food packaging to avoid fossil fuel plastic pollution: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v.19, p.613-641, 2020.
- QING, A.W.; CHEN, K.; WANG, Y.; LIU, X.; LU, M. Green synthesis of silver nanoparticles by waste tea extract and degradation of organic dye in the absence and presence of H₂O₂. **Applied Surface Science**, v.423, p.1019–1024, 2017.
- RANI, S.; KADAM, V.; ROSE, N.M.; JOSE, S.; YADAV, S.; SHAKYAWAR, D.B. Wheat starch, gum arabic and chitosan biopolymer treatment of wool fabric for improved shrink resistance finishing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.163, p.1044–1052, 2020.
- RASHEED, T.; BILAL, M.; IQBAL, H.M.N.; LI, C. Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.158, p.408–415, 2017.
- RASOOL, A.; KIRAN, S.; ABRAR, S.; IQBAL, S.; FAROOQ, T.; JAHAN, N.; MUNIR, B.; YUSUF, M.; MUKHTAR, N. Synthesis and characterization of bio-fabricated silver nanoparticles as green catalysts for mitigation of synthetic dyes: A sustainable environmental remedial approach. **Journal of Molecular Liquids**, v.396, p.124061, 2024.
- RAVEENDRAN, P.; FU, J.; WALLEN, S.L. Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v.125, p.13940–13941, 2003.
- REENAA, M.; MENON, A.S. Synthesis of Silver Nanoparticles from Different Citrus Fruit Peel Extracts and a Comparative Analysis on its Antibacterial Activity. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.6, p.2358–2365, 2017.
- RIOS-FUSTER, B.; ALOMAR, C.; VIÑAS, L.; CAMPILLO, J.A.; PÉREZ-FERNÁNDEZ, B.; ÁLVAREZ, E.; COMPA, M.; DEUDERO, S. Organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) occurrence in *Sparus aurata* exposed to microplastic enriched diets in aquaculture facilities. **Marine Pollution Bulletin**, v.173, p.113030, 2021.
- ROJO-POVEDA, O.; BARBOSA-PEREIRA, L.; ZEPPA, G.; STÉVIGNY, C. Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. **Nutrients**, v.12, p.1123, 2020.

- ROMMI, K.; RAHIKAINEN, J.; VARTIAINEN, J.; HOLOPAINEN, U.; LAHTINEN, P.; HONKAPÄÄ, K.; LANTTO, R. Potato peeling costreams as raw materials for biopolymer film preparation. **Journal of Applied Polymer Science**, v.133, 2016.
- RUIZ-BALTAZAR, Á.D.J.; REYES-LÓPEZ, S.Y.; LARRAÑAGA, D.; ESTÉVEZ, M.; PÉREZ, R. Green synthesis of silver nanoparticles using a *Melissa officinalis* leaf extract with antibacterial properties. **Results in Physics**, v.7, p.2639–2643, 2017.
- SAEDI, S.; SHOKRI, M.; RHIM, J.W. Preparation of carrageenan-based nanocomposite films incorporated with functionalized halloysite using AgNP and sodium dodecyl sulfate. **Food Hydrocolloids**, v.106, p.105934, 2020.
- SALAM, H.A.; RAJIV, P.; KAMARAJ, M.; JAGADEESWARAN, P.; GUNALAN, S.; SIVARAJ, R. Plants: Green Route for Nanoparticle Synthesis. **International Research Journal of Biological Sciences**, v.1, p.85–90, 2012.
- SAMIR, A.; ASHOUR, F.H.; HAKIM, A.A.A.; BASSYOUNI, M. Recent advances in biodegradable polymers for sustainable applications. **npj Materials Degradation**, v.6, p.1–28, 2022.
- SANGKHAM, S.; FAIKHAW, O.; MUNKONG, N.; SAKUNKOO, P.; ARUNLERTAREE, C.; CHAVALI, M.; MOUSAZADEH, M.; TIWARI, A. A review on microplastics and nanoplastics in the environment: Their occurrence, exposure routes, toxic studies, and potential effects on human health. **Marine Pollution Bulletin**, v.181, p.113832, 2022.
- SARAIVA, B.R.; VITAL, A.C.P.; ANJO, F.A.; CESARO, E. DE; MATUMOTO-PINTRO, P.T. Valorização de resíduos agroindustriais: fontes de nutrientes e compostos bioativos para a alimentação humana. **Pubsaúde**, v.1, p.1–10, 2018.
- SARATALE, G.D.; SARATALE, R.G.; KIM, D.S.; KIM, D.Y.; SHIN, H.S. Exploiting Fruit Waste Grape Pomace for Silver Nanoparticles Synthesis, Assessing Their Antioxidant, Antidiabetic Potential and Antibacterial Activity Against Human Pathogens: A Novel Approach. **Nanomaterials**, v.10, p.1457, 2020.
- SARAVANAN, A.; KUMAR, P.S.; KARISHMA, S.; VO, D.V.N.; JEEVANANTHAM, S.; YAASHIKAA, P.R.; GEORGE, C.S. A review on biosynthesis of metal nanoparticles and its environmental applications. **Chemosphere**, v.264, p.128580, 2021.
- SATPATHY, S.; PATRA, A.; AHIRWAR, B.; DELWAR HUSSAIN, M. Antioxidant and anticancer activities of green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of tubers of *Pueraria tuberosa*. **Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology**, v.46, p.S71–S85, 2018.
- SHAIKH, S.; YAQOOB, M.; AGGARWAL, P. An overview of biodegradable packaging in food industry. **Current research in food science**, v.4, p.503–520, 2021.
- SHAMSKAR, K.R.; HEIDARI, H.; RASHIDI, A. Study on Nanocellulose Properties Processed Using Different Methods and Their Aerogels. **Journal of Polymers and the Environment**, v.27, p.1418–1428, 2019.
- SHERIN, L.; SOHAIL, A.; AMJAD, U. E. S.; MUSTAFA, M.; JABEEN, R.; UL-HAMID, A. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia bellerica* kernel extract for catalytic reduction of anthropogenic water pollutants. **Colloid and Interface Science Communications**,

v.37, p.100276, 2020.

SID, S.; MOR, R.S.; KISHORE, A.; SHARANAGAT, V.S. Bio-sourced polymers as alternatives to conventional food packaging materials: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v.115, p.87–104, 2021.

SIDDIQI, K.S.; HUSEN, A.; RAO, R.A.K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **Journal of Nanobiotechnology**, v.16, p.14, 2018.

SILVA, L.E.; SANTOS, A. DE A. DOS; TORRES, L.; MCCAFFREY, Z.; KLAMCZYNSKI, A.; GLENN, G.; NETO, A.R. DE S.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.; ORTS, W.; DAMÁSIO, R.A.P.; TONOLI, G.H.D. Redispersion and structural change evaluation of dried microfibrillated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v.252, p.117165, 2021.

SÖKMEN, M.; ALOMAR, S.Y.; ALBAY, C.; SERDAR, G. Microwave assisted production of silver nanoparticles using green tea extracts. **Journal of Alloys and Compounds**, v.725, p.190–198, 2017.

SOTO, K.M.; QUEZADA-CERVANTES, C.T.; HERNÁNDEZ-ITURRIAGA, M.; LUNA-BÁRCENAS, G.; VAZQUEZ-DUHALT, R.; MENDOZA, S. Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. **Lwt**, v.103, p.293–300, 2019.

SRIVASTAVA, V.; SINGH, S.; DAS, D. Development and characterization of peppermint essential oil/rice husk fibre/ corn starch active biocomposite film and its performance on bread preservation. **Industrial Crops and Products**, v.208, p.117765, 2024.

TAIPALE, T.; RUOKOLAINEN, J.; NYKA, A.; LAINE, J. Effect of microfibrillated cellulose and fines on the drainage of kraft pulp suspension and paper strength. **Cellulose**, v.17, p.1005–1020, 2010.

TAWEECHAT, C.; WONGSOOKA, T.; RAWDKUEN, S. Properties of Banana (Cavendish spp.) Starch Film Incorporated with Banana Peel Extract and Its Application. **Molecules**, v.26, p.1406, 2021.

TAYEB, A.H.; AMINI, E.; GHASEMI, S.; TAJVIDI, M. Cellulose Nanomaterials — Binding Properties and Applications : A Review. **Molecules**, v. 23, p.1–24, 2018.

TEIXEIRA, B.S.; MASTRO, N.L. DEL. Effects of electron beam irradiation on ozone-modified potato starch film. **Radiation Physics and Chemistry**, v.213, p.111234, 2023.

TEULON, J.-M.; GODON, C.; CHANTALAT, L.; MORISCOT, C.; CAMBEDOUZOU, J.; ODORICO, M.; RAVAUX, J.; PODOR, R.; GERDIL, A.; HABERT, A.; HERLIN-BOIME, N.; CHEN, S.-W.W.; PELLEQUER, J.-L. On the Operational Aspects of Measuring Nanoparticle Sizes. **Nanomaterials**, v.9, p. 18, 2018.

THAKORE, S.I.; NAGAR, P.S.; JADEJA, R.N.; THOUNAOJAM, M.; DEVKAR, R. V.; RATHORE, P.S. Sapota fruit latex mediated synthesis of Ag, Cu mono and bimetallic nanoparticles and their in vitro toxicity studies. **Arabian Journal of Chemistry**, v.12, p.694–700, 2019.

TIBOLLA, H.; CZAİKOSKI, A.; PELISSARI, F.M.; MENEGALLI, F.C.; CUNHA, R.L. Starch-based nanocomposites with cellulose nanofibers obtained from chemical and mechanical

treatments. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.161, p.132–146, 2020.

TKACHEVA, N.I.; MOROZOV, S. V; GRIGOR, I.A.; MOGNONOV, D.M.; KOLCHANOV, N.A. Modification of Cellulose as a Promising Direction. v.55, p.409–429, 2013.

TRACHE, D.; TARCHOUN, A.F.; DERRADJI, M.; HAMIDON, T.S.; MASRUCHIN, N.; BROSSE, N.; HUSSIN, M.H. Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. **Frontiers in Chemistry**, v.8, p.392, 2020.

VÁSQUEZ, Z.S.; CARVALHO, D.P. DE; PEREIRA, G.V.M.; VANDENBERGHE, L.P.S.; OLIVEIRA, P.Z. DE; TIBURCIO, P.B.; ROGEZ, H.L.G.; GÓES, A.; SOCCOL, C.R. Biotechnological approaches for cocoa waste management : A review. **Waste Management**, v.90, p.72–83, 2019.

VIANA, L.C.; POTULSKI, D.C.; MUNIZ, G.I.B. DE; ANDRADE, A.S. DE; SILVA, E.L. DA. Nanofibrillated cellulose as an additive for recycled paper. **Cerne**, v.24, p.140–148, 2018.

VIEIRA, A.C.F.; MATOS FONSECA, J. DE; MENEZES, N.M.C.; MONTEIRO, A.R.; VALENCIA, G.A. Active coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and silver nanoparticles to extend the papaya (*Carica papaya* L.) shelf life. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.164, p.489–498, 2020.

VIJAYARAGHAVAN, K.; NALINI, S.P.K.; PRAKASH, N.U.; MADHANKUMAR, D. One step green synthesis of silver nano/microparticles using extracts of *Trachyspermum ammi* and *Papaver somniferum*. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.94, p.114–117, 2012.

VIJAYARAM, S.; RAZAFINDRALAMBO, H.; SUN, Y.Z.; VASANTHARAJ, S.; GHAFARIFARSANI, H.; HOSEINIFAR, S.H.; RAEESZADEH, M. Applications of Green Synthesized Metal Nanoparticles — a Review. **Biological Trace Element Research**, v.202, p.360–386, 2023.

VISHWASRAO, C.; MOMIN, B.; ANANTHANARAYAN, L. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Sapota Fruit Waste and Evaluation of Their Antimicrobial Activity. **Waste and Biomass Valorization**, v.10, p.2353–2363, 2019.

VOROBYOVA, V.; VASYLIEV, G.; SKIBA, M. Eco-friendly “green” synthesis of silver nanoparticles with the black currant pomace extract and its antibacterial, electrochemical, and antioxidant activity. **Applied Nanoscience (Switzerland)**, v.10, p.4523–4534, 2020.

WANG, W.; ZHANG, T.J.; ZHANG, D.W.; LI, H.Y.; MA, Y.R.; QI, L.M.; ZHOU, Y.L.; ZHANG, X.X. Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on the immobilization of heme proteins on gold nanoparticles-bacteria cellulose nanofibers nanocomposite. **Talanta**, v.84, p.71–77, 2011.

WU, X.; YAN, X.; ZHANG, J.; WU, X.; LUAN, M.; ZHANG, Q. Preparation and characterization of pH-sensitive intelligent packaging films based on cassava starch/polyvinyl alcohol matrices containing *Aronia melanocarpa* anthocyanins. **LWT**, v.194, p.115818, 2024.

XIE, H.; DU, H.; YANG, X.; SI, C. Recent Strategies in Preparation of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Derived from Raw Cellulose Materials. **International Journal of Polymer Science**, v.2018, p. 7923068, 2018.

XING, Y.; LIAO, X.; LIU, X.; LI, W.; HUANG, R.; TANG, J.; XU, Q.; LI, X.; YU, J.

Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized with the Peel Extract of Mango. **Materials**, v.14, p.5878, 2021.

XU, H.; WANG, L.; SU, H.; GU, L.; HAN, T.; MENG, F.; LIU, C. Making Good Use of Food Wastes: Green Synthesis of Highly Stabilized Silver Nanoparticles from Grape Seed Extract and Their Antimicrobial Activity. **Food Biophysics**, v.10, p.12–18, 2015.

YANG, N.; ZOU, F.; TAO, H.; GUO, L.; CUI, B.; FANG, Y.; LU, L.; WU, Z.; YUAN, C.; ZHAO, M.; LIU, P.; DONG, D.; GAO, W. Effects of primary, secondary and tertiary structures on functional properties of thermoplastic starch biopolymer blend films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.236, p.124006, 2023.

YAP, Y.H.; AZMI, A.A.; MOHD, N.K.; YONG, F.S.J.; KAN, S.Y.; THIRMIZIR, M.Z.A.; CHIA, P.W. Green Synthesis of Silver Nanoparticle Using Water Extract of Onion Peel and Application in the Acetylation Reaction. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v.45, p.4797–4807, 2020.

ZHUANG, X.; WANG, F.; HU, X. Biodegradable polymers: A promising solution for green energy devices. **European Polymer Journal**, v.204, p.112696, 2024.

ZUORRO, A.; IANNONE, A.; MIGLIETTA, S.; LAVECCHIA, R. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Spent Coffee Ground Extracts: Process Modelling and Optimization. **Nanomaterials**, v.12, p.2597, 2022.

ZUORRO, A.; IANNONE, A.; NATALI, S.; LAVECCHIA, R. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Bilberry and Red Currant Waste Extracts. **Processes**, v.7, p.193, 2019.

ZUPPOLINI, S.; SALAMA, A.; CRUZ-MAYA, I.; GUARINO, V.; BORRIELLO, A. Cellulose Amphiphilic Materials: Chemistry, Process and Applications. **Pharmaceutics**, v.14, p. 386, 2022.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Obter nanopartículas de prata através da síntese verde e realizar sua incorporação em filmes de nanocelulose para aplicação como revestimento em frutas.

3.2 Objetivos específicos

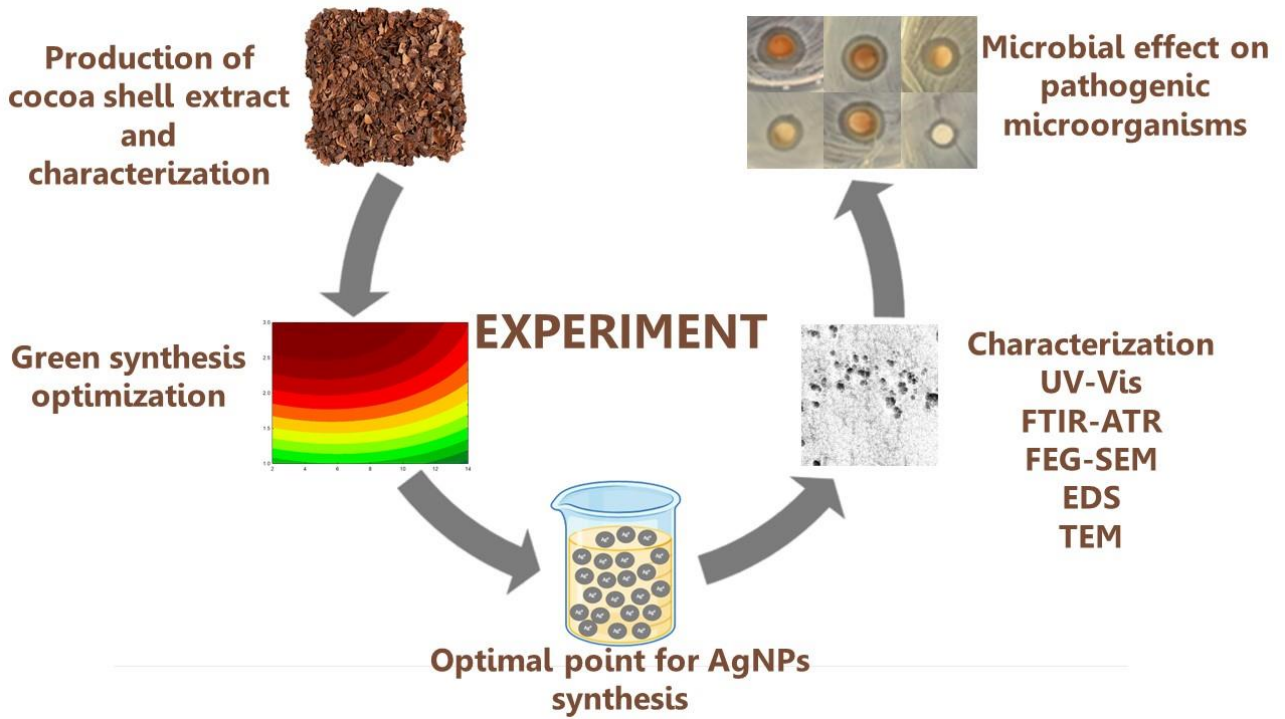
- Sintetizar nanopartículas de prata empregando o extrato aquoso da casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.);
- Realizar a caracterização estrutural e físico-química das nanopartículas obtidas;
- Produzir revestimento utilizando nanocelulose comercial de eucalipto adicionada das nanopartículas de pratas obtidas;
- Caracterizar o revestimento quanto às propriedades físicas, microestruturais e de permeabilidade;
- Avaliar o potencial tecnológico do revestimento no período pós-colheita da laranja.

CAPÍTULO II

Artigo 1: Cocoa Bean Shell Wastes for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activity Against Foodborne Pathogens

Artigo publicado na revista *Food and Bioprocess Technology* – ISSN: 1935-5149

Graphical abstract



Cocoa bean shell wastes for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens

Ingrid Alves Santos^a, Hanna Elisia Araújo de Barros^b, Danilo José Machado de Abreu^c, Igor Carvalho Fontes Sampaio^d, Elano Pinheiro Pereira^b, Cristiane dos Reis Feliciano^e, Mariane Gonçalves Santos^e, Juliano Elvis de Oliveira^f, Roberta Hilsdorf Piccoli^c, Muhammad Irfan^g, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas^b, Marcelo Franco^{d*}

^aDepartment of Exact Sciences and Natural, State University of Southwestern Bahia, Postal Code: 45700-000, Itapetinga, Brazil.

^bDepartment of Food Science, Federal University of Lavras, Postal Code: 37200-000, Lavras, Brazil.

^cDepartment of Biology, Federal University of Lavras, Postal Code: 372000-900, Lavras, Brazil.

^dBiotransformation and Organic Biocatalysis Research Group, Department of Exact Sciences, Santa Cruz State University, Postal Code: 45654-370, Ilhéus, Brazil.

^eToxicants and Drugs Analysis Laboratory, Federal University of Alfenas, Postal Code: 37130-000, Alfenas, Brazil.

^fDepartment of Engineering, Federal University of Lavras, Postal Code: 372000-900, Lavras, Brazil.

^gDepartment of Biotechnology, Faculty of Science, University of Sargodha, 40100, Sargodha, Pakistan

*Corresponding Author: Marcelo Franco

Phone = +55 073 3231 4158; Fax = +55 073 3680 5355

e-mail = mfranco@uesc.br

Abstract

The green synthesis of silver nanoparticles offers a non-toxic, eco-friendly, economical, and efficient solution against various microorganisms. The study aimed to investigate the utilization of cocoa bean shells for the production of silver nanoparticles through green synthesis, besides its characterization and evaluation against foodborne pathogens. To this end, total phenolic compounds, individual bioactive compounds and antioxidant activity were evaluated in the aqueous extract of the cocoa bean shell. In addition, the size and stability of the silver nanoparticles were investigated (zeta potential and dynamic light scattering), morphology (scanning electron microscopy), chemical composition (mid-infrared spectroscopy), and their effectiveness against *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004), and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883). The extract was rich in reducing agents and efficiently produced AgNPs with high surface area (74.51 ± 0.38 nm) and stability (-17.97 ± 0.12 mV). The nanoparticles were also found to be effective against all tested pathogens, demonstrating the potential of agro-industrial waste to produce AgNPs for various industrial applications.

Keywords: Nanotechnology; Nanoscience; Waste Valorization; Upcycling; Bioactive compounds; *Theobroma cacao* L.

Introduction

Silver nanoparticles (AgNPs) are unique among metallic nanoparticles for their high catalytic and antimicrobial activities (Rasheed et al., 2017). These properties aroused the interest of researchers regarding the use of AgNPs in food packaging to extend shelf life (Vieira et al., 2020) beyond therapeutic purposes in wound infections, dressings, and as coatings for surfaces (Carrillo-González et al., 2016; Nga et al., 2022). The main advantage of utilizing AgNPs lies in their remarkable effectiveness against both deteriorating and pathogenic microorganisms. They offer a safer alternative to carcinogenic fungicides and bactericides (Mathew et al., 2019; Munir et al., 2020).

There are several methods for synthesizing AgNPs, including electrochemical (Nasretdinova et al., 2015) or chemical reduction, heat-induced evaporation (Bahiraei et al., 2017), microwave (Sökmen et al., 2017) and sunlight (Bhaduri et al., 2013). Most of these methods are expensive, energy-intensive, require hazardous chemicals, and produce significant amounts of unwanted by-products (Gomathi et al., 2019; Alkhulaifi et al., 2020). Green synthesis of nanoparticles offers several advantages, including the use of environmentally friendly solvents and non-toxic reducing agents from plants, bacteria, or fungi, which also improve nanoparticle stability (Li et al., 2015; Soto et al., 2019; Liu et al., 2020).

Green synthesis is a more eco-friendly, economical, and efficient approach that yields a non-toxic product. AgNPs can be synthesized using plant and fruit extracts such as *Melissa officinalis* (Ruíz-baltazar et al., 2017), *Artemisia vulgaris* (Rasheed et al., 2017), tamarind (Jayaprakash et al., 2017), Andean blackberry (Kumar et al., 2017), and pitaya (Phongtongpasuk et al., 2016), among others. The synthesis of AgNPs from plant extracts involves the chemical reduction of Ag^+ to Ag^0 using secondary metabolites such as terpenoids, alkaloids, flavonoids, and phenolic acids (Njiemou et al., 2022). The use of agro-industrial waste as a source of reducing agents offers considerable economic benefits and has gained popularity as these materials contain bioactive compounds, such as phenolic compounds (Boateng, 2023). Various waste products have been used to synthesize AgNPs, including banana peels (Ibrahim 2015), tea residues (Qing et al., 2017) and orange peel (Soto et al., 2019).

Cocoa bean shells (*Theobroma cacao* L.) constitute approximately 20% of the fruit bean corresponding to a significant portion of the waste generated by the cocoa industry (Arlorio et al., 2005). Among the products and by-products obtained from cocoa, almond shells have a high concentration of phenolic compounds with significant antioxidant effects, and they are a rich source of these bioactive compounds (Lessa et al., 2018; Vásquez et al., 2019). The evaluation of the bioactive potential of cocoa bean shells reveals that this material is rich in secondary metabolites (terpenoids, flavonoids, and phenolic acids) (Lessa et al., 2018; Vásquez et al., 2019), which are

essential compounds for green synthesis of AgNPs. To date, no studies that examine the use of cocoa bean shells for producing and characterizing silver nanoparticles have been found.

Previous studies have explored the antimicrobial potential of metallic nanoparticles (Jokar et al., 2012; Azlin-Hasim et al., 2016; Becaro et al., 2016; Zhang et al., 2020; Ortiz-Duarte et al., 2021) along with their corresponding oxides (Amna et al., 2013; Meng et al., 2013; Arfat et al., 2016; Sahraee et al., 2017; Amjadi et al., 2019; Souza et al., 2021; Malik et al., 2021; Deshmukh et al., 2022; Liu et al., 2023; Souri et al., 2023) yielding encouraging and promising outcomes. Notably, the silver nanoparticles evaluated in this study, synthesized using a green approach, stand out due to their utilization of a typically discarded agro-industrial residue as a reducing agent. This study thus embraces an economically viable, sustainable, and ecologically conscious perspective.

Herein, we investigated the use of cocoa bean shells to obtain silver nanoparticles, through green synthesis, besides its characterization and subsequent evaluation of its effect against foodborne pathogens. Thus, total phenolic compounds, individual bioactive compounds and antioxidant activity were evaluated in the aqueous extract of the cocoa bean shell. In addition, the size and stability of the silver nanoparticles were investigated (zeta potential and dynamic light scattering), morphology (scanning electron microscopy), chemical composition (mid-infrared spectroscopy) and the effect against *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883) were performed.

Materials and methods

Obtaining and characterizing the aqueous extract of the cocoa bean shell

Three lots of cocoa bean shells (*Theobroma cacao* L.) were obtained from agro-industries in Ilhéus, Bahia, Brazil. The aqueous extract was prepared according to the methodology described by Soto et al. (2019) with some modifications. The procedure involved the addition of 10 g of sieved waste (35 mesh) to 100 mL of deionized water, followed by ultrasound-assisted extraction (UNIQUE USC-1600a, Brazil) for 30 minutes. The resulting extract was centrifuged (Sigma Laboratory Centrifuges 3K30, Germany) at 1000 g for 15 minutes, and the supernatant was lyophilized (LIOBRAS L101, Brazil) and stored at low temperature (-80 ± 5 °C).

To characterize the aqueous extract, total phenolic compounds (TPC), individual bioactive compounds (IBC) and antioxidant activity (AA) were determined. The TPC were determined according to the methodology proposed by Medina (2011). An amount of 4 mL of the extracts were mixed with 0.4 mL of 0.01% Fast blue solution and 0.4 mL of 5% NaOH. After an hour of incubation in the dark, readings were taken using a spectrophotometer (Biochrom EZ Read 2000, United Kingdom) at 420 nm. Results were expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) per 100 mL extract.

IBC quantification and identification were performed using high-performance liquid chromatography (HPLC-DAD/UV-Vis) (Shimadzu, LC-20, Japan) following the protocol performed by (Lago et al., (2023)). The compounds were detected at 280 nm and identified by comparison of retention times with external standards (trigonelline, theobromine, catechin, resveratrol, vanillin, and gallic, chlorogenic, ferulic, caffeic, o-coumaric, m-coumaric, p-coumaric, syringic, rosmarinic and trans-cinnamic acids). Results were expressed as mg of the compound per 100 mL of the sample.

Antioxidant activity was determined using four assays: the 2,2-difenil-1-picrilhidrazil radical assay (DPPH) (Brand-Williams et al., 1995), the 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical assay (ABTS) (Re et al., 1998), the phosphomolybdenum complex assay (Prieto et al., 1999) and the β -carotene/linoleic acid system assay (Marco, 1968). The results of the DPPH and ABTS assays were expressed as effective concentration (EC_{50}) in $\mu\text{g.mL}^{-1}$, those of the phosphomolybdenum assay were expressed as mg of ascorbic acid equivalent (EAA) per mL of extract, and those of the β -carotene/linoleic acid assay were expressed in % of protection.

Optimization of green synthesis and silver nanoparticles characterization

Box-Behnken Design

The green synthesis was performed according to the methodology proposed by Soto et al., (2019) with adaptations. An amount of 10 mL of the mixture of the lyophilized extract and the aqueous solution of AgNO_3 was added in a hydrothermal reactor (WT Industria, DWTI-439-15, Brazil), with a 2:1 (mg.mL^{-1}) proportion in all samples.

The Box-Behnken Design (BBD) was applied to optimize the process, considering the independent variables of temperature, time, and AgNO_3 concentration. The experimental matrix consisted of fifteen experimental runs, including repetitions of central point levels (Table 1). The size of the nanoparticles was designated as the dependent variable.

Characterization of silver nanoparticles

The nanoparticles obtained at the optimum point of synthesis were characterized using Dynamic Light Scattering (DLS), Zeta Potential (ZP), Ultraviolet-Visible (UV-vis) Spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR), Field Emission Gun – Scanning Electron Microscope (FEG-SEM), Transmission Electronic Microscopy (TEM) and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS).

The size of the AgNPs was determined using DLS, and it was expressed in nm. The stability of the nanoparticles was evaluated by their ZP, expressed in mV. These determinations were performed using the Zetasizer Nano ZS particle analyzer (Malvern Instruments, ZEN 3600, United Kingdom).

UV-Vis spectra were obtained using a spectrometer (Biochrom, EZ Read 2000, United Kingdom). Suspensions were diluted 10 times in ultrapure water before analysis. The reading was performed in the wavelength range from 300 nm to 800 nm.

FTIR-ATR analysis was performed using a Varian 600-IR Fourier Transform (FT-IR) spectrometer equipped with a Pike Technologies GladiATR accessory for attenuated total reflectance (ATR) measurements at a 45° angle using zinc. The spectral range analyzed was from 400 cm⁻¹ to 4000 cm⁻¹ with a resolution of 2 cm⁻¹ and 32 scans.

FEG-SEM, EDS, and TEM were performed using a Tescan CLARA model microscope. For FEG-SEM and EDS, small aliquots of the solution containing the AgNPs were placed on a stub with carbon tape and analyzed after carbon coating. Using the secondary electron detector, the applied accelerating voltage was 20 keV, and the increases varied between 100 and 200 thousand times. For TEM, a drop of aqueous suspension of 10% of AgNPs was deposited on copper micro-networks containing Formvar, which were dried at room temperature and subsequently analyzed at an accelerating voltage of 15 keV at magnifications of 100 and 300 thousand times.

Application of silver nanoparticles

The AgNPs obtained at the optimal point of synthesis underwent disk-diffusion assays on agar and minimum inhibitory concentration to evaluate their antibacterial activity against strains of *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004), and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

Disk diffusion in agar

This determination was performed according to the methodology proposed by Patel et al. (2013), with some modifications. The bacteria strains were grown in a typical soy broth and incubated at 35 °C for 24 hours to evaluate the antimicrobial activity of the AgNPs. The cell suspensions were diluted in a saline solution (0.9% NaCl) until a suspension equivalent to 0.5 on the MacFarland scale (approximately 10⁸ CFU.mL⁻¹) was obtained. Bacterial suspensions were seeded on plates previously prepared with Plate Count Agar (PCA) medium, enriched with 0.6% yeast extract only for *Listeria monocytogenes* seeding. Sterilized filter paper discs were then placed on the seeded plates, and 10 µL of the AgNP samples were added to the discs. The antimicrobial activity of an aqueous cocoa bean shell extract (0.1 mg.mL⁻¹) and chloramphenicol (500 µg.mL⁻¹) were included as references. After incubating for 24 h at 37 °C, the inhibition zone was measured, and the results were expressed in millimeters.

Minimum inhibitory concentration

The minimum inhibitory concentration (MIC) of the synthesized AgNPs was determined using the method described in the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) guideline (2019). The test was performed in a 96-well round-bottom microplate (12 columns with 8 rows) using standard broth microdilution methods. The bacterial inoculum was adjusted to a concentration of 10^8 CFU.mL⁻¹ using the MacFarland scale. A 150 μ L aliquot of tryptic soy broth (TSB) was added to each microplate well, except for the first row. The first row was filled with 300 μ L of a 10% AgNPs solution in TSB broth. Then, 150 μ L was removed from the first row and added to the second row, and this was repeated until the plate was complete. Finally, 10 μ L of the prepared bacterial culture was inoculated into each well, except for the negative control. The plates were incubated at 37 °C for 24 h and then read using a Biochrom EZ Read 2000 microplate reader with a wavelength of 630 nm.

Statistical analysis

All determinations were performed in triplicate, and the results were expressed as mean \pm standard deviation. Means were compared by the Tukey test ($p \leq 0.05$) using the Statistica software, which was also used to perform the Box-Behnken Design planning and the Response Surface Methodology.

Results and discussion

Characterization of the aqueous extract of the cocoa bean shell

The aqueous extract of the cocoa bean shell presented total and individual phenolic compounds and alkaloids (Table 2). Among the 15 individual bioactive compounds investigated, nine were specifically identified. These include phenolic acids (gallic acid, chlorogenic acid, caffeic acid, syringic acid, p-coumaric acid, o-coumaric acid), flavonoids (catechin), stilbene (resveratrol), and alkaloid (theobromine).

The alkaloid theobromine, which is part of the methylxanthine group, stands out among the identified compounds because it is more abundant ($174.50 \pm 0.24 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) than others. The presence of theobromine in cocoa shells is in accordance with recent studies, such as the one performed by Pagliari et al. (2022), who showed a higher theobromine content ($35.9 \pm 0.21 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$) than the one found in this study. This difference may be due to a different migration of methylxanthines from the almond to the shell during roasting or because the concentration of secondary metabolites generally depends on the origin of the cocoa, cultivars, harvesting time, extraction method, among other factors (Goya et al., 2022).

The antioxidant activity (Table 3) was evaluated using different assays to investigate the action of the extract under different mechanisms. The DPPH and ABTS assays verify the material's ability to capture free radicals. The results for these determinations were expressed in effective concentration (EC_{50}), indicating the concentration required to reduce 50% of the radicals in the medium. Therefore, the lower the EC_{50} value, the better the antioxidant capacity. The extract evaluated effectively captured free radicals using both tests (DPPH and ABTS).

The antioxidant activity determined by the phosphomolybdenum complex method was also confirmed, which means that the extract was able to reduce the molybdenum (+6) to molybdenum (+5), suggesting its ability to donate electrons and prevent or slow oxidative processes.

Considering the protection efficiency (%) determined by the β -carotene/linoleic acid method, which measures the effectiveness of antioxidants in preventing lipid peroxidation, foods can be classified into three categories: high (>70%), intermediate (40-70%), and low (<40%) antioxidant activity (Barros et al., 2020). It can therefore be inferred that the almond shell extract has high antioxidant activity, with a value of $87.26\% \pm 4.61$. Studies by Martínez et al. (2012) and Lecumberri et al. (2007) showed that the almond shell of cocoa is an important source of phenolic compounds with high antioxidant activity, thus supporting the results obtained in this study.

Moreover, phenolic compounds come from the secondary metabolism of plants and act as free radical scavengers and metal chelators, exhibiting action in both the initiation and propagation stages of the oxidative process (Santos et al., 2022). Therefore, antioxidant activity is closely related to the molecular structure of phenolic compounds, and the presence of various phenolic compounds

detected in the cocoa bean shell explains its high antioxidant capacity. In conclusion, the cocoa bean shell showed adequate chemical characteristics to be used as a reducing agent for Ag^+ ions to Ag^0 and give rise to AgNPs.

Optimization of the green synthesis of silver nanoparticles

The response surface methodology was used to determine the optimum synthesis point, which was subjected to further analysis. The independent variables that significantly affected the average particle diameter were temperature and silver nitrate concentration. In Fig. 1, where green tones indicate particles with smaller diameters, it can be seen that lower concentrations of silver nitrate and low synthesis temperatures gave rise to smaller diameter silver nanoparticles.

The use of low synthesis temperatures and a lower concentration of precursor (silver nitrate) showed the effectiveness of the aqueous extract of the cocoa bean shell as a reducing agent. This result is highly satisfactory as it was possible to prove the effectiveness of a green synthesis with the lowest possible energy consumption. Based on the results observed using the response surface methodology, experiment 5 was chosen, which resulted in nanoparticles with a diameter of 74.51 ± 0.38 nm.

The nanoparticles obtained using the conditions of experiment 5 were also evaluated for their zeta potential to obtain information about their stability. According to Pate and Safier (2016) a zeta potential of 0 to ± 5 indicates colloidal instability with rapid agglomeration. This is due to the absence of repulsive forces between the particles, which prevents agglomeration. The higher the zeta potential value (positive or negative), the more stable the nanoparticles (Doostmohammadi et al., 2011; Pate & Safier, 2016; Elamawi et al., 2018). In this sense, the AgNPs synthesized with the cocoa bean shell showed a negative zeta potential, with a specific value of -17.97 ± 0.12 mV, which indicates an electrostatic repulsive force between the particles. This contributes effectively to preventing agglomeration of the nanoparticles, ensuring long-term stability in the solution (Kotakadi et al., 2016; Palithya et al., 2021). Furthermore, this result is in line with other studies that have also obtained nanoparticles through green synthesis (Raja & Thivaharan, 2017; Elamawi et al., 2018; Nga 2022).

Characterization of Silver Nanoparticles

Ultraviolet-Visible Spectroscopy

The optimal green synthesis of AgNPs was performed using cocoa waste extract and it was evaluated by ultraviolet-visible (UV-vis) spectroscopy, as shown in Fig. 2a. The results reveal that the maximum absorption band is located near 400 nm, which is a characteristic region of silver according to literature (Meulebroeck et al., 2023).

Due to the light brown color of the cocoa waste extract, its scattering is more prominent than its absorption in the entire visible spectrum. This phenomenon leads to an angular distribution of scattered radiation that follows the Lorenz-Mie theory, which lacks uniform scattering. Therefore, the dilution of the solutions can be suggested to make this characteristic imperceptible and maintain the reliability of the obtained spectra (Pandey et al., 2020). Hence, the solutions were diluted ten-fold before evaluating them in the UV-vis spectrum.

The change from light brown to dark brown in the reaction medium was the first indication of the synthesis of AgNPs. This change in color is commonly attributed to the reduction of Ag^+ ions to Ag^0 by secondary metabolites such as alkaloids or polyphenols, whose contents are listed in Table 2. This change occurs due to the collective vibration of free electrons on the surface of colloids (Njiemou et al., 2022).

After the synthesis at 90 °C and 40 minutes, the resulting AgNPs showed a significant change in the UV-vis absorption peak (Fig. 2a). This change is characteristic of the excitation of Surface Plasmon Resonance (SPR) and has a maximum at $\lambda_{\text{max}} = 445 \text{ nm}$ (Vijaya et al., 2017). Furthermore, the single asymmetric SPR peak observed in the synthesis confirms that the AgNPs are spherical in shape (Vijaya et al., 2017). In support of the findings within this study, Zhang et al. (2020), in their work involving the generation of AgNPs capable of hindering the growth of aquatic pathogens using *Flammulina velutipes* extract, similarly documented the presence of a spectral peak at approximately 450 nm.

Fourier transform infrared spectroscopy

The FTIR spectra (Fig. 2b) obtained from the cocoa shell extract demonstrate a profile related to a series of antioxidant groups related to the reduction of silver nanoparticles and their stabilization. For instance, the phenol group, first spectrum in the absorption peak 3219 cm^{-1} corresponding to the -OH stretching; a peak corresponding to the aromatic ring ($\sim 2915 \text{ cm}^{-1}$) corresponding to the stretching of C-H alkanes; a peak at ~ 1592 and $\sim 1579 \text{ cm}^{-1}$ attributed to the aromatic C=C ring stretching (Batista et al., 2016; Lessa et al., 2021) or the asymmetric stretching of C=O groups of hemicellulose carboxylic acid (Castoldi et al., 2014), as well as a peak indicating the angular deformation of C-H at 1016 cm^{-1} (Huang et al., 2012). The peak with a signature at 1399 cm^{-1} can be attributed to the C-N stretching of amine groups (Allafchian et al., 2016).

Observing the spectra of the nanoparticles, small modifications due to their formation can be seen, such as shifts in peaks at ~ 3316 , ~ 2930 , ~ 1579 , ~ 1314 , and $\sim 1032 \text{ cm}^{-1}$. The new peaks evidenced at 953 , 817 , and 763 cm^{-1} refer to the angular deformation of C-H of hemicellulose carboxylic acid (Nandiyanto et al., 2019).

Scanning electron microscope (FEG-SEM), Transmission Electronic Microscopy (TEM) and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis of AgNPs

The size and morphology of the nanoparticles obtained in experiment 5 were evaluated by FEG-SEM, EDS and TEM. In Fig. 3 a and b, as well as in Fig 3 c and d corresponding to the images obtained by SEM and TEM, respectively, the predominant spherical shape of the AgNPs is shown, whose sizes ranged from 22.59 nm to 223.06 nm with a mean diameter of 74.94 nm, which is consistent with the DLS analysis. It is possible to observe that the AgNPs are well dispersed, although some of them were observed as aggregates. EDS line scan was performed to confirm the presence of silver nanoparticles. Figure 3e highlights that the scanning profile revealed clear and evident peaks of the silver element precisely at the location of the selected particles, which solidifies the confirmation that the investigated particles are, in fact, silver nanoparticles. These results are consistent with previous studies (Lampé et al., 2019; Chen et al., 2023) that also conclusively identified the presence of silver nanoparticles under similar conditions.

Application of silver nanoparticles in foodborne pathogens

The synthesized AgNPs and the aqueous extract were studied for their antibacterial activity against two gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* (ATCC 22923) and *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117)) and four gram-negative bacteria (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004), and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883)) using the standard agar disk-diffusion method and minimum inhibitory concentration.

As shown in Fig. 4 and Table 4, the AgNPs displayed antibacterial activity against all tested strains. Although the aqueous extract shows antimicrobial activity against *Escherichia coli* (ATCC 25922), the AgNPs showed significantly higher bactericidal activity than the extract. It is believed that the superior effect observed by the nanoparticles is due to their nanometric size, which facilitates their penetration into the bacterial walls, increasing the concentration of active substances, thus leading to increased antimicrobial activity.

In other words, the antimicrobial activity is linked to the possibility of silver nanoparticles penetrating the microbial cell and acting in various locations. On the other hand, Njiemou et al. (2022) address the possibility that the synthesized AgNPs are coated with molecules from the aqueous extract that may also have intrinsic antimicrobial properties. Thus, the AgNPs can play a beneficial role as a vehicle that allows the delivery of Ag⁺ ions and extract molecules to the site of action synergistically.

According to Hemlata et al. (2020), the silver ions of the nanoparticles are attracted by the negative charge of the bacterial cell wall. When they experience some electrostatic attraction towards the bacterial cell wall, they move and bind to the cell wall, leading to a change in the composition of

the cell wall and affecting its permeability. This information justifies the larger inhibition halo formed by the AgNPs against *Escherichia coli* (ATCC 25922), a gram-negative bacteria.

For the tested bacteria, the highest antibacterial activity of AgNPs compared to the aqueous extract occurred due to the large surface area of the nanoparticles, which provides better contact with microorganisms and have a more substantial bactericidal effect than larger particles (Bilal et al., 2017a,b). In addition to size, factors such as size distribution, morphology, surface charge, hydrophobicity, and porosity can influence the biological activity of nanoparticles (Saravanan et al., 2019; Barabadi et al., 2020; Njiemou et al., 2022). It is believed that AgNPs interact with bacterial cells and uncouple electron transport from oxidative phosphorylation. Later, silver inhibits the enzymes of the respiratory chain or inhibits the permeation of phosphate and protons (Dakal et al., 2016). Thus, considering the efficiency of AgNPs against foodborne bacterial pathogens, it can be developed as a coating agent in packaging materials or surfactant to interrupt the transmission of diseases and infections via bacterial pathogens.

Scatolino et al. (2019) studied the effect of commercial silver nanoparticles in nanocellulose films and found a microbicidal effect against *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. These authors highlighted that *Salmonella* is pathogenic bacteria that causes diarrhea, fever, and abdominal cramps, and it can also interfere with the bloodstream, bones, brain, and nervous system and occasionally result in lethal infections. Similarly, to the results obtained by Scatolino et al. (2019), the nanoparticles obtained through green synthesis with cocoa bean shell also showed a microbicidal effect against *Salmonella enteritidis* (S64) and *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117).

Siddique et al. (2020) evaluated the efficacy of AgNPs synthesized with borohydride reducing agent against *Klebsiella pneumoniae*, a bacteria that causes infections in various anatomical sites and can be found in feces, water, soil, vegetables, cereals, and fruits. These authors obtained a minimum inhibitory concentration between $62.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, a result superior to that obtained by the AgNPs produced with the aqueous extract of the cocoa bean shell ($15.62\pm 0.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). These results attest to the quality of the AgNPs produced with the cocoa bean shell compared to an AgNP produced with synthetic reducing agents since a lower concentration of AgNPs produced with the aqueous extract of the cocoa bean shell was required to inhibit the bacteria.

Wang et al. (2018) evaluated the effect of AgNPs produced against different strains of *Cronobacter sakazakii*, an opportunistic pathogen widely spread and isolated from various food substrates, including vegetables, meat and derivatives, tea, dry ingredients, milk, and cheese. These authors obtained positive results regarding the microbicidal action of the produced nanoparticles. Wang et al. (2018) obtained a minimum inhibitory concentration of $62.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004), a concentration superior to that found for the AgNPs synthesized with the cocoa bean shell ($15.62\pm 0.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Jokar et al. (2012) achieved favorable outcomes in the production of AgNPs through chemical reduction, showcasing their efficacy in reducing the growth rate of *Escherichia coli* (ATCC 13706), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600), and *Candida albicans* (ATCC 10231). Similarly, in their investigation of the impact of AgNPs on the preservation of minimally processed carrots, Becaro et al. (2016) observed positive effects. These researchers concluded that the generated films exhibited diminished counts of aerobic and total mesophilic coliforms, alongside reduced weight loss, indicative of enhanced physical-chemical and microbiological attributes. Nevertheless, our study distinguishes itself by adopting a green synthesis methodology, one that is ecological and sustainable in nature.

Foodborne bacterial pathogens are currently the greatest concern in the food industry. These pathogens cause contamination of cooked and raw food products, harming the consumer's health and causing the waste of many products due to deterioration caused by the colonization process. Thus, the antibacterial effect evidenced by AgNPs against these pathogens will provide a safer and more effective way to prevent diseases caused by these pathogens and waste.

The results presented here suggest that AgNPs derived from cocoa bean shells not only exhibit superior antimicrobial efficacy, but also offer a safe and eco-friendly alternative compared to traditional chemical methods. This study contributes not only to the development of effective antimicrobial agents, but also highlights the importance of sustainable synthetic practices in the production of nanomaterials with significant industrial applications. Finally, it is important to emphasize that the biosynthetic approach used here is rapid, simple, safe, energetically efficient, and economical.

Conclusion

The aqueous extract of cocoa bean shells was environmentally friendly, economical, and easily available for the green synthesis of silver nanoparticles. Spherical and stable particles were produced. Furthermore, the AgNPs showed an antimicrobial effect against the pathogenic microorganisms *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004), and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883), which cause harmful effects to human health. It is suggested that future studies explore the specific application of AgNPs derived from cocoa bean shells in various industrial sectors. For instance, in the food packaging sector, coatings could be developed to extend the shelf life of products. In the medical field, antimicrobial properties could be incorporated into bandages, and in the textile industry, antimicrobial clothing could be produced to reduce the risk of bacterial contamination.

Data availability

Data will be made available on request.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Funding

To the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, Brazil) for financial support (308300/2021-1).

Contributions

Ingrid Alves Santos: Formal analysis, Conceptualization, Methodology, Writing – original draft and preparation. Hanna Elisia Araújo de Barros: Conceptualization and investigation. Danilo José Machado de Abreu: Conceptualization and investigation. Igor Carvalho Fontes Sampaio: Writing – review and editing. Elano Pinheiro Pereira: Conceptualization and investigation. Cristiane dos Reis Feliciano: Data curation, Investigation. Mariane Gonçalves Santos: Methodology, Review and editing. Juliano Elvis de Oliveira: Methodology and Supervision. Roberta Hilsdorf Piccoli: Methodology and Supervision. Muhammad Irfan: Software, Writing, Review and editing. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas: Methodology, Funding acquisition, Conceptualization and Supervision. Marcelo Franco: Conceptualization, Review and editing, Funding acquisition, Project administration, Supervision.

References

- Alkhulaifi, M. M., Alshehri, J. H., Alwehaibi, M. A., Awad, M. A., Al-Enazi, N. M., Aldosari, N. S., et al. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using Citrus limon peels and evaluation of their antibacterial and cytotoxic properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 3434–3441. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.031>
- Allafchian, A. R., Mirahmadi-Zare, S. Z., Jalali, S. A. H., Hashemi, S. S., & Vahabi, M. R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using phlomis leaf extract and investigation of their antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6, 129–135. <https://doi.org/10.1007/s40097-016-0187-0>
- Amjadi, S., Emaminia, S., Nazari, M., Davudian, S. H., Roufegarinejad, L., & Hamishehkar, H. (2019). Application of Reinforced ZnO Nanoparticle-Incorporated Gelatin Bionanocomposite Film with Chitosan Nanofiber for Packaging of Chicken Fillet and Cheese as Food Models. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1205–1219. <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02286-y>
- Amna, T., Hassan, MS, Yousef, A., Misra, A., Barakat, A. AM., Khil, M., & Carciofi, B. A. M. (2013). Inactivation of Foodborne Pathogens by NiO/TiO₂ Composite Nanofibers: A Novel Biomaterial System. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 988–996. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0741-1>

- Arfat, Y. A., Benjakul, S., Prodpran, T., Sumpavapol, P., & Songtipya, P. (2016). Physico-Mechanical Characterization and Antimicrobial Properties of Fish Protein Isolate/Fish Skin Gelatin-Zinc Oxide (ZnO) Nanocomposite Films. *Food and Bioprocess Technology*, *9*, 101–112. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1602-0>
- Arlorio, M., Coisson, J. D., F. Travaglia, Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., & Martelli, A. (2005). Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from Theobroma cacao hulls extracted with supercritical CO₂. *Food Research International*, *38*, 1009–1014. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.03.012>
- Azlin-Hasim, S., Cruz-Romero, M. C., Morris, M. A., Padmanabhan, S. C., Cummins, E., & Kerry, J. P. (2016). The Potential Application of Antimicrobial Silver Polyvinyl Chloride Nanocomposite Films to Extend the Shelf-Life of Chicken Breast Fillets. *Food and Bioprocess Technology*, *9*, 1661–1673. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1745-7>
- Bahiraeei, M., Naghibzadeh, S. M., & Jamshidmofid, M. (2017). Efficacy of an eco-friendly nanofluid in a miniature heat exchanger regarding to arrangement of silver nanoparticles. *Energy Conversion and Management*, *144*, 224–234. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.04.076>
- Barabadi, H., Vahidi, H., Damavandi Kamali, K., Rashedi, M., & Saravanan, M. (2020). Antineoplastic Biogenic Silver Nanomaterials to Combat Cervical Cancer: A Novel Approach in Cancer Therapeutics. *Journal of Cluster Science*, *31*, 659–672. <https://doi.org/10.1007/S10876-019-01697-3/FIGURES/1>
- Barros, H. E. A. de, Natarelli, C. V. L., Carvalho Tavares, I. M. de, Oliveira, A. L. M. de, Araújo, A. B. S., Pereira, J., et al. (2020). Nutritional Clustering of Cookies Developed with Cocoa Shell, Soy, and Green Banana Flours Using Exploratory Methods. *Food and Bioprocess Technology*, *13*, 1566–1578. <https://doi.org/10.1007/S11947-020-02495-W/FIGURES/3>
- Batista, N. N., Andrade, D. P. de, Ramos, C. L., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, *90*, 313–319. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2016.10.028>
- Becaro, A. A., Puti, F. C., Panosso, A. R., Gern, J. C., Brandão, H. M., Correa, D. S., & Ferreira, M. D. (2016). Postharvest quality of fresh-cut carrots packaged in plastic films containing silver nanoparticles. *Food and Bioprocess Technology*, *9*, 637–649. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1656-z>
- Bhaduri, G. A., Little, R., Khomane, R. B., & Lokhande, S. U. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using sunlight. *Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry*, *258*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2013.02.015>
- Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H. M. N., Hu, H., & Zhang, X. (2017a). Silver nanoparticles: biosynthesis and antimicrobial potentialities. *International Journal of Pharmacology*, *13*, 832–845. <https://doi.org/10.3923/ijp.2017.832.845>
- Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H. M., Li, C., Hu, H., & Zhang, X. (2017b). Development of silver nanoparticles loaded chitosan-alginate constructs with biomedical potentialities. *International journal of biological macromolecules*, *105*, 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.047>
- Boateng, I. D. (2023). Mechanisms, Capabilities, Limitations, and Economic Stability Outlook for Extracting Phenolics from Agro-byproducts Using Emerging Thermal Extraction Technologies

and Their Combinative Effects. *Food and Bioprocess Technology*, <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03171-5>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Carrillo-González, R., Martínez-Gómez, M. A., González-Chávez, M. del C. A., & Mendoza Hernández, J. C. (2016). Inhibition of microorganisms involved in deterioration of an archaeological site by silver nanoparticles produced by a green synthesis method. *Science of The Total Environment*, 565, 872–881. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2016.02.110>

Castoldi, R., Bracht, A., de Morais, G. R., Baesso, M. L., Correa, R. C. G., Peralta, R. A., et al. (2014). Biological pretreatment of Eucalyptus grandis sawdust with white-rot fungi: Study of degradation patterns and saccharification kinetics. *Chemical Engineering Journal*, 258, 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.07.090>

Chen, H. T., Lee, D., & Linic, S. (2023). Formation of Mixed Bimetallic Nanoparticles of Immiscible Metals through Plasma-Induced Reduction of Precursors in Solutions: A Case Study of Ag–Pt Alloy Nanoparticles. *Chemistry of Materials*, 35, 6557–6565. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.3c01745>

Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., & Yadav, V. (2016). Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1831. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01831>

Deshmukh, RK, Kumar, P., Tanwar, R., & Gaikwad, K. K. (2022). Antimicrobial and Antioxidant Nanocomposite Film Impregnated with Titania Nanoparticles and Bael Shell Extract. *Food and Bioprocess Technology*, 15, 2839–2853. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02922-0>

Doostmohammadi, A., Monshi, A., Salehi, R., Fathi, M. H., Golniya, Z., & Daniels, A. U (2011). Bioactive glass nanoparticles with negative zeta potential. *Ceramics International*, 37, 2311–2316. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2011.03.026>

Elamawi, R. M., Al-Harbi, R. E., & Hendi, A. A. (2018). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Trichoderma longibrachiatum* and their effect on phytopathogenic fungi. *Egyptian journal of biological pest control*, 28, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0028-1>

Gomathi, A. C., Xavier Rajarathinam, S. R., Mohammed Sadiq, A., & Rajeshkumar, S. (2019). Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101376. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101376>

Goya, L., Kongor, J. E., & Pascual-Teresa, S. de. (2022). From Cocoa to Chocolate: Effect of Processing on Flavanols and Methylxanthines and Their Mechanisms of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 14365. <https://doi.org/10.3390/IJMS232214365>

Hemlata, Meena, P. R., Singh, A. P., & Tejavath, K. K. (2020). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Cucumis prophetarum* Aqueous Leaf Extract and Their Antibacterial and Antiproliferative Activity against Cancer Cell Lines. *ACS Omega*, 5, 5520–5528. https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.0C00155/ASSET/IMAGES/MEDIUM/AO0C00155_M003.GIF

- Huang, Y., Wang, L., Chao, Y., Nawawi, D. S., Akiyama, T., Yokoyama, T., & Matsumoto, Y. (2012). Analysis of Lignin Aromatic Structure in Wood Based on the IR Spectrum. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 32, 294–303. <https://doi.org/10.1080/02773813.2012.666316>
- Ibrahim, H. M. M. (2015). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana peel extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8, 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2015.01.007>
- Jayaprakash, N., Vijaya, J. J., Kaviyarasu, K., Kombaiyah, K., Kennedy, L. J., Ramalingam, R. J., et al. (2017). Green synthesis of Ag nanoparticles using Tamarind fruit extract for the antibacterial studies. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 169, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.03.013>
- Jokar, M., Rahman, R. A., Ibrahim, N. A., Abdullah, L. C., & Tan, C. P. (2012). Melt production and antimicrobial efficiency of low-density polyethylene (LDPE)-silver nanocomposite film. *Food and bioprocess technology*, 5, 719–728. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0329-1>
- Kotakadi, V. S., Gaddam, S. A., Venkata, S. K., Sarma, P. V. G. K., & Sai Gopal, D. V. R. (2016). Biofabrication and spectral characterization of silver nanoparticles and their cytotoxic studies on human CD34+ ve stem cells. *3 Biotech*, 6, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0532-5>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24, 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.006>
- Lago, R. C. do, Zitha, E. Z. M., Oliveira, A. L. M. de, Abreu, D. J. M. de, Carvalho, E. E. N., Piccoli, R. H., et al. (2023). Effect of coating with co-product-based bionanocomposites on the quality of strawberries under refrigerated storage. *Scientia Horticulturae*, 309, 111668. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111668>
- Lampé, I., Beke, D., Biri, S., Csarnovics, I., Csik, A., Dombrádi, Z., Hajdu, P., Hegedűs, V., Rácz, R., Varga, I., & Hegedűs, C. (2019). Investigation of silver nanoparticles on titanium surface created by ion implantation technology. *International journal of nanomedicine*, 14, 4709–4721. <https://doi.org/10.2147/IJN.S197782>
- Lecumberri, E., Mateos, R., Izquierdo-Pulido, M., Rupérez, P., Goya, L., & Bravo, L. (2007). Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, 104, 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.054>
- Lessa, O. A., de Carvalho Tavares, I. M., Souza, L. O., Tienne, L. G. P., Dias, M. C., Tonoli, G. H. D., et al. (2021). New biodegradable film produced from cocoa shell nanofibrils containing bioactive compounds. *Journal of Coatings Technology and Research*, 18, 1613–1624. <https://doi.org/10.1007/S11998-021-00519-4/FIGURES/8>
- Lessa, O. A., Reis, N. dos S., Leite, S. G. F., Gutarra, M. L. E., Souza, A. O., Gualberto, S. A., et al. (2018). Effect of the solid state fermentation of cocoa shell on the secondary metabolites, antioxidant activity, and fatty acids. *Food Science and Biotechnology*, 27, 107–113. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0196-x>
- Li, D., Liu, Z., Yuan, Y., Liu, Y., & Niu, F. (2015). Green synthesis of gallic acid-coated silver nanoparticles with high antimicrobial activity and low cytotoxicity to normal cells. *Process*

Biochemistry, 50, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.01.002>

- Liu, J., Xiao, Y., Wang, Y., Qin, X., Tan, S., Wang, W., Lou, L., Wu, Z., Aihaiti, A., Ma, C., & Liu, Y. (2023). The Inhibition Effect and Mechanism of Nano Magnesium Peroxide Against Spoilage Fungi Emerging in Hami Melon. *Food and Bioprocess Technology*, 16, 2027–2038. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03052-x>
- Liu, P., Zhou, R., Yin, T., Wang, Q., Guo, Z., Qiwen, T., Bilal, M., He, S., Zhu, X & Shi, H. (2020). Novel bio-fabrication of silver nanoparticles using the cell-free extract of *Lysinibacillus fusiformis* sp. and their potent activity against pathogenic fungi. *Materials Research Express*, 6, 1250f2. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab664a>
- Malik, G.K., & Mitra, J. (2021). Zinc Oxide Nanoparticle Synthesis, Characterization, and Their Effect on Mechanical, Barrier, and Optical Properties of HPMC-Based Edible Film. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 441–456. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02566-y>
- Marco, G. J. (1968). A rapid method for evaluation of antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 45, 594–598. <https://doi.org/10.1007/BF02668958>
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of cocoa (*Theobroma cacao* L.) co-products. *Food Research International*, 49, 39–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.08.005>
- Mathew, S., S, S., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. K. (2019). Biodegradable and active nanocomposite pouches reinforced with silver nanoparticles for improved packaging of chicken sausages. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.12.009>
- Medina, M. B. (2011). Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. *Journal of Functional Foods*, 3, 79–87. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2011.02.007>
- Meng, X., Zhang, M. & Adhikari, B. (2014). The Effects of Ultrasound Treatment and Nano-zinc Oxide Coating on the Physiological Activities of Fresh-Cut Kiwifruit. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 126–132. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1081-0>
- Meulebroeck, W., Patin, M., Nys, K., & Thienpont, H. (2023). Using absorption spectroscopy as a non-destructive tool for the study of silver-staining in glass: An operational flowchart to assign the technology parameters. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 602, 122066. <https://doi.org/10.1016/J.JNONCRY SOL.2022.122066>
- Munir, H., Mumtaz, A., Rashid, R., Najeeb, J., Zubair, M. T., Munir, S., Bilal, M. & Cheng, H. (2020). Eucalyptus camaldulensis gum as a green matrix to fabrication of zinc and silver nanoparticles: Characterization and novel prospects as antimicrobial and dye-degrading agents. *Journal of Materials Research and Technology*, 9, 15513-15524. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.11.026>
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4, 97. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>
- Nasretdinova, G. R., Fazleeva, R. R., Mukhitova, R. K., Nizameev, I. R., Kadirov, M. K., Ziganshina,

- A. Y., & Yanilkin, V. V. (2015). Electrochemistry Communications Electrochemical synthesis of silver nanoparticles in solution. *Electrochemistry Communications*, 50, 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2014.11.016>
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (29th ed.). Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Nga, N. T. A., Raghavendra, V. B., Sindhu, R., Alshiekheid, M., Sabour, A., Krishnan, R., et al. (2022). Green fabrication of silver nanoparticles using Chloroxylon swietenia leaves and their application towards dye degradation and food borne pathogens. *Food and Chemical Toxicology*, 165, 113192. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2022.113192>
- Njiemou, A. F. T., Gbambie, A. P., Fannang, S. V., Manaoda, A. V., Gvilava, V., Spieß, A., et al. (2022). Antimicrobial Properties of Strychnos phaeotricha (Loganiaceae) Liana Bark Secondary Metabolites at the Interface of Nanosilver Particles and Nanoencapsulation by Chitosan Transport Vehicles. *Journal of Nanomaterials*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3491267>
- Ortiz-Duarte, G., Martínez-Hernández, G.B., Casillas-Peñuelas, R., & Pérez-Cabrera, L. E. (2021). Evaluation of Biopolymer Films Containing Silver–Chitosan Nanocomposites. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 492–504. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02585-3>
- Pagliari, S., Celano, R., Rastrelli, L., Sacco, E., Arlati, F., Labra, M., & Campone, L. (2022). Extraction of methylxanthines by pressurized hot water extraction from cocoa shell by-product as natural source of functional ingredient. *LWT*, 170, 114115. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.114115>
- Palithya, S., Gaddam, S. A., Kotakadi, V. S., Penchalaneni, J., Golla, N., Krishna, S. B. N., & Naidu, C. V. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using flower extracts of Aerva lanata and their biomedical applications. *Particulate Science and Technology*, 40, 84-96. <https://doi.org/10.1080/02726351.2021.1919259>
- Pandey, S., De Klerk, C., Kim, J., Kang, M., & Fosso-Kankeu, E. (2020). Eco Friendly Approach for Synthesis, Characterization and Biological Activities of Milk Protein Stabilized Silver Nanoparticles. *Polymers*, 12, 1418. <https://doi.org/10.3390/polym12061418>
- Pate, K., & Safier, P. (2022). Chemical metrology methods for CMP quality. In *Advances in chemical mechanical planarization (CMP)* (pp. 355-383). Woodhead Publishing.
- Patel, A., Shah, N., Ambalam, P., PRAJAPATI, J B., Holst, O., Ljungh, A. (2013). Antimicrobial Profile of Lactic Acid Bacteria Isolated from Vegetables and Indigenous Fermented Foods of India against Clinical Pathogens Using Microdilution Method. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26, 759–764. <https://doi.org/10.3967/0895-3988.2013.09.007>
- Phongtongpasuk, S., Poadang, S., & Yongvanich, N. (2016). Environmental-friendly method for synthesis of silver nanoparticles from dragon fruit peel extract and their antibacterial activities. *Energy Procedia*, 89, 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2016.05.031>
- Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269, 337-341. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4019>

- Qing, A. W., Chen, K., Wang, Y., Liu, X., & Lu, M. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles by waste tea extract and degradation of organic dye in the absence and presence of H₂O₂. *Applied Surface Science*, *423*, 1019–1024. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.07.007>
- Raja, S., Ramesh, V., & Thivaharan, V. (2017). Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability. *Arabian journal of chemistry*, *10*, 253-261. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.023>
- Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., & Li, C. (2017). Green biosynthesis of silver nanoparticles using leaves extract of *Artemisia vulgaris* and their potential biomedical applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *158*, 408–415. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.07.020>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*, 1231–1237.
- Ruíz-baltazar, Á. D. J., Reyes-lópez, S. Y., Larrañaga, D., Estévez, M., & Pérez, R. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using a *Melissa officinalis* leaf extract with antibacterial properties. *Results in Physics*, *7*, 2639–2643. <https://doi.org/10.1016/j.rinp.2017.07.044>
- Sahraee, S., Ghanbarzadeh, B., Milani, J.M., & Hamishehkar, H. (2017). Development of Gelatin Bionanocomposite Films Containing Chitin and ZnO Nanoparticles. *Food and Bioprocess Technology*, *10*, 1441–1453. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1907-2>
- Santos, I. A., Batista, A. S., Conceição, D. G., Porfírio, M. C. P., Santos, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2022). Determining the Authenticity of Cocoa Solid in Chocolates Using Chemical Markers, Antioxidant Activity, and Multivariate Analysis. *Food Analytical Methods*, *15*, 2558–2565. <https://doi.org/10.1007/S12161-022-02316-0/FIGURES/2>
- Saravanan, M., Barabadi, H., Ramachandran, B., Venkatraman, G., & Ponmurugan, K. (2019). Emerging plant-based anti-cancer green nanomaterials in present scenario. *Comprehensive Analytical Chemistry*, *87*, 291–318. <https://doi.org/10.1016/BS.COAC.2019.09.001>
- Scatolino, M. V., Dias, M. C., Silva, D. W., Bufalino, L., Martins, M. A., Piccoli, R. H., et al. (2019). Tannin-stabilized silver nanoparticles and citric acid added associated to cellulose nanofibrils: effect on film antimicrobial properties. *SN Applied Sciences*, *1*, 1–9. <https://doi.org/10.1007/S42452-019-1289-3/FIGURES/7>
- Siddique, M. H., Aslam, B., Imran, M., Ashraf, A., Nadeem, H., Hayat, S., et al. (2020). Effect of Silver Nanoparticles on Biofilm Formation and EPS Production of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *BioMed Research International*, *2020*, 1-9 <https://doi.org/10.1155/2020/6398165>
- Sökmen, M., Alomar, S. Y., Albay, C., & Serdar, G. (2017). Microwave assisted production of silver nanoparticles using green tea extracts. *Journal of Alloys and Compounds*, *725*, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.07.094>
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárcenas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Lwt*, *103*, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>

- Souri, P., Emamifar, A. & Davati, N. (2023). Physical and Antimicrobial Properties of Nano-ZnO-loaded Nanoliposomes Prepared by Thin Layer Hydration-Sonication and Heating Methods. *Food and Bioprocess Technology*, *16*, 1822–1836. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03032-1>
- Souza, R. C de., de Moraes, J.O., Haberbeck, L.U., Araújo, P. H. H., Ribeiro, D. H. B., & Carciofi, B. A. M. (2021). Antibacterial Activity of Low-Density Polyethylene and Low-Density Polyethylene-co-maleic Anhydride Films Incorporated with ZnO Nanoparticles. *Food and Bioprocess Technology*, *14*, 1872–1884. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02684-1>
- Vásquez, Z. S., Carvalho, D. P. De, Pereira, G. V. M., Vandenberghe, L. P. S., Oliveira, P. Z. De, Tiburcio, P. B., et al. (2019). Biotechnological approaches for cocoa waste management : A review. *Waste Management*, *90*, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.04.030>
- Vieira, A. C. F., Matos Fonseca, J. de, Menezes, N. M. C., Monteiro, A. R., & Valencia, G. A. (2020). Active coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and silver nanoparticles to extend the papaya (*Carica papaya* L.) shelf life. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 489–498. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.130>
- Vijaya, J. J., Jayaprakash, N., Kombaiah, K., Kaviyarasu, K., Kennedy, L. J., Ramalingam, R. J., et al. (2017). Bioreduction potentials of dried root of *Zingiber officinale* for a simple green synthesis of silver nanoparticles: Antibacterial studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *177*, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.007>
- Wang, H., Jiang, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., Yang, X., Ali, M. A., et al. (2018). Silver nanoparticles: A novel antibacterial agent for control of *Cronobacter sakazakii*. *Journal of Dairy Science*, *101*, 10775–10791. <https://doi.org/10.3168/JDS.2018-15258>
- Zhang, L., Wei, Y., Wang, H., Wu, F., Zhao, Y., Liu, X., Wu, H., Wang, L & Su, H. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using mushroom *Flammulina velutipes* Extract and their antibacterial activity against aquatic pathogens. *Food and Bioprocess Technology*, *13*, 1908–1917. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02533-7>

Figure Captions

Fig. 1. Response surface methodology showing the effect of silver nitrate (AgNO_3) concentration and temperature on the average size of silver nanoparticles obtained with cocoa bean shell extract.

Fig. 2. a) UV-visible absorption spectrum referring to silver nanoparticles obtained at the optimal point of green synthesis and b) Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR-ATR) of silver nanoparticles obtained at the optimal point of green synthesis and cocoa bean shell extract.

Fig. 3. Images obtained with FEG-SEM in the magnitude of a) 100 kx and b) 200 kx; TEM in the magnitude of c) 100 kx and d) 300 kx; and e) EDS line scans of silver nanoparticles (AgNPs) at the optimal point of green synthesis.

Fig. 4. Inhibition halos formed by silver nanoparticles obtained at the optimum point of green synthesis in plates inoculated with a) *Escherichia coli* (ATCC 25922), b) *Staphylococcus aureus*

(ATCC 22923), c) *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), d) *Salmonella enterica* (S64), e) *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) and f) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

Figures

Fig. 1.

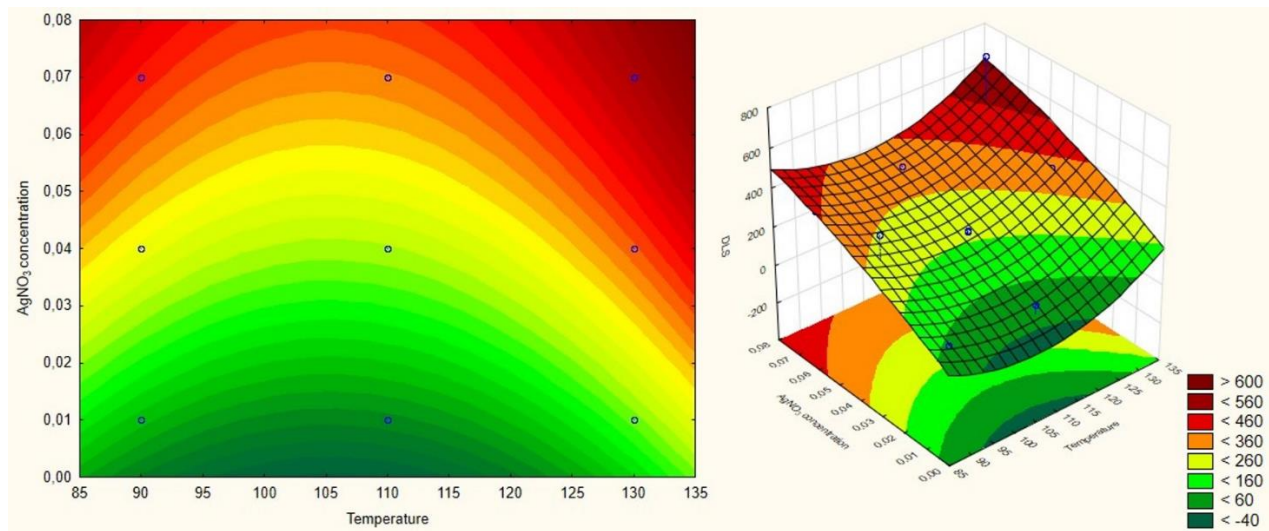


Fig. 2.

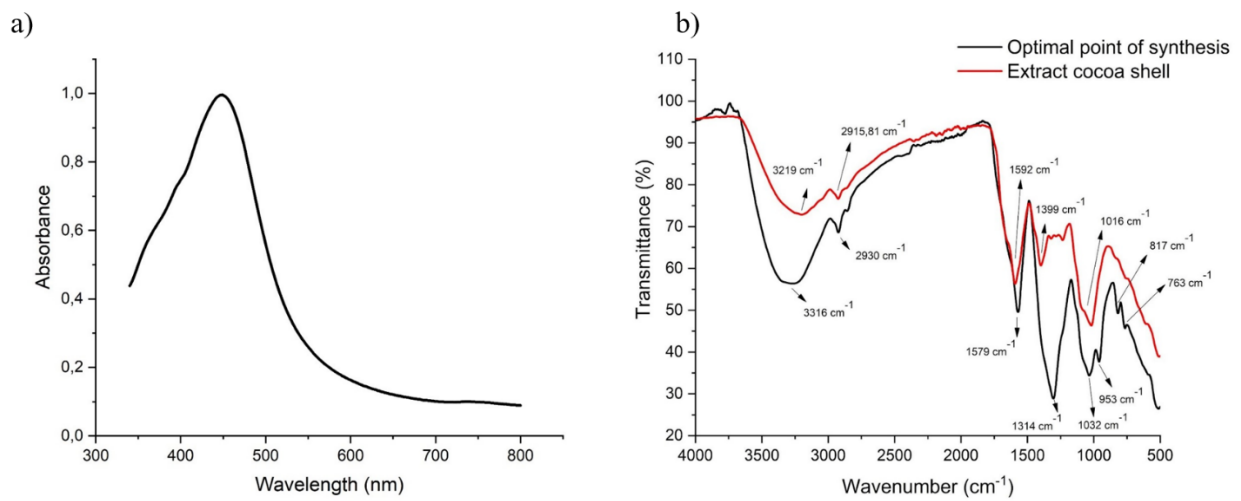


Fig. 3.

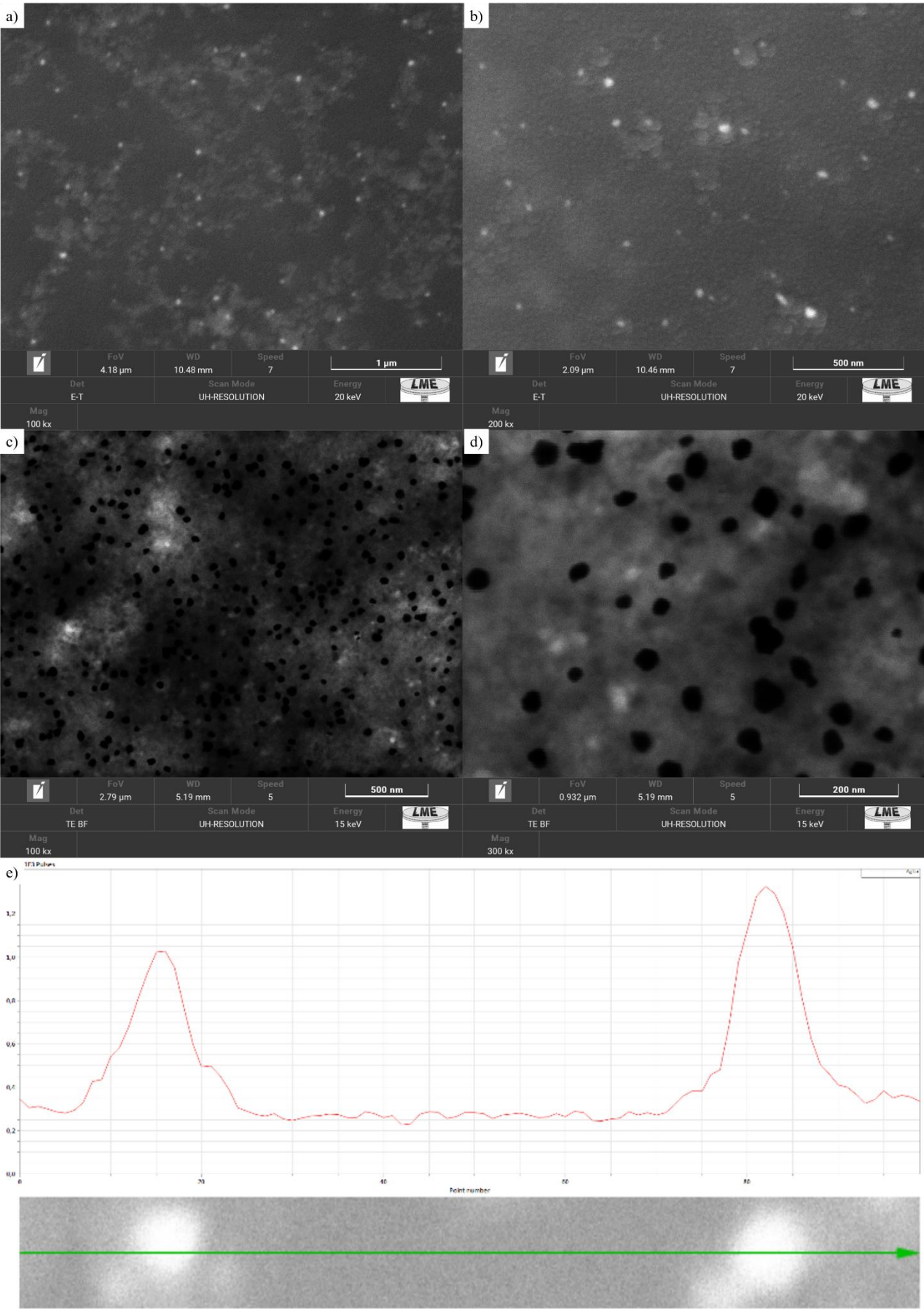
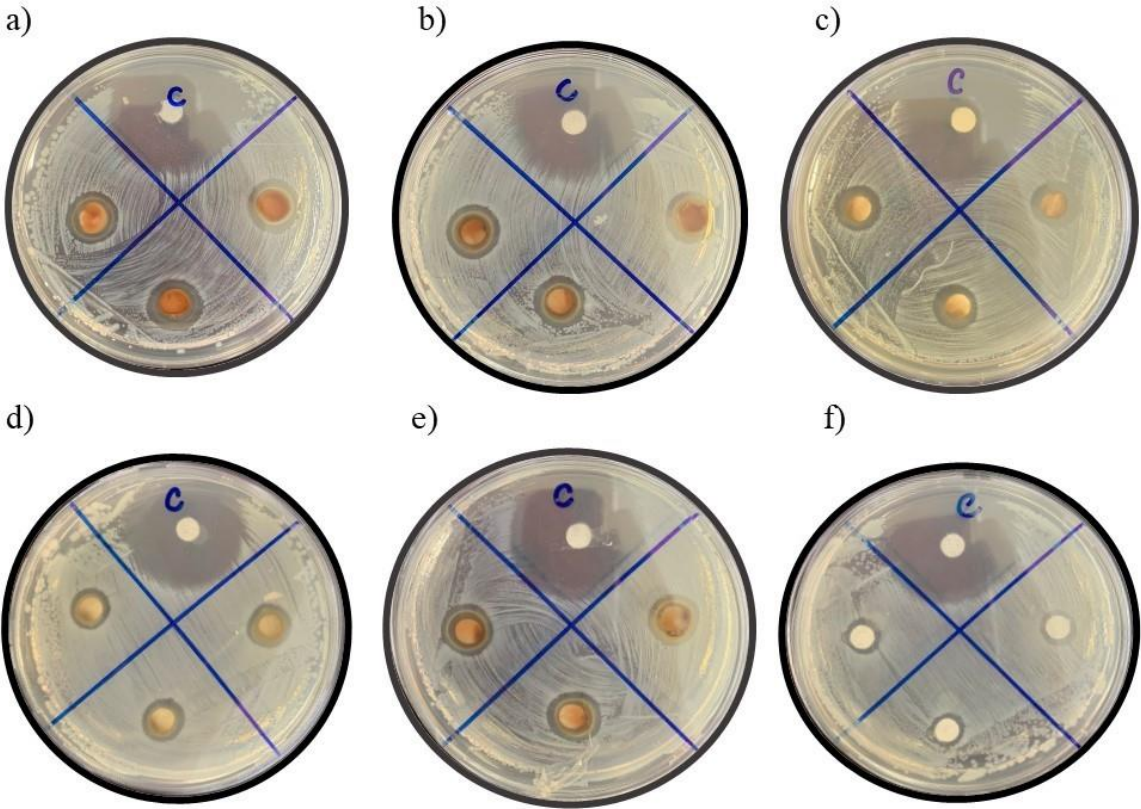


Fig. 4.



Tables

Table 1. Box-Behnken Design experimental matrix with real and coded values (in parentheses) for the independent variables: time, temperature and silver nitrate concentration and for the dependent variable (response): dynamic light scattering (DLS).

Experiment	Temperature (°C)	Time (minutes)	Concentration of AgNO ₃ (M)	DLS (nm)
1	90 (-1)	20 (-1)	0.04 (0)	227.07±0.59
2	130 (+1)	20 (-1)	0.04 (0)	240.20±6.86
3	90 (-1)	60 (+1)	0.04 (0)	402.60±26.85
4	130 (+1)	60 (+1)	0.04 (0)	365.77±29.27
5	90 (-1)	40 (0)	0.01 (-1)	74.51±0.38
6	130 (+1)	40 (0)	0.01 (-1)	79.93±0.25
7	90 (-1)	40 (0)	0.07 (+1)	308.87±57.79
8	130 (+1)	40 (0)	0.07 (+1)	734.87±60.07
9	110 (0)	20 (-1)	0.01 (-1)	80.37±0.38
10	110 (0)	60 (+1)	0.01 (-1)	76.86±0.16
11	110 (0)	20 (-1)	0.07 (+1)	350.13±28.30
12	110 (0)	60 (+1)	0.07 (+1)	213.03±2.51
13	110 (0)	40 (0)	0.04 (0)	233.73±5.31
14	110 (0)	40 (0)	0.04 (0)	192.87±3.59
15	110 (0)	40 (0)	0.04 (0)	223.67±3.43

Table 2. Total phenolic compounds (TPC) and individual bioactive compounds (IBC) present in cocoa bean shell extract.

Determinations	Cocoa shell extract (mg.100 mL⁻¹)
TPC	353.13 ±0.67
IBC	
Gallic acid	1.72±0.14
Theobromine	174.50±0.24
Catechin	1.62±0.37
Chlorogenic acid	0.15±0.00
Caffeic acid	28.02±2.47
Syringic acid	0.35±0.03
p-Coumaric acid	0.15±0.03
o-Coumaric acid	0.25±0.03
Resveratrol	0.06±0.00

Table 3. Antioxidant activity (AA) of cocoa bean shell aqueous extract by DPPH and ABTS radical scavenging methods, phosphomolybdenum complex and β -carotene/linoleic acid system.

Determinations	Cocoa bean shell extract
DPPH [EC ₅₀ (μ g.mL ⁻¹)]	18.56±0.61
ABTS [EC ₅₀ (μ g.mL ⁻¹)]	25.52±2.98
Phosphomolybdenum (mg.mL ⁻¹)	2.04±0.18
β -carotene/linoleic acid (% protection)	87.26±4.61

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) and inhibition halos formed by silver nanoparticles (AgNPs) and cocoa bean shell extract in plates inoculated with *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Salmonella enteritidis* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) and *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

Microorganism	MIC ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Inhibition halo (mm)	
		AgNPs	Extract
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	31.25 \pm 0.00 ^B	13.10 \pm 0.20 ^{aA}	9.01 \pm 0.29 ^b
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19117)	125 \pm 0.00 ^C	12.51 \pm 0.23 ^A	*
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 22923)	31.25 \pm 0.00 ^B	11.61 \pm 0.63 ^{AB}	*
<i>Salmonella enteritidis</i> (S64)	31.25 \pm 0.00 ^B	10.03 \pm 0.88 ^{CB}	*
<i>Cronobacter sakazakii</i> (ATCC 29004)	15.62 \pm 0.00 ^A	8.44 \pm 0.86 ^C	*
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 18883)	15.62 \pm 0.00 ^A	7.94 \pm 1.39 ^C	*

* There was no formation of inhibition halo;

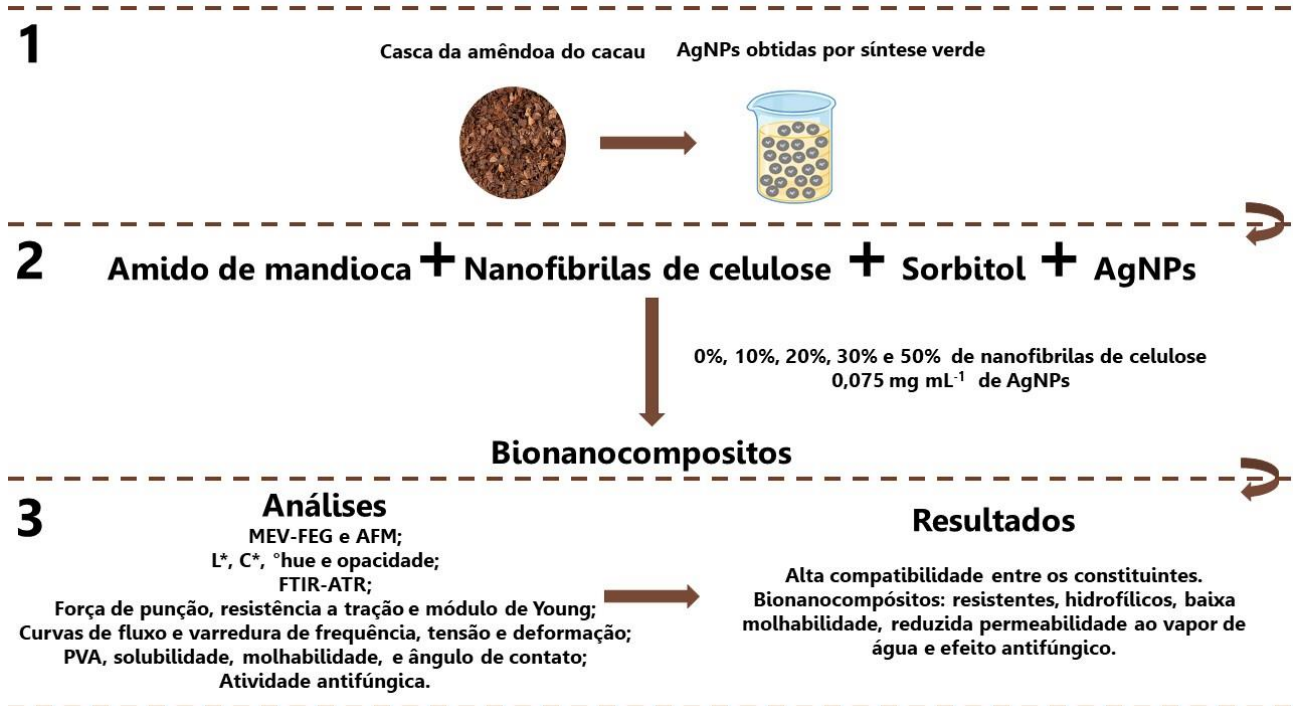
** Means followed by the same letter do not differ statistically from each other, uppercase in the column and lowercase in the row, according to Tukey's test at 5% probability.

CAPÍTULO III

Artigo 2: Propriedades mecânicas, reológicas, ópticas, antifúngicas e de barreira em bionanocompósitos de amido reforçados com nanocelulose e funcionalizados com AgNPs da casca da amêndoa do cacau

Artigo elaborado segundo as normas da revista *Carbohydrate Polymers* – ISSN: 1879-1344

Gráfico resumo



Propriedades mecânicas, reológicas, ópticas, antifúngicas e de barreira em bionanocompósitos de amido reforçados com nanocelulose e funcionalizados com AgNPs da casca da amêndoa do cacau

Ingrid Alves Santos^a, Rafael Carvalho do Lago^b, Elano Pinheiro Pereira^c, Wellington Barros dos Santos^d, Larissa Carolina de Moraes^c, Ana Cristina Freitas de Oliveira Meira^c, Igor Carvalho Fontes Sampaio^e, Renata Cristina Ferreira Bonomo^f, Jaime Vilela de Resende^c, Gustavo Henrique Denzin Tonoli^b, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas^c, Marcelo Franco^{e*}

^a*Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, CEP: 45700-000, Itapetinga, Brasil.*

^b*Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

^c*Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

^d*Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

^e*Grupo de Pesquisa em Biotransformação e Biocatálise Orgânica, Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Santa Cruz, CEP: 45654-370, Ilhéus, Brasil;*

^f*Departamento de Tecnologia Rural e Animal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, CEP: 45700-000, Itapetinga, Brasil.*

*Autor correspondente: Marcelo Franco

Telefone = +55 073 3231 4158; Fax = +55 073 3680 5355;

e-mail = mfranco@uesc.br

Resumo

Neste estudo, foi explorada a sinergia entre nanopartículas de prata (AgNPs), celulose nanofibrilada (NFC) de eucalipto e amido de mandioca com o objetivo de criar bionanocompósitos com propriedades excepcionais para embalagens sustentáveis e antifúngicas. A influência da adição de AgNPs obtidas por síntese verde a partir da casca da amêndoa do cacau e diferentes concentrações de NFC foram investigadas. As propriedades morfológicas (microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica), ópticas (L^* , C^* , $^{\circ}hue$ e opacidade), químicas (espectroscopia no infravermelho médio), mecânicas (força de punção, resistência à tração e módulo de Young), reológicas (curva de fluxo e varreduras de frequência, deformação e tensão), além das propriedades de barreira e hidrofiliidade (permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, molhabilidade e ângulo de contato) bem como o efeito contra patógenos fúngicos (*Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium semitectum*) foram analisados. A análise morfológica indicou excelente interação entre os constituintes dos bionanocompósitos. A adição máxima de NFC aumentou a resistência à tração dos bionanocompósitos em aproximadamente 283,93%, enquanto o módulo de Young também apresentou um aumento significativo de 303,03%, indicando maior rigidez. A permeabilidade ao vapor de água foi reduzida em cerca de 47,89%. Os materiais apresentaram caráter hidrofílico, porém com baixa molhabilidade. Além disso, os bionanocompósitos apresentaram comportamento pseudoplástico e efeito inibidor contra patógenos fúngicos. Em conclusão, esses materiais promissores podem revolucionar embalagens, substituindo polímeros derivados do petróleo e valorizando resíduos agroindustriais.

Palavras-chave: Síntese verde, filmes, sustentabilidade, *Theobroma cacao L.*

1. Introdução

Polímeros biodegradáveis têm recebido crescente atenção nas últimas décadas visando minimizar os impactos ambientais associados ao uso de materiais derivados do petróleo, como poluição e acúmulo de microplásticos nos ecossistemas (Gamage et al., 2022; Kumar et al., 2023). Entre os polímeros mais utilizados para a produção de materiais biodegradáveis encontra-se o amido, que se destaca por sua facilidade de obtenção e baixo custo (Tahara et al., 2022). Amidos nativos, como o de milho (Blume et al., 2023; Huang et al., 2024; Srivastava et al., 2024) e o de mandioca (Costa et al., 2023; Lago et al., 2021; Wu et al., 2024), têm se destacado na produção de biopolímeros devido à sua eficácia como materiais de base. Embora ofereçam uma barreira eficaz contra gases atmosféricos e sejam biodegradáveis, esses biopolímeros enfrentam limitações como baixa resistência à tração e alta permeabilidade ao vapor de água (Seligra et al., 2016; Lago et al., 2021). A incorporação de materiais que possam melhorar esses aspectos se apresenta como uma solução promissora para superar essas desvantagens.

A celulose nanofibrilada (NFC) em função de suas características intrínsecas apresenta-se como um material capaz de conferir melhorias significativas às propriedades dos biopolímeros (Lago et al., 2021). A NFC é obtida por meio da quebra de estruturas celulósicas até a obtenção de fibras em escala nanométrica (Phanthong et al., 2018). Esses materiais oferecem alta área superficial ($>100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), excelente resistência mecânica, estabilidade térmica e propriedades ópticas desejáveis, que contribuem para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira de materiais a base de amido (Li et al., 2022; Peter et al., 2022). Além disso, são materiais biodegradáveis e são considerados a segunda geração de recursos renováveis (Peter et al., 2022). Assim, a utilização da NFC na preparação de materiais é uma prática que atende plenamente aos requisitos do conceito de sustentabilidade, principalmente quando são obtidos a partir de fontes renováveis, como a madeira do eucalipto (*Eucalyptus sp*) (Lago et al., 2020; Souza et al., 2023). O eucalipto é uma espécie de rápido crescimento e ampla adaptação climática, o que facilita sua produção sustentável e contínua (Zhang & Wang, 2021). Além disso, possui uma elevada concentração de celulose (40 a 50%), tornando-se uma fonte abundante para a indústria de biopolímeros (Souza et al., 2023).

Outro componente que pode adicionar propriedades de interesse aos polímeros biodegradáveis são as nanopartículas de prata (AgNPs). Essas partículas possuem comprovada ação antimicrobiana mesmo em baixas concentrações contra um amplo espectro de microrganismos e são consideradas seguras para aplicações em embalagens de alimentos (Mathew et al., 2019). As AgNPs podem ser sintetizadas por diferentes métodos, sejam eles químicos, físicos ou biológicos (Gomathi et al., 2020). Embora sejam os mais utilizados, os métodos químicos e físicos são onerosos, demorados, prejudiciais ao meio ambiente e produzem uma quantidade considerável de produtos secundários indesejáveis (Abreu et al., 2015; Mathew et al., 2019; Saedi et al., 2020). Diante disso, o método de

síntese verde é incentivado pelo uso de solventes não tóxicos, redução do consumo de energia e emprego de matérias-primas renováveis, contribuindo para práticas ambientalmente sustentáveis (Salam et al., 2012; Güzel & Erdal, 2018). Para realizar a síntese verde é necessário um agente redutor que promova a redução dos íons Ag^+ para Ag^0 ; essa necessidade abre oportunidades para a valorização de resíduos agroindustriais, que contêm compostos redutores como os fenólicos e são frequentemente descartados sem aproveitamento (Soto et al., 2019; Santos et al., 2023b). Nesse contexto, destaca-se a casca da amêndoa do cacau como um resíduo comprovadamente rico em compostos fenólicos (Lessa et al., 2018). Embora a síntese de AgNPs a partir da casca da amêndoa do cacau já tenha sido previamente alcançada por Santos et al. (2023b) e testada com sucesso em bactérias patogênicas de origem alimentar, a aplicação dessas AgNPs em bionanocompósitos para explorar sua efetividade em meio polimérico ainda não foi investigada. Além disso, a eficácia dessas AgNPs contra fungos, também não foi explorada.

Estudos anteriores averiguaram o potencial de materiais híbridos contendo NFC e AgNPs e obtiveram resultados promissores. Radwan et al. (2021) demonstraram que a adição de NFC a criogéis de amido aumentou significativamente a resistência mecânica, enquanto a inclusão de AgNPs proporcionou propriedades antimicrobianas eficazes. Martins et al. (2012) investigaram o uso de NFC e AgNPs para a fabricação de papel à base de amido, encontrando aumento na resistência à tração e à ruptura, além de uma excelente capacidade antimicrobiana. Yuan et al. (2021) estudaram nanocompósitos à base de amido contendo NFC e AgNPs, observando que a combinação dos dois materiais resultou em uma barreira aprimorada contra o vapor de água e gases, além de propriedades mecânicas aprimoradas e eficácia antimicrobiana. Esses resultados indicam um sinergismo entre NFC e AgNPs, justificando seu emprego conjunto para superar as limitações dos materiais isolados.

Os bionanocompósitos avaliados neste estudo se destacam por apresentarem em sua composição materiais provenientes de fontes renováveis e utilizarem um método sustentável para a obtenção das AgNPs. Propomos, portanto, que a adição de AgNPs obtidas por síntese verde, juntamente com a celulose nanofibrilada de eucalipto, resultará em bionanocompósitos à base de amido com propriedades mecânicas, de barreira, reológicas, óticas e antimicrobianas significativamente melhoradas.

Diante do exposto, investigamos a influência da adição de nanopartículas de prata, obtidas por síntese verde com a casca da amêndoa do cacau, e de diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto nas propriedades de bionanocompósitos à base de amido. Para isso, foram avaliadas as propriedades morfológicas (microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica), óticas (L^* , C^* , $^{\circ}\text{hue}$ e opacidade), químicas (espectroscopia no infravermelho médio), mecânicas (força de punção, resistência à tração e módulo de Young), reológicas (curva de fluxo e varreduras de frequência, deformação e tensão), além das propriedades de barreira e hidrofiliidade

(permeabilidade ao vapor de água, solubilidade, molhabilidade e ângulo de contato) bem como o efeito contra patógenos fúngicos (*Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium semitectum*).

2. Materiais e métodos

2.1 Síntese verde da nanopartícula de prata

A síntese verde foi realizada utilizando como agente redutor o extrato aquoso da casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.) fornecida por agroindústrias localizadas na cidade de Ilhéus (Bahia, Brasil). A obtenção do extrato aquoso procedeu-se de acordo com a metodologia proposta por Soto et al. (2019). As AgNPs foram sintetizadas em reator hidrotérmico (WT Industria, DWTI-439-15, São Carlos, Brasil) durante 40 minutos a uma temperatura de 90 °C usando 0,01 M de nitrato de prata (Santos et al., 2023b).

2.2 Produção da celulose nanofibrilada de eucalipto

Polpas branqueadas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.), fornecidas por uma indústria nacional de papel e celulose, foram inicialmente hidratadas a uma concentração de 2% (m/v) durante 48 h. Após a hidratação, as polpas foram homogeneizadas em um homogeneizador (Tecnal, Turratec 102, Piracicaba, Brasil) a 8000 rpm por 1 h. Em seguida, procedeu-se à desfibrilação das suspensões, realizando 5 passagens em microfibrilador (Masuko Sangyo, MKGA6-80, Kawaguchi, Japão). Este processo resultou na obtenção do gel de celulose nanofibrilada (NFC), que foi armazenado a 4 ± 2 °C.

2.3 Preparo dos bionanocompósitos

Filmes à base de fécula de mandioca (Amafil, Brasil) com diferentes porcentagens de adição de NFC foram obtidos pelo método casting baseado na formulação proposta por Guimarães et al. (2015). Uma solução de fécula de mandioca a 3% (m/v) em água destilada, previamente hidratada por 24 h, foi submetida à gelatinização a 80 °C por 20 minutos sob agitação de 750 rpm. Sorbitol (30% em relação à massa de amido) foi adicionado à solução antes da gelatinização, como plastificante. Diferentes concentrações (m/m) de NFC (0%, 10%, 20%, 30% e 50%), em relação a massa final dos bionanocompósitos, foram adicionadas à solução gelatinizada. Posteriormente as AgNPs foram incorporadas às soluções resultantes até uma concentração de 0,075 mg L⁻¹ de prata. Esse valor foi escolhido considerando o limite máximo de 0,1 mg L⁻¹ de prata livre que pode ser tolerado, sem riscos à saúde humana, em água potável segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003). Após a adição da NFC e das AgNPs, as soluções foram agitadas manualmente até alcançarem a homogeneização. Em seguida, aproximadamente 40 g da solução filmogênica foram despejados em placas de acrílico e secos em estufa com circulação de ar (Tecnal, TE-319, Piracicaba,

Brasil) a 40 ± 2 °C por 24 h. Após esse período os bionanocompósitos foram retirados das placas e armazenados em sacos de polietileno a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), até a realização das análises.

2.4 Caracterização dos bionanocompósitos

2.4.1 Morfologia

A morfologia dos bionanocompósitos foi avaliada por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) e da Microscopia de Força Atômica (AFM). A MEV-FEG foi realizada em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (Tescan, CLARA, Brno, República Tcheca) operando a uma tensão de aceleração de 20 kV. Amostras com aproximadamente $0,5 \text{ cm}^2$ foram fixadas em suportes com fitas adesivas de dupla face e posteriormente metalizadas em evaporador de ouro (Baltec, SCD 050, Balzers, Liechtenstein). As micrografias eletrônicas foram realizadas com ampliação de 1000x.

A AFM foi realizada utilizando um microscópio de força atômica (Nanosurf, FlexAFM, Liestal, Suíça). O teste foi efetuado em modo de força dinâmica à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), com uma velocidade de varredura de 2 segundos por linha e 256 pontos por linha. Foram utilizadas pontas de silício com um raio nominal de 10 nm e uma constante elástica de 48 N m^{-1} . O ensaio analisou regiões de $60 \times 60 \text{ }\mu\text{m}$ de área. As imagens obtidas foram analisadas pelo software Gwyddion (República Tcheca) para obter a rugosidade média da superfície (R_a) nas regiões exploradas (Nečas & Klapetek, 2012).

2.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

A Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) dos bionanocompósitos foi realizada no modo de transmitância (%) utilizando um espectrômetro FTIR (Bruker, Vertex 70v, Ettlingen, Alemanha) acoplado com acessório de reflexão total atenuada (ATR) (Bruker, ATR Platinum, Ettlingen, Alemanha). As amostras foram colocadas no suporte do ATR e pressionadas contra o cristal pelo sensor de medição. Os espectros foram adquiridos realizando 32 varreduras na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} com uma resolução espectral de 4 cm^{-1} .

2.4.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas foram determinadas em um texturômetro (Stable Micro Systems, TA.TX2i, Godalming, Inglaterra), com base na metodologia da American Society for Testing and Material - D882-00 (ASTM, 2002), com adaptações propostas por Lago et al. (2021).

Para os ensaios de tração, os corpos de prova foram cortados nas dimensões de $25 \times 100 \text{ mm}$ e ajustados às garras pneumáticas (A/TG) do equipamento. A distância entre as garras foi de 50 mm e a velocidade de tração de $0,8 \text{ mm s}^{-1}$. Os parâmetros determinados foram resistência à tração (MPa) e módulo de Young (MPa). Para o ensaio de punção, os corpos de prova foram cortados nas dimensões de $30 \times 30 \text{ mm}$ e ajustados ao suporte para a sonda (p/S5) de 5 mm de área de contato com

a amostra. A distância entre a sonda e o corpo de prova foi ajustada manualmente e a velocidade do teste foi de $0,8 \text{ mm s}^{-1}$, por meio da qual foi determinado o parâmetro de força de punção (N).

2.4.4 Propriedades de barreira e hidrofiliçidade

As propriedades de barreira e a hidrofiliçidade dos bionanocompósitos foram avaliadas por meio das análises de permeabilidade ao vapor de água (PVA), solubilidade em água, ângulo de contato e molhabilidade.

As medidas de taxa de permeabilidade ao vapor de água dos filmes seguiram a adaptação do método padrão ASTM (2016), utilizado por Santos et al. (2023a). Amostras com 16 mm de diâmetro foram acopladas a células de permeação preenchidas com sílica. Estas células foram acondicionadas a $38 \text{ }^\circ\text{C}$ e 90% de umidade relativa (UR) durante oito dias e pesadas todos os dias. O ambiente com UR de 90% criado em dessecador contendo solução salina saturada foi produzido com base na ASTM (2002). Uma curva de calibração foi construída considerando o ganho de peso da sílica ao longo do tempo de avaliação. Foi calculada a taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA), de acordo com a Eq. (1), sendo a taxa de transmissão de vapor de água do filme biodegradável determinada a partir da inclinação do gráfico de variação de peso do frasco em função do tempo. A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada usando a Eq. (2).

$$TPVA \text{ (g m}^{-2} \text{ dia}^{-1}) = \frac{ca}{A} \quad (1)$$

Onde: ca é o coeficiente angular da equação reta (regressão linear) e A é a área de permeação (m^2).

$$PVA \text{ (g mm kPa}^{-1} \text{ dia}^{-1} \text{ m}^{-2}) = \frac{TPVA \cdot E}{\Delta p} \quad (2)$$

Onde: E é a espessura da amostra (mm) e Δp é a pressão de saturação do vapor na temperatura de teste (kPa).

A solubilidade em água foi avaliada pelo método gravimétrico proposto por Gontard et al. (1994). Amostras dos bionanocompósitos com 2 cm^2 de diâmetro foram secas em estufa com circulação forçada de ar (Tecnal, TE-319, Piracicaba, Brasil) a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ até peso constante. Após esse procedimento, os bionanocompósitos foram imersos em um recipiente contendo 30 mL de água destilada e incubados a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e 50 rpm durante 24 h. As suspensões resultantes foram filtradas e os materiais não solubilizados secos em estufa com circulação forçada de ar (Tecnal, TE-319, Piracicaba, Brasil) a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h e posteriormente pesados. A solubilidade foi calculada de acordo com a Eq. (3) e expressa em porcentagem.

$$S(\%) = \left(\frac{PI - PF}{PI} \right) * 100 \quad (3)$$

Onde: S (%) é a solubilidade dada em porcentagem, PI é a massa inicial do material seco e PF é a massa final massa do material seco não solubilizado.

O ângulo de contato e a molhabilidade dos bionanocompósitos foram medidos em um goniômetro (Kruss, DSA25, Hamburgo, Alemanha), com aquisição de imagens e medição dos valores por meio do software Advanced (Kruss, Alemanha). Amostras dos materiais com dimensões de 2,5 cm x 1,0 cm foram utilizadas para os testes. Uma gota de água foi aplicada sobre as amostras e os valores dos ângulos em ambos os lados da gota formada foram calculados ao longo de 60 s. A média dos valores de cada amostra no tempo de 1 s foi calculada e tomada como valor do ângulo de contato. As leituras foram realizadas em triplicata em três regiões distintas de cada repetição. A molhabilidade foi calculada de acordo com a Eq. (4) conforme a ASTM D 724-99 (ASTM D 724-99, 2003).

$$\text{Molhabilidade } (^\circ \text{ s}^{-1}) = \left(\frac{A - a}{55} \right) \quad (4)$$

Onde: A é o valor médio do ângulo de contato em 5 s; a é o valor médio do ângulo de contato em 60 s; e 55 é o tempo entre as medições.

2.4.5 Propriedades óticas e espessura

Coloração e opacidade foram avaliadas em colorímetro (Konica Minolta®, Chroma Meter CR-400, Tóquio, Japão), sendo os resultados expressos pelo sistema de cores CIE LCh, onde L^* representa a claridade, C^* a cromaticidade e $^\circ\text{hue}$ (ângulo hue) a tonalidade. A espessura foi obtida por meio de um micrômetro digital (Mitutoyo®, H-2780, Kawasaki, Japão) com resultados expressos em mm.

2.4.6 Análises reológicas

As curvas de fluxo, varreduras de frequência, de deformação e de tensão foram determinadas em um reômetro (Anton Paar, MCR 102e, Graz, Áustria) com sistema de medição de placas paralelas (PP50 SN102090, $D = 49,965$; $\text{Gap} = 1,0$ mm). Estas determinações foram realizadas nas soluções filmogênicas que deram origem aos bionanocompósitos.

As curvas de fluxo foram obtidas a 25 °C, utilizando três rampas contínuas (crescente, decrescente e crescente) com uma taxa de deformação variando de 0 a 300 s^{-1} , durante 2,5 minutos para cada curva. O modelo da Lei da Potência (Eq. 5), foi ajustado aos dados experimentais da segunda curva crescente, que representa o fluxo em estado estacionário (Steffe, 1996). A viscosidade aparente foi obtida a 100 s^{-1} , que corresponde à taxa de deformação associada a processos industriais de bombeamento e agitação (McClements, 2004).

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (5)$$

Onde: τ é a tensão de cisalhamento em (Pa), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}), K é o índice de consistência ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$), e n é o índice de comportamento (adimensional).

O ajuste do modelo foi avaliado por meio do coeficiente de determinação (R^2) e da raiz quadrada do erro médio quadrático (RMSE).

A varredura de frequência foi realizada em uma faixa de 0,1 a 100 rad s⁻¹ e em várias tensões de cisalhamento adequadas na região viscoelástica linear. As varreduras de deformação e tensão foram realizadas no intervalo de 0,1 a 100% e 0,01 a 10 Pa, respectivamente, a 1 Hz. Todos os testes foram realizados a 25 °C (Mendoza et al., 2018).

2.5 Aplicação dos bionanocompósitos em fungos

A atividade antifúngica foi avaliada por meio do método de disco-difusão em ágar conforme descrito na norma CLSI M44 (2003), com adaptações. Foram utilizados isolados de *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Colletotrichum musae* e *Fusarium semitectum* pertencentes a coleção de culturas da Universidade Federal de Lavras (Brasil). Tanto *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*, cultivados em Corn Meal Agar, quanto *Colletotrichum musae* e *Fusarium semitectum*, cultivados em Potato Dextrose Agar, foram mantidos por aproximadamente 5 dias a 25 ± 2°C. Após esse período, as suspensões das células dos microrganismos foram diluídas em água peptonada até a obtenção de uma suspensão com 10⁶ UFC mL⁻¹. Em seguida, 100 µL dessas suspensões foram inoculadas em placas previamente preparadas com Corn Meal Agar para *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*, e Potato Dextrose Agar para *Colletotrichum musae* e *Fusarium semitectum*. Posteriormente, discos esterilizados de papel-filtro (Whatman n° 3) com 6 mm de diâmetro foram dispostos nas placas e sobre os discos foi adicionado 10 µL das amostras. A atividade antimicrobiana da nanopartícula de prata da casca da amêndoa do cacau foi incluída. Após incubação de 5 dias a 25 ± 2°C, foi realizada a leitura do halo de inibição (mm).

2.6 Planejamento experimental e análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos (0%, 10%, 20%, 30% e 50%) referentes à concentração de nanocelulose de eucalipto adicionadas aos bionanocompósitos preparados. Foram realizadas três repetições para cada tratamento. Cada repetição foi composta por 200 mL de solução de filme, resultando em um rendimento médio de cinco discos de filme. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), análise de regressão e análise de componentes principais (ACP). Para a análise de regressão os modelos linear, quadrático e cúbico foram testados, utilizando como critério de escolha o coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,70$), a não significância da falta de ajuste do modelo ($P > 0,05$) e coeficientes significativos ($P \leq 0,05$). O software SAS University foi utilizado para análise dos dados.

3. Resultados e discussão

3.1 Morfologia

As micrografias de MEV-FEG obtidas para a superfície e secção transversal dos bionanocompósitos são mostradas na Fig. 1. A amostra controle apresentou superfície e secção transversal lisa e homogênea (Fig. 1A e 1F), típica dos biopolímeros à base de amido, conforme descrito por Lago et al. (2021). Notou-se, em todas as concentrações de nanocelulose estudadas (0%, 10%, 20%, 30% e 50%), a presença de partículas dispersas que podem ser atribuídas às nanopartículas de prata ou aglomerados das mesmas (indicadas por setas amarelas).

Observou-se, por meio da perspectiva superficial dos materiais (Fig. 1B a 1E), um aumento na formação de aglomerados a medida com que a concentração de nanocelulose também aumentava. Essa formação de aglomerados pode ser atribuída, evidentemente, à tendência das mesmas em estabelecer ligações de hidrogênio, promovendo a concentração das fibras em áreas específicas (Jongaroontaprangsee et al., 2018). A formação dessas aglomerações no material pode levar à acumulação de tensões em pontos específicos quando este é submetido a esforços de tração ou compressão, potencialmente comprometendo a integridade estrutural e aumentando sua susceptibilidade a danos (Tian et al., 2024). Contudo, a análise dos resultados relativos às propriedades mecânicas mostra que os aglomerados detectados não foram suficientemente significativos para afetar adversamente o desempenho mecânico do material.

A visualização da secção transversal dos tratamentos Ag-NCF10%, Ag-NCF20% e Ag-NCF30% (Fig. 1G, 1H e 1I) revelou materiais contínuos, sem a presença de aglomerações. Isso indica que a nanocelulose adicionada está dispersa de maneira uniforme na matriz de amido, evidenciando uma excelente compatibilidade entre estes dois componentes majoritários. Tal compatibilidade é provavelmente resultado de ligações intermoleculares eficazes entre a nanocelulose e o amido, possivelmente mediadas por pontes de hidrogênio (Chen et al., 2020; Tian et al., 2024).

Ag-NCF50% (Fig. 1E) destacou-se por apresentar, em sua secção transversal, uma densidade visualmente maior de aglomerações em comparação às demais amostras. Essas aglomerações mais proeminentes de fibras na matriz de amido podem ser advindas da saturação do meio polimérico com a celulose nanofibrilada, que, com o aumento da concentração, reduz o espaço para dispersão homogênea e favorece a formação de aglomerados (Peng et al., 2020). A presença dessas aglomerações pode afetar as propriedades mecânicas, de barreira e antimicrobianas, o que justifica a otimização da concentração de nanocelulose em bionanocompósitos a fim de encontrar um equilíbrio entre melhorar as propriedades desejadas e evitar a formação excessiva de aglomerados que podem comprometer a performance do material.

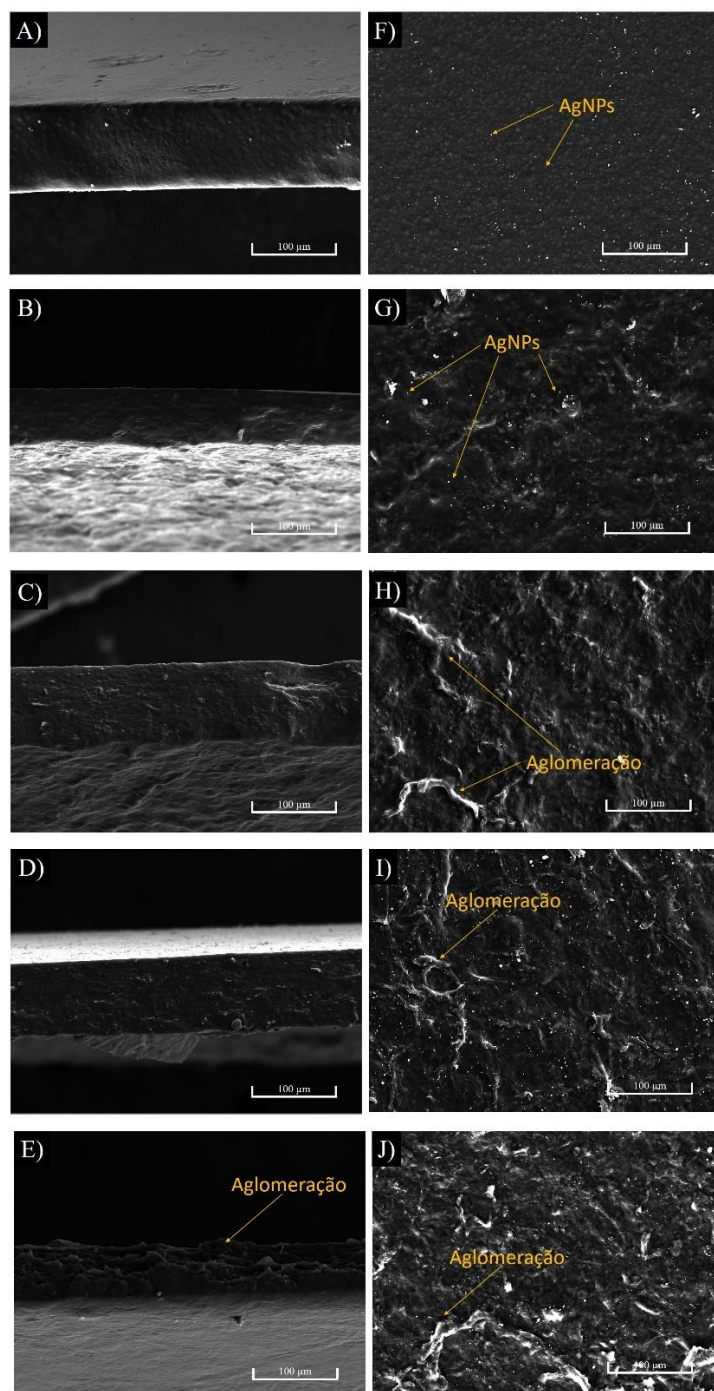


Fig. 1. Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): A) secção transversal do bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); B) secção transversal do bionanocompósito com 10% de NFC (Ag-NFC10%); C) secção transversal do bionanocompósito com 20% de NFC (Ag-NFC20%); D) secção transversal do bionanocompósito com 30% de NFC (Ag-NFC30%); E) secção transversal do bionanocompósito com 50% de NFC (Ag-NFC50%); F) superfície do bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); G) superfície do bionanocompósito com 10% de NFC (Ag-NFC10%); H) superfície do bionanocompósito com 20% de NFC (Ag-NFC20%); I) superfície do bionanocompósito com 30% de NFC (Ag-NFC30%); J) superfície do bionanocompósito com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

A AFM foi realizada para avaliar a rugosidade superficial dos materiais estudados e os resultados obtidos com este método encontram-se na Fig. 2. As imagens topográficas (Fig. 2A a 2E) ilustram como os filmes se alteram com a adição da nanocelulose, oferecendo uma representação visual do aumento da rugosidade e destacando a influência da composição na microestrutura e nas propriedades finais dos filmes.

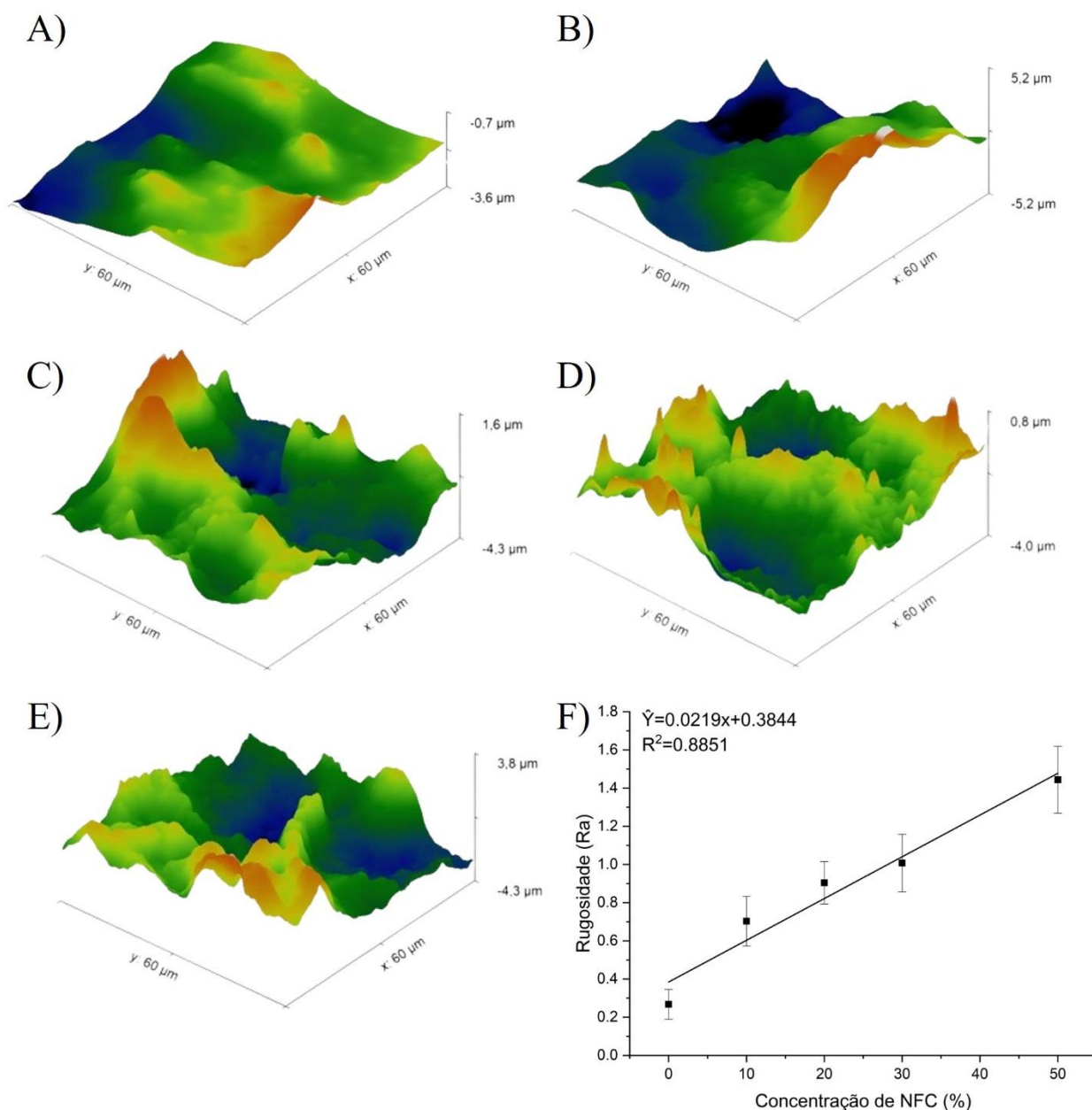


Fig. 2. Microscopia de Força Atômica (AFM) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): A) controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); B) com 10% de NFC (Ag-NFC10%); C) com 20% de NFC (Ag-NFC20%); D) com 30% de NFC (Ag-NFC30%); E) com 50% de NFC (Ag-NFC50%); F) efeito da concentração de NFC na rugosidade dos bionanocompósitos, com o modelo ajustado e coeficiente de determinação (R^2). Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha).

Os valores de rugosidade (Fig. 2F) apresentaram um comportamento linear crescente variando entre $0,27 \pm 0,08$ Ra para filmes sem nanocelulose (Ag-NFC0%) e $1,27 \pm 0,35$ Ra para aqueles com a

maior concentração testada (Ag-NFC50%). Este aumento sugere que a incorporação de nanocelulose no filme não é uniforme, podendo levar à formação de aglomerações ou uma distribuição heterogênea da nanocelulose, resultando em uma superfície mais rugosa. A observação anterior pode ser confirmada por meio das micrografias obtidas com a MEV-FEG onde é possível identificar a formação de aglomerados.

3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

Os espectros obtidos com FTIR-ATR encontram-se na Fig. 3. As amostras apresentaram 7 bandas que se destacaram ao longo do espectro. A banda em 3298 cm^{-1} , associada às vibrações de estiramento O-H, ressalta a presença de grupos hidroxila fundamentais ao amido, celulose e sorbitol, bem como à água adsorvida, sugerindo uma natureza hidrofílica e a potencial formação de ligações de hidrogênio entre os componentes (Joshi et al., 2023).

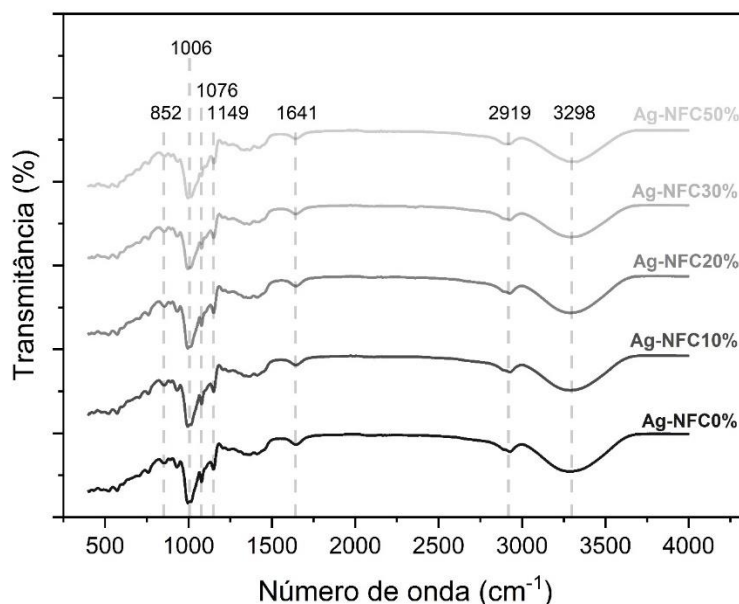


Fig. 3. Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%) e com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

A banda em 2919 cm^{-1} reflete as vibrações de estiramento C-H, evidenciando as cadeias carbônicas que constituem a estrutura molecular do amido, da celulose e do sorbitol (Shahmaleki et al., 2021; Joshi et al., 2023). A banda que ocorre em 1641 cm^{-1} está associada a água fortemente ligada presente no amido (Muscat et al., 2014). As bandas em 1149 cm^{-1} e 1076 cm^{-1} estão comumente associadas às vibrações de estiramento das ligações C-O em estruturas glicosídicas, as quais são abundantes em carboidratos (Nikonenko et al., 2005). As bandas em 1006 cm^{-1} e em 852 cm^{-1} estão associadas às vibrações de estiramento C-O-C e também indicam a presença de estruturas glicosídicas (Nikonenko et al., 2005; Khalili et al., 2023).

Embora a banda em 1076 cm^{-1} também esteja associada às vibrações de estiramento C-O, a mesma pode estar relacionada a estruturas específicas dentro do carboidrato ou a interações entre as cadeias polissacarídicas e outros componentes do bionanocompósito, como a nanocelulose. Esta banda destaca-se das demais por apresentar uma redução na intensidade com a adição de nanocelulose. Acredita-se que a celulose nanofibrilada, com sua elevada área superficial e abundância de grupos hidroxila, pode formar mais ligações de hidrogênio internas ou com moléculas de água, potencialmente reduzindo a acessibilidade ou alterando o ambiente das ligações C-O no amido, refletido pela diminuição da intensidade dessa banda (Singh et al., 2016).

De modo geral, não foi observada diferença entre os espectros do filme controle (Ag-NFC0%) sem adição de nanocelulose e aqueles com adição da mesma (Ag-NCF10%, Ag-NCF20%, Ag-NCF30% e Ag-NFC50%). Esse achado indica que a adição de nanofibrilas não leva a uma modificação química significativa em termos de grupos funcionais devido à similaridade estrutural entre o amido de mandioca e o gel de nanofibrilas (Lago et al., 2021). Outro ponto que vale ser mencionado é a diminuição sutil na intensidade da banda atribuída ao grupo O-H (3298 cm^{-1}), à medida que a concentração de nanofibrilas aumenta. Essa menor intensidade pode indicar interações mais intensas e maiores entre as moléculas de amido e as nanofibrilas. Quando tais ligações são formadas, as cadeias de polissacarídeos, bem como as moléculas de sorbitol, perdem grupos hidroxila para o meio na forma de água, e como essa água é evaporada no processo de secagem, a quantidade de grupos O-H livres tende a diminuir, o que explica o comportamento observado (Jaramillo et al., 2016; Lago et al., 2021).

3.3 Propriedades mecânicas

Os resultados para as análises mecânicas dos bionanocompósitos encontram-se na Fig. 4. A força de punção (Fig. 4A), mostra um incremento significativo de 11,87 N em filmes sem nanocelulose (Ag-NFC0%) para 33,14 N em filmes com 50% de nanocelulose (Ag-NFC50%), o que representa um aumento de aproximadamente 179%. Esse aumento sinaliza uma maior rigidez nos filmes, tornando-os substancialmente mais resistentes a danos físicos, um atributo desejável em aplicações que exigem durabilidade, como embalagens.

De forma similar, a resistência à tração (Fig. 4B), também apresenta um aumento progressivo conforme a concentração de nanocelulose se eleva. A resistência à tração eleva-se de 3,87 MPa (Ag-NFC0%) para 14,85 MPa (Ag-NFC50%), o que representa um aumento de aproximadamente 283,93%. Esse acréscimo na resistência demonstra que a incorporação de nanocelulose conferiu ao material uma capacidade aprimorada de suportar tensões externas sem se romper.

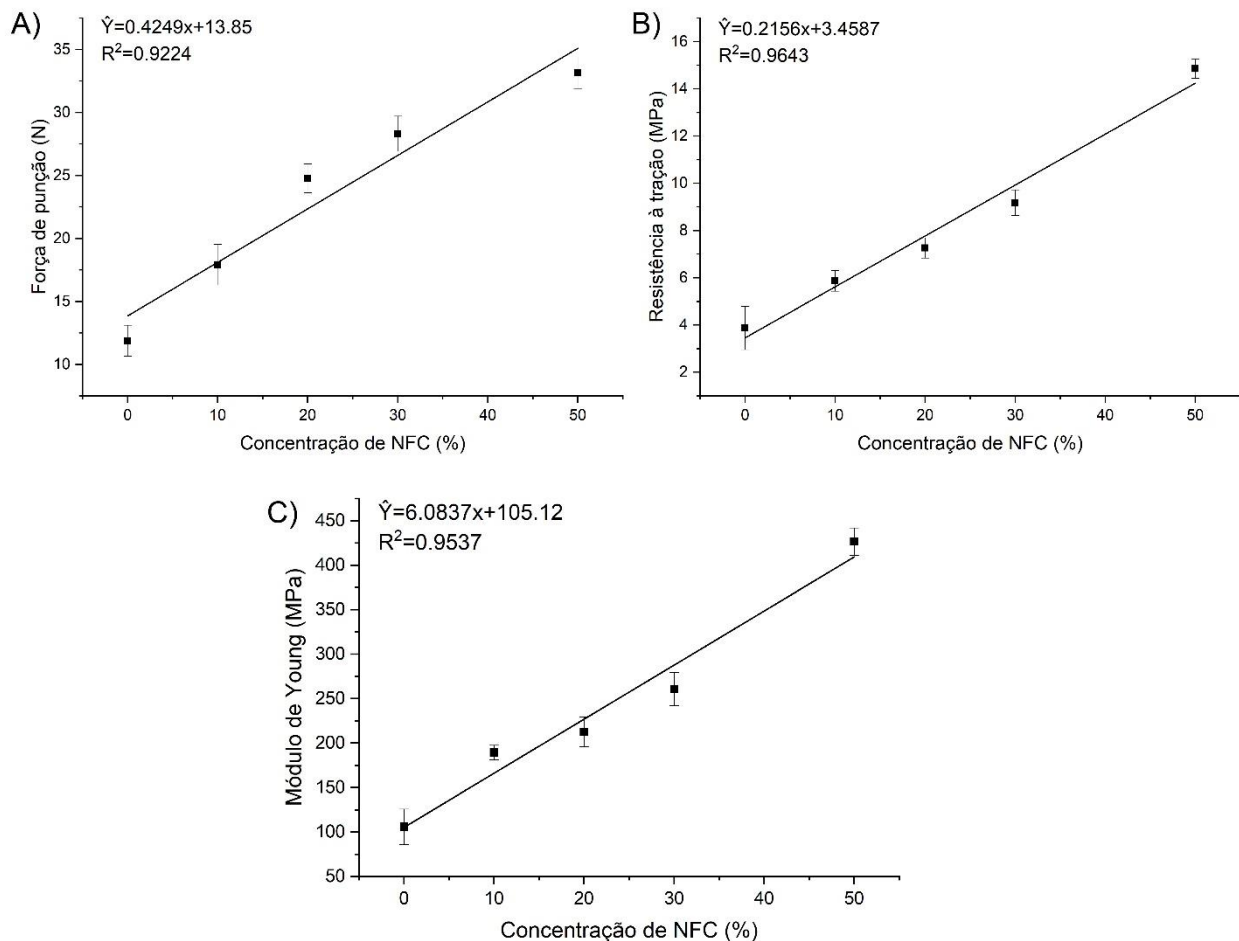


Fig. 4. Efeito da concentração de NFC nos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs), com modelo ajustado e coeficiente de determinação R^2 para: A) força de punção; B) resistência a tração e C) módulo de Young. Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha). Bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); bionanocompósito com 10% de NFC (Ag-NFC10%); bionanocompósito com 20% de NFC (Ag-NFC20%); bionanocompósito com 30% de NFC (Ag-NFC30%); bionanocompósito com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

O incremento na força de punção e na resistência à tração, observado com o aumento da concentração de NFC, pode ser explicado pela ampla área superficial dos materiais em nanoescala (Sehaqui et al., 2011; Malekzadeh et al., 2023). Esta característica facilita a formação de um número maior de ligações de hidrogênio, o que, por sua vez, melhora significativamente as propriedades mecânicas dos materiais. As propriedades de tração e resistência à ruptura são diretamente influenciadas pela qualidade das ligações interfibrilares, que dependem da área de superfície disponível para a ligação entre as fibras; assim, um maior tamanho ideal da fibra resulta em uma ampla área de contato, potencializando a formação de ligações interfibrilares mais robustas e, por consequência, aprimorando as propriedades mecânicas do material (Lengowski et al., 2020). Esses resultados são consistentes com descobertas anteriores que relataram efeitos positivos de materiais à base de celulose em micro e nanoescala nas propriedades mecânicas de filmes (Mao et al., 2019;

Coelho et al., 2020; Malekzadeh et al., 2023;) e papéis (Sanchez-Salvador et al., 2020; Perdoch et al., 2022).

Além disso, o módulo de Young (Fig. 4C) também apresentou um comportamento linear crescente, variando de 107,32 MPa nos filmes sem nanocelulose para 417,14 MPa nos filmes com 50% de nanocelulose. Este resultado revela um aumento na rigidez dos filmes, atribuível à interação reforçada entre a nanocelulose e a matriz polimérica, que resulta em uma estrutura compósita mais consolidada.

Os resultados indicam que a nanocelulose não apenas melhora as propriedades mecânicas dos filmes de maneira significativa, mas também sugerem uma interação sinérgica positiva entre o amido de mandioca e nanocelulose. Esta sinergia promove um reforço na estrutura dos filmes, tornando-os mais fortes, resistentes e rígidos. Essas características expandem o potencial de uso desses filmes compósitos em uma variedade de aplicações que vão desde embalagens resistentes até potenciais usos em campos exigentes como a biomedicina, onde é crucial o uso de materiais com características mecânicas específicas e de alta confiabilidade.

3.4 Propriedades de barreira e hidrofiliabilidade

Os resultados referentes as propriedades de barreira e hidrofiliabilidade dos bionanocompósitos encontram-se na Fig. 5. A solubilidade (Fig. 5A) em água dos filmes apresentou uma tendência decrescente com o aumento da concentração de nanocelulose, variando de 22,26% para filmes com 50% de adição de nanocelulose (Ag-NFC50%) a 32,84% para filmes sem adição (Ag-NFC0%). Estes resultados sugerem que a adição de nanocelulose contribui para uma maior estabilidade dos filmes em ambientes úmidos, possivelmente devido à formação de uma matriz mais compacta (Malekzadeh et al., 2023). A nanocelulose, conhecida por sua natureza hidrofílica e habilidade de formar extensas redes de hidrogênio, pode reduzir a acessibilidade da água às cadeias de amido, conseqüentemente diminuindo a solubilidade do filme. Essa propriedade é especialmente relevante considerando que a hidrofiliabilidade é uma das características mais significativas do amido (Coelho et al., 2020). Além disso, a nanocelulose se destaca por sua maior cristalinidade e um arranjo microfibrilar mais compacto em comparação ao amido, o que confere um maior grau de ordem molecular e a torna menos hidrofílica (Montero et al., 2017; Malekzadeh et al., 2023). Comparativamente, outros estudos obtiveram resultados semelhantes para nanocompósitos à base de amido reforçados com nanocristais de celulose (Coelho et al., 2020), filmes a base de amido de milho adicionados de celulose nanofibrilada de pseudocaule de banana (Rodrigues et al., 2022) e bionanocompósitos de fécula de mandioca reforçados com nanofibrilas de palha de trigo (Lago et al., 2021).

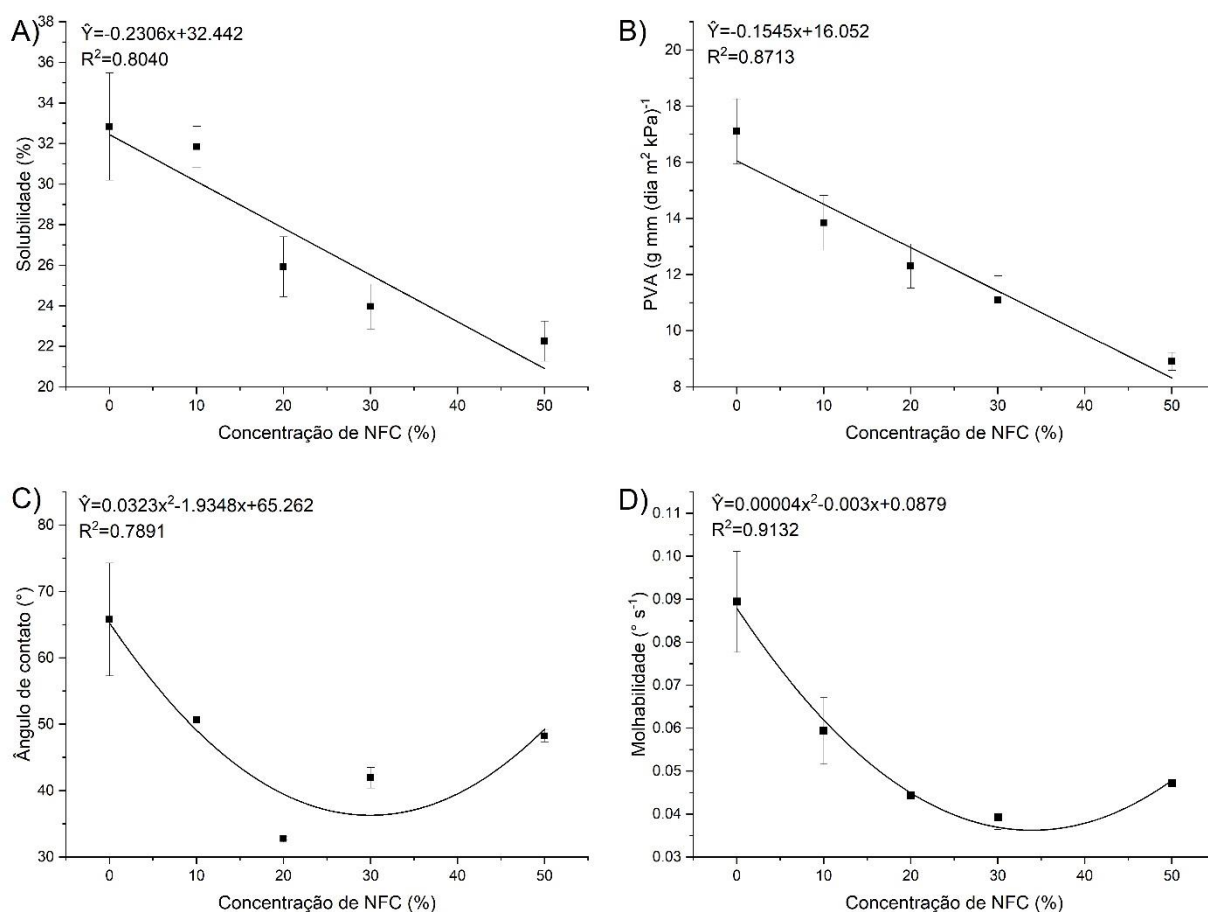


Fig. 5. Efeito da concentração de NFC nos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs), com modelo ajustado e coeficiente de determinação R^2 para: A) solubilidade; B) permeabilidade ao vapor de água (PVA); C) ângulo de contato e D) molhabilidade. Dados experimentais (■) e dados do modelo (linha). Bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%); bionanocompósito com 10% de NFC (Ag-NFC10%); bionanocompósito com 20% de NFC (Ag-NFC20%); bionanocompósito com 30% de NFC (Ag-NFC30%); bionanocompósito com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

A PVA (Fig. 5B) também foi influenciada pela adição de nanocelulose, apresentando um comportamento linear decrescente com uma redução de 17,10 g mm (dia m² kPa)⁻¹ em filmes sem nanocelulose para 8,91 g mm (dia m² kPa)⁻¹ em filmes com 50% de nanocelulose. Este aprimoramento na barreira ao vapor de água é particularmente relevante para aplicações de embalagens, onde a proteção contra a umidade é crucial. A diminuição nos valores de PVA após a incorporação da NFC pode ser atribuída à forte rede formada pelas nanofibrilas com moléculas de amido que reduz o tamanho dos poros e cria uma barreira ao vapor de água (Kang et al., 2021). Esse processo resulta em um aumento na tortuosidade da trajetória das moléculas de água, dificultando ainda mais sua passagem e contribuindo para a redução da PVA (Noshirvani et al., 2018). Em contraste, os resultados de PVA que obtivemos são superiores aos reportados por Souza et al. (2023), que investigaram filmes à base de nanocelulose de eucalipto e encontraram uma permeabilidade de apenas 1,07 g mm (dia m² kPa)⁻¹. Essa discrepância nos resultados pode ser atribuída à ausência de amido nos filmes estudados

por Souza e colaboradores (2023), destacando o impacto que o amido tem no aumento da permeabilidade ao vapor de água.

Em geral, superfícies são classificadas como hidrofílicas quando apresentam ângulos de contato menores que 90° e hidrofóbicas quando maiores que 90° (Yuan & Lee, 2013). Portanto, todos os bionanocompósitos podem ser considerados hidrofílicos (Fig. 5C). Embora sejam classificados como hidrofílicos, os materiais apresentaram uma redução da molhabilidade (Fig. 5D) a medida com que a concentração de NFC aumentava. De fato, Lago et al. (2020) determinaram o ângulo de contato em filmes de amido com nanocelulose e classificaram os materiais como hidrofílicos, porém com baixa molhabilidade. Assim como para PVA, acredita-se que a redução da molhabilidade possa ser atribuída às interações intermoleculares fortes entre os componentes dos bionanocompósitos, as quais resultam em maior dificuldade para a passagem da água.

Ademais, os resultados para as propriedades de barreira não apenas evidenciam o potencial da nanocelulose em modificar interações filme-água, mas também indicam a exploração desses materiais em aplicações onde a modulação da molhabilidade é desejável, como em revestimentos resistentes à água ou em embalagens com barreiras específicas à umidade.

3.5 Propriedades óticas e espessura

A Tabela 1 detalha os resultados para espessura, opacidade L^* , C^* e hue° para os bionanocompósitos estudados. A espessura dos bionanocompósitos não apresentou variações significativas com o aumento da concentração de NFC, permanecendo em torno de 0,09 mm. Isso sugere que a adição de nanocelulose de eucalipto até 50% não afeta a espessura dos bionanocompósitos de amido de mandioca, o que pode indicar uma boa dispersão e compatibilidade da nanocelulose no polímero base.

Assim como para espessura, os bionanocompósitos não apresentaram diferença significativa para opacidade, L^* e hue° , indicando que em relação a estes parâmetros os resultados obtidos foram aproximadamente constantes. Apenas C^* apresentou diferença significativa com comportamento linear crescente, o que sugere uma maior saturação de cor nos bionanocompósitos com maior concentração de NFC. Isso pode ocorrer devido a mudanças na superfície dos bionanocompósitos, que afetam a maneira como a luz é absorvida e refletida, potencialmente intensificando as cores percebidas.

Tabela 1. Médias, desvios padrão e modelo ajustado para espessura e propriedades ópticas (opacidade, clareza (L^*), cromaticidade (C^*) e ângulo hue (hue $^\circ$) dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC).

Parâmetros	Concentração de NFC					Modelo ajustado	R ²
	Ag-NFC0%	Ag-NFC10%	Ag-NFC20%	Ag-NFC30%	Ag-NFC50%		
Espessura (mm)	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	$\hat{Y}=\bar{Y}=0,09$	ns*
Opacidade (% μm^{-1})	2,33 ± 0,10	2,50 ± 0,06	2,56 ± 0,07	2,63 ± 0,01	2,67 ± 0,02	$\hat{Y}=\bar{Y}=2,07$	ns*
L^*	98,79 ± 0,86	97,46 ± 1,16	98,24 ± 0,62	99,36 ± 0,53	99,81 ± 0,16	$\hat{Y}=\bar{Y}=98,73$	ns*
C^*	2,66 ± 0,19	2,59 ± 0,12	3,06 ± 0,16	3,06 ± 0,18	3,33 ± 0,12	$\hat{Y}=0,0149x+2,613$	0,7052
hue $^\circ$	88,46 ± 2,12	92,06 ± 1,13	89,49 ± 1,48	88,09 ± 0,58	89,97 ± 0,38	$\hat{Y}=\bar{Y}=89,61$	ns*

Valores apresentados como média \pm desvio padrão. Bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%) e com 50% de NFC (Ag-NFC50%). ns*: não significativo. R²: coeficiente de determinação.

Portanto, os resultados para as propriedades ópticas dos bionanocompósitos demonstraram que a adição de NFC afeta C^* , sem alterar significativamente parâmetros como opacidade, L^* e hue $^\circ$. Essas mudanças sugerem que a NFC pode ser utilizada para modificar a saturação de cor dos materiais, tornando-os mais adequados para aplicações onde as características visuais, como a intensidade da cor, desempenhem um papel importante, como em produtos estéticos, revestimentos ou embalagens onde a aparência visual seja um fator relevante.

3.6 Análises reológicas

Os dados reológicos de tensão de cisalhamento e taxa de deformação das suspensões que deram origem aos bionanocompósitos foram analisados e verificou-se que o modelo Lei da Potência apresentou bom ajuste aos dados, uma vez que exibiu elevados coeficientes de determinação ($R^2 \geq 0,98$) e valores reduzidos para a raiz quadrada do erro médio ($RMSE \leq 1,06$). Além disso, notou-se que todas as suspensões apresentaram um perfil de escoamento de fluido não-newtoniano do tipo pseudoplástico, evidenciado pelos valores inferiores a 1 para o índice de comportamento de fluxo (n) e valores superiores a 0 para o índice de consistência (K), como observado na Tabela 2.

Tabela 2. Médias, desvios padrão e modelo ajustado para índice de consistência (K), índice de comportamento (n) e viscosidade aparente (η) a uma taxa de cisalhamento de 100 s^{-1} dos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC).

Parâmetros	Concentração de NFC					Modelo ajustado	R^2
	Ag-NFC0%	Ag-NFC10%	Ag-NFC20%	Ag-NFC30%	Ag-NFC50%		
$K \text{ (Pa}\cdot\text{s}^n)$	$0,67 \pm 0,24$	$0,86 \pm 0,12$	$1,30 \pm 0,12$	$1,32 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,06$	$\hat{Y} = -0,0009x^2 + 0,0488x + 0,6051$	0,7690
	$0,61 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,00$	$0,56 \pm 0,01$	$0,58 \pm 0,01$	$0,61 \pm 0,01$		
$\eta \text{ (Pa}\cdot\text{s}^{-1})$	$0,11 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$	$\hat{Y} = \bar{Y} = 0,15$	ns*

Valores apresentados como média \pm desvio padrão. Bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%) e com 50% de NFC (Ag-NFC50%). ns*: não significativo. R^2 : coeficiente de determinação.

Esse comportamento também pode ser notado por meio da Fig. 6, na qual observou-se o decréscimo da viscosidade aparente das suspensões com o aumento da taxa de deformação, o que confirma a conduta pseudoplástica desse tipo de material. Fluidos com esta classificação ao serem cisalhados têm um maior alinhamento das partículas na direção da tensão aplicada de forma que a resistência ao movimento é reduzida, conseqüentemente diminuindo sua viscosidade (Steffe, 1996). Resultado semelhante foi registrado por Souza et al. (2019) ao investigarem a viscosidade das celulosas nanofibriladas da casca de amêndoa do cacau, eucalipto e pinho. Tais autores verificaram que esses materiais também exibiram perfil de afinamento por cisalhamento, característico de fluidos pseudoplásticos. De fato, soluções poliméricas geralmente apresentam comportamento de afinamento por cisalhamento (Alves et al., 2020). Suspensões de nanofibrilas de celulose normalmente se comportam como soluções poliméricas, formando uma rede emaranhada acima de uma concentração crítica, sendo essa rede destruída pelo aumento das forças de cisalhamento, levando à diminuição da viscosidade (Vadodaria et al., 2018).

A Fig. 6 também permite a constatação do aumento da viscosidade com a elevação da concentração de nanocelulose do meio, sugerindo que as fibras da celulose nanofibrilada intensificam as interações moleculares, aumentando a resistência ao fluxo. Nesse quesito, a influência da concentração no comportamento reológico das suspensões também pode ser verificada por meio do índice de consistência do fluido (K). Na Tabela 2 verifica-se que o parâmetro K aumenta significativamente com a concentração de NFC até a concentração de 30%. Portanto, à medida que a concentração de NFC aumenta até um limite de saturação, a viscosidade cresce devido ao maior número de fibrilas na solução, o que intensifica as interações entre os componentes do

bionanocompósito (Albornoz-Palma et al., 2020). Isso resulta em uma matriz mais coesa, aumentando a resistência ao fluxo e o índice de consistência.

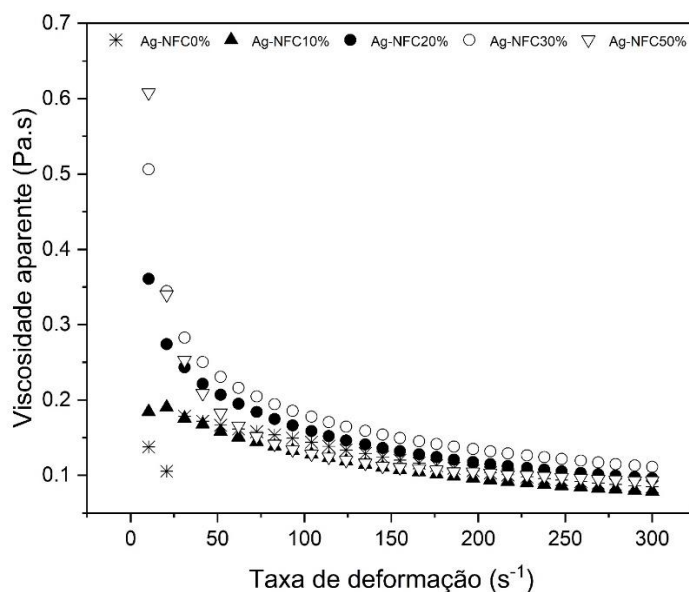


Fig. 6. Viscosidade aparente (Pa.s) em função da taxa de deformação (s^{-1}) para os bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%) e com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

Todavia, ao avaliarmos o efeito da concentração de NFC na viscosidade aparente dos bionanocompósitos a uma taxa de deformação de $100 s^{-1}$ (Tabela 2), observou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos estudados, indicando que, embora a adição de NFC modifique o comportamento reológico, a viscosidade aparente a uma taxa de deformação de $100 s^{-1}$ não é significativamente afetada pela concentração de NFC.

A análise do comportamento viscoelástico dos bionanocompósitos foi realizada utilizando varreduras de frequência, de deformação e de tensão, e os resultados dessas análises são apresentados na Fig. 7. Na varredura de frequência (Fig. 7A), nota-se um cruzamento entre os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') exclusivamente no tratamento sem NFC (AgNFC0%). Esse cruzamento sinaliza uma transição do comportamento elástico para o viscoso à medida que a frequência aumenta, evidenciando que as propriedades viscosas predominam sobre as elásticas em frequências mais elevadas. Tal mudança sugere a desintegração da estrutura do material e uma alteração no balanço entre elasticidade e viscosidade, indicativo de um estado mais fluido do material. Por outro lado, o tratamento com 10% de NFC (Ag-NFC10%) mostra uma tendência de sobreposição entre G' e G'' , o que indica um equilíbrio mais estável entre as respostas elásticas e viscosas do material ao longo das frequências testadas. Isso sugere que a adição de NFC nessa concentração oferece um reforço que equilibra as propriedades viscoelásticas do material, mantendo uma proporcionalidade entre o comportamento sólido e líquido sem uma transição marcada como

observada nos demais tratamentos. A não ocorrência de cruzamentos entre G' e G'' nas amostras com concentrações mais altas de NFC (20%, 30% e 50%) e a manutenção da relação $G' > G''$ ressaltam uma predominância do comportamento elástico, sugerindo que a adição de NFC fortalece a estrutura interna dos bionanocompósitos. Tal fortalecimento pode ser atribuído ao fato de que a medida que a concentração de nanofibrilas de celulose aumenta, elas tendem a entrelaçar-se e formar mais ligações de hidrogênio, tanto entre si quanto com a matriz polimérica resultando em uma estrutura tridimensional mais coesa e resistente (Alves et al., 2020; Pakutsah & Aht-Ong, 2020).

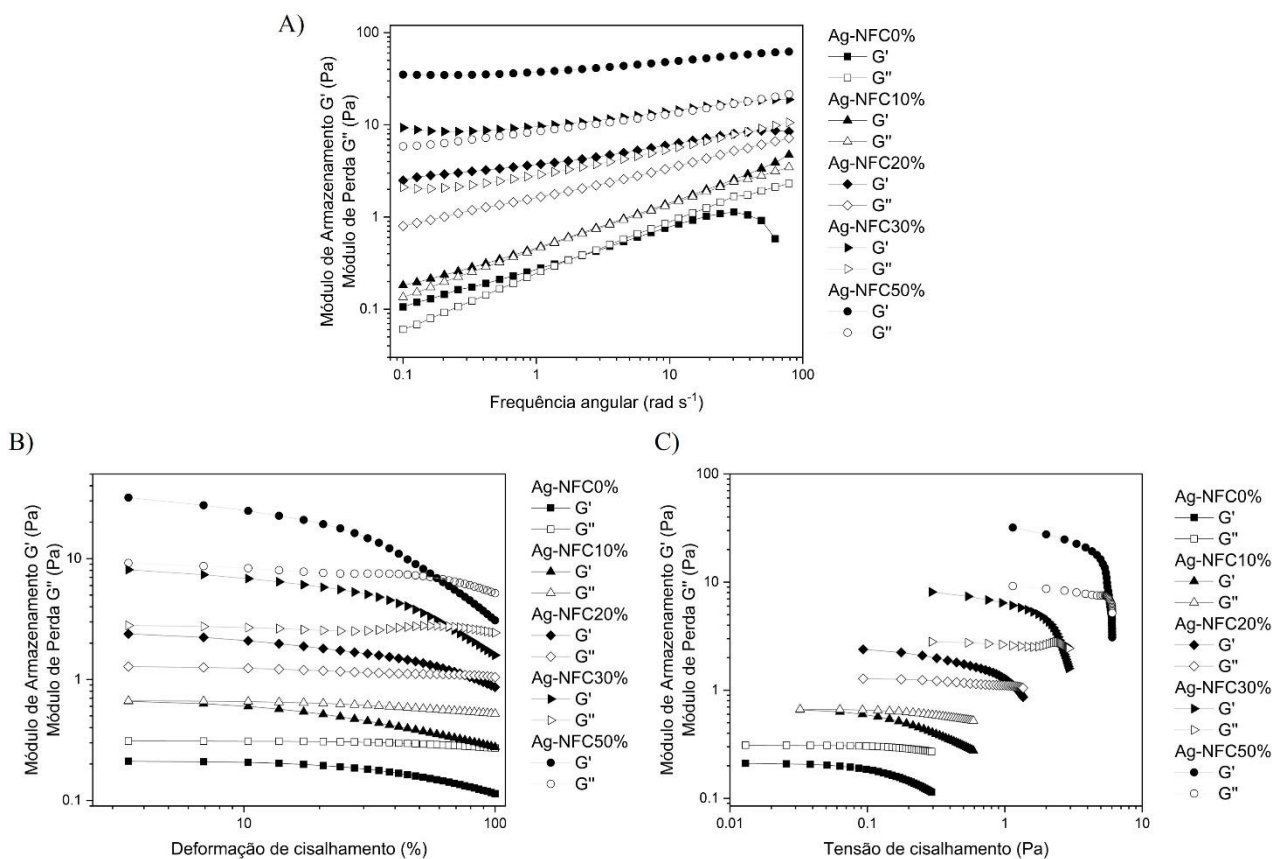


Fig. 7. Módulo de armazenamento (G') e Módulo de Perda (G'') em função da A) frequência angular (rad s⁻¹), B) da deformação de cisalhamento (%) e da C) tensão de cisalhamento (Pa) para os bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC): controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%) e com 50% de NFC (Ag-NFC50%).

Durante a varredura de deformação (Fig. 7B) enquanto a amostra sem NFC (Ag-NFC0%) exibe uma dominância de comportamento viscoso ($G'' > G'$), as amostras com NFC, especialmente a partir de 10%, demonstram um reforço na resistência à deformação, evidenciado por $G' > G''$. Observa-se ainda que nas amostras com maior concentração de NFC, o ponto de cruzamento entre G' e G'' foi observado em maior deformação e maior módulo, sugerindo que a transformação de fase necessita de maior tensão aplicada para exceder a tensão de escoamento. O reforço proporcionado

pela adição de NFC às suspensões impede o deslizamento relativo entre as moléculas da matriz sob aplicação de tensão, resultando em um material que exige uma força maior para ser deformado o que implica em um aumento no módulo de elástico.

Assim como observado nas varreduras de frequência e deformação, a varredura de tensão reforça o impacto da adição da NFC no comportamento das amostras. A Fig. 7C evidencia que a presença da NFC contribui para o aumento da resistência do material à aplicação de tensões externas. Especificamente, as amostras adicionadas de NFC, sobretudo aquelas com concentrações mais elevadas (20%, 30% e 50%), demonstram uma capacidade aprimorada de suportar tensões sem sofrer deformações significativas, sugerindo um aumento na resistência ao escoamento.

3.7 Aplicação dos bionanocompósitos em fungos

Os bionanocompósitos foram avaliados quanto à sua atividade antifúngica contra patógenos significativos para culturas agrícolas. Este estudo focou em *Botrytis cinerea*, conhecido por afetar uvas e morangos (Anum et al., 2023; Ripardo-Filho et al., 2023); *Penicillium expansum*, que causa podridão em maçãs e peras (Yin et al., 2017); *Colletotrichum musae*, responsável pela antracnose em bananas (Chu et al., 2023); e *Fusarium semitectum*, que pode infectar uma variedade de culturas incluindo tomates e milho (Abubakar et al., 2013). A atividade antifúngica foi medida usando o método padrão de disco-difusão em ágar. Os resultados, apresentados na Tabela 3, revelam que os bionanocompósitos exibiram atividade antifúngica eficaz contra *Botrytis cinerea* e *Fusarium semitectum*, mas não formaram halos de inibição contra *Penicillium expansum* e *Colletotrichum musae*.

Embora o mecanismo exato pelo qual as AgNPs agem contra microrganismos ainda não esteja completamente claro, é amplamente aceito que elas possam penetrar nas células ou hifas fúngicas, danificando membranas e superfícies celulares e impactando organelas vitais como mitocôndrias e ribossomos, que são essenciais para a produção de proteínas e energia (Xia et al., 2016; Ganash et al., 2018). Além disso, as AgNPs são conhecidas por deteriorar os conídios dos fungos, afetando sua forma e estrutura, e induzir a produção de espécies reativas de oxigênio que contribuem para a destruição celular (Nisar et al., 2019). A diferença na eficácia das AgNPs entre os fungos testados pode ser atribuída a vários fatores biológicos e fisiológicos, incluindo a composição da parede celular dos fungos e a presença de mecanismos de defesa como bombas de efluxo e enzimas neutralizadoras (Slavin et al., 2022). A morfologia e o tamanho dos conídios também são fatores que podem influenciar na interação das AgNPs com os microrganismos (Matras et al., 2022).

O uso excessivo de produtos químicos sintéticos como agentes de proteção de culturas para combater esses fungos tem levado ao surgimento de isolados resistentes, ressaltando a necessidade urgente de explorar novas alternativas com potencial antifúngico aprimorado para minimizar as

perdas econômicas associadas (Anum et al., 2023). Nesse contexto, as AgNPs e os bionanocompósitos produzidos emergem como opções promissoras oferecendo uma abordagem inovadora para o controle desses patógenos, com o potencial de substituir ou reduzir a dependência de tratamentos químicos sintéticos, alinhando-se com práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes.

Tabela 3. Halos de inibição (mm) formados pelos bionanocompósitos de amido adicionados de nanopartículas de prata (AgNPs) e diferentes concentrações de celulose nanofibrilada de eucalipto (NFC).

Microorganismo	Halo de inibição (mm)						Modelo ajustado	R ²
	AgNPs	Ag-NFC0%	Ag-NFC10%	Ag-NFC20%	Ag-NFC30%	Ag-NFC50%		
<i>Botrytis cinerea</i>	0,96 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	$\hat{Y}=\bar{Y}=0,50$	ns*
<i>Penicillium expansum</i>	0,98 ± 0,00	*	*	*	*	*	*	ns*
<i>Colletotrichum musae</i>	0,96 ± 0,00	*	*	*	*	*	*	ns*
<i>Fusarium semitectum</i>	0,98 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,50 ± 0,00	$\hat{Y}=\bar{Y}=0,50$	ns*

: Não houve formação de halo de inibição. Valores apresentados como média ± desvio padrão. Bionanocompósito controle sem adição de NFC (Ag-NFC0%), com 10% de NFC (Ag-NFC10%), com 20% de NFC (Ag-NFC20%), com 30% de NFC (Ag-NFC30%), com 50% de NFC (Ag-NFC50%). ns: não significativo. R²: coeficiente de determinação.

As AgNPs puras demonstraram ser eficazes contra todos os patógenos testados, porém a concentração usada nos bionanocompósitos pode não ter sido suficiente para inibir o crescimento de *Penicillium expansum* e *Colletotrichum musae*, especificamente. Portanto, a eficácia dos bionanocompósitos foi confirmada nos locais onde a solução filmogênica foi aplicada, impedindo o crescimento de *Botrytis cinerea* e *Fusarium semitectum*. Sugerimos que futuros estudos testem diretamente os bionanocompósitos em frutos acometidos por esses patógenos para validar plenamente seu potencial.

3.8 Análise de Componentes Principais

Para simplificar a interpretação dos resultados, recorreu-se à análise de componentes principais (ACP) (Fig. 8), que conseguiu explicar 77,85% da variabilidade total dos resultados. Desta

porcentagem, 63,24% foram atribuídos ao CP1 e 14,61% ao CP2. A ACP foi eficaz não apenas em reduzir a dimensionalidade dos dados de 15 para 2 variáveis (CP1 e CP2), mas também permitiu a identificação de grupos homogêneos entre as amostras. Observou-se que, com o aumento de CP1, os bionanocompósitos com maior concentração de NFC tendiam a agrupar-se.

Para CP1, apenas as variáveis θ_{hue} e viscosidade aparente medida a 100 s^{-1} (η) não apresentaram correlação significativa. Permeabilidade ao vapor de água, ângulo de contato, molhabilidade e índice de comportamento (n) mostraram correlação negativa. Isso indica que, à medida que a concentração de NFC aumenta, esses indicadores diminuem, enquanto outros, como rugosidade, força de punção, resistência à tração, módulo de Young, opacidade, L^* , C^* e índice de consistência aumentam. Para CP2, as variáveis ângulo de contato, molhabilidade e L^* demonstraram correlação positiva significativa, embora essa componente não tenha evidenciado a formação de grupos distintos entre as amostras. Esses resultados reforçam o efeito positivo da adição de NFC aos bionanocompósitos, uma vez que houve aumento de propriedades indicativas de melhoria nas propriedades mecânicas e redução de características de interesse como permeabilidade ao vapor de água e solubilidade.

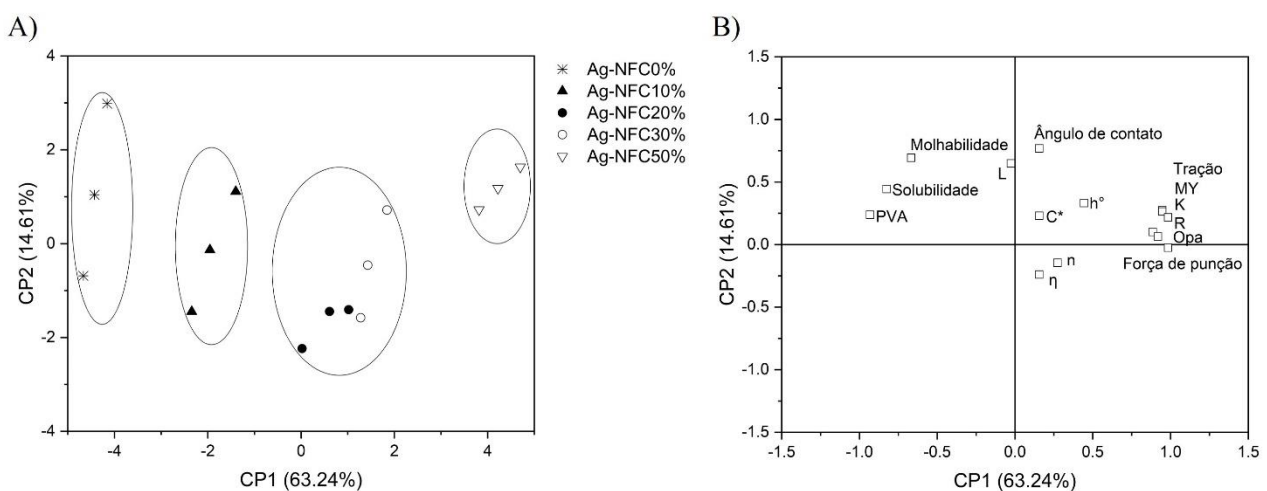


Fig. 8. Dispersão das componentes principais 1 e 2 para: A) bionanocompósitos de amido com nanopartículas de prata (AgNPs) e NFC: controle (Ag-NFC0%), e adições de 10% (Ag-NFC10%), 20% (Ag-NFC20%), 30% (Ag-NFC30%), e 50% (Ag-NFC50%) de NFC; e B) variáveis: solubilidade, molhabilidade, rugosidade (R), permeabilidade ao vapor de água (PVA), ângulo de contato, parâmetros de cor (L^* , C^* , hue°), opacidade (Opa), índice de consistência (K), índice de comportamento (n), viscosidade aparente (η), força de punção, resistência à tração (Tração) e módulo de Young (MY).

A melhoria das propriedades mecânicas, como a resistência à tração e módulo de Young, implica diretamente na durabilidade dos bionanocompósitos. Materiais mais resistentes podem suportar melhor o manuseio, o transporte e as condições de armazenamento adversas, reduzindo a probabilidade de danos físicos ao produto embalado. Isso é essencial para garantir que os produtos cheguem aos consumidores em condições ideais, especialmente para itens frágeis ou de alto valor.

Além disso, a diminuição da solubilidade em água e permeabilidade ao vapor de água fortalece a aplicabilidade dos bionanocompósitos em ambientes variados, garantindo que a integridade do material não seja comprometida em condições de alta umidade. Isso é crucial para embalagens de produtos alimentícios, farmacêuticos e eletrônicos, onde a proteção contra a penetração de água é vital para preservar a funcionalidade e a segurança do produto.

Ademais, a adição de NFC a bionanocompósitos não apenas melhora suas propriedades de barreira e mecânicas, mas também amplia seu potencial de uso em uma gama diversificada de aplicações. Isso abre novas perspectivas para o desenvolvimento de soluções de embalagem mais sustentáveis e eficientes, que atendam às demandas crescentes por materiais ecológicos e de alto desempenho no setor de embalagens. O espectro de aplicabilidade dos bionanocompósitos aumenta mais ainda ao se considerar o efeito inibidor contra patógenos que afetam importantes culturas agrícolas, como já foi mencionado.

4. Conclusão

Este trabalho demonstrou o uso das AgNPs obtidas por síntese verde e da NFC como materiais que potencializam em conjunto as propriedades mecânicas, reológicas, ópticas, de barreira e antifúngicas de biocompósitos à base de amido. Os efeitos positivos foram observados quando o percentual de adição de NFC foi superior a 20%, destacando a importância da concentração adequada de NFC para otimizar as propriedades desejadas. Esses resultados evidenciam que a tecnologia desenvolvida pode ser aplicada como matéria-prima para a confecção de embalagens de alimentos e revestimentos comestíveis, apresentando-se como uma solução sustentável para a gestão e valorização de resíduos agroindustriais. Além disso, o uso de AgNPs obtidas por síntese verde contribui para a sustentabilidade do processo, alinhando-se às práticas sustentáveis. Para o futuro, estudos adicionais são necessários para avaliar a viabilidade econômica e a durabilidade a longo do tempo desses materiais em condições de uso. A exploração de outras fontes de resíduos agroindustriais para a produção de NFC também pode ampliar o escopo de aplicação e a sustentabilidade dessa tecnologia. Em suma, este trabalho abre caminho para o desenvolvimento de novas soluções em embalagens sustentáveis, oferecendo um avanço significativo no campo dos biocompósitos e dos nanomateriais.

Referências

- Abreu, A. S., Oliveira, M., Sá, A. de, Rodrigues, R. M., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., & Machado, A. V. (2015). Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. *Carbohydrate Polymers*, *129*, 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.021>
- Abu Bakar, A. I., Nur Ain Izzati, M. Z., & Umi Kalsom, Y. (2013). Diversity of Fusarium Species Associated with Post-harvest Fruit Rot Disease of Tomato. *Sains Malaysiana*, *42*, 911–920.
- Albornoz-Palma, G., Betancourt, F., Mendonça, R. T., Chinga-Carrasco, G., & Pereira, M. (2020). Relationship between rheological and morphological characteristics of cellulose nanofibrils in dilute dispersions. *Carbohydrate polymers*, *230*, 115588.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115588>

- Alves, L., Ferraz, E., Lourenço, A. F., Ferreira, P. J., Rasteiro, M. G., & Gamelas, J. A. F. (2020). Tuning rheology and aggregation behaviour of TEMPO-oxidised cellulose nanofibrils aqueous suspensions by addition of different acids. *Carbohydrate Polymers*, 237, 116109. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116109>
- Anum, F., Jabeen, K., Javad, S., Iqbal, S., Shah, A. A., Casini, R., & Elansary, H. O. (2023). Management of Botrytis Grey mold of tomato using bio-fabricated silver nanoparticles. *South African Journal of Botany*, 159, 642–652. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2023.06.019>
- ASTM, 2002. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, D 882-02, ASTM International, West Conshohocken, PA, p.1–10.
- ASTM D724 – 99, 2003. Standard test method for surface wettability of paper (Angle-of contact method). ASTM Int. D724, p.1–4
- Blume, W. R., Beltrami, L. V. R., Francisquetti, E. L., Zattera, A. J., Hansen, B., Catto, A. L., & Borsoi, C. (2023). Effects of different plasticizers on the physicochemical properties of cellulose nanocrystals-reinforced corn starch films. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/S43153-023-00340-Z/TABLES/3>
- Chen, Q., Shi, Y., Chen, G., & Cai, M. (2020). Enhanced mechanical and hydrophobic properties of composite cassava starch films with stearic acid modified MCC (microcrystalline cellulose)/NCC (nanocellulose) as strength agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 142, 846–854. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.10.024>
- Chu, X., Zhang, K., Wei, H., Ma, Z., Fu, H., Miao, P., Jiang, H., & Liu, H. (2023). A Vis/NIR spectra-based approach for identifying bananas infected with Colletotrichum musae. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1-14. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2023.1180203>
- Clinical and Laboratory Standards Institute, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Third Edition. CLSI document M44-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.
- Coelho, C. C. de S., Silva, R. B. S., Carvalho, C. W. P., Rossi, A. L., Teixeira, J. A., Freitas-Silva, O., & Cabral, L. M. C. (2020). Cellulose nanocrystals from grape pomace and their use for the development of starch-based nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 1048–1061. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.05.046>
- Costa, D. S. da, Costa, R. M. R., Takeuchi, K. P., & Lopes, A. S. (2023). Technological parameters of cassava starch/carboxymethyl cellulose blend-based films added of soy lecithin and tocopherol mix. *Polymer Testing*, 129, 108245. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMERTESTING.2023.108245>
- Gamage, A., Thiviya, P., Mani, S., Ponnusamy, P. G., Manamperi, A., Evon, P., Merah, O., & Madhujith, T. (2022). Environmental Properties and Applications of Biodegradable Starch-Based Nanocomposites. *Polymers*, 14, 4578. <https://doi.org/10.3390/POLYM14214578>
- Ganash, M., Abdel Ghany, T. M., & Omar, A. M. (2018). Morphological and Biomolecules Dynamics of Phytopathogenic Fungi Under Stress of Silver Nanoparticles. *BioNanoScience*, 8, 566–573. <https://doi.org/10.1007/S12668-018-0510-Y/FIGURES/3>
- Gomathi, A. C., Xavier Rajarathinam, S. R., Mohammed Sadiq, A., & Rajeshkumar, S. (2020). Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of Tamarindus indica on MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101376. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101376>
- Gontard, N., Duchez, C., Cuq, J.-L., & Guilbert, S. (1994). Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties. *International Journal of*

- Food Science & Technology*, 29, 39–50. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb02045.x>
- Guimarães, M., Botaro, V. R., Novack, K. M., Teixeira, F. G., & Tonoli, G. H. D. (2015). Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Industrial Crops and Products*, 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.03.014>
- Güzel, R., & Erdal, G. (2018). Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications. In K. Maaz (Ed.), *Silver Nanoparticles - Fabrication, Characterization and Applications* (1st ed., Vol. 1). InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71247>
- Huang, X., Wang, F., Hu, W., Zou, Z., Tang, Q., Li, H., & Xu, L. (2024). Smart packaging films based on corn starch/polyvinyl alcohol containing nano SIM-1 for monitoring food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 128373. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.128373>
- Jaramillo, C. M., Gutiérrez, T. J., Goyanes, S., Bernal, C., & Famá, L. (2016). Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers*, 151, 150–159. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.05.025>
- Jongaroontaprangsee, S., Chiewchan, N., & Devahastin, S. (2018). Production of nanofibrillated cellulose with superior water redispersibility from lime residues via a chemical-free process. *Carbohydrate Polymers*, 193, 249–258. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2018.04.008>
- Joshi, P., Gupta, K., Uniyal, P., Jana, A., Banerjee, A., Kumar, N., Ghosh, D., Srivastava, M., Ray, A., & Khatri, O. P. (2023). Cassava starch-derived aerogels as biodegradable packaging materials. *Materials Chemistry and Physics*, 296, 127282. <https://doi.org/10.1016/J.MATCHEMPHYS.2022.127282>
- Kang, S., Xiao, Y., Guo, X., Huang, A., & Xu, H. (2021). Development of gum arabic-based nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals for strawberry preservation. *Food Chemistry*, 350. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129199>
- Khalili, H., Bahloul, A., Ablouh, E. H., Sehaqui, H., Kassab, Z., Semlali Aouragh Hassani, F. Z., & Achaby, M. El. (2023). Starch biocomposites based on cellulose microfibers and nanocrystals extracted from alfa fibers (*Stipa tenacissima*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 345–356. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.11.313>
- Kumar, R., Sadeghi, K., Jang, J., & Seo, J. (2023). Mechanical, chemical, and bio-recycling of biodegradable plastics: A review. *Science of The Total Environment*, 882, 163446. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.163446>
- Lago, R. C. do, Oliveira, A. L. M., Santos, A. de A. dos, Zitha, E. Z. M., Carvalho, E. E. N., Tonoli, G. H. D., & Vilas Boas, E. V. de B. (2021). Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier properties of cassava starch – based bionanocomposites. *Industrial Crops and Products*, 170, 113816. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113816>
- Lago, R. C. do, Oliveira, A. L. M. de, Dias, M. C., Carvalho, E. E. N. de, Tonoli, G. H. D., & Boas, E. V. de B. V. (2020). Obtaining cellulosic nanofibrils from oat straw for biocomposite reinforcement: Mechanical and barrier properties. *Industrial Crops and Products*, 148, 112264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112264>
- Lengowski, E. C., Bonfatti Júnior, E. A., Simon, L., Muñoz, G. I. B. de, Andrade, A. S. de, Nisgoski, S., & Klock, U. (2020). Different degree of fibrillation: strategy to reduce permeability in nanocellulose-starch films. *Cellulose*, 27, 10855–10872. <https://doi.org/10.1007/S10570-020-03232-4/FIGURES/7>
- Li, S., Chen, H., Liu, X., Li, P., & Wu, W. (2022). Nanocellulose as a promising substrate for advanced sensors and their applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 218, 473–487. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.07.124>
- Malekzadeh, E., Tatari, A., & Firouzabadi, M. D. (2023). Preparation, characteristics, and soil-

- biodegradable analysis of corn starch/nanofibrillated cellulose (CS/NFC) and corn starch/nanofibrillated lignocellulose (CS/NFLC) films. *Carbohydrate Polymers*, 309, 120699. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2023.120699>
- Mao, J., Tang, Y., Zhao, R., Zhou, Y., & Wang, Z. (2019). Preparation of nanofibrillated cellulose and application in reinforced PLA/starch nanocomposite film. *Journal of Polymers and the Environment*, 27, 728–738. <https://doi.org/10.1007/S10924-019-01382-6/FIGURES/12>
- Martins, N. C. T., Freire, C. S. R., Pinto, R. J. B., Fernandes, S. C. M., Neto, C. P., Silvestre, A. J. D., Causio, J., Baldi, G., Sadocco, P., & Trindade, T. (2012). Electrostatic assembly of Ag nanoparticles onto nanofibrillated cellulose for antibacterial paper products. *Cellulose*, 19, 1425–1436. <https://doi.org/10.1007/S10570-012-9713-5/TABLES/3>
- Mathew, S., S. S., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. K. (2019). Biodegradable and active nanocomposite pouches reinforced with silver nanoparticles for improved packaging of chicken sausages. *Food Packaging and Shelf Life*, 19, 155–166. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.12.009>
- Matras, E., Gorczyca, A., Przemieniecki, S. W., & Oćwieja, M. (2022). Surface properties-dependent antifungal activity of silver nanoparticles. *Scientific Reports*, 12, 18046. <https://doi.org/10.1038/S41598-022-22659-2>
- McClements, D. J. (2004). *Food emulsions: Principles, practices, and techniques*. (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Mendoza, L., Gunawardhana, T., Batchelor, W., & Garnier, G. (2018). Effects of fibre dimension and charge density on nanocellulose gels. *Journal of Colloid and Interface Science*, 525, 119–125. <https://doi.org/10.1016/J.JCIS.2018.04.077>
- Montero, B., Rico, M., Rodríguez-Llamazares, S., Barral, L., & Bouza, R. (2017). Effect of nanocellulose as a filler on biodegradable thermoplastic starch films from tuber, cereal and legume. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1094–1104. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.10.073>
- Muscat, D., Adhikari, R., Tobin, M. J., McKnight, S., Wakeling, L., & Adhikari, B. (2014). Effect of spatial distribution of wax and PEG-isocyanate on the morphology and hydrophobicity of starch films. *Carbohydrate polymers*, 111, 333–347. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.072>
- Nečas, D., & Klapetek, P. (2012). Gwyddion: An open-source software for SPM data analysis. *Central European Journal of Physics*, 10, 181–188. <https://doi.org/10.2478/S11534-011-0096-2/METRICS>
- Nikonenko, N. A., Buslov, D. K., Sushko, N. I., & Zhabankov, R. G. (2005). Spectroscopic manifestation of stretching vibrations of glycosidic linkage in polysaccharides. *Journal of Molecular Structure*, 752, 20–24. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2005.05.015>
- Nisar, P., Ali, N., Rahman, L., Ali, M., & Shinwari, Z. K. (2019). Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 24, 929–941. <https://doi.org/10.1007/S00775-019-01717-7/FIGURES/7>
- Noshirvani, N., Hong, W., Ghanbarzadeh, B., Fasihi, H., & Montazami, R. (2018). Study of cellulose nanocrystal doped starch-polyvinyl alcohol bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 2065–2074. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.10.083>
- Pakutsah, K., & Aht-Ong, D. (2020). Facile isolation of cellulose nanofibers from water hyacinth using water-based mechanical defibrillation: Insights into morphological, physical, and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 64–76.

<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.12.172>

- Peng, N., Huang, D., Gong, C., Wang, Y., Zhou, J., & Chang, C. (2020). Controlled Arrangement of Nanocellulose in Polymeric Matrix: From Reinforcement to Functionality. *ACS Nano*, *14*, 16169–16179. https://doi.org/10.1021/ACSNANO.0C08906/ASSET/IMAGES/LARGE/NN0C08906_0003.JPEG
- Perdoch, W., Cao, Z., Florczak, P., Markiewicz, R., Jarek, M., Olejnik, K., & Mazela, B. (2022). Influence of Nanocellulose Structure on Paper Reinforcement. *Molecules*, *27*, 4696. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27154696>
- Peter, S., Lyczko, N., Gopakumar, D., Maria, H. J., Nzihou, A., & Thomas, S. (2022). Nanocellulose and its derivative materials for energy and environmental applications. *Journal of Materials Science*, *57*, 6835–6880. <https://doi.org/10.1007/S10853-022-07070-6>
- Phanthong, P., Reubroycharoen, P., Hao, X., Xu, G., Abudula, A., & Guan, G. (2018). Nanocellulose: Extraction and application. *Carbon Resources Conversion*, *1*, 32–43. <https://doi.org/10.1016/j.crcon.2018.05.004>
- Radwan, E. K., El-Naggar, M. E., Abdel-Karim, A., & Wassel, A. R. (2021). Multifunctional 3D cationic starch/nanofibrillated cellulose/silver nanoparticles nanocomposite cryogel: Synthesis, adsorption, and antibacterial characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, *189*, 420–431. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2021.08.108>
- Ripardo-Filho, H. da S., Ruíz, V. C., Suárez, I., Moraga, J., Aleu, J., & Collado, I. G. (2023). From Genes to Molecules, Secondary Metabolism in *Botrytis cinerea*: New Insights into Anamorphic and Teleomorphic Stages. *Plants*, *12*, 1-29. <https://doi.org/10.3390/PLANTS12030553>
- Rodrigues, R., Patil, S., Dhakane-Lad, J., Nadanathangam, V., & Mahapatra, A. (2022). Effect of green tea extract, ginger essential oil and nanofibrillated cellulose reinforcements in starch films on the keeping quality of strawberries. *Journal of Food Processing and Preservation*, *46*, e16109. <https://doi.org/10.1111/JFPP.16109>
- Saedi, S., Shokri, M., & Rhim, J. W. (2020). Preparation of carrageenan-based nanocomposite films incorporated with functionalized halloysite using AgNP and sodium dodecyl sulfate. *Food Hydrocolloids*, *106*, 105934. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105934>
- Salam, H. A., Rajiv, P., Kamaraj, M., Jagadeeswaran, P., Gunalan, S., & Sivaraj, R. (2012). Plants: Green Route for Nanoparticle Synthesis. *International Research Journal of Biological Sciences*, *1*, 85–90. <https://www.researchgate.net/publication/230844426>
- Sanchez-Salvador, J. L., Monte, M. C., Batchelor, W., Garnier, G., Negro, C., & Blanco, A. (2020). Characterizing highly fibrillated nanocellulose by modifying the gel point methodology. *Carbohydrate Polymers*, *227*, 115340. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115340>
- Santos, A. de A., Matos, L. C., Mendonça, M. C., Lago, R. C. do, Muguet, M. C. dos S., Damásio, R. A. P., Ponzecchi, A., Soares, J. R., Sanadi, A. R., & Tonoli, G. H. D. (2023a). Evaluation of paper coated with cationic starch and carnauba wax mixtures regarding barrier properties. *Industrial Crops and Products*, *203*, 117177. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117177>
- Santos, I. A., Barros, H. E. A. de, Abreu, D. J. M. de, Sampaio, I. C. F., Pereira, E. P., dos Reis Feliciano, C., Santos, M. G., Oliveira, J. E. de, Piccoli, R. H., Irfan, M., Boas, E. V. de B. V., & Franco, M. (2023b). Cocoa Bean Shell Wastes for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activity Against Foodborne Pathogens. *Food and Bioprocess Technology*, *1*, 1–13. <https://doi.org/10.1007/S11947-023-03299-4/TABLES/4>
- Sehaqui, H., Zhou, Q., Ikkala, O., & Berglund, L. A. (2011). Strong and tough cellulose nanopaper

with high specific surface area and porosity. *Biomacromolecules*, *12*, 3638–3644.
https://doi.org/10.1021/BM2008907/SUPPL_FILE/BM2008907_SI_001.PDF

- Seligra, P. G., Medina Jaramillo, C., Famá, L., & Goyanes, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. *Carbohydrate Polymers*, *138*, 66–74. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.11.041>
- Shahmaleki, M., Beigmohammadi, F., & Movahedi, F. (2021). Cellulose-Reinforced Starch Biocomposite: Optimization of the Effects of Filler and Various Plasticizers using Design–Expert Method. *Starch - Stärke*, *73*, 2000028. <https://doi.org/10.1002/STAR.202000028>
- Singh, M., Kaushik, A., & Ahuja, D. (2016). Surface functionalization of nanofibrillated cellulose extracted from wheat straw: Effect of process parameters. *Carbohydrate Polymers*, *150*, 48–56. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.04.109>
- Slavin, Y. N. ;, Bach, H., Pallavicini, P., Slavin, Y. N., & Bach, H. (2022). Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles. *Nanomaterials*, *12*, 4470. <https://doi.org/10.3390/NANO12244470>
- Soto, K. M., Quezada-Cervantes, C. T., Hernández-Iturriaga, M., Luna-Bárceñas, G., Vazquez-Duhalt, R., & Mendoza, S. (2019). Fruit peels waste for the green synthesis of silver nanoparticles with antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Lwt*, *103*, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.023>
- Souza, L. O., Lessa, O. A., Dias, M. C., Tonoli, G. H. D., Rezende, D. V. B., Martins, M. A., Neves, I. C. O., Resende, J. V. de, Carvalho, E. E. N., Boas, E. V. de B. V., Oliveira, J. R. de, & Franco, M. (2019). Study of morphological properties and rheological parameters of cellulose nanofibrils of cocoa shell (*Theobroma cacao* L.). *Carbohydrate Polymers*, *214*, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.037>
- Souza, L. O., Santos, I. A., Carvalho Tavares, I. M. de, Sampaio, I. C. F., Dias, M. C., Tonoli, G. H. D., Carvalho, E. E. N. de, Boas, E. V. de B. V., Irfan, M., Bilal, M., Oliveira, J. R. de, & Franco, M. (2023). Procurement and Characterization of Biodegradable Films made from Blends of Eucalyptus, Pine and Cocoa Bean Shell Nanocelluloses. *Waste and Biomass Valorization*, *14*, 3169–3181. <https://doi.org/10.1007/S12649-022-01762-5/FIGURES/6>
- Srivastava, V., Singh, S., & Das, D. (2024). Development and characterization of peppermint essential oil/rice husk fibre/ corn starch active biocomposite film and its performance on bread preservation. *Industrial Crops and Products*, *208*, 117765. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117765>
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press.
- Tahara, Y., Sekino, T., Okazaki, J., Onyeaka, H., Oibileke, K., Makaka, G., & Nwokolo, N. (2022). Current Research and Applications of Starch-Based Biodegradable Films for Food Packaging. *Polymers*, *14*, 1126. <https://doi.org/10.3390/POLYM14061126>
- Tian, J., Kong, Y., Qian, S., Zhang, Z., Xia, Y., & Li, Z. (2024). Mechanically robust multifunctional starch films reinforced by surface-tailored nanofibrillated cellulose. *Composites Part B: Engineering*, *275*, 111339. <https://doi.org/10.1016/J.COMPOSITESB.2024.111339>
- Vadodaria, S. S., Onyianta, A. J., & Sun, D. (2018). High-shear rate rheometry of micro-nanofibrillated cellulose (CMF/CNF) suspensions using rotational rheometer. *Cellulose*, *25*, 5535–5552. <https://doi.org/10.1007/S10570-018-1963-4/FIGURES/11>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). (2003). *Silver in drinking water - background document for development of WHO guidelines for drinking water quality*.
- Wu, X., Yan, X., Zhang, J., Wu, X., Luan, M., & Zhang, Q. (2024). Preparation and characterization of pH-sensitive intelligent packaging films based on cassava starch/polyvinyl

alcohol matrices containing Aronia melanocarpa anthocyanins. *LWT*, *194*, 115818.
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2024.115818>

Xia, Z. K., Ma, Q. H., Li, S. Y., Zhang, D. Q., Cong, L., Tian, Y. L., & Yang, R. Y. (2016). The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection = Wei Mian Yu Gan Ran Za Zhi*, *49*, 182–188.
<https://doi.org/10.1016/J.JMII.2014.04.013>

Yin, G., Zhang, Y., Hua, S. S. T., Yu, J., Bu, L., Pennerman, K. K., Huang, Q., Guo, A., & Bennett, J. W. (2017). Genome Sequencing and Analysis of the Postharvest Fungus *Penicillium expansum* R21. *Genome Announcements*, *5*. <https://doi.org/10.1128/GENOMEA.01516-16>

Yuan, T., Zeng, J., Wang, B., Cheng, Z., Gao, W., Xu, J., & Chen, K. (2021). Silver nanoparticles immobilized on cellulose nanofibrils for starch-based nanocomposites with high antibacterial, biocompatible, and mechanical properties. *Cellulose*, *28*, 855–869.
<https://doi.org/10.1007/S10570-020-03567-Y/FIGURES/7>

Yuan, Y., & Lee, T.R. (2013). Contact Angle and Wetting Properties. In: *Surface Science Techniques* (pp. 3-34). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
<https://doi.org/10.1007/978-3-642-34243-1>

Zhang, Y. X., & Wang, X. J. (2021). Geographical spatial distribution and productivity dynamic change of eucalyptus plantations in China. *Scientific Reports*, *11*, 1-15.
<https://doi.org/10.1038/S41598-021-97089-7>

Artigo 3: Aplicação de bionanocompósito à base de amido reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata para a manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas

CAPÍTULO IV

Artigo elaborado segundo as normas da revista *Postharvest Biology and Technology* – ISSN: 1873-2356

Aplicação de bionanocompósito à base de amido reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata para a manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas

Ingrid Alves Santos^a, Wellington Barros dos Santos^b, Elano Pinheiro Pereira^c, Rafael Carvalho do Lago^d, Lorrane Ribeiro de Souza^c, Hanna Elisia Araújo de Barros^c, Luiz Roberto Batista^b, Roberta Hilsdorf Piccoli^c, Eduardo Valério de Barros Vilas Boas^c, Marcelo Franco^{e*}

^a*Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, CEP: 45700-000, Itapetinga, Brasil.*

^b*Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

^c*Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

^d*Departamento de Ciências Florestais, Universidade Federal de Lavras, CEP: 37200-000, Lavras, Brasil.*

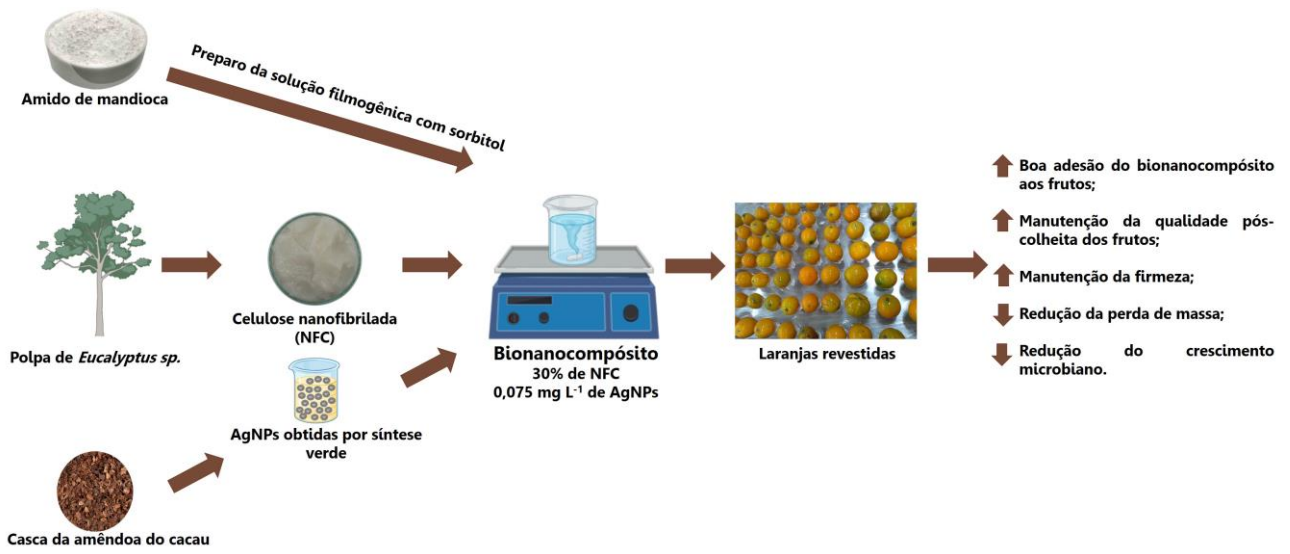
^e*Grupo de Pesquisa em Biotransformação e Biocatálise Orgânica, Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Santa Cruz, CEP: 45654-370, Ilhéus, Brasil;*

*Autor correspondente: Marcelo Franco

Telefone = +55 073 3231 4158; Fax = +55 073 3680 5355;

e-mail = mfranco@uesc.br

Gráfico resumo



Resumo

Neste estudo, foi investigado o efeito de um bionanocompósito à base de amido, reforçado com celulose nanofibrilada (NFC) e funcionalizado com nanopartículas de prata (AgNPs) obtidas por síntese verde, na manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas. Laranjas revestidas com o bionanocompósito foram comparadas com laranjas revestidas com cera de carnaúba e com frutos sem revestimento. Os frutos foram avaliados durante 30 dias em relação à perda de massa, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, coloração, firmeza, análise microestrutural, compostos fenólicos totais, ácido ascórbico, atividade antioxidante e deterioração. Os resultados mostraram que o bionanocompósito aderiu bem aos frutos, formando uma barreira eficiente contra transpiração, reduzindo a perda de massa, mantendo a firmeza e a integridade estrutural dos frutos ao longo do armazenamento. O bionanocompósito demonstrou propriedades antimicrobianas, inibindo o crescimento de microrganismos e preservando a qualidade dos frutos em comparação aos tratamentos com cera de carnaúba e sem revestimento. Comprovou-se, portanto, a efetividade do bionanocompósito à base de amido de mandioca, reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizadas com AgNPs como revestimento capaz de manter a qualidade pós-colheita de laranjas. Este bionanocompósito oferece, portanto, soluções sustentáveis e eficazes para a conservação pós-colheita de frutas, valorizando resíduos agroindustriais e contribuindo para a redução do desperdício alimentar.

Palavras-chave: nanotecnologia, filmes, *Citrus sinensis* L. Osbeck, síntese verde

1. Introdução

Frutas e hortaliças, como as laranjas (*Citrus sinensis* L. Osbeck), geralmente enfrentam diversos problemas após a colheita, incluindo perda significativa de massa, danos mecânicos, podridão, estresses oxidativos e outros distúrbios bioquímicos e fisiológicos (Lu et al., 2023; Barros et al., 2024a). A preservação da qualidade pós-colheita de frutas é um desafio significativo para o setor alimentício, especialmente devido às perdas substanciais que ocorrem durante o armazenamento e transporte. Estima-se que essas perdas alcancem percentuais entre 25% e 50% das frutas e hortaliças produzidas globalmente a cada ano (El-Beltagi et al., 2023). Nesse sentido, o desenvolvimento de embalagens e revestimentos para esses alimentos torna-se uma alternativa eficaz, já que devido às suas características intrínsecas esses materiais permitem aumentar a vida útil e manter a qualidade nutricional, sensorial e microbiológica dos frutos (Barros et al., 2024a).

Os revestimentos de alimentos constituem uma estratégia para a manutenção da qualidade pós-colheita, pois, além de atuarem como barreira contra a perda de água, podem promover a modificação da atmosfera, reduzindo o metabolismo e retardando as conseqüentes reações de oxidação que culminam na perda de qualidade (Rajendran et al., 2024). Durante muitas décadas, ceras à base de petróleo, além de fungicidas químicos, têm sido usados para aumentar a durabilidade das frutas, mas seu uso crescente prejudica o meio ambiente e a saúde humana (El Khetabi et al., 2022). Por serem materiais ambientalmente amigáveis e não tóxicos, os bionanocompósitos surgem como uma alternativa promissora aos materiais de origem petrolífera.

Bionanocompósitos são uma categoria específica de biocompósitos que incluem pelo menos um material em escala nanométrica (menor ou igual a 100 nm), oferecendo melhorias significativas nas propriedades mecânicas e de barreira em comparação aos biopolímeros e biocompósitos tradicionais (Puiggali e Katsarava, 2017). Isso se deve à combinação sinérgica dos diferentes materiais, onde as características de um podem complementar as limitações do outro. Um exemplo proeminente de reforço em bionanocompósitos são as nanofibrilas celulósicas, que podem aumentar a rigidez e reduzir a permeabilidade ao vapor de água dos biopolímeros à base de amido, otimizando suas propriedades mecânicas e de barreira (Lago et al., 2021). Além disso, as nanopartículas de prata, quando obtida por métodos sustentáveis, pode trazer benefícios adicionais aos bionanocompósitos devido ao seu amplo espectro de ação contra microrganismos (Santos et al., 2023).

Recentemente, a aplicação de bionanocompósitos em revestimentos tem emergido como uma abordagem promissora no campo da conservação pós-colheita das frutas e hortaliças (Lago et al., 2023). Li et al. (2019) mostraram que revestimentos à base de isolado de proteína de soja com cinamaldeído e nanopartículas de óxido de zinco foram eficazes na preservação de bananas, atrasando o amadurecimento, evitando a perda de peso dos frutos. Vieira et al. (2020) investigaram revestimentos de hidróxi-propil-metilcelulose com nanopartículas de prata em mamão, constatando a

redução da incidência e severidade da antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, além de evitar a perda de peso durante o armazenamento. Dulta et al. (2022) observaram que revestimentos de alginato de sódio e quitosana com nanopartículas de óxido de zinco em laranjas reduziram a perda de peso, mantiveram a firmeza, melhoraram a atividade antioxidante e diminuíram a taxa de respiração dos frutos. Adicionalmente, Lago et al. (2023) verificaram que bionanocompósitos à base de amido e celulose nanofibrilada retardaram os eventos relacionados à senescência de morangos sob armazenamento refrigerado, sugerindo uma alternativa às embalagens convencionais. Embora os revestimentos comestíveis tenham demonstrado potencial na preservação de frutas, a eficácia desses métodos pode variar consideravelmente dependendo da composição do revestimento e das condições de armazenamento (Blancas-Benitez et al., 2022). Portanto, é essencial buscar novos materiais e testá-los em condições específicas, como diferentes temperaturas, níveis de umidade e tipos de frutos, para verificar sua eficácia na preservação pós-colheita.

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da aplicação de bionanocompósitos à base de amido, reforçados com celulose nanofibrilada e funcionalizados com nanopartículas de prata, em laranjas ao longo do armazenamento à temperatura ambiente. Para isso, foram avaliados parâmetros gerais de qualidade (perda de massa, sólidos solúveis, pH e acidez titulável), parâmetros de coloração (L^* , C^* e $^{\circ}\text{hue}$), firmeza, análise microestrutural (microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo), compostos bioativos (compostos fenólicos totais e ácido ascórbico), atividade antioxidante (captura do radical DPPH[•] e redução do ferro) e a deterioração dos frutos (porcentagem de frutos inaptos e análises microbiológicas).

2. Materiais e métodos

2.1 Aquisição da matéria-prima

O amido de mandioca (Amafil, Brasil) utilizado para o preparo do revestimento foi adquirido no comércio local de Lavras, Minas Gerais, Brasil. A solução de sorbitol foi adquirida da Dinâmica® (São Paulo, Brasil). As polpas branqueadas de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) foram fornecidas por uma indústria nacional de papel e celulose. As cascas da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.) utilizadas para a síntese verde das nanopartículas de prata (AgNPs) foram fornecidas por agroindústrias localizadas na cidade de Ilhéus (Bahia, Brasil). Para o experimento, foram utilizadas laranjas (*Citrus sinensis* L. Osbeck) colhidas em Piedade dos Gerais (Minas Gerais, Brasil) (20°27'31.5"S, 44°15'35.3"W) em setembro de 2023. A cera de carnaúba utilizada para encerar os frutos foi adquirida da SOLO QUÍMICA EIRELI (Minas Gerais, Brasil).

2.2 Preparo da solução filmogênica

As soluções filmogênicas foram preparadas segundo Guimarães et al. (2015), com pequenas modificações. Para o preparo, uma solução de fécula de mandioca a 3% (m/v) em água destilada, previamente hidratada por 24 h, foi submetida à gelatinização a 80 °C por 20 minutos sob agitação (750 rpm). Sorbitol foi adicionado à solução antes da gelatinização como plastificante em uma concentração de 30% em relação à massa do amido. A partir da solução gelatinizada, foi preparada a solução com adição de 30% (m/m) de nanofibrilas celulósicas de eucalipto. A concentração de nanofibrilas foi definida com base em estudos prévios referentes às propriedades morfológicas, mecânicas, reológicas, ópticas e de barreira, sendo esta a concentração que atingiu o melhor desempenho.

As polpas branqueadas de eucalipto foram inicialmente hidratadas a uma concentração de 2% (m/v) durante 48 h. Após a hidratação, as polpas foram homogeneizadas em um homogeneizador (Tecnal, Turratec 102, Piracicaba, Brasil) a 8000 rpm por 1 h. Em seguida, procedeu-se à desfibrilação das suspensões, realizando-se 5 passagens em microfibrilador (Masuko Sangyo, MKGA6-80, Kawaguchi, Japão). Este processo resultou na obtenção do gel nanocelulósico de eucalipto (NFC) que foi armazenado a 4 ± 2 °C até o momento de uso.

Após a adição da NFC à solução filmogênica, AgNPs obtidas por síntese verde a partir da casca da amêndoa do cacau também foram incorporadas às soluções resultantes até uma concentração de 0,075 mg L⁻¹ de prata. As nanopartículas de prata foram sintetizadas em reator hidrotérmico (WT Industria, DWTI-439-15, São Carlos, Brasil) de acordo com os melhores parâmetros de temperatura (90 °C), tempo (40 minutos) e concentração de nitrato de prata (0,01 M) determinados por (Santos et al., 2023). A concentração máxima adicionada à solução filmogênica foi determinada considerando o limite máximo de 0,1 mg L⁻¹ de prata livre que pode ser tolerado, sem riscos à saúde humana, em

água potável segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003). Após a adição da NFC e das AgNPs, as soluções foram agitadas manualmente até alcançarem a homogeneização. Esta solução filmogênica resultante foi chamada de bionanocompósito.

2.3 Revestimento dos frutos

Após a colheita, os frutos foram selecionados eliminando-se qualquer desuniformidade quanto à forma, tamanho, coloração e injúrias. Após a seleção, os frutos foram lavados em água corrente para a retirada de sujidades e em seguida submetidos a sanitização em solução de hipoclorito de sódio (100 ppm) por 15 minutos. Os frutos foram drenados a temperatura ambiente e, então divididos em três grupos, de acordo com os tratamentos: frutos revestidos com o bionanocompósito (CP); frutos revestidos com cera de carnaúba comercial (CE) e frutos sem revestimento (SR). O processo de aplicação da cera foi realizado na propriedade em que os frutos foram adquiridos seguindo o procedimento geral do comerciante. Após esse processo, os frutos foram transportados em caixas de para a Planta Piloto de Processamento Mínimo de Vegetais do Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) – Lavras-MG.

O revestimento dos frutos deu-se por imersão. As laranjas foram imersas por 1 minuto na solução filmogênica e, em seguida, drenadas até a completa secagem da solução (aproximadamente 8 h em repouso) a 25 ± 5 °C e $75 \pm 5\%$. Em seguida, os frutos foram acondicionados em embalagem de polipropileno e armazenados a 25 ± 5 °C e $75 \pm 5\%$ de U.R. As análises foram realizadas a cada 5 dias, pelo período de 30 dias.

2.4 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com fatorial 3 x 7, sendo três níveis de revestimento (CP, CE e SR) e sete níveis do fator tempo de avaliação (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias), em três repetições. Cada repetição consistiu de três embalagens, cada uma contendo 6 laranjas. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

2.5 Análises

As determinações de perda de massa, firmeza, avaliação microestrutural, coloração, análise microbiológica e contagem de frutos impróprios foram realizadas nos frutos íntegros em cada tempo de avaliação. As demais análises foram realizadas no suco dos frutos que foi extraído utilizando um extrator (Mondial, 4190-01, Conceição de Jacuípe, Brasil). Após a extração os sucos foram homogeneizados manualmente, filtrados em papel filtro quantitativo de 15 cm de diâmetro (Unifil®, Brasil), congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer (Revco, ULT1386-3-D30, Asheville, EUA) a -80 ± 5 °C até o momento de realização dos testes.

2.5.1 Perda de massa, pH, acidez titulável e sólidos solúveis

A perda de massa dos frutos ao longo do tempo foi avaliada por meio da pesagem em balança analítica, considerando a massa inicial dos frutos e a massa dos frutos no tempo de armazenamento avaliado (Eq. 1).

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: M_i é a massa inicial (tempo 0) e M_f é a massa final (correspondente a cada tempo de armazenamento avaliado).

A acidez titulável dos frutos foi determinada por titulação com solução de NaOH 0,1 M, utilizando fenolftaleína como indicador; o pH foi medido em potenciômetro (Tecnal, TEC-3MP, Piracicaba, Brasil) e o teor de sólidos solúveis foi determinado em refratômetro digital (Atago, PAL-1, Tóquio, Japão) (AOAC INTERNATIONAL, 2016).

2.5.2 Parâmetros de coloração

A análise de cor das laranjas foi realizada utilizando um colorímetro (Konica Minolta®, Chroma Meter CR-400, Tóquio, Japão). Os resultados foram expressos pelo sistema de cores CIE LCh. Nesse sistema, L^* representa a claridade, C^* a cromaticidade e $^{\circ}\text{hue}$ (ângulo hue) a tonalidade. As leituras foram realizadas em diferentes pontos da região equatorial dos frutos.

2.5.3 Firmeza e análise microestrutural

A firmeza dos frutos foi avaliada pelo teste de punctura, com auxílio de um penetrômetro (Magness – Taylor, FT 011, EUA), utilizando-se uma sonda de 5 mm de diâmetro. A punctura foi feita na região equatorial dos frutos após a retirada de uma pequena porção da casca. Os resultados foram expressos em N.

Para análise microestrutural, amostras dos tecidos das laranjas foram retiradas em cada tempo de avaliação por meio de lâminas e inseridas em microtubos contendo fixador Karnovsky, sendo mantidas até o momento do preparo das amostras. Para o preparo dos espécimes, as amostras foram fraturadas em nitrogênio líquido e submetidas à desidratação em gradiente de acetona, seguida de secagem em aparelho de ponto crítico (Bal-Tec, CPD 030, Balzers, Liechtenstein). Posteriormente, os espécimes foram montados em stubs, submetidos à metalização em aparelho evaporador de ouro (Bal-Tec, SCD 050, Suíça) e observados em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) (Tescan, CLARA, Brno, República Tcheca) com uma tensão de aceleração de 5 kV e ampliação de 300x. Foram utilizadas imagens obtidas nos tempos de avaliação 0, 10, 20 e 30 dias.

2.5.4 Compostos bioativos e atividade antioxidante

Os compostos bioativos presentes nas laranjas foram avaliados por meio das determinações de compostos fenólicos totais (CFT), ácido ascórbico, e atividade antioxidante (AAT) pelos métodos de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH^{•+}) e redução do ferro (FRAP).

Os CFT foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Medina (2011). Adicionou-se 4 mL dos extratos em tubos de ensaio com 0,4 mL de solução Fast blue 0,01% e 0,4 mL de NaOH 5%. Após 1 h de repouso, em ambiente escuro, as leituras foram procedidas a 420 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 mL de suco.

Para a determinação do ácido ascórbico, 5 mL da amostra foram homogeneizados em 45 mL de ácido oxálico 0,5%. Posteriormente, o homogenato foi agitado por 30 minutos e, em seguida, filtrado usando papel de filtro qualitativo de 15 cm de diâmetro (Unifil®, Brasil). O extrato resultante foi utilizado para determinar o teor de ácido ascórbico pelo método colorimétrico, utilizando 2,4-dinitrofenilhidrazina, conforme realizado por Magalhães et al. (2019). Os resultados foram expressos em mg equivalente de ácido ascórbico (EAA) por 100 mL de suco.

O ensaio de DPPH^{•+} foi realizado conforme descrito por Brand-Williams et al. (1995), com pequenas modificações. Utilizou-se 7,5 µL do suco e 292,5 µL de uma solução etanólica de DPPH^{•+} (6×10^{-2} mM). Decorridos 30 minutos, as leituras foram realizadas à 515 nm. Os resultados foram expresso em % de redução.

Para o método de FRAP, seguiu-se as orientações de Lago et al. (2023), no qual alíquotas de 9 µL das amostras foram combinadas com 27 µL de água destilada e 264 µL de solução FRAP (contendo TPTZ, cloreto férrico e tampão acetato). Após incubação em banho-maria a 37 °C por 30 minutos, a leitura das absorvâncias foi realizada a 595 nm. Os resultados foram expressos em µM de sulfato ferroso (FeSO₄) por 100 mL de suco.

Todas as leituras foram realizadas em um leitor de microplacas (Biochrom, EZ Read 2000, Cambridge, Reino Unido).

2.5.5 Deterioração dos frutos

A avaliação da deterioração dos frutos ao longo do tempo foi realizada por meio das análises microbiológicas (coliformes totais, *Salmonella* sp., mesófilos aeróbios e fungos) e determinação visual de frutos inaptos para consumo.

Para a contagem de coliformes totais, foi utilizado o método do número mais provável (NMP) 9:2015 (Kornacki et al., 2015). Alíquotas de amostras diluídas em água tamponada foram inseridas em tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), em diluição seriada e incubadas a 35 °C por 48 h. Após esse período, os tubos contendo crescimento e produção de gás foram submetidos ao teste confirmatório para coliformes totais: alças dos tubos contendo LST eram inseridas em tubos

contendo Caldo Verde Brilhante (GB) 2% e incubados a 35 °C por 48 h. Após esse período, os tubos com crescimento e produção de gás foram considerados positivos para coliformes totais, sendo submetidos à contagem de NMP e os resultados expressos em NMP g⁻¹.

A presença de *Salmonella* sp. foi verificada segundo o método 4.12 (United States Department of Agriculture, 2017), com adaptações. Resumidamente, 2,5 g de amostra foram adicionados a erlenmeyers contendo 225 ml de água tamponada e incubados, a 37 °C, por 18 h. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento das amostras utilizando os caldos tetrionato e rapaport, com incubação a 37 °C por 24 h. O plaqueamento foi realizado em meio Hektoen Enteric Agar seguido de incubação a 37 °C por 24 h. As colônias suspeitas foram isoladas e transferidas para tubos contendo ágar ferro tríplice açúcar (TSI) e ágar lisina de ferro (LIA), incubados a 37 °C por 24 h e, posteriormente, submetidos a testes bioquímicos.

A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas foi realizada por meio do método de plaqueamento em superfície utilizando alíquotas de 100 µL das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, que foram semeadas em meio Ágar Padrão para contagem (PCA) e, posteriormente, espalhadas com auxílio da alça de Drigalsky. As placas foram incubadas à 35 °C por 48 h e, após este período, aquelas que apresentaram crescimento, tiveram suas colônias contadas sendo o resultado expresso em Unidades Formadoras de Colônia por grama de fruto (UFC g⁻¹) (Ryser e Schuman, 2015).

A análise de fungos correspondeu à contagem de bolores e leveduras, determinada de acordo com o método de plaqueamento APHA 21:2015, com contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) (Ryu e Wolf-Hall, 2015). Alíquotas de diluições seriadas das amostras homogêneas em água tamponada foram submetidas ao plaqueamento de superfície com meio de cultura ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Após incubação a 25 °C por 5 dias, os números de colônias típicas de bolores e colônias típicas de leveduras foram medidos (após confirmação microscópica da morfologia celular), e a soma foi considerada como contagem total e expressa em UFC g⁻¹.

A determinação da porcentagem de frutos inaptos para consumo foi realizada por meio de análise visual a cada tempo de avaliação (Eq. 2). Foram consideradas como alterações a presença de áreas acastanhadas, áreas amolecidas, odor desagradável e crescimento visível de micélios de fungos (Lago et al., 2023).

$$\text{Frutos inaptos (\%)} = \frac{Tf - If}{Tf} \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: *Tf* é o número total de frutos e *If* é o número de frutos com alterações visíveis.

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) para avaliar os efeitos independentes do tratamento pós-colheita (CP, CE e SR), do tempo de armazenamento (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias) e da interação entre esses fatores. A análise de regressão foi realizada para avaliar o

comportamento da variável quantitativa tempo de armazenamento, testando modelos de regressão linear, quadrático e cúbico. O teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$) foi aplicado entre os tratamentos de revestimento para cada tempo de armazenamento. Na análise de regressão foram considerados a significância do modelo de regressão ($p \leq 0,05$), a não significância da falta de ajuste do modelo ($p > 0,05$) e o coeficiente de determinação ($R \geq 0,70$). Quando nenhum dos modelos de regressão testados foram significativos, as médias marginais foram utilizadas para comparar os tratamentos. A realização dos testes estatísticos foi realizada com o auxílio do software Statistical Analysis System (SAS), versão Studio 9.0.

3. Resultados e discussão

Após o período de secagem do bionanocompósito, pode-se observar que os revestimentos aderiram bem aos frutos, não havendo presença de regiões não revestidas. Alterações visuais entre os frutos revestidos e não revestidos não foram notadas. As variáveis estudadas foram influenciadas pelos fatores tipo de revestimento e tempo de armazenamento de forma isolada, quando se utilizou gráficos de barras com teste de médias ou regressão com uma única curva, respectivamente. No caso de interação significativa entre os fatores, os resultados foram apresentados em gráficos que mesclam teste de médias com curvas de regressão (quando os modelos testados foram significativos).

3.1. Perda de massa, SS, pH e AT

Os resultados para a perda de massa, SS, pH e AT dos frutos revestidos com o bionanocompósito, com a cera de carnaúba e sem revestimento durante o tempo de armazenamento encontram-se na Figura 1.

A variável perda de massa (Figura 1a) foi significativamente influenciada pelos tratamentos pós-colheita (CP, CE e SR), pelo tempo de armazenamento e pela interação entre esses fatores. Observa-se que, independentemente do tratamento utilizado, a perda de massa dos frutos aumentou linearmente ao longo do tempo. Além disso, diferenças significativas entre as perdas de massa foram observadas a partir do quinto dia de armazenamento, sendo sempre maior nas laranjas SR e, na maior parte dos tempos de análise, menor para as laranjas CP.

A perda de massa dos frutos ocorre principalmente devido à perda de água pela transpiração e à diminuição das reservas de carbono através da respiração (Vogler e Ernst, 1999; Luksiene e Buchovec, 2019). Tal perda pode levar a alterações na textura, perda de suculência e redução da qualidade nutricional resultando em um menor tempo de armazenamento (Barros et al., 2024b). Logo, as diferenças relativas a perda de massa encontrada entre o tratamento CP e os demais (CE e SR) indicam o efeito positivo na manutenção da qualidade dos frutos.

O melhor desempenho do tratamento CP na conservação da massa das laranjas pode ser atribuído à escala nanométrica de seus constituintes, que provoca a formação de uma matriz mais

coesa e densa, capaz de atuar como uma barreira eficiente contra a transpiração e a difusão de gases (Lago et al., 2023; Barros et al., 2024). Além disso, segundo Fakhouri et al. (2015), revestimentos a base de amido tem a capacidade de proteger frutos contra o ambiente circundante, oxigênio, dióxido de carbono e umidade, bem como encurtar a respiração e evitar a perda de água. Ademais, os resultados obtidos são consistentes com os de Lago et al. (2023), que estudaram a aplicação de revestimento à base de amido de mandioca contendo 30% de celulose nanofibrilada em morangos, um fruto igualmente não climatérico como a laranja, e observaram uma redução no processo de perda de massa dos frutos.

Para SS (Figura 1b), os resultados indicaram um efeito significativo do tratamento pós-colheita, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores. Para os tratamentos CE e SR, os valores de SS aumentaram linearmente ao longo do tempo. Já para o tratamento CP, não houve ajuste significativo para os modelos de regressão testados, com resultados relativamente constantes. O aumento contínuo de açúcares em frutas cítricas conforme o observado nos tratamentos CE e SR pode ser atribuído à hidrólise de polissacarídeos e à conversão de ácidos orgânicos em açúcares, processos que são facilitados por enzimas hidrolíticas durante o armazenamento (Lu et al., 2023). A constância dos resultados para o tratamento CP sugere que o bionanocompósito pode ter um efeito estabilizador, limitando a atividade das enzimas envolvidas nesses processos de conversão.

Em relação ao pH (Figura 1c), houve efeito significativo do tratamento pós-colheita, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores. Os resultados do pH para o tratamento CP mostram um comportamento linear crescente ao longo do tempo variando entre 3,66 e 4,02. Para os tratamentos CE e SR, não houve ajustes significativos para os modelos de regressão testados, sendo os valores das médias externas iguais a 3,80 para CE e 3,83 para SR. O comportamento linear crescente do pH para CP sugere uma redução na acidez dos frutos, dado que pH e acidez são inversamente proporcionais. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), em uma faixa de concentração de ácidos entre 2,5 e 0,5%, o pH pode aumentar e a acidez pode diminuir, indicando a utilização de ácidos orgânicos no vacúolo celular durante o processo de respiração, uma vez que constituem uma excelente reserva energética para suportar a maturação do fruto. Tal fato justifica o aumento do pH observado nos frutos revestidos com o bionanocompósito. A baixa variação do pH observada nos tratamentos CE e SR pode ser atribuída a formação de ácidos fracos que não são desprotonados em baixos valores de pH, não contribuindo para alterá-lo (Passos et al., 2016).

Para acidez (Figura 1d), assim como para o pH, houve efeito significativo do tratamento pós-colheita, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores. Observou-se um comportamento quadrático para a acidez do tratamento CP, com um decréscimo inicial seguido de um aumento após o ponto de inflexão, mantendo-se entre 0,75% e 0,97% ao longo do tempo. Para os tratamentos CE e SR, a análise de regressão não obteve ajustes significativos, sendo as médias

externas 0,93% para CE e 0,89% para SR. Os resultados de acidez corroboram os do pH, mostrando um comportamento ligeiramente decrescente para o tratamento CP, especialmente nos primeiros 20 dias de armazenamento. De fato, de acordo com estudos anteriores, os ácidos orgânicos totais em frutas cítricas diminuíram com o aumento do tempo de armazenamento (Chen et al., 2012, 2022; Lu et al., 2023). Resultados semelhantes aos de pH e acidez foram obtidos por Rapisarda et al. (2008), que estudaram as alterações físico-químicas ocorridas em diferentes genótipos de laranjas ao longo do armazenamento.

3.3 Parâmetros de coloração

Os resultados para os parâmetros de coloração L^* , C^* e $^{\circ}hue$ dos frutos revestidos com o bionanocompósito, com a cera de carnaúba e sem revestimento durante o tempo de armazenamento podem ser observados na Figura 2.

Os efeitos do tratamento pós-colheita e do tempo de armazenamento para a variável L^* (Figura 2a) foram significativos, atuando de forma independente. Em relação ao tempo de armazenamento, foi observado um comportamento linear decrescente o que indica que as laranjas escureceram durante esse período. Em relação ao efeito dos tratamentos, CP e SR obtiveram os maiores valores de L^* , sem diferença significativa entre si. Durante o armazenamento, os frutos passam por várias reações bioquímicas que podem ocasionar na redução de sua claridade. Dentre essas reações, destacam-se a degradação enzimática da clorofila, a oxidação de compostos fenólicos e a degradação dos carotenoides (Amiri et al., 2021).

Para C^* (Figura 2b), houve interação significativa entre os tratamentos aplicados aos frutos e o tempo de armazenamento, bem como um efeito significativo tanto para o tratamento pós-colheita quanto para o tempo de armazenamento. No entanto, por meio da análise de regressão não foi possível obter ajustes significativos ao longo do tempo. O valor de C^* refere-se à saturação da cor e está ligado à concentração do elemento corante, sendo que, quanto maior seu valor, mais brilhantes serão as cores aos olhos humanos (Pathare et al., 2012). Na maior parte dos tempos de análise, não houve diferença significativa entre os tratamentos de recobrimentos aplicados o que destaca a manutenção da cromaticidade dos frutos.

Apenas o efeito do tempo de armazenamento foi significativo para o $^{\circ}hue$ (Figura 2c). Observou-se um comportamento linear decrescente ao longo do tempo com valores variando entre $79,22^{\circ}$ a $65,94^{\circ}$. Valores para o $^{\circ}hue$ próximos a 60° representam a cor amarela, enquanto os valores próximos aos 120° representam cores verdes (Konica Minolta, 2007). Portanto, os resultados confirmam o aspecto observado visualmente de que as laranjas possuíam a coloração da casca amarelada. Essa coloração está relacionada com a maturação das frutas cítricas, caracterizada por

alterações na cor da casca devido à degradação enzimática das clorofilas e à síntese de carotenoides, que mudam a casca de verde para amarelo (Chitarra e Chitarra, 2005).

Os resultados para os parâmetros de coloração demonstram a ausência de diferenças significativas entre os tratamentos, o que é visualmente adequado uma vez que indica a eficácia do bionanocompósito em preservar a aparência natural dos frutos ao longo do armazenamento. Esta constatação é importante para a aceitação dos produtos no mercado, pois a aparência é um fator crucial na escolha dos consumidores.

3.4 Firmeza e análise microestrutural

Houve influência significativa do tratamento pós-colheita, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores na firmeza dos frutos (Figura 3). Observou-se um aumento na firmeza durante o período de armazenamento para todos os tratamentos, conforme evidenciado pelos modelos lineares ajustados. Diferenças significativas foram notadas nos tempos de 25 e 30 dias, com o tratamento CP apresentando os menores valores de firmeza em comparação aos demais tratamentos.

O aumento na firmeza observado em todos os tratamentos pode ser atribuído ao ressecamento superficial das células do exocarpo devido à perda de água pela respiração e transpiração (Khazaei et al., 2011). Para o tratamento CP, a menor firmeza nos tempos finais avaliados pode ser atribuída a capacidade do bionanocompósito de formar uma barreira eficiente contra a perda de água e a entrada de oxigênio, retardando a senescência do fruto e mantendo a estrutura celular de forma mais eficiente (Lago et al., 2023). Além disso, de acordo com Khorram et al. (2017), uma das principais causas de modificações na textura de frutas e hortaliças é a despolimerização da pectina, associada às atividades das enzimas pectinesterase, pectinase e poligalacturonase. Esses autores indicam ainda que revestimentos capazes de alterar a permeabilidade a gases do fruto podem reduzir as atividades dessas enzimas, ajudando a manter a firmeza durante o armazenamento.

A análise microestrutural foi realizada utilizando imagens obtidas por MEV-FEG da superfície (Figura 4) e da secção transversal (Figura 5) do exocarpo das laranjas. Inicialmente, a superfície aparece lisa e sem concavidades, indicando o inchaço das células devido à alta retenção de água (Figuras 4a, 4e e 4i). A ausência visível do bionanocompósito sugere uma boa aderência do revestimento à superfície dos frutos (Figura 4a). À medida que o tempo de armazenamento avança, observa-se a formação de concavidades na superfície do exocarpo, provavelmente refletindo a perda de água dos frutos com o consequente enrijecimento das células do exocarpo conforme já mencionado. Esse efeito de desidratação é mais pronunciado nos tratamentos CE e SR. Em particular, nos frutos do tratamento SR, observa-se uma desintegração da camada externa, caracterizada pela separação de partes do exocarpo (Figura 4k e 4l). Essa desintegração não foi observada em CP,

indicando que o bionanocompósito pode efetivamente retardar a perda de água e manter com maior efetividade a integridade estrutural do exocarpo durante o armazenamento.

Além disso, o número de estômatos no exocarpo das laranjas também foi afetado pelo tratamento pós-colheita dos frutos (Figura 4a, 4e e 4i). A aplicação do bionanocompósito e da cera de carnaúba resultou no preenchimento parcial dos estômatos e na redução da porosidade dos frutos, com o bionanocompósito demonstrando maior eficácia. Esses resultados são compatíveis com os obtidos por Niu et al. (2023), que, ao estudarem o efeito de revestimentos em cítricos (*Citrus reticulata* cv. 'Chunxiang'), também observaram a redução do número de estômatos após a aplicação do revestimento e correlacionaram esse efeito a redução das taxas de respiração e transpiração dos frutos, resultando no aumento da vida útil.

A secção transversal nos permite observar a modificação estrutural da parede celular das laranjas ao longo do tempo. No início do armazenamento (tempo zero), é possível observar cavidades bem definidas e a fronteira entre as células claramente delimitada, além da presença de glândulas oleíferas. Especialmente a partir do vigésimo dia de armazenamento (tempo 20), ainda que a delimitação entre as células seja visível, alterações na estrutura já podiam ser detectadas, com início da deformação no tratamento SR. No final do armazenamento, observa-se a presença de células deformadas e tecidos colapsados, sobretudo nos tratamentos CE e SR. As laranjas revestidas com o bionanocompósito, por outro lado, mantiveram boa parte da estrutura inicial preservada, sendo possível delimitar as células. Ademais, as micrografias corroboram os resultados de firmeza ao evidenciar a preservação da estrutura celular nas laranjas revestidas com o bionanocompósito.

3.5 Compostos bioativos e atividade antioxidante

Os compostos fenólicos totais (Figura 6a) apresentaram influência significativa do tratamento pós-colheita, do período de armazenamento e da interação entre esses fatores. Observou-se uma redução no teor de compostos fenólicos no tratamento CP nos primeiros 15 dias de armazenamento. Essa redução pode ser atribuída à diminuição da respiração promovida pelo bionanocompósito, que inicialmente resultou em menor síntese de novos compostos fenólicos, pois a redução dos níveis de O₂ pode diminuir a produção desses compostos (Simões et al., 2011). Após esse período, os compostos fenólicos totais aumentam com destaque ao tratamento SR que obteve as maiores médias. A maior concentração de compostos fenólicos nessa segunda metade do armazenamento pode ser atribuída ao ataque de fungos, que induz um mecanismo de defesa no fruto, resultando em maior produção de fenólicos (Hernández et al., 2021). A presença de fungos foi observada nesse tratamento e confirmada pela análise de bolores e leveduras, que será relatada posteriormente.

A concentração de ácido ascórbico (Figura 6b) nos frutos foi significativamente afetada apenas pelo tratamento pós-colheita. Embora os tratamentos CE e CP tenham apresentado

concentrações semelhantes de ácido ascórbico, os frutos sem revestimento apresentaram teores significativamente maiores. Acredita-se que a maior concentração de ácido ascórbico no tratamento sem revestimento esteja associada à maior perda de massa observada nesses frutos. A camada de revestimento nos tratamentos CE e CP atua como uma barreira, reduzindo a perda de massa, conforme já relatado anteriormente (item 3.1). Consequentemente, os frutos sem revestimento, que perderam mais massa devido à desidratação, apresentaram uma concentração aparente maior de ácido ascórbico.

A atividade antioxidante, avaliada pela captura do radical DPPH^{•+} (Figura 7a), não foi significativamente influenciada pela interação entre o tempo de armazenamento e o tratamento pós-colheita. No entanto, os efeitos isolados do tratamento pós-colheita e do tempo de armazenamento foram significativos. De maneira similar, a atividade antioxidante avaliada pela captura de ferro (FRAP) (Figura 7b) também não mostrou influência significativa da interação entre o tempo de armazenamento e o tratamento pós-colheita, mas os efeitos isolados foram significativos. Em ambos os métodos o tratamento CP apresentou uma maior atividade antioxidante. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos depende do número de grupos hidroxila na estrutura do anel aromático e seus arranjos. Quanto maior o número de grupos hidroxila, melhores são suas propriedades antioxidantes (Olszowy, 2019). Portanto, as alterações bioquímicas provocadas pelo bionanocompósito nos frutos provavelmente mantiveram compostos fenólicos com uma estrutura química mais eficiente para a ação antioxidante.

3.6 Deterioração dos frutos

Os resultados referentes à porcentagem de frutos inaptos para o consumo ao longo do armazenamento estão apresentados na Figura 8. Houve um efeito significativo do tratamento pós-colheita, do tempo de armazenamento e da interação entre esses fatores para essa variável. Após 15 dias de armazenamento, foi possível observar diferenças significativas entre os tratamentos, com o CP destacando-se por apresentar a menor incidência de frutos impróprios. Ao final do período de armazenamento, o tratamento CP teve 24,82% a menos de frutos impróprios em comparação ao tratamento CE e 43,34% a menos em relação ao tratamento SR. Esses resultados ressaltam a eficiência do bionanocompósito em preservar a qualidade dos frutos durante o armazenamento.

Relativo aos parâmetros microbiológicos (Tabela 1), não foram detectados coliformes totais nem *Salmonella* nos frutos durante todo o período de armazenamento. Apenas no vigésimo dia de armazenamento houve crescimento de mesófilos aeróbios e fungos apenas tratamento CE. No trigésimo dia, observou-se crescimento de mesófilos aeróbios e fungos nos tratamentos CE e SR. Não houve contagem significativa (10 a 150 colônias) para bolores e leveduras, nem para os mesófilos aeróbios (25 a 250 colônias) (Silva et al., 2017) no tratamento CP.

A ausência de crescimento microbiano significativo nos frutos revestidos com o bionanocompósito pode ser atribuída a vários fatores indiretos, incluindo as propriedades de barreira ao O₂ do revestimento, que limitam a atividade de leveduras (anaeróbias facultativas) e bolores (estritamente aeróbios) (Lago et al., 2023). Outro fator determinante para a inibição do crescimento microbiano é a presença de nanopartículas de prata na composição do bionanocompósito. As nanopartículas de prata são conhecidas por suas propriedades antimicrobianas. Embora o mecanismo exato pelo qual as AgNPs agem contra microrganismos ainda não esteja completamente claro, é amplamente aceito que elas possam penetrar nas células ou hifas fúngicas, danificando membranas e superfícies celulares e impactando organelas vitais como mitocôndrias e ribossomos, que são essenciais para a produção de proteínas e energia (Ganash et al., 2018). Além disso, as AgNPs são conhecidas por deteriorar os conídios dos fungos, afetando sua forma e estrutura, e induzir a produção de espécies reativas de oxigênio que contribuem para a destruição celular (Nisar et al., 2019). Acredita-se ainda que as AgNPs interagem com as células bacterianas e desacoplam o transporte de elétrons da fosforilação oxidativa causando a morte celular (Dakal et al., 2016).

Os resultados destacam a eficácia do tratamento CP em comparação aos tratamentos CE e SR na prevenção de contaminações microbianas durante o armazenamento. A capacidade do bionanocompósito de inibir o crescimento de mesófilos aeróbios e fungos sugere que este tratamento pode ser uma alternativa viável e eficiente para a conservação de frutas, mantendo-as seguras para o consumo por períodos mais longos.

4. Conclusão

Foi demonstrado que o uso do bionanocompósito à base de amido, reforçado com NFC de eucalipto e funcionalizado com AgNPs obtidas por síntese verde com a casca da amêndoa do cacau, é eficaz na manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas. O bionanocompósito apresentou uma adesão eficiente aos frutos, formando barreiras que reduziram significativamente a perda de massa, mantiveram a firmeza e a integridade estrutural, e inibiram o crescimento de microrganismos, em comparação com laranjas revestidas com cera de carnaúba e sem revestimento. Além de oferecer vantagens significativas em termos de conservação, o bionanocompósito utilizado como revestimento também contribui para a sustentabilidade ambiental, valorizando resíduos agroindustriais. A síntese verde das AgNPs reforça o compromisso com práticas sustentáveis, tornando o processo ainda mais ecológico. Para o futuro, estudos adicionais são necessários para avaliar a viabilidade econômica desse bionanocompósito. A tecnologia desenvolvida não apenas melhora a conservação de frutas, mas também promove práticas agrícolas e industriais mais sustentáveis, alinhando-se aos objetivos globais de redução do desperdício alimentar e valorização de resíduos.

Referências

- Amiri, S., Nicknam, Z., Radi, M., Sayadi, M., Bagheri, F., Karimi Khorrami, N., Abedi, E., 2021. Postharvest quality of orange fruit as influenced by salicylic acid, acetic acid, and carboxymethyl cellulose coating. *J. Food Meas. Charact.* 15, 3912–3930. <https://doi.org/10.1007/S11694-021-00966-Y/FIGURES/5>
- AOAC INTERNATIONAL, 2016. *Official methods of Analysis*, 20th ed. Rockville, MD.
- Barros, H.E.A. de, Natarelli, C.V.L., Santos, I.A., Soares, L.S., Carvalho, E.E.N., Oliveira, J.E. de, Franco, M., Boas, E.V. de B.Vi., 2024a. Development of poly(vinyl alcohol) nanofibers incorporated with aqueous plant extracts by solution blow spinning and their application as strawberry coatings. *J. Food Eng.* 363, 111761. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2023.111761>
- Barros, H.E.A. de, Natarelli, C.V.L., Santos, I.A., Soares, L.S., Pereira, E.P., de Oliveira, J.P.L., Machado, G.G.L., Carvalho, E.E.N., Oliveira, J.E. de, Franco, M., Barros Vilas Boas, E.V. de, 2024b. A new nano-sachet manufactured by solution blow spinning to retard ripening of bananas using biodegradable nanostructured polymeric mats emitting 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biol. Technol.* 214, 112993. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2024.112993>
- Blancas-Benitez, F.J., Montañó-Leyva, B., Aguirre-Güitrón, L., Moreno-Hernández, C.L., Fonseca-Cantabrana, Á., Romero-Islas, L. del C., González-Estrada, R.R., 2022. Impact of edible coatings on quality of fruits: A review. *Food Control* 139, 109063. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2022.109063>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci. Technol.* 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Chen, J., Liu, F., Ismail, B.B., Wang, W., Xu, E., Pan, H., Ye, X., Liu, D., Cheng, H., 2022. Effects of ethephon and low-temperature treatments on blood oranges (*Citrus sinensis* L. Osbeck): Anthocyanin accumulation and volatile profile changes during storage. *Food Chem.* 393, 133381. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.133381>
- Chen, M., Jiang, Q., Yin, X.R., Lin, Q., Chen, J.Y., Allan, A.C., Xu, C.J., Chen, K.S., 2012. Effect of hot air treatment on organic acid- and sugar-metabolism in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 147, 118–125. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2012.09.011>
- Chitarra, M.I.F., Chitarra, A.B., 2005. *Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio*, 2nd ed. Editora UFLA, Lavras.
- Dakal, T.C., Kumar, A., Majumdar, R.S., Yadav, V., 2016. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. *Front. Microbiol.* 7, 1831. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01831>
- Dulta, K., Koşarsoy Ağçeli, G., Thakur, A., Singh, S., Chauhan, P., Chauhan, P.K., 2022. Development of Alginate-Chitosan Based Coating Enriched with ZnO Nanoparticles for Increasing the Shelf Life of Orange Fruits (*Citrus sinensis* L.). *J. Polym. Environ.* 30, 3293–3306. <https://doi.org/10.1007/S10924-022-02411-7/TABLES/4>
- El-Beltagi, H.S., Parmar, A., Chen, T., El-Mogy, M.M., 2023. Advances in pre-and postharvest applications to reduce qualitative and quantitative food loss and waste. *Front. Plant Sci.* 14, 1149358. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1149358>
- El Khetabi, A., Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Lyousfi, N., Banani, H., Askarne, L., Tahiri,

- A., El Ghadraoui, L., Belmalha, S., Barka, E.A., 2022. Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 120, 402–417. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2022.01.009>
- Fakhouri, F.M., Martelli, S.M., Caon, T., Velasco, J.I., Mei, L.H.I., 2015. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 109, 57–64. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2015.05.015>
- Ganash, M., Abdel Ghany, T.M., Omar, A.M., 2018. Morphological and Biomolecules Dynamics of Phytopathogenic Fungi Under Stress of Silver Nanoparticles. *Bionanoscience* 8, 566–573. <https://doi.org/10.1007/S12668-018-0510-Y/FIGURES/3>
- Guimarães, M., Botaro, V.R., Novack, K.M., Teixeira, F.G., Tonoli, G.H.D., 2015. Starch/PVA-based nanocomposites reinforced with bamboo nanofibrils. *Ind. Crops Prod.* 70, 72–83. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2015.03.014>
- Hernández, A., Ruiz-Moyano, S., Galván, A.I., Merchán, A. V., Pérez Nevado, F., Aranda, E., Serradilla, M.J., Córdoba, M. de G., Martín, A., 2021. Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. *Fungal Biol.* 125, 143–152. <https://doi.org/10.1016/J.FUNBIO.2020.05.005>
- Khazaei, N., Jouki, M., Jouki, A., 2011. Effects of modified atmosphere packaging on physico-chemical characteristics and sensory evaluation of bitter orange (*Citrus aurantium*). *Indian J. Agric. Sci.* 81, 1014–1018.
- Khorram, F., Ramezani, A., Hosseini, S.M.H., 2017. Shellac, gelatin and Persian gum as alternative coating for orange fruit. *Sci. Hortic.* 225, 22–28. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2017.06.045>
- Konica Minolta, 2007. *Precise color communication: color control from feeling to Instrumentation.* Konica Minolta Sensing, Inc., Tokyo.
- Kornacki, J.L., Gurtler, J.B., Stawick, B.A., 2015. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators, in: Salfinger, Y., Tortorello, M. Lou (Eds.), *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.* American Public Health Association, pp. 69–82. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.014>
- Lago, R.C. do, Oliveira, A.L.M., Santos, A. de A. dos, Zitha, E.Z.M., Carvalho, E.E.N., Tonoli, G.H.D., Vilas Boas, E.V. de B., 2021. Addition of wheat straw nanofibrils to improve the mechanical and barrier properties of cassava starch – based bionanocomposites. *Ind. Crop. Prod.* 170, 113816. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113816>
- Lago, R.C. do, Zitha, E.Z.M., Oliveira, A.L.M. de, Abreu, D.J.M. de, Carvalho, E.E.N., Piccoli, R.H., Tonoli, G.H.D., Boas, E.V. de B.V., 2023. Effect of coating with co-product-based bionanocomposites on the quality of strawberries under refrigerated storage. *Sci. Hortic.* 309, 111668. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2022.111668>
- Li, J., Sun, Q., Sun, Y., Chen, B., Wu, X., Le, T., 2019. Improvement of banana postharvest quality using a novel soybean protein isolate/cinnamaldehyde/zinc oxide bionanocomposite coating strategy. *Sci. Hortic.* 258, 108786. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2019.108786>
- Lu, Q., Yang, D., Xue, S., 2023. Effects of postharvest gamma irradiation on quality maintenance of Cara Cara navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) during storage. *LWT* 184, 115017. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2023.115017>
- Luksiene, Z., Buchovec, I., 2019. Impact of chlorophyllin-chitosan coating and visible light on the

microbial contamination, shelf life, nutritional and visual quality of strawberries. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 52, 463–472. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.02.003>

- Magalhães, M.L., Lima, L.C.D.O., Lunguinho, A. da S., Rezende, D.A.D.C.S., Ferreira, V.R.F., Brandão, R.M., Souza, J.A. De, Souza, E.C. De, Almeida, K.J. De, Nelson, D.L., Cardoso, M.D.G., Magalhães, M.L., Lima, L.C.D.O., Lunguinho, A. da S., Rezende, D.A.D.C.S., Ferreira, V.R.F., Brandão, R.M., Souza, J.A. De, Souza, E.C. De, Almeida, K.J. De, Nelson, D.L., Cardoso, M.D.G., 2019. Influence of Cold Storage on the Bioactivity Properties and the Quality of the Juice of Moro Blood Orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Am. J. Plant Sci.* 10, 24–37. <https://doi.org/10.4236/AJPS.2019.101003>
- Medina, M.B., 2011. Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. *J. Funct. Foods* 3, 79–87. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2011.02.007>
- Nisar, P., Ali, N., Rahman, L., Ali, M., Shinwari, Z.K., 2019. Antimicrobial activities of biologically synthesized metal nanoparticles: an insight into the mechanism of action. *J. Biol. Inorg. Chem.* 24, 929–941. <https://doi.org/10.1007/S00775-019-01717-7/FIGURES/7>
- Niu, C., Liu, L., Farouk, A., Chen, C., Ban, Z., 2023. Coating of Layer-by-Layer Assembly Based on Chitosan and CMC: Emerging Alternative for Quality Maintenance of Citrus Fruit. *Hortic.* 9, 715. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE9060715>
- Olszowy, M., 2019. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiol. Biochem.* 144, 135–143. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2019.09.039>
- Passos, F.R., Mendes, F.Q., Cunha, Mariana Crivelari da, Cunha, Marília Crivelari, Carvalho, A.M.X. de, 2016. Propolis extract coated in Pera orange fruits: An alternative to cold storage. *African J. Agric. Res.* 11, 2043–2049. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10833>
- Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.J., 2012. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food Bioprocess Technol.* 2012 61 6, 36–60. <https://doi.org/10.1007/S11947-012-0867-9>
- Puiggali, J., Katsarava, R., 2017. Bionanocomposites, in: *Clay-Polymer Nanocomposites*. Elsevier, pp. 239–272. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46153-5.00007-0>
- Rajendran, N., Runge, T., Bergman, R.D., Nepal, P., Pottackal, N.T., Rahman, M.M., 2024. Economic and environmental analysis of producing soy protein-cellulose-based bionanocomposite fruit coating. *Ind. Crops Prod.* 211, 118213. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2024.118213>
- Rapisarda, P., Bianco, M. Lo, Pannuzzo, P., Timpanaro, N., 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 348–354. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2008.02.002>
- Ryser, E.T., Schuman, J., 2015. 8. Mesophilic Aerobic Plate Count, in: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. <https://doi.org/10.2105/MBEF.0222.013>
- Ryu, D., Wolf-Hall, C., 2015. 21. Yeasts and Molds, in: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. <https://doi.org/10.2105/mbef.0222.026>
- Santos, I.A., Barros, H.E.A. de, Abreu, D.J.M. de, Sampaio, I.C.F., Pereira, E.P., dos Reis Feliciano, C., Santos, M.G., Oliveira, J.E. de, Piccoli, R.H., Irfan, M., Boas, E.V. de B.V., Franco, M., 2023. Cocoa Bean Shell Wastes for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles with Antimicrobial Activity Against Foodborne Pathogens. *Food Bioprocess Technol.* 1, 1–13.

<https://doi.org/10.1007/S11947-023-03299-4/TABLES/4>

Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveira, N.F.A., Taniwaki, M.H., Gomes, R.A.R., Okazaki, M.M., 2017. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. Editora Blucher.

Simões, A.D.N., Allende, A., Tudela, J.A., Puschmann, R., Gil, M.I., 2011. Optimum controlled atmospheres minimise respiration rate and quality losses while increase phenolic compounds of baby carrots. *LWT - Food Sci. Technol.* 44, 277–283.

<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2010.06.002>

United States Department of Agriculture, 2017. Flow Chart Specific for FSIS Laboratory Salmonella Analysis, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Microbiology Laboratory Guidebook*. New York.

Vieira, A.C.F., Matos Fonseca, J. de, Menezes, N.M.C., Monteiro, A.R., Valencia, G.A., 2020. Active coatings based on hydroxypropyl methylcellulose and silver nanoparticles to extend the papaya (*Carica papaya* L.) shelf life. *Int. J. Biol. Macromol.* 164, 489–498.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.130>

Vogler, B.K., Ernst, E., 1999. Aloe vera: A systematic review of its clinical effectiveness. *Br. J. Gen. Pract.* 49, 823–828.

Waterhouse, A.L., 2002. Determination of Total Phenolics. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.* 6, 11.1.1-11.1.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.FAI0101S06>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2003. Silver in drinking water - background document for development of WHO guidelines for drinking water quality.

https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/silver.pdf?sfvrsn=195cf8b3_4.

Xia, Z.K., Ma, Q.H., Li, S.Y., Zhang, D.Q., Cong, L., Tian, Y.L., Yang, R.Y., 2016. The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 49, 182–188. <https://doi.org/10.1016/J.JMIL.2014.04.013>

FIGURAS

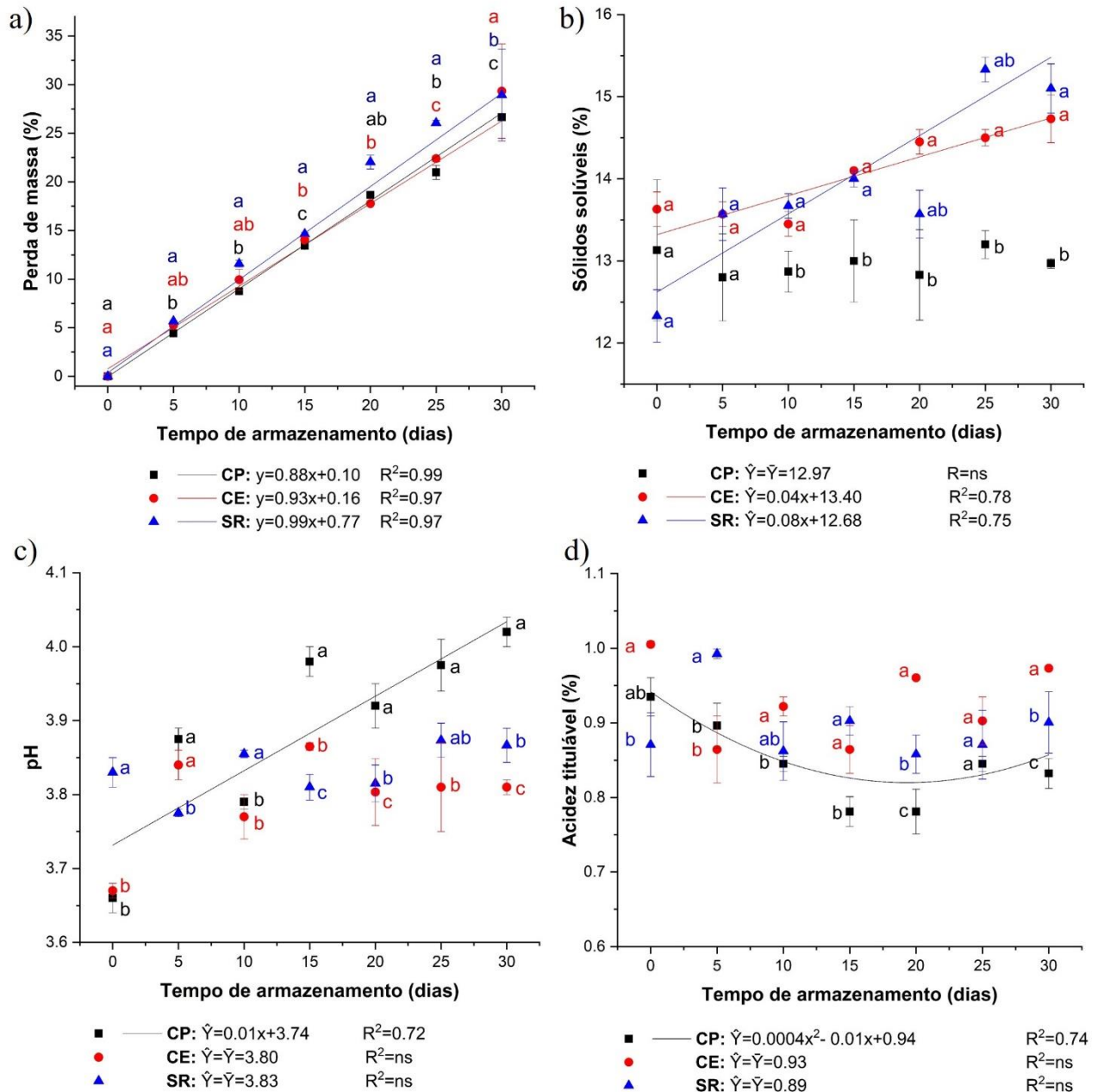


Figura 1 – Gráficos relativos a (a) perda de massa, (b) sólidos solúveis, (c) pH e (d) acidez titulável em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

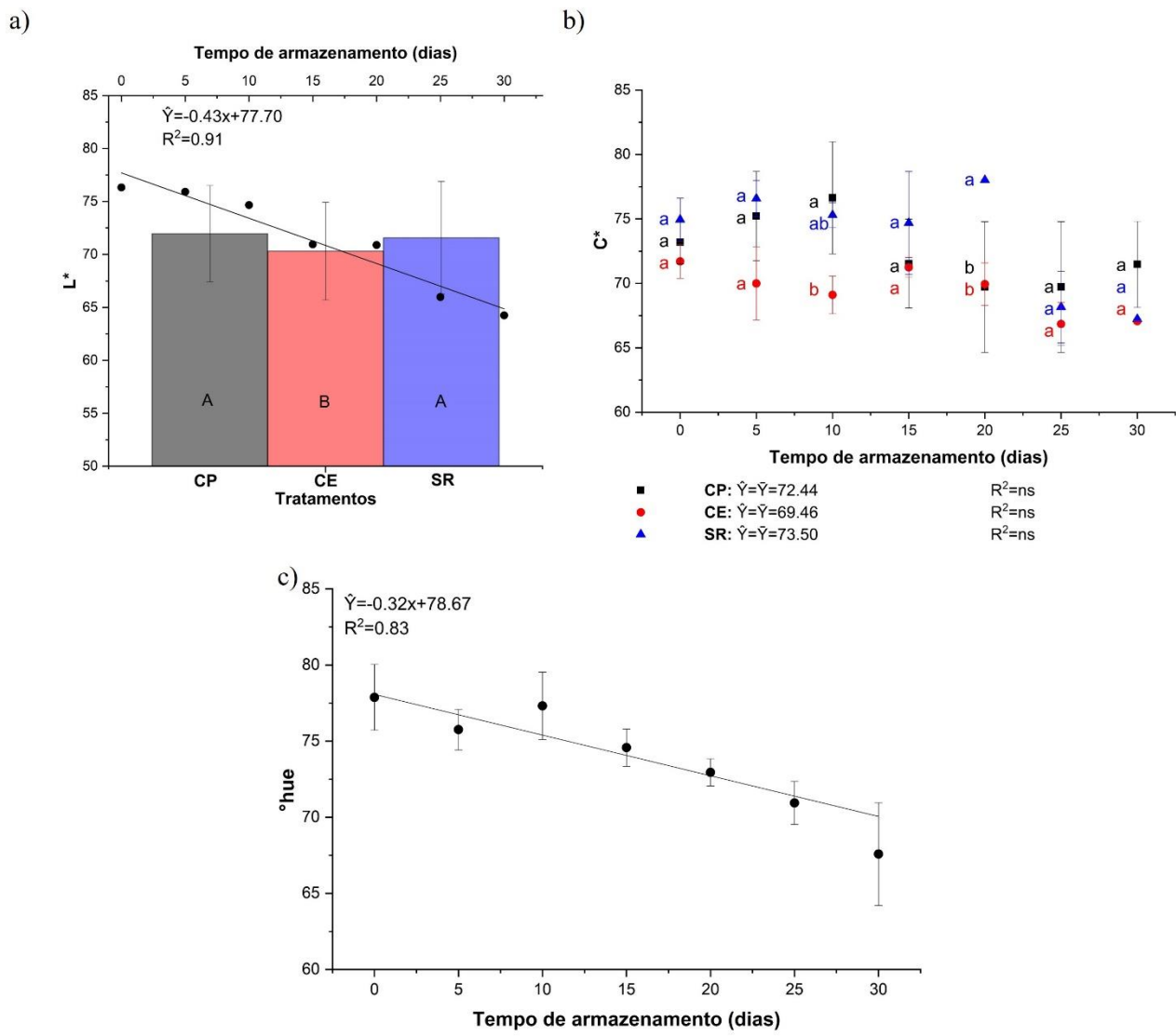


Figura 2 – Gráficos relativos aos parâmetros de coloração (a) claridade (L^*), (b) cromaticidade (C^*) e (c) tonalidade ($^{\circ}hue$) em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

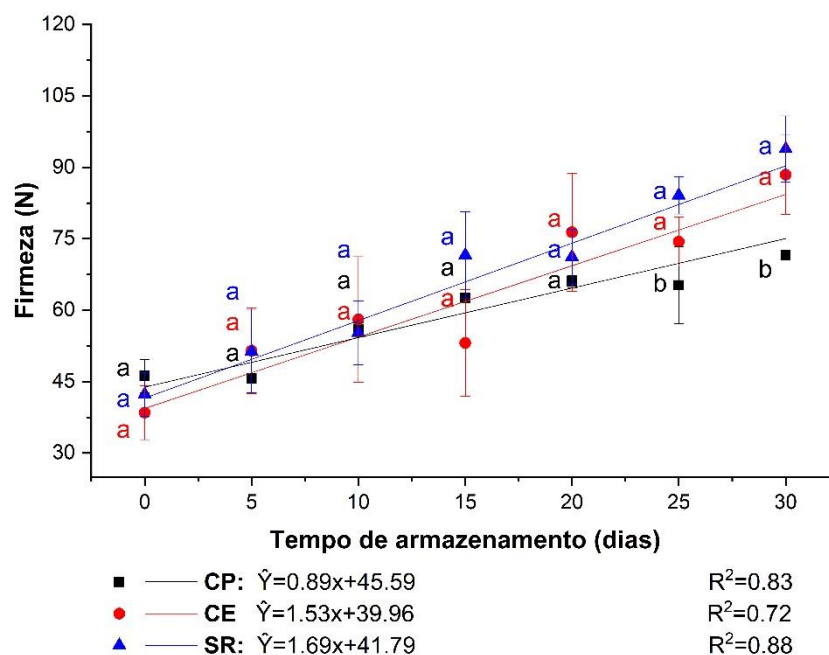


Figura 3 – Gráfico relativo a firmeza de laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

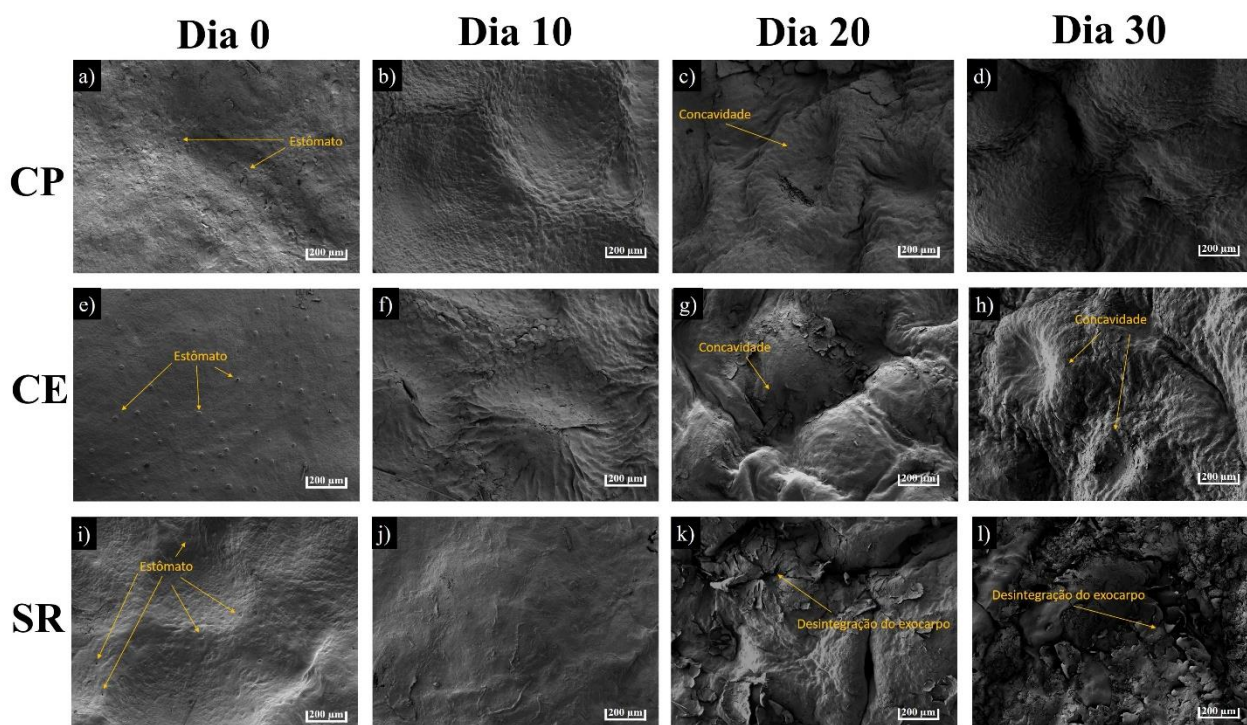


Figura 4 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) da superfície do exocarpo em laranjas ao longo do armazenamento aos 0, 10, 20 e 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento.

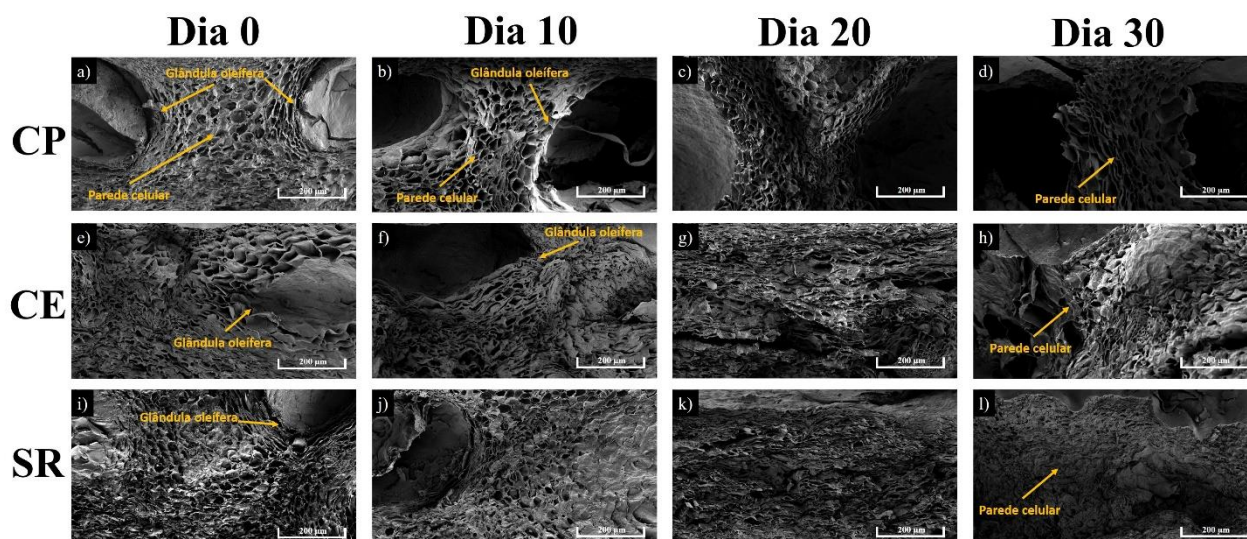


Figura 5 – Micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) da secção transversal do exocarpo e mesocarpo de laranjas ao longo do armazenamento aos 0, 10, 20 e 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento.

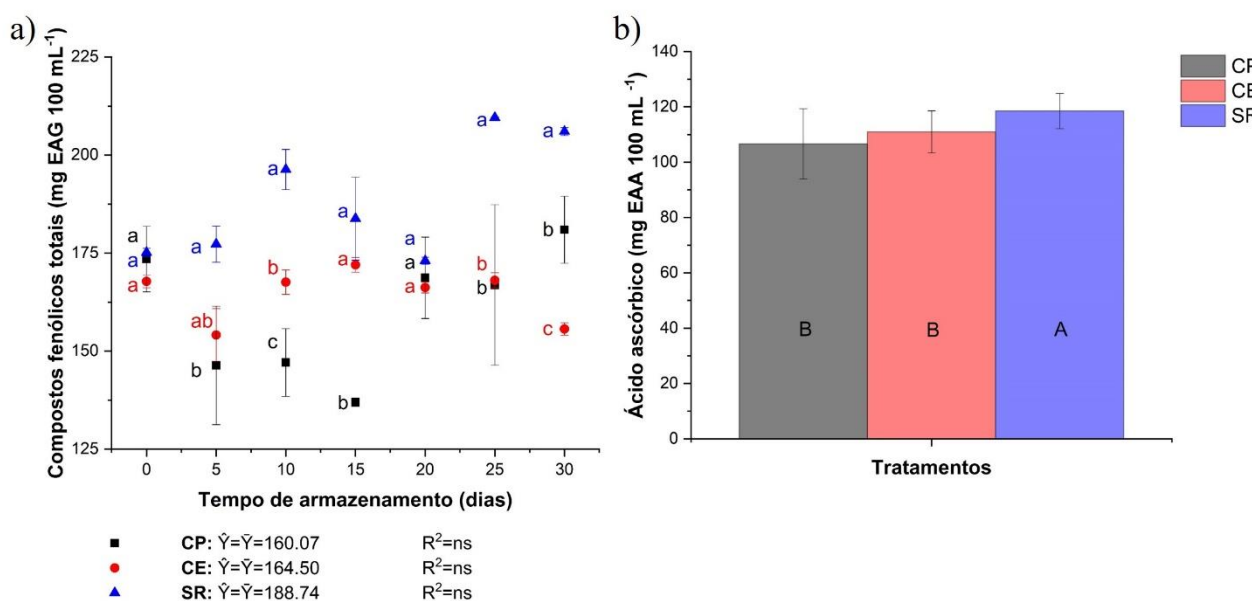


Figura 6 – Gráficos relativos aos (a) compostos fenólicos totais (CFT) e ao (c) ácido ascórbico em laranjas longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

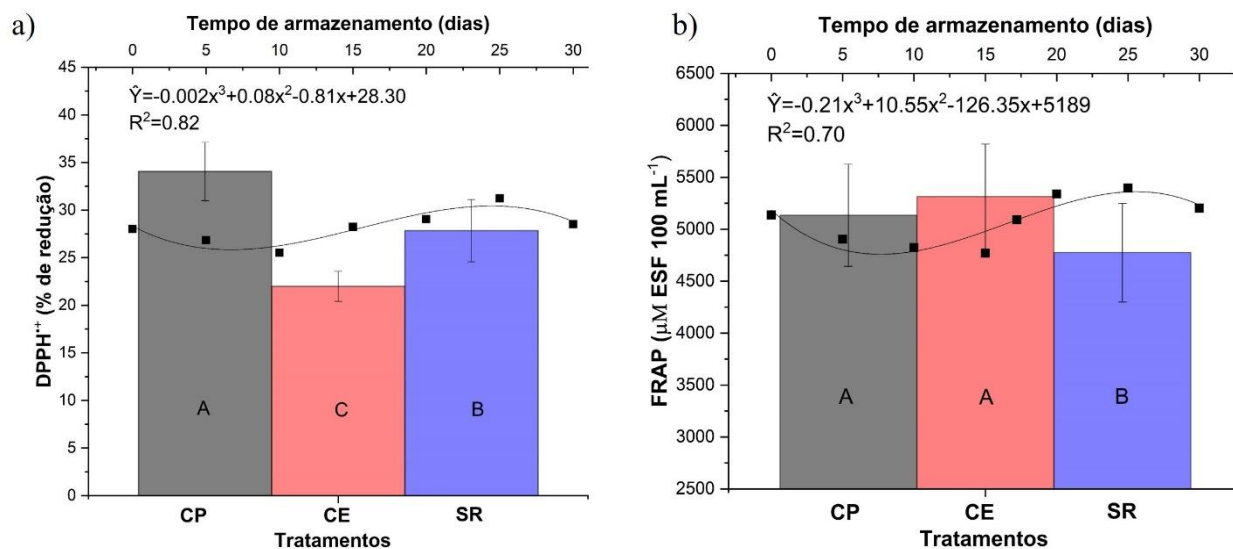


Figura 7 – Gráficos relativos a capacidade antioxidante pelos métodos de (a) captura do radical DPPH⁺ (DPPH⁺) e (b) redução do ferro (FRAP) em laranjas ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

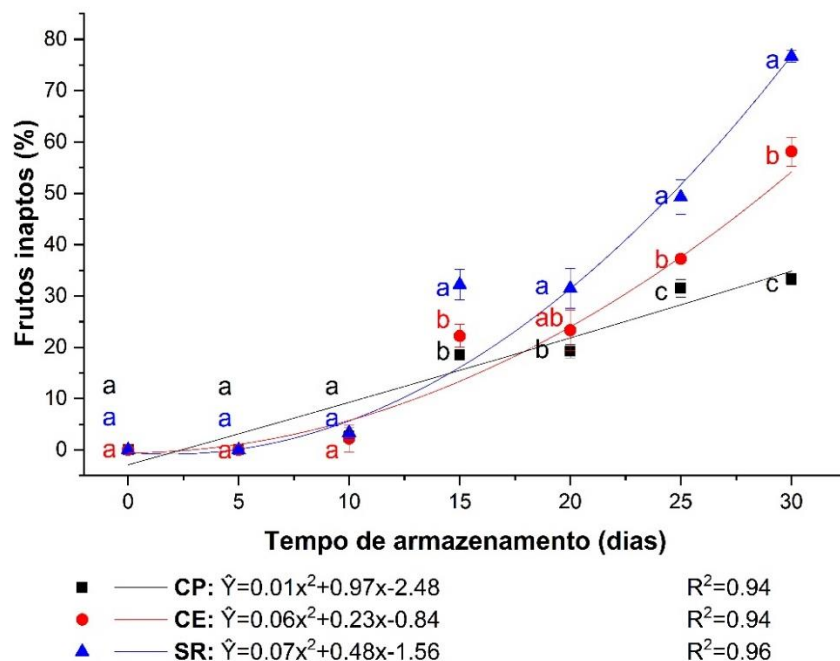


Figura 8 – Gráfico relativo a porcentagem de frutos (laranjas) inaptos para o consumo ao longo do armazenamento por 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento. Tratamentos seguidos das mesmas letras (dentro do mesmo tempo de armazenamento) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TABELAS

Tabela 1 – Mesófilos aeróbios e fungos presentes em laranjas armazenadas a temperatura ambiente (25 ± 5 °C) durante 30 dias. CP: laranjas revestidas com o bionanocompósito a base de amido de mandioca reforçado com celulose nanofibrilada e funcionalizado com nanopartículas de prata; CE: laranjas revestidas com cera de carnaúba; SR: laranjas sem revestimento.

Tempo (dias)	Tratamento	Mesófilos aeróbios (UFC g ⁻¹)	Fungos (UFC g ⁻¹)
0	CP	*	*
	CE	*	*
	SR	*	*
10	CP	*	*
	CE	*	*
	SR	*	*
20	CP	*	*
	CE	$2,83 \times 10^2 \pm 5,77 \times 10^1$	$2,27 \times 10^2 \pm 3,06 \times 10^1$
	SR	*	*
30	CP	*	*
	CE	$2,32 \times 10^4 \pm 1,31 \times 10^4$	$3,27 \times 10^2 \pm 3,06 \times 10^1$
	SR	$2,03 \times 10^5 \pm 9,86 \times 10^4$	$6,37 \times 10^3 \pm 3,08 \times 10^3$

* Não houve contagem significativa.

CONCLUSÃO GERAL

O presente trabalho demonstrou o potencial promissor do uso de nanomateriais, como NFC e AgNPs, nas propriedades de bionanocompósitos à base de amido, como revestimento para frutas. Os resultados obtidos evidenciaram que a síntese verde de AgNPs, utilizando a casca da amêndoa do cacau, é uma alternativa aos métodos tradicionais de síntese de nanopartículas, alinhando-se aos princípios da química verde, ao evitar o uso de solventes tóxicos e reduzir o impacto negativo ao meio ambiente.

A adição de NFC aos bionanocompósitos melhorou significativamente as propriedades mecânicas, reológicas e de barreira, enquanto as AgNPs proporcionaram ação antimicrobiana. O uso de 30% de NFC e AgNPs mostrou-se eficaz na manutenção da qualidade pós-colheita de laranjas, resultando em uma redução significativa da perda de massa e preservação da integridade estrutural dos frutos ao longo do armazenamento.

Além de aumentar a vida útil de frutas os bionanocompósitos desenvolvidos têm potencial para serem aplicados em outras matrizes alimentares. Adicionalmente, suas aplicações podem ser expandidas para além do setor de alimentos, como nas indústrias de embalagens, têxtil e médica, devido às suas propriedades antimicrobianas e mecânicas aprimoradas (maior resistência a tração e a punctura).

Em suma, este trabalho abre novos caminhos para a valorização de resíduos agroindustriais por meio da síntese verde através de um viés sustentável. Os materiais desenvolvidos não apenas contribuem para a conservação pós-colheita de frutas, mas também representam uma solução promissora para a redução do desperdício de alimentos e aproveitamento de subprodutos industriais. Para o futuro, recomenda-se a realização de estudos adicionais que avaliem a viabilidade econômica, durabilidade a longo prazo e a ampliação das aplicações desses bionanocompósitos em diferentes contextos industriais.

ANEXOS

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2023 022556 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 40738999000195

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rod Ilheus Itabuna K16, SN - Salobrinho

Cidade: Ilheus

Estado: BA

CEP: 45650-780

País: Brasil

Telefone: 7336805392

Fax:

Email: nit@uesc.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DE RESÍDUOS DA CASCA DA AMÊNDOA DO CACAU

Resumo: A presente invenção aborda um método ecologicamente sustentável e economicamente viável de produção de uma formulação de nanopartículas de prata. Mais particularmente, refere-se ao método de produção de nanopartículas de prata utilizando como agente de síntese verde um extrato produzido através de resíduos de cascas de amêndoa do cacau (*Theobroma cacao*). A formulação reivindicada apresenta propriedade antioxidante e bactericida o que confere prospectos de seu uso em diversos tipos de aplicações, tais como revestimentos e embalagens para alimentos, na área da medicina como curativos e para produção de biossensores. A aplicação do método proposto notoriamente compete com os métodos tradicionais de produção de nanopartículas de prata caracterizados pelo uso de reagentes agressivos ao meio ambiente, tendo como principal vantagem o custo inferior e por ser ambientalmente amigável. Além disso, a invenção dá um destino alternativo e agrega valor ao resíduo casca da amêndoa do cacau.

Figura a publicar: 1

Dados da Prioridade do Depósito

Declaro que os dados identificadores fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

Tipo da Prioridade:	Data Prioridade:	Número Prioridade:	Pais Prioridade:	Código DAS:
Prioridade Interna (66)	30/11/2022	BR102022024498-7	BRASIL	

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 7

Nome: MARCELO FRANCO

CPF: 93022310978

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Avenida Raimundo Sa Barreto 1351

Cidade: ILHEUS

Estado: BA

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: mfranco@uesc.br

Inventor 2 de 7

Nome: INGRID ALVES SANTOS

CPF: 05040214510

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Rua Elbert Vilela, 1710

Cidade: LAVRAS

Estado: MG

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: ingridengali@gmail.com

Inventor 3 de 7

Nome: IGOR CARVALHO FONTES SAMPAIO

CPF: 04156378560

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Avenida João Fraga Brandão, 560

Cidade: JACOBINA

Estado: BA

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: igorsampaio@outlook.com

Inventor 4 de 7

Nome: HANNA ELIASIA ARAÚJO DE BARROS

CPF: 06054385526

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Rua José de Anchieta, número 62

Cidade: ILHEUS

Estado: BA

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: hannaelisia@gmail.com

Inventor 5 de 7

Nome: CAIO VINICIUS LIMA NATARELLI

CPF: 13866142706

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: Av. José Luiz Ferraz 355 apto 607, Rio de Janeiro, RJ - 22790587

Cidade: RIO DE JANEIRO

Estado: RJ

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: caionatarelli@hotmail.com

Inventor 6 de 7

Nome: JULIANO ELVIS DE OLIVEIRA

CPF: 04386344624

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS Caixa Postal 3037, CEP 37200-900

Cidade: LAVRAS

Estado: MG

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: juliano.oliveira@ufla.br

Inventor 7 de 7

Nome: EDUARDO VALÉRIO DE BARROS VILAS BOAS

CPF: 81427328668

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, CEP 37200-900

Cidade: LAVRAS

Estado: MG

CEP:

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: evbvboas@ufla.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	NOB 29409162310107367.pdf
Resumo	Resumo.pdf
Relatório Descritivo	Relatório descritivo.pdf
Reivindicação	Quadro reivindicatório.docx.pdf
Desenho	FIGURAS.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

INSTRUÇÕES:

A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal. O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo. Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU no campo Número de Referência na emissão do pagamento. Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Física.

Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Jurídica.

Recibo do Pagador

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916238 10107.367178 2 95140000007000

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ CPF/CNPJ: 40738999000195
ROD ILHEUS ITABUNA K16 SN SALOBRINHO, ILHEUS -BA CEP:45650780

Sacador/Avalista
Nosso-Número 29409162310107367 Nr. Documento 29409162310107367 Data de Vencimento 25/10/2023 Valor do Documento 70,00 (=) Valor Pago

Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ/Endereço
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088/0001-37
RUA MAYRINK VEIGA 9 24 ANDAR ED WHITE MARTINS , RIO DE JANEIRO - RJ CEP: 20090910

Agência/Código do Beneficiário 2234-9 / 333028-1 Autenticação Mecânica

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916238 10107.367178 2 95140000007000

Local de Pagamento **PAGÁVEL EM QUALQUER BANCO ATÉ O VENCIMENTO** Data de Vencimento 25/10/2023

Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088/0001-37 Agência/Código do Beneficiário 2234-9 / 333028-1

Data do Documento 26/09/2023 Nr. Documento 29409162310107367 Espécie DOC DS Aceite N Data do Processamento 26/09/2023 Nosso-Número 29409162310107367

Uso do Banco 29409162310107367 Carteira 17 Espécie R\$ Quantidade xValor (=) Valor do Documento 70,00

Informações de Responsabilidade do Beneficiário
A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal.
O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo.
Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU n o campo Número de Referência na emissão do pagamento.
Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

(-) Desconto/Abatimento
(+) Juros/Multa
(=) Valor Cobrado

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ CPF/CNPJ: 40738999000195
ROD ILHEUS ITABUNA K16 SN SALOBRINHO,
ILHEUS-BA CEP:45650780

Código de Baixa Autenticação Mecânica - Ficha de Compensação

Sacador/Avalista



SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DE RESÍDUOS DE CASCA DA AMÊNDOA DO CACAU

A presente invenção aborda um método ecologicamente sustentável e economicamente viável de produção de uma formulação de nanopartículas de prata. Mais particularmente, refere-se ao método de produção de nanopartículas de prata utilizando como agente de síntese verde um extrato produzido através de resíduos de cascas de amêndoa do cacau (*Theobroma cacao*). A formulação reivindicada apresenta propriedade antioxidante e bactericida o que confere prospectos de seu uso em diversos tipos de aplicações, tais como revestimentos e embalagens para alimentos, na área da medicina como curativos e para produção de biossensores. A aplicação do método proposto notoriamente compete com os métodos tradicionais de produção de nanopartículas de prata caracterizados pelo uso de reagentes agressivos ao meio ambiente, tendo como principal vantagem o custo inferior e por ser ambientalmente amigável. Além disso, a invenção dá um destino alternativo e agrega valor ao resíduo casca da amêndoa do cacau.

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ATRAVÉS DE RESÍDUOS DA CASCA DA AMÊNDOA DO CACAU

Campo da invenção

[001] A presente invenção trata de um método de síntese verde de nanopartículas de prata e seu uso como agente bactericida.

[002] Mais particularmente, refere-se ao método de síntese de nanopartículas de prata microbidas pela redução de prata iônica na forma de AgNO_3 através de uma solução redutora composta por resíduos de casca de amêndoa de cacau, subproduto da indústria cacaeira. Refere-se ainda a uma formulação de nanopartículas de prata e solução de casca de amêndoas de cacau. A formulação de nanopartículas reivindicada apresenta propriedade microbida frente a microrganismos perniciosos de importância médica e para a indústria de alimentos.

[003] A aplicação do método proposto compete com os métodos convencionais de síntese de nanopartículas de prata, nomeadamente frente a não produção de resíduos contaminantes, bem como a redução de custos de síntese das referidas nanopartículas, mostrando a vantagem de ser um método ambientalmente amigável e de custo inferior, além de agregar valor e dar um novo destino ao resíduo de casca de amêndoa de cacau, produzido em vasta quantidade pela indústria cacaeira.

[004] As nanopartículas de prata microbidas produzidas podem ser aplicadas em distintos setores, tais como nas indústrias de sanitizantes, materiais e produtos como têxteis, curativos, plásticos, dispositivos de proteção individual, utensílios domésticos e para o desenvolvimento de composições com atividade microbida.

Fundamentos da invenção

[005] As nanopartículas metálicas são sólidos metálicos que possuem pelo menos 50% da sua população com pelo menos uma de suas dimensões entre 1 e 100 nm. Estas têm gerado muito interesse por apresentarem propriedades físicas, químicas e/ou biológicas únicas, em comparação a partículas macroestruturadas.

[006] Devido ao seu tamanho em nanoescala, a razão entre a área de superfície e o volume das nanopartículas aumenta, fazendo com que elas se tornem mais reativas. Além disso, podem surgir comportamentos eletrônicos e ópticos diferenciados, devido ao confinamento eletrônico, característica proeminente nas nanopartículas metálicas. Em razão a estas propriedades, as nanopartículas, por exemplo, passaram a ser investigadas principalmente quanto ao uso em embalagens de alimentos com o objetivo de prolongar a vida de prateleira, para fins terapêuticos em infecções de feridas, curativos e como revestimentos de diferentes superfícies.

[007] A via tradicional de síntese de nanopartículas se dá por métodos químicos e físicos. A maioria dos quais são onerosos, requerem alto consumo de energia, envolvem a utilização de reagentes perigosos e alguns deles produzem quantidades substanciais de resíduos. Em contraposto aos métodos convencionais, a síntese verde de nanopartículas oferece algumas vantagens que incluem o uso de solventes ecológicos e agentes redutores não tóxicos extraídos de plantas, bactérias e fungos.

[008] Por esses motivos, a via biotecnológica tem se mostrado uma promissora abordagem quanto aos quesitos de segurança, sustentabilidade do método e também por conferir maior estabilidade das nanopartículas, bem como por conferir características inovadoras e melhorar outras propriedades responsáveis por suas aplicações, tal como o tamanho das mesmas, forma e atividade antioxidante do material produzido.

[009] Dentre as nanopartículas, as de prata (AgNPs) se destacam pelas propriedades de alta atividade catalítica e antimicrobiana, mostrando como vantagens a sua alta eficácia frente a microrganismos deteriorantes e maior segurança que microbicidas carcinogênicos. Em razão destas propriedades, as AgNPs mostram-se como uma promissora abordagem para o aumento da vida de prateleira de alimentos.

[0010] É bem conhecida a capacidade de extratos de plantas e frutas como substrato para a síntese de nanopartículas, haja vista o mecanismo inerente a esse processo envolver a redução química de Ag^+ a Ag^0 por metabólitos secundários (terpenoides, flavonoides e ácidos fenólicos). Nesse sentido, o emprego de resíduos agroindustriais como fonte de substâncias redutoras tem o potencial de diminuir ainda mais os custos

da dita síntese verde e direcionar esses materiais a uma finalidade alternativa nobre através da valorização em produtos nanotecnológicos.

[0011] Um resíduo agroindustrial amplamente produzido pela indústria cacaueteira é a casca da amêndoa de cacau, a qual é majoritariamente empregada como combustível para caldeiras. Como esse material apresenta elevada concentração de compostos fenólicos e outros metabólitos secundários (terpenóides, flavonóides), seu emprego como combustível acaba por subutilizar seu potencial econômico. Por isso, seu beneficiamento como substrato redutor explora de forma mais eficiente suas propriedades químicas e vai ao encontro dos requisitos necessários para produção de soluções redutoras. Essas características evidenciam que a casca de amêndoa do cacau pode ser empregada como uma promissora plataforma para a síntese verde de AgNPs e dessa forma elevando a geração de valor na cadeia produtiva do cacau. O processo de síntese verde é simples, utiliza matéria prima renovável de baixo custo e não requer grandes implementações de infraestrutura para ser escalado, aspectos que evidenciam a viabilidade técnica e econômica do mesmo.

[0012] Não obstante alguns documentos patentários reivindiquem a síntese verde de AgNPs com propriedades microbicidas a partir de extratos de origem vegetal, a presente invenção refere-se à abordagem inovadora do uso de resíduos de casca da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao*) como plataforma redutora para a síntese de nanopartículas de prata, mostrando como vantagens menor tempo de síntese, redução de custos, melhora de características funcionais das nanopartículas de prata (tamanho, carga... citar), alto rendimento e por dar um novo destino ao resíduo industrial casca da amêndoa do cacau.

Estado da técnica

[0013] A partir da realização de buscas de anterioridades verificou-se que patente de número CN104043837A de 12/03/2013 refere-se a um método verde para obtenção de nanopartículas estáveis de prata através da mistura de uma solução de Reativo de Tollens (nitrito de prata) com uma solução de glucano e outra de glicose. Apesar do documento supracitado reivindicar vantagens como a síntese verde, não foram empregados resíduos agroindustriais, tal como a casca de amêndoa de cacau utilizada

na presente invenção. Além disso, a presente invenção não faz isso de glucano e glicose, sendo portanto, mais econômica.

[0014] A patente de número KR102091166B1 de 25/05/2018 refere-se a um método para a produção de nanopartículas de prata através de extrato de semente de gardênia e empregando uma espécie de prata iônica e apresentando diâmetro médio das nanopartículas de 20 nm. Apesar de ser utilizado um extrato vegetal para a síntese de nanopartículas de prata, não foi empregado o resíduo de casca de amêndoa de cacau, bem como a presente invenção reivindica características vantajosas das nanopartículas de prata tal como o menor diâmetro (15-80 nm) e propriedade bactericida frente as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enterica* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

[0015] A patente de número US9907817B1 de 14/09/2017 descreve um método de produção de nanopartículas de prata com propriedade anti hiperglicêmica a partir de nitrato de prata e uma solução de folhas de *Lavatera cretica*. Contudo, não é reivindicada capacidade bactericida e nem utilizada solução de casca de amêndoa de cacau como agente redutor.

[0016] A patente de número BR102021016375-5 A2 de 18/08/2021 descreve um método verde de produção de nanopartículas de prata com capacidade microbicida a partir de uma solução de nitrato de prata e uma solução de casca de catuaba (*Trichilia catigua*) com incubação preferencial de 24 a 72 horas e proporção de NaNO_3 e extrato de catuaba de 1:1000. Contudo, a presente invenção diferencia-se do documento supracitado por possibilitar a síntese verde de nanopartículas de prata de forma mais celere (preferencialmente de 10 a 60 minutos). Ademais, a síntese descrita na patente BR102021016375-5 A2 utiliza como agente redutor um material empregado em outros setores industriais (bebidas, suplemento, etc.), não possuindo o viés de valorização de resíduos agroindustriais subutilizados (casca de amêndoa do cacau) da patente aqui reivindicada.

[0017] Portanto, não foram encontrados documentos patentários que compreendam as vantagens elencadas no método de síntese verde empregando o extrato de casca de

amêndoas de cacau, proposta que contribui para a gestão sustentável deste resíduo agroindustrial altamente produzido e geração de valor através da síntese de compostos de química verde (nanopartículas).

Descrição resumida da invenção

[0018] É, portanto, objeto da presente invenção, um processo de produção de nanopartículas de prata a partir de uma solução de nitrato de prata (AgNO_3), com extrato liofilizado da casca da amêndoa do cacau como agente redutor. A invenção também descreve a forma de preparação do extrato, direcionando-o a um destino mais nobre que o de sua simples combustão.

[0019] Adicionalmente à produção das nanopartículas através do extrato de casca de amêndoa de cacau, também foram realizados testes que demonstraram a eficácia microbicida dessas frente a distintos microrganismos patogênicos (*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enterica* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883)).

Descrição detalhada da invenção

[0020] A presente invenção versa sobre a síntese verde de nanopartículas de prata através de uma solução de NaNO_3 e extrato do resíduo agroindustrial casca de amêndoa de cacau.

[0021] Em uma realização preferencial do processo de invenção, a solução de extrato da casca da amêndoa do cacau é uma solução aquosa, na concentração de 2,5 a 30% de m/v, preferencialmente de 5 a 20% m/v, mais preferencialmente de 10 a 20% m/v.

[0022] Em outra realização preferencial do processo da presente invenção, solução de nitrato de prata (AgNO_3) é uma solução aquosa na concentração de 0,01 a 1 mM.

[0023] Em ainda outra realização preferencial do processo da presente invenção, a proporção em volume de solução de nitrato de prata para o extrato da casca da amêndoa do cacau é de 1:1 a 1:100.

[0024] Em ainda outra realização preferencial do processo da presente invenção, o tempo de incubação da solução de nitrato de prata (AgNO_3) com o extrato da casca da amêndoa do cacau para a síntese é de 5 a 1440 minutos, preferencialmente de 10 a 60 minutos.

[0025] Em ainda outra realização preferencial do processo da presente invenção, a temperatura de incubação da solução de nitrato de prata (AgNO_3) com o extrato da casca da amêndoa do cacau para a síntese é de 40 a 150 °C, preferencialmente de 50 a 100 °C.

[0026] Em ainda outra realização preferencial do processo da presente invenção, a solução de extrato da casca da amêndoa do cacau é obtida pela trituração de 50 a 250 g de casca em 1000 mL de água ultrapura, seguida de homogeneização até formar uma solução e posterior filtração.

[0027] Em ainda outra realização preferencial do processo da presente invenção, as nanopartículas de prata possuem atividade contra microrganismos, particularmente antibacteriana.

[0028] Um segundo objeto da presente invenção se refere às nanopartículas de prata, produzidas pelo processo, conforme definido no presente pedido.

[0029] Em uma realização preferencial das nanopartículas de prata da presente invenção, as nanopartículas possuem carga zeta de -15 a -30 e tamanho de 15 a 100 nm, preferencialmente de 30 a 70 nm.

Breve descrição dos desenhos

[0030] A Figura 1 apresenta soluções, obtidas em diferentes condições de síntese verde, contendo nanopartículas de prata obtidas com o extrato da casca da amêndoa do cacau.

[0031] A Figura 2 apresenta o espectro de absorção UV-Vis da solução contendo as nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas com a casca da amêndoa do cacau.

[0032] A Figura 3 apresenta a micrografia das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas com a casca da amêndoa do cacau.

[0033] A Figura 4 mostra os halos de inibição formados pelas AgNPs nas placas inoculadas com a) *Escherichia coli* (ATCC 25922), b) *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), c) *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), d) *Salmonella enterica* (S64), e) *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) e f) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

Exemplos de concretização da invenção

[0034] A fim de atestar a eficácia do processo de produção das nanopartículas de prata obtidas por síntese verde com a casca da amêndoa do cacau, os resultados encontrados, a título de exemplo não limitante, foi dividido em: (1) Preparo do extrato aquoso da casca da amêndoa do cacau; (2) Síntese Verde das nanopartículas de prata; (3) Avaliação das características das partículas obtidas e (4) Aplicação das nanopartículas obtidas contra patógenos de origem alimentar.

[0035] Preparo do extrato aquoso da casca da amêndoa do cacau

[0036] Cascas da amêndoa do cacau (*Theobroma cacao* L.) foram previamente trituradas e peneiradas. Em 10 gramas desse resíduo foram adicionados 100 mL de água deionizada. A mistura resultante foi submetida à extração assistida por ultrassom durante 30 minutos. Posteriormente, realizou-se o processo de centrifugação por 15 minutos a $1000 \times g$, o sobrenadante foi liofilizado e armazenado sob congelamento.

[0037] Nesse extrato observou-se a presença de elevado teor de compostos fenólicos totais ($353,13 \pm 0,67 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ EAG}$) e de acentuada capacidade antioxidante pelos métodos de DPPH ($18,56 \pm 0,61 \text{ CE}_{50}$) e β -caroteno/ácido linoleico ($87,26 \pm 4,61\%$ de proteção). Estes resultados evidenciaram que o extrato obtido configura-se como um material com forte potencial para a realização da síntese verde das nanopartículas de prata uma vez que a presença de compostos fenólicos com atividade antioxidante evidencia sua capacidade de reduzir os íons Ag^+ em Ag^0 . É importante ressaltar que o processo de redução anteriormente citado é fundamental para a obtenção das nanopartículas de prata.

[0038] Síntese Verde das nanopartículas de prata

[0039] A síntese verde foi realizada em um reator hidrotérmico no qual adicionou-se 10 mL da mistura proveniente de 20 mg do extrato liofilizado da casca da amêndoa do cacau com 10 mL de solução aquosa de nitrato de prata (AgNO_3) a 0,01 mM. Essa mistura permaneceu incubada por 40 minutos a 90°C. Durante o processo de síntese verde, observou-se a mudança da coloração do extrato de casca de amêndoa do cacau de castanho claro a castanho escuro que indica a formação das nanopartículas de prata (Figura 1).

[0040] Avaliação das características das partículas obtidas

[0041] Após a síntese, as partículas nanométricas de prata foram monitoradas em um espectrômetro de UV-visível a fim de observar o resultado da excitação superficial do fenômeno de ressonância plasmônica do metal prata (Figura 2).

[0042] A ressonância plasmônica apresentou um pico agudo em 430-445 nm confirmando o processo de síntese uma vez que esta corresponde a faixa de absorção característica da nanopartícula de prata.

[0043] A caracterização do tamanho e formato das nanopartículas foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura de acordo com as técnicas tradicionais empregadas e conhecidas por um técnico no assunto. Essa técnica (Figura 3) possibilitou evidenciar o formato esférico das nanopartículas de prata obtidas bem como o diâmetro médio de 60 nm das mesmas.

[0044] Aplicação das nanopartículas obtidas contra patógenos de origem alimentar

[0045] As cepas bacterianas utilizadas foram: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117), *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enterica* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883).

[0046] Para avaliar a atividade antimicrobiana das AgNPs, as cepas foram cultivadas em caldo tríptico de soja (TSB) e incubadas a 35°C por 24h. As suspensões das células foram diluídas em solução salina (NaCl 0,9%) até a obtenção de uma suspensão equivalente a 0,5 na escala de McFarland (aproximadamente 10^8 UFC.mL⁻¹). As

suspensões bacterianas foram semeadas em placas previamente preparadas com meio PCA enriquecido com adição de extrato de levedura 0,6% apenas para a semeadura da *Listeria monocytogenes*. Posteriormente, discos esterilizados de papel-filtro foram dispostos nas placas previamente semeadas com os microrganismos e sobre os discos foi adicionado 10 µL das amostras de AgNPs. A atividade antimicrobiana do extrato aquoso da casca da amêndoa do cacau (0,1 mg.mL⁻¹) e do cloranfenicol (500 µg.mL⁻¹) foram incluídas como referência. Após incubação por 24 h a 37°C, foi realizada a leitura do halo de inibição.

[0047] Para todas as bactérias testadas a nanopartícula de prata foi capaz de promover a formação de halos de inibição o que demonstra a ação bactericida das AgNPs (Figura 4 e Tabela 1).

[0048] Em geral, os resultados mostraram que as nanopartículas de prata produzidas com o processo da presente invenção possuem eficiente atividade antibacteriana.

Tabela 1

Resultado dos halos de inibição formados pela nanopartícula de prata (AgNPs) e pelo extrato puro da casca da amêndoa do cacau.

Bactérias	Halo de inibição (mm)	
	AgNPs	Extrato
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	13,10 ±0,20	9,01±0,29
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 22923)	11,61±0,63	*
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 19117)	12,51±0,23	*
<i>Salmonella enterica</i> (S64)	10,03±0,88	*
<i>Cronobacter sakazakii</i> (ATCC 29004)	8,44±0,86	*
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 18883)	7,94±1,39	*

* Não houve formação de halo de inibição

REIVINDICAÇÕES

1. SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA caracterizada por utilizar como agente redutor um extrato composto por resíduos de cascas de amêndoas de cacau e como espécie a ser reduzida uma solução de nitrato de prata – AgNO_3
2. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por utilizar o extrato de resíduos de cascas de amêndoas de cacau na concentração de 2,5 a 30% (massa/volume), preferencialmente 5 a 20% (massa/volume) e mais preferencialmente 10 a 20% (massa/volume)
3. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por o extrato de resíduos de cascas de amêndoas de cacau ser produzido através da moagem de 1 a 100 g de 2 a 50 g, preferencialmente, 5 a 20 g de casca e misturado a 500 mL de água destilada estéril, homogeneizado e separado por um método físico tal como a filtração ou centrifugação
4. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por utilizar AgNO_3 na concentração de 0,001 a 10 mM, preferencialmente 0,01 a 5 mM e mais preferencialmente 0,01 a 1 mM
5. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por utilizar a temperatura de síntese preferencialmente de 40 a 150 °C
6. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por utilizar o tempo de síntese de 5 a 1440 minutos, preferencialmente de 10 a 60 minutos
7. SÍNTESE, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por se obter ao menos um rendimento de síntese de 2,5 a 30% (massa/volume), preferencialmente 10 a 20 % (massa/volume)
8. NANOPARTÍCULAS DE PRATA, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por se obter nanopartículas de prata de formato esférico e com diâmetro de 15 a 100 nm, preferencialmente de 10 a 90 nm

9. NANOPARTÍCULAS, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por as nanopartículas de prata possuírem atividade microbicida, particularmente bactericida

10. NANOPARTÍCULAS, de acordo com a reivindicação 1, 2 e 8, caracterizada por as nanopartículas de prata possuírem atividade bactericida frente a pelo menos os microrganismos *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19117) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923), *Salmonella enterica* (S64), *Cronobacter sakazakii* (ATCC 29004) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18883)

11. USO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por as nanopartículas poderem ser empregadas diretamente como uma solução, pulverizadas, ou secas em forma de sólido ou purificadas por métodos físico-químicos

12. USO, de acordo com a reivindicação 9 e 10, caracterizada por ser passível de aplicação em sanitizantes, sobre materiais e produtos como têxteis, curativos, plásticos, dispositivos de proteção individual, utensílios domésticos e para o desenvolvimento de composições com atividade microbicida

13. SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA, de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por compreender as seguintes etapas:

Etapa A: Utilização da casca da amêndoa do cacau para produção do extrato redutor

Etapa B: Aplicação do extrato como agente redutor de Ag^+ a Ag^0 fazendo uso do nitrato de prata

Etapa C: Obtenção de uma solução com nanopartículas de prata

Figura 1



Figura 2

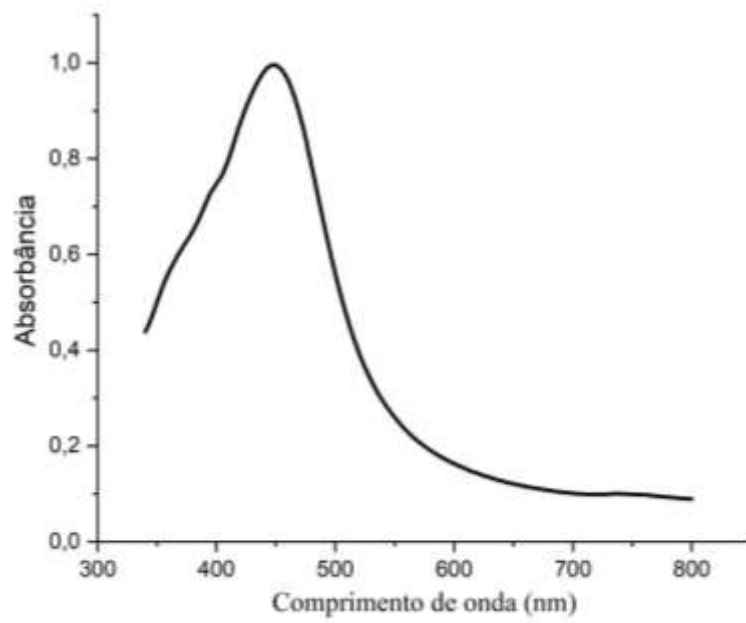


Figura 3

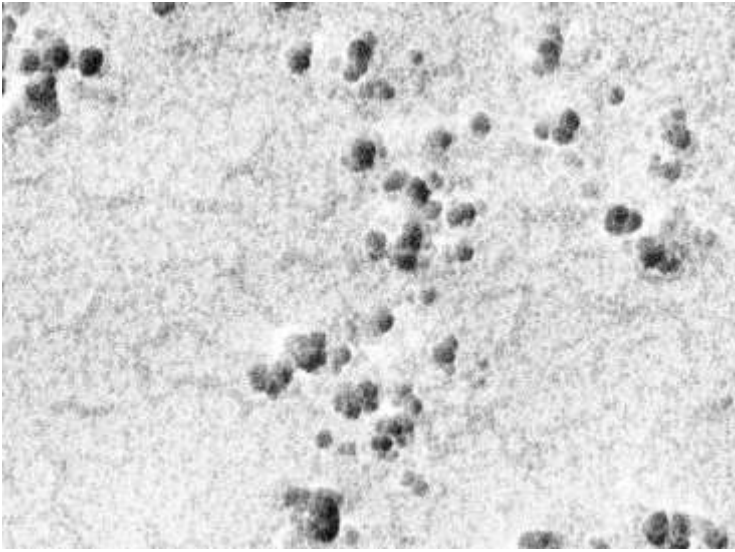


Figura 4

