

## Ação antimicrobiana de um filme nanocompósito formado por nanocelulose bacteriana e dióxido de titânio

### RESUMO

O desenvolvimento de materiais poliméricos com propriedade antimicrobiana tem tido crescimento elevado, impulsionado principalmente pela pandemia causada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2. A nanocelulose bacteriana (CB) é um polissacarídeo produzido e secretado por certos gêneros de bactérias e que apresenta propriedades interessantes (alta pureza, biodegradabilidade, biocompatibilidade, dentre outras) para o desenvolvimento de novos materiais com características únicas. O dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) é um composto inorgânico industrialmente produzido como um pó branco puro, inodoro, que apresenta algumas características dentre as quais foto atividade, alta estabilidade, além de possuir atividade antimicrobiana, principalmente após irradiação de luz ultravioleta (UV). Visando proporcionar propriedades antimicrobianas aos filmes de nanocelulose produzidos por *Komagataeibacter* sp., nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) foram incorporadas a filmes circulares de nanocelulose auxiliado por banho ultrassônico. Em seguida, foram realizados ensaios de atividade antimicrobiana em reator fotoquímico utilizando uma cepa bacteriana de referência (*Escherichia coli* ATCC 8739) diluída em solução salina em contato com os filmes de CB-TiO<sub>2</sub> durante 15 minutos, com posterior repique em meio sólido para determinar o número de unidades formadoras de colônias (UFC). Como resultado, foi observado uma inibição de crescimento da *E. coli* de 98,5% quando em contato com CB-TiO<sub>2</sub> na presença de UV-A e inibição de 68,0% na ausência de UV-A, indicando potencial utilização deste biocompósito na criação de novos materiais e superfícies com propriedades antimicrobianas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Propriedades antibacterianas. Biocompósito. Fotocatálise. Biopolímeros. Nanomateriais.

#### Priscilla Vicente Lopes

<https://orcid.org/0000-0002-5786-4788>  
[priscillalopes@alunos.utfpr.edu.br](mailto:priscillalopes@alunos.utfpr.edu.br)  
Mestranda Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba-PR.

#### Marcus Vinicius de Liz

<https://orcid.org/0000-0003-1370-3365>  
[marcusliz.utfpr@gmail.com](mailto:marcusliz.utfpr@gmail.com)  
Docente Departamento de Química e Biologia; Docente Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba-PR.

#### Roberta Carolina Pelissari Rizzo Domingues

<https://orcid.org/0000-0002-8775-4344>  
[robertadomingues12@gmail.com](mailto:robertadomingues12@gmail.com)  
Docente Departamento de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba-PR.

#### Gustavo Henrique Couto

<https://orcid.org/0000-0001-8958-517X>  
[gustatocouto@utfpr.edu.br](mailto:gustatocouto@utfpr.edu.br)  
Docente Departamento de Química e Biologia; Docente Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba-PR.

## INTRODUÇÃO

A síntese de novos polímeros é considerada um dos grandes avanços do século XX devido à sua grande relevância no meio industrial e no cotidiano das pessoas. A alta dos preços do barril de petróleo, questões geopolíticas, preocupação com emissões atmosféricas e poluição ambiental, vem impulsionando o desenvolvimento de polímeros obtidos a partir de fontes renováveis dentro do conceito de bioeconomia. Assim, os biopolímeros surgem como alternativa para a substituição de polímeros sintéticos por serem, em sua maioria, provenientes de fontes renováveis (VALERO-VALDIVIESO; ORTEGÓN; USCATEGUI, 2013).

Dentre os biopolímeros, a celulose está presente em maior abundância no planeta, tendo se mostrado como uma alternativa viável e sustentável, seja na forma pura ou modificada quimicamente, sendo tradicionalmente extraída e purificada a partir da parede celular das plantas (HUANG *et al.*, 2014). Além das plantas, a celulose pode ser obtida com um elevado grau de pureza a partir de algumas espécies de bactérias, principalmente aquelas pertencentes ao gênero *Komagataeibacter*, capazes de sintetizar extracelularmente um filme formado por nanofibras de celulose, denominado nanocelulose bacteriana (CB) (ANTONIO *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2018). Na natureza, a auto imobilização dessas bactérias na CB confere proteção contra dessecação (água representa cerca de 98% do peso úmido dessa matriz), melhor transporte de nutrientes e oxigênio, e proteção contra outros fatores ambientais adversos, tal como a radiação UV, que pode causar danos no DNA causando mutações (REINIATI *et al.*, 2017). O potencial uso da CB em diversas áreas se deve ao fato de possuir características únicas, tal como, elevada pureza, hidroflicidade, porosidade, capacidade de reter água, elevada cristalinidade, resistência mecânica, excelente biocompatibilidade e possibilidade de modificação química (PECORARO, 2008; MANEERUNG, TOKURA, RUJIRAVANIT, 2008; DONINI *et al.*, 2010). Assim, tem sido utilizada na fabricação de bioprodutos e desenvolvimento de novos materiais na área médica, ótica, farmacêutica, de alimentos, ambiental, dentre outras (RAJWADE *et al.*, 2015; AZEREDO *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2017).

Apesar de apresentar essas propriedades para o desenvolvimento de novos materiais, a CB não apresenta propriedade antimicrobiana; que por sua vez está presente em certos metais e óxidos metálicos, como prata, ouro, óxido de zinco, magnésio e dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) (KHAN, S. *et al.*, 2015). Nesse sentido, trabalhos utilizando CB foram realizados utilizando nanopartículas de prata e óxido de zinco e dióxido de titânio (MARIA *et al.*, 2010; KHALID *et al.*, 2017) para conferir ao filme de CB ação antimicrobiana. Em outro estudo, CB na forma em pó foi utilizada para produzir um nanocompósito contendo TiO<sub>2</sub> que apresentou inibição contra a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*) (KHAN *et al.*, 2015). Trabalhos com TiO<sub>2</sub> como fotocatalisador são, em geral, realizados com nanopartículas livres em suspensão, o que confere maior área superficial para a reação de catálise. No entanto, catalisadores livres podem ser facilmente dispersos num dado meio havendo perda de material em certas situações, podendo ocorrer ainda a contaminação do meio ambiente. Uma das maneiras de minimizar tal perda ou contaminação ambiental é a imobilização das nanopartículas de dióxido de titânio (NPs-TiO<sub>2</sub>) em materiais porosos com elevada capacidade de adsorção, tais como materiais cerâmicos e polímeros (BORGES *et al.*, 2016).

O surto de Covid-19, causado pelo novo coronavírus Sars-Cov-2 emergiu como uma pandemia em 2020 exigindo a necessidade de novos materiais com propriedade antisséptica, capazes de suprimir a propagação e crescimento de microrganismos. A transmissão por superfícies contaminadas vem sendo reconhecida como rota de disseminação relevante do SARS-CoV-2 (IMANI *et al.*, 2020; MAHMOUD *et al.*, 2020). Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir um filme nanocompósito (CB-TiO<sub>2</sub>) avaliando o seu potencial antimicrobiano, com e sem auxílio de fotocatalise, na inibição da bactéria *E. coli*.

## METODOLOGIA

Filmes de CB foram produzidas por fermentação estática em placas de cultura de células com 6 poços de fundo chato (volume de trabalho 10 mL) utilizando um pré-inóculo de *Komagataeibacter* sp. crescido sob agitação a 28°C durante 24h. Uma alíquota do inóculo (10% v/v) foi transferida para em meio HS (Hestrin-Shramm) com modificação (substituição de glucose por glicerol na mesma proporção), resultando num meio de composição: glicerol 2% (p/v), peptona 0,5 %, extrato de levedura 0,5 %, fosfato dissódico, 0,27% e ácido cítrico 0,115%, com pH ajustado para 4,0 com ácido acético 0,1 M. Os filmes de CB obtidos após 5 dias a 28°C foram purificados utilizando uma solução de NaOH 0,3 M a 121°C por 15 minutos, seguida por lavagem/imersão dos filmes em água até a neutralização do pH (Figura 1) (HESTRIN; SCHRAMM, 1954; KHAN, S. *et al.*, 2015).

Figura 1. Esquema de produção e purificação de CB

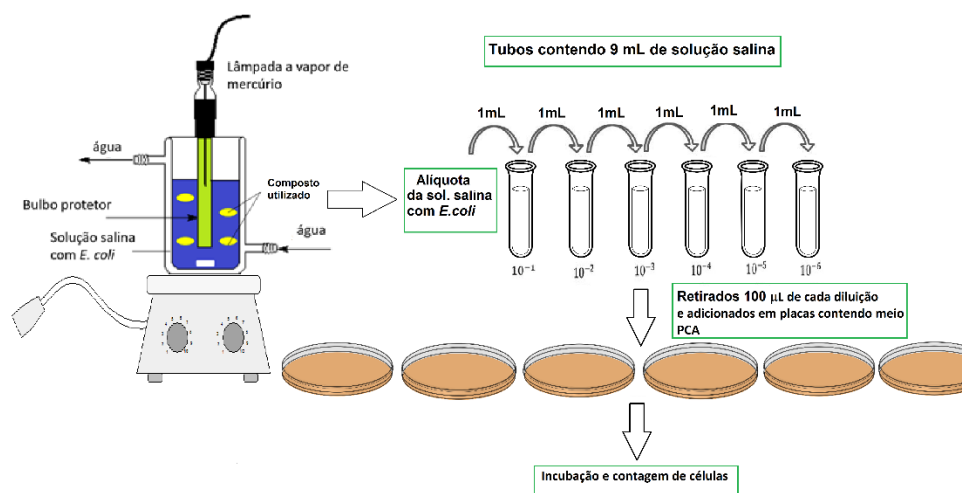


Fonte: Os autores

Para o preparo do filme nanocompósito, 40,0 g (peso úmido) de filmes circulares de CB (diâmetro de 3,4 cm, espessura média de 5 mm) foram imersos numa solução de 2% (m/v) de NPs- TiO<sub>2</sub> em banho ultrassônico (Ya Xun, modelo 3560, China) ligado a uma potência de 50W durante 60 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, os filmes de CB-TiO<sub>2</sub> gerados foram retirados da solução e lavados em abundância com água deionizada até remoção completa de NP's de TiO<sub>2</sub> aderidas na superfície dos filmes (PIELAK, 2018). Os filmes, combinados ou não com TiO<sub>2</sub>, foram secos em *gel dryer* (BIO-RAD, modelo 543, EUA) a 80 °C por 60 minutos a vácuo, cortados em discos de 6 mm diâmetro, área de 0,283 cm<sup>2</sup>, esterilizados em autoclave a 121,0 °C e 1,1 kgf por 15 minutos, colocados em plástico *Ziplock* e mantidos em local seco a temperatura ambiente para a caracterização e ensaio de atividade antimicrobiana.

Para análise da atividade antimicrobiana foi utilizada a cepa de referência de *E. coli* ATCC 8739. Uma colônia isolada de *E. coli* em meio ágar nutriente foi repicada em 5 mL de meio de cultivo caldo nutriente. Após crescimento durante 24 h a 37 °C com auxílio de uma alça de platina a suspensão foi plaqueada pelo método de estriamento em meio ágar nutriente seguido por incubação durante 24 h a 37 °C. Com o auxílio de uma alça de platina foram raspadas e transferida uma massa de bactérias para 500 mL de solução salina (0,7% NaCl) até que a turbidez da suspensão correspondesse à 0,5 da escala nefelométrica de *McFarland* ( $\sim 1,5 \times 10^8$  UFC·mL<sup>-1</sup>). Os ensaios de inibição foram realizados em um reator fotoquímico de bancada de vidro encamisado (capacidade de 220 mL, 14,0 cm de altura e 6,0 cm de diâmetro interno), utilizando como fonte de radiação uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W e protegida por bulbo de borossilicato que permitiu a passagem somente de UV-A. O conjunto contendo a lâmpada foi mergulhado em 150 mL de solução salina contendo *E. coli* ( $10^8$  UFC·mL<sup>-1</sup>) sob agitação magnética (200 rpm) contendo 0,5 g de discos do nanocompósito (CB-TiO<sub>2</sub>) ou somente discos de CB ou somente TiO<sub>2</sub> de acordo com a Tabela 1 durante 15 min. Cada variação foi realizada em duplicata. O reator foi refrigerado com água corrente para dissipar o calor e colocado em uma câmara escura (Figura 2).

Figura 2. Esquema demonstrando etapas para análise da atividade antimicrobiana.



Fonte: Os autores

Amostras de 1,0 mL foram removidas ao fim de cada experimento para prosseguir com plaqueamento em meio sólido visando determinar contagem de células bacterianas viáveis. Após diluição seriada em tubos de ensaio contendo 9,0 mL de solução salina, transferiu-se 0,1 mL de cada diluição para placas de Petri contendo meio PCA (*Plate Count Agar*). As placas foram incubadas em estufa a 37,0 °C por 24 horas até realização da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) nas placas. Os experimentos de contagem de UFC para cada experimento foram realizados em triplicata.

Tabela 1. Componentes em cada análise de inibição do crescimento

Componentes no reator	Tempo/ (min)
<i>E. coli</i>	0
TiO <sub>2</sub> / UV-A/ <i>E. coli</i>	15
CB/ <i>E. coli</i>	15
CB/ UV-A/ <i>E. coli</i>	15
CB-TiO <sub>2</sub> / <i>E. coli</i>	15
CB-TiO <sub>2</sub> / UV-A/ <i>E. coli</i>	15

Fonte: Os autores

Para calcular as unidades formadoras de colônia por cada mL de solução salina, foi utilizada a Equação 1.

$$UFC \cdot mL^{-1} = Y \times 10 \times (\text{fator de diluição})^{-1} \quad (1)$$

Y= número de colônias contadas

## DESENVOLVIMENTO (RESULTADOS E DISCUSSÕES)

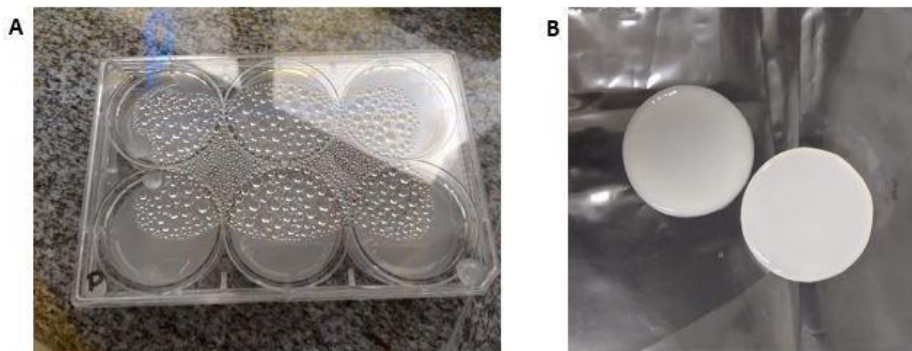
### Produção dos filmes de CB

Filmes de CB foram obtidos em cultivo estático utilizando meio HS modificado (HESTRIN; SCHRAMM, 1954) em que glicerol bruto substituiu a glucose como fonte de carbono. Assim foi obtendo um rendimento médio de ~5g (peso seco) /L de meio de cultivo. Segundo Huang e colaboradores (2014), diversos compostos, além do glicerol e glucose, como frutose, sacarose, maltose, celobiose, dentre outros, podem ser utilizados como fonte de carbono na composição do meio HS modificado. Kurosumi e colaboradores (2009) relataram a produção de celulose por *Acetobacter xylinum* NBRC 13693 usando sucos (laranja, maçã, pera, abacaxi e uva) como meio de cultura. Uma das vantagens do uso do glicerol como fonte de carbono no meio HS é seu baixo custo quando comparado à glucose. Uma vez que o meio de cultura é o fator mais importante para o custo total de produção da CB, encontrar soluções econômicas são essenciais para viabilizar a aplicação da CB nas mais diversas áreas (JOZALA *et al.*, 2016). Obtém-se glicerol bruto como um coproduto da reação de transesterificação de óleos vegetais em meio básico. Este processo tem sido amplamente utilizado para a produção de biodiesel em vários países (Fukuda; Kondo; Noda; 2001; Schuchardt *et al.*, 1998). Sendo assim, a utilização de coprodutos ou resíduos pode ser considerada como uma boa alternativa para a diminuição de custos, além de agregar valor ambiental pelo reaproveitamento de compostos (MIKKELSEN *et al.*, 2009).

O filme de CB em cultivo estático possui sempre a forma interna do recipiente ao qual o meio líquido é colocado para cultivo da bactéria, além de aspecto e característica de um hidrogel com textura gelatinosa quando úmida (KLEMM *et al.*,

2001). Assim, foram obtidos filmes circulares de CB com 3,4 cm de diâmetro (espessura média de 5 mm) foram produzidos, conforme apresentado na Figura 3.

Figura 3. Membranas de celulose bacteriana obtidas a partir de cultivo de *Komagataeibacter* sp. em meio HS modificado, incubadas em condição estática a 28,0°C por 5-7 dias em (A) placas de cultivo de seis poços e (B) membranas avulsas purificadas.



Fonte: Os autores.

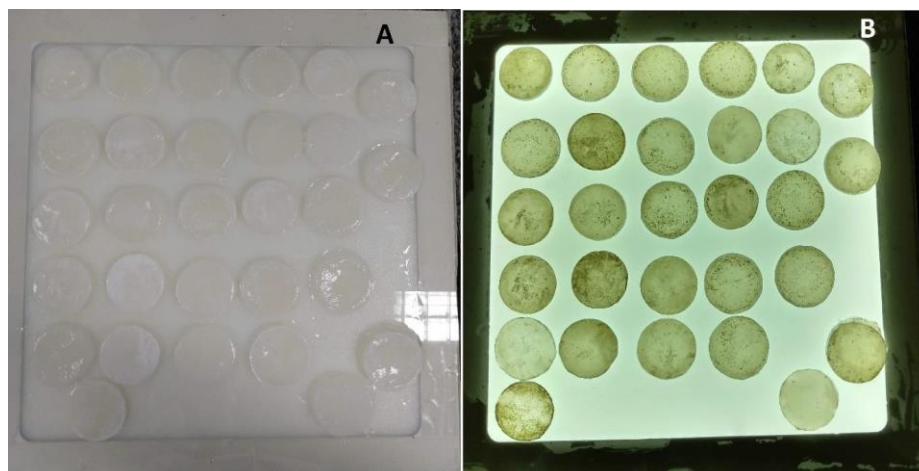
Os filmes obtidos foram purificados em solução 0,3 M de NaOH, gerando um resíduo que pode ser facilmente neutralizado por uma reação ácido-base e descartado sem grandes danos ao ambiente, diferente do processo de purificação da celulose vegetal que necessita uma etapa posterior complexa de tratamento de efluente devido aos químicos e reagentes oxidantes envolvidos no processo (ALMEIDA *et al.*, 2007).

### Incorporação de NP's de TiO<sub>2</sub> à CB

Em um trabalho anterior realizado no nosso grupo por PIELAK, 2018, os filmes nanocompósitos de CB-TiO<sub>2</sub> foram analisados por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) com o intuito quantificar os elementos químicos presentes. Assim foi possível, considerando a média de 12 pontos escolhidos aleatoriamente no filme, determinar de forma qualitativa e semiquantitativa a fração correspondente ao titânio (21,5% de titânio, % peso seco em relação a CB). A incorporação de nanopartículas de dióxido de titânio aos filmes de CB pode também ser observada visualmente conforme mostra a Figura 4, no qual os pontos brancos (Figura 4-A) e os pontos em contraste (Figura 4-B) correspondem às NPs-TiO<sub>2</sub> associadas à membrana de CB pura.



Figura 4. Filmes de CB-TiO<sub>2</sub> após banho ultrassônico. Sem contraste com a luz (A) e com (B)



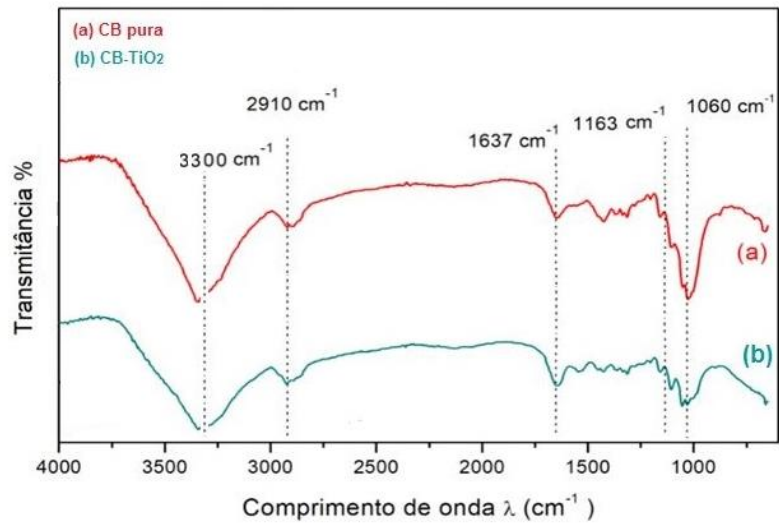
Fonte: Os autores.

#### Caracterização da NP's de CB-TiO<sub>2</sub> por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada objetivando obter informações sobre as estruturas químicas do nanocompósito. A escolha desta análise se deu por possibilitar um espectro com uma melhor razão sinal/ruído, apresentando também considerável velocidade e sensibilidade para análises (PAVIA *et al.*, 2010).

Analisando o espectro obtido na Figura 5 observa-se uma absorção forte em 3300 cm<sup>-1</sup>, de posição e formato característico de estiramento (3700-3000 cm<sup>-1</sup>) de grupo hidroxila (O-H), provenientes das ligações de hidrogênio intra e intermolecular da celulose. As bandas 1060 cm<sup>-1</sup> e em 1163 cm<sup>-1</sup>, apresentaram, em ambas as amostras, vibrações características de C-O (1300-1100 cm<sup>-1</sup>). Entretanto, na análise de CB-TiO<sub>2</sub>, tais bandas apresentaram menor intensidade, que pode ser atribuída às nanopartículas de TiO<sub>2</sub> depositadas na superfície da celulose (PAVIA *et al.*, 2010; QIAN; ANTONIETTI; YU, 2007). A banda de 1637 cm<sup>-1</sup> representa dobramento de molécula de O-H, possivelmente proveniente de água absorvida pela celulose (AUTA *et al.*, 2017). A banda observada em 2910 cm<sup>-1</sup> é característica de estiramento de alcanos (3000 – 2850 cm<sup>-1</sup>), ligações do tipo C-H, presentes na estrutura da celulose. (PAVIA *et al.*, 2010).

Figura 5. Comparação da celulose pura (CB) com o nanocompósito CB-TiO<sub>2</sub> através de análise por FTIR.



Fonte: Os autores.

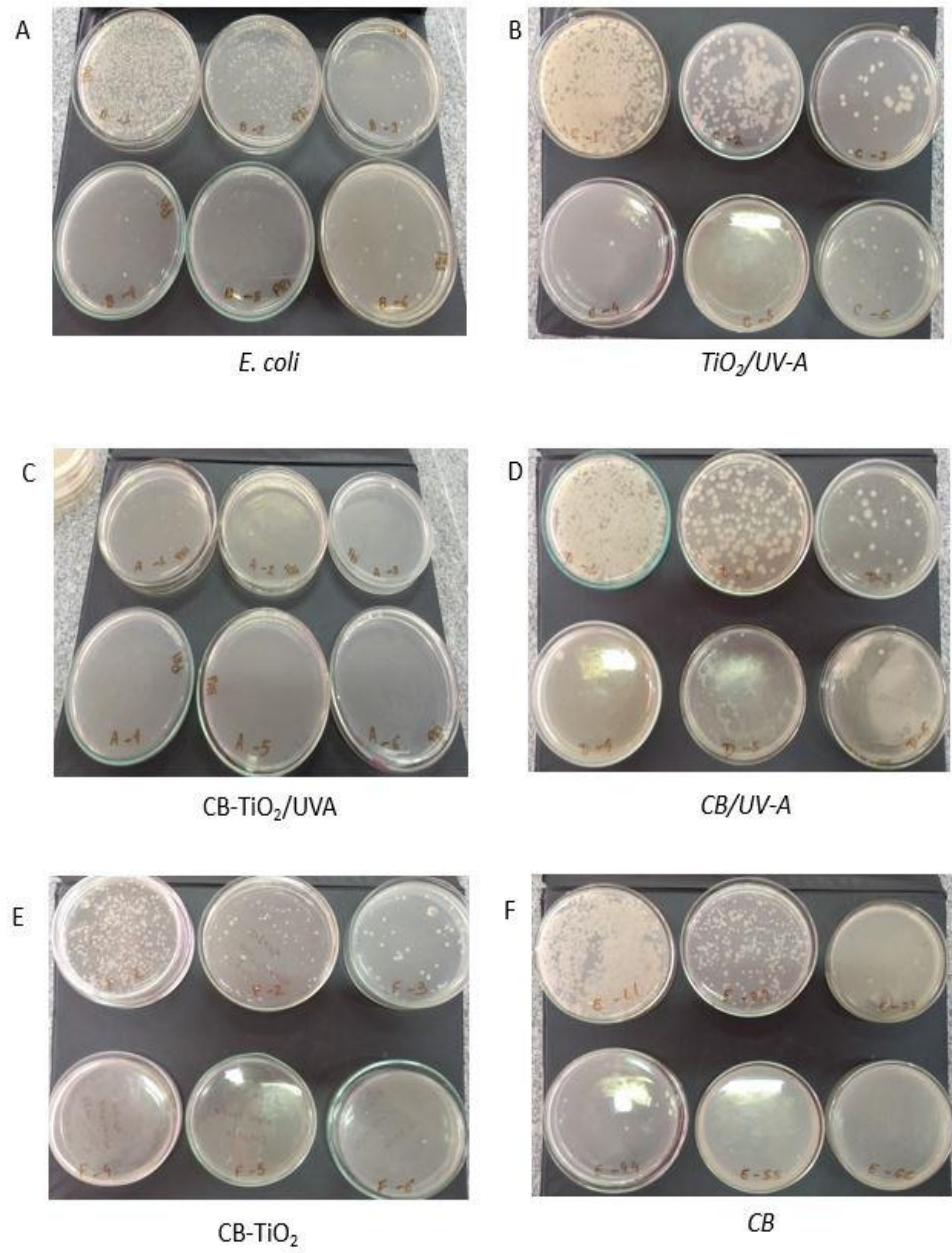
Observando a intensidade diferente de sinal nas bandas obtidas para CB e nas bandas obtidas para o nanocompósitos de CB-TiO<sub>2</sub>, pode-se atribuir tal diferença à eficácia da associação das nanopartículas de dióxido de titânio à superfície e porosidades do filme de CB.

### Avaliação de atividade antimicrobiana

Para o ensaio da atividade antimicrobiana do nanocompósito de CB-TiO<sub>2</sub> em reator fotoquímico foi utilizada a *E. coli* ATCC 8739. Após realização das análises em reator fotoquímico convencional de bancada, com 150 mL de solução salina contendo *E. coli* e discos de CB-TiO<sub>2</sub>/somente CB/somente TiO<sub>2</sub> na presença e ausência de luz UV-A (Tabela 1), as alíquotas retiradas da solução salina após 15 min foram analisadas quanto ao número de células viáveis ou contagem de UFC's nas placas de Petri, após diluição seriada e plaqueamento (Figura 6). Os valores encontrados de UFC para cada experimento estão mostrados na Tabela 2.



Figura 6. Exemplo de avaliação da atividade antimicrobiana frente a *E. coli* pelo método de diluição e contagem das UFC's/mL em meio sólido



Fonte: Os autores

Tabela 2. Unidades formadoras de colônia (UFC's) observadas nos ensaios.

Experimento	UFC·mL <sup>-1</sup>
<i>E. coli</i>	(3,0 ± 0,2) x 10 <sup>5</sup>
TiO <sub>2</sub> / UV-A	(2,6 ± 0,2) x 10 <sup>5</sup>
CB	(3,8 ± 0,3) x 10 <sup>5</sup>
CB/ UV-A	(4,1 ± 1,0) x 10 <sup>5</sup>
CB-TiO <sub>2</sub>	(0,96 ± 0,01) x 10 <sup>5</sup>
CB-TiO <sub>2</sub> / UV-A	(0,05 ± 0,01) x 10 <sup>5</sup>

Fonte: Os autores

Diante dos resultados foi observado que a CB pura ou em conjunto com a radiação UV-A (CB e CB-UV-A, respectivamente), não produz qualquer efeito bactericida ou bacteriostático, uma vez que o crescimento celular observado nas placas após as análises foi semelhante ao observado naquelas com apenas *E. coli* e sem tratamento com UV-A ou adição de discos de CB. Tal comportamento está de acordo com os resultados obtidos no trabalho de KHAN e colaboradores (2015) confirmando que a CB não possui qualquer atividade antimicrobiana intrínseca.

Houve 13,33% de inibição do crescimento microbiano após tratamento com as nanopartículas de dióxido de titânio não imobilizadas e radiação UV-A quando comparado ao controle (apenas *E. coli*). Estudos já tinham mostrado os efeitos antibacterianos de nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, tanto isoladas quanto associadas a outros materiais. De acordo com Garusinghe e colaboradores (2018), a fotocatalise é um fenômeno de superfície, em que apenas as NPs retidas na superfície externa de um dado compósito serão irradiadas com a radiação UV participando do processo de fotocatalise.

Utilizando o filme CB-TiO<sub>2</sub> sem fotoativação foi obtida uma inibição de 68% frente as células de *E. coli*. A fotoativação do filme CB-TiO<sub>2</sub> aumentou a atividade antimicrobiana do nanocompósito, atingindo 98,5% de inibição. Baram e colaboradores (2011) afirmam que a utilização de NPs-TiO<sub>2</sub> inativa eficientemente as espécies *E. coli*, *P. fluorescens* e *D. radiodurans*, após 10-15 minutos de radiação. Em um outro estudo, visando a desinfecção de água, Chatzisyneon e colaboradores (2011) utilizando UV-C conseguiram 100% de inativação da *E. coli* após 3 min de tratamento fotocatalítico. No entanto, quando foi utilizada a radiação UV-A com 200 mg/L de TiO<sub>2</sub> foram necessários 60 minutos para atingir a completa desinfecção da água.

Sugere-se que as células de *E. coli* interagiram com a superfície dos discos de CB-TiO<sub>2</sub> resultando na perda de sua viabilidade devido ao efeito sinérgico entre a radiação utilizada 315 – 400 nm (UV-A), e as espécies oxidativas geradas pela fotoativação do TiO<sub>2</sub> causando danos às células. Um mecanismo pode ser a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) resultantes do mecanismo de fotocatalise do TiO<sub>2</sub>. Tal estresse oxidativo pode ser causado por diversos fatores, incluindo a geração de ROS como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH<sup>•</sup>. A geração ROS induz danos a membrana celular da célula podendo também alterar a permeabilidade da membrana mitocondrial comprometendo a cadeia respiratória celular; além de levar à geração de radicais livres, seja por interação com componentes celulares ou pela ativação da enzima NADPH-oxidase (KHAN, S., *et al.* 2015; KHAN, S.T., *et al.*, 2015).

Comparando os resultados obtidos frente a *E. coli* utilizando o filmes de CB-TiO<sub>2</sub>, CB-TiO<sub>2</sub>/UV-A e do TiO<sub>2</sub>/UV-A (inibição de 13,33%), esperava-se que o último

apresentasse um maior grau de inibição, seguido do CB-TiO<sub>2</sub>/UV-A e CB-TiO<sub>2</sub>. Uma possível explicação para o que foi observado seria devido a menor quantidade de TiO<sub>2</sub> utilizada na sua forma livre em relação a presente nos discos de CB-TiO<sub>2</sub>, necessitando assim uma análise mais refinada com as concentrações equivalentes de TiO<sub>2</sub> livre e imobilizada.

Constata-se, assim, eficiência da atividade antimicrobiana do nanocompósito CB-TiO<sub>2</sub> frente à *E. coli*, principalmente quando associada a radiação UV-A (inibição de 98,5%).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, filmes de nanocelulose bacteriana foram produzidos a partir de *Komagataeibacter* sp. em meio de cultivo HS modificado, utilizando glicerol ao invés de glucose como fonte de carbono. Com tal substituição foi possível reduzir custo do processo agregando um bom rendimento de CB (5 g/L), além agregar valor ambiental através do reaproveitamento do glicerol bruto obtido como resíduo da produção de biodiesel. O banho ultrassônico foi eficiente na incorporação de NP's de TiO<sub>2</sub> nos filmes de CB, confirmada por análise FTIR e visual.

A avaliação da atividade antimicrobiana do nanocompósito utilizando uma cepa de referência apresentou resultados promissores de inibição. Assim, foi observada uma inibição de 98,5% e 68,0% nos filmes de CB-TiO<sub>2</sub> com e sem radiação UV-A, respectivamente. Tal diferença pode indicar um efeito mais pronunciado associada ao filme de CB-TiO<sub>2</sub> na presença de UV-A gerando mais espécies reativas de oxigênio (ROS) capazes de causar danos as estruturas celulares dos microrganismos. Os resultados mostram o potencial dos nanocompósitos formados por CB-TiO<sub>2</sub> no desenvolvimento de novos materiais com propriedades antimicrobianas.

# Antimicrobial activity of a nanocomposite film formed by bacterial nanocellulose and titanium dioxide

## ABSTRACT

The development of materials with antimicrobial properties has increased, mainly driven by the pandemic caused by the new coronavirus SARS-CoV-2. Bacterial nanocellulose (CB) is a polysaccharide produced and secreted by certain genera of bacteria that have unique properties (high purity, biodegradability, biocompatibility, among others) for the development of new materials with special characteristics. Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) is an inorganic compound industrially produced as a white and odorless powder, that intrinsically presents photo activity, high stability, and antimicrobial activity, this mainly after irradiation of ultraviolet (UV) light irradiation. Aiming to provide antimicrobial properties on nanocellulose films produced by *Komagataeibacter* sp., TiO<sub>2</sub> nanoparticles were incorporated into the surface and pores of nanocellulose film discs. After, antimicrobial activity assays were carried out in a photochemical reactor to evaluate *Escherichia coli* ATCC 8739 susceptibilities when in contact with the CB-TiO<sub>2</sub> film discs after 15 minutes, followed by count of colony-forming units (CFU) on agar plate. Results showed an inhibition of *E. coli* growth of 98.5% when in contact with CB-TiO<sub>2</sub> in the presence of UV-A and an inhibition of 68.0% in the absence of UV-A, indicating the potential use of the biocomposite for the creation of materials and surfaces with antimicrobial properties.

**KEYWORDS:** Antibacterial activities. Biocomposites. Photocatalysis. Biopolymer. Nanomaterials.

## AGRADECIMENTOS

Sinceros agradecimentos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos; e ao Centro Multiusuário de Caracterização de Materiais da Universidade (CMCM), ao Laboratório Multiusuário de Análises Químicas (LAMAQ) e Laboratório Multiusuário de Equipamentos e Análises Ambientais (LAMEAA) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pela ajuda com as caracterizações físico-químicas.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H.C.; SILVEIRA, C.B.; ERNANI, P.R.; CAMPOS, M.L.; ALMEIDA, D. Composição química de um resíduo alcalino da indústria de papel e celulose (dregs). **Quim. Nova**, V. 30, N. 7, p. 1669-1672, 2007.

AUTA, R. et al. Production and characterization of bacterial cellulose before and after enzymatic hydrolysis. **African Journal of Biotechnology**. V.16, p. 470-482, 2017.

AZEREDO, H. M. C.; BARUD, H.; FARINAS, C. S.; VASCONCELLOS, V. M.; CLARO, A. M. Bacterial Cellulose as a Raw Material for Food and Food Packaging Applications. **Front. Sustain. Food Syst.**, n. 3, 2019.

BARAM, N.; STAROSVETSKY, D.; STAROSVETSKY, J.; EPSHTEIN, M.; ARMON, R.; EIN-ELI, Y. Photocatalytic inactivation of microorganisms using nanotubular TiO<sub>2</sub>. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 101, p. 212-219, 2011.

BORGES, Shalimar S.; XAVIER, Leandro P. S.; Silva, Adilson C.; AQUINO, Sérgio F.; Imobilização de dióxido de titânio em diferentes materiais suporte para o emprego em fotocatalise heterogênea. **Química Nova**, v. 39, n. 7, p. 836-844, 2016.

CHATZISYMEON, Efthalia; DROUMPALI, Ariadni; MANTZAVINOS, Dionissios; VENIERI, Danae. Disinfection of water and wastewater by UV-A and UV-C irradiation: application of real-time PCR method. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 10, p. 389-395, 2011.

CHEN, S. Q.; LOPEZ-SANCHEZ, P. WANG, D.; MIKKELSEN, D.; GIDLEY, M. J. Mechanical properties of bacterial cellulose synthesised by diverse strains of the genus Komagataeibacter. **Food Hydrocoll.** 81, 87–95, 2018.

DONINI, Ígor A. N. *et al.* Biossíntese e recentes avanços na produção de celulose bacteriana. **Eclét. Quím.**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 165-178, 2010.

FUKUDA, H.; KONDO, A.K.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, p. 405-416, 2001.

GARUSINGHE, U.M.; RAGHUWANSHI, V.S.; BATCHELOR, W.; GARNIER, G. Water Resistant Cellulose – Titanium Dioxide Composites for Photocatalysis. **Scientific Reports**, v.8, n. 2306, 2018.

HESTRIN, S.; SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem J.**, v. 58, n. 2, p. 345-352, 1954

HUANG, Yang; ZHU, Chunlin; YANG, Jiazhi; NIE, Ying; CHEN, Chuntao; SUN, Dongping. Recent advances in bacterial cellulose. **Cellulose**, v. 21, p. 1-30, 2014.

IMANI, S. M.; LADOUCEUR, L.; MARSHALL, T.; MACLACHLAN, R.; SOLEYMANI, L.; DIDAR, T. F. Antimicrobial Nanomaterials and Coatings: Current Mechanisms and Future Perspectives to Control the Spread of Viruses Including SARS-CoV-2. **ACS Nano**, 14, p. 12341 – 12369, 2020.

JOZALA, A. F. et al. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 5, p. 2063–2072, 2016.

KHALID, A.; KHAN, R.; UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; WAHID, F. Bacterial cellulose-zinc oxide nanocomposites as a novel dressing system for burn wounds. **Carbohydr. Polym.**, 164, 214–221, 2017.

KHAN, Shaukat; UL-ISLAM, Mazhar; KHATTAK, Waleed Ahmad; ULLAH, Muhammad Wajid; PARK, Joong Kon. Bacterial cellulose-titanium dioxide nanocomposites: nanostructural characteristics, antibacterial mechanism, and biocompatibility. **Cellulose**, v.22, p. 565-579, 2015.

KHAN, Shams Tabrez; AL-KHEDHAIRY, Abdulaziz A.; MUSARRAT, Javed. ZnO and TiO<sub>2</sub> nanoparticles as novel antimicrobial agents for oral hygiene: a review. **J Nanopart Res**, v. 17, n. 276, 2015.

KLEMM, Dieter et al. Bacterial synthesized cellulose - Artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science (Oxford)** v. 26, n. 9, p. 1561–1603, 2001.

KUROSUMI, A; SASAKI, C; YAMASHITA, Y; NAKAMURA, Y. Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. **Carbohydr Polym** 76: 333–335, 2009.

LI, G.; NANDGAONKAR, A. G.; WANG, Q.; ZHANG, J.; KRAUSE, W. E.; WEI, Q.; LUCIA, L.A. Laccase-Immobilized Bacterial Cellulose/TiO<sub>2</sub> Functionalized Composite Membranes: Evaluation for Photo- and Bio-Catalytic Dye Degradation. **Journal of Membrane Science**, 525, 89 - 98, 2017.

MAHMOUD, H. K.; ASGHAR, B. H.; HARRAS, A. M.; FARGHALY, T. A. Nano-sized formazan analogues: Synthesis, structure elucidation, antimicrobial activity and docking study for COVID-19. **Bioorganic Chemistry**, v. 105, 104354, 2020.

MANEERUNG, Thawatchai; TOKURA, Seiichi; RUJIVARANIT, Ratana. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 43-51, 2008.

MARIA, L. C. S.; SANTOS, A. L. C.; OLIVEIRA, P. C.; VALLE, A. S. S. Preparation and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Impregnated in Bacterial Cellulose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 20, p. 72-77, 2010.

MIKKELSEN, D. et al. Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 576–583, ago. 2009.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. Cengage. Learning, 2010.

PIELAK, F. **Desenvolvimento de nanocompósitos de nanocelulose bacteriana e TiO<sub>2</sub> e sua aplicação na degradação do corante preto reativo 5 por fotocatalise heterogênea**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) - Departamento de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba. p. 92, 2018.

QIAN, H.S.; ANTONIETTI, M.; YU, S.H. Hybrid “Golden Fleece”: Synthesis and Catalytic Performance of Uniform Carbon Nanofibers and Silica Nanotubes Embedded with a High Population of Noble-Metal Nanoparticles. **Advanced Functional Materials**, v. 17, n. 4, p. 637–643, 2007.

RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 99, P. 2491-2511, 2015.



REINIATI, I.; HRYMAK, A. N.; MARGARITIS, A. Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. **Crit. Rev. Biotechnol.** 37, P. 510–524, 2017.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R.M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 9, No. 1, p. 199-210, 1998.

VALERO-VALDIVIESO, Manuel Fernando; ORTEGÓN, Yamileth; USCATEGUI, Yomaira. Biopolímeros: Avances y perspectivas. **Dyna**, v.181, p. 171-180, 2013.

**Recebido:** 23/02/2022

**Aprovado:** 10/03/2022

**DOI:** 10.3895/rts.v18n51.15211

**Como citar:** Lopes, P. V. et al. Ação antimicrobiana de um filme nanocompósito formado por nanocelulose bacteriana e dióxido de titânio. **Rev. Technol. Soc.**, Curitiba, v. 18, n. 51, p.314-329, abr./jun., 2022. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rts/article/view/15211>. Acesso em: XXX.

**Correspondência:**

**Direito autoral:** Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

