

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MACROMOLÉCULAS PROFESSORA ELIOSA MANO – IMA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
POLÍMEROS

CLARA TEIXEIRA DE OLIVEIRA

**SISTEMAS HÍBRIDOS À BASE DE ETILENO-CO-ACETATO DE VINILA E ÓXIDO
DE ZINCO VISANDO A PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS**

Rio de Janeiro

2017

CLARA TEIXEIRA DE OLIVEIRA

**SISTEMAS HÍBRIDOS À BASE DE ETILENO-CO-ACETATO DE VINILA E ÓXIDO
DE ZINCO PARA PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS**

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Inês Bruno Tavares

Coorientador: Dr. Jorge Pereira Chimanowsky Junior

Rio de Janeiro

2017

CIP - Catalogação na Publicação

048s

OLIVEIRA, CLARA TEIXEIRA DE
SISTEMAS HÍBRIDOS À BASE DE ETILENO-CO-ACETATO DE
VINILA E ÓXIDO DE ZINCO VISANDO A PRODUÇÃO DE
EMBALAGENS ATIVAS / CLARA TEIXEIRA DE OLIVEIRA. --
Rio de Janeiro, 2017.
91 f.

Orientadora: MARIA INES BRUNO TAVARES.
Coorientador: JORGE PEREIRA CHIMANOWSKY JUNIOR.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas
Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2017.

1. Embalagem. 2. Ativa. 3. Antimicrobiana. 4.
EVA. 5. ZnO. I. TAVARES, MARIA INES BRUNO, orient.
II. CHIMANOWSKY JUNIOR, JORGE PEREIRA, coorient.
III. Título.

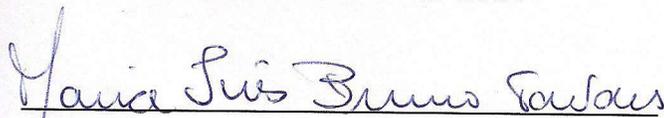
Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CLARA TEIXEIRA DE OLIVEIRA

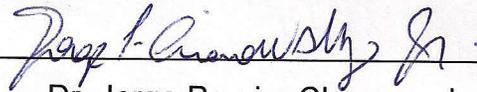
**SISTEMAS HÍBRIDOS À BASE DE ETILENO-CO-ACETATO DE VINILA E
ÓXIDO DE ZINCO VISANDO A PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS**

Dissertação submetida ao Instituto de
Macromoléculas Professora Eloisa
Mano da Universidade Federal do Rio
de Janeiro, como parte para obtenção
do grau de Mestre em Ciências, em
Ciência e Tecnologia de Polímeros

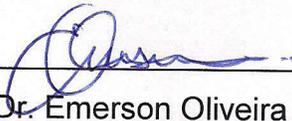
BANCA EXAMINADORA



Orientadora Profa. Dra. Maria Inês Bruno Tavares
Universidade Federal do Rio de Janeiro UFRJ/IMA



Dr. Jorge Pereira Chimanowky Junior
Universidade Federal do Rio de Janeiro UFRJ/IMA



Prof. Dr. Emerson Oliveira da Silva
Universidade Federal do Rio de Janeiro UFRJ/IMA



Profª. Drª. Sheila Garcia
Universidade Federal do Rio de Janeiro FF/UFRJ



Dr. Paulo Sérgio Rangel Cruz da Silva
Universidade Federal do Rio de Janeiro UFRJ/IMA

Rio de Janeiro

2017

It is not our abilities that show us what we truly are.

It's our choices.

Albus Dumbledore

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, me dando saúde e força para superar as dificuldades;

À minha família, pelo incentivo e amor incondicional e ao meu marido, Jorge Augusto, pela exímia paciência e por sua capacidade de me trazer paz na correria de cada etapa do processo;

À minha orientadora Maria Inês, pelo carinho, orientação e pelo conforto nos momentos de dificuldade, sempre acreditando no meu potencial;

Ao meu coorientador Jorge, pela oportunidade, apoio e pelas suas sugestões valiosas para a elaboração deste trabalho;

À Thais Silveira e Malu do IFRJ, pela maravilhosa colaboração na área antimicrobiana, às meninas que me ajudaram no processamento Tatá e Lorena, à Agnes pela grande ajuda em RMN e para Débora pela síntese do óxido modificado;

Aos meus amigos de laboratório Paulo, Lívia, Débora, Lizandra, Max, Cassia e todos dos laboratórios J121 e J128B que me ajudaram a entender a importância das caracterizações e tornaram meus dias mais leves, felizes e produtivos;

À minha turma de mestrado: Cíntia, Débora, Lívia, Fabíola, Joana, Thacyla, Ingrid, Jéssica, Camila, Ivi, Enzo, Igor e Fábio, pela linda união da nossa turma. Vocês foram a minha esperança e a certeza de que eu não estava sozinha;

Aos meus grandes amigos Fernanda, Arthur, Jeniffer, Pâmela, por aceitar as minhas ausências e pelos momentos de desabafo, alegrias e dores compartilhadas;

Aos técnicos administrativos do IMA: Léa, Juliana, Mariana, Sandra, Bruno, Alan e Walquiria que facilitaram meu trabalho no IMA através da ajuda em várias análises e assuntos protocolares realizados nesta dissertação e às funcionárias do DQI Gláucia e Leonice, pelas análises de FTIR;

Aos professores do IMA por transmitir conhecimentos essenciais para a minha formação de mestre;

Ao meu chefe, Roberto Faria, pela força e incentivo ao longo de todo o meu mestrado, entendendo as dificuldades e flexibilizando meus horários para que tudo isso acontecesse;

E a todos que direta ou indiretamente colaboraram na minha trajetória, obrigada.

RESUMO

As embalagens alimentícias possuem grande utilização com diferentes tipos de polímeros e nanocargas, com principal atuação como barreira inerte a gases e ao vapor d'água. A crescente demanda de novos materiais com propriedades que aumentam o tempo de prateleira tem estimulado o aumento de pesquisas no setor de embalagens ativas, principalmente no setor microbida. O uso de agentes antimicrobianos exige estudo aprofundado de suas propriedades, a fim de evitar perda de eficiência do polímero no processamento. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a preparação de um nanocompósito de copolímero de etileno e acetato de vinila (EVA) com 18% e óxido de zinco (ZnO) como carga microbida, preparados em extrusora monorroscas. A carga foi modificada com octadecilamina e sistemas contendo 0,25% e 0,5% de carga modificada foram sintetizados. Filmes de nanocompósitos de EVA 18 com 0,25% de ZnO; 0,5% ZnO; 0,75% de ZnO e 1% de ZnO foram preparados e comparados com os sistemas contendo carga modificada. Estes novos materiais foram caracterizados por análise termogravimétrica (TGA), Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), Difração de Raio X (XRD), Análise Dinâmica Mecânica (DMA), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no domínio do tempo e Teste de Sensibilidade para Antimicrobianos para investigar o efeito das nanopartículas de óxido de zinco sobre as propriedades térmicas, cristalinidade do EVA e efeito antimicrobiano. A TGA mostrou uma tendência de aumento da estabilidade térmica em diferentes proporções de ZnO. Os resultados DSC não mostraram mudanças significativas nos parâmetros térmicos. As análises XRD mostraram um aumento no grau de cristalinidade dos nanocompósitos em relação à matriz de EVA e mudança na cristalinidade com o aumento das porcentagens de ZnO. A análise de DMA indica mudança na organização estrutural através da variação de módulo de armazenamento, perda e tan delta. Os dados de RMN do domínio do tempo corroboram com os dados XRD através da mudança na mobilidade molecular. O teste de sensibilidade a antimicrobianos não apresentou halo de inibição, indicando ausência de migração do óxido e toxicidade zero da embalagem.

Palavras-chave: Embalagem. Ativa. Antimicrobiana. EVA. ZnO

ABSTRACT

Food packaging has great use with different types of polymers and fillers, mainly acting as a gas-inert barrier. The increasing demand for new materials with properties that increase shelf life has stimulated the increase of research in the active packaging sector, which new agents also interact with food, acting as antioxidants, moisture reducers, temperature indicators and microbicides. The use of antimicrobial agents requires an in-depth study of their properties in order to avoid loss of efficiency of the polymer in processing. In this context, the objective of this work was to evaluate the preparation of an 18% ethylene vinyl acetate copolymer (EVA) nanocomposite and zinc oxide (ZnO) as microbicidal filler, prepared in a monosulfon extruder. The filler was modified with octadecylamine and systems containing 0.25% and 0.5% modified filler were synthesized. EVA 18 nanocomposite films with 0.25% ZnO; 0.5% ZnO; 0.75% ZnO and 1% ZnO were prepared and compared to the systems containing modified charge. These new materials were characterized by thermogravimetric analysis (TGA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), X-Ray Diffraction (XRD), Dynamic Mechanical Analysis (DMA), Time Domain Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Sensitivity to Antimicrobials to investigate the effect of zinc oxide nanoparticles on thermal properties, EVA crystallinity and antimicrobial effect. The TGA showed a tendency of increase of the thermal stability in different proportions of ZnO. DSC results did not show significant changes in thermal parameters. The XRD analysis showed an increase in the degree of crystallinity of the nanocomposites in relation to the EVA matrix and change in the crystallinity with the increase of ZnO percentages. DMA analysis indicates change in structural organization through the variation of storage modulus, loss, and tan delta. Time domain NMR data corroborate with XRD data through the change in molecular motility. The antimicrobial susceptibility test showed no inhibition halo, indicating no migration of the oxide and zero toxicity of the package.

Keywords: Food package. EVA. Antimicrobial. ZnO.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Funções básicas das embalagens e interfaces de atuação das embalagens ativas e inteligentes.	17
Figura 2 - Sistemas de embalagens ativas aplicados a produtos perecíveis	18
Figura 3 - Mecanismos conhecidos de ação antimicrobiana em nanomateriais	19
Figura 4 - Esquema apresentando os tipos de síntese de nanocompósitos com os compostos de partida: A – Estado Fundido, B – IN SITU e C – Em solução	20
Figura 5 - Estrutura molecular do copolímero etileno-acetato de vinila	23
Figura 6 - Efeito do tipo de embalagem na contagem total de <i>L. plantarum</i>	25
Figura 7 - Efeito da aplicação de ZnO na ação microbicida.	27
Figura 8 - Efeito do aumento da concentração de ZnO na mudança de condutividade referente a <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Figura 9 - Micrografia eletrônica de transmissão de (a) células normais de <i>S. aureus</i> não tratadas, (b) células de <i>S. aureus</i> deterioradas e rompidas tratadas com nanopartículas de ZnO, (c) células normais de <i>S. typhimurium</i> não tratadas e (d) células de <i>S. typhimurium</i>	29
Figura 10 - Análises de SEM da <i>E. coli</i> : a) Antes da adição de ZnO e b) Depois da adição de ZnO	30
Figura 11 - Colocação de discos antimicrobianos, parte do protocolo de teste de susceptibilidade a difusão de disco de Kirby-Bauer	33
Figura 12 - Fluxograma de preparo e caracterizações dos nanocompósitos com ZnO puro e modificado na extrusora monorroscas.	37
Figura 13 - Caracterizações realizadas nos filmes produzidos	38
Figura 14 - Representação da localização dos discos de EVA, EVA/ZnO e EVA/ZnOmod. em diferentes proporções, depositados sobre a superfície do meio inoculado.	42
Figura 15 - Filmes de EVA/ZnO obtidos via fusão.	43
Figura 16 - Análise Termogravimétrica de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme	44

Figura 17 - Difratoograma de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme.	45
Figura 18 - Espectros de Infravermelho do óxido puro (ZnO), do modificador orgânico (octadecilamina) e da carga modificada (ZnO modificado)	47
Figura 19 - Espectros de Infravermelho dos sistemas copolímero etileno-co-acetato de vinila utilizado para preparação dos sistemas EVA/ZnO.	48
Figura 20 - Espectros de Infravermelho dos sistemas EVA/ZnO em diferentes proporções de óxido.	49
Figura 21 - Espectros de Infravermelho dos sistemas EVA/ZnOmod. em 0,25% e 0,5% de óxido modificado.	50
Figura 22 - Difratoograma do copolímero de EVA contendo 18% de acetato em sua composição.	51
Figura 23 - Difratoograma correspondente aos diferentes sistemas de EVA/ZnO em diversas proporções de óxido de zinco	52
Figura 24 - Difratoograma correspondente aos sistemas de EVA/ZnO e EVA/ZnOmod contendo 0,25% de ZnO em comparação ao copolímero puro.	53
Figura 25 – Difratoograma correspondente aos sistemas de EVA/ZnO e EVA/ZnOmod contendo 0,5% de ZnO em comparação ao copolímero puro.	53
Figura 26 - Análise Termogravimétrica do EVA 18 puro	54
Figura 27 - Análise Termogravimétrica dos nanocompósitos de EVA/ZnO em diferentes proporções contendo derivada para evidenciar mudança na estabilidade.	56
Figura 28 - Análise Termogravimétrica dos nanocompósitos de EVA/ZnOmod. contendo 0,25% e 0,5% em comparação aos sistemas de EVA/ZnO nas mesmas proporções e EVA puro.	56
Figura 29 - Curvas de DSC do EVA puro.	57
Figura 30 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções referentes ao 1° aquecimento.	58
Figura 31 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções, relativas ao resfriamento (esquerda) e terceiro aquecimento (direita).	58

Figura 32 - Módulo de armazenamento dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO	60
Figura 33 - Módulo de armazenamento do sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,25% de ZnO modificado.	61
Figura 34 - Módulo de armazenamento do sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,5% de ZnO modificado.	62
Figura 35 - Módulo de perda dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO	63
Figura 36 - Módulo de perda do sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,25% de ZnO modificado.	63
Figura 37 - Módulo de perda do sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,5% de ZnO modificado.	64
Figura 38 - Tan Delta dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO	65
Figura 39 - Curva de Domínio de EVA 18.	66
Figura 40 - Curvas de Domínio dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções.	67
Figura 41 – Gráficos de pontos contendo as variações de T_1 com a adição em diferentes proporções de ZnO dos sistemas EVA/ZnO.	68
Figura 42 - Variações de T_2 com a adição em diferentes proporções de ZnO dos sistemas EVA/ZnOmod	70
Figura 43 - Resultados da Técnica de Difusão de Disco para <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> .	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Contagem de células de E. coli em diferentes embalagens de PVC contendo maçãs Fuji cortadas por 48h.	30
Tabela 2 - Análise de DSC de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme.	46
Tabela 3 - Caracterização do EVA espectroscopia de infravermelho.	48
Tabela 4 - Parâmetros térmicos obtidos pelas curvas de TGA e DTG.	60
Tabela 5 - Parâmetros térmicos obtidos pela análise de DSC	64

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVO	15
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. R EVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1. EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS	16
3.1.1. Embalagens Ativas e Inteligentes	17
3.2. NANOCOMPÓSITOS EM EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS	20
3.2.1. Etileno-co-acetato de vinila	23
3.2.2. Óxidos como nanopartículas na indústria de embalagens	24
3.2.2.1. Óxido de zinco como antimicrobiano	26
3.3. Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1. MATERIAIS	34
4.2. MÉTODOS	35
4.2.1. Modificação do óxido de zinco e caracterização	35
4.2.2. Preparação dos filmes	36
4.2.3. Caracterização da carga modificada e dos sistemas EVA/ZnO e EVA/ZnOmod.	38
4.2.4. Técnica de Disco Difusão	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER	47
5.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	51
5.3. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	59
5.5. ANÁLISE DINÂMICO MECÂNICA (DMA)	65

5.6.	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO DOMÍNIO DO TEMPO	71
6.	CONCLUSÕES	77
7.	SUGESTÕES	78
	REFERÊNCIAS	79

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia envolve a síntese, caracterização ou manipulação de materiais que têm pelo menos uma dimensão em escala nanométrica. Quando o tamanho de partícula é encontrado nesta escala, o material resultante exibe propriedades físicas e químicas únicas, devido à alta área superficial específica desta nanopartícula. A pesquisa no campo da nanotecnologia tem crescido rapidamente ao longo das últimas décadas, e já existem inúmeras empresas especializadas na fabricação de novos materiais contendo nanopartículas com aplicações em diversas áreas, desde automobilística até embalagens (DUNCAN, 2011).

Originalmente, o setor de embalagem de alimentos preserva e protege alimentos de fatores ambientais até o ponto de consumo (LEE *et al.*, 2010). Estes sistemas tradicionais estão atingindo seus limites no que diz respeito à prorrogação da vida útil dos alimentos embalados. Para proporcionar esta extensão do tempo de prateleira e melhorar a qualidade e integridade dos alimentos embalados, estão sendo desenvolvidos conceitos inovadores de embalagens ativas (EMAMIFAR, 2011).

O objetivo da embalagem ativa é prolongar o tempo de prateleira, através da aplicação de várias estratégias, tais como: remoção de oxigênio, controle de umidade e adição de outros materiais em sua composição para proteção do alimento. Estes desenvolvimentos em embalagens ativas levaram a avanços em muitos setores, incluindo a oxidação tardia em alimentos para tonificação muscular, a taxa de respiração controlada em produtos hortícolas e a ação microbicida (BIJI *et al.*, 2015).

A embalagem antimicrobiana é uma forma de embalagem ativa na qual o agente microbicida age para reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos que podem estar presentes no alimento embalado ou no próprio material de embalagem. Para microrganismos indesejáveis nos alimentos, agentes antimicrobianos podem ser incorporados ou revestidos em embalagens de alimentos (HOTCHKISS E APPENDINI, 2002)

Para desenvolver filmes de embalagens antimicrobianas, nanopartículas microbidas são incorporadas na matriz polimérica através de dois possíveis métodos de obtenção: solução ou fusão. O óxido de zinco (ZnO) é um composto inorgânico amplamente utilizado em aplicações cotidianas, está atualmente listado como um material geralmente reconhecido como seguro pela Food and Drug Administration (21CFR182.8991) e já mostrou atividade antimicrobiana contra patógenos transmitidos por alimentos (HOTCHKISS E APPENDINI , 2002; ESPITIA et al. 2013).

O etileno-co-acetato de vinila (EVA) é um copolímero que possui vastas aplicações industriais, devido às suas propriedades físico-químicas dinâmicas e estáveis, o que torna o EVA distinto em relação a outros copolímeros. Este copolímero possui barreira a gases conhecida e é, portanto, utilizado na indústria de embalagens na forma de filme (JAMROZ, 2003; MOUSAVI, 2010).

Devido à crescente demanda de pesquisas no setor bactericida e fungicida de embalagens, se tornou necessário o estudo detalhado de agentes antimicrobianos, como é o caso do óxido de zinco que possui propriedade antimicrobiana conhecida. A proposta aborda o método de obtenção via processamento, incluindo compatibilidade com a matriz polimérica, tipos de agentes patogênicos afetados e propriedades da nova embalagem.

2. OBJETIVO

Obter nanomateriais à base de etileno-co-acetato de vinila (EVA) e óxido de zinco via estado fundido, avaliando as propriedades do material e a influência na ação antimicrobiana.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as condições adequadas de processamento para os filmes nanoestruturados;

- Obter por fusão sistemas com carga pura (EVA/ZnO) e com carga modificada (EVA/ZnOmod.);
- Avaliar a influência do teor de carga e modificador orgânico na dispersão e distribuição do óxido na matriz polimérica;
- Caracterizar os sistemas obtidos a fim de avaliar propriedades físicas e térmicas importantes para o setor de embalagem;
- Selecionar as amostras mais relevantes, com base nas caracterizações, para o ensaio microbica;
- Verificar a atuação das nanopartículas na ação antimicrobiana;
- Determinar qual sistema teve melhor ação antimicrobiana, propriedade térmica e mecânica

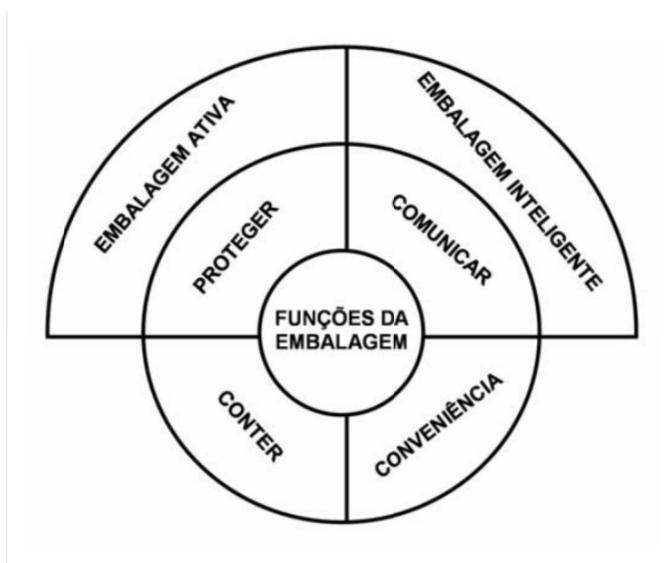
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

Os gêneros alimentícios necessitam de embalagens adequadas para manter a qualidade e o frescor durante o transporte e armazenagem, além de prolongar a vida útil controlando umidade, gases e certos componentes voláteis, tais como sabores. Os requisitos para embalagens de alimentos mudaram ao longo dos anos com uma demanda crescente de materiais de embalagem que são mais fortes, leves e têm certas propriedades funcionais (OMRANI *et al.*, 2009).

Os sistemas convencionais de embalagem de alimentos são concebidos para exercer quatro funções básicas: conter, proteger, comunicar e conferir conveniência com mínima interação entre a embalagem e o conteúdo durante as etapas de armazenamento e distribuição (Figura 1). Contudo, as embalagens convencionais lentamente estão perdendo espaço para as embalagens “ativas” e “inteligentes” que interagem diretamente com o produto (YAM, TAKHISTOV e MILTZ, 2005).

Figura 1 - Funções básicas das embalagens e interfaces de atuação das embalagens ativas e inteligentes.



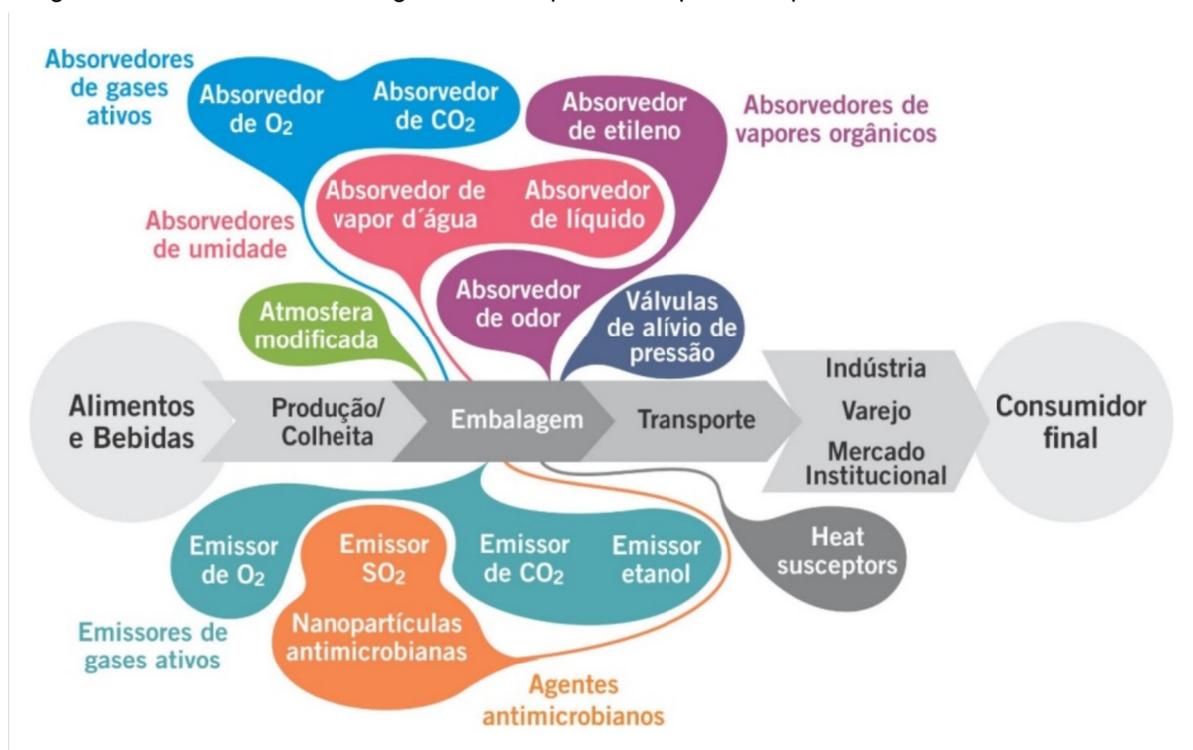
Fonte: Adaptado de YAM, K.L.; TAKHISTOV, P.T.; MILTZ, J (2005).

3.1.1. Embalagens Ativas e Inteligentes

A embalagem inteligente constitui o sistema que monitora as condições do alimento em tempo real, dando informações sobre sua qualidade durante o transporte e armazenagem. As embalagens inteligentes podem ser indicadoras de: crescimento de microorganismos, presença de oxigênio e dióxido de carbono, temperatura e patogênicos (KRUIJF *et al.*, 2002).

Embalagem ativa, por sua vez, pode ser definida como o tipo de embalagem que muda as condições do ambiente que cerca o alimento para prolongar a sua vida útil e mantém as propriedades sensoriais e de segurança, enquanto conserva a qualidade do alimento aumentando o tempo de prateleira (KRUIJF *et al.*, 2002). Há diversos tipos de embalagens ativas, como mostra a Figura 2.

Figura 2 - Sistemas de embalagens ativas aplicados a produtos perecíveis



Fonte: <http://www.ital.agricultura.sp.gov.br/>

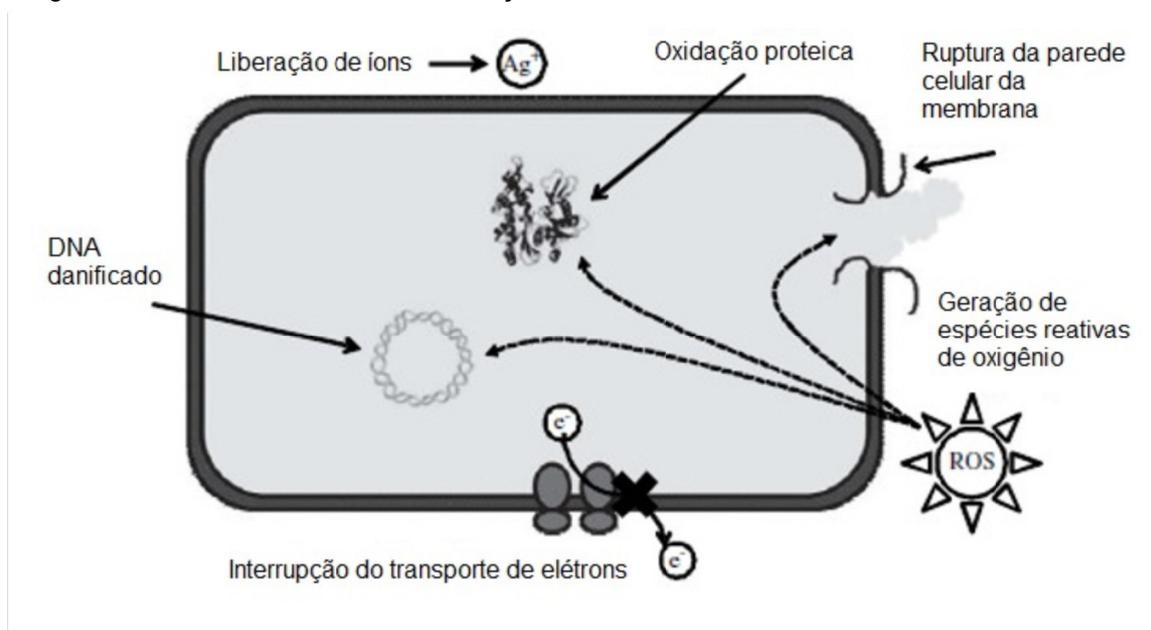
Os sistemas ativos mais comuns são aqueles que liberam agentes antimicrobianos para a superfície dos alimentos, onde predomina o crescimento microbiano, inibindo ou retardando o crescimento de agentes microbiológicos e a deterioração dos alimentos (AZEREDO, 2012).

As embalagens antimicrobianas podem assumir várias formas, incluindo: adição de almofadas de sachês contendo agentes microbicidas voláteis em embalagens, incorporação de agentes antimicrobianos voláteis e não voláteis diretamente nos polímeros, imobilização de antimicrobianos a polímeros por ligações iônicas ou covalentes, uso de polímeros que são inerentemente antimicrobianos e revestimento ou adsorção de cargas antimicrobianas em superfícies poliméricas (HOTCHKISS E APPENDINI, 2002).

A atividade antimicrobiana das nanopartículas pode estar relacionada a vários mecanismos. Como mostra a Figura 3, as nanopartículas podem interagir diretamente com as células microbianas, interromper a transferência de elétrons transmembranares, interromper / penetrar o envelope celular ou componentes de célula oxidante, ou produzir produtos secundários (por exemplo, espécies reativas

de oxigênio (ROS) ou íons de metal pesado dissolvidos que causam danos (Li *et al.*, 2016).

Figura 3 - Mecanismos conhecidos de ação antimicrobiana em nanomateriais



Fonte: EMAMIFAR, A. (2011)

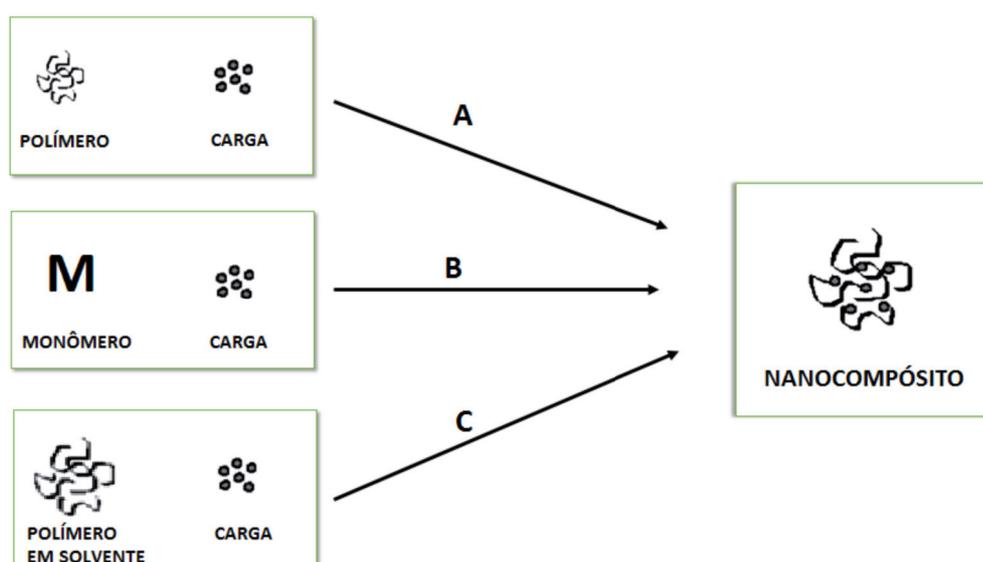
A nanotecnologia recentemente introduzida na indústria de embalagens de alimentos pode potencialmente fornecer soluções para a curta vida útil de embalagens de alimentos. Os materiais de embalagem de alimentos derivados da nanotecnologia são a maior categoria de aplicações atuais de nanotecnologia para o setor de alimentos. Como os demais nanocompósitos, a estrutura básica do nanocompósito aplicado à embalagem é formada por uma matriz composta de polímero com uso industrial e uma carga chamada de ingrediente ativo (EMAMIFAR *et al.*, 2011; SIMON *et al.*, 2008; AJAYAN *et al.*, 2003).

3.2. NANOCOMPÓSITOS EM EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

A crescente demanda de nanocompósitos deve-se ao fato de que a alteração de propriedades químicas e físicas se torne atingível quando as nanopartículas são adicionadas às matrizes poliméricas. Devido ao tamanho extremamente pequeno, nanopartículas têm uma área de superfície relativa muito grande numa base de volume equivalente em comparação com materiais a granel convencionais. Assim, quantidades muito pequenas de carga são normalmente suficientes para melhorar as propriedades dos materiais de embalagem sem qualquer alteração significativa na densidade, transparência ou características de processamento (OMRANI *et al.*, 2009).

Para a síntese de nanocompósitos, é necessário considerar a dispersão da carga e o grau de distribuição de carga na matriz polimérica. Uma boa dispersão de carga resulta em uma boa área superficial, garantindo boas propriedades ao polímero, devido à melhor interação entre carga e matriz. Há três métodos usuais de preparação de nanocompósitos: solução, polimerização *in situ* e estado fundido, como mostra a Figura 4.

Figura 4 - Esquema apresentando os tipos de síntese de nanocompósitos com os compostos de partida: A – Estado Fundido, B – IN SITU e C – Em solução



Fonte: Adaptado ESTEVES, A. *et al.*(2004).

A polimerização por solução consiste basicamente no inchamento do polímero, que constituirá a fase contínua através da adição de um solvente. No caso da fase dispersa, a nanopartícula será suspensa e dispersa no mesmo solvente do polímero e em seguida adicionada à solução polimérica. O solvente deverá interagir bem com o polímero e com a carga. Após a homogeneização da dispersão, a solução contendo polímero, carga e solvente é vertida em uma placa de petri e o solvente é evaporado lentamente do sistema, com formação do filme ou membrana de nanocompósito (LEE *et al.*, 2010).

A polimerização *in situ* trata de um processo no qual a nanopartícula, o iniciador ou catalisador e o monômero são adicionados em reator e a carga será dispersa ao longo do crescimento da cadeia na polimerização (GAO, 2004).

Na obtenção de nanocompósitos no estado Fundido, polímero e carga são adicionados à extrusora e a mistura é aquecida acima da temperatura de fusão do polímero para ocorrer a produção do nanocompósito. O processo de mistura pode ser estático ou dinâmico com o uso de um misturador ou uma extrusora, sendo este último o melhor para geração de materiais com boa dispersão através da quebra dos possíveis aglomerados pelo cisalhamento das nanopartículas (CASTEL, 2012).

Este método permite que uma variedade de polímeros seja utilizada e, por não utilizar solvente, é ambientalmente amigável (DOLGOVSKIJ *et al.*, 2007). Além disso, o método possui apelo industrial por utilizar o maquinário já existente na indústria de transformação, atuando em diversas áreas, como microchips, nanofármacos e embalagens alimentícias. (GACITUA *et al.*, 2005).

Na extrusora, a produção do nanocompósito é feita com o auxílio de um parafuso ou rosca, cujas funções são homogeneização do polímero por meio de cisalhamento e aquecimento do material para que este esteja maleável a ponto de permitir sua conformação na matriz. Por conta dessa múltipla funcionalidade, a rosca deve ser escolhida para promover máxima eficiência, vazão constante, plastificação e homogeneização adequadas sem danos ao polímero, pois a ação de dispersão mecânica da nanopartícula sobre a matriz polimérica é dependente de parâmetros de processamento. A mono rosca é o tipo mais utilizado pelas indústrias em processamento simples, pois gera produtos homogêneos e de baixo custo (MANRICH, 2005; PAUL e ROBESON, 2008).

Durante o processo de extrusão, ocorre a orientação das cadeias do polímero na direção do fluxo e, à medida que o extrudado sai da matriz, as macromoléculas poliméricas que estão orientadas em linha, podem relaxar e causar inchamento do extrudado proporcional às tensões causadas pelas condições de processamento. A razão de estiramento está diretamente relacionada com a orientação molecular, resultando em propriedades de tensão e flexão mais elevadas na direção da orientação em comparação com a posição transversal. A razão de estiramento e a orientação molecular podem aumentar ou diminuir com a alteração da área da seção transversal da matriz em relação à velocidade de escape. Isso é facilmente feito com as matrizes de filme contendo lábios ajustáveis (GILES et al., 2005).

Dentre os processos de produção de embalagens por fusão, o de filme plano é utilizado como substrato para embalagens alimentícias, como revestimento protetor, filme agrícola, para controle de ervas daninhas, como uma proteção de barreira para evitar arranhões de peças durante o transporte, e muitas outras aplicações (GILES et al., 2005).

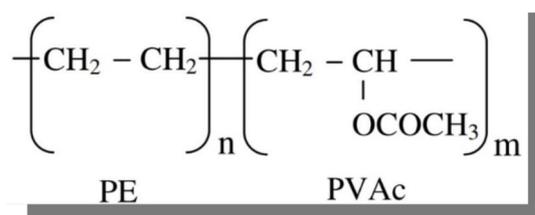
No processo de extrusão de filme plano, o material é expelido pela extrusora através de uma matriz do tipo fenda, que permite extrusão a altas temperaturas, com alta produtividade. Esta temperatura da matriz permite diminuição de irregularidades superficiais, que ocorrem devido ao cisalhamento do material na parede do molde. O material, ao sair da matriz, pode ser rapidamente resfriado por um cilindro de refrigeração ou banho de água. O filme é estirado longitudinalmente de acordo com a velocidade do cilindro do puxador, até a espessura desejada. Esse processo fornece um produto final com transparência superior ao da extrusão com filme tubular, pois o rápido resfriamento limita o crescimento de cristalitos, tanto no interior quanto na superfície do filme (BLASS, 1988).

Os polímeros mais utilizados como matrizes para o desenvolvimento de nanocompósitos na indústria de embalagens são: polietileno (HAN *et al.*, 2014), polipropileno (LI *et al.*, 2014), poliuretano (CARRIZO *et al.*, 2015), poli (tereftalato de etileno) (LI *et al.*, 2016) (SIMON *et al.*, 2008) e copolímero de etileno-acetato de vinila (XU *et al.*, 2016) (BOONNATTACORN, 2014).

3.2.1. Etileno-co-acetato de vinila

O etileno-co-acetato de vinila (EVA) é um copolímero aleatório que exibe propriedades intermediárias entre dois homopolímeros, o polietileno e poli (acetato de vinila) (PVAc), dependendo da proporção de ambos os co-monômeros. A morfologia do copolímero é composta de uma fase cristalina contendo unidades polietilênicas, uma fase amorfa contendo unidades de acetato e a região interfacial contendo ambas as unidades, como mostra a figura 5 (ATVARS, 2002).

Figura 5 - Estrutura molecular do copolímero etileno-acetato de vinila



Fonte: www.sigmaaldrich.com

A polaridade do copolímero etileno-acetato de vinila varia de acordo com o teor de acetato de vinila presente na sua estrutura. O caráter polar permite a formação de mais e melhores interações com nanopartículas adicionadas, quando comparado com polietileno (SILVA *et al.*, 2014).

A variação no teor de acetato de vinila controla as propriedades do EVA, de modo que ele pode ser aplicado como: adesivos (SELLER®); brinquedos (TOYSTER®, TAND KIDS®); calçados (BABUCH®); filme para painéis solares (WIFOR TECH®), tubos (DETROIT®), artigos de papelaria (EVA BRASIL®) e embalagens de alimento (EMBALAGEM IDEAL®, DUPONT®). O EVA, na indústria de embalagens, possui baixo teor de acetato de vinila e possui características próximas às do Polietileno de baixa densidade, como flexibilidade, resistência mecânica e baixa densidade (MALPASS, 2010).

Na indústria de embalagens, filmes de copolímeros de EVA possuem capacidade de barreira a gases, onde o aumento da espessura do filme diminui as permeabilidades e solubilidades do gás. O aumento do teor de acetato de vinila dos

copolímeros de EVA aumenta a permeabilidade do CO₂ e o tipo de preparação do filme influencia na permeabilidade a gases (MOUSAVI, 2010).

O teor de acetato no copolímero afeta as propriedades do copolímero, modificando as aplicações do produto final. Os copolímeros de EVA contendo acetato inferior a 5% m / m são utilizados para a produção de filmes finos com elasticidade de borracha intermediária. Com o aumento do teor de acetato de 6 a 12% m / m, podem ser obtidos os filmes de resistência melhorada. O EVA com 15 a 18% m / m de acetato é frequentemente utilizado para a preparação de filmes de polipropileno e polietileno coextrudados com boa resistência ao calor. O teor de acetato de EVA utilizado para a produção de adesivos raramente excede 30% m / m (JAMROZ, 2003).

3.2.2. Óxidos como nanopartículas na indústria de embalagens

Na indústria de embalagens ativas antimicrobianas, agentes antimicrobianos são, geralmente, incorporados a 0,1-5% em peso do material de embalagem, particularmente filmes. Os antimicrobianos podem ser incorporados em polímeros por combinação de solvente ou por fusão, onde podem ser utilizados métodos de processamento térmico de polímeros, tal como extrusão com antimicrobianos termicamente estáveis (HOTCHKISS E APPENDINI , 2002).

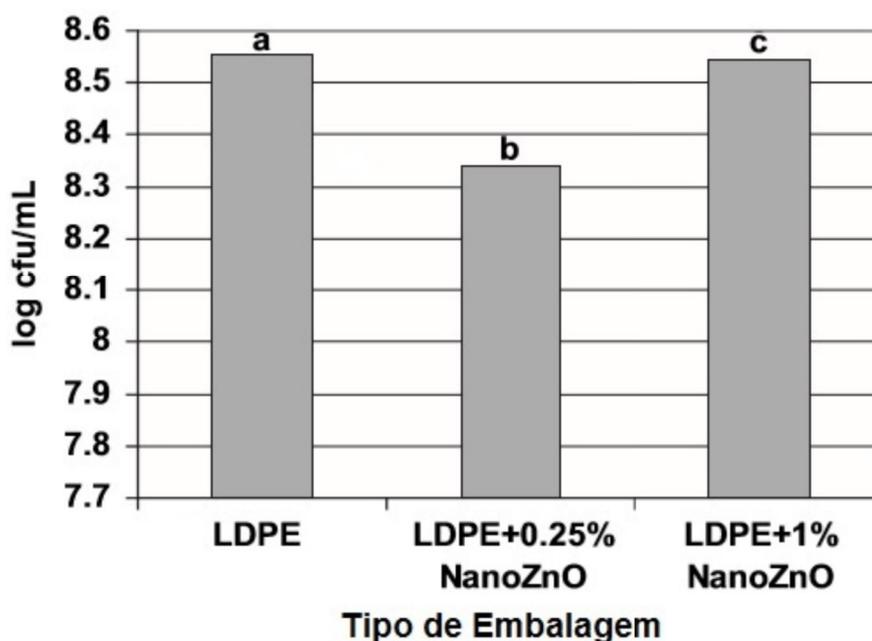
Diversos óxidos metálicos em nanoescala têm sido estudados devido às suas propriedades antimicrobianas, dentre eles compostos de titânio, prata e zinco (EMAMIFAR, 2011).

O dióxido de titânio (TiO₂) é atóxico e aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) americana para uso em alimentos humanos, medicamentos, cosméticos e materiais de contato com alimentos. Existe um interesse considerável na propriedade de auto desinfecção do TiO₂ para satisfazer requisitos de concepção higiênica nas superfícies de processamento de alimentos e embalagens. Foram relatados efeitos bactericidas e fungicidas do TiO₂ sobre *E. coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Diaporthe actinidiae* e *Penicillium expansum* (EMAMIFAR, 2011).

As nanopartículas de prata (AgNP) foram encontradas como potentes agentes contra numerosas espécies de bactérias, com tendência de maior efeito microbicida por alguns tipos de patógenos. Além das diferenças na susceptibilidade entre espécies bacterianas, a toxicidade das AgNPs aumenta significativamente à medida que o diâmetro das nanopartículas diminui, devido ao fato de as nanopartículas menores terem áreas de superfície relativa maiores para a liberação de Ag^+ , têm maiores eficiências de ligação às proteínas e passam por via nas membranas bacterianas com mais facilidade (DUNCAN, 2011).

EMAMIFAR e colaboradores (2011) estudaram filmes de nanocompósitos PEBD contendo nanopartículas de Ag e ZnO pelo método do estado fundido em extrusora dupla rosca. Os resultados mostraram uma redução considerável na taxa de crescimento microbiano de *L. plantarum* a partir da utilização dos nanocompósitos como embalagens de suco de laranja. Ao aumentar à concentração de nano-ZnO para 1%, a atividade antimicrobiana da película diminuiu (Figura 6), devido à aglomeração de nanopartículas durante o processamento do filme.

Figura 6 - Efeito do tipo de embalagem na contagem total de *L. plantarum*



3.2.2.1. Óxido de zinco como antimicrobiano

O óxido de zinco é um pó fino, amorfo, de coloração branca e com densidade igual a $5,6\text{g/cm}^3$, está na classe dos óxidos condutores transparentes (TCO) por ser bem transparente à luz visível e eletricamente condutor (JANOTTI *et al.*, 2009). Na natureza, o ZnO é principalmente extraído da zincita, mineral avermelhado com aproximadamente 92% de ZnO.

O óxido de zinco nanoestruturado apresenta diversas propriedades diferenciadas que explicam as diferentes utilizações na indústria. Partículas com tamanho nanométrico são empregadas há muitos anos na indústria cosmética, por serem amplamente utilizadas como agentes atenuantes da radiação UV (DJURISIC, 2010). Além de agente anti-UV, o ZnO também pode atuar como fotocatalisador (SEONGPIL, 2014; JUAN, 2011) e agente antimicrobiano (ZOHDY *et al.*, 2002; SAWAI, 2003; JIN *et al.*, 2009).

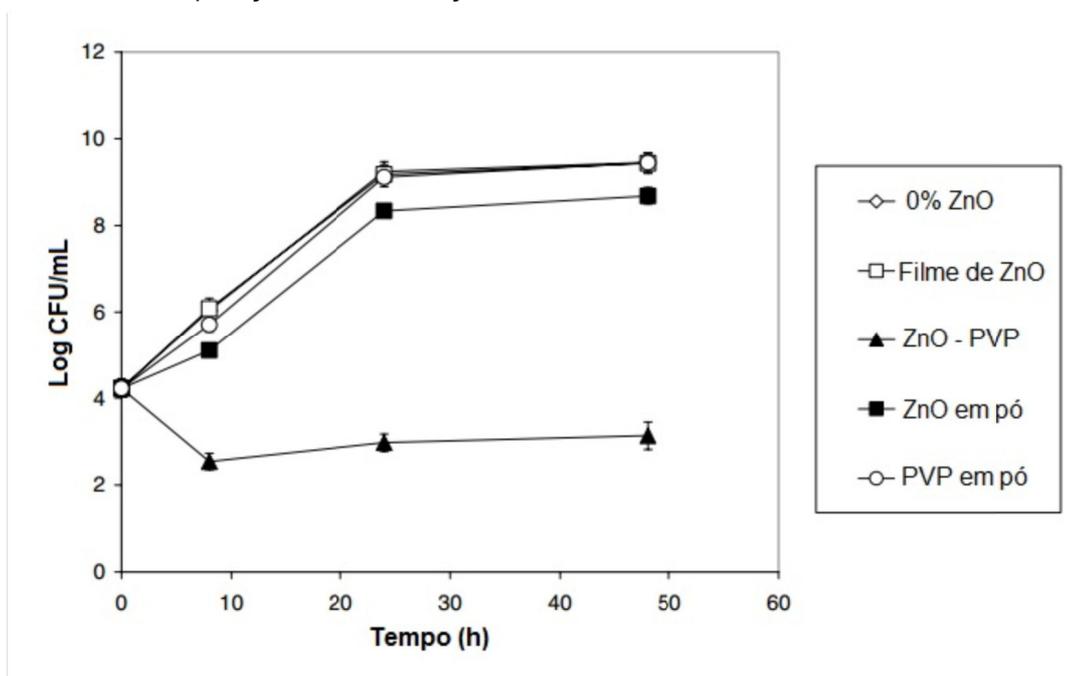
Há diversas formulações antimicrobianas à base de óxido de zinco (ZnO), comprovando sua eficácia bactericida em patógenos como: *Bacillus subtilis* e *Aspergillus niger* (ZOHDY *et al.*, 2002), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* (JIN, 2009), *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus* (ANAL, 2014).

O tamanho da partícula e a concentração de ZnO possuem influência sobre o comportamento antibacteriano. ZHANG e colaboradores verificaram em 2007 o efeito bactericida sobre a *E. coli* por ZnO. Os resultados mostram que a atividade antibacteriana aumenta com o aumento da concentração de nanopartículas e aumenta com a diminuição do tamanho de partícula.

Além do efeito da concentração, as eficiências de inibição de ZnO também foram relacionadas com o tipo de aplicação (Figura 7). JIN e colaboradores (2009) verificaram a eficiência antimicrobiana de nanopartículas de ZnO ligados numa película de poliestireno (ZnO-PS) ou suspensos num gel de polivinilprolidona (ZnO-PVP) contra *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* e *Escherichia coli*. O ZnO em pó e ZnO-PVP mostraram atividades antimicrobianas significativas contra todos os 3 patógenos em meio de crescimento, mas o revestimento de ZnO-PVP teve menos efeito inibitório do que a adição direta de ZnO.

Em relação ao efeito microbicida, os nanocompósitos de ZnO exibem atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*), progressivamente melhorada com o aumento da concentração de ZnO (PASCUAL E VICENTE, 2014). Contudo, o efeito bactericida é mais acentuado em bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas. PREMANATHAN e colaboradores (2011) verificaram a atividade antibacteriana do ZnO através de testes contra as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, bem como a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Como resultados dos testes microbiológicos, o efeito bactericida foi mais acentuado com as bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas.

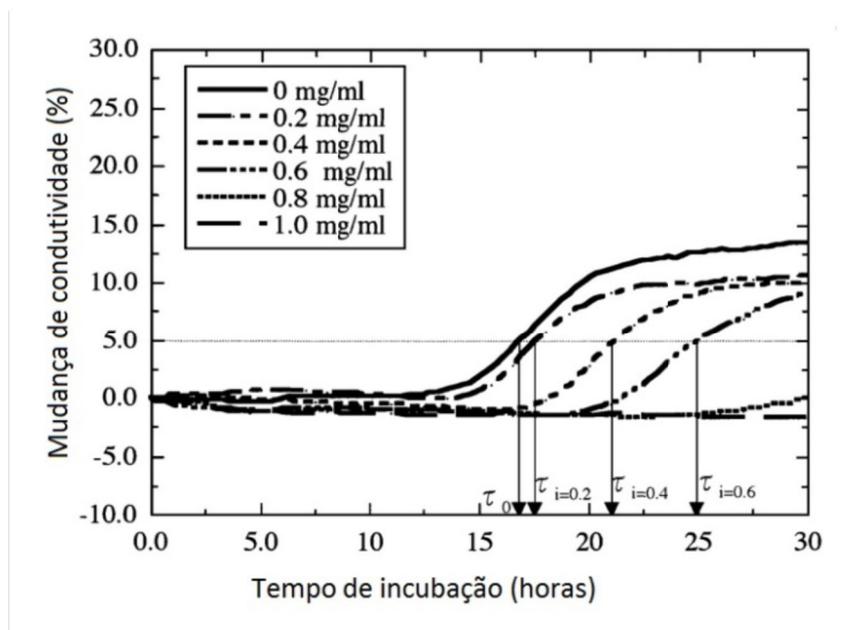
Figura 7 - Efeito da aplicação de ZnO na ação microbicida.



Fonte: JIN, T., *et al* (2009).

Em 2003, SAWAI verificou que o ZnO apresentou alta atividade bactericida para *Escherichia coli*, mas foi mais eficaz como bactericida para *Staphylococcus aureus*, sugerindo uma forte afinidade para as células de *S. aureus*. As atividades antibacterianas foram quantitativamente avaliadas pela medição da alteração da condutividade elétrica do meio de crescimento causada pelo metabolismo bacteriano (Figura 8).

Figura 8 - Efeito do aumento da concentração de ZnO na mudança de condutividade referente a *Staphylococcus aureus*



Fonte: SAWAI, J. (2003)

A tendência de maior efeito bactericida do ZnO em bactérias gram-positivas pode ser explicada pelo mecanismo de ação do ZnO como antimicrobiano. O mecanismo de ação antibacteriana de nanopartículas de ZnO em embalagens ocorre na umidade através da produção de espécies reativas de oxigênio, como radicais hidroxila, superóxidos e H_2O_2 . Uma vez que, os radicais hidroxila e superóxidos são partículas carregadas negativamente, eles não penetram na membrana celular, mas permanecem em contato direto com a superfície externa das bactérias, causando graves danos às proteínas, lipídios e DNA. No entanto, o H_2O_2 penetra na membrana celular e mata as bactérias (BAJPAI *et al.*, 2012).

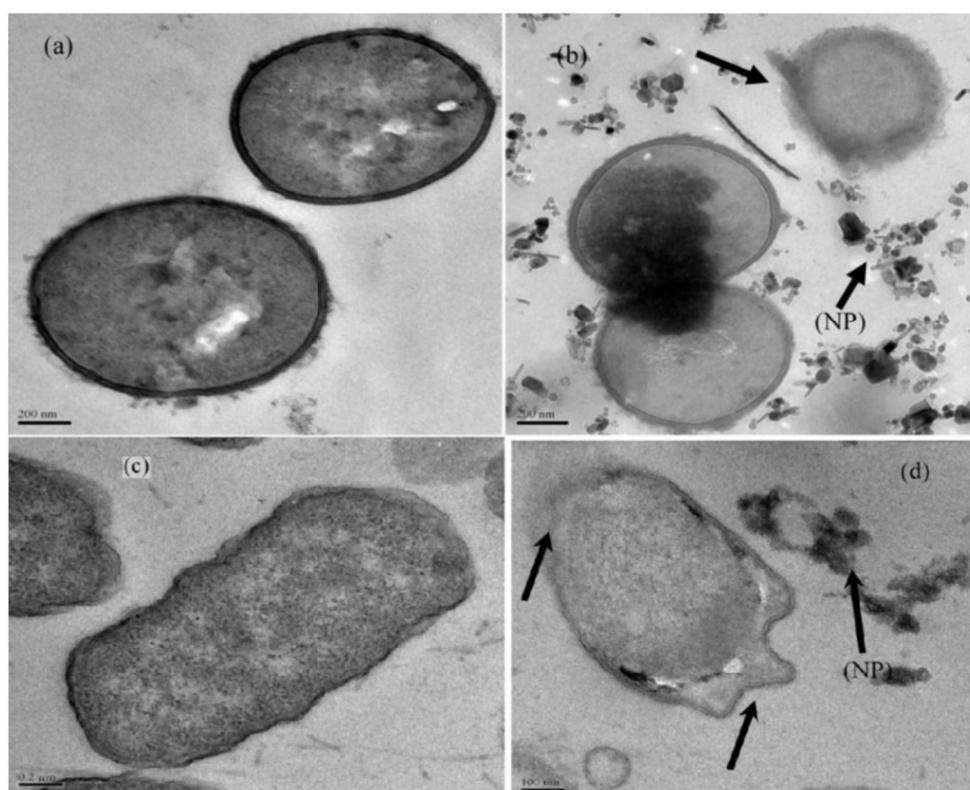
Bactérias Gram-negativas possuem menos sensibilidade a espécies reativas de oxigênio (ROS) quando comparadas com bactérias Gram-positivas. Uma das principais razões para esta maior resistência são as diferenças estruturais na membrana bacteriana. A parede celular das bactérias Gram-negativas é mais complexa que a membrana Gram-positiva devido à presença de uma membrana externa, que é composta principalmente por lipopolissacarídeo (RUSSEL, 2003).

O mecanismo de ação do ZnO através das membranas é sugerido em diversos trabalhos. Em 2014, ANAL e colaboradores verificaram a ação das nanopartículas de ZnO frente a dois patógenos proeminentes transmitidos por

carnes de aves, *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus* em películas de Alginato de cálcio. Os resultados de microscopia eletrônica (Figura 9) apresentaram as nanopartículas de ZnO intactas, bem como as células rompidas, mostrando que as nanopartículas de ZnO afetaram a integridade das membranas celulares.

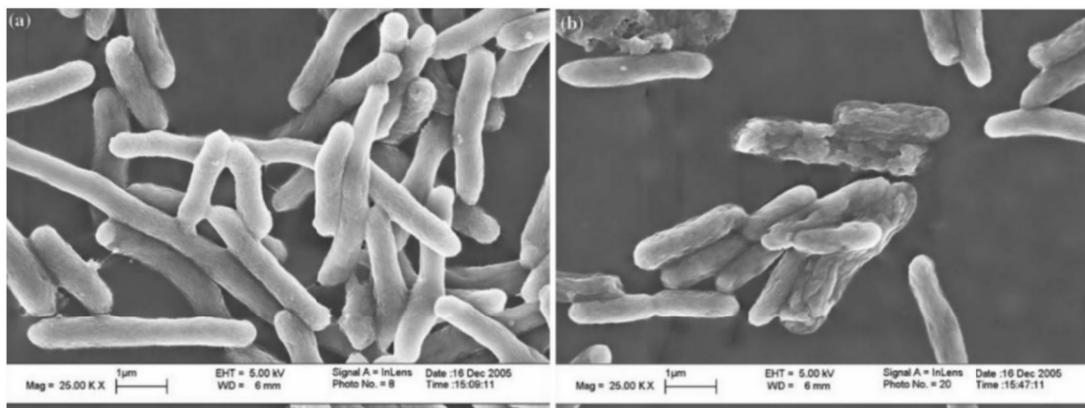
ZHANG e colaboradores também verificaram que a presença de nanopartículas de ZnO danifica a parede da membrana das bactérias (Figura 10). As medições eletroquímicas sugerem alguma interação direta entre as nanopartículas de ZnO e a membrana bacteriana em concentrações de ZnO elevadas, apresentando uma tendência de mecanismo com ação através das membranas bacterianas.

Figura 9 - Micrografia eletrônica de transmissão de (a) células normais de *S. aureus* não tratadas, (b) células de *S. aureus* deterioradas e rompidas tratadas com nanopartículas de ZnO, (c) células normais de *S. typhimurium* não tratadas e (d) células de *S. typhimurium*



Fonte: ZHANG, L. (2007).

Figura 10 - Análises de SEM da *E. coli*: a) Antes da adição de ZnO e b) Depois da adição de ZnO



Fonte: ZHANG, L. (2007).

Na indústria de embalagens, LI e colaboradores investigaram em 2011 a atividade antibacteriana de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) revestidas em filmes de poli (cloreto de vinila) (PVC) contra *Escherichia Coli*, tanto in vitro como no ensaio real. Os resultados mostraram que os filmes revestidos com nano-ZnO exibiram eficiência de inibição no crescimento de *E. coli*, proporcional à concentração de ZnO no meio. Os ensaios reais (Tabela 1) indicaram uma boa promessa de reduzir os riscos de crescimento microbiano em produtos frescos cortados em embalagens contendo ZnO.

Tabela 1- Contagem de células de *E. coli* em diferentes embalagens de PVC contendo maçãs Fuji cortadas por 48h.

Embalagem	Condição da Cultura	Número de células iniciais (log CFU/mL)	Número de células depois de 24h (log CFU/mL)	Número de células depois de 48h (log CFU/mL)
PVC	Na luz	8,72	11,30	13,58
PVC - ZnO	Na luz	8,72	5,01	3,59
PVC - ZnO	No escuro	8,72	6,30	7,24

Fonte: LI, W., *et al.* (2011)

Além de atividades antibacterianas, a ação de ZnO para patógenos fúngicos também tem sido testada. De acordo com HE *et al.* (2011), as nanopartículas de

ZnO mostraram atividade antifúngica significativa contra *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* em concentrações maiores que 3 mmol. L⁻¹.

Para melhorar a estabilidade da dispersão de nanopartículas em matrizes poliméricas, é possível modificar a superfície das partículas envolvendo modificadores orgânicos e mitigar a forte repulsão entre as nanopartículas e matriz. A superfície das nanopartículas pode ser modificada através de reações com alcóxidos metálicos, epóxidos, como óxido de propileno, e isocianatos de alquila ou arila (LIN, 2006)

Tang e colaboradores (2006) modificaram a superfície das nanopartículas ZnO através do enxerto ou ancoramento de cadeias de ácido polimetacrílico nas superfícies das partículas para criar uma melhor dispersão em um sistema aquoso. Os grupos -OH na superfície de uma nanopartícula ZnO interagem com grupos carboxila no PMMA para formar um complexo de poli (metacrilato de zinco) na superfície, melhorando a interação da carga com o meio.

Em 2012, KIM e colaboradores produziram filmes de nanocompósitos de acrilato de poliuretano (PUA) com diferentes conteúdos de ZnO através de um sistema de cura por ultravioleta. Para garantir uma boa dispersão na matriz PUA, as nanopartículas ZnO foram modificadas com um agente de acoplamento de silano. As análises mostraram que as nanopartículas ZnO modificadas em superfície foram dispersas homoganeamente na matriz PUA e a ordenação molecular aumentou com o aumento do teor de ZnO, melhorando as propriedades físicas do material.

Devido às suas propriedades antibacterianas, as nanopartículas de ZnO modificadas encontram aplicações em embalagens de alimentos, materiais autolimpeza e membranas de purificação de água. GALINDO e colaboradores (2010) modificaram a superfície das nanopartículas de ZnO usando 3-aminopropiltrimetoxisilano para usar nanopartículas de ZnO em dispositivos médicos, obtendo efeitos antimicrobianos significativos.

3.3. Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos

O resultado promissor de agentes microbicidas estimula as pesquisas em novas matrizes poliméricas de embalagens, com o estudo de eficiência antimicrobiana através de testes de susceptibilidade antimicrobiana. Tais testes são categorizados em métodos de diluição que geram resultados quantitativos e métodos de difusão de disco que geram resultados qualitativos por diâmetro de zona. Os métodos de referência genéricos são aqueles em que os reagentes para teste podem ser obtidos de múltiplas fontes e preparados em laboratório sem a necessidade de processos de fabricação sofisticados. Os métodos de referência do Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório (CLSI) são a macro e micro diluição do caldo, a diluição em ágar e a difusão do disco (PATEL *et al.*, 2011)

O método de diluição do caldo consiste em preparar concentrações múltiplas dos agentes antimicrobianos em tubos de caldo e depois inoculá-los com os organismos a serem testados. A inibição resultante do crescimento bacteriano pode estar claramente relacionada com a concentração de agente antimicrobiano. A menor concentração que resulta na inibição do crescimento é referida como a concentração inibitória mínima (M.I.C.) (KEULEN *et al.*, 2007).

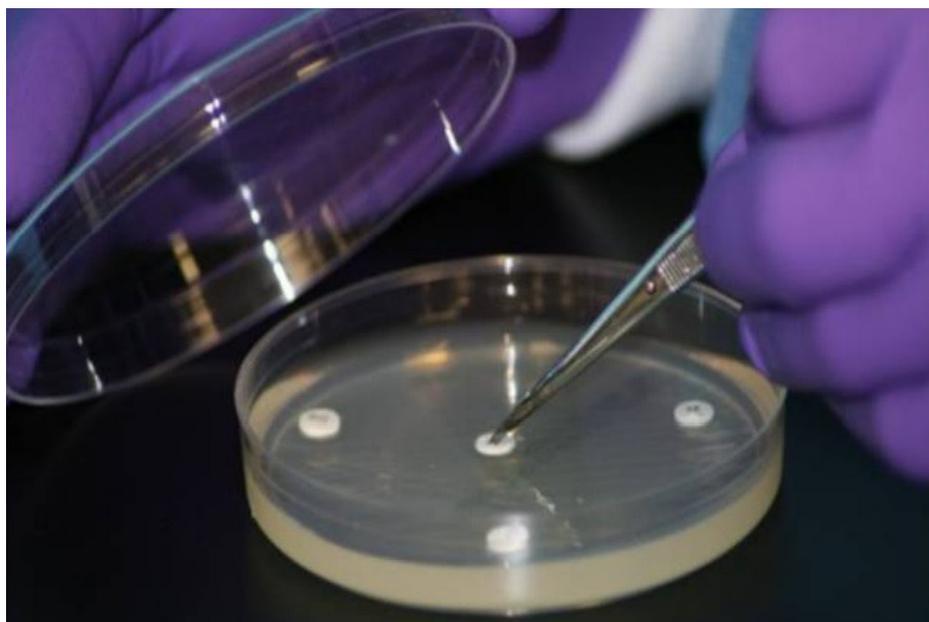
Os métodos de diluição de ágar são semelhantes ao de diluição de caldo, exceto que as diluições são feitas em ágar e as bactérias a serem testadas são inoculadas na superfície de múltiplas placas de ágar contendo concentrações variáveis dos agentes antimicrobianos. Os resultados de crescimento ou inibição bacteriana estão relacionados à concentração dos agentes antimicrobianos e relatados em termos de M.I.C (PATEL *et al.*, 2011).

Embora os dois primeiros métodos forneçam uma excelente correlação com a resposta clínica, eles foram adotados apenas por laboratórios clínicos em uma extensão limitada devido à sua complexidade e exigência de grandes quantidades de tempo técnico para conclusão. Os métodos de difusão de disco (Kirby-Bauer), por outro lado, sempre tiveram grande popularidade em laboratórios de microbiologia clínica ocupados por causa de sua relativa simplicidade e habilidade para testar facilmente vários agentes antimicrobianos em cada isolado bacteriano (BIEMER, 1973).

O método Kirby-Bauer de disco por difusão encontra-se entre os primeiros e mais amplamente aceitos, padronizados pelo US Food and Drug Administration (FDA) e a Organização Mundial de Saúde (OMS). O procedimento foi adotado como um consenso Padrão pelo Instituto de Padrões Clínicos e de Laboratório (CLSI - anteriormente NCCLS) e é periodicamente atualizado (ERICSSON, 1971; CLSI - M2-A10).

O procedimento consiste no preparo de uma suspensão de bactérias de cultivo recente, inoculação desta suspensão na superfície de uma placa de Agar Mueller Hinton, e adição dos discos de papel impregnados com antimicrobianos, como mostra a Figura 11. Após a incubação em estufa, é analisado o padrão de crescimento ou inibição ao redor de cada disco, sendo então medido o tamanho de cada halo e o resultado pesquisado em tabelas apropriadas segundo a espécie bacteriana em análise (CLSI M100-S23, 2013).

Figura 11 - Colocação de discos antimicrobianos, parte do protocolo de teste de susceptibilidade a difusão de disco de Kirby-Bauer



Fonte: HUDZICKI, J. (2016).

A produção de nanomateriais é uma forma de modificação de polímeros bastante promissora, principalmente com a possibilidade do uso de um tipo de nanopartícula para se obter propriedades antimicrobianas. O sistema híbrido de etileno co-acetato de vinila não possui literatura conhecida, tornando inédito o estudo de propriedades e ação antimicrobiana do material produzido por fusão.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MATERIAIS

Para realização deste trabalho foram utilizados os materiais descritos a seguir:

- Poli (etileno-co-acetato de vinila) (EVA) foi Elaborado pela Polietileno União (Brasil), EVA UE-1825 com teor de acetato de vinila de 18% m/m;
- Óxido de zinco nanoparticulado (menor que 100nm) da Empresa Sigma Aldrich, com área superficial de 15-25 m²/g

EQUIPAMENTOS

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Extrusora de bancada monorroscas AX Plásticos – Modelo AX 1626;
- Ultrafreezer Liotop Modelo UFR30, Série 24312;
- Moinho de facas Solab Científica, Modelo SL30;
- Estufa a vácuo Marconi, Modelo MA 030/D;
- Analisador Termogravimétrico TGA Q500 V6.7/Build Instrument 203/Module TGA ;
- Calorímetro de varredura diferencial, Rigaku, modelo TAS 100 com acessório, USA Thermoflex TG 8110;
- Espectrômetro de RMN Maran Ultra 23, Oxford, UK;
- Analisador termo-dinâmico-mecânico da marca Rheometric Scientific, modelo MK III;
- Difrator de raios X Rigaku Ultima 4, Japão;
- FTIR Perkin Elmer Spectrum Versão: 10.4.2 – Modelo: Frontier FT-IR/FIR, Reino Unido;

4.2. MÉTODOS

A primeira etapa da metodologia consiste no desenvolvimento dos nanocompósitos para embalagens antimicrobianas. A segunda etapa da metodologia consiste na caracterização por meio de RMN no estado sólido e correlação com as demais técnicas convencionais. As etapas da metodologia estão discriminadas a seguir:

1. Caracterização do EVA (matriz) e ZnO (carga),
2. Síntese e caracterização da carga modificada;
3. Determinação das condições de processamento para o polímero/carga, por fusão, com extrusora mono rosca;
4. Preparação dos filmes dos sistemas contendo carga pura (EVA/ZnO) e carga modificada (EVA/ZnOmod.);
5. Análise de dispersão do óxido, via fusão, por meio de DRX;
6. Caracterização do polímero puro, EVA/ZnO e EVA/ZnOmod
7. Realização do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos.

4.2.1. Modificação do óxido de zinco e caracterização

O procedimento foi iniciado pesando 0,8 g de ácido esteárico com 200ml de butanol, utilizando o sonicador durante 5 minutos, sob potência máxima. O óxido de zinco foi adicionado à solução de ácido esteárico e butanol, sendo colocado sob agitação magnética por 24 horas.

Posteriormente, a solução foi dividida em 5 tubos falcon e centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante do ácido foi retirado e foi adicionado acetato de etila para completar os tubos. Todos os tubos foram novamente sonificados por 20 minutos. O peso dos tubos foi equilibrado os tubos foram centrifugados nas mesmas condições, com repetição do processo por 3 vezes. O acetato de etila foi retirado dos tubos, que secaram por 24 horas.

O óxido foi transferido para um erlenmeyer com 100 mL de etanol, onde a solução foi adicionada a outra solução contendo 100 mL de etanol com 1,2g de octadecilamina previamente dissolvidos. O erlenmeyer foi mantido em agitação por 1 hora. A solução foi centrifugada nas condições anteriores e houve 5 lavagens com

acetato de etila, onde a solução do erlenmeyer foi retirada e dividida em dois tubos falcon novamente. Depois da última lavagem, o acetato de etila foi retirado e o ZnO secou no tubo falcon por no mínimo 24 horas.

Após a modificação do óxido de zinco, foram utilizados 3 métodos de caracterização: Análise termogravimétrica (TGA), Difração de raios-X (DRX) e Espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).

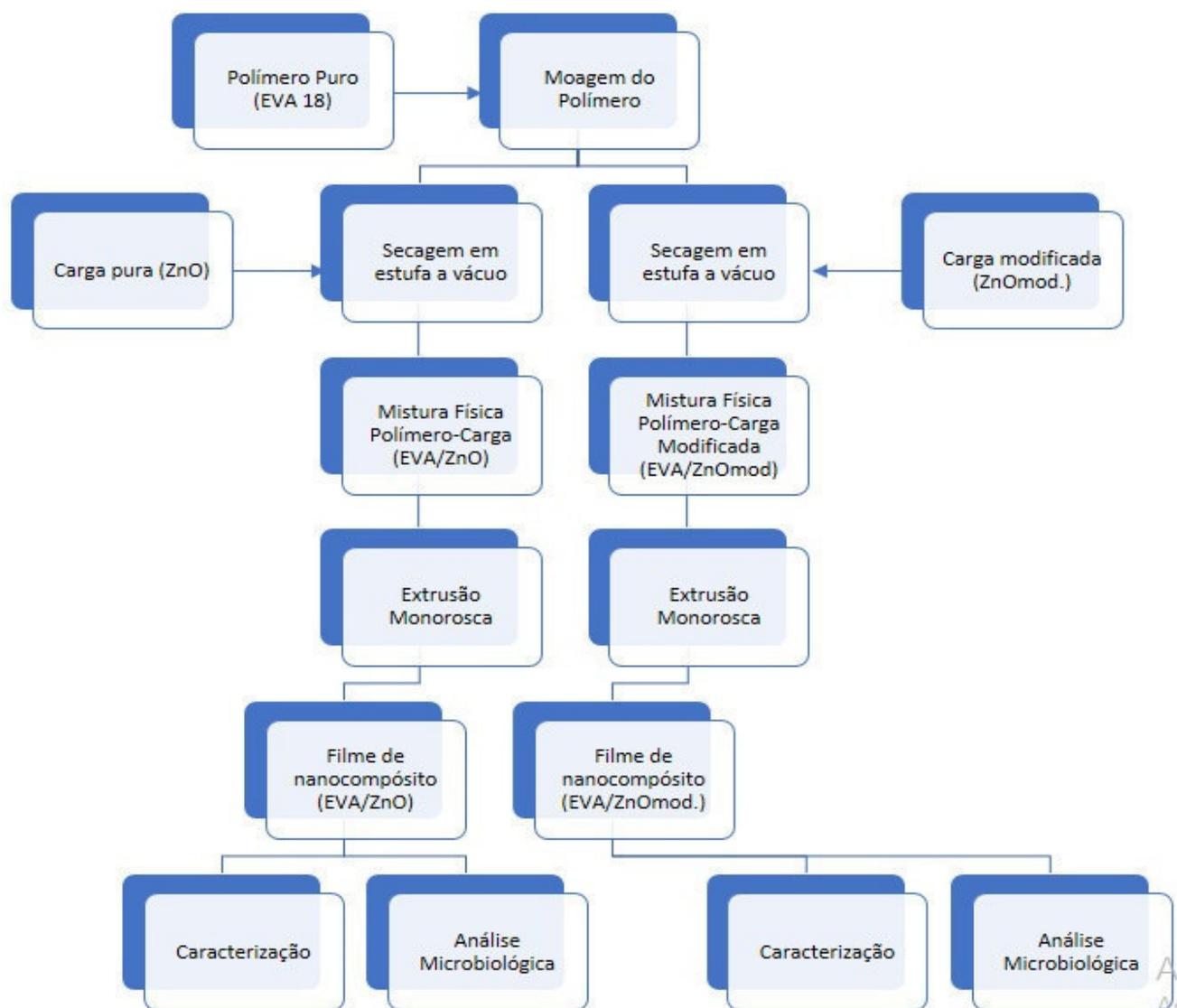
4.2.2. Preparação dos filmes

A matriz polimérica utilizada para formulação de embalagem antimicrobiana foi o copolímero etileno acetato de vinila com 18% de acetato (EVA 18), adquirido da empresa Polietilenos União S.A em forma de pellet. O óxido de Zinco nanométrico foi escolhido como agente antimicrobiano e foi adquirido da empresa Aldrich. Foram produzidos nanocompósitos de EVA 18 com 0,25% ZnO; 0,5% ZnO; 0,75% ZnO e 1% ZnO por estado Fundido, sendo denominados E18-0,25ZnO, E18-0,5ZnO, E18-0,75ZnO e E18-1ZnO, respectivamente.

O copolímero EVA18 foi congelado em Ultrafreezer a -90°C como preparação para moagem, a fim de evitar possível fusão do copolímero com o calor gerado pelo moinho.

Os pellets de EVA18 congelados foram moídos utilizando um moinho de facas. Esta etapa garante o aumento da superfície de contato do EVA com a diminuição do grânulo, facilitando a difusão homogênea do calor da extrusora ao longo da fusão e permitindo maior contato com a nanopartícula.

Figura 12 - Fluxograma de preparo e caracterizações dos nanocompósitos com ZnO puro e modificado na extrusora monorrosca.



Fonte: Elaborado pelo autor

Os grânulos de EVA18 obtidos secaram em estufa a 40°C por 24h para total retirada de umidade do material. Esta secagem foi importante para evitar bolhas durante a extrusão, gerando um material mais homogêneo durante o processamento.

Após a secagem, o material foi processado em uma extrusora de bancada monorrosca AX Plásticos Diâmetro 14mm, L/D: 22 com matriz para filmes planos. As condições da extrusão incluem as temperaturas de 140, 150 e 180°C nas zonas 1, 2 e 3, respectivamente, com torque a 38Nm e tempo de residência de 1 minuto. A

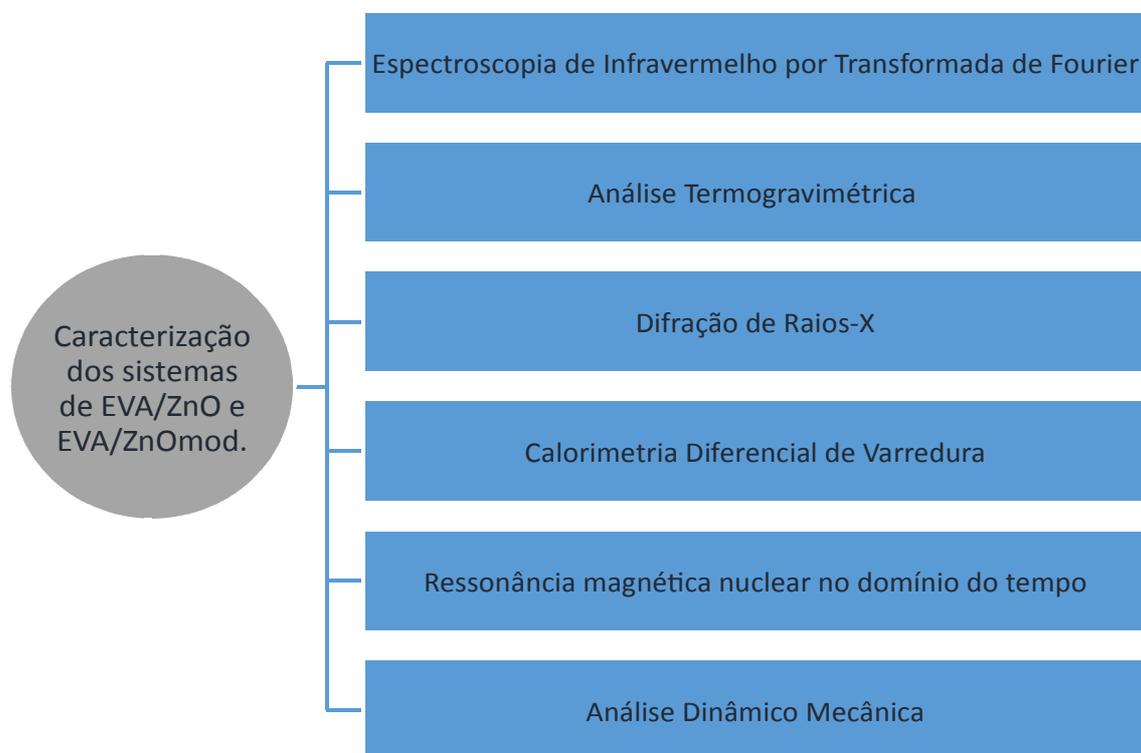
extrusora foi acoplada a um puxador de rolo modelo Haake Fisons com velocidade de 60 rpm.

A velocidade da rosca foi modificada ao longo da variação da quantidade de óxido de zinco nos nanocompósitos. O aumento da quantidade de óxido aumentou a viscosidade do material, aumentando sua resistência ao escoamento. Com isso, o rpm da rosca foi aumentado durante a extrusão. Foram utilizados 60, 70, 80, 90 e 90rpm para os filmes contendo 0; 0,25; 0,5; 0,75 e 1% de ZnO, respectivamente. A amostra foi resfriada e solidificada no rolo adquirindo a forma de filme.

4.2.3. Caracterização da carga modificada e dos sistemas EVA/ZnO e EVA/ZnOmod.

A Figura 13 apresenta as técnicas de caracterização utilizadas nos materiais.

Figura 13 - Caracterizações realizadas nos filmes produzidos



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram efetuadas em 25°C, na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , a partir do equipamento Perkin Elmer Spectrum versão: 10.4.2 do modelo Frontier FTIR/FIR, utilizando ATR para o EVA 18 e seus nanocompósitos obtidos. A análise de FTIR dos nanocompósitos teve como objetivos verificar a eficiência de modificação do óxido de zinco e investigar uma possível degradação durante o processamento do EVA 18 e seus nanocompósitos.

- Análise Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica indica a porcentagem de perda de massa em função da temperatura e/ou do tempo. As análises do polímero puro, da carga pura, da carga modificada e dos nanocompósitos foram realizadas em atmosfera inerte de nitrogênio, com uma taxa de aquecimento constante de 5°C/min. A faixa de aquecimento foi de 30 a 700°C. Esta caracterização também foi utilizada para verificar cada nanocompósito, onde 3 amostras de diferentes partes do rolo de filme produzido foram analisadas para investigar a influência da extrusão e a estabilidade térmica dos materiais produzidos.

- Difração de Raios-X

As análises de raios X foram realizadas com intuito principal de verificar a forma, a intensidade dos picos, para os materiais produzidos, avaliando-se assim, a influência da dispersão das nanopartículas na morfologia do polímero. Bem como possíveis picos da nanopartículas. Para tanto, as amostras foram analisadas com a emissão de radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), na temperatura ambiente e em 40KV e 30 mA. Os padrões de difração foram coletados numa taxa de varredura de $2^\circ < 2\theta < 60^\circ$, por 1 segundo, passo de $0,05^\circ$. Esta caracterização também foi utilizada para verificar cada nanocompósito, onde 3 amostras de diferentes partes do rolo de filme produzido foram analisadas para investigar a eficiência da extrusão. As deconvoluções dos difratogramas foram realizadas utilizando o programa Fytk.

- Calorimetria Diferencial de Varredura

As características térmicas do EVA como: Transição Vítrea (T_g), Temperatura de Cristalização (T_c), Temperatura de Fusão (T_m) e a influência da adição de ZnO nestes parâmetros foram determinados com base na Calorimetria Diferencial de Varredura das amostras de EVA extrusado e os nanocompósitos de EVA. As medidas foram realizadas utilizando um equipamento Instruments Q.1000 sob o fluxo de N_2 de 50 ml/min, com a taxa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, na faixa de -50°C a 150°C para o EVA 18 e seus nanocompósitos. Esta caracterização também foi utilizada para verificar cada nanocompósito, onde 3 amostras de diferentes partes do rolo de filme produzido foram analisadas para investigar a eficiência da extrusão.

- Ressonância magnética nuclear no domínio do tempo

Esta espectroscopia permite entender em nível molecular, o comportamento dinâmico de compósitos e os nanomateriais em geral. Pelo emprego da RMN estes materiais podem ser analisados por núcleos referentes à matriz polimérica e o efeito da adição da nanopartícula a esta matriz. As medidas foram realizadas usando um espectrômetro de ressonância Instruments Maran Ultra 23, operando a 23,4 MHz (para prótons) e equipado com uma sonda de temperatura variável de 18 milímetros.

- Análise Dinâmico Mecânica

A análise dinâmico-mecânica (DMA) foi efetuada com os objetivos de relacionar as propriedades macroscópicas, tais como as propriedades mecânicas, às relaxações moleculares associadas a mudanças conformacionais e a deformações microscópicas geradas a partir de rearranjos moleculares. A análise termodinâmico-mecânica foi realizada no analisador DMA da marca Rheometric Scientific, modelo MK III, nas seguintes condições: modo de deformação, flexão; frequência, 1 Hz; velocidade de aquecimento, $2^\circ\text{C}/\text{min}$; e faixa de temperatura, -50 a 150°C .

4.2.4. Técnica de Disco Difusão

A análise microbiológica tem como objetivo verificar a atividade antimicrobiana dos filmes produzidos, através do Teste de Sensibilidade ao Antimicrobiano. Como preparação para a análise, foram selecionados os nanocompósitos que apresentaram melhores resultados em relação à estabilidade térmica, mecânica e maior transparência em cada tipo de carga. Portanto, foram utilizados os filmes de EVA/ZnO 0,25%, EVA/ZnO 0,5%, EVA/ZnOmod. 0,25% e EVA/ZnOmod. 0,5% e o filme de EVA 18 sem carga foi utilizado como ensaio em branco.

Para analisar a atividade antimicrobiana dos filmes, foram cortados discos de 0,6cm de diâmetro de partes aleatórias dos filmes e colocados em dois meios de cultura inoculados diferentes: um contendo *S. aureus* ATCC 12600 e *E. coli* de origem desconhecida, ambos cedidos pelo Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ). O método foi padronizado para os dois tipos de cepas, de acordo com o teste de disco-difusão em ágar, descrito em 1966 por Bauer e Kirby, onde as placas foram incubadas a 36°C por 24 horas e os ensaios foram realizados em duplicata e com réplica biológica. A execução dos testes ocorreu de acordo com o padrão a seguir:

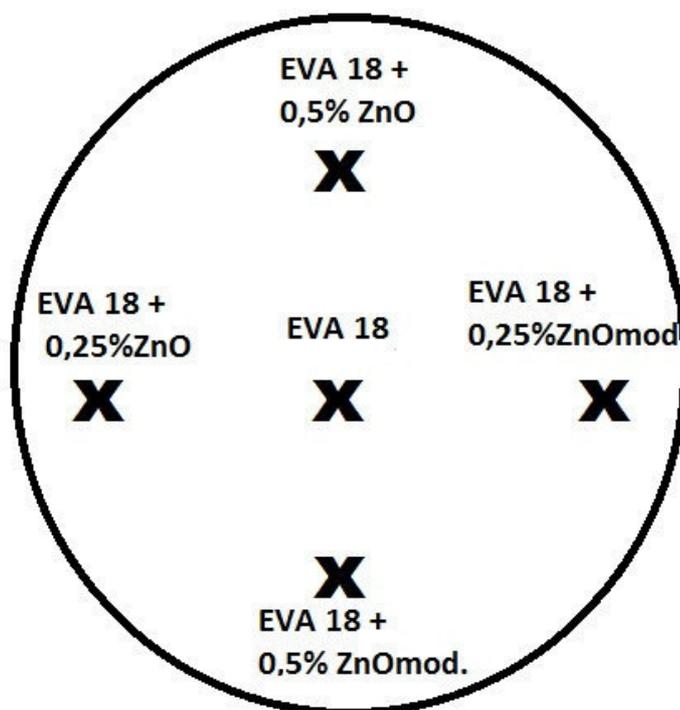
A colônia isolada típica desejada (*S. aureus* e *E. coli*) foi transferida para tryptic soy agar (TSA) por esgotamento, com uma alça bacteriológica em platina devidamente flambada e resfriada, onde a colônia foi incubada a 36°C por 24h. Os discos de 0,6cm de diâmetros dos nanocompósitos foram desinfetados em solução de Etanol 70% (m/v) por 15 minutos, seguidos de secagem ao ar em uma placa de petri estéril;

As colônias foram suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) até se obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala McFarland (1×10^6 UFC/mL) e foram inoculadas em ágar Mueller-Hinton (MH) através da técnica com swab em tapete, onde um swab estéril embebido na suspensão bacteriana foi semeado de forma suave em todas as direções na placa, procurando abranger toda a superfície como um tapete;

Os discos de EVA, EVA/ZnO e EVA/ZnOmod. em diferentes proporções foram depositados sobre a superfície do meio inoculado, exercendo uma leve

pressão com a ponta da pinça para uma boa adesão dos discos, como mostra a Figura 14:

Figura 14 - Representação da localização dos discos de EVA, EVA/ZnO e EVA/ZnOmod. em diferentes proporções, depositados sobre a superfície do meio inoculado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

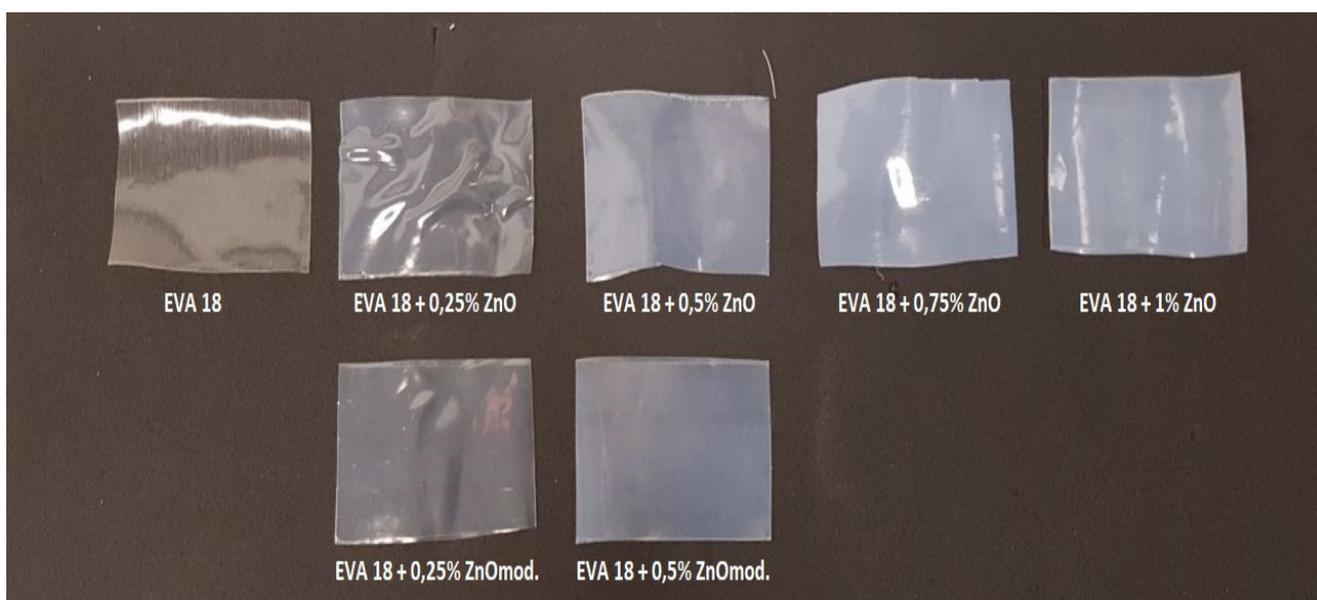
A placa foi incubada com os discos em estufa bacteriológica a 36°C por 24 horas. Os dados foram expressos como diâmetro dos halos de inibição, medidos com o auxílio de uma régua.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sistemas de EVA/ZnO foram obtidos nas proporções de 0,25%; 0,5%, 0,75% e 1% de ZnO e sistemas de EVA/ZnOmod. com 0,25% e 0,5% de carga modificada. Os filmes foram obtidos de forma contínua e apresentaram uniformidade e ausência de bolhas, imperfeições e falhas. A Figura 15 apresenta a fotografia dos filmes em fundo preto.

O aumento das proporções de óxido nos filmes ocasionou aumento da opacidade do filme, sendo provavelmente derivada da modificação na organização estrutural do polímero ou da variação de dispersão do óxido na matriz polimérica.

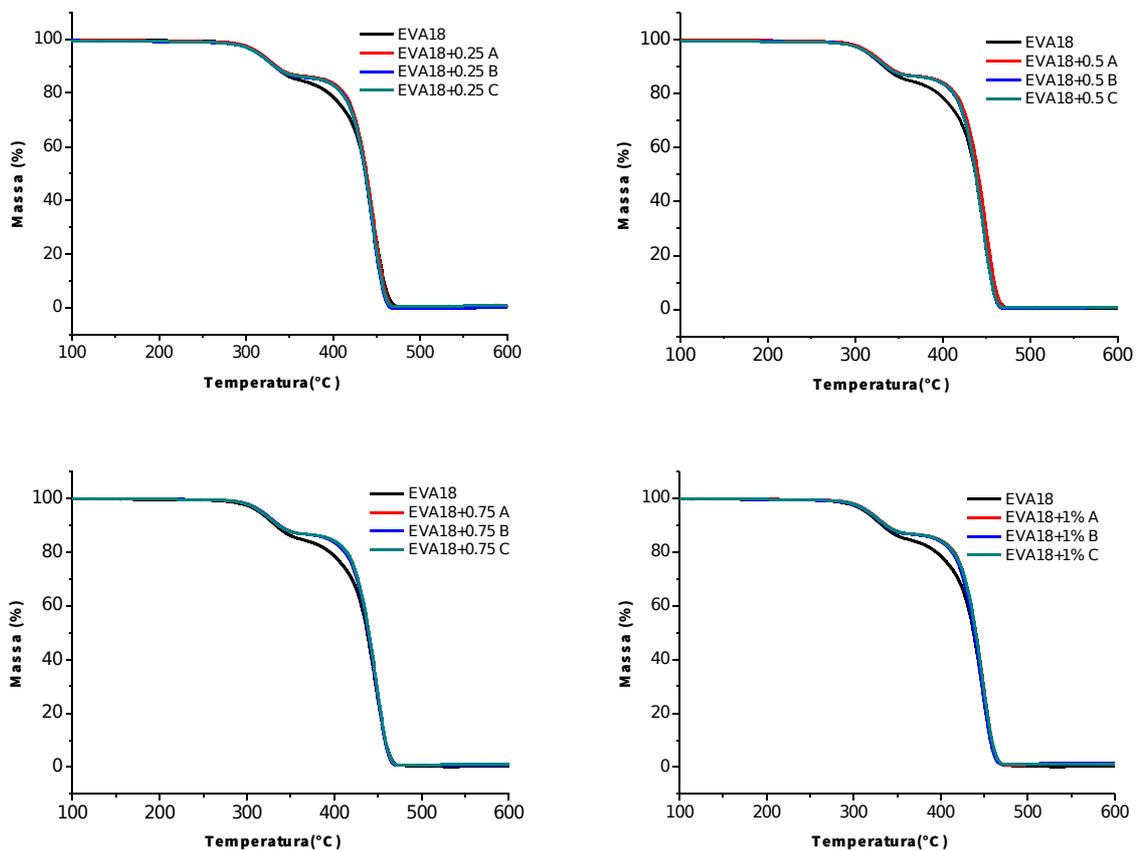
Figura 15 - Filmes de EVA/ZnO obtidos via fusão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

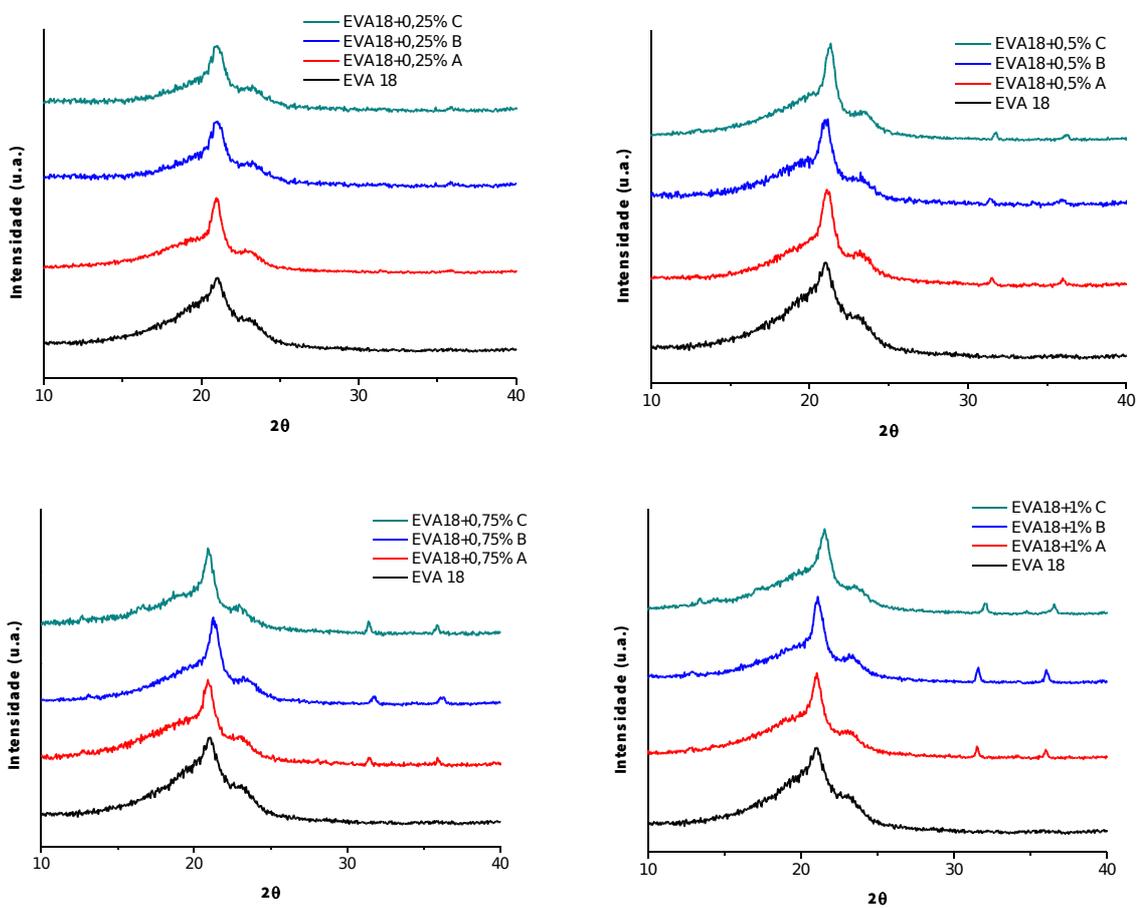
A eficiência do processamento dos filmes foi verificada através das análises por TGA, DSC e DRX, onde as amostras obtidas com a mesma porcentagem de ZnO no sistema foram analisadas em diferentes partes do filme. As diferentes amostras de cada rolo apresentaram o mesmo comportamento em todas as análises, caracterizando um bom processamento dos filmes, como mostram as Figuras 16, 17 e os parâmetros térmicos da tabela 2.

Figura 16 - Análise Termogravimétrica de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 17 - Difratograma de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 - Análise de DSC de diferentes partes do filme para cada proporção de ZnO, onde A = início do filme, B = meio do filme e C = final do filme.

Amostra	Tc (°C)	Tm 1° aqu. (°C)	Tm 3° aqu. (°C)
EVA18	72	46/86	86
EVA18+0,25%ZnO A	72	43/86	87
EVA18+0,25%ZnO B	72	44/86	87
EVA18+0,25%ZnO C	72	44/86	87
EVA18+0,5%ZnO A	73	43/86	87
EVA18+0,5%ZnO B	72	44/86	87
EVA18+0,5%ZnO C	72	44/86	87
EVA18+0,75%ZnO A	73	44/86	87
EVA18+0,75%ZnO B	73	44/86	87
EVA18+0,75%ZnO C	73	45/86	87
EVA18+1%ZnO A	73	44/86	87
EVA18+1%ZnO B	73	44/86	87
EVA18+1%ZnO C	73	45/86	87

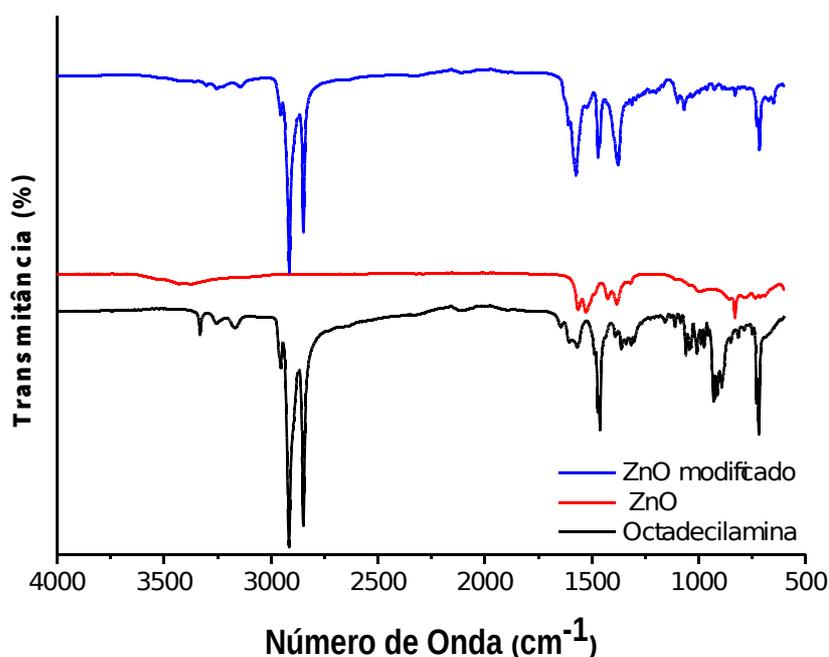
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

O óxido de zinco foi analisado por FTIR antes e depois da modificação, a fim de confirmar a modificação realizada no óxido (Figura 18). Para os espectros de IR de ZnO, pode encontrar-se uma série de picos de absorção, correspondendo às impurezas de carboxilato em materiais. Os picos observados a 1630 e 1384 cm^{-1} são devidos ao alongamento assimétrico e simétrico do carboxilato de zinco, respectivamente. O carboxilato provavelmente vem de espécies de plasma contendo carbono reativo durante a síntese (XIONG *et al.*, 2006).

A modificação foi confirmada através da presença dos picos da octadecilamina referentes à ligação $-\text{CH}_2$ com comprimento de onda 2918 , 2848 e 720 cm^{-1} e a banda 1466 cm^{-1} , referente ao estiramento da ligação C–N de amida (ZHANG; SONG, 2012).

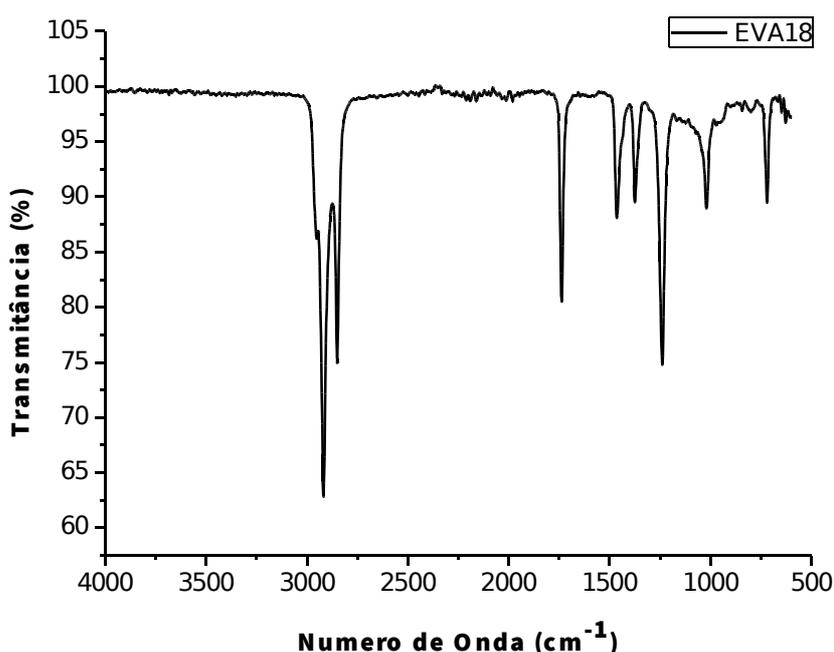
Figura 18 - Espectros de Infravermelho do óxido puro (ZnO), do modificador orgânico (octadecilamina) e da carga modificada (ZnO modificado)



Fonte: Elaborado pelo autor.

O EVA 18 foi caracterizado por FTIR, onde foram observadas as bandas características do copolímero etileno-co-acetato de vinila (Figura 19) de acordo com os dados da literatura, apresentados na Tabela 3.

Figura 19 - Espectros de Infravermelho dos sistemas copolímero etileno-co-acetato de vinila utilizado para preparação dos sistemas EVA/ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3 - Caracterização do EVA espectroscopia de infravermelho.

Bandas observadas	Atribuição (número de ondas)
$\nu_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 2917 e 2848	C-H alifático
$\nu_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 1744	C=O (carbonila éster)
$\nu_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 1458 e 1373	C-H alifático
$\delta_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 1240, 1129 e 1023	C-O-C
$\delta_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 978	C-O-C
$\delta_{\text{máx}}$ [cm^{-1}]: 715 e 598	C-H

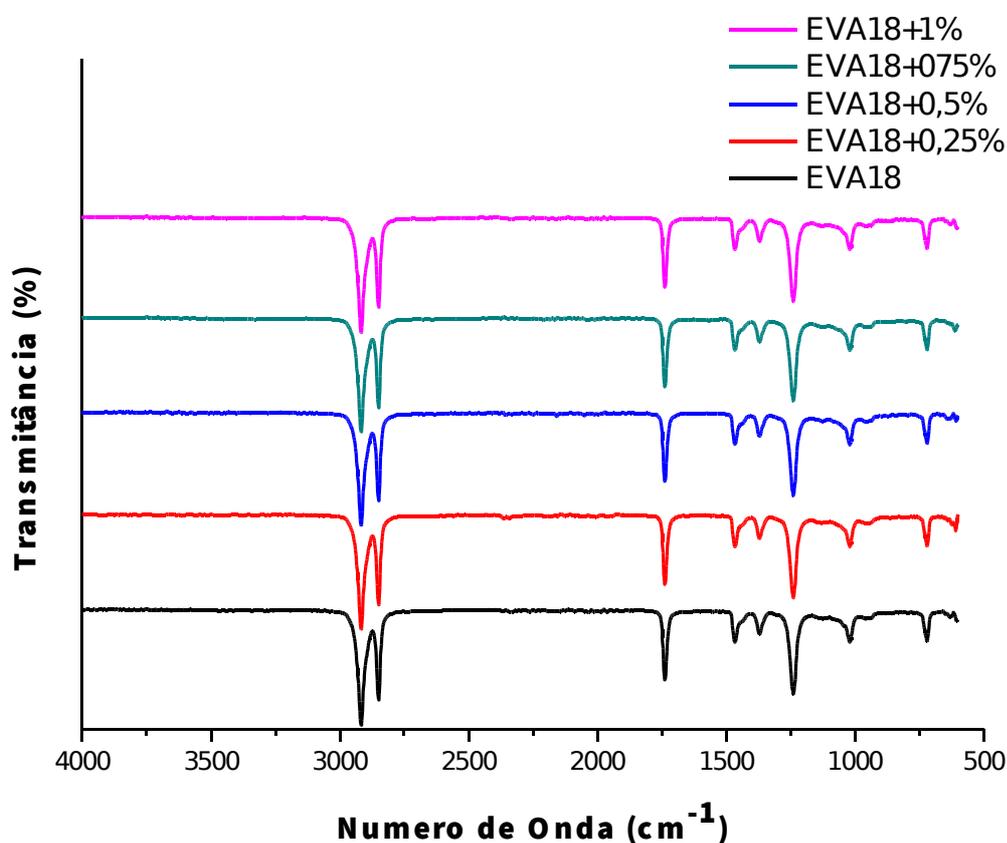
Fonte: SILVERSTEIN, et al., 2007

Em relação ao copolímero etileno-co-acetato de vinila puro, a análise de FTIR dos sistemas EVA/ZnO obtidos não apresentou alteração dos picos característicos

do copolímero de EVA com a adição de zinco (Figura 20), indicando possível interação física entre o óxido e o copolímero.

A técnica também permite verificar possíveis degradações da matriz polimérica ao longo do processamento, através da banda referente à carbonila. Como não há nova banda de carbonila referente à degradação, aumento de intensidade e nem deslocamento da banda carbonila referente ao acetato do EVA em 1744 cm^{-1} , a análise indica ausência de degradação do copolímero durante o processamento.

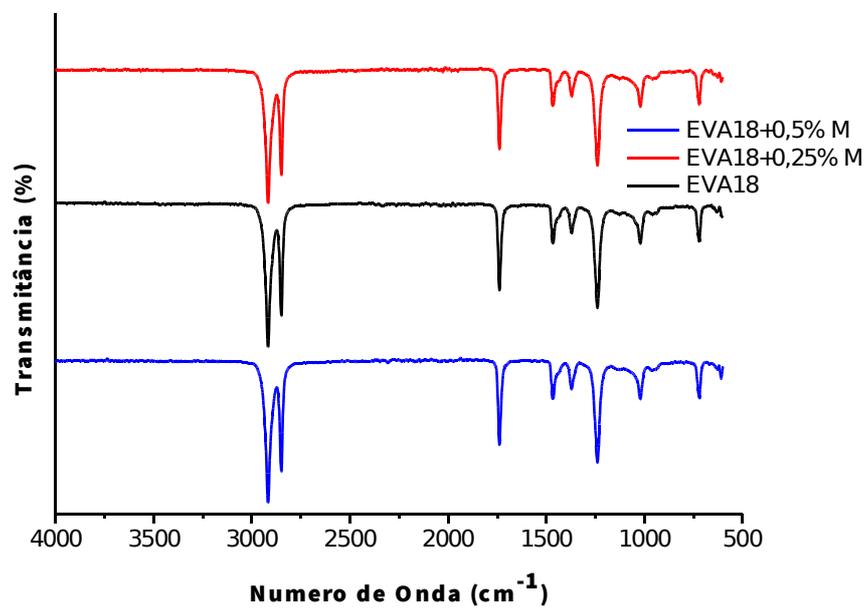
Figura 20 - Espectros de Infravermelho dos sistemas EVA/ZnO em diferentes proporções de óxido.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise dos sistemas contendo carga modificada (Figura 21) também não evidenciou mudança nas intensidades dos picos em relação ao EVA puro, indicando que a modificação da carga não influenciou na degradação com o processamento.

Figura 21 - Espectros de Infravermelho dos sistemas EVA/ZnOmod. em 0,25% e 0,5% de óxido modificado.

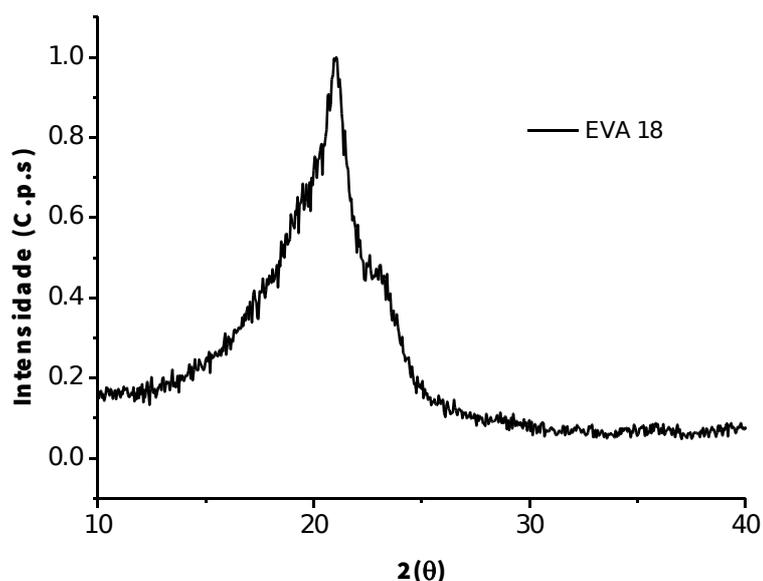


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A Figura 22 mostra que o EVA apresenta dois picos característicos centrados em 21° e 23° , correspondentes aos planos 110 e 200 da estrutura ortorrômbica dos cristais dessa matriz (SEFADI *et al.*, 2014). Os percentuais de acetato de vinila têm o efeito de controlar a cristalinidade, que é correspondente aos longos segmentos de etileno. Quanto maior a quantidade de acetato de vinila, menor a cristalinidade, resultando na diminuição da resistência mecânica do EVA (ZENETTI e COSTA, 2004). Assim, o pico alargado do EVA é devido ao teor de acetato de vinila de 18%, presente neste copolímero.

Figura 22 - Difratograma do copolímero de EVA contendo 18% de acetato em sua composição.



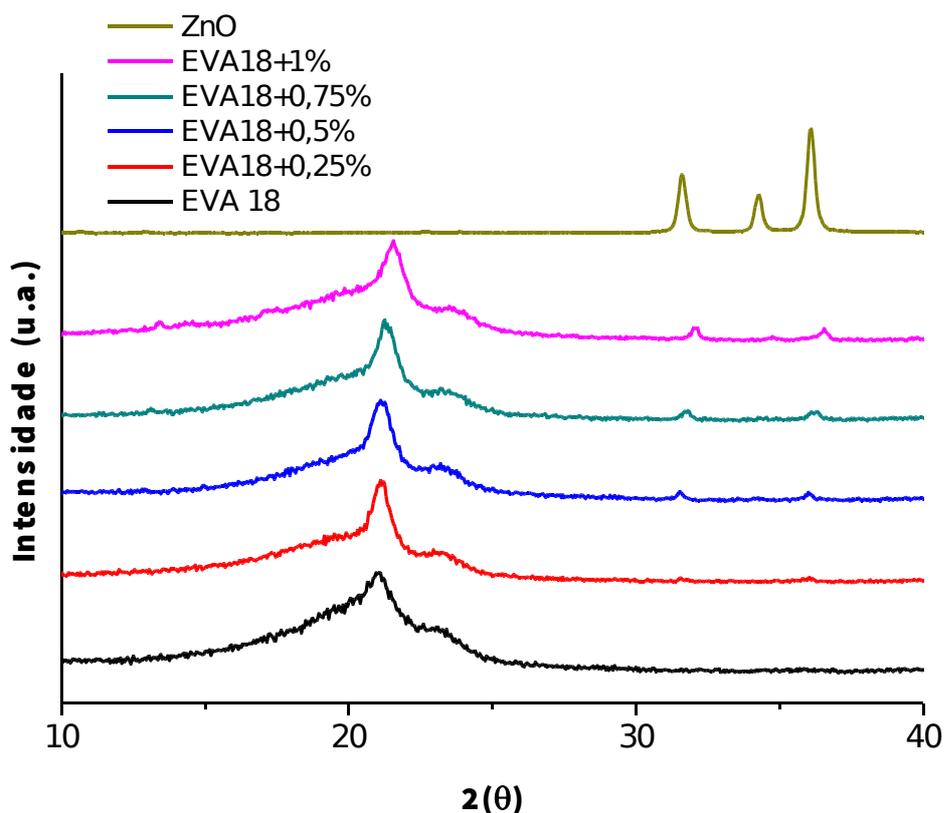
Fonte: Elaborado pelo autor.

A adição de óxido de zinco na matriz de EVA intensifica o pico cristalino dos sistemas EVA/ZnO, indicando que o óxido favorece a organização do sistema. Na fase amorfa é vista alteração significativa, o que pode indicar a predominância do óxido de zinco na porção amorfa, o que diminui a fração desorganizada.

A variação do teor de carga nos sistemas de EVA/ZnO evidenciou aumento de cristalização do copolímero, como mostra a Figura 23, indicando que houve maior organização estrutural do EVA com o aumento da adição de óxido. Além disso,

aumento de óxido para proporções acima de 0,5% apresentou diminuição desta organização, com o aparecimento de picos referentes ao óxido de zinco. No sistema contendo 1% de ZnO é possível verificar uma tendência de comportamento similar ao polímero puro, através do alargamento da base

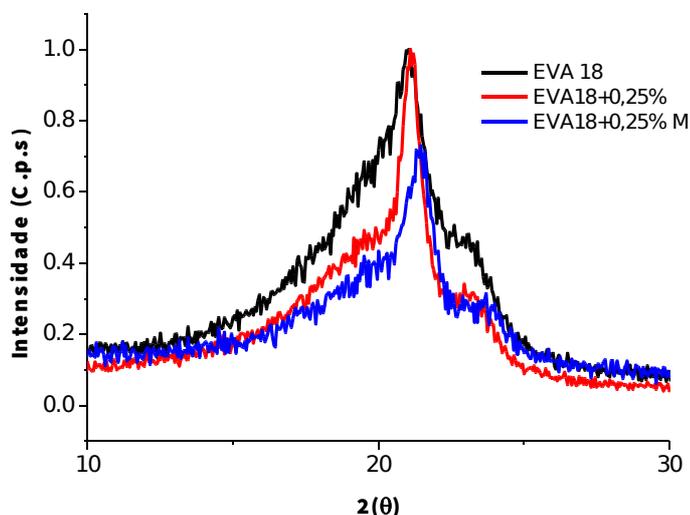
Figura 23 - Difratoograma correspondente aos diferentes sistemas de EVA/ZnO em diversas proporções de óxido de zinco



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao avaliar o modificador orgânico na dispersão de 0,25% de ZnO na matriz de EVA (Figura 24), é possível verificar o estreitamento da base, indicando a diminuição da área amorfa com a presença do modificador. Isso pode decorrer da melhor interação do zinco modificado com a matriz preferencialmente na área amorfa, limitando a movimentação das cadeias e aumentando a organização estrutural do polímero.

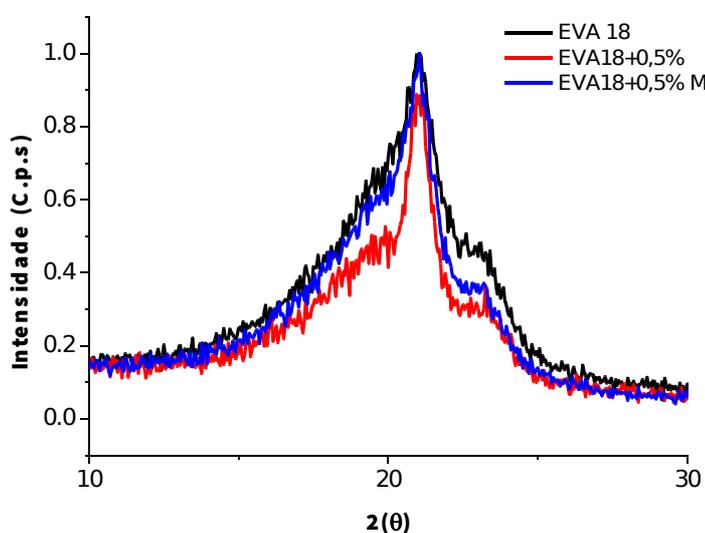
Figura 24 - Difratoograma correspondente aos sistemas de EVA/ZnO e EVA/ZnOmod contendo 0,25% de ZnO em comparação ao copolímero puro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

No sistema contendo 0,5% de óxido (Figura 25), a concentração de carga influenciou o sistema e houve uma inversão de comportamento, onde a presença do modificador diminuiu o estreitamento da base. A mudança de desempenho do sistema EVA/ZnO mod. 0,5% e a presença de picos de óxido no difratograma do sistema EVA/ZnO 0,5% podem indicar uma concentração limítrofe, onde há variação da dispersão do óxido da matriz.

Figura 25 – Difratoograma correspondente aos sistemas de EVA/ZnO e EVA/ZnOmod contendo 0,5% de ZnO em comparação ao copolímero puro.

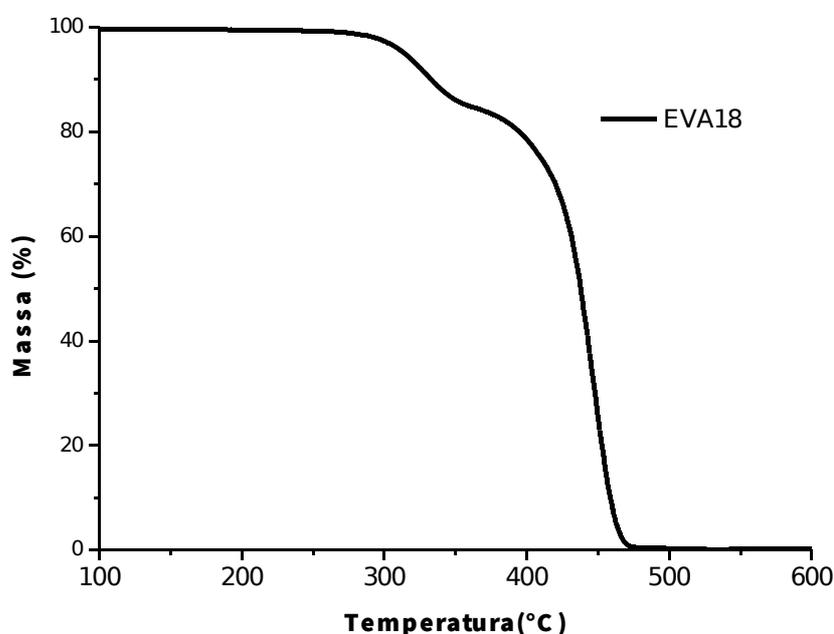


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

O EVA apresenta duas etapas de degradação térmica, como mostra os resultados na Figura 26. A primeira inicia em torno de 300 °C com um pico máximo em 328°C, e refere-se à perda do ácido acético. A segunda etapa de degradação inicia em torno de 420° com um pico máximo em 447°C, que se refere à degradação das cadeias olefínicas do copolímero (ligações C-C e C-H) (SEFADI; LUYT, 2012).

Figura 26 - Análise Termogravimétrica do EVA 18 puro



Fonte: Elaborado pelo autor.

O termograma obtido para a amostra de EVA, ainda em relação à Figura 26, foi analisado previamente a fim de que o valor referente ao percentual de acetato de vinila presente na amostra inicial fornecida pela Polietileno União, fosse verificado. Para tal determinação foi utilizada a Equação de ZATTERA, *et al.*, 2005:

$$\text{TAC} = \text{MAAcP} \times \text{MMAV} / \text{MMAAC}, \text{ onde:}$$

TAC = teor de acetato de vinila

MAAcP = massa do ácido acético perdido

MMAV = massa molar do acetato de vinila

MMAAC = massa molar do ácido acético

Segundo o termograma, a massa do ácido acético perdida é de 14,8%. Assim, o teor de acetato de vinila da amostra é $14,8 \times 86,09 / 60,05 = 21,2\%$. Considerando o erro da análise de TGA, a quantidade de acetato na amostra fornecida encontra-se próximo do valor teórico de acetato (18%).

Os parâmetros básicos da curva de TGA e DTG não foram alterados na presença de ZnO, como mostra a Tabela 4. Leves alterações nas temperaturas foram verificadas, mas encontram-se dentro da faixa de erro do equipamento, não configurando uma diferença estatisticamente significativa.

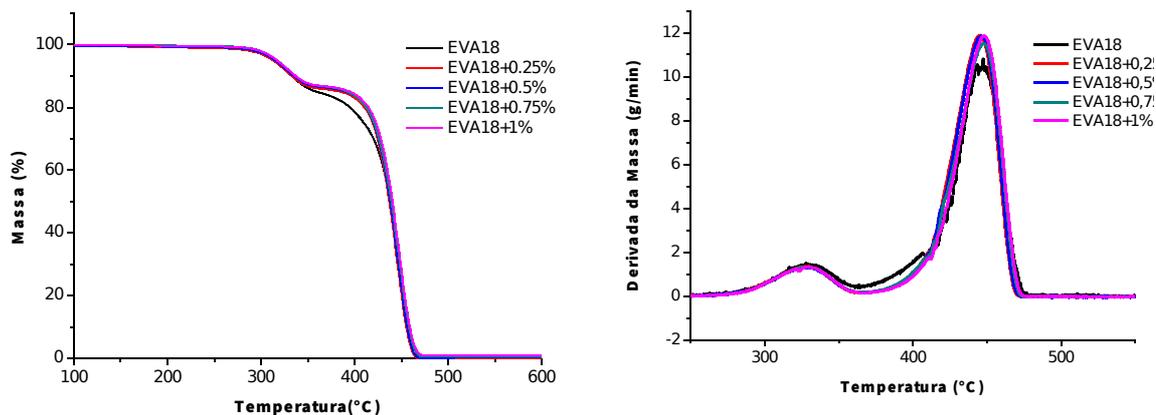
Tabela 4 - Parâmetros térmicos obtidos pelas curvas de TGA e DTG.

Amostra	Tonset acetato (°C)	Tpeak acetato (°C)	Tonset etileno (°C)	Tpeak etileno (°C)	Perda de massa acetato (%)	Perda de massa etileno (%)	Perda de massa total (%)
EVA 18	300	328	424	447	14,8	84,6	99,4
EVA18+0,25%ZnO	301	330	424	448	13,7	85,6	99,3
EVA18+0,25%ZnOmod.	302	329	425	448	13,7	85,8	99,5
EVA18+0,5%ZnO	302	329	427	450	13,7	85,7	99,4
EVA18+0,5%ZnOmod.	302	330	425	448	13,7	85,8	99,5
EVA18+0,75%ZnO	301	327	424	448	13,4	85,9	99,3
EVA18+1%ZnO	302	330	426	449	13,6	85,6	99,2

Fonte: Elaborado pelo autor.

Entretanto, observando os perfis das curvas de TGA da Figura 27, pode-se observar que no EVA puro, logo após a perda de acetato, ocorre imediatamente um leve declínio indicando o início da perda de etileno. Com a adição das cargas, há uma estabilidade de degradação desta porção até 400°C, com uma tendência de aumento da estabilidade térmica. A variação observada pode indicar aumento da contribuição da área mais organizada do sistema, onde a incorporação de nanopartículas na matriz polimérica causa um aumento na estabilidade térmica do material, pois diminui a difusão de calor na matriz polimérica (AHMAD; DESHMUKH; HABIB, 2014; GONG et al., 2014 e MOHANAPRIYA et al., 2016).

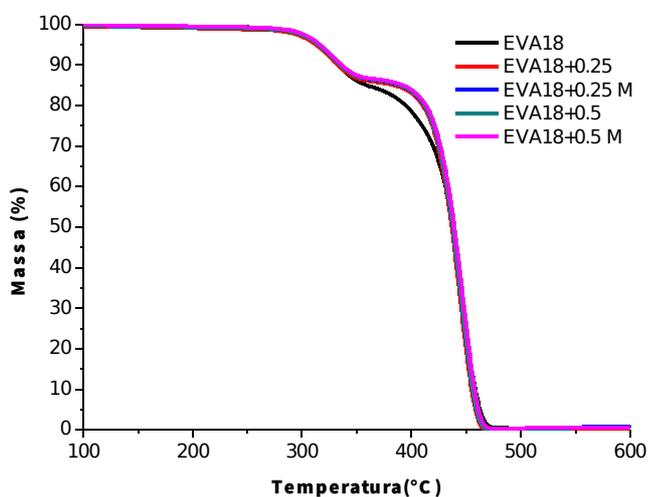
Figura 27 - Análise Termogravimétrica dos nanocompósitos de EVA/ZnO em diferentes proporções contendo derivada para evidenciar mudança na estabilidade.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os sistemas contendo carga modificada apresentaram o mesmo comportamento dos sistemas contendo óxido puro, indicando que a modificação não altera a degradabilidade do material.

Figura 28 - Análise Termogravimétrica dos nanocompósitos de EVA/ZnOmod. contendo 0,25% e 0,5% em comparação aos sistemas de EVA/ZnO nas mesmas proporções e EVA puro.

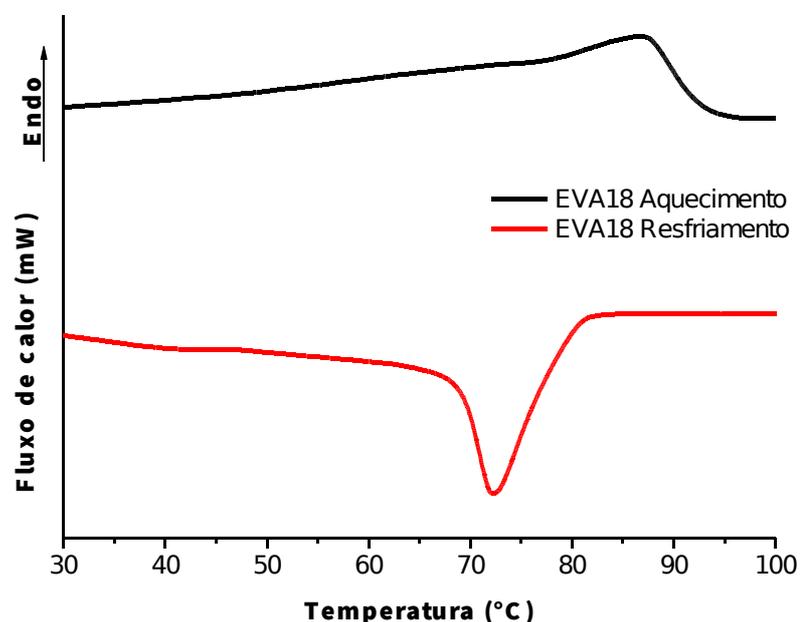


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

As curvas de aquecimento e resfriamento do EVA 18 puro estão dispostas na Figura 29, respectivamente. Nestas Figuras é possível verificar os parâmetros térmicos do EVA 18: $T_m = 87^\circ\text{C}$ e $T_c = 72^\circ\text{C}$ (VARGHESE *et al.*, 2002).

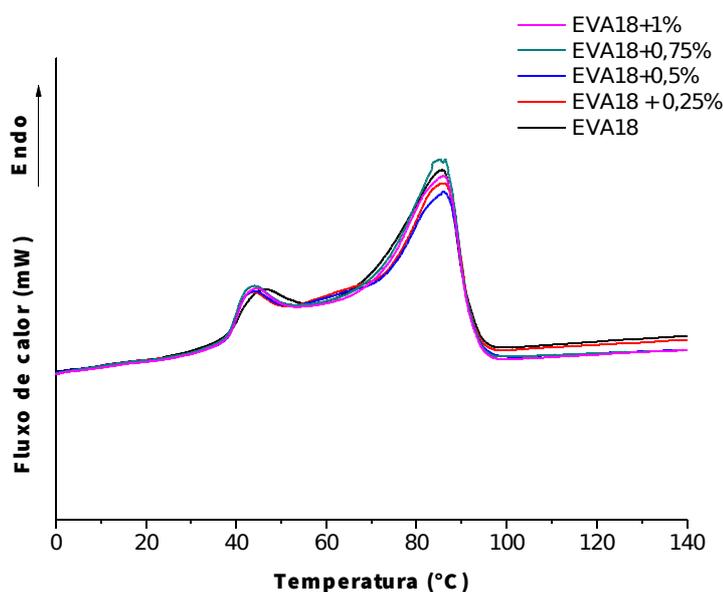
Figura 29 - Curvas de DSC do EVA puro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 30 apresenta a curva de primeiro aquecimento do sistema, evidenciando a história térmica do material, onde há dois domínios com resistividades térmicas distintas, tanto no EVA 18 puro, quanto nos sistemas de EVA/ZnO. Comparando o polímero puro com os sistemas obtidos, é possível verificar que nos sistemas obtidos, a fusão do cristal ocorre com variações de entalpia diferentes do EVA puro, indicando mudança de organização estrutural. Os sistemas de EVA/ZnO contendo 0,75% e 1% de ZnO se aproximam do comportamento do polímero puro.

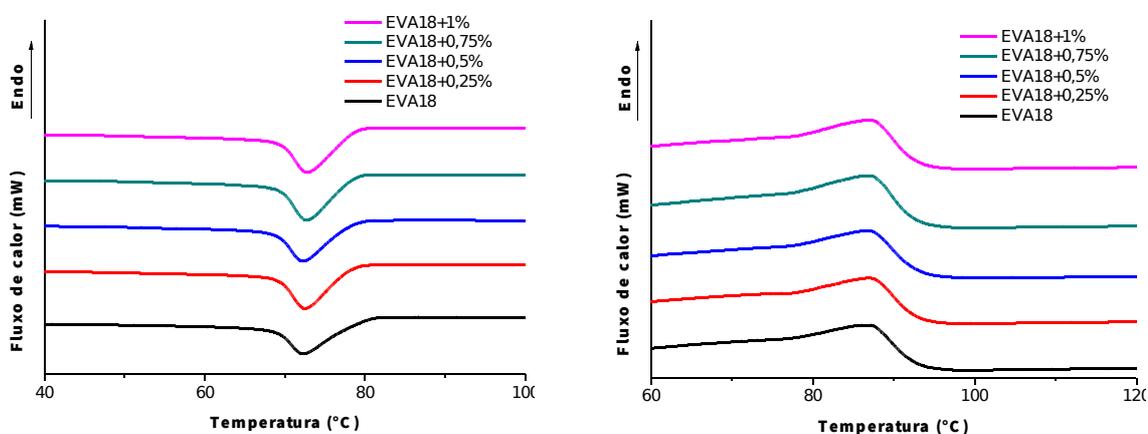
Figura 30 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções referentes ao 1º aquecimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Com base nas curvas obtidas na figura 31, relativas ao resfriamento e 3º aquecimento, pode-se observar que o perfil das curvas de DSC não é alterado para nenhum dos sistemas analisados. Este comportamento indica que a perfeição cristalina não foi significativamente alterada pela presença do óxido de zinco nos sistemas, com predominância do óxido na parte amorfa da matriz.

Figura 31 - Análise de Calorimetria Diferencial de Varredura dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções, relativas ao resfriamento (esquerda) e terceiro aquecimento (direita).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os parâmetros referentes à análise de DSC (temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de fusão cristalina (T_m)), obtidos pelo resfriamento e terceiro

aquecimento, não foram afetadas com a presença de carga no sistema, como mostra a Tabela 5. Para o cálculo do grau de cristalinidade das amostras foi utilizado o ΔH_m do PE 100% cristalino (286 J/g) pela fórmula: $X_c = (\Delta H_m / \Delta H_m \text{ PE } 100) \times 100$ %.

A avaliação do grau de cristalinidade medido por Calorimetria Diferencial Exploratória permitiu verificar que a técnica foi pouco eficaz para a avaliação dos sistemas EVA/ZnO e EVA/ZnOmod. Isto ocorre devido ao fato do grau de cristalinidade ser obtido por medida relativa, através da variação da entalpia de fusão do material. A técnica de DRX, por sua vez, possuiu maior sensibilidade para verificação da cristalinidade dos sistemas, uma vez que é uma técnica absoluta.

Tabela 5 - Parâmetros térmicos obtidos pela análise de DSC

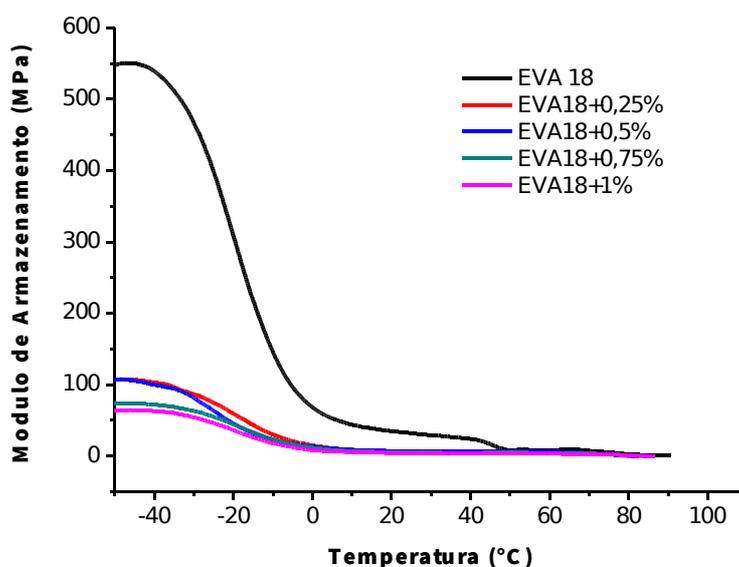
Amostra	T_c (°C)	T_m 1° aqu. (°C)	T_m 3° aqu. (°C)	ΔH_m (J/g)	Grau de Cristalinidade(%)
EVA 18	72	46/86	86	64	22
EVA18+0,25%ZnO	72	43/86	87	72	25
EVA18+0,25%ZnOmod.	72	43/86	87	63	22
EVA18+0,5%ZnO	73	43/86	87	78	27
EVA18+0,5%ZnOmod.	72	44/86	87	60	21
EVA18+0,75%ZnO	73	45/86	87	64	22
EVA18+1%ZnO	73	44/86	87	70	25

Fonte: Elaborado pelo autor

5.5. ANÁLISE DINÂMICO MECÂNICA (DMA)

A análise dinâmico-mecânica permite a separação da contribuição elástica e viscosa em materiais visco elásticos, em função tanto da temperatura como do tempo. Em relação ao polímero puro, o módulo de armazenamento diminuiu com a inserção de carga na matriz (Figura). Isso indica que a interação carga/matriz também promoveu o aumento da organização estrutural do EVA, não ocorrendo somente devido ao processamento, mas pela presença do ZnO no meio. A presença de carga na matriz polimérica modificou a mobilidade da cadeia, alterando a relaxação mecânica e dificultando a resposta em fase do material.

Figura 32 - Módulo de armazenamento dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO

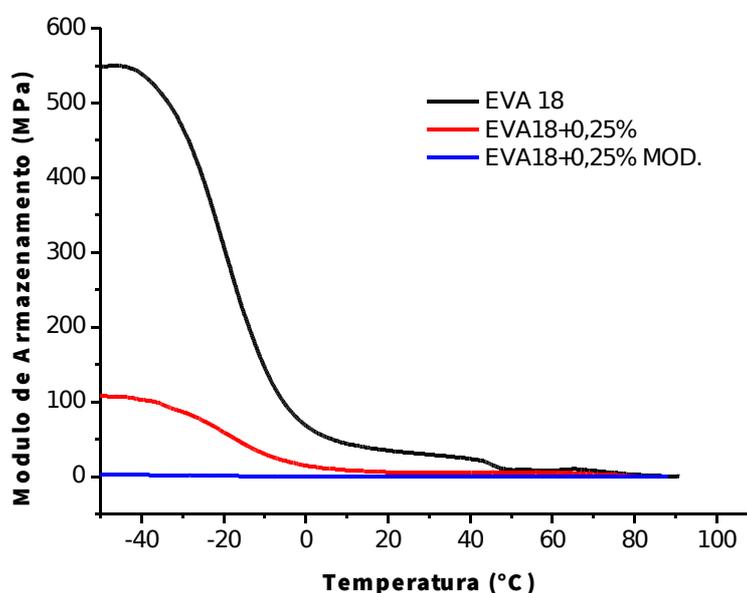


Fonte: Elaborado pelo autor.

O gráfico da Figura 33 também mostra que o aumento das concentrações de ZnO para 0,75 e 1% diminui ainda mais o módulo de armazenamento. Tal evidência indica pouca adesividade da carga na matriz, diminuindo ainda mais a resposta em fase. Este processo provavelmente ocorreu devido à mudança de dispersão, indicada também na análise de DRX com o aparecimento de picos referentes ao ZnO e com a mudança da contribuição do halo amorfo nas deconvoluções, sugerindo aumento da contribuição amorfa.

Para os sistemas contendo carga modificada, a adição de 0,25% de ZnO modificou intensificou ainda mais a diminuição do módulo de armazenamento, indicando que houve aumento da interação carga/polímero pela melhoria da dispersão da carga, dificultando as interações polímero/polímero. Tais dados corroboram com as análises de DRX, onde a deconvolução do sistema de 0,25% de carga modificada apresentou diminuição da mesofase em relação ao sistema de 0,25% de carga pura, indicando um aumento da interação polímero-carga na área amorfa do copolímero.

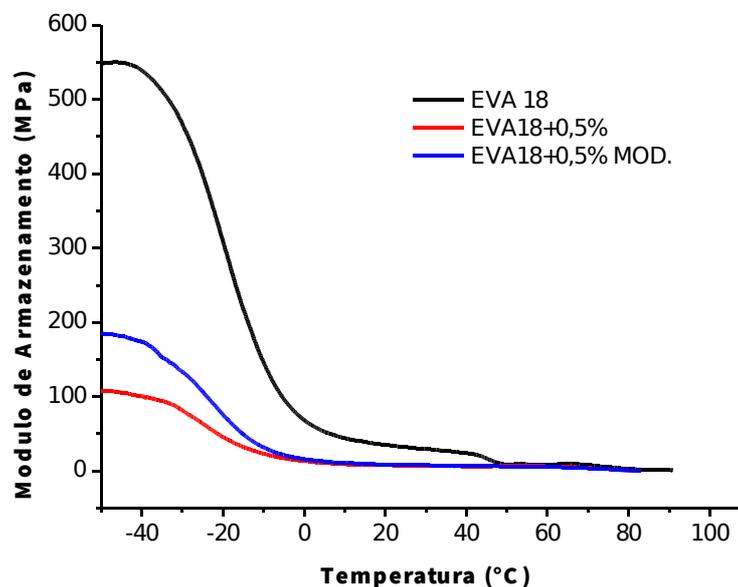
Figura 33 - Módulo de armazenamento do sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,25% de ZnO modificado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O sistema de EVA/ZnOmod. contendo 0,5% apresentou comportamento inverso, onde a modificação da carga promoveu aumento do módulo de armazenamento e maior resposta em fase. A presença do modificador permitiu a adição de maior concentração de óxido, o que gerou maior rigidez no sistema. Estes resultados de DMA retificam a análise de DRX, onde o aumento na concentração da nanopartícula modificada gerou interferência em regiões mais organizadas.

Figura 34 - Módulo de armazenamento do sistema de EVA/ZnO mod. contendo 0,5% de ZnO modificado.

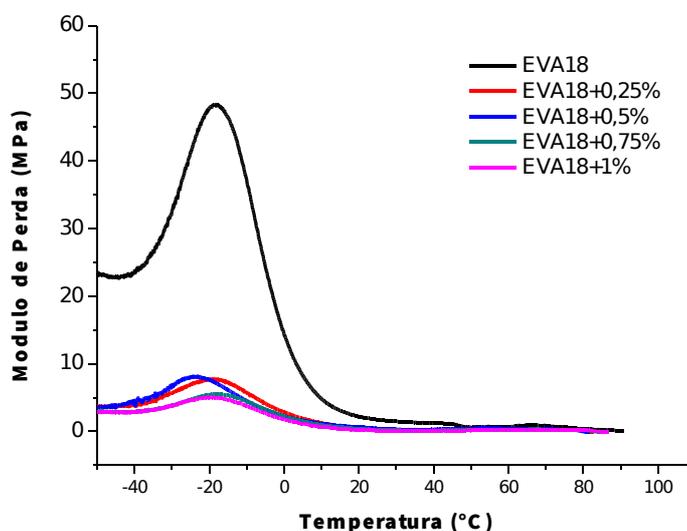


Fonte: Elaborado pelo autor.

A componente viscosa do EVA diminui com a inserção de carga para todos os sistemas contendo carga (Figura 35), ao comparar com o copolímero. O comportamento indica mudança na organização estrutural do polímero, através da diminuição do volume livre na área amorfa da matriz. Os resultados do DMA corroboram com os dados de DRX, onde houve diminuição da contribuição do haloamorfo nas deconvoluções dos sistemas EVA/ZnO, indicando também predominância do óxido na área amorfa.

O aumento das proporções de ZnO para 0,75% e 1% intensifica ainda mais a diminuição do módulo de perda, indicando uma diminuição do volume livre pela mudança na dispersão de ZnO na matriz. Tais modificações também foram indicadas na análise de DRX, através do aparecimento de picos relacionados ao óxido de zinco puro e pelo aumento da fração amorfa na deconvolução dos picos.

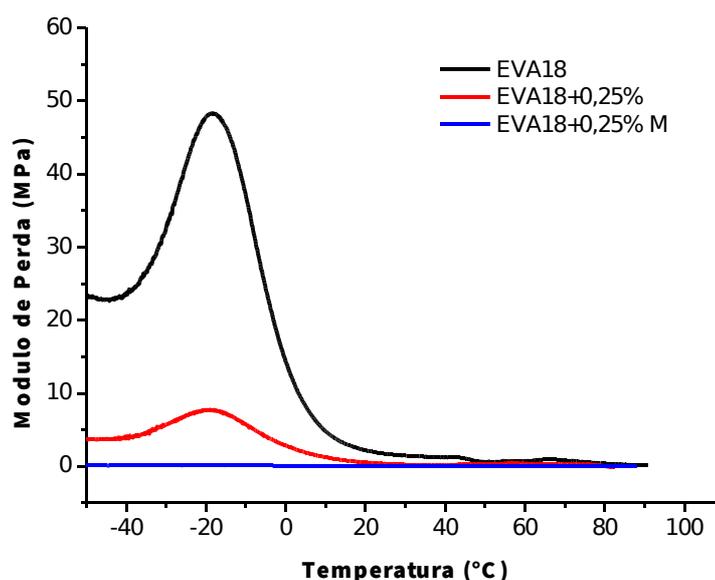
Figura 35 - Módulo de perda dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO



Fonte: Elaborado pelo autor.

Em relação ao copolímero puro, os sistemas contendo carga modificada apresentaram variação do módulo de perda, onde o sistema EVA/ZnO mod. contendo 0,25% apresentou diminuição ainda maior do módulo de perda. Isto sugere um aumento das interações entre polímero e carga, dificultando ainda mais a dissipação de energia no meio interno do polímero pela diminuição do volume livre.

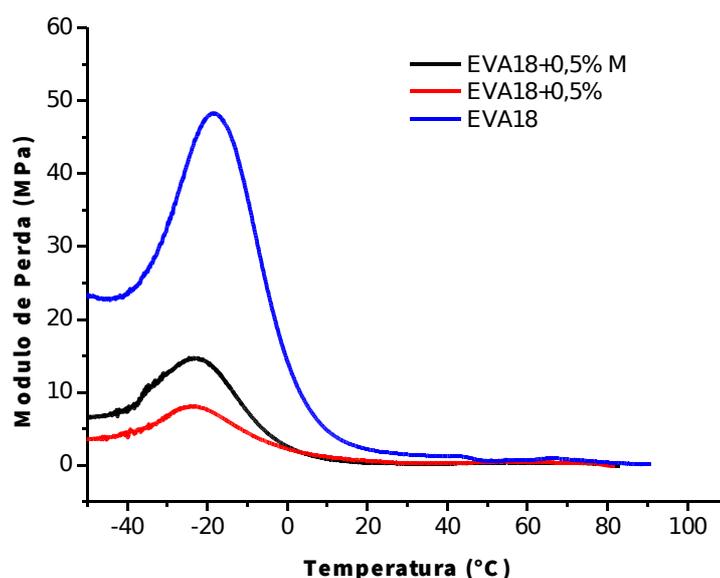
Figura 36 - Módulo de perda do sistema de EVA/ZnO mod. contendo 0,25% de ZnO modificado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O sistema contendo 0,5% de carga modificada novamente apresentou comportamento inverso ao sistema de 0,25% de EVA/ZnO mod., onde há aumento do módulo de perda com a modificação da carga. Esta concentração permite a inserção de mais óxido, como visto nas análises de DRX, onde a área amorfa do DRX aumenta para a amostra modificada.

Figura 37 - Módulo de perda do sistema de EVA/ZnO mod. contendo 0,5% de ZnO modificado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A análise de $\tan \delta$ pode obter valores precisos de transição vítrea (T_g). As curvas traçadas a partir dos valores do fator de amortecimento ($\tan \delta$) em relação à temperatura para nanocompósitos de EVA e EVA/ZnO são mostradas na Figura 38. O pico de $\tan \delta$ de EVA puro é de cerca de -7°C , o que corresponde à T_g do polímero.

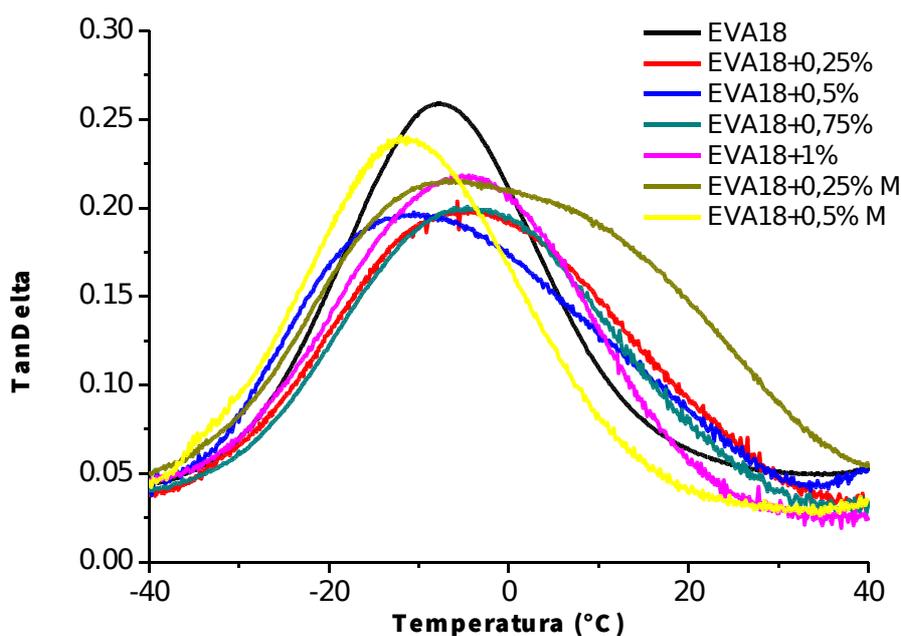
Para os nanocompósitos de EVA/ZnO, as temperaturas de T_g não mudaram significativamente, mas os valores de $\tan \delta$ para os sistemas contendo carga não modificada são superiores aos do EVA puro. Isto indica que a adição de óxido limitou a mobilidade das cadeias poliméricas, aumentando levemente a rigidez do sistema.

No sistema contendo 0,5% de carga modificada há uma leve diminuição do valor de T_g , indicando aumento da mobilidade do sistema pelo efeito da proporção

de carga e da modificação. Este resultado confirma as análises de DRX, onde este sistema apresenta aumento da área amorfa, permitindo inserção de mais óxido.

A intensidade da tan delta também permite avaliar a relação entre os módulos de armazenamento e de perda do material, indicando a variação do amortecimento em função da presença da carga. É possível verificar que o sistema de 0,5% de carga modificada apresenta maior amortecimento que os demais sistemas, corroborando com o aumento de contribuição do halo amorfo nas análises de DRX. Todos os sistemas contendo carga apresentariam menor resistência ao impacto que o copolímero puro, indicando aumento de rigidez com a presença de carga.

Figura 38 - Tan Delta dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções de ZnO

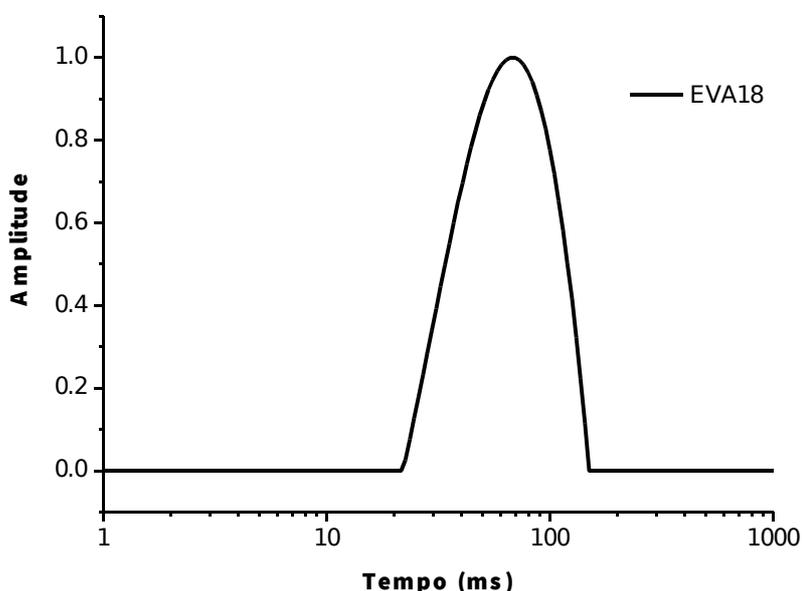


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.6. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR NO DOMÍNIO DO TEMPO

A curva de distribuição de domínio do EVA da Figura 39 mostra um domínio de relaxação da amostra. A curva de distribuição de domínio leva em consideração as diferentes regiões do material que contribuem para o processo de relaxação spin-rede.

Figura 39 - Curva de Domínio de EVA 18.



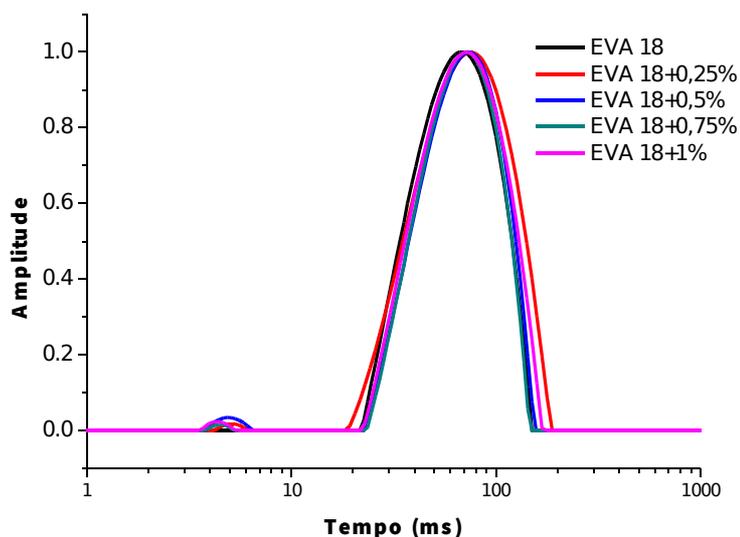
Fonte: Elaborado pelo autor.

Em relação ao EVA, as curvas de domínio dos sistemas de EVA/ZnO (Figura 40) começaram a apresentar domínios de baixa mobilidade, em comparação aos domínios de maior mobilidade, indicando que a adição de óxido na matriz favorece a absorção de umidade. Além disso, houve uma leve tendência de alargamento da curva de domínio do sistema contendo 0,25%. A presença de novos domínios e o sutil aumento da base da curva de mobilidade indicam mudança na homogeneidade do material e corroboram a análise de DRX, que evidenciou a mudança estrutural.

Em 0,5% de ZnO há uma inversão de comportamento, onde há menor dispersão da carga e as concentrações de 0,75% e 1% de óxido voltam a apresentar comportamento similar ao polímero puro. Este resultado corrobora com as análises

de DMA, onde a proporção de 0,5% agiu como proporção limitante, com inversão de comportamento dos sistemas EVA/ZnO em relação ao EVA puro.

Figura 40 - Curvas de Domínio dos sistemas de EVA/ZnO em diferentes proporções.



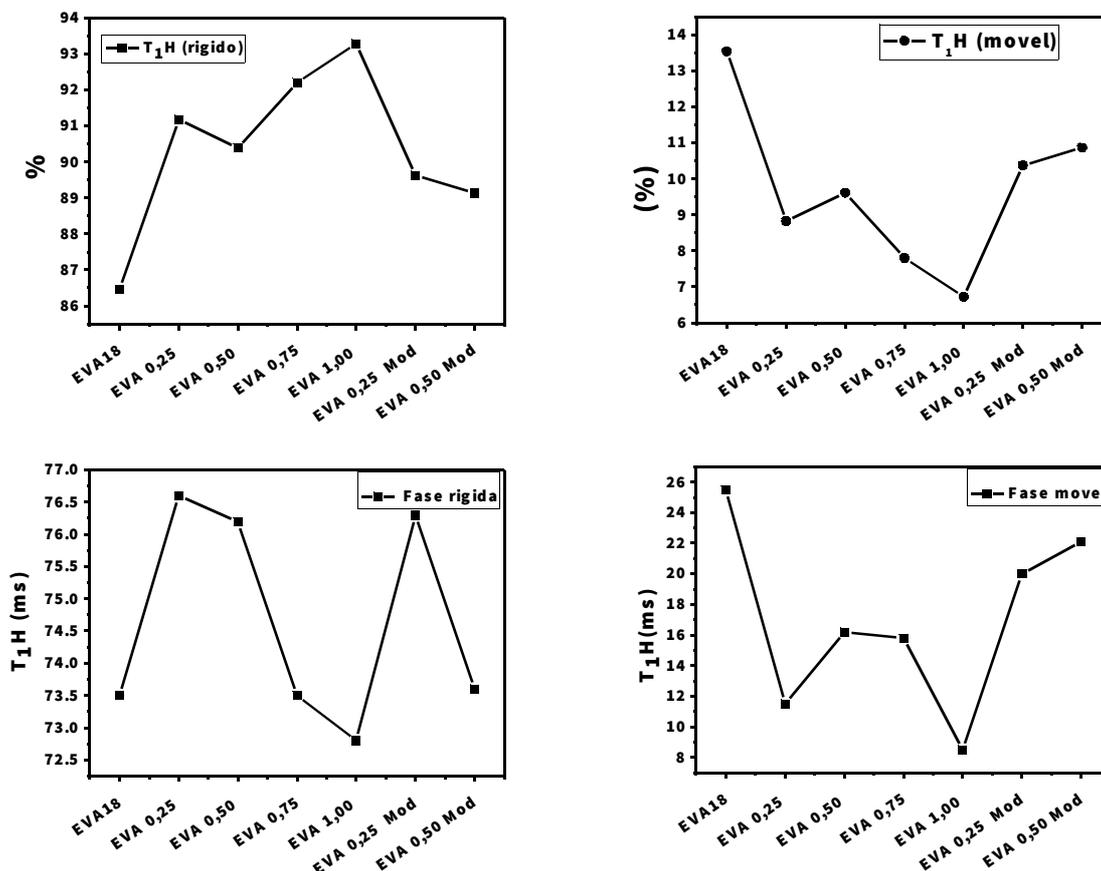
Fonte: Elaborado pelo autor.

As medidas de tempo de relaxação spin-rede ($T_{1,1}$ H e $T_{1,2}$ H) separadas em gráficos para melhor visualização das mudanças ocorridas nas fases de maior (móvel) e menor (rígida) mobilidade, e as proporções de ambas as fases também foram explicitadas para melhor discussão das análises, conforme Figura 41.

Através das porcentagens das fases móvel e rígida nos sistemas EVA/ZnO, é possível verificar o aumento da rigidez do sistema. Em 0,25% de carga, o aumento da rigidez confirma a diminuição da fase amorfa apresentada no DRX, ocorre o aumento no tempo de relaxação da fase rígida e diminuição da fase móvel. Em 0,5% há uma leve diminuição na fração rígida, corroborando com o DRX que apresentou um aumento da contribuição do halo amorfo. Este aumento da região móvel contribuiu para o aumento do T_1 de maior mobilidade e diminuindo o T_1 mais rígido. Em porcentagens maiores de carga, como 0,75% e 1% ainda ocorre o aumento de T_1 rígido mesmo com aumento do pico haloamorfo verificado nas deconvoluções de DRX. Isso ocorre, pois a área amorfa evidenciada na deconvolução possui óxido no meio, que contribui para dificultar a relaxação spin-rede. Também é possível verificar

a existência de carga na área amorfa através das porcentagens de área amorfa que diminuem com o aumento de carga e a diminuição da contribuição de T_1 móvel.

Figura 41 – Gráficos de pontos contendo as variações de T_1 com a adição em diferentes proporções de ZnO dos sistemas EVA/ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

As medidas de relaxação spin-rede dos sistemas contendo carga modificada apresentaram mudança de valores em relação aos sistemas EVA/ZnO contendo 0,25% e 0,5%. Em ambos os sistemas, a modificação da carga aumentou o valor de $T_{1,1}H$, elucidando diminuição da mobilidade molecular do polímero com o aumento da interação polímero-carga e indicando maior dispersão da carga na área amorfa do polímero, onde não há variação da porcentagem de $T_{1,2}H$ com a modificação da carga. Estes dados corroboram com os resultados de DMA, onde a análise indicou que a modificação causou aumento das interações entre polímero e carga, dificultando ainda mais a dissipação de energia no meio interno do polímero pela diminuição do volume livre. O DRX também retifica este comportamento, onde a

modificação de 0,25% possivelmente causou interferência em regiões mais amorfas, contribuindo para a mudança de organização estrutural.

Para esclarecer a contribuição das fases móvel, rígida e intermediária, foram realizadas análises do Tempo de relaxação spin-spin através do Magic Sandwich Echo (MSE). O MSE é uma sequência de pulsos designada para refocar três ou mais spins que apresentem forte acoplamento dipolar. O sinal obtido é composto de 3 regiões distintas: A primeira é relacionada aos núcleos de ^1H de alta rigidez e obedece a função de Abragamian; a segunda é regida pelos hidrogênios de maior mobilidade que apresentam valores de $T_2\text{H}$ mais elevados e apresentam um decaimento de comportamento exponencial; e a terceira possui contribuição dos hidrogênios de maior e menor mobilidade, sendo uma região intermediária denominada Gaussiana (AGARWAL et al., 2014).

Os dados referentes às análises do MSE encontram-se na Figura e corroboram com os valores de T_1 , onde o sinal rígido (Abragamian) aumenta para o sistema contendo 0,25% de ZnO, indicando maior mobilidade da fração rígida do polímero com a adição de carga e corroborando com o aumento do pico de maior organização verificado na deconvolução do DRX do sistema. Com o aumento das proporções de carga para 0,5; 0,75 e 1%, os valores de T_2 rígido diminuem, indicando menor mobilidade do sistema, indicado com a diminuição do pico cristalino nas deconvoluções do DRX.

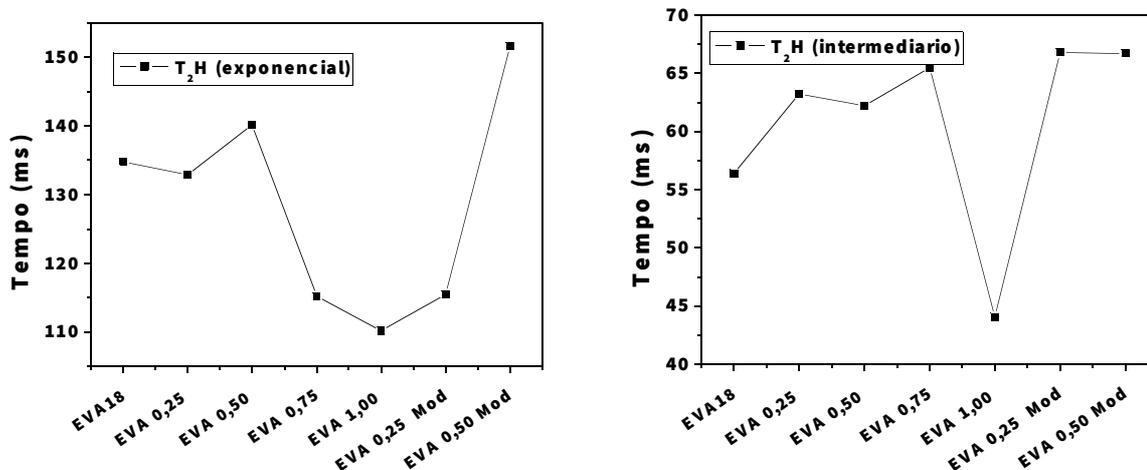
A mesofase ($T_2\text{H}$ intermediário) indica uma tendência ao aumento da mobilidade até 0,75%. Após essa concentração, o sistema ganha rigidez devido à queda no tempo $T_2\text{H}$ em 1% de carga. O sistema volta a ganhar mobilidade na mesofase para os sistemas contendo carga modificada, indicando interação polímero-carga mais acentuada e corroborando com a variação da mesofase do DRX.

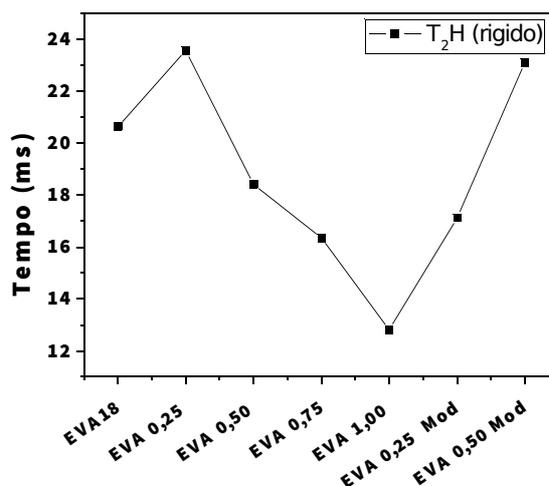
O sistema contendo 0,25% de óxido apresenta $T_2\text{H}$ móvel levemente menor que o EVA, indicando menor mobilidade da fração móvel e corroborando com o DRX onde ocorre diminuição considerável da contribuição do halo amorfo. O sistema contendo 0,5% de ZnO apresenta característica diferenciada, onde há aumento de $T_2\text{H}$ de maior mobilidade, indicando uma proporção limítrofe, onde há inversão de comportamento do material, como visto no DRX e no DMA. Para os sistemas

contendo 0,75% e 1%, há novamente diminuição de T_2H , indicando ganho de rigidez dessa fração.

Para os sistemas contendo carga modificada, T_2H rígido (Abraghamian) aumenta para o sistema contendo 0,25% de ZnO modificado, indicando maior mobilidade da fração rígida do polímero com a presença da modificação, que aumentou a interação polímero-carga, elevando a mobilidade do sistema. Este resultado corrobora com as análises de DMA e DRX, onde a adição de 0,25% de ZnO modificado intensificou ainda mais a diminuição do módulo de armazenamento, indicando aumento da interação carga/polímero pela melhoria da dispersão da carga e a deconvolução do sistema apresentou aumento dos dois picos cristalinos em relação ao sistema de 0,25% de carga pura. Com o aumento de carga modificada para 0,5%, há novamente uma inversão de comportamento, com diminuição da mobilidade do sistema nesta proporção.

Figura 42 - Variações de T_2 com a adição em diferentes proporções de ZnO dos sistemas EVA/ZnOmod





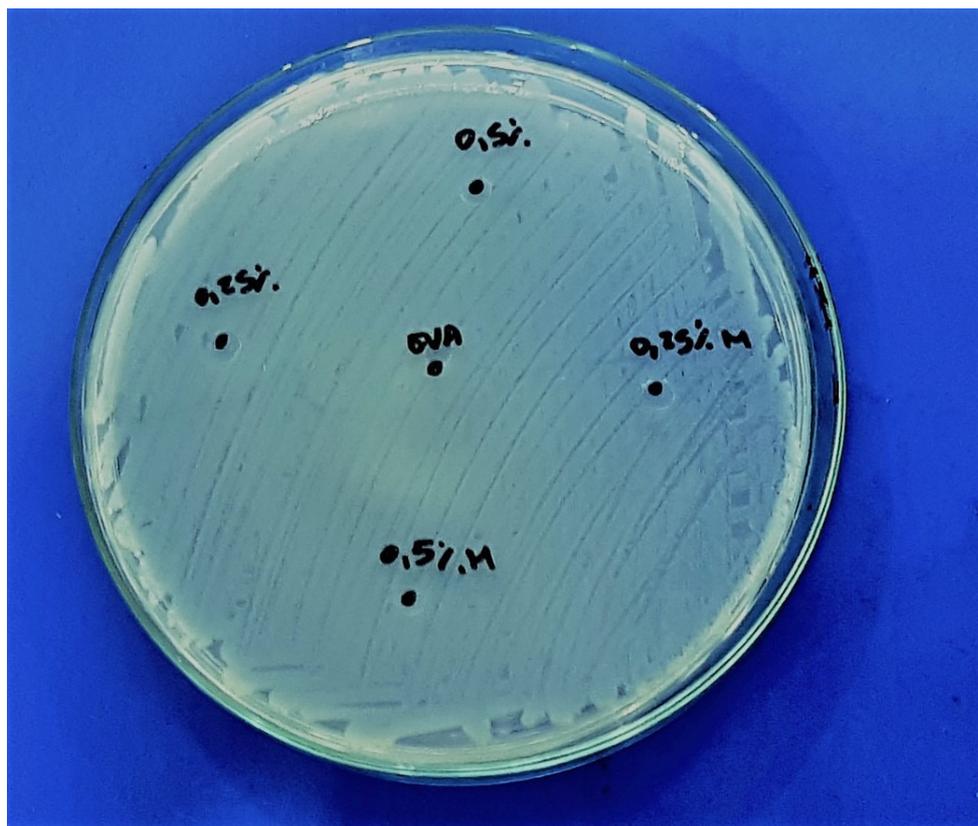
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.7. TESTE DE SENSIBILIDADE AO ANTIMICROBIANO

Foram utilizados os filmes de EVA/ZnO 0,25%, EVA/ZnO 0,5%, EVA/ZnOmod. 0,25% e EVA/ZnOmod. 0,5% por apresentarem maior estabilidade térmica, mecânica e maior transparência. O filme de EVA 18 sem carga foi utilizado como ensaio em branco. Os testes de sensibilidade antimicrobiana in vitro dos isolados de *S. aureus* e *E. coli* foram realizados utilizando a técnica de difusão de disco segundo BAUER *et al.* (1966) em Ágar Müller Hinton.

A técnica de difusão de disco não apresentou halo de inibição, como mostra a Figura 43, indicando a ausência de migração da carga para o meio. Tal comportamento evidencia a baixa toxicidade da embalagem, pois não há migração da carga para o alimento. A falta de difusão do óxido de zinco pode ter ocorrido devido à presença predominante de ZnO na fase amorfa, dificultando a interação do óxido com o ambiente externo.

Figura 43 - Resultados da Técnica de Difusão de Disco para *S. aureus* e *E. coli*.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 43 também evidencia que não houve o crescimento bacteriano abaixo da superfície dos discos, incluindo o EVA puro. Tal comportamento do copolímero pode ter ocorrido devido à influência das características superficiais dos filmes EVA sobre a adesão das bactérias. As variações de topografia causam adesão diferente de células, pois quanto maior a rugosidade no nível da microescala, maior o desenvolvimento do biofilme. Neste caso, a baixa rugosidade do filme processado pode contribuir para a inibição da formação do biofilme (BENITO *et al.*, 2017).

A partir destes dados, os filmes de EVA 18 podem ser considerados boas superfícies inibitórias para embalagens alimentícias com alto contato do polímero com o alimento, como embalagens a vácuo, por exemplo. Como não há crescimento bacteriano sob a superfície do copolímero, o aumento do contato do filme com o alimento mitigaria a proliferação bacteriana.

6. CONCLUSÕES

Os nanocompósitos via fusão foram produzidos de acordo com metodologia proposta, onde os filmes apresentaram continuidade, ausência de rugosidade e boa dispersão de carga.

A caracterização dos filmes obtidos revelou tendência de estabilidade térmica e maior interação carga-polímero na área amorfa da matriz polimérica, através da tendência na análise termogravimétrica, da mudança de contribuição do halo amorfo e do pico de maior organização estrutural nas análises de DRX e de domínios de mobilidade das análises de RMN por domínio do tempo.

Quanto à concentração de carga nos sistemas, é possível verificar que o aumento da proporção de óxido de zinco nos nanocompósitos afetou a organização estrutural do sistema, onde a proporção de 0,5% foi apresentada como limítrofe, havendo modificação das características estruturais do sistema.

A modificação indicou maior interação carga-polímero, com maior contribuição do halo amorfo na cristalinidade da matriz polimérica, mudança da mobilidade do sistema e variação das características dinâmico mecânicas.

A partir dos resultados obtidos, é admissível inferir que a presença de óxido de zinco na matriz de EVA é capaz de alterar a organização estrutural do polímero, resultando em diferentes propriedades quando comparados ao polímero puro. A concentração de 0,25% apresentou-se como melhor sistema EVA/ZnO, onde a quantidade de carga inserida na matriz foi suficiente para alterar cristalinidade e propriedades mecânicas do material, com sutil aumento de estabilidade térmica.

7. SUGESTÕES

- Realizar a microscopia eletrônica de transmissão para verificar a dispersão da nanocarga ao longo da matriz polimérica;
- Realizar a microscopia eletrônica de varredura para avaliar o tamanho da partícula obtida pelo processo de modificação química;
- Executar o teste de sensibilidade a antimicrobiano por diluição de caldo para avaliar a influência do meio líquido na difusão da carga e no efeito antimicrobiano;

- Avaliar as propriedades mecânicas do filme produzido através de ensaios de tração e rasgamento.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, V.; ERP, T. B. V.; BALZANO, L.; GAHLEITNER, M.; PARKINSON, M.; GOVAERT, L. E.; LITVINOV, V.; KENTGENS, A. P. M. The chemical structure of the amorphous phase of propylene–ethylene random copolymers in relation to their stress–strain properties. **Polymer**, Oxford, v. 55, n. 12, p. 896–905, 2014. DOI: 10.1016/j.polymer.2013.12.051. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386113011671>>. Acesso em: 06 fev. 2017.

AJAYAN, P. M.; SCHADLER, L. S.; BRAUN, P. V.. **Nanocomposite Science and Technology**. Weinheim: Editora Wiley, 2006. DOI: DOI: 10.1002/3527602127. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/3527602127>>. Acesso em: 08 fev. 2017.

ANAL, A. K.; AKBAR, A.. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus in ready-to-eat poultry meat. **Food Control**, [S.l.], v.38, p.88-95, 2014. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.09.065. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513005227>> . Acesso em: 08 abr. 2017.

ATVARS T.D.Z. ;YAMAKI,S.B.; PRADO, E.A..Phase transitions and relaxation processes in ethylene-vinyl acetate copolymers probed by fluorescence spectroscopy. **European Polymer Journal**, [S.l.], v. 38, p.1811–1826, 2002. DOI: 10.1016/S0014-3057(02)00067-8. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/222135419_Phase_transitions_and_relaxation_processes_in_ethylene-vinyl_acetate_copolymers_probed_by_fluorescence_spectroscopy>. Acesso em: 06 fev. 2017.

AZEREDO, H. M. C..Antimicrobial nanostructures in food packaging. **Trends in Food Science & Technology XX**, [S.l.], p.1 -14, 2012. DOI: 10.1016/j.tifs.2012.11.006.

Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/247480147_Antimicrobial_nanostructures_in_food_packaging>. Acesso em: 06 fev. 2017.

BAJPAI, S. K.; CHAND, N.; CHAURASIA, V. Nano Zinc Oxide-Loaded Calcium Alginate Films with Potential Antibacterial Properties. **Food Bioprocess Technology**, [S.l.], v.5, p.1871 – 1881, 2012. DOI: 10.1007/s11947-011-0587-6.

Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/227044743_Nano_Zinc_Oxide-Loaded_Calcium_Alginate_Films_with_Potential_Antibacterial_Properties>. Acesso em: 27 fev. 2017.

BENITO, J. G., TENO, J., GAITANO, G. G.. Poly (ethylene-co-vinyl acetate) films prepared by solution blow spinning: Surface characterization and its relation with E. coli adhesion. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 60, p. 140 – 148, 2017. DOI:

10.1016/j.polymertesting.2017.03.020 . Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142941816311862>>. Acesso em: 08 set. 2017.

BIJI, K. B.; RAVISHANKAR, C. N.; MOHAN, C. O.. Smart packaging systems for food applications: a review. **Journal Food Science Technology**, [S.l.], v.52, n.10, p,6125-6135, 2015. DOI 10.1007/s13197-015-1766-7. Disponível:

<<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-015-1766-7/>>. Acesso em: 18 mar. 2017.

BOONNATTACORN, R.; CHONHENCHOB, V.; SIDDIQ, M.. Controlled Release of Mangiferin Using Ethylene Vinyl Acetate Matrix for Antioxidant Packaging.

Packaging Technology of Science, [S.l.], v. 28, n. 3, p. 241–252, 2015. DOI:

10.1051/mateconf/20166706101. Disponível

em: <https://www.researchgate.net/publication/305740948_Antioxidant_Microemulsion-based_Ethylene_Vinyl_Acetate_Film_Containing_Mangiferin_and_Surfactants>.

Acesso em: 20 fev. 2017.

CARRIZO, D.; MACCAGNAN, A.; FELIX, J. S.; NERIN, C.. The Barrier Effect of EVOH versus 1,4,7-Trioxocyclotridecane-8,13-Dione, a Non-intentionally Added Compound from Polyurethane Adhesives in Multilayer Food Packagingv. **Packagins Technology and Science**, [S.l.], v. 28, n. 12, 2015. DOI: 10.1002/pts.2182. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/283894328_The_Barrier_Effect_of_EVOH_versus_147-Trioxocyclotridecane-813-Dione_a_Non-Intentionally_Added_Compound_from_Polyurethane_Adhesives_in_Multilayer_Food_Packaging>. Acesso em: 06 abr. 2017.

CASTEL, C. D. **Estudo Comparativo Na Obtenção De Nanocompósitos De Polipropileno / Montmorilonita De Polipropileno / Montmorilonita Utilizando Diferentes rotas de síntese**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós – Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2012. 137f. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/55484>>. Acesso em: 19 mar. 2017.

CHAUDHRY, Q. S., M.; CLACKBURN, J.; ROSS, B.; BOXALL, A. & CASTLE, L.. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Additives & Contaminants**, [S.l.], v.25, n.3, p. 241–258, 2008. DOI: 10.1080/02652030701744538. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18311618>>. Acesso em: 10 fev. 2017.

Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M100-S23 Suggested Grouping of US-FDA **Approved Antimicrobial Agents That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Laboratories**, 2013. 3f. Disponível em: <https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/AntimicrobialAgentsFastidious-DiskDiff.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2017.

Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M2-A10 - **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests** ; Approved Standard – Tenth Edition, 2012. 76f. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=3D58139aa4615e27240754da03%26assetKey%3DAS%253A422233756704774%25401477679780485+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 15 jun. 2017.

DJURISIC, A. B.; XING, A. M. C.; CHEN, X. Y. ZnO nanostructures for optoelectronics: Material properties and device applications. **Progress in Quantum Electronics**, [S.l.], v. 34, p.191, 2010. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.10.024. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/223715548_ZnO_Nanostructures_for_Optoelectronics_Material_Properties_and_Device_Applications>. Acesso em: 10 jul. 2017.

DOLGOVSKIJ, M. K.; LORTIE, F.; MACOSKO, C. W. Dispersing organoclay in polystyrene melts: Roles of stress and diffusion. **Journal of Central South University of Technology**, [S.l.], p.196- 201, 2007. DOI: 10.1007/s11771-007-0244-4. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/227093129_Dispersing_organoclay_in_polystyrene_melts_Roles_of_stress_and_diffusion>. Acesso em: 12 ago. 2017.

DUNCAN, T. V.. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S.l.], v.363, p. 1–24, 2011. DOI: 10.1016/j.jcis.2011.07.017. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/51555031_Applications_of_Nanotechnology_in_Food_Packaging_and_Food_Safety_Barrier_Materials_Antimicrobials_and_Sensors>. Acesso em: 1 abr. 2017.

EMAMIFAR, A. Applications of Antimicrobial Polymer Nanocomposites in Food Packagings. **Nanotechnology and Nanomaterials – Advances in Nanocomposite Technology**, [S.l.], 2011. DOI: 10.5772/18343. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/221913938_Applications_of_Antimicrobial_Polymer_Nanocomposites_in_Food_Packaging>. Acesso em: 2 jun. 2017.

EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; ZAD, S. S.. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. **Food Control**, [S.l.], v. 22, p. 408 – 413, 2011. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.09.011 Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/223645689_Effect_of_nanocomposite_packaging_containing_Ag_and_ZnO_on_inactivation_of_Lactobacillus_plantarum_in_orange_juice>. Acesso em: 12 mai. 2017.

ERICSSON, H.M., SHERRIS, J. C.. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. **Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica**, [S.l.], Section B, n. 217, p.1-90, 1971. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4325956>>. Acesso em: 1 jan. 2017.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. R.; VITORA, D. M.; BATISTA, R. A.; FERREIRA, S. O.; ANDRADE, N. J.; MEDEIROS, E. A. A.; Physical–mechanical and antimicrobial properties of nanocomposite films with pediocin and ZnO nanoparticles. **Brazil Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v.94, p.199–208, 2013. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.01.003 Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713000076>>. Acesso em: 7 jul. 2017.

ESTEVES, A. C.; TIMMONS, A. B.; TRINDADE, T.. Nanocompósitos de matriz polimérica: estratégias de síntese de materiais híbridos. **Química Nova**, [S.l.], v.27, n.5, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000500020>>. Acesso em: 7 jul. 2017.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Part 182 - **Substances generally recognized as safe**, [S.l.], 2011. Disponível em: <<http://ecfr.gpoaccess.gov/cgi/t/text/text-idx?c=ecfr&sid=786bafc6f6343634fbf9fcdca7061e1&rgn=div5&view=text&node=21:3.0.1.1.13&idno=21#21:3.0.1.1.13.9>>. Acesso em: 5 abr. 2017.

GACITUA, W.; BALLERINI, A.; ZHANG, J. Polymer nanocomposites: synthetic and natural fillers a review. Maderas, **Ciencia y tecnología**, [S.l.], v.7, n.3, 2005. DOI: 10.4067/S0718-221X2005000300002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228531035_Polymer_Nanocomposites_Synthetic_and_Natural_Fillers_a_Review>. Acesso em: 15 abr. 2017.

GALINDO, R. B.; DURATE, M. L.; URBINA, P. B.; FERNANDEZ, R. O.; VALDES, S. S.. Surface modification of ZnO nanoparticles. **Materials Science Forum**, [S.l.], v. 644, p. 61–4, 2010. DOI: 10.4028/www.scientific.net/MSF.644.61. Disponível em: <<https://www.scientific.net/MSF.644.61>>. Acesso em: 3 abr. 2017.

GAO, F.. Clay/polymer composites: the story. **Materials Today**, [S.l.], v. 7, n. 11, p. 50 – 55, 2004. DOI: 10.1016/S1369-7021(04)00509-7. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369702104005097>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

GILES JR., H. F.; WAGNER JR., JOHN R.; III MOUNT, Eldrige, M. **Extrusion: the definitive processing guide and handbook**. Norwich: William Andrew, p. 576, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/book/9780815514732>> Acesso em: 5 jun. 2017.

HAN, T. T.; LU, L. X.; GE, C. Development and Properties of High Density Polyethylene (HDPE) and Ethylene-Vinyl Acetate Copolymer (EVA) Blend Antioxidant Active Packaging Films Containing Quercetin. **Packaging Technology of Science**, [S.l.], v.28, n.5, p. 415–423, 2015. DOI:10.1002/pts.2114 Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/268632926_Development_and_Properties_of_High_Density_Polyethylene_HDPE_and_Ethylene-vinyl_Acetate_Copolymer_EVA_Blend_Antioxidant_Active_Packaging_Films_Containing_Quercetin>. Acesso em: 4 fev. 2017.

HE, L., LIU; Y., MUSTAPHA; A., LIN, M.. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. **Microbiological Research**, [S.l.], v. 166, n. 3, p. 207–215, 2011. DOI: 10.1016/j.micres.2010.03.003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20630731>> Acesso em: 5 abr. 2017.

HOTCHKISS, J. H.; APPENDINI, P.. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.l.], v. 3, p. 113_126, 2002. DOI: 10.1016/S1466-8564(02)00012-7. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00012-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00012-7)>. Acesso em: 14 abr. 2017.

HUDZICHI, J.. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. **American Society for Microbiology** [S.l.], 2009. Disponível em: <<http://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

JAMES J. BIEMER Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method. **Annals of Clinical and Laboratory Science**, [S.l.], v. 3, n. 2, 1973. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4575155>>. Acesso em: 10 jan. 2017.

JAMROZ, N. U. Determination of Vinyl Acetate (VA) Content of Ethylene-vinyl Acetate (EVA) Copolymers in Thick Films by Infrared Spectroscopy. **Journal Chemical Society of Pakistan**, [S.l.], v. 25, n. 2, 2003. Disponível em: <<http://www.jcsp.org.pk/ArticleUpload/1409-6373-1-RV.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2017.

JANOTTI, A.; VAN DE VALLE, C.G. Fundamentals of zinc oxide as a semiconductor. **Reports on Progress in Physics**, [S.l.], v.72, p.126501, 2009.

DOI: 10.12691/ajmse-2-2-2. Disponível

em: <<http://www.sciepub.com/reference/53520>>. Acesso em: 14 jan. 2017.

JIN, T., SUN, D., SU, J. Y., ZHANG, H., SUE, H. J. Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, and *Escherichia coli*. **Journal of Food Science**, [S.l.], v.74, n.1, p.46 – 52, 2009.

DOI:10.1111/j.1750-3841.2008.01013.x. Disponível

em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19200107>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

JUAN, X.; HU, W.; MING, D.; LIEHUI, Z. Synthesis and photocatalysis properties of ZnO structures with different morphologies via hydrothermal method. **Applied Surface Science**, [S.l.], v.257, p.6358, 2011. DOI: 10.1016/j.apsusc.2011.01.105.

Disponível em: <https://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:44024624>.

Acesso em: 1 jun. 2017.

KIM, D.; JEON, k.; LEE, Y.; SEO, J. SEO, K.; HAN, K.; KHAN, S..Preparation and characterization of UV-cured polyurethane acrylate/ZnO nanocomposite films based on surface modified ZnO. **Progress in Organic Coatings**, [S.l.], v. 74, n. 3, p. 425-432, 2012. Disponível em:

<[https://www.researchgate.net/publication/229432807_Preparation_and_characterization_of_UV-](https://www.researchgate.net/publication/229432807_Preparation_and_characterization_of_UV-cured_polyurethane_acrylateZnO_nanocomposite_films_based_on_surface_modified_ZnO)

[cured_polyurethane_acrylateZnO_nanocomposite_films_based_on_surface_modified_ZnO](https://www.researchgate.net/publication/229432807_Preparation_and_characterization_of_UV-cured_polyurethane_acrylateZnO_nanocomposite_films_based_on_surface_modified_ZnO)>. Acesso em: 21 jul. 2017.

KRUIJF, N.; VAN BEEST, M.; RIJK, R.; SIPILÄINEN-MALM, T.; LOSADA, P.P.; DE MEULENAER, B. Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. **Food Additives and Contaminants Supplement**, [S.l.],v.19, p.144162,2002. DOI: 10.1080/02652030110072722 Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11962703>>. Acesso em: 23 jul. 2017.

LEE, T. K. Quality and safety aspects of meat products as affected by various physical manipulations of packaging materials. **Meat Science**, [S.l.], v. 86, p. 138–150, 2010. DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.04.035. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.035>>. Acesso em: 20 jul. 2017.

LI, D.; ZHANG, J.; XU, W.; FU, Y. Effect of SiO₂/EVA on the mechanical properties, permeability, and residual solvent of polypropylene packaging films. **Polymer composites**, [S.l.], v. 37, n. 1, p. 101–107, 2014. DOI: 10.1002/pc.23159 Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/264461195_Effect_of_SiO2EVA_on_the_Mechanical_Properties_Permeability_and_Residual_Solvent_of_Polypropylene_Packaging_Films>. Acesso em: 2 jun. 2017.

LI, B.; WANG, Z. W.; LIN, Q. B.; HU, C. Y. Study of the Migration of Stabilizer and Plasticizer from Polyethylene Terephthalate into Food Simulants. **Journal of Chromatography Science**, [S.l.], v.3, n.2, 2016. DOI: 10.1093/chromsci/bmw025. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/297584765_Study_of_the_Migration_of_Stabilizer_and_Plasticizer_from_Polyethylene_Terephthalate_into_Food_Simulants>. Acesso em: 2 abr. 2017.

LI, W., LI, X., ZHANG, P., XING, Y.. Development of nano-ZnO coated food packaging film and its inhibitory effect on Escherichia coli in vitro and in actual tests. **Advanced Materials Research**, [S.l.], v.152, p. 489 - 492, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.152-153.48>>. Acesso em: 2 jun. 2017.

LIN F. **Preparation and characterization of polymer TiO₂ nanocomposites via In-situ polymerization**. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós – Graduação em Química, Universidade de Waterloo, Ontario, Canada, 2006. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/caf4/fd28ace7cd9422132e9a4ab4eaf3ba95fc24.pdf>>. Acesso em: 21 mar. 2017.

LO-TEM-FOE, J. R.; SMET, A. M.G. A.; DIEDEREN, B. M. W.; KEULEN, P. H. J., KLUYTMANS, J. A. J. W.; VAN KEULEN, P. H. J.. Comparative Evaluation of the VITEK 2, Disk Diffusion, Etest, Broth Microdilution, and Agar Dilution Susceptibility Testing Methods for Colistin in Clinical Isolates, Including Heteroresistant *Enterobacter cloacae* and *Acinetobacter baumannii* Strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S.l.], v. 51, n.10, p.3726-3730. Disponível: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17646414>>. Acesso em: 2 abr. 2017.

MALPASS, D. **Introduction to Industrial Polyethylene: Properties, Catalysts, and Processes**. Washington: Editora John Wiley and Sons, p. 56, 2010. 150f. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/9780470900468>>. Acesso em: 24 jul. 2017.

MANRICH, S.. **Processamento de Termoplásticos : rosca única, extrusão e matrizes, injeção e moldes**. São Paulo: Editora Artliber, 2005. Disponível em: <https://books.google.com.br/books/about/Processamento_de_termopl%C3%A1sticos.html?hl=pt-BR&id=7r_-ZwEACAAJ&redir_esc=y>. Acesso em: 21 abr. 2017.

MORTEZA, S., GHADER, K; AMIR, H. Gas permeation properties of ethylene vinyl acetate–silica nanocomposite membranes. **Journal of Membrane Science**, [S.l.], v.322, p. 423–428, 2008. DOI: 10.1016/j.memsci.2008.05.077. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738808005115>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

MOUSAVI, S. A.; GHOLIZADEH, M.; SEDGHI, S.; POURAFSHARI-CHEMAR, M.; BERNALA, M.; SOLTANI, A. Effects of preparation conditions on the morphology and gas permeation properties of polyethylene (PE) and ethylene vinyl acetate (EVA) films. **Chemical Engineering Research and Design**, [S.l.], v. 88, n. 12, p. 15931598, 2010. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263876210001164>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

OMRANI, A.; SIMON, B. L. C.; ROSTAMI, A. A.. The effects of alumina nanoparticle on the properties of an epoxy resin system Materials. **Chemistry and Physics**, [S.l.], v.114, p. 145–150, 2009. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2008.08.090. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/229411202_The_effects_of_alumina_nano_particle_on_the_properties_of_an_epoxy_resin_system>. Acesso em: 28 jan. 2017.

PASCUAL, A. M. D.; VICENTE, A. L. D..ZnO-Reinforced Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) Bionanocomposites with Antimicrobial Function for Food Packaging. **Applied Materials and interface**, [S.l.], v. 6, p. 9822 – 9834, 2014. DOI:10.1021/am502261e. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24846876>>. Acesso em: 3 mai. 2017.

PATEL J, TENOVER F, TURNIDGE J, JORGENSEN J. Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. **Manual of Clinical Microbiology**, [S.l.], 10th Edition, p 1122-1143, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/9781555816728.ch68>>. Acesso em: 23 fev. 2017.

PAUL, D. R.; ROBESON, L. M. Polymer nanotechnology: Nanocomposites. **Polymer**, Oxford, v. 49, n. 15, p. 3187-3204, 2008a. DOI: 10.1016/j.polymer.2008.04.017. Disponível em: <www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386108003157>. Acesso em: 10 abr. 2017.

PREMANATHAN, M., KARTHIKEYAN, K., JEYASUBRAMANIAN, K.,; ANIVANNAN, G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. **Nanomedicine**, [S.l.], v.7, n.2, p.184e192, 2011. DOI: 10.1016/j.nano.2010.10.001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21034861>>. Acesso em: 12 abr. 2017.

SAWAI, J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay., **Journal of Microbiological Methods**. [S.l.], v.54, n. 2, p. 177–182, 2003. DOI: 10.1016/S0167-7012(03)00037-X. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/10729937_Quantitative_Evaluation_of_Antibacterial_Activities_of_Metallic_Oxide_Powders_ZnO_MgO_and_CaO_by_Conductimetric_Assay>. Acesso em: 2 jun. 2017.

SEFADI, J. S.; LUYT, A. S. Morphology and properties of EVA/empty fruit bunch composites. **Journal of Thermoplastic Composite Materials**, [S.l.], v. 25, n. 7, p. 895-914, 2012. DOI: 10.1177/0892705711421806. Disponível em: < <http://jtc.sagepub.com/content/25/7/895.short> >. Acesso em: 06 de ago. 2017.

SEONGPIL A.; BHAVANA, N. J.; MIN, W. L.; YOUNG, K.; SAM, S. Y. Electrospun grapheneZnO nanofiber mats for photocatalysis applications. **Applied Surface Science**, [S.l.], v.294, p.24, 2014. DOI: 10.1016/j.apsusc.2013.12.159. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/260194096_Electrospun_graphene-ZnO_nanofiber_mats_for_photocatalysis_applications>. Acesso em: 16 de ago. 2017.

SILVA, E. O.; VALENTIM, A. C.; TAVARES, M. I. B.. Efeito da adição de TiO₂ nas propriedades térmicas e na cristalinidade do copolímero de etileno/acetato de vinila. **Química Nova**, [S.l.], v. 37, n. 2, p.255-259, 2014. DOI: 10.5935/0100-

4042.20140044. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140044>>. Acesso em: 06 de jun. 2017.

ŠIMON, P.; CHAUDHRY, Q.; BAKOŠ, D.. Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food – a physicochemical view. **Journal of Food and Nutrition Research**, [S.l.], v. 47, n. 3, p. 105–113, 2008. DOI: 10.1080/19440049.2014.952786 Disponível em: <www.vup.sk/en/download.php?bullID=71>. Acesso em: 26 de ago. 2017.

TANG E, CHENG G, MA X, PANG X, ZHAO Q. Surface modification of zinc oxide nanoparticle by PMAA and its dispersion in aqueous system. **Applied Surface Science**, [S.l.], v. 252, n.5227, p.32, 2006. DOI: 10.1016/j.apsusc.2005.08.004 Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433205010664>>. Acesso em: 4 de abr. 2017.

VARGHESE, H; JOHNSON, T.;BHAGAWAN, S.S.; JOSEPH, S.; THOMAS, S.; GROENINCKX, G.. Dynamic mechanical behavior of acrylonitrile butadiene rubber/poly(ethylene-co-vinyl acetate) blends, **Journal of Polymer Science Part B- Polymer Physics**, [S.l.], v.40 n.15, p.1556–1570, 2002. DOI: 10.1002/polb.10204. Disponível em: < <http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/polb.10204/full>>. Acesso em: 12 de abr. 2017.

XIONG, G; PAL, u., SERRANO, J. G.; UCER, K. B.; WILLIAMS, R. T.. Photoluminescence and FTIR study of ZnO nanoparticles: the impurity and defect perspective.. **Physica status solidi**, [S.l.], v.3, n. 10, p.3577–3581 ,2006. DOI 10.1002/pssc.200672164. Disponível em: <<http://www.ifuap.buap.mx/~upal/assets/107.pdf>>. Acesso em: 10 de jun. 2017.

XU, P.; MA, P.; HOCH, M.; ARNOLDI, E.; CAI, X.; DONG, W.; CHEN, M.. Transparent blown films from poly(lactide) and poly(ethylene-co-vinyl acetate) compounds: Structure and property. **Polymer: Degradation and Stability**, [S.l.], v. 129, p. 328 – 337, 2016. DOI: 10.1021/acssuschemeng.5b00462. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssuschemeng.5b00462>>. Acesso em: 18 de jul. 2017.

YAM, K.L.; TAKHISTOV, P.T.; MILTZ, J. Intelligent packaging: concepts and applications. **Journal of Food Science**, [S.l.], v.70, n.1, p.1-10, 2005. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09052.x Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09052.x/full>>. Acesso em: 1 de jul. 2017.

ZHANG, L.; JIANG, Y.; DING, Y.; POVEY, M.; YORK, D.. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). **Journal of Nanoparticle Research**, [S.l.], v.9, n.3, p. 479–489, 2007. DOI: 10.1007/s11051-006-9150-1. DOI: 10.1007/s11051-006-9150-1. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11051-006-9150-1>>. Acesso em: 16 de jul. 2017.

ZHANG, S. P.; SONG, H. O. Supramolecular graphene oxide-alkylamine hybrid materials: variation of dispersibility and improvement of thermal stability. **New Journal of Chemistry**, [S.l.], v.36, p. 1733-1738, 2012. DOI: 10.1039/C2NJ40214A. Disponível em: <<http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/nj/c2nj40214a#!divAbstract>>. Acesso em: 10 de jun. 2017.

ZOHDY, M.H., ABDEL, K.H., EL-NAGGAR A. M., HASSAN M.S.. Microbial detection, surface morphology, and thermal stability of cotton and cotton/polyester fabrics treated with antimicrobial formulations by a radiation method. **Journal Applied Polymer Science**, [S.l.], v.89, n.10, p.:2604, 2003. DOI: 10.1002/app.12472/abstract.

Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.12472/abstract>>.
Acesso em: 19 de abr. 2017.