UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ
INSTITUTO DE MACROMOLECULAS PROFESSORA ELOISA MANO – IMA
PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM CIENCIA E TECNOLOGIA DE POLIMEROS

ÉRICA DA CRUZ FARIA

USO DE NANOPARTÍCULA DE ÓXIDO DE ZINCO EM MATRIZ DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) PARA OBTENÇÃO DE FILMES VISANDO A PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS BIODEGRADÁVEIS

Rio de Janeiro
2019

ÉRICA DA CRUZ FARIA

USO DE NANOPARTÍCULA DE ÓXIDO DE ZINCO EM MATRIZ DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) PARA OBTENÇÃO DE FILMES VISANDO A PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS BIODEGRADÁVEIS

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 Doutor em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientadora: Profª. Drª. Maria Inês Bruno Tavares
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Lopes Dias

Rio de Janeiro
2019

CIP - Catalogação na Publicação

Faria, Érica da Cruz
F224u Uso de nanopartícula de óxido de zinco em matriz de poli(ácido lático) para obtenção de filmes visando a produção de embalagens alimentícias biodegradáveis / Érica da Cruz Faria. -- Rio de Janeiro, 2019.
111 f.

Orientadora: Maria Inês Bruno Tavares.
Coorientadora: Marcos Lopes Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, 2019.

1. Poli(ácido láctico). 2. Nanopartícula de Óxido de zinco. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Cold crystallizattion. 5. Mobilidade molecular. I. Tavares, Maria Inês Bruno , orient. II. Dias, Marcos Lopes , coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

ÉRICA DA CRUZ FARIA

USO DE NANOPARTÍCULA DE ÓXIDO DE ZINCO EM MATRIZ DE POLI(ÁCIDO LÁTICO) PARA OBTENÇÃO DE FILMES VISANDO A PRODUÇÃO DE EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS BIODEGRADÁVEIS

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 Doutor em Ciências, em Ciência e Tecnologia de Polímeros.

Orientadora: Profª. Drª. Maria Inês Bruno Tavares
Coorientador: Prof. Dr. Marcos Lopes Dias

Aprovada em: 29/04/2019.

BANCA EXAMINADORA

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

Coorientador Prof. Dr. Marcos Lopes Dias
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Diego de Holanda Saboya Souza
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Profª. Drª. Gisele Cristina Xavier Valle
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Pedro Paulo Merat
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Dedicado aos meus pais e irmãs, Maria de Fátima e Vicente, Ana Carolina e Júlia por todo carinho, por estarem sempre comigo. Aos meus sobrinhos Rafael e Gabriela por toda a ternura e, em especial, também dedico a minha saudosa tia Rosette, que sempre acreditou em mim, mesmo quando eu mesma não me sentia capaz.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus, por ter me sustentado diante de tantas tribulações. A Ti, meu Senhor, toda a honra, toda a glória e o todo o louvor.

Agradecer à minha família, que sempre esteve comigo nessa jornada.

Aos meus orientadores e amigos, Profa. Maria Inês e Prof. Marcos Lopes, por todo o suporte e carinho que tiveram comigo ao longo desse trabalho. Vocês são muito queridos, agradeço imensamente por tudo.

Aos professores Adriano Gomes da Cruz, Diego de Holanda Saboya Souza, Gisele Cristina Xavier Valle e Pedro Paulo Merat, por aceitarem o convite de participação na banca Examinadora.

Ao IFRJ *campus* Rio de Janeiro, a direção geral, direção de ensino, e aos meus colegas de equipe de Processos Químicos, que supriram minha carga horária para que eu conseguisse finalizar meu doutorado e, as professoras Thais Souza Silveira Majerowicz e Janaína dos Santos Nascimento pelo auxilio e a realização dos ensaios antimicrobianos.

À Universidade Federal do ABC, em especial, ao prof. Dr. Derval Rosa e ao Daniel Rocha pela realização da análise de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução.

Aos meus colegas de laboratório por toda colaboração e todo aprendizado, em especial a Lívia Menezes, por ter me auxiliado na realização das análises de DSC e FTIR.

Agradeço muitíssimo aos meus professores do IMA por todo conhecimento que me foi passado.

Agradeço aos técnicos e funcionários do IMA pelas análises realizadas e pelo suporte que deram para que conseguisse concluir esse trabalho.

RESUMO

Nesta tese foram obtidos filmes de poli(ácido láctico) (PLA) com nanopartículas de óxido de zinco (nanoZnO) de tamanho < 100nm obtidos via extrusão. Foram investigados os efeitos da adição da nanopartícula nos filmes extrudados puro, 0,1; 0,25; 0,3 e 0,5 %m/m. O objetivo foi avaliar a influência da adição da nanopartícula na cristalização de PLA, na atividade antimicrobiana, propriedades térmicas e dinâmico-mecânicas. Os resultados de calorimetria diferencial de varredura (DSC) demostraram que os materiais sofrerem envelhecimento físico na estocagem e somente cristalizavam durante a corrida de aquecimento, dando origem ao fenômeno de *cold crystallization*. Os resultados ressonância magnética no domínio do tempo (RMN-DT) mostraram baixa mobilidade das cadeias evidenciada pelos valores de tempo de relaxação (T_1H) impediu que os filmes tivessem grau de cristalinidade elevado, os filmes são praticamente amorfos, bem como, interferiu na atividade biocida, já que a mobilidade da cadeia é um fator importante tanto para cadeia cristalizar quanto para difusão da nanopartícula e consequente, permitir a atividade biocida da nanoZnO. O processamento por extrusão para obtenção dos filmes pode ter influenciado na atividade antimicrobiana. Os resultados da análise termogravimétrica (TGA) mostraram que houve uma diminuição da estabilidade térmica, com o aumento da concentração da nanopartícula de ZnO. Na análise de dinâmico-mêcanica (DMA), o módulo de armazenamento tendeu a aumentar com o teor da nanopartícula. Foi observado as relaxações secundárias e primárias. O fenômeno de *cold crystallization* também foi evidenciado, corroborando com o DSC.

Palavras-chaves: Extrusão. Mobilidade molecular. *Cold crystallization*. Entalpia de relaxação. Atividade antimicrobiana. DSC. TGA. DMA. RMN-DT.

ABSTRACT

In this thesis, poly(lactic acid) (PLA) films containing zinc oxide nanoparticles (nanoZnO) of average size under 100 nm were obtained by melt mixture processing. The effects of the incorporation of the nanoparticle (0.1; 0.25; 0.3 and 0.5 wt%) in the extruded films were investigated. The objective was to evaluate the influence of nanoparticle incorporation on PLA crystallization, antimicrobial activity, thermal and dynamic-mechanical properties. The results of differential scanning calorimetry (DSC) showed that the materials undergo physical aging during storage while crystallization was observed during the heating cycle, giving rise to the phenomenon of cold crystallization. The results in the time domain (NMR-DT) showed low mobility of the chains evidenced by relaxation time values (T_1H), which presumably prevented the films from having higher crystallinity degree; the obtained films are practically amorphous and they interfered in the biocidal activity, since chain mobility is an important factor both for chain crystallization and nanoparticle diffusion, and consequently, it allows the biocidal activity of nanoZnO. The extrusion processing may have influenced the antimicrobial activity. The results of thermogravimetric analysis (TGA) showed a decrease in thermal stability along with the increase of the nanoparticle concentration. In the dynamic-mechanical analysis (DMA), the storage module tended to increase with the nanoparticle content. Secondary and primary relaxations were observed. The phenomenon of cold crystallization was also evidenced, corroborating the DSC results.

Keywords: Extrusion. Molecular mobility. Cold crystallization. Relaxation enthalpy. Antimicrobial activity. DSC. TGA. DMA. NMR-DT.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Isômeros do lactídeo. 24

Figura 2. Rotas de polimerização para a produção do PLA mais comuns. 25

Figura 3. Diferentes microestruturas de taticidade do PLA. 26

Figura 4. Diagrama esquemático para as embalagens (A) ativas e (B) inteligentes. 28

Figura 5. Mecanismos de ação das nanopartículas de prata nas bactérias. 34

Figura 6. Esquema para vias de produção de nanopartículas, segundo as abordagens *top down* e *bottom up*. 37

Figura 7. O mecanismo de síntese provável do tipo *bottom up* para formação das nanopartículas. 37

Figura 8. Esquema para o preparo de ZnONPs. 38

Figura 9. Micrografia eletrônica de varredura com emissão de campo das nanopartículas de óxido de zinco revestido de óxido de ferro magnético nanométrico. 39

Figura 10. Zonas de inibição de (a) e (c) da amostra de controle (PS-b-PEO sem nanopontos de prata) para *P. fluorescens* e *S. aureus*, respectivamente, (b) e (d) PS-b-PEO com nanopontos de prata (4% de $AgNO_3$) para *P. fluorescens* e *S. aureus*, respectivamente. 40

Figura 11. Compostos de imagem após incubação de quatro espécies de fungos (1a, 1b, 1c e 1d) e sem CuNPs; (2a, 2b, 2c e 2d) - com 0,6% de CuNPs e (3a, 3b, 3c e 3d) - com 1,0% de CuNPs. 41

Figura 12. Imagens de *E. coli* incubadas (a) com uma lâmina de vidro com 0,65% em peso de nanopartículas de ZnO (inibição, formação de halo) e (b) lâmina de vidro intocada (controle, sem ZnO) observa nenhuma zona de inibição. 42

Figura 13. Teste da atividade antibacteriana de PLA puro (a e c) e nanocompósito de PLA com 10% em massa de ZnO-nanotubos de haloisita (ZnO-Hal) (b e d) após 1 dia de tempo de incubação. 43

Figura 14. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de PLA reforçados com ZnO e ZnO-Hal em diferentes composições: (a) resistência à tração, (b), módulo de elasticidade e (c), o alongamento na ruptura. 43
Figura 15. Efeito do tipo de embalagem na inativação de *L. plantarum*. CFU = UFC, que é Unidade Formadora de Colônias. 44
Figura 16. Curva de TGA dos filmes nanocompósitos com maior concentração de nanopartículas de ZnO (19,5% ZnO; 33% PED), maior concentração de pediocina (11% ZnO; 50% PED) e filme de controle. 46
Figura 17. A atividade antimicrobiana de filmes nanocompósitos: (a) incorporados com nanopartículas de ZnO (17%, w/w) e pediocina (20%, w/w) e (b) filme de controle contra *L. monocytogenes* (A) e *S. aureus*. 46
Figura 18. Atividade antimicrobiana em filmes nanocompósitos de gelatina com diferentes concentrações AgNPs contra patógenos bacterianos *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus* em (a) meio de Agar e (b) solução líquida. 47
Figura 19. (a e b) Evolução do log10 CFU (Unidades Formadoras de Colônias) em vários intervalos de tempo de *E. coli* (a) e *S. aureus* e (b) sobre a superfície do PLA e filmes nanocompósitos de PLA-ZnO. 48
Figura 20. Imagens em diferentes ampliações de TEM dos filmes nanocompósitos PLA contendo 2% em peso de nanopartículas de ZnO (a, b) não tratada e (c, d) superfície tratada com silano. 48
Figura 21. Tratamento de superfície de nanopartículas de TiO_2 por ácido propanóico e alquil amina para melhorar a sua dispersão em matriz PLA. 49
Figura 22. Avaliação da ação antibacteriana para (A) filme controle (sem nanopartícula de ZnO) e (B) filme de amido com PE e nanopartículas de ZnO observação do halo pelo "método de zona de inibição". 50
Figura 23. Atividade antimicrobiana dos filmes nanocompósitos de gelatina/ nanopartículas de ZnO contra (a) *L. monocytogenes* e (b) *E. coli*. 50
Figura 24. Atividade antimicrobiana dos vários filmes nanocompósitos contra (a) de *E. coli* e (b) *L. monocytogenes.* 51

Figura 25. Princípio do teste suscetibilidade pela metodologia do disco-difusão. 62
Figura 26. Inocula em três diferentes direções. 63
Figura 27. Esquema de distribuição dos filmes. 63
Figura 28. Esquema da técnica antibiograma método de difusão em meio líquido. 64
Figura 29. Filmes de PLA com diferentes percentuais de nanoZnO. 65
Figura 30. Imagens de MEV-FEG para amostra de PLA puro: (a) aumento de 900x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x. 67
Figura 31. Imagens de MEV-FEG para amostra de PLA com 0,1% de nanoZnO: (a) aumento de 5000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 25000x e (d) aumento de 75000x. 67
Figura 32. Imagens de MEV-FEG para amostra de PLA com 0,25% de nanoZnO: (a) aumento de 10000x, (b) aumento de 20000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x. 68
Figura 33. Imagens de MEV-FEG para amostra de PLA com 0,3% de nanoZnO: (a) aumento de 10000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x. 68
Figura 34. Imagens de MEV-FEG para amostra de PLA com 0,5% de nanoZnO: (a) aumento de 5000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x. 69
Figura 35. (a) Difratogramas de PLA puro e dos PLA com nanoZnO para as concentrações 0,1; 0,25; 0,3; 0,5 m/m % e (b) difratograma da nanopartícula de óxido de zinco (nanoZnO). 70
Figura 36. (a) TG e (b) DTG termogramas de PLA puro e PLA/nanoZnO. 72
Figura 37. Curvas de DSC do 1° aquecimento e do 2° aquecimento para as taxas de 3°C/min (a) e (b), 5°C/min (c) e (d), 7°C/min (e) e (d) e 10°C/min (e) e (f) para os filmes de (—) PLA puro, (—) PLA com 0,1%m/m de nanoZnO, (—) PLA com 0,25% m/m de nanoZnO, (—) PLA com 0,3% m/m de nanoZnO e (—) PLA com 0,5% m/m de nanoZnO. 73
Figura 38. Curvas de DSC para *pellet* de PLA à taxa de 10°C/min. 75

Figura 39. Curvas de distribuiçao de domínios T_1H para PLA e os nanocompósitos de PLA/ZnO. 83
Figura 40. Espectros de NMR de ^{1}H em solução do PLA. 84
Figura 41. Espectros de NMR de ^{13}C em solução do PLA (a) sem APT (b) com APT. 85
Figura 42. Espectros de Infravermelho dos filmes de PLA com diferentes teor de nanopartículas ZnO. 87
Figura 43. Espectro de Infravermelho da nanopartícula ZnO. 88
Figura 44. Curvas de tan δ em função da temperatura para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO. 90
Figura 45. Curvas de módulo de armazenamento (E') em função da temperatura para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO. 91
Figura 46. Resultado do teste antimicrobiano pelo método de difusão em disco. 93
Figura 47. Resultado do teste antimicrobiano pelo método de difusão em meio líquido. 94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Embalagens e utensílios alimentícios antimicrobianos comerciais. 30

Tabela 2. Principais aplicações da nanotecnologia na indústria alimentícia. 31

Tabela 3. TGA e DTG: Temperaturas características das amostras correspondentes de nanocompósitos PLA e PLA/ZnO. 71

Tabela 4. Propriedades térmicas obtidas a partir da DSC para a primeira corrida de aquecimento: temperatura no pico entálpico (T_r), entalpia de relaxação (ΔH_r) das amostras correspondentes de nanocompósitos PLA e PLA/ZnO. 76

Tabela 5. Propriedades térmicas determinadas a partir de medições DSC para primeira corrida de aquecimento: Temperatura de *cold crystallization* (T_{cc}), entalpia *cold crystallization* (ΔH_{cc}), temperatura de fusão (T_m), entalpia em fusão (ΔH_m) e grau de cristalização (X_c) das amostras de PLA puro e nanocompósitos de PLA/ZnO. 78

Tabela 6. Valores de MM obtidos e percentuais de redução de MM. 81

Tabela 7. Valores dos tempos de relaxação do hidrogênio de acordo com o percentual de nanoZnO presente nos filmes de PLA. 82

Tabela 8. Assinalamento dos espectro de NMR de ^{13}C do *pellet* de PLA. 86

Tabela 9. Valores das temperaturas para os picos médios da tan δ e dos módulos de armazenamento a obtidos com as análises de DMA para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO. 90

Tabela 10. Resultado da contagem de células das bactérias analisadas (UFC = Unidade formadora de colônia). 92

ABREVIATURAS E SIGLAS

α^*	Relaxações secundárias relacionadas com a fração cristalina
ΔH_{cc}	Entalpia de *cold crystallization*
ΔH_m	Entalpia de fusão
$\Delta H_m°$	Entalpia de fusão padrão
ΔH_r	Entalpia de relaxação
AgNPs	Nanopartículas de prata
AM	Embalagens antimicrobianas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC®	*American Type Culture Collection*
ATR	Refletância total atenuada
CuNPs	Nanopartículas de cobre
DMA	Análise de dinâmico-mêcanica
DRX; XRD	Difração de raios X
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
DTG	Termogravimetria derivada
E’	Módulo elástico ou de armazenamento
E’’	Módulo de dissipação viscosa ou de perda
FDA	*Food and Drug Administration*
FID	Decaimento de indução livre
f_{PLA}	Fração molar de PLA
FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
GPC	Cromatografia de permeação em gel
GRAS	*Generally recognized as safe*
IFRJ	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro
MC	Metil-celulose
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução
MM	Massa molar
M_n	Massa molar numérica média
M_w	Massa molar ponderal média
M_w/ M_n	Polidispersão

NanoZnO; ZnONPs	Nanopartículas de óxido de zinco
NRM-DT; RMN-DT	Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo
PA	Poliamida
PCL	Policaprolactona
PDLA	poli(D-lactídeo)
PED	Pediocina
PET	Poli(tereftalato de etileno)
PGA	Poli(ácido glicólico)
PHA	Polihidroxialcanoatos
PHB	Polihidroxibutirato
PHBV	Poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato)
PLA	Poli(ácido lático)
PLLA	Poli(L-lactídeo)
PP	Polipropileno
PS-b-PEO	Copolímero em bloco de poliestireno-poli(oxido de etileno)
PVA	Poli(acetato de vinila)
rGO-ZnO	Nanopartículas de óxido de grafeno reduzido-óxido de zinco
RMN; NMR	Ressonância Magnética Nuclear
ROP	*Ring opening polimerization*
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SEBS	Copolímero tribloco de estireno (etileno-butileno)-estireno
SEM; MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Tα*	Temperatura de transição α*
T_1H	Tempo de relaxação
tan δ; E''/E'	Tangente de perda ou amortecimento mecânico, ou ainda, atrito interno
T_{cc}	Temperatura de *cold crystallization*
T_{endset}	Indica que a variação de massa com a temperatura foi concluida
T_g	Temperatura transição de vítrea
TGA	Análise termogravimétrica

T_m	Temperatura de fusão
T_{onset}	Menor temperatura, a qual se pode evidenciar o ínicio da variação de massa
T_{peak}	Temperatura do pico na curva DTG
T_r	Temperatura no pico de relaxação entálpica
UFABC	Universidade Federal do ABC
UFC; CFU	Unidade Formadora de Colônias
X_c	grau de cristalidade
ZnO-Hal	Óxido de zinco depositado em nanotubos de haloisita

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	19
2	**OBJETIVOS**	22
2.1	OBJETIVO GERAL	22
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3	**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**	24
3.1	POLI(ÁCIDO LÁTICO)	24
3.2	EMBALAGENS: DEFINIÇÃO, FUNÇÕES E TIPOS	26
3.3	O USO DE NANOTECNOLOGIA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA	30
3.4	NANOPARTÍCULAS	32
3.4.1	**Síntese de Nanopartículas**	35
3.4.2	**Materiais com Propriedade Antimicrobiana**	39
4	**METODOLOGIA**	52
4.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	52
4.1.1	**Materiais**	53
4.1.2	**Equipamentos**	53
4.2	MÉTODO DE OBTENÇÃO DOS MATERIAIS	54
4.2.1	**Obtenção dos filmes por fusão (extrusão)**	54
4.3	MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS	55
4.3.1	**Microscopia Eletrônica de Varredura de alta resolução (MEV-FEG)**	55
4.3.2	**Difração de Raios X**	56
4.3.3	**Análise Térmica**	56
4.3.3.1	Análise termogravimétrica (TGA)	56
4.3.3.2	Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	57

4.3.4 Cromatografia de permeação em gel (GPC) 58
4.3.5 Ressonância Magnética Nuclear 58
4.3.5.1 Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (RMN-DT) 59
4.3.5.2 Ressonância Magnética Nuclear em solução 60
4.3.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) 60
4.3.8 Análise dinâmico-mecânica (DMA) 61
4.3.9 Avaliação da propriedade antimicrobiana 61
4.3.9.1 Método de difusão em disco 62
4.3.9.2 Método de difusão em meio líquido 63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 65
5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ALTA RESOLUÇÃO (MEV-FEG) 66
5.2 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X (XRD) 69
5.3 ANÁLISE TERMICA 71
5.3.1 Análise termogravimétrica 71
5.3.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC) 73
5.4 CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL (GPC) 80
5.5 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR) 81
5.5.1 NMR no domínio do tempo 81
5.5.2 NMR em solução 83
5.6 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR) 86
5.7 ANÁLISES DINÂMICO-MECÂNICAS (DMA) 88
5.8 TESTE ANTIMICROBIANO 92
6 CONCLUSÕES 95
7 SUGESTÕES 96
REFERENCIAS 97

1 INTRODUÇÃO

Do campo até a mesa, uma série de possibilidades de perda de alimentos pode ocorrer e isso naturalmente ocorre. Até cerca de 50% dos alimentos produzidos são desperdiçados ao longo da cadeia de abastecimento e não chegam aptos à mesa do consumidor (KADER, 2005; STELLA, 2019). Nos Estados Unidos, 30% a 50% dos alimentos produzidos são perdidos ou desperdiçado. Estas perdas ocorrem ao longo de várias fases da cadeia de abastecimento até consumo (MUTH *et al*., 2019). A perda relacionada à contaminação de alimentos, levando à deterioração e ao crescimento de micro-organismos nocivos à saúde, pode ocorrer quando o alimento é exposto ao meio ambiente, durante a colheita ou o abate, no processamento, no envase nas embalagens, no armazenamento e durante o transporte. As técnicas tradicionais de conservação de alimentos[1] podem estender o tempo de prateleira de alimentos, mas não inibem o crescimento de micro-organismos patogênicos, os quais colocam em risco a saúde dos consumidores (SUNG *et al*., 2013). Daí a importância do uso de embalagem como estrutura para acondicionamento de alimentos, que vai protegê-los da adulteração e de possíveis contaminações de fontes biológicas, químicas e físicas (PRASAD; KOCHHAR, 2014).

O aumento da demanda por novos materiais para fabricação de embalagens alimentícias que atendam aos requisitos desejáveis, tanto por parte dos fabricantes quanto do mercado consumidor, tem conduzido o avanço da ciência de nanomateriais, com grande interesse em novos sistemas de embalagens do tipo inteligentes e/ou ativas que possam suprir essas demandas de uma maneira aceitável e rentável (CRUZ-ROMERO *et al*., 2013; MAJEED *et al*., 2013). O principal foco dessas novas aplicações no setor é garantir que o alimento tenha uma maior durabilidade e que permaneça o mais saudável possível até seu consumo (CHAUDHRY; CASTLE, 2011).

Além disso, nos últimos anos, houve um crescente interesse científico e industrial pela utilização de biopolímeros devido a uma série de fatores, que incluem a demanda pelo consumo de materiais “ambientalmente mais sustentáveis”, o desenvolvimento de novas matérias-primas de base biológica e, em especial, para reduzir o uso de polímeros origem petroquímica. Esses fatores são importantes particularmente em aplicações como embalagens industriais, indústria automotiva, elétrica e eletrônica, na área biomédicas, incluindo engenharia de tecidos, de

[1] Entende-se como técnicas tradicionais de conservação de alimentos a secagem, o aquecimento, o congelamento, a fermentação e a salga (SUNG *et al*., 2013).

medicamentos, odontologia, entre outros. Neste contexto espera-se que novos avanços tecnológicos levem os biopolímeros a um lugar de destaque no mercado, não só nos setores tradicionais, como embalagens, mas também no transporte, na indústria automotiva e eletrônica, ou em outras aplicações com maior potencial de lucro, como a área biomédica (JAYARAMUDU *et al.*, 2014; MURARIU; DUBOIS, 2016; SCAFFARO; LOPRESTI; BOTTA, 2017).

O desenvolvimento de embalagens para alimentos a partir de biopolímeros tem sido uma alternativa favorável devido a característica de biodegradabilidade. Entretanto, os biopolímeros apresentam baixa temperatura de deflexão térmica (HDT), baixa resistência aos processamentos prolongados e propriedades mecânicas ruins (são geralmente quebradiços) em relação aos materiais convencionais não biodegradáveis oriundos do petróleo. Neste contexto, a nanotecnologia traz oportunidades significativas para minimizar estas deficiências, melhorar propriedades térmicas e mecânicas e gerar outras diferenciadas com efeito antimicrobiano e/ou antioxidante através da utilização de nanopartículas (LAGARON; LOPEZ-RUBIO, 2011; PRASAD; KOCHHAR, 2014; OTHMAN, 2014).

Entre os plásticos biodegradáveis de fontes renováveis, o poli(lactídeo) ou poli(ácido láctico) (PLA) é um dos materiais mais promissores, pois é um material termoplástico, biodegradável e biocompatível, de boa processabilidade, excelente transparência e baixo custo, não tóxico e apresenta transição vítrea (Tg) no intervalo de 55-60°C. O PLA é formado pelos enantiômeros de poli(L-lactídeo) (PLLA) e poli(D-lactídeo) (PDLA) e seu grau de cristalinidade depende do grau de pureza óptica de PLLA presente, podendo ser altamente cristalino e apresentar temperatura de fusão cristalina (T_m) acima de 180°C. Geralmente, os PLAs comerciais apresentam em sua maioria o isômero PLLA e uma pequena quantidade de PDLA, que por sua vez, reduz a pureza óptica e consequentemente diminui a cristalização, interferindo nas propriedades mecânicas, ópticas e térmicas. O PLA cristaliza muito lentamentamente podendo cristalizar a partir do resfriamento lento e controlado até o estado vítreo e/ou apresentar o fenômeno de *cold crystallization* durante o aquecimento (SARASUA, *et al.*, 1998; BOJDA; PIORKOWSKA, 2016; MURARIU; DUBOIS, 2016; ROSLI *et al.*, 2016; RAHMAN; ISLAM; LI, 2018). A *cold crystallization* ocorre quando a cristalização não se dá completamente durante o processo de resfriamento. Quando o polímero é aquecido a uma temperatura moderada, formam-se cristais. A adição de cargas

influencia fortemente o comportamento da matriz de PLA e pode favorecer a cristalização através de nucleação, o que geralmente reduz o efeito de *cold crystallization* (BASU *et al.*, 2016).

Embora o PLA apresente algumas vantagens, sua inerente fragilidade e baixa estabilidade térmica restringem suas aplicações. No entanto, a adição de cargas de reforço dentro da matriz PLA, nas escalas micro e/ou nano tem sido considerada um método promissor para melhoria das propriedades mecânicas e térmicas, podendo ainda, proporcionar características diferenciadas, como propriedade de barreira a gases, atividade antimicrobiana e/ou proteção à radiação ultravioleta (LI; FU; MAI, 2006; SAEIDLOU *et al.*, 2012; AHMED *et al.*, 2017; ZHOU *et al.*, 2018).

A incorporação de nanopartículas como cargas em polímeros tem atraído interesse considerável devido à potencial melhoria nas propriedades com níveis baixos de concentração, em particular, aprimoramentos nas propriedades térmica, mecânica e de barreira. Em especial, nanopartículas de óxido de zinco (NPs de ZnO) são de origem inorgânica e consideradas “ambientalmente amigável” e alguns estudos demonstram propriedades antibacteriana ou proteção à radiação ultravioleta (BASU *et al.*, 2016; AHMED *et al.*, 2017).

As nanopartículas de óxido de zinco são, talvez, o aditivo mais pesquisado devido às propriedades piezoelétrica, eletrônica, óptica, magnética, eletroquímica, adsortiva, catalítica sobre as quais atraiu inúmeros interesses para fotodetecção, fotocatalização, fotovoltaico, energia conversão e armazenamento, detecção e aplicações antibacterianas (DASTAFKAN *et al.*, 2017).

É bem difundido e aceito que as propriedades mecânicas e físicas dos polímeros semicristalinos sejam governadas pela morfologia da superestrutura molecular, que, por sua vez, é controlada pelo processo de cristalização. Sendo assim, as propriedades dos polímeros semicristalinos, como o PLA, dependem do comportamento de cristalização. A adição de nanocargas na matriz influencia o comportamento de cristalização e consequentemente, modifica as propriedades mecânicas e térmicas comparadas ao PLA puro. No campo da nanociência, os nanocompósitos interferem nas propriedades mecânicas, temperatura de distorção de calor e permeabilidade a gás de oxigênio (WU *et al.*, 2007; FORTUNATI *et al.*, 2012; KRATOCHVÍL; KELNAR, 2017; LAI *et al.*, 2017). Assim, o objetivo principal desse trabalho é a preparação de filmes por extrusão usando nanopartículas de óxido de

zinco em matriz de poli(ácido lático) visando a produção de embalagens alimentícias biodegradáveis com boa performance, em relação às propriedades térmicas e/ou mecânicas. Para isso, é necessário compreender o efeito da concentração da nanopartícula de ZnO na matriz de PLA.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse trabalho é o desenvolvimento e a caracterização de filmes extrudados de nanocompósitos à base de poli(ácido lático) (PLA) e de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO) visando seu uso em embalagens alimentícias biodegradáveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos do trabalho são:

- ✓ Preparar filmes de PLA e de nanocompósitos de PLA/nanopartículas de ZnO obtidos por fusão (via extrusão);
- ✓ Avaliar propriedades dinâmico-mecânicas, químicas, térmicas e morfológicas dos filmes;
- ✓ Estudar o comportamento não-isotérmico de fusão e a *cold crystallization* do PLA, pois é necessário para compreender as condições de processo de cristalização PLA devido à importância para o processamento e aplicação do PLA e, estabelecer as correlações estrutura-propriedade do PLA;
- ✓ Avaliar o efeito do teor (concentração) da nanopartícula de ZnO na matriz de PLA, bem como o método de obtenção nas propriedades térmicas e mecânicas dos filmes;
- ✓ Avaliar a influência da adição em diferentes concentrações de nanoZnO na mobilidade molecular dos filmes obtidos por meio do estudo de relaxação por RMN e por fim;

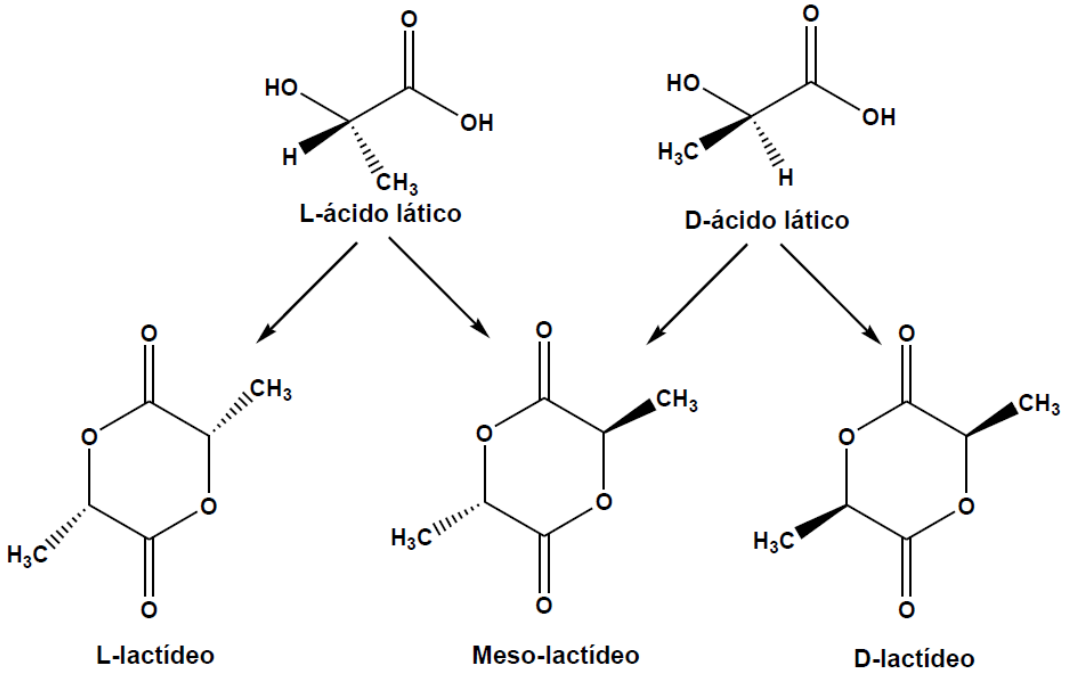
- ✓ Investigar se os filmes preparados apresentam propriedades antimicrobianas contra as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213, *Salmonella enterica* subsp*. enterica* sorotipo Typhi ATCC® 19214 e *Escherichia coli* ATCC® 25922.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLI(ÁCIDO LÁTICO)

Poli(ácido láctico) ou polilactídeo (PLA) é um polímero biodegradável que pode ser produzido a partir de recursos renováveis. É um poliéster termoplástico alifático, que possui um alto módulo, alta resistência e boa clareza, sintetizado a partir do monômero de ácido láctico. O ácido láctico trata-se de uma molécula estereogênica que pode se apresentar na forma de três isômeros: L-lactídeo, D-lactídeo e meso-lactídeo (Figura 1). A mistura racêmica (equimolar) dos isômeros D (-) e L (+) é opticamente inativa. O ácido láctico é obtido por fermentação bacteriana oriunda principalmente, de fontes vegetais ou animais, tais como amido, celulose, resíduos de peixe, e outra biomassa (SAEIDLOU *et al.*, 2012; HUANG *et al*., 2016; JIANG; ZHANG, 2017; OLIVEIRA, 2017 JIN; HU; PARK, 2018).

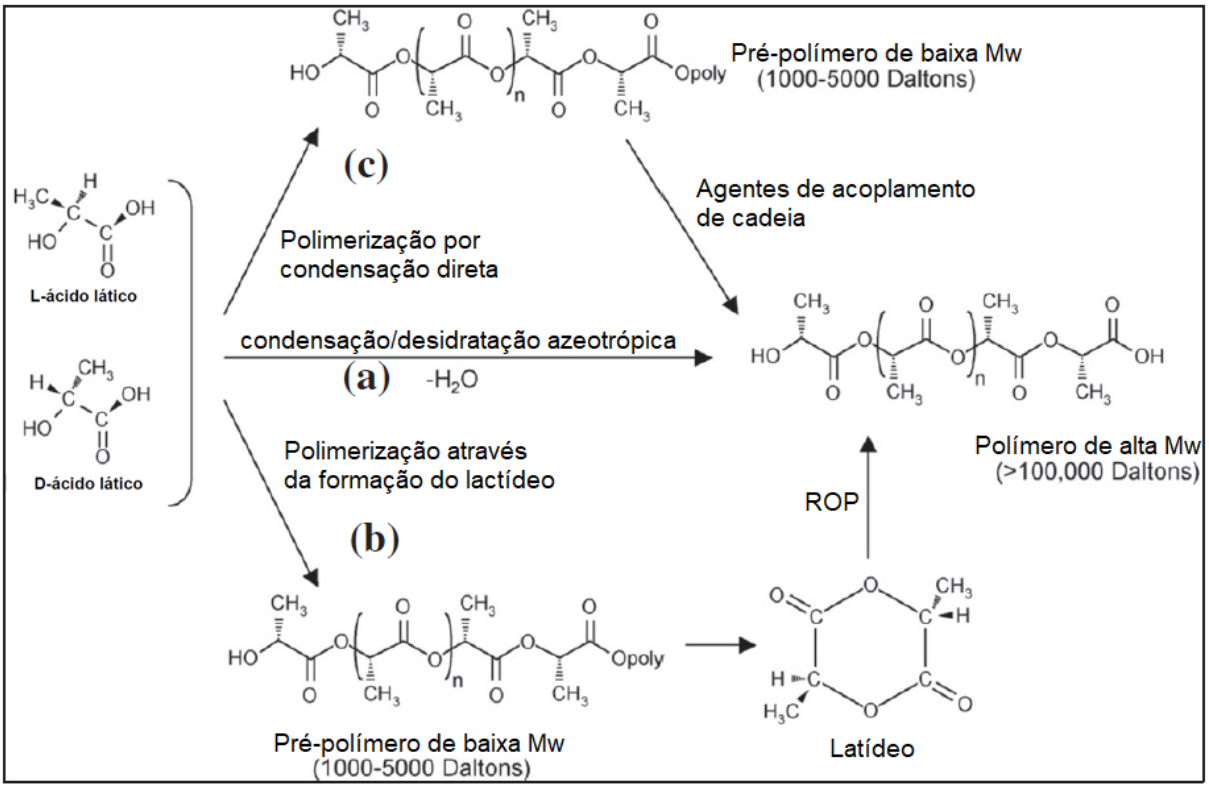
Figura 1. Isômeros do lactídeo.



Fonte: OLIVEIRA (2017).

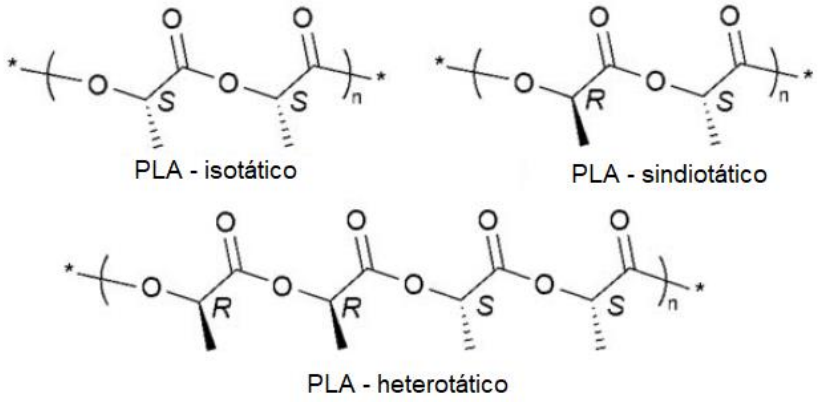
O PLA pode sintetizado usando três rotas principais: (a) polimerização por condensação direta, que envolve as polimerizações por (i) condensação/desidratação azeotrópica, (ii) em estado fundido e (iii) em estado sólido, (b) polimerização de abertura de anel (*ring opening polimerization* – ROP) e (c) polimerização enzimática. Desde 1932, o PLA é produzido por policondensação direta do ácido láctico ou por polimerização de abertura de anel do lactídeo (Figura 2), que é um dímero cíclico de ácido láctico, obtido por desidratação do ácido láctico. Industrialmente, a polimerização de abertura de anel é o método mais usado para obter PLA de alta massa molar, baixa polidispersão e com controle na taticidade (Figura 3). A polimerização por condensação direta embora seja um método menos dispendioso, devido a dificuldade de remoção completa da água na mistura reacional, gera PLA de baixa massa molar, necessita de longos tempos de reação e temperaturas elevadas. Para produzir PLA de alta qualidade, é necessário purificar o monômero de ácido láctico obtido a partir do processo de fermentação industrial (ROBERTSON, 2013a, 2013b, 2014; MURARIU; DUBOIS, 2016; JIANG; ZHANG, 2017; OLIVEIRA, 2017).

Figura 2. Rotas de polimerização para a produção do PLA mais comuns.



Fonte: MURARIU; DUBOIS (2016).

Figura 3. Diferentes microestruturas de taticidade do PLA.



Fonte: WHEATON, *et al*. (2008).

Geralmente, os PLAs comerciais apresentam em sua maioria o isômero PLLA e uma pequena quantidade, em torno de ±4%, de PDLA, que por sua vez, reduz a pureza óptica, diminuindo a cristalização, o que interfere nos desempenhos físicos e mecânicos, já são estritamente relacionados à estereoquímica da cadeia (SARASUA, *et al.*, 1998; BOJDA; PIORKOWSKA, 2016; MURARIU; DUBOIS, 2016; ROSLI *et al.*, 2016; RAHMAN; ISLAM; LI, 2018; SIRACUSA; LOTTI, 2018).

3.2 EMBALAGENS: DEFINIÇÃO, FUNÇÕES E TIPOS

Atualmente, nesta sociedade, não há como negar que a embalagem é essencial e difundida e é, difícil imaginar a vida sem ela e, em muitos casos, o consumidor mal percebe que ela está lá, muito menos quais são as suas funções. A embalagem envolve, aprimora e protege os produtos que compramos, desde o processamento e fabricação, passando pelo manuseio e armazenamento, até o consumidor final e, sem ela, o manuseio de materiais seria um exercício confuso, ineficiente e dispendioso e, o marketing de consumo moderno seria virtualmente impossível. Embalagem de alimentos encontra-se no coração da moderna indústria de alimentos, faz parte da história da humanidade e, agora, mais do que nunca, a tecnologia de embalagem é usada para permitir que os alimentos viajem com segurança por longas distâncias e mantendo-se saudáveis e nutritivos até o seu consumo (EMBLEM, 2012; ROBERTSON, 2018).

Segundo a Resolução RDC nº 91, de 11 de maio de 2001, da ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que diz:

> Embalagem para alimentos é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los, desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações.

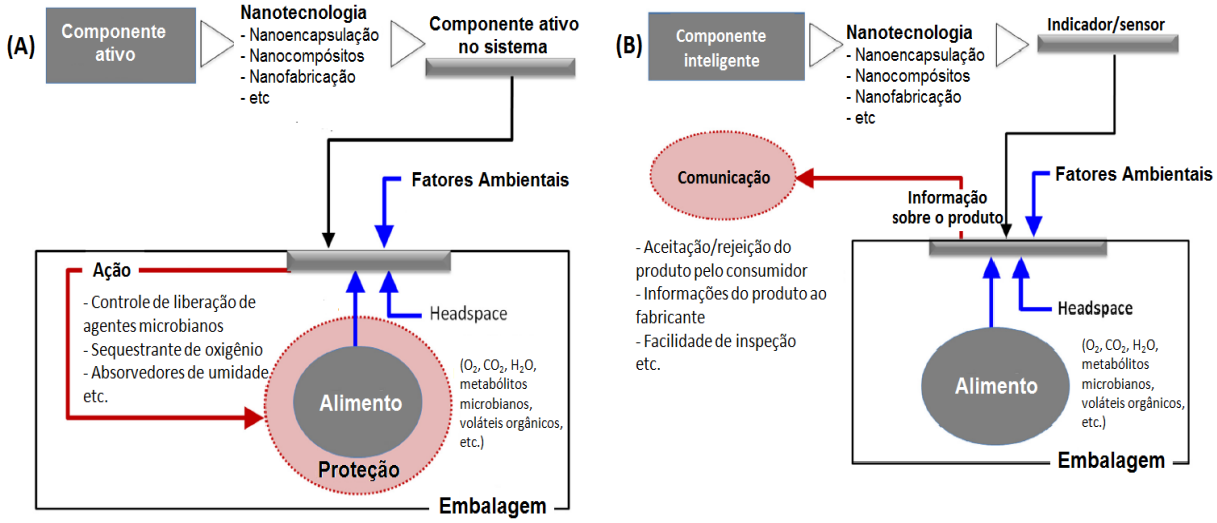
Uma boa embalagem deve agir como um sistema de barreira para reduzir a passagem de contaminantes para os alimentos. Além dessa propriedade, a embalagem não deve ser tóxica; deve manter a qualidade e a segurança alimentar durante o armazenamento e transporte; prolongar o tempo de prateleira, impedindo condições favoráveis para o crescimento microbiano; ter proteção de barreira contra voláteis; deve dificultar o ganho ou a perda de umidade; ter proteção contra luz; deve apresentar informações e identificações de exigências legais e ser forte o suficiente para resistir às forças mecânicas, evitando se romper facilmente (ALTOÉ, 2009; SUNG *et al*., 2013).

O desenvolvimento de embalagens de alimentos está atrelado em ter boa propriedade de barreira. Além disso, várias nanoestruturas podem ser úteis para proporcionar propriedades ativas e/ou inteligentes, tais como: propriedades antimicrobianas, capacidade de eliminação de oxigênio, imobilização de enzimas, ou de indicação do grau de exposição a alguns fatores prejudiciais, como a temperatura ou o oxigênio em níveis inadequados (RHIM; PARK; HA, 2013).

Ao contrário de embalagens convencionais, que são totalmente inertes quimicamente, as ativas são elaboradas para interagir com o conteúdo e/ou o meio ambiente. A incorporação de nanopartículas, em especial, de prata e/ou de óxido de metal como agentes antimicrobianos, conduz a interação com o alimento no sentido de sua preservação, segurança, qualidade e prolongamento do prazo de validade. Sistemas de embalagens ativas incluem absorvedores de oxigênio, sequestrantes de etileno, sistema de controle de liberação/absorção de sabor/odor, antimicrobiana e tecnologias de embalagens antioxidantes. Sistemas de embalagens inteligentes incluem indicadores de tempo e temperatura, detectores de gás e frescor e/ou indicadores de maturação. A presença de nanodispositivos na matriz polimérica consegue monitorar a existência de algum dano e/ou violação que pode influenciar na

estabilidade/qualidade do alimento. O reconhecimento dos benefícios dos sistemas ativos e inteligentes na indústria de alimentos e o aumento da aceitação do consumidor são necessários para a realização comercial destas tecnologias no setor. Avanços na nanotecnologia também irão permitir o desenvolvimento de novas embalagens ativas e inteligentes (SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011; AZEREDO, 2013; PRASAD; KOCHHAR, 2014). Na Figura 4, pode-se observar o diagrama esquemático para as embalagens ativas e inteligentes.

Figura 4. Diagrama esquemático para as embalagens (A) ativas e (B) inteligentes.



Fonte: Adaptado de MIHINDUKULASURIYA; LIM (2014).

A maior parte das embalagens industriais produzidas ainda é oriunda do petróleo e não é biodegradável. São de grande importância e comumente usados na indústria alimentícia, estando presentes em nosso cotidiano, o polietileno (PE), o polipropileno (PP), o poli(tereftalato de etileno) (PET) e a poliamida (PA). No entanto, o crescente emprego destes polímeros no setor, levantou questões sobre o impacto ambiental. Embalagens alimentícias ou quaisquer outras que armazenam em curto período de tempo, sendo rapidamente usadas e descartadas, representam um grave problema mundial na gestão destes resíduos. No sentido de minimizar esta problemática, um grande esforço para estender a vida útil e melhorar a qualidade dos alimentos, tem incentivado a exploração de bioplásticos ou biopolímeros a partir de recursos renováveis aplicados em embalagem. A elaboração de embalagens comestíveis ou biodegradáveis a partir dos polímeros de fonte biológica renovável,

poderia, de certa maneira, reduzir os resíduos, além de aumentar o ciclo de vida da biomassa através da conservação dos combustíveis fósseis, a produção de dióxido de carbono e água (SORRENTINO; GORRASI; VITTORIA, 2007; MAHALIK; NAMBIAR, 2010; PEELMAN *et al*., 2014; DEGRUSON, 2016).

Segundo alguns autores (DEAN *et al*., 2006; DUNCAN, 2011), podemos classificar os biopolímeros quanto à ocorrência em naturais e sintéticos. Dentre os naturais se destacam o amido, a celulose, a quitosana, a carragenana e a ágar, que são subdivisões dos carboidratos. Além destes, temos os oriundos das proteínas, dos quais se destacam a gelatina, o colágeno, o glúten, entre outros. Quanto aos de origem sintética, temos os oriundos da fermentação microbiana, como exemplos podem ser citados: os polihidroxialcanoatos (PHA), como polihidroxibutirato (PHB) e o poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV); os provenientes de biomassa, como exemplo o poli(ácido lático) (PLA), e os sintéticos vindos do petróleo: a policaprolactona (PCL), o poli(acetato de vinila) (PVA) e o poli(ácido glicólico) (PGA).

As embalagens antimicrobianas (AM) podem ser divididas em dois grupos principais: as que são confeccionadas a partir de materiais biodegradáveis e outras por materiais não biodegradáveis (SUNG *et al*., 2013). Segundo AAMER *et al*. (2008), material biodegradável é aquele suscetível à modificação física ou química, causada pela ação de microrganismos, sob certas condições de calor, umidade, luz, oxigênio, nutrientes orgânicos e minerais adequados. A maioria dos polímeros sintéticos não é biodegradável, embora sejam candidatos superiores para uso como material para embalagens alimentícias devido às vantagens de baixo custo, baixa densidade, inércia química, excelentes propriedades de barreira, boa resistência mecânica, alta transparência, capacidade de selagem a quente e fácil impressão (SUNG *et al*., 2013). Na Tabela 1 pode-se observar algumas embalagens e utensílios alimentícios comerciais de origem sintética com atividade antimicrobiana.

Tabela 1. Embalagens e utensílios alimentícios antimicrobianos comerciais.

Componente ativo	Matriz	Aplicação	Nome comercial
Prata substituída por zeólita	LLDPE, PE, PVE, borracha	Filmes, envoltórios plásticos para recipientes de leite	Agion®, Zeomic™, Cleanaíd™, Novaron®
Dióxido de cloro	Poliolefinas	Filmes, sachês	Micro-Gard™, Microsphere ™
Etanol	Dióxido de silício	Sachês	Ethicap™
Dióxido de enxofre	laminado de folha plástica com $Na_2S_2O_5$	Folha ou bloco para para pós-colheita de frutos de uva	Uvasay™
Triclosano	Polímero, borracha	Recipiente de alimento	Microban®
Extrato de Wasabi	Encapsulação em ciclodextrina	Filmes de revestimento de PET	Wasapower™

Fonte: SUNG *et al*. (2013).

3.3 O USO DE NANOTECNOLOGIA NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

A nanotecnologia envolve a caracterização, a fabricação e/ou manipulação de estruturas, dispositivos ou materiais que tenham pelo menos uma de suas dimensões na escala nanométrica, na ordem 1-100 nm. Quando partículas na nanoescala são introduzidas em uma matriz polimérica, o material resultante apresenta propriedades físicas e químicas que são significativamente diferentes ao comparadas com o mesmo material adicionado de partículas na microescala. O impacto da nanoescala em materiais e sistemas está frequentemente relacionado com a razão área/volume, e aumento significativo da área superficial das nanocargas com a matriz. Compreender estas propriedades únicas, a fim de desenvolver novos e melhores produtos através de “sistemas verdes" é o objetivo dos cientistas que trabalham com nanotecnologia em todo o mundo (BAJPAI *et al*., 2018; CERQUEIRA; VICENTE; PASTRANA, 2018).

A nanotecnologia tem atraído a atenção de pesquisadores, da física, química, biologia à engenharia devido ao seu potencial no desenvolvimento de novos materiais com alto desempenho e propriedades diferenciadas. Sendo assim, é uma poderosa ferramenta interdisciplinar no desenvolvimento de produtos inovadores no ramo alimentício, pois está relacionada à melhoria da segurança alimentar e aumento da qualidade dos produtos. Prevê-se que a nanotecnologia terá um impacto de pelo menos três trilhões de dólares em toda a economia mundial até 2020, criando uma demanda de mais de seis mil empregadores em diversos setores da indústria (SOZER; KOKINI, 2009; DUNCAN, 2011; MIHINDUKULASURIYA; LIM, 2014). Na Tabela 2 pode-se observar o uso geral da nanotecnologia nas indústrias alimentícias.

Tabela 2. Principais aplicações da nanotecnologia na indústria alimentícia.

NANOTECNOLOGIA	
Aplicações em alimentos	**Aplicações em embalagens**
Proteção contra oxidação	Melhoria das embalagens (barreira gás/umidade, tensão na ruptura)
Controle de liberação de nutriente microencapsulados (por pH e umidade)	Entrega e controle de liberação de nutracêuticos
Mascarar sabor	Uso de nanoaditivos
Entregar nanoencapsulados nutracêuticos, vitaminas e saborizantes	Embalagens inteligentes
Detecção de patógenos em alimentos	Embalagens antibacterianas
Segurança alimentar	Monitoramento dos produtos durante a armazenagem/transporte

Fonte: Adaptado de SOZER; KOKINI (2009).

A nanotecnologia tem sido aplicada em vários campos da indústria de alimentos, com resultados promissores, incluindo nas áreas de embalagem e segurança alimentar. Embora a utilização da nanotecnologia em embalagens poliméricas ainda esteja em estágio de desenvolvimento, rápidos avanços, nos últimos anos, abriram novas perspectivas para a indústria alimentícia, proporcionando uma nova revolução industrial na aplicação de nanomateriais. A aplicação mais importante está relacionada a incorporação de nanomateriais ou dispositivos nanotecnológicos em embalagem ou recipientes para prolongar a vida de prateleira dos produtos, mantendo-os estáveis (CHAUDHRY; CASTLE, 2011; KING; OSMOND-MCLEOD; DUFFY, 2018).

Nanocompósitos poliméricos oferecem materiais mais leves, porém mais fortes, que podem manter os alimentos mais seguros durante o transporte, frescos por mais tempo durante armazenamento e livres de perigo de contaminação de patógenos microbianos (CHAUDHRY; CASTLE, 2011; SILVESTRE; DURACCIO; CIMMINO, 2011; AZEREDO, 2013).

É esperado dos materiais nanocompósitos um aumento considerável no prazo de validade dos alimentos. Exemplos específicos incluem embalagens para carnes processadas, queijo, doces, cereais e alimentos do tipo *boil-in-bag*[2], também aplicações de filmes de revestimento por extrusão na embalagem de sucos de fruta e produtos lácteos, juntamente com os processos de co-extrusão para fabricação de garrafas para bebidas carbonatadas a de cerveja (RHIM *et al*., 2006).

Os benefícios do uso de nanotecnologia são numerosos e esta tecnologia oferece muitas possibilidades em diferentes campos. Apesar das diferentes formas de

[2] O sistema *boil-in-bag* é uma embalagem microperfurada resistente ao calor, que pode ser colocada diretamente em uma panela com água fervente.

aplicação da nanotecnologia em produtos alimentícios, o foco principal é no campo das embalagens de alimentos, em especial, as “ativas” e as “inteligentes”. Por outro lado, nanotecnologia de alimentos pode afetar a biodisponibilidade e o valor nutricional dos alimentos. Infelizmente, ainda não há uma revisão abrangente sobre o potencial riscos (toxicológicos) associados à funcionalidade e aplicabilidade de nanotecnologia de alimentos (DIMITRIJEVIC *et al*., 2015; HE; HWANG, 2016).

3.4 NANOPARTÍCULAS

A utilização de nanopartículas inorgânicas em matrizes de polímeros biodegradáveis para formação de bionanocompósitos tem atraído atenção considerável na última década. O interesse crescente por “sistemas verdes" e “amigos do meio ambiente” tem norteado muitas pesquisas na área de bionanocompósitos utilizando nanopartículas de óxidos metálicos. Além disso, a utilização destas nanopartículas como agentes antimicrobianos nos materiais poliméricos vem ganhando popularidade devido à boa estabilidade térmica destes materiais, que suportam melhor condições de processamento por fusão quando comparados aos agentes antimicrobianos de base orgânica (RUIZ-HITZKY; DARDER; ARANDA, 2008; ZHANG *et al*., 2010; TRANDAFILOVIĆ *et al*., 2012; SUNG *et al*., 2013).

Dentre as nanopartículas inorgânicas mais estudadas para obtenção de filmes antibacterianos temos o dióxido de titânio (TiO_2) e o óxido de zinco (ZnO). O dióxido de titânio é atóxico e é aprovado pelo *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) para utilização em alimentos, medicamentos e materiais em contato direto com alimentos. É um fotocatalisador amplamente utilizado para inativar vasta gama de micro-organismos. Embora existam numerosos relatos na literatura sobre os efeitos biocidas de nanopartículas de óxido metálico, tais como dióxido de silício (SiO_2), óxido de alumínio (Al_2O_3), óxido de ferro (II,III) (Fe_3O_4), dióxido de titânio (TiO_2), óxido de magnésio (MgO) e óxido de cálcio (CaO), o óxido de zinco é de particular interesse, pois atua como um agente antimicrobiano e apresenta propriedade de proteção ao ultravioleta mais eficiente do que o dióxido de titânio (ZHANG *et al*., 2010; SUNG *et al*., 2013).

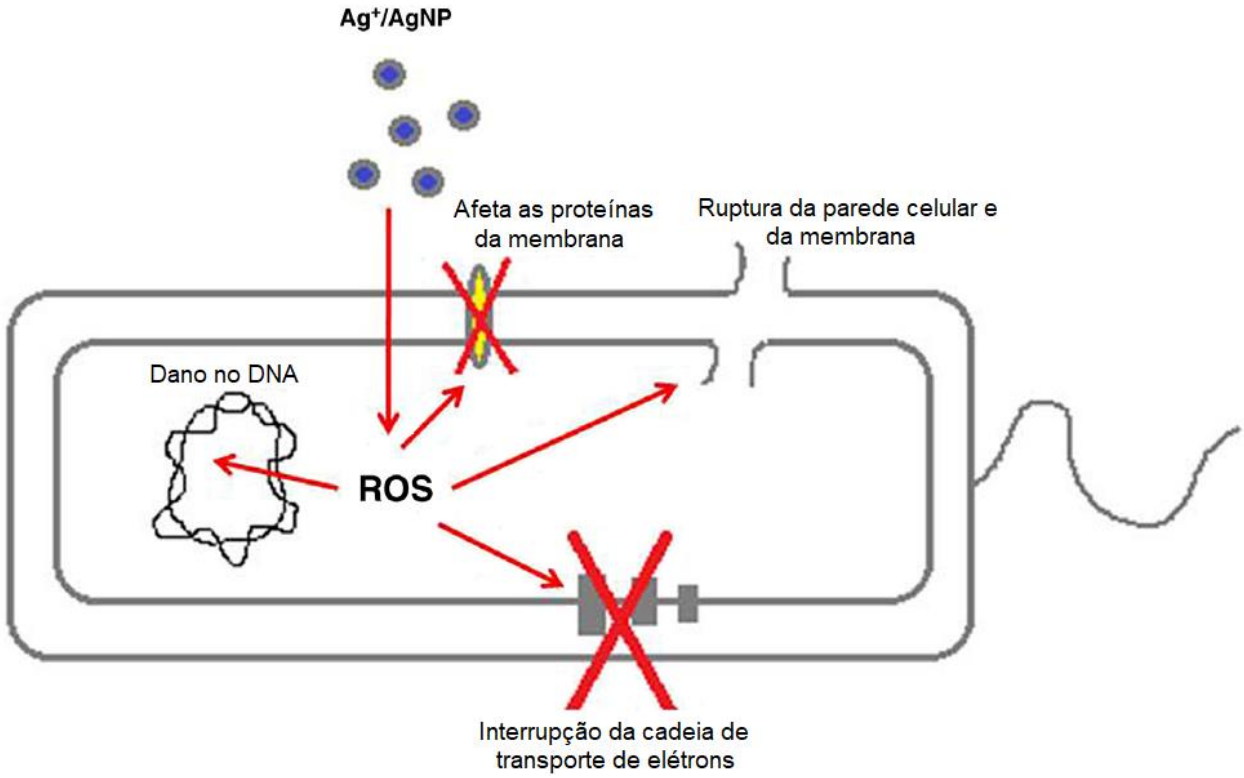
O óxido de zinco é considerado “material amigo do ambiente”, apresenta baixo nível de toxicidade, e o seu reconhecimento como um material seguro (*Generally Recognized As Safe* - GRAS) pela agência americana *Food and Drug Administration* (21CFR182.8991), tem incentivado o seu uso em embalagens para alimentos. Nanopartículas de ZnO são amplamente usadas como um dos ingredientes dermatológicos ativos em cremes, loções e unguentos, devido à eficaz atividade antibacteriana e ao seu amplo espectro de absorção de UV. Em escala nanométrica, o óxido de zinco apresenta algumas vantagens em comparação com as nanopartículas de prata, como seu custo mais baixo, aparência branca e propriedade bloqueadoras ultravioletas, embora ambas apresentem características biocidas (JIN *et al*., 2009; DASTJERDI; MONTAZER, 2010; DUNCAN, 2011; ATAEEFARD; MIRJALILI, 2013; ZHANG; HAN, 2017; RAHMAN; ISLAM; LI, 2018).

Apesar do mecanismo de ação biocida das partículas metálicas nanométricas ainda não ser completamente compreendido, alguns autores sugerem: (i) a interrupção da etapa de replicação do DNA; (ii) a interferência nos processos celulares vitais através da ligação de grupamento sulfidrila ou grupos funcionais dissulfeto com proteínas e enzimas e (iii) a indução do *stress* oxidativo devido à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), que pode causar a degradação da membrana celular dos micro-organismos, ocasionando a morte microbiana. (EMAMIFAR *et al*.,2010; DUNCAN, 2011; ATAEEFARD; MIRJALILI, 2013).

As nanopartículas de prata apresentam diferentes mecanismos de atividade antibacteriana, segundo PRABHU e POULOSE (2012 *apud* NAKAZATO *et al*.,2017), alguns mecanismos são sugeridos para explicar possíveis ações destas nanopartículas: (1) nanopartículas de prata ancoram na superfície da parede bacteriana, e após penetração, causam alterações estruturais na membrana celular liderando a formação de “buracos” e subsequentemente morte celular; (2) os radicais livres durante o contato de nanopartículas de prata com bactérias, apresentam capacidade de danificar a membrana, resultando na formação de poros e consequente ruptura membrana; (3) os íons de prata podem se ligar aos grupos tióis de algumas enzimas importantes, inativando-as; (4) os íons de prata podem produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) inibindo enzimas, que causa danos às células; (5) a interação do fósforo e enxofre, presentes no DNA da bactéria, com nanopartículas de prata pode bloquear o processo de replicação do DNA levando a morte celular; (6)

essas nanopartículas podem modular a transdução do sinal bacteriano pela fosforilação da proteína com resíduos de tirosina que conduzem à inibição do crescimento (Figura 5).

Figura 5. Mecanismos de ação das nanopartículas de prata nas bactérias.



Fonte: NAKAZATO *et al*. (2017).

É válido ressaltar que a atividade biocida dos materiais metálicos e seus óxidos está relacionada com a dimensão nanométrica das partículas, sendo muito mais eficiente quando comparada as da escala micrométrica. Essa atividade também é influenciada pelo método de incorporação de nanopartícula na matriz, o mais adotado é por solução, pela afinidade, pela dispersão/distribuição, pela concentração, formato, composição e cristalinidade da nanopartícula (LLORENS *et al*., 2012; ATAEEFARD; MIRJALILI, 2013; CRUZ-ROMERO *et al*., 2013; RHIM; PARK; HA, 2013). Segundo BUSTOS-TORRES *et al.* (2017) a boa dispersão de ZnO é um parâmetro crítico para obter um efeito de proteção UV eficiente.

Em relação às propriedades de barreira a voláteis, os estudos apontam que nanocargas com elevada razão de aspecto, como estruturas lamelares, tendem a

apresentar melhores propriedades de barreira, quando comparadas a nanopartículas metálicas (MIHINDUKULASURIYA; LIM, 2014; OTHMAN, 2014).

Embora os benefícios trazidos pelos nanomateriais já tenham sido descritos, a literatura disponível sugere muitas incertezas sobre o risco de bioacumulação e os efeitos toxicológicos no organismo humano. Sendo assim, as demandas no uso de materiais nanométricos devem ser atendidas com certa cautela (BOUWMEESTER *et al*., 2009; CUSHEN *et al*., 2012).

No Brasil o uso de nanopartículas, bem como o controle de potenciais riscos, é da Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia para Alegações (GEARE) e Gerência Geral de Alimentos (GGALI) da ANVISA e diz que:

> Não há uma legislação específica sobre o uso de nanopartículas em alimentos ou em materiais em contato com alimentos. Ainda não há consenso em relação ao tipo de abordagem para condução dos processos de avaliação de segurança destes materiais. A ANVISA está discutindo o assunto juntamente com outros órgãos. Atualmente, a aprovação para uso de substâncias nanométricas para uso como aditivos e em materiais destinados ao contato com alimentos depende de sua inclusão nas listas positivas. Para esta inclusão, a substância deve estar autorizada em legislações ou referências utilizadas pela ANVISA para elaboração dos regulamentos nacionais, como a legislação da União Europeia, FDA e Codex Alimentarius. Ressalta-se, ainda, que para os regulamentos harmonizados no MERCOSUL, a atualização das listas positivas depende de consenso entre os países.

3.4.1 Síntese de Nanopartículas

Dentre os métodos de preparo de nanopartículas metálicas destacam-se a decomposição térmica, síntese hidrotérmica e microemulsão, os mais usuais, além dos métodos eletroquímicos, são de deposição-precipitação, impregnação, co-precipitação e de deposição química em fase vapor (CASANOVA, 2010). Diferentes métodos químicos têm sido utilizados para a síntese de nanopartículas metálicas. O método mais empregado envolve, geralmente, o uso de agentes redutores em excesso, tais como citrato de sódio, boridreto de sódio, hidrazinas, formaldeídos, hidroxilaminas, álcoois saturados e insaturados e açúcares. Dentre os açúcares, o ácido ascórbico produz as nanopartículas mais estáveis e mais dispersas no suporte, devido à sua ação redutora (PANIGRAHI *et al*., 2005; FERREIRA; RANGEL, 2009).

Segundo citação de alguns autores (FERREIRA; RANGEL, 2009; MITTAL; CHISTI; BANERJEE, 2013), os métodos de preparo de nanopartículas seguem dois

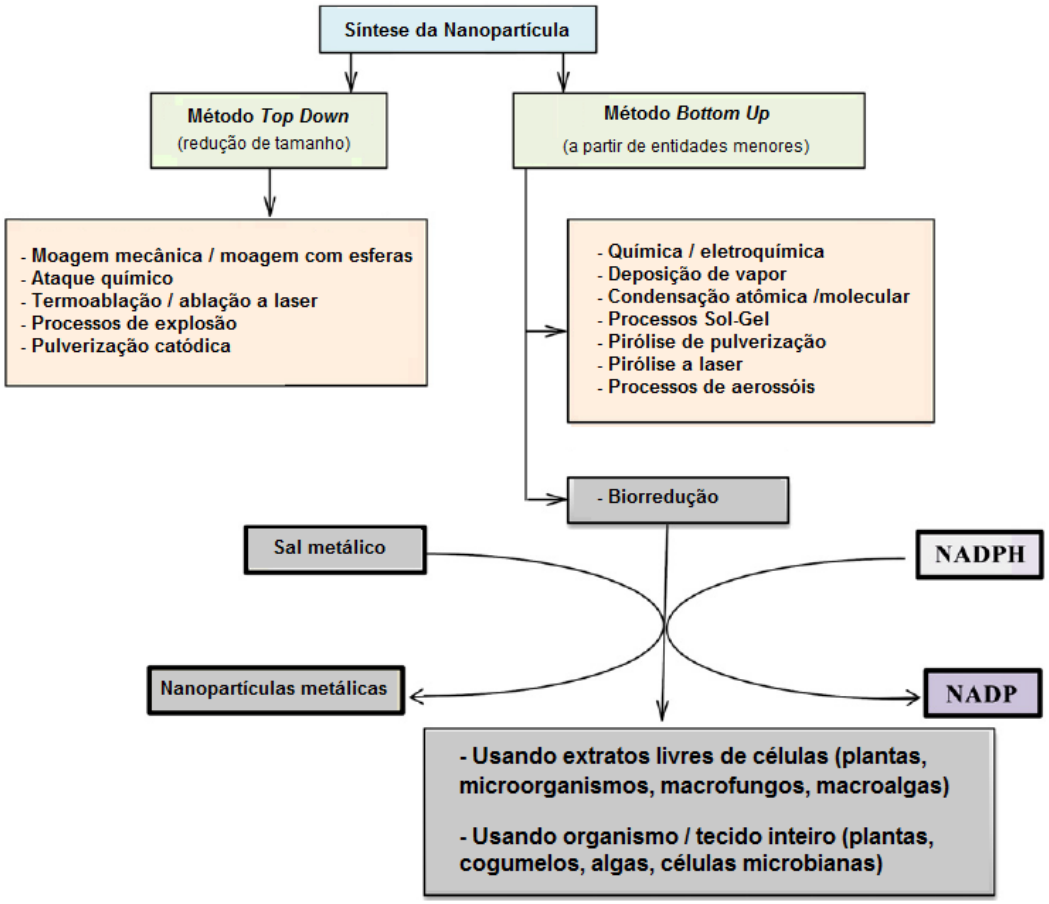
tipos de abordagem (Figura 6): a do tipo *top down* (de cima para baixo) e a do tipo *bottom up* (de baixo para cima).

No procedimento *top down* as nanopartículas são produzidas a partir da redução de tamanho de um material de partida adequado, ou seja, por meio da ruptura de uma porção maior do material em nanopartículas. O uso das técnicas físicas de redução de tamanho e também por tratamentos químicos é muito comum o uso de técnicas de litografia. Já no procedimento *bottom up* (Figura 7) as nanopartículas são construídos a partir de entidades menores, por exemplo, juntando-se os átomos, moléculas e partículas menores. Os átomos podem ser depositados sobre uma superfície regular, de forma a autoagruparem sobre a superfície, formando estruturas nanométricas com tamanho e características bem definidos.

A síntese *bottom up* se baseia principalmente em métodos químicos e biológicos de produção.

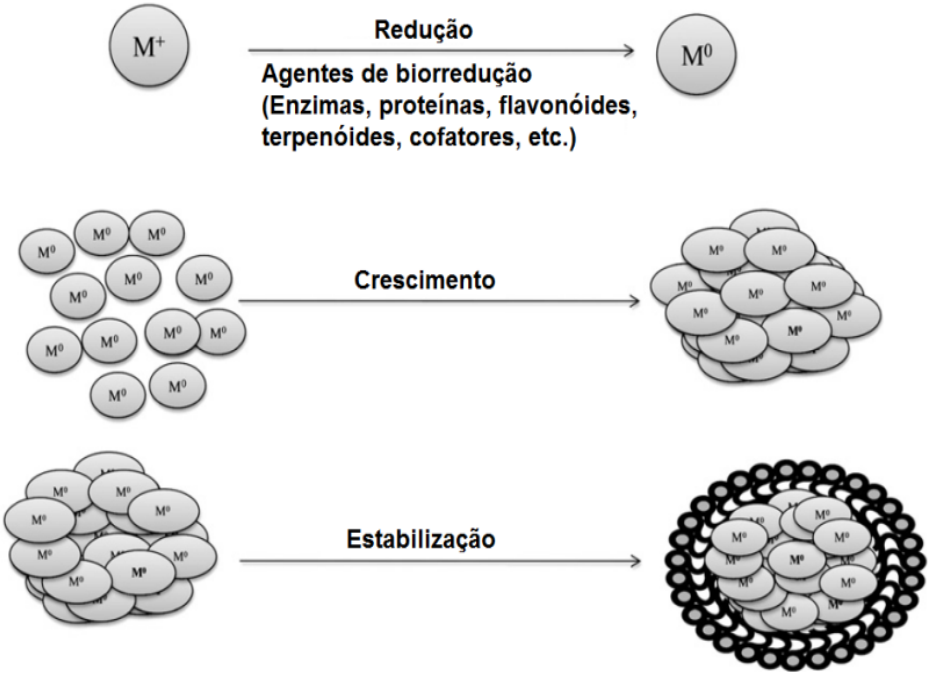
ELUMALAI e colaboradores (2015) citam em seu artigo a produção de nanopartículas de óxido metálico a partir de terpenóides, flavonóides e alcalóides presentes no extrato aquoso da folha de plantas fitoquímicas. Os autores estudaram o desenvolvimento de uma via mais ecológica para produção de nanopartículas de óxido de zinco (ZnONPs) a partir do extrato da folha de *Murraya koenigii* (curry), conforme pode ser visualizado na Figura 8, e também, avaliaram a atividade antimicrobiana para cinco tipos de microorganismos. Segundo os resultados obtidos, a rota ecológica para produção das ZnONPs foi bastante promissora, uma vez que conseguiram obter nanopartículas com alto grau de pureza e com eficiente propriedade antimicrobiológica.

Figura 6. Esquema para vias de produção de nanopartículas, segundo as abordagens *top down* e *bottom up*.



Fonte: Adaptado de MITTAL; CHISTI; BANERJEE (2013).

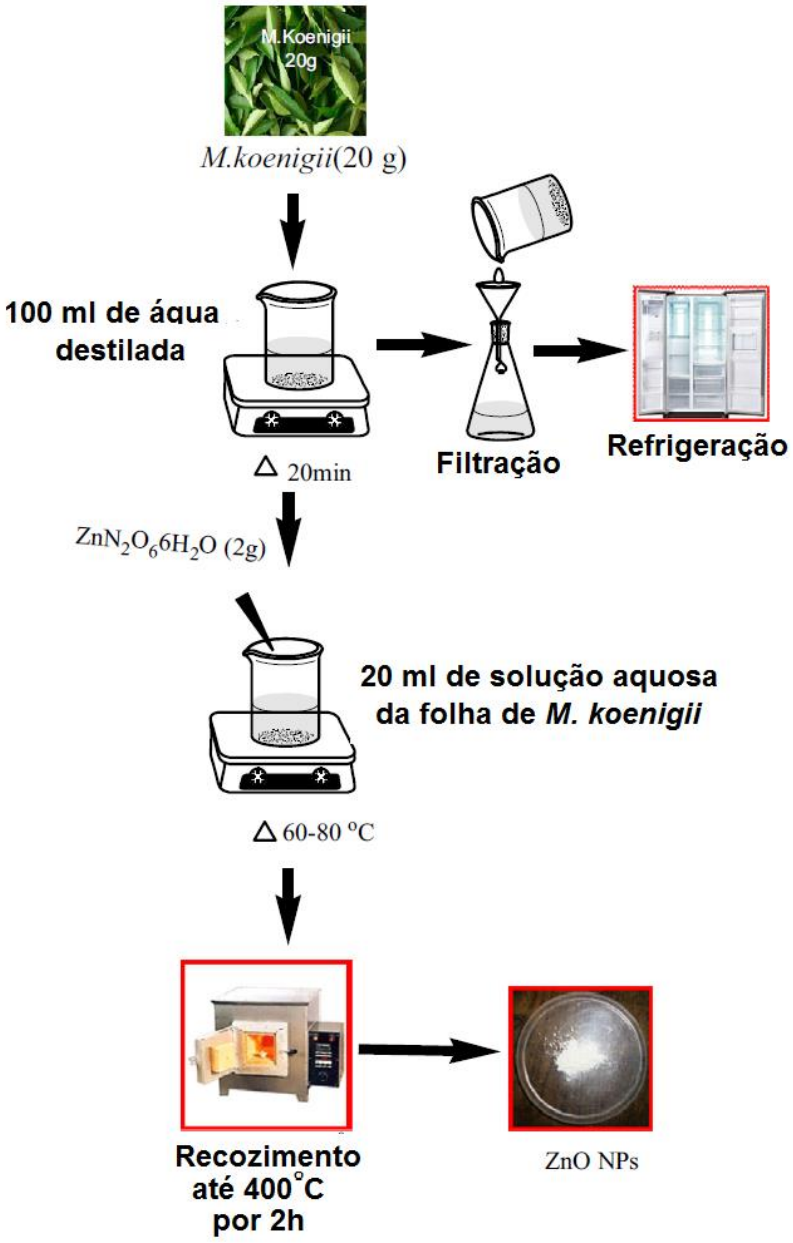
Figura 7. O mecanismo de síntese provável do tipo *bottom up* para formação das nanopartículas.



Fonte: Adaptado de MITTAL; CHISTI; BANERJEE (2013).

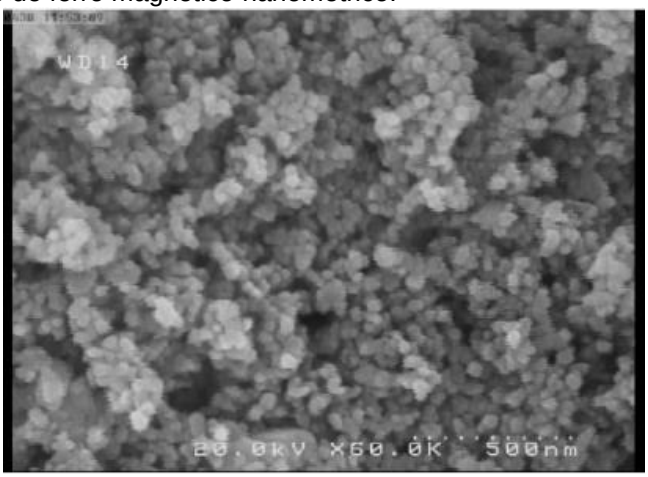
Devido à importância de sistemas de distribuição controlada e magneticamente guiada de alguns fármacos envolvendo o uso de nanopartículas de óxido metálico, HABIBI e KARIMI (2014) estudaram a obtenção nanopartículas de óxido de zinco revestidas com ferro magnético em tamanho nanométrico pelos processos em sol-gel e co-precipitação, utilizando como precursores acetatos de zinco e de cobre. Segundo os resultados da microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo, os autores conseguiram obter nanopartículas de óxido de zinco revestidas com ferro magnético nanométrico com tamanho médio de 68 nm (Figura 9).

Figura 8. Esquema para o preparo de ZnONPs.



Fonte: Adaptado de ELUMALAI *et al*. (2015).

Figura 9. Micrografia eletrônica de varredura com emissão de campo das nanopartículas de óxido de zinco revestido de óxido de ferro magnético nanométrico.



Fonte: HABIBI; KARIMI (2014).

VIDOR, WIRTH e HILLERINGMANN (2014) estudaram uma rota de baixo custo e de baixa temperatura para fabricação de nanopartículas de óxido de zinco para produção de transistores de filme fino. O processo de fabricação de nanopartículas de óxido de zinco de alta qualidade, em especial na aplicação em placa de silício para aumentar a taxa de transferência da resistência, já que o ZnO é conhecido por sua propriedade como semicondutor.

3.4.2 Materiais Poliméricos com Propriedade Antimicrobiana

MOHAMMADI, KAMKAR e MISAGHI (2018) investigaram a atividade antibacteriana de filmes de misturas de diferentes proporções do biopolímero de carboximetilcelulose (CMC) com mucilagem do quiabo contendo nanopartículas de ZnO para produção de filmes ativos alimentícios. Eles observaram que presença da nanopartícula de ZnO junto com a mucilagem do quiabo na película do biopolímero inibiram o crescimento das bactérias S*. aureus* e *E. coli*, sendo mais eficiente a inibição para a primeira. Com base nos resultados que obtiveram, os autores consideraram que os filmes fabricados tinham potencial para serem usados em embalagens antimicrobianas amigáveis.

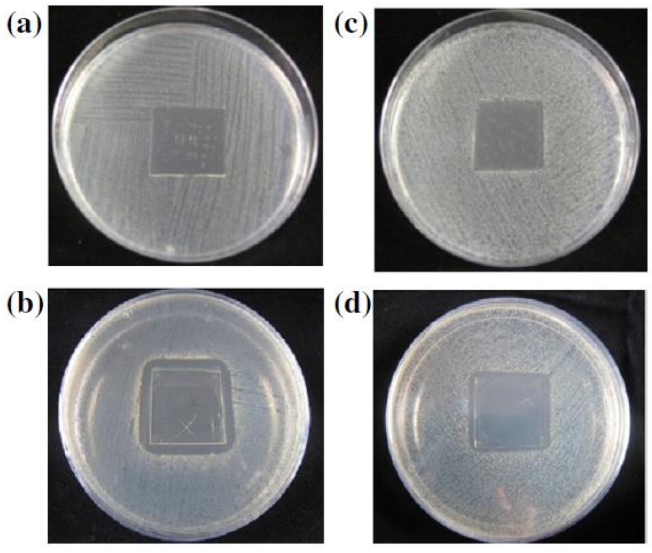
SHANKAR, WANG e RHIM (2018) sintetizaram nanopartículas de ZnO a partir do cloreto de zinco e do hidróxido de sódio e, posteriormente, estas foram incorporadas em diferentes concentrações (0,5; 1,0 e 1,5 %m/m de nanoZnO) pelo método de *casting* ao PLA para obtenção de filmes nanocompósitos. A propriedade

antimicrobiana dos filmes de PLA e de PLA com nanoZnO foi testada como embalagem (invólucro) para pasta de peixe. Os filmes com nanoZnO exibiram atividade antibacteriana contra bactérias patogênicas *E. coli* e *L. monocytogenes* transmitidas por alimentos. Houve redução da contagem bacteriana e, consequentemente, aumento do tempo de validade da pasta de peixe. Sendo assim, os autores consideraram os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO de elevado potencial para ser utilizado como embalagem ativa em alimentos.

AZLIN-HASIM e colaboradores (2015) estudaram o efeito de nanopontos de prata na superfície do copolímero em bloco de poliestireno-poli(óxido de etileno) (PS-b-PEO) para elaboração de embalagens antimicrobianas. Eles observaram que os materiais desenvolvidos exibiram boa atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e podem ser potencialmente usados em aplicações de embalagem antimicrobianas.

Na Figura 10 pode ser visualizado nos resultados do método de difusão em agar, a formação da zona de inibição (formação de um halo, indicativo de atividade antimicrobiana) devido à presença dos nanopontos de prata em PS-b-PEO para os micro-organismos *P. fluorescens* e *S. aureus*, em comparação com as amostras de controle (sem os nanopontos de prata).

Figura 10. Zonas de inibição de (a) e (c) da amostra de controle (PS-b-PEO sem nanopontos de prata) para *P. fluorescens* e *S. aureus*, respectivamente, (b) e (d) PS-b-PEO com nanopontos de prata (4% de $AgNO_3$) para *P. fluorescens* e *S. aureus*, respectivamente.

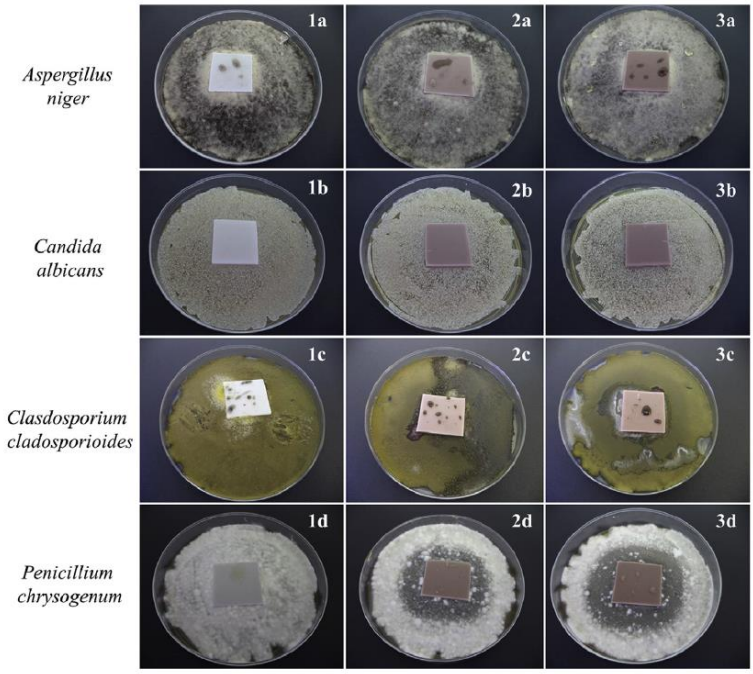


Fonte: AZLIN-HASIM *et al*. (2015).

Ribeiro e colaboradores (2017) estudaram nanocompósitos de diferentes formulações de copolímero tribloco de estireno (etileno-butileno)-estireno (SEBS) e polipropileno (PP), óleo (plastificante), calcita e nanopartículas de cobre, preparados em extrusora dupla rosca co-rotacional para uso na fabricação de sistemas automotivos de ar condicionado. A adição de nanopartículas de cobre por fusão nas formulações de SEBS/PP/óleo/calcita demonstrou obter nanocompósitos com propriedades antibacterianas e antifúngicas, pois apresentaram excelentes resultados de inibição contra os microrganismos normalmente encontrado na ventilação e ar-condicionado de sistema de veículos automotores (Figura 11).

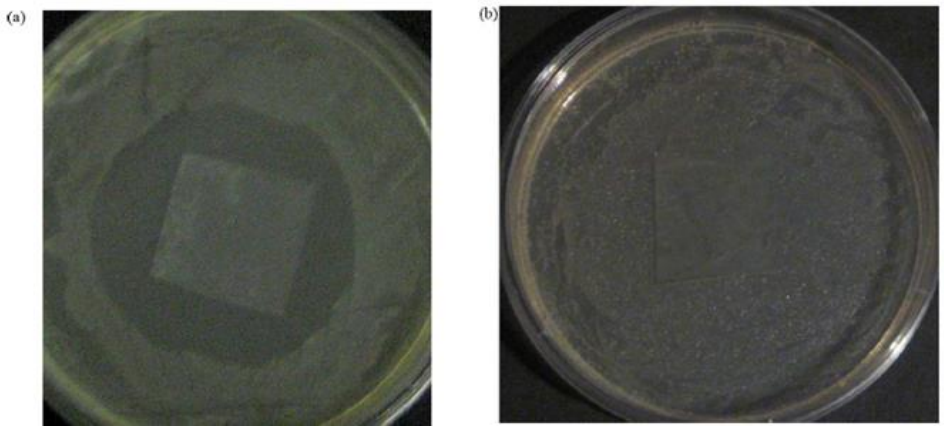
APPLEROT e colaboradores (2009) estudaram o mecanismo e a cinética de deposição de nanopartículas de ZnO e seu efeito antimicrobiano sobre uma superfície de vidro. Eles observaram que as nanopartículas de ZnO depositadas sobre uma superfície de vidro exibiram uma atividade antibacteriana contra bactérias *E. coli*, conforme pode ser visto na Figura 12 a seguir. A Figura 12(a) mostra o efeito antibacteriano, pois há formação de um halo. Já na Figura 12(b), pode ser visto que não houve qualquer inibição na amostra controle, onde não há a presença de nanopartículas de ZnO.

Figura 11. Compostos de imagem após incubação de quatro espécies de fungos (1a, 1b, 1c e 1d) e sem CuNPs; (2a, 2b, 2c e 2d) - com 0,6% de CuNPs e (3a, 3b, 3c e 3d) - com 1,0% de CuNPs.



Fonte: Ribeiro *et al*. (2017).

Figura 12. Imagens de *E. coli* incubadas (a) com uma lâmina de vidro com 0,65% em peso de nanopartículas de ZnO (inibição, formação de halo) e (b) lâmina de vidro intocada (controle, sem ZnO) observa nenhuma zona de inibição.



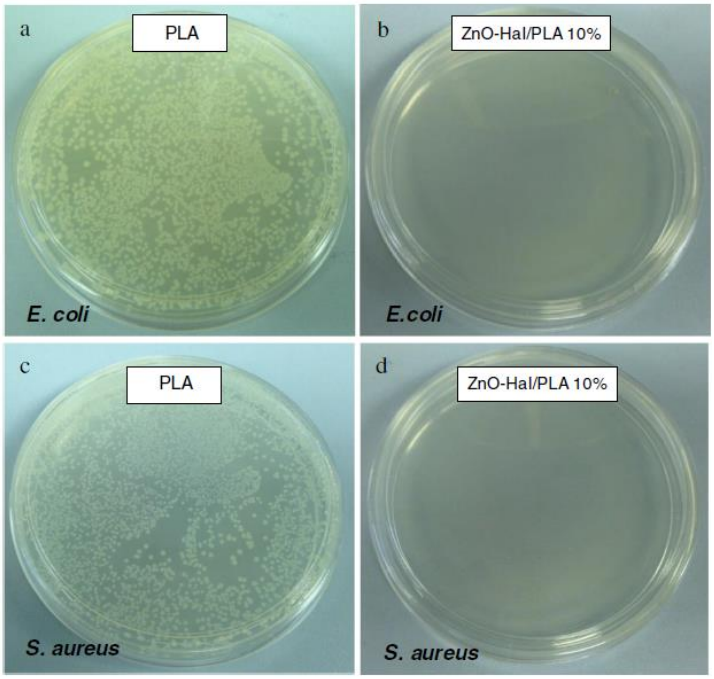
Fonte: APPLEROT *et al*. (2009).

SILVA e colaboradores (2015) obtiveram filmes de nanocompósitos de poli(ácido lático) (PLA) com ZnO depositados em nanotubos de haloisita (ZnO-Hal) obtidos por solução (*casting*) para obtenção de películas para embalagens de alta performance com propriedades mecânicas melhoradas e atividade antimicrobiana.

A atividade antimicrobiana dos filmes de nanocompósitos de PLA foi testada contra *E. coli* e *S. aureus*. O resultado pode ser observado na Figura 13. Conforme pode ser visualizado, as amostras que continham ZnO-Hal, ou seja, os nanocompósitos de ZnO-Hal/PLA, apresentaram atividade antimicrobiana tanto para *E. coli* como para *S. aureus*, já que a população microbiana teve uma redução significativa de 98% e 99%, respectivamente.

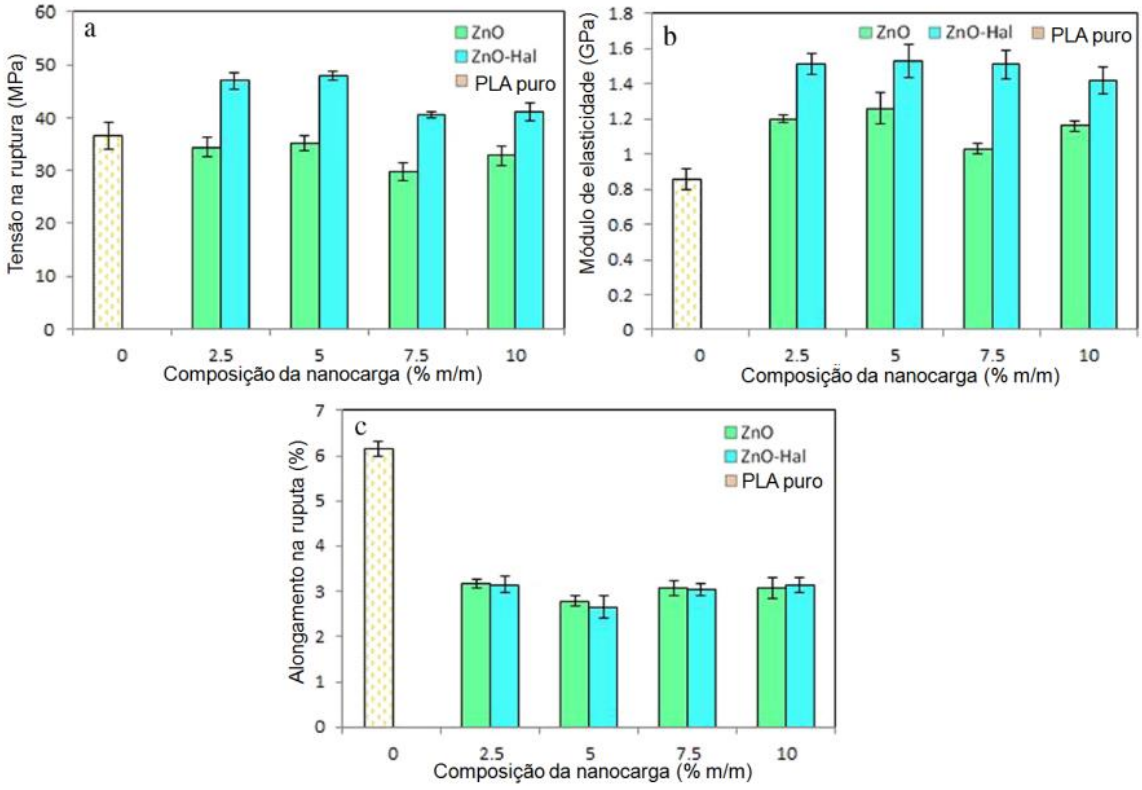
Em relação às propriedades mecânicas (Figura 14), foram testados os filmes de PLA puro, nanocompósitos ZnO/PLA e ZnO-Hal/PLA. Segundo os pesquisadores, os filmes de ZnO/PLA apresentaram valores de resistência à tração inferiores ao PLA puro, enquanto que os filmes de ZnO-Hal/PLA tiveram um aumento nesta propriedade. Em relação ao módulo elástico, tanto os filmes dos nanocompósitos de ZnO/PLA como os de ZnO-Hal/PLA apresentaram melhores valores em relação ao PLA puro, porém os de ZnO-Hal/PLA apresentaram valores ainda mais satisfatórios. No alongamento na ruptura, os nanocompósitos apresentaram valores inferiores aos filmes de PLA puro.

Figura 13. Teste da atividade antibacteriana de PLA puro (a e c) e nanocompósito de PLA com 10% em massa de ZnO-nanotubos de haloisita (ZnO-Hal) (b e d) após 1 dia de tempo de incubação.



Fonte: SILVA *et al*. (2015).

Figura 14. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de PLA reforçados com ZnO e ZnO-Hal em diferentes composições: (a) resistência à tração, (b), módulo de elasticidade e (c), o alongamento na ruptura.

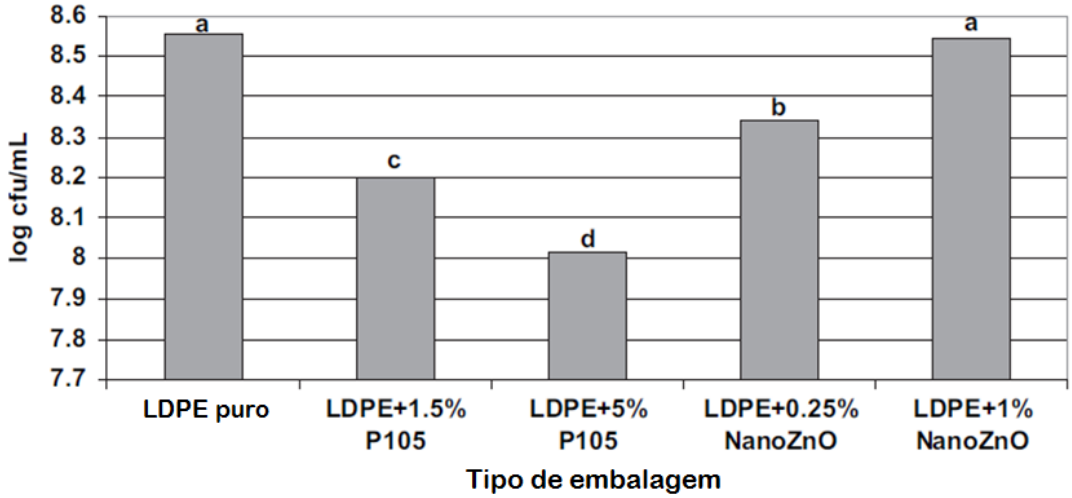


Fonte: Adaptado de SILVA *et al*. (2015).

EMAMIFAR e colaboradores (2011) estudaram filmes de nanocompósitos de LDPE com nanopartículas de óxido de zinco, e de prata com dióxido de titânio (P105), um pó com TiO_2 95% e com 5% de nanoprata com diâmetros de partícula de cerca de 10 nm), obtidos por fusão em extrusora dupla rosca e avaliaram a capacidade destas nanopartículas na inativação de *Lactobacillus plantarum* para o uso em embalagens destinadas ao suco de laranja.

De acordo com análise dos autores, todas as amostras, com exceção as amostras dos filmes de LDPE (branco, amostra referencial) e LDPE com 1% de ZnO, não produziram diminuição considerável da população microbiana de *L. plantarum*, conforme pode ser visto na Figura 15. A presença de ZnO com teor de 0,25% apresentou uma inibição bastante significativa, embora com o aumento da concentração, tenha ocorrido a formação de agregados de ZnO e consequentemente, redução da atividade antimicrobiana. O mesmo fato não foi observado para as amostras de LDPE com nanopartículas de TiO_2 com Ag (P105), onde com o aumento da concentração das nanopartículas houve redução da atividade microbiana do *L. plantarum*, e consequentemente, o aumento do efeito antimicrobiano destes filmes.

Figura 15. Efeito do tipo de embalagem na inativação de *L. plantarum*. CFU = UFC, que é Unidade Formadora de Colônias.



Fonte: Adaptado de EMAMIFAR *et al*. (2011).

A atividade antimicrobiana dessas nanopartículas pode ser associada a vários mecanismos, incluindo, a indução do *stress* oxidativo devido à geração de espécies

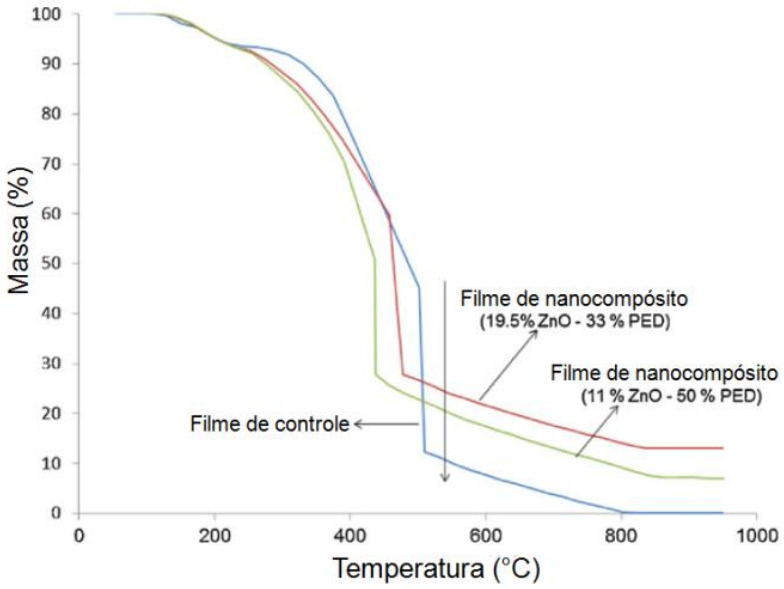
reativas de oxigênio (ROS) que podem causar a degradação da estrutura da membrana da célula. A libertação dos íons da superfície das nanopartículas tem sido relatada como causadora de morte bacteriana, devido à ligação à membrana celular. No entanto, o mecanismo de toxicidade é ainda apenas parcialmente compreendido (EMAMIFAR *et al*., 2011).

Segundo EMAMIFAR e colaboradores (2010) a relevância industrial do estudo está na comparação da embalagem de filme de LDPE puro com os filmes de LDPE nanocompósitos contendo antimicrobianos de TiO_2 com Ag e ZnO, já que, de acordo com os resultados obtidos, os filmes nanocompósitos estenderam a vida de prateleira de suco de laranja fresco em até 28 dias.

ESPITIA e colaboradores (2013) desenvolveram filmes nanocompósitos de metil-celulose (MC) incorporados com nanopartículas de óxido de zinco e pediocina (PED), obtidos por solução, e avaliaram as propriedades físico-mecânicas, incluindo a análise de microscopia, ensaio de tração, propriedades de cor e estabilidade térmica, bem como atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *L. monocytogenes* e, de acordo com os autores, os resultados mostraram os principais picos característicos de nanopartículas de ZnO (observadas em 2θ = 37,2°; 2θ = 40,3°; 2θ = 42,5°; 2θ = 55,9°), confirmando que a estrutura cristalina hexagonal *wurtzite* das nanopartículas de ZnO não foi afetada após sua incorporação na matriz de MC. Ademais, a intensidade dos principais picos característicos de ZnO foi maior com o aumento de sua concentração na matriz de MC. No entanto, o alongamento na ruptura apresentou significância estatística, indicando que a incorporação ZnO resultou em filmes mais rígidos, enquanto a adição de pediocina resultou em aumento dos valores de alongamento à ruptura. Segundo os autores, a incorporação de ZnO numa concentração mais elevada permitiu uma estabilidade térmica maior quando comparado ao filme controle e ao nanocompósito com alta concentração de pediocina (Figura 16). Porém, analisando o primeiro platô da curva de degradação (Figura 16) da análise termogravimétrica (TGA), pode ser observado que o filme de controle (MC puro) apresentou uma estabilidade térmica ligeiramente proeminente quando comparado aos filmes de nanocompósitos, o que contrapõe o relato dos autores.

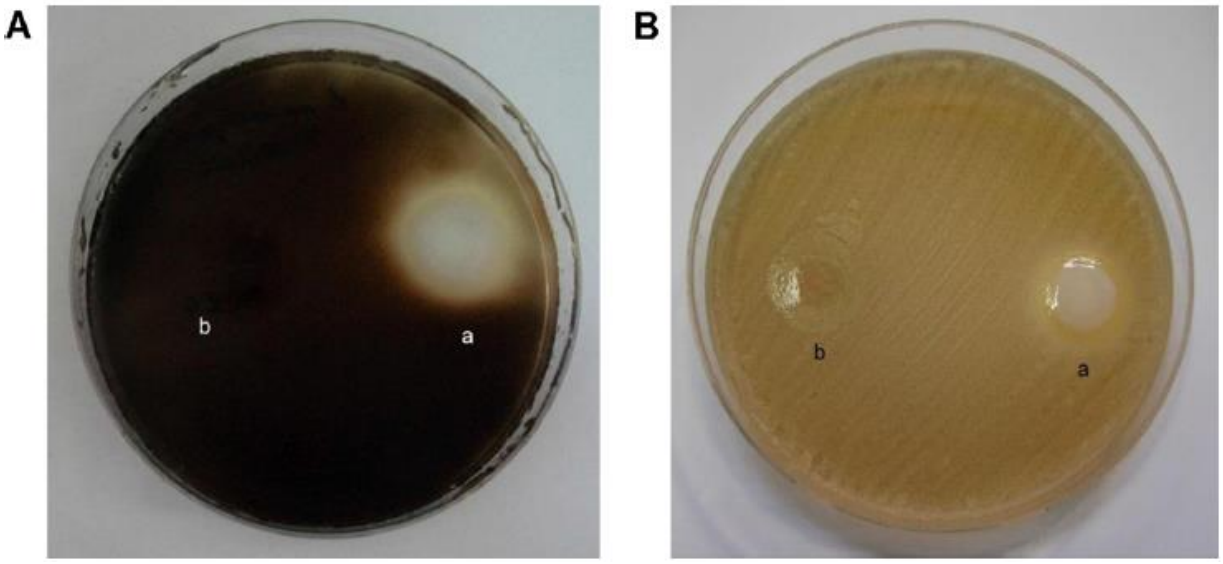
Os filmes nanocompósitos desenvolvidos apresentaram atividade antimicrobiana contra *L. monocytogenes* e *S. aureus*, conforme pode ser visto na Figura 17 a seguir, já que houve formação de halo (ESPITIA *et al*.,2013).

Figura 16. Curva de TGA dos filmes nanocompósitos com maior concentração de nanopartículas de ZnO (19,5% ZnO; 33% PED), maior concentração de pediocina (11% ZnO; 50% PED) e filme de controle.



Fonte: ESPITIA *et al*. (2013).

Figura 17. A atividade antimicrobiana de filmes nanocompósitos: (a) incorporados com nanopartículas de ZnO (17%, w/w) e pediocina (20%, w/w) e (b) filme de controle contra *L. monocytogenes* (A) e *S. aureus*.



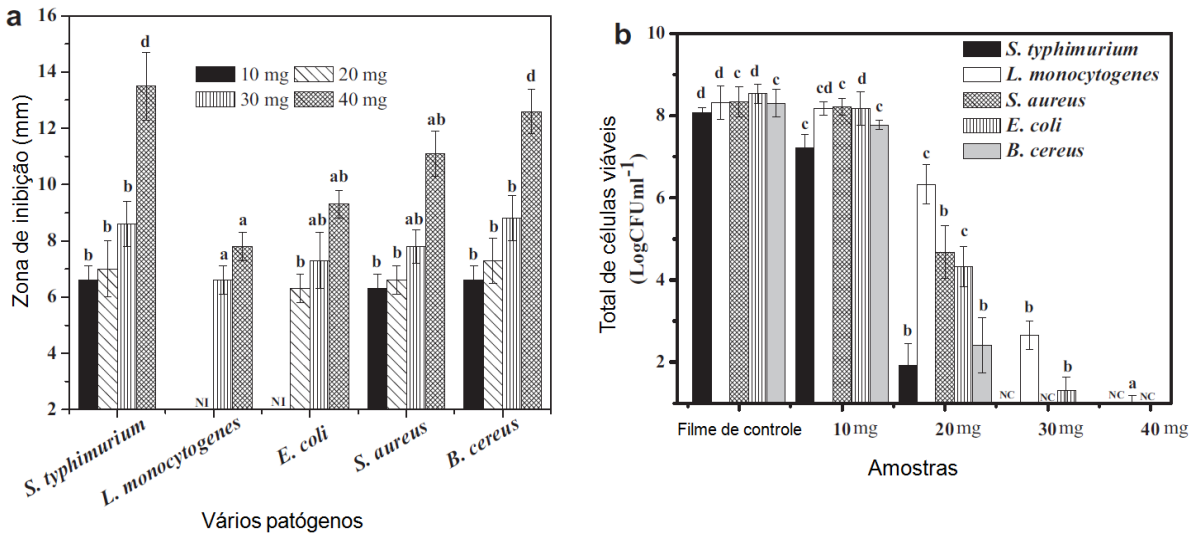
Fonte: ESPITIA *et al*. (2013).

KANMANI e RHIM (2014a) estudaram filmes nanocompósitos antimicrobianos à base de gelatina com nanopartículas de prata (AgNPs) desenvolvidas por um método de moldagem em solução (*casting*). Os filmes de gelatina, com ou sem AgNPs foram caracterizados utilizando a microscopia eletrônica de varredura (SEM), a

difração de raios X (DRX), o espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e a análise termogravimétrica (TGA). Além destas análises, a transparência do filme, a cor da superfície, o ângulo de contato (água), a permeabilidade ao vapor de água, as propriedades mecânicas e as atividades antimicrobianas dos filmes nanocompósitos também foram examinadas.

Os filmes nanocompósitos de gelatina com AgNPs mostraram com uma forte atividade antimicrobiana (Figura 18) tanto contra as bactérias gram-positivas quanto as gram-negativas patogênicas de origem alimentar, e por isso, podem ser usados como um sistema de embalagem ativa para prolongar o tempo de conservação e manter a qualidade dos alimentos durante o armazenamento e distribuição dos alimentos embalados (KANMANI e RHIM, 2014a).

Figura 18. Atividade antimicrobiana em filmes nanocompósitos de gelatina com diferentes concentrações AgNPs contra patógenos bacterianos *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. aureus* e *B. cereus* em (a) meio de Agar e (b) solução líquida.

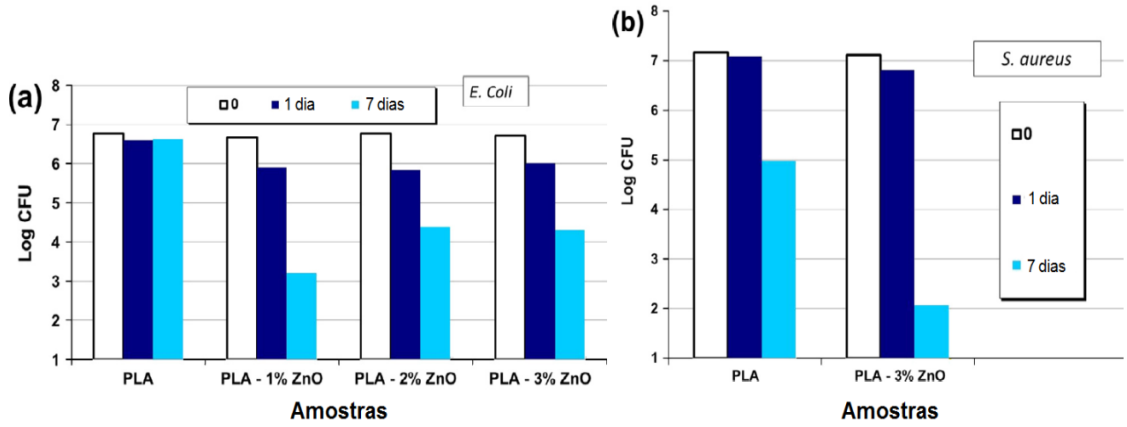


Fonte: KANMANI; RHIM (2014a).

PANTANI e colaboradores (2013) preparam filmes nanocompósitos de PLA com ZnO. Durante o processamento por fusão, eles observaram que a adição das nanopartículas de ZnO não tratadas em PLA ocasionou uma severa degradação da matriz de poliéster com a temperatura de processo, atribuída às reações de transesterificação e despolimerização do PLA. Conforme os resultados obtidos para a propriedade antimicrobiana, estes autores verificaram que os filmes nanocompósitos

de PLA com nanopartículas de ZnO exibiram uma boa atividade antibacteriana contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus* (Figura 19).

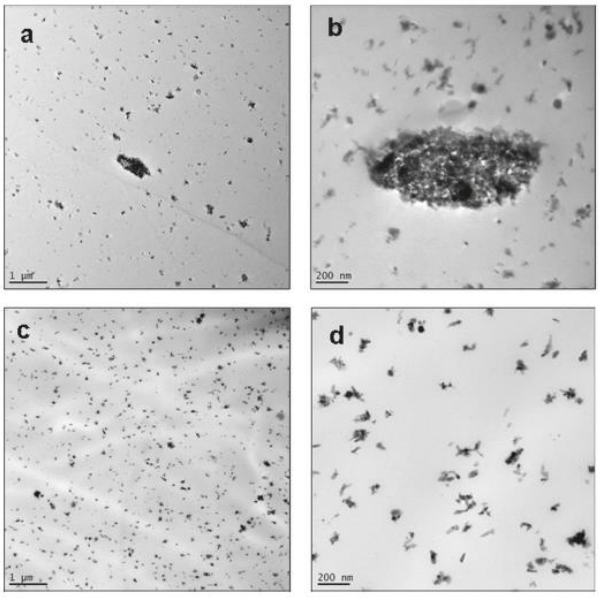
Figura 19. (a e b) Evolução do log10 CFU (Unidades Formadoras de Colônias) em vários intervalos de tempo de *E. coli* (a) e *S. aureus* e (b) sobre a superfície do PLA e filmes nanocompósitos de PLA-ZnO.



Fonte: PANTANI *et al*. (2013).

Segundo MURARIU *et al*. (2011), o tratamento da superfície do ZnO com silano, preserva a massa molar do PLA na extrusão, além de melhorar a dispersão/distribuição do ZnO na matriz (Figura 20).

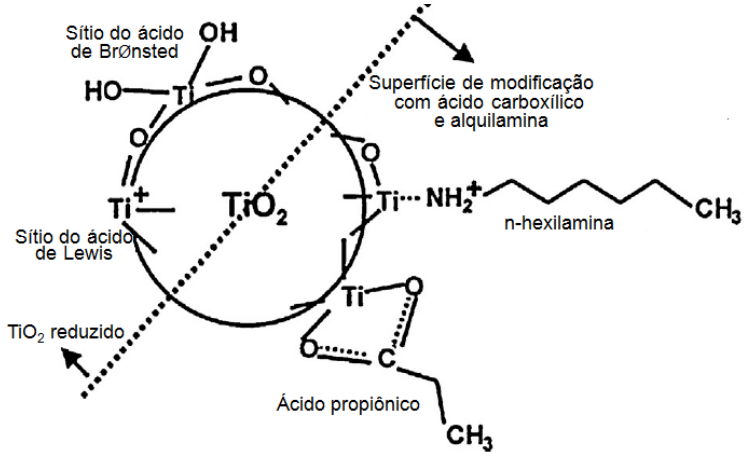
Figura 20. Imagens em diferentes ampliações de TEM dos filmes nanocompósitos PLA contendo 2% em peso de nanopartículas de ZnO (a, b) não tratada e (c, d) superfície tratada com silano.



Fonte: MURARIU *et al*. (2011).

Em artigo de revisão, RAQUEZ e colaboradores (2013) citaram alguns tratamentos de superfície de nanopartículas de TiO_2, que foram realizados para melhorar a sua dispersão na matriz de PLA como, por exemplo, utilizando ácido propanoico e alquilamina de cadeia longa conforme o ilustrado na Figura 21.

Figura 21. Tratamento de superfície de nanopartículas de TiO_2 por ácido propanóico e alquil amina para melhorar a sua dispersão em matriz PLA.

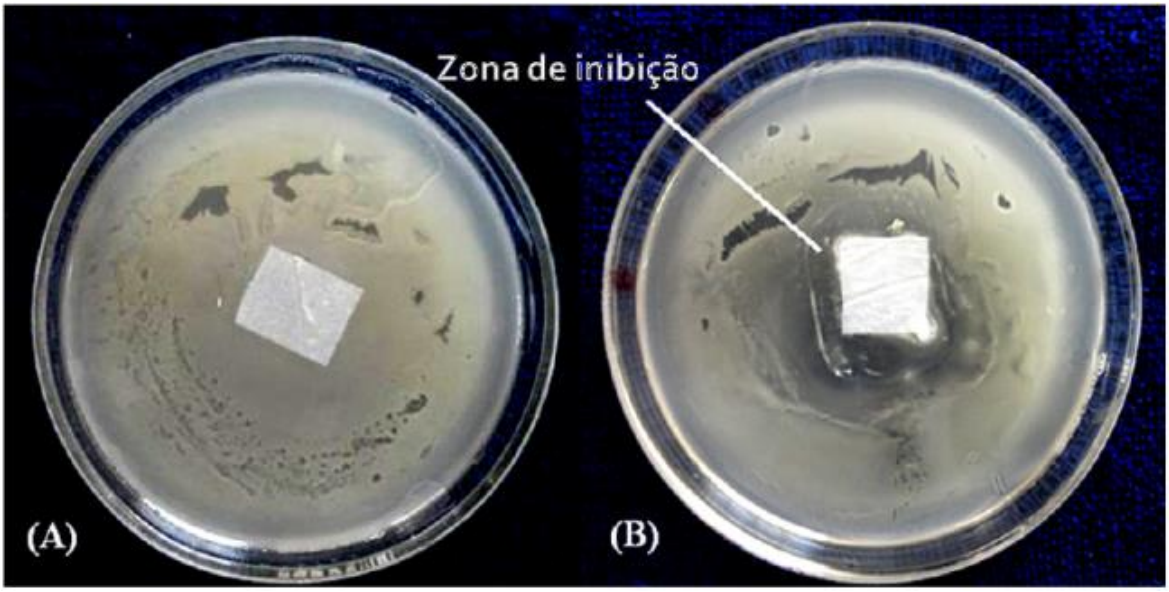


Fonte: RAQUEZ *et al*. (2013).

TANKHIWALE e BAJPAI (2012) verificaram a propriedade antibacteriana de filmes de amido com polietileno (PE) acrescidos de nanopartículas de óxido de zinco contra a bactéria *E. coli*. Conforme pode ser verificado na Figura 22, os resultados do método de zona de inibição (observação de halo) indicam claramente uma zona clara de inibição em torno do filme. Isso indica que as nanopartículas de ZnO apresentam ação antibacteriana contra *E. coli*.

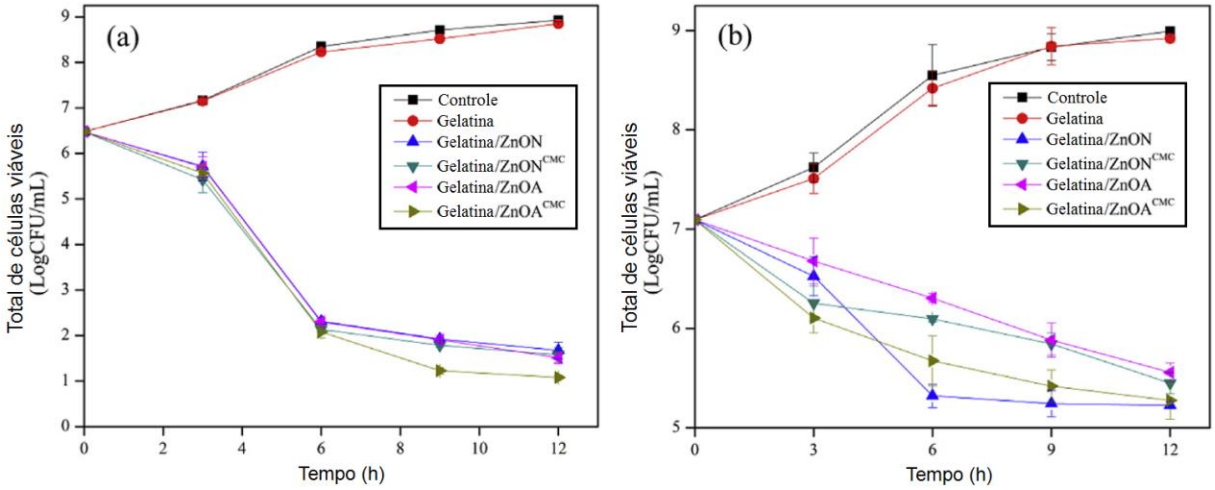
SHANKAR e colaboradores (2015) investigaram a propriedade antimicrobiana de filmes nanocompósitos obtidos por solução de gelatina com nanopartículas de óxido de zinco, sintetizadas por duas fontes diferentes, na presença e ausência de agente protetor de carboximetilcelulose (CMC). A atividade antibacteriana foi examinada para gelatina pura e para os nanocompósitos de gelatina/ZnO contra as bactérias gram-positiva, *L. monocytogenes* e a gram-negativa, *E. coli*. Os gráficos da Figura 23 demonstram a atividade antimicrobiana.

Figura 22. Avaliação da ação antibacteriana para (A) filme controle (sem nanopartícula de ZnO) e (B) filme de amido com PE e nanopartículas de ZnO observação do halo pelo "método de zona de inibição".



Fonte: TANKHIWALE; BAJPAI (2012).

Figura 23. Atividade antimicrobiana dos filmes nanocompósitos de gelatina/ nanopartículas de ZnO contra (a) *L. monocytogenes* e (b) *E. coli*.



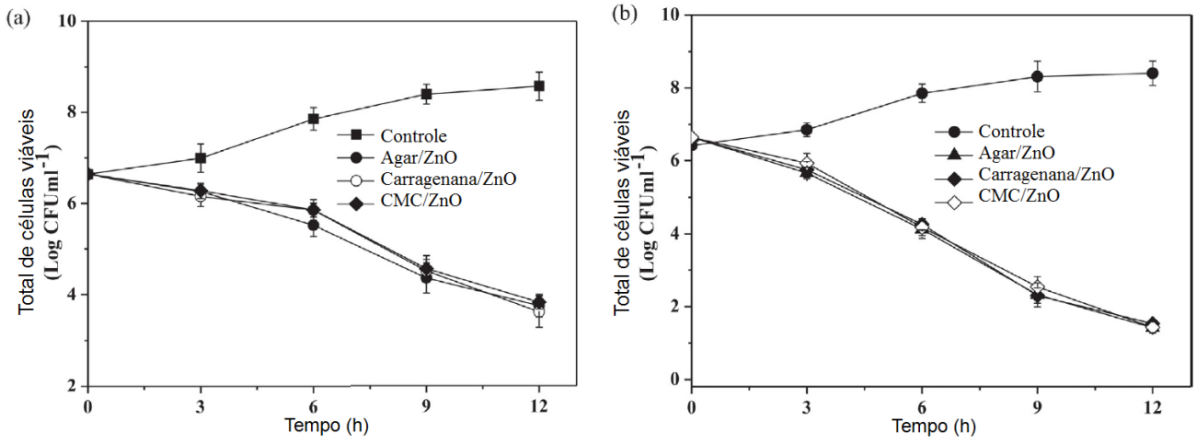
Fonte: SHANKAR *et al*. (2015).

Os filmes nanocompósitos exibiram uma forte atividade antibacteriana contra ambas as bactérias patogênicas de origem alimentar. Os filmes nanocompósitos desenvolvidos foram mais ativos contra a bactéria gram-positiva do que a gram-negativa. Esse fato pode ser justificado, pois as paredes celulares das bactérias gram-positivas são mais espessas e composta de múltiplas camadas de peptidoglicano, enquanto que as paredes celulares das bactérias gram-negativas são compostos de uma estrutura complexa, com camada fina de peptidoglicano rodeado por uma membrana externa.

Os autores SHANKAR e colaboradores (2015) sugerem que as nanopartículas de ZnO são capazes de retardar o crescimento bacteriano devido à desorganização da membrana bacteriana, o que aumenta a permeabilidade da membrana levando ao acúmulo de nanopartículas na membrana bacteriana e regiões citoplasmáticas da células. Acreditou-se que tanto a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a acumulação ou a deposição de nanopartículas de ZnO dentro do citoplasma ou na superfície de bactérias conduz à inibição ou à morte de células bacterianas. No entanto, mais estudos são necessários para esclarecer o mecanismo exato de ação antibacteriana das nanopartículas de ZnO.

KANMANI e RHIM (2014b) fizeram um estudo que teve como objetivo o desenvolvimento de diferentes filmes antimicrobianos a partir dos biopolímeros agar, carragenana e carboximetilcelulose (CMC) com nanopartículas de óxido de zinco, obtidos por solução, para embalagens ativas de alimentos, a fim de reduzir a poluição ambiental causada pelo acúmulo de embalagens sintéticas. A Figura 24 mostra os resultados para propriedade antimicrobiana.

Figura 24. Atividade antimicrobiana dos vários filmes nanocompósitos contra (a) de *E. coli* e (b) *L. monocytogenes*.



Fonte: KANMANI; RHIM (2014b).

Como mostrado na Figura 24, o filme puro (controle) não mostrou qualquer atividade antibacteriana para as bactérias *E. coli* e *L. monocytogenes*. No entanto, os filmes nanocompósitos de agar/ZnO, carragenana/ZnO e CMC/ZnO mostraram uma grande redução das celulas viáveis para ambas as bactérias.

GOUVÊA (2016) a fim de obter uma nova embalagem ativa e biodegradável para ser aplicada na indústria de alimentos, obteve filmes de nanocompósitos de poli(3-hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV) com nanopartículas de óxido de grafeno reduzido-óxido de zinco (rGO-ZnO) obtidos via extrusão/compressão. Segundo o autor, a análise qualitativa dos filmes de PHBV com diferentes concentrações de rGO-ZnO, pode ser observado que nenhuma das amostras dos filmes híbridos de PHBV/rGO-ZnO apresentou formação do halo de inibição contra a bactéria *E. coli*. O halo só foi visto no filme controle contendo antibiótico Cloranfenicol. A ausência do halo sugere que a migração do nanopartícula de dentro da matriz polimérica para o seu exterior é bastante limitada.

PATIÑO e colaboradores (2014) obtiveram filmes compósitos de Nylon 6 com cristais de prata e zinco obtidos por co-extrusão para embalagens para salsichas e avaliaram as propriedades antimicrobianas, térmicas, mecânicas e de barreira (permeabilidade) ao oxigênio e ao vapor água. Segundo os autores, os cristais de prata e zinco inibiram o crescimento de várias cepas microbianas, o que demonstra o potencial de atividade antimicrobiana. Em relação às propriedades mecânicas e térmicas não houve alterações significativas, porém houve diminuição da permeabilidade ao oxigênio e ao vapor de água.

4 METODOLOGIA

Neste item estão discriminados os materiais e equipamentos que foram utilizados durante o desenvolvimento experimental deste trabalho; a metodologia aplicada na obtenção dos filmes de PLA e de nanocompósitos de PLA/ nanopartículas de ZnO, bem com as técnicas empregadas para caracterização dos materiais obtidos.

4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

A seguir encontram-se listados os materiais e os equipamentos que foram utilizados na obtenção e caracterização dos filmes.

4.1.1 Materiais

Neste estudo foi utilizado PLA Ingeo 4043D, grau filme, proveniente da NatureWorks LLC. De acordo com o fornecedor, esse PLA apresenta densidade de 1,24 g/cm^3 e é constituído predominantemente de isômero L (PLLA). A nanopartícula utilizada foi o óxido de zinco (ZnO), de tamanho menor que 100 nm e área superficial de 15-25 m^2/g, fornecida pela Sigma-Aldrich. Para o ensaio da propriedade antimicrobiana foi utilizado o meio de cultura Agar tripticase soja (Agar Casoy) e Mueller Hinton para três micro-organismos, que são as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213, *Salmonella enterica* subsp*. enterica* sorotipo Typhi ATCC® 19214 e *Escherichia coli* ATCC® 25922.

4.1.2 Equipamentos

Além dos aparelhos e vidrarias comuns de laboratório foram utilizados os seguintes equipamentos durante a execução dos procedimentos experimentais e caracterização:

- Analisador dinâmico-mecânico TA Q800;
- Analisador termogravimétrico TGA Q500 V6.7/Build TA *Instruments* 203/Module;
- Calorímetro diferencial de varredura (DSC) TA *Instruments*, modelo Q1000 V9.9 Built 303;
- Cromatógrafo de permeação em gel Shimadzu (CBM20A, RID20A, DGU20A3R, CTO20A), calibrado com padrões de poliestireno;
- Espectrômetro de absorção na região do infravermelho (FTIR) –Espectrofotômetro Frontier Perkin Elmer, em refletância total atenuada (ATR).
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) Maran Ultra 23 Resonance-Oxford;
- Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN), VARIAN Mercury 300;
- Estufa a vácuo Marconi, Modelo MA 030/D;
- Microscópio eletrônico de varredura (SEM) JEOL, modelo JSM-6701F (Universidade Federal do ABC);

- Mini Extrusora mono-rosca de bancada, modelo 1626 da Ax Plásticos. À extrusora foi acoplada a um puxador de rolo modelo Haake Fisons com velocidade de 50 rpm;
- Difratômetro de raios X Rigaku Ultima 4, Japão.

4.2 MÉTODO DE OBTENÇÃO DOS MATERIAIS

A primeira etapa da metodologia consistiu no desenvolvimento dos filmes. A segunda etapa da metodologia consistiu na caracterização.

A seguir encontra-se a descrição dos métodos que foram empregados na obtenção da dos filmes. Os nanocompósitos foram obtidos na forma de filmes por fusão. Segue abaixo a metodologia de obtenção dos filmes.

4.2.1 Obtenção dos filmes por fusão (extrusão)

Foram obtidos filmes planos via extrusão de PLA puro e PLA com nanopartículas de óxido de zinco nas concentrações de ZnO de 0,1%m/m; 0,25% m/m; 0,3%m/m e 0,5%m/m. Antes da extrusão, o PLA foi seco por 4 horas à 80°C em estufa e posteriormente foram realizadas as pré-misturas do PLA/ZnO. A nanopartícula foi seca por 4 horas à 100°C. Seguidamente, os materiais foram processados em extrusora AX Plásticos modelo AX1626, com monorosca construída em aço SAE 8550 nitretada (com diâmetro de 16 mm e razão L/D=26), com 3 zonas de aquecimento, utilizando janela de processamento entre 140-170ºC, matriz do tipo filme plano. Foram utilizados os seguintes parâmetros de processamento: primeira zona de aquecimento a 140°C, segunda a 155°C, terceira a 170°C, velocidade da rosca 60 rpm. À extrusora foi acoplada a um puxador de rolo modelo Haake Fisons com velocidade de 50 rpm. É importante ressaltar que as condições de processamento foram encontradas por meio de estudos das condições ideais de processamento, que foram determinadas por meio de levantamento bibliográfico, seguidos de testes experimentais.

É importante ressaltar que concentrações maiores que 0,5%m/m da nanopartícula de ZnO com PLA foram preparadas, porém, a extrusora não suportou o processamento, devido ao torque aumentar abruptamente, ocasionando paradas do equipamento.

4.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

A caracterização dos filmes foi feita por meio das técnicas de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (MEV-FEG), difração de raios X (DRX), calorimetria diferencial de varredura (DSC), análise termogravimétrica (TGA), curva de domínio de ressonância magnética nuclear (RMN) no estado líquido e no estado sólido, espectroscopia na região de absorção do infravermelho (FTIR), Cromatografia de permeação em gel (GPC), análise dinâmico-mecânica (DMA) e análise antimicrobiana (método de difusão em disco). O *pellet* de PLA foi caracterizado por GPC, RMN em solução e DSC. As nanopartículas de ZnO foram caracterizadas por FTIR utilizando pastilhas de KBr e DRX.

4.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura de alta resolução (MEV-FEG)

A microscopia eletrônica de varredura convencional com filamento de tungstênio (MEV) permite obtenção de imagens com ampliação de até 50.000x. Já microscopia eletrônica de varredura de alta resolução com emissão de elétrons por um canhão de aplicação de um campo elétrico (MEV-FEG - *Field Emission Gun*) permite obtenção de imagens com ampliação de até 500.000x. A MEV-FEG é uma técnica capaz de fornecer imagens de alta resolução da superfície de uma amostra, podendo avaliar o tamanho, dispersão/distribuição das nanopartículas.

Para a obtenção das imagens, utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo MEV-FEG (JEOL, JSM-6701F).

Os filmes foram fixados em um porta-amostra de alumínio, metalizada com ouro na superfície superior e transferida ao microscópio. As amostras foram avaliadas por imagens com magnificações entre 350x e 100.000x, em alto vácuo e detecção de elétrons secundários. Devido à fragilidade das amostras ao feixe de elétrons, as imagens foram adquiridas com energia de no máximo 5 kV. As características da superfície das amostras foram avaliadas por um examinador, de maneira descritiva, com relação à uniformidade na distribuição das partículas (caracterização ou não de um padrão de distribuição); pelo formato (similaridade ou não entre as formas das partículas) e tamanho (similaridade ou não entre o tamanho das partículas).

Esta análise foi realizada na Universidade Federal do ABC (UFABC).

4.3.2 Difração de Raios X

Essa técnica utiliza o espalhamento coerente da radiação X, por estruturas organizadas (cristais), permitindo realizar estudos morfológicos em materiais, determinando sua estrutura cristalina e sua fração (percentual) cristalina (NETO, 2003).

Em um material onde os átomos estejam arranjados periodicamente no espaço, característica de estruturas cristalinas, o fenômeno da difração de raios x ocorre nas direções de espalhamento que satisfazem a Lei de Bragg (Equação 1).

$$n\lambda = 2\,d\,\mathrm{sen}\,\theta \qquad \text{Equação 1 (Eq. de Bragg)}$$

Onde: n – número inteiro (0, 1, 2 ...); λ - comprimento de onda dos raios X que é difratado e é tabelado (fonte) (1,5418 Å); d – distância interplanar e θ - é a metade do ângulo de espalhamento.

A difração de raios X é uma técnica muito usada para a caracterização de polímeros, pois fornece informações sobre o estado cristalino e amorfo do polímero e da estrutura dos nanocompósitos. Sendo assim, esta técnica tem como objetivo obter informações sobre a cristalinidade das nanopartículas de ZnO.

As análises de raios X foram realizadas em difratômetro de raios X Hitachi Ultima 4, Japão; com emissão de CuKα (λ = 1,5418 A) na temperatura ambiente e em 40 kV e 20 mA. Os padrões de difração foram coletados numa taxa de varredura de $2° < 2\theta < 60°$, por 1 segundo com passo de 0,01.

4.3.3 Análise Térmica

4.3.3.1 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica na qual a variação de massa da amostra (perda ou ganho) é determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. Essa técnica possibilita conhecer alterações que o aquecimento pode provocar na

massa das substâncias, permitindo estabelece a faixa de temperatura em que elas adquirem composição química, fixa, definida e constante, a temperatura em que começam a se decompor, acompanhar o andamento de reações de desidratação, oxidação, combustão, decomposição, etc. (MATOS; MACHADO, 2003).

O estudo da estabilidade térmica foi realizado analisador termogravimétrico. Cerca de 10 mg de amostra foram utilizados, a faixa de aquecimento foi de 0 a 600°C, com taxa de aquecimento 10°C/min, sob atmosfera inerte de nitrogênio.

4.3.3.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura é a técnica na qual se mede a variação de entalpia entre o material em estudo, sendo usada uma amostra inerte como referência ou padrão. Esta técnica mantém constante o calor fornecido. Porém, ao invés de medir a diferença de temperatura durante a transformação que ocorre na amostra, um sistema de controle (servossistema) aumenta imediatamente a energia fornecida para a amostra ou para a referência, dependendo do processo envolvido ser endotérmico ou exotérmico. Isso tem como finalidade manter a amostra e a referência com a mesma temperatura. O registro da curva de DSC é expresso em termos de fluxo de calor *versus* temperatura ou tempo (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

De modo geral as aplicações de DSC podem ser para determinação das temperaturas de transição, como a transição vítrea (T_g), temperatura de cristalização (T_c) e temperatura de fusão (T_m), as medidas quantitativas de calor específico (C_p) e calor de fusão (ΔH_f), bem como o estudo de cinética de cristalização, determinação do grau de cristalinidade, estabilidade térmica entre outras (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

Os estudos de cristalização foram realizados no equipamento de calorímetro diferencial de varredura da TA *Instruments*, modelo Q1000. Aproximadamente 5 mg de cada amostra foram analisadas em atmosfera de nitrogênio. Para o estudo da cristalização não isotérmico e avaliação do comportamento de *cold crystallization* do PLA, as taxas de aquecimento e resfriamento adotadas foram 10, 7, 5 e 3 °C/min. Para tal análise, foram realizadas três corridas de aquecimento na faixa de temperatura de 20 °C a 200 °C, a fim de avaliar as transições térmicas possíveis, conforme o seguinte tratamento: 1) aquecimento da temperatura ambiente até 200 °C com manutenção de 5 minutos nesta temperatura, a uma taxa 10 °C/min (eliminar a

história térmica anterior); 2) resfriamento rápido até 20 °C a uma taxa de 10 °C/min; 3) 2° aquecimento de 20 a 200°C (taxas de 10, 7, 5 e 3°C/min); 4) resfriamento a 20°C (taxas de 10, 7, 5 e 3 °C/min) e 5) 3° aquecimento de 20 a 200°C (taxas de 10, 7, 5 e 3 °C/min).

O grau de cristalinidade (Xc) foi calculado utilizando a equação 2:

$$\%X_c = \frac{\Delta H_m - \Delta H_{cc}}{f_{PLA} \times \Delta H_m^{\circ}} \times 100\% \qquad \text{Equação 2 (BRÜSTER } \textit{et al}\text{., 2018)}$$

Onde: $\%X_c$ é o grau de cristalidade; ΔH_m é entalpia de fusão do PLA; ΔH_{cc} é a entalpia de cristalização (*cold crystallization*), f_{PLA} é fração molar de PLA e $\Delta H_m°$ é a entalpia de fusão padrão do PLLA (equivale a 100% cristalino), $\Delta H_m° = 93{,}1\ J.g^{-1}$ (BRÜSTER *et al*., 2018).

4.3.4 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A técnica de GPC foi utilizada com o objetivo de determinar a massa molar numérica média (M_n), massa molar ponderal média (M_w) e polidispersão (PD = M_w/ M_n) do PLA. Essa técnica permite avaliar a influência do processamento e da concentração da nanopartícula ZnO nos valores de massa molar obtidos para PLA.

As amostras foram preparadas pela solubilização em clorofórmio, para obtenção da concentração de 1 mg/mL. Em seguida, foram injetadas no equipamento cromatógrafico Shimadzu LC, utilizando clorofórmio como solvente e padrões de poliestireno como padrão de calibração. A vazão foi de 1,0 mL/min, temperatura de 25°C e volume de injeção de 20 µm.

4.3.5 Ressonância Magnética Nuclear

A ressonância magnética nuclear é uma técnica utilizada para analisar o comportamento do *spin* nuclear perante a ação de um campo magnético externo e

forte. A ação desse campo magnético faz com que vários núcleos possam vir a sofrer o fenômeno da ressonância magnética nuclear (RMN).

A partir desta técnica é possível, não somente informações sobre estrutura química, mas também propriedades físicas relacionadas à mobilidade molecular em solução ou no estado sólido.

Sendo assim, a espectroscopia de RMN vem sendo utilizada, com grande êxito, para informar sobre a morfologia, interface química e dinâmica molecular de vários tipos de materiais, além da interação entre os componentes do material, forma de dispersão, homogeneidade e tipo de reação química (SILVA *et al.*, 2013).

4.3.5.1 Ressonância Magnética Nuclear no domínio do tempo (RMN-DT)

A técnica de ressonância magnética nuclear no domínio do tempo permite obter informações detalhadas da dinâmica molecular de materiais poliméricos e de materiais nanoestruturados. A técnica inicia-se aplicando um pulso de radiofrequência num dado material; ocorre o processo de decaimento livre de indução dos núcleos de hidrogênio e o sinal gerado é proporcional ao número total de hidrogênios da amostra.

Esta técnica investiga a mobilidade molecular de amostras complexas no domínio do tempo e permite, a princípio, que se identifique contribuições de domínios com mobilidades distintas em uma amostra. Um dos parâmetros que fornecem informações sobre a mobilidade molecular é o tempo de relaxação longitudinal *spin*-rede, que possui constante de tempo, T_1 (GALLAND; TAVARES, 2003).

Os tempos de relaxação de RMN são muito sensíveis aos movimentos moleculares no estado sólido de estruturas que possuam um alto grau de cristalinidade ou amorfas, em diferentes faixas de frequências**.** O tempo de relaxação T_1 é entendido como um tempo que descreve o retorno de magnetização ao equilíbrio térmico após perturbação da amostra através de pulsos de radiofrequência.

Para as análises de relaxação, o material foi colocado em um tubo de 18 mm, sendo este posteriormente colocado na sonda.

Para informações sobre a dinâmica molecular das amostras PLA e seus nanocompósitos, os tempos de relaxação *spin*-rede foram determinados por RMN no domínio do tempo no estado sólido 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 mm. O pulso de 90°, 7,5 μs, foi calibrado

automaticamente pelo software do instrumento com inversão-recuperação (*tempo de reciclo* $180°_x$ - τ - $90°_x$ *aquisição*). A amplitude do decaimento de indução livre (FID) foi amostrado por 40 τ de atraso, variando de 0,01-20000 ms, com quatro digitalizações cada e 1 s de atraso de reciclagem.

4.3.5.2 Ressonância Magnética Nuclear em solução

A análise de RMN em solução foi realizada com o objetivo de caracterizar a estrutura molecular do PLA utilizado neste trabalho, já que esta técnica permite caracterizar a estrutura e a microestrutura organizacional da matriz polimérica (BOVEY; MIRAU, 1996; PEDROZA; TAVARES, 2005). Aproximadamente 30 mg de amostra em 0,8 mL de $CDCL_3$ foram utilizadas. As análises em solução de ^{1}H, ^{13}C e APT (*Attached Proton Test*) foram realizadas em um espectrômetro Varian Mercury 300, com as frequências de 4800 Hz e 18200 Hz para os núcleos de ^{1}H e ^{13}C, respectivamente. A técnica empregada é a de pulso simples, onde é aplicado um único pulso de 90°, em temperatura de 40 °C da sonda para as análises de ^{1}H e ^{13}C. Para a análise de APT os pulsos aplicados foram de 180° e 90° com um intervalo entre eles (τ) de 20 s.

4.3.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

As análises de espectroscopia no infravermelho (FTIR) foram realizadas em um espectrofotômetro Frontier Perkin Elmer FTIR/FIR (Estados Unidos da América), em refletância total atenuada (ATR) (para os filmes de PLA/nanoZnO) e em pastilhas de brometo de potássio (KBr) (para a nanopartícula de ZnO), na faixa de 600-4000 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}. As amostras referentes aos nanocompósitos de PLA/ZnO estavam na forma de filme e ZnO na forma de pó. Esse procedimento foi empregado para verificar se durante o processamento os grupamentos funcionais do PLA sofreram algum o processo degradativo.

4.3.8 Análise dinâmico-mecânica (DMA)

Esta análise é capaz de fornecer informações a respeito do comportamento viscoelástico do sistema, desmembrando o módulo em duas componentes: a contribuição elástica e viscosa, módulo elástico ou de armazenamento (E') e do módulo de dissipação viscosa ou de perda (E''), respectivamente. A razão entre os valores de módulo de perda e módulo de armazenamento define uma grandeza denominada tangente de perda ou amortecimento mecânico, ou ainda, atrito interno (tan δ= E''/E'). Assim, materiais mais rígidos irão apresentar valores de tan δ menores e, do mesmo modo, materiais mais flexíveis irão apresentar valores de tan δ maiores (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001; CANEVAROLO Jr., 2003).

Foram realizadas análises dinâmico-mecânicas do polímero nos filmes nanocompósitos PLA/ZnO, em aparelho analisador dinâmico-mecânico TA Q800, com taxa de aquecimento de 3°C por minuto na faixa de -20°C a 120°C, com frequência de varredura de 1 Hz, amplitude de 0,1 mm e atmosfera de nitrogênio. Os testes foram conduzidos utilizando uma garra de tração para filme (*tension film clamp*) em modo de deformação com força controlada de 0,01 N. Os corpos de prova apresentaram as seguintes dimensões 20 mm x 6,0 mm x 0,1 mm.

4.3.9 Avaliação da propriedade antimicrobiana

As cinco formulações (amostras de PLA puro e PLA com concentrações de ZnO de 0,1%m/m; 0,25% m/m; 0,3%m/m e 0,5%m/m) foram analisadas para verificar atividade antimicrobiana dos filmes contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subsp*. enterica* sorotipo Typhi e *Escherichia coli*. O objetivo desta análise foi verificar se os filmes com a nanopartícula de ZnO apresentam atividade antimicrobiana para as bactérias citadas acima. É importante ressaltar que esta avaliação foi qualitativa, ou seja, detecta se há ou não atividade biocida.

Para analisar a atividade antimicrobiana dos filmes, foram cortados, de partes aleatórias dos filmes, discos de 0,6 cm de diâmetro, aproximadamente, para cada amostra.

A primeira etapa consiste em obter uma colônia isolada de cepa. Para isso, foram preparadas três diferentes placas de Petri contendo o meio de cultura ágar Casoy inoculadas, em cada uma, isoladamente, as cepas das bactérias: uma

contendo *Staphylococcus aureus*, outra com *Salmonella enterica* subsp*. enterica* sorotipo Typhi e outra com *Escherichia coli*. Estas placas foram incubadas a 36°C por 24 horas e os ensaios foram realizados em duplicata e com réplica biológica.

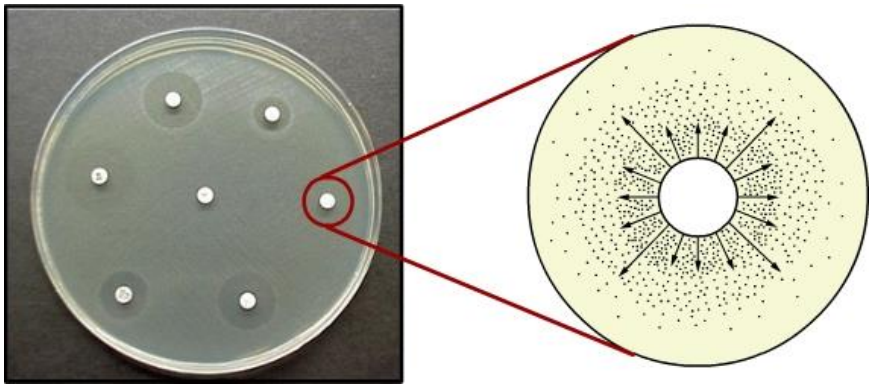
Em seguida, com auxílio de uma alça bacteriológica em platina devidamente flambada e resfriada (estéril) foi transferido a colônia isolada de cada cepa (em ágar Casoy) para uma solução salina estéril de 0,8% de NaCl, até obter uma turvação compatível com o grau 0,5 da escala McFarland ($1x10^8$ UFC/mL).

A partir deste ponto, foi feito duas técnicas para avaliar a propriedade antimicrobiana: método de difusão em disco e método de difusão em meio líquido.

4.3.9.1 Método de difusão em disco

O teste de disco-difusão em ágar foi descrito em 1966, por Bauer e Kirby. O teste fornece resultados qualitativos. É um dos métodos de suscetibilidade mais simples, confiável e mais utilizado pelos laboratórios de microbiologia. O seu princípio básico é a difusão do antimicrobiano na superfície do ágar, a partir de um disco impregnado com o mesmo antimicrobiano (Figura 25) (ANVISA).

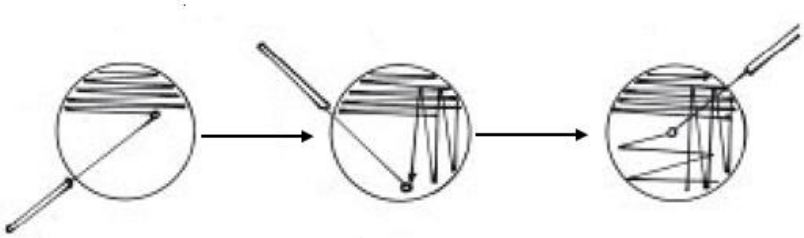
Figura 25. Princípio do teste suscetibilidade pela metodologia do disco-difusão.



Fonte:<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/atm_racional/modulo2/metodos5.htm>, acesso: 10/11/2018.

Com auxílio de *swab* estéril, inocula as colônias isoladas foram suspensas em solução salina estéril nas três diferentes placas de Petri contendo Mueller-Hinton. A inoculação foi na superfície do ágar Mueller-Hinton em três diferentes direções, conforme a Figura 26.

Figura 26. Inocula em três diferentes direções.



Fonte: Adaptado de <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/tecnicas-y-metodos-de-estriado-en-caja.html>.Acesso em 10/11/2018.

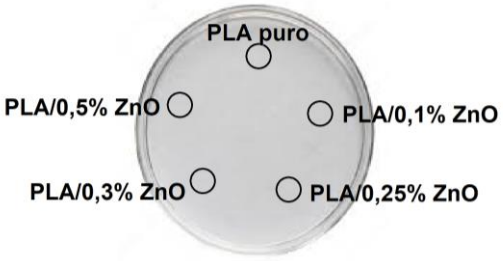
A segunda etapa foi a adição dos discos de aproximadamente 0,6 cm de diâmetros nos meios para avaliação da propriedade antimicrobiana.

Os discos de 0,6 cm 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. Com uma pinça estéril, foram depositados os discos de diferentes composições sobre a superfície do meio inoculado, exercendo uma leve pressão com a ponta da pinça para uma boa adesão ao meio. Em cada placa com sua respectiva bactéria inoculada, foram colocados os discos com as composições de PLA puro e PLA com nanopartícula de ZnO. Cada placa tinha cinco discos, referentes as amostras de PLA puro e PLA com concentrações de ZnO de 0,1%m/m; 0,25% m/m; 0,3%m/m e 0,5%m/m, conforme a Figura 27. Após a inoculação dos discos nas placas, estes foram mantidos à 36°C/18-24h.

É importante ressaltar que todas etapas foram realizadas na zona de segurança, próximo a chama do bico de Bunsen.

Estas análises foram realizadas IFRJ, *campus* Rio de Janeiro.

Figura 27. Esquema de distribuição dos filmes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3.9.2 Método de difusão em meio líquido

Com auxílio de uma pipeta automática de 10 µL, inocula as colônias isoladas foram suspensas em solução salina estéril nos seis tubos diferentes contendo Mueller-

Hinton. São 6 tubos para cada bactéria avaliada: um para cada uma das cinco concentrações dos discos de PLA/nanoZnO e um para controle (sem disco, sem filme) (Figura 28).

A segunda etapa foi a adição dos discos de aproximadamente 0,6 cm de diâmetros nos meios para avaliação da propriedade antimicrobiana nos tubos.

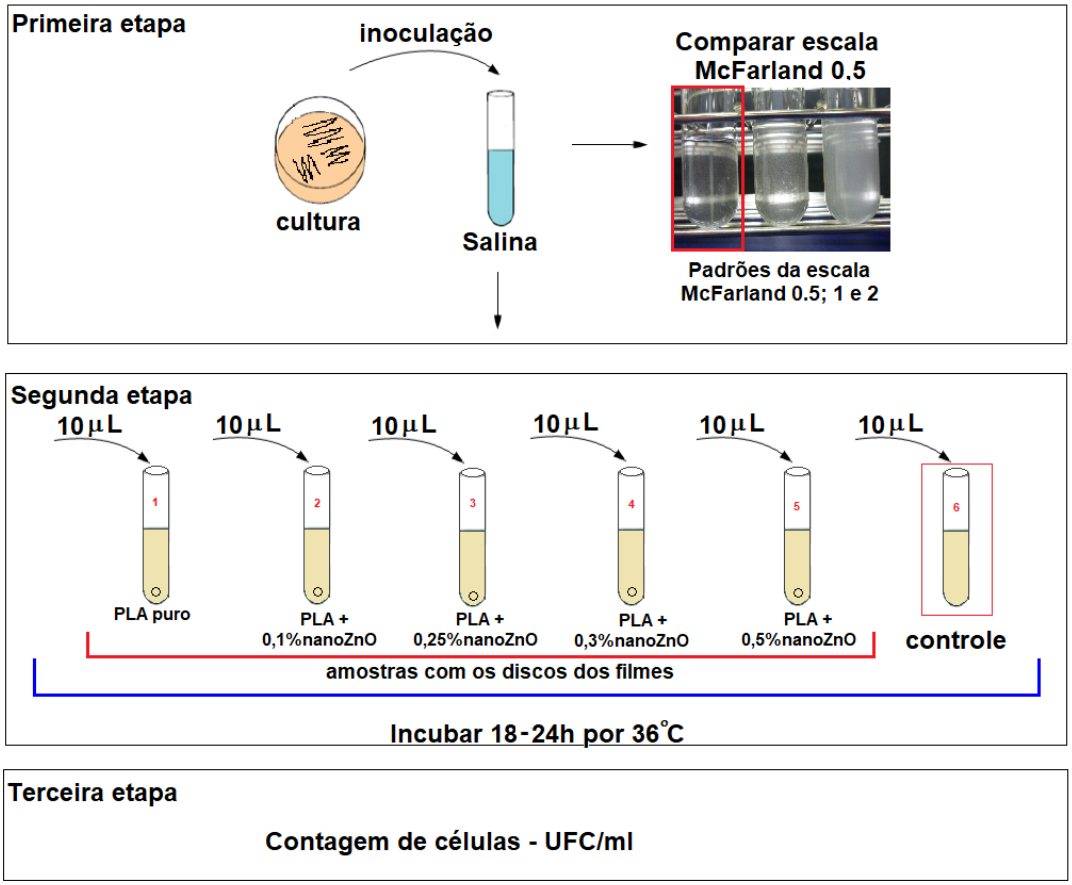
Os discos de 0,6 cm de diâmetros dos nanocompósitos foram desinfetados em solução de Etanol 70% (m/v) por 15 minutos, seguidos de secagem ao ar em uma placa de Petri estéril. Com uma pinça estéril, foram depositados os discos de diferentes composições nos tubos contendo o meio inoculado. Após a inoculação dos discos aos tubos, estes foram mantidos à 36°C/18-24h.

Após o resultado foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/ml).

É importante ressaltar que todas etapas foram realizadas na zona de segurança, próximo a chama do bico de Bunsen.

Estas análises foram realizadas IFRJ, *campus* Rio de Janeiro.

Figura 28. Esquema da técnica antibiograma método de difusão em meio líquido.

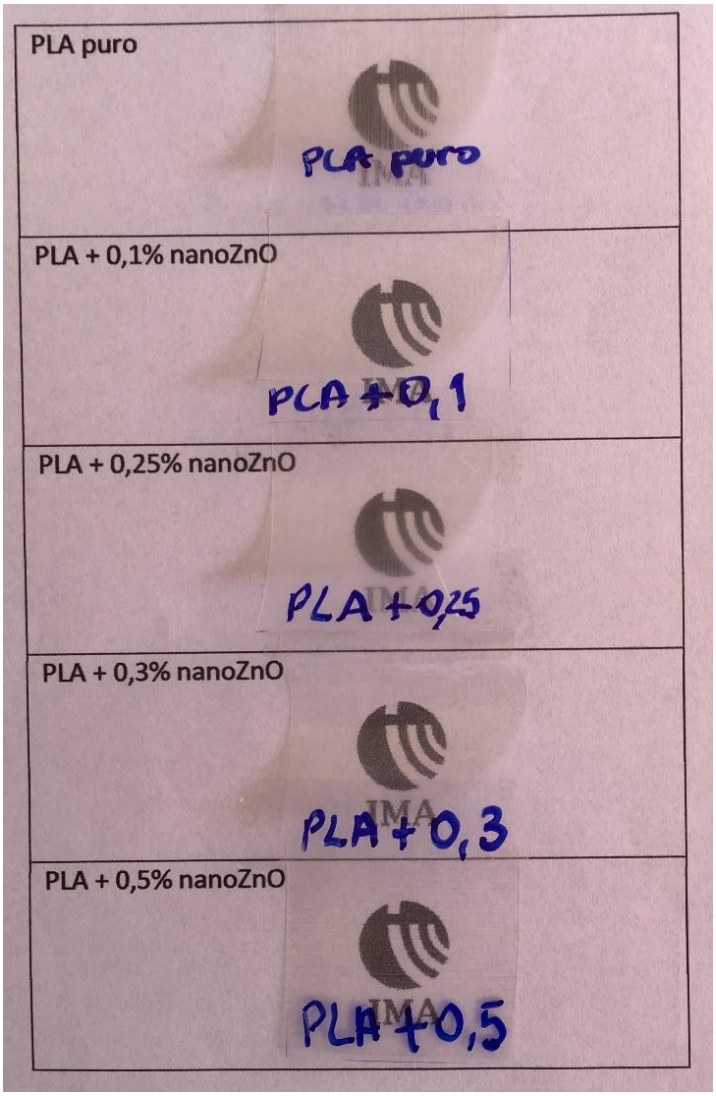


Fonte: Elaborado pelo autor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos filmes planos e contínuos de PLA com nanopartículas de óxido de zinco obtidos via extrusão nas concentrações de ZnO de 0%m/m; 0,1%m/m; 0,25% m/m; 0,3%m/m e 0,5%m/m. Os filmes apresentaram aspecto uniforme, transparente, ausência de bolhas ou de quaisquer outras imperfeiões, como trincas e/ou rachaduras a olho nú. Devido a transição vítrea do PLA estar acima da temperatura ambiente, os filmes se apresentaram pouco flexível, porém pouco quebradiços. A Figura 29 apresenta a fotografia dos filmes. O aumento da concentração da nanopartícula de ZnO nos filmes não interferiu significativamente na transparência, para espessura obtida (0,1 mm).

Figura 29. Filmes de PLA com diferentes percentuais de nanoZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ALTA RESOLUÇÃO (MEV-FEG)

Por meio da microscopia eletrônica de varredura de alta resolução, da superfície das amostras, foram observadas e investigadas as mudanças morfológicas nos filmes obtidos.

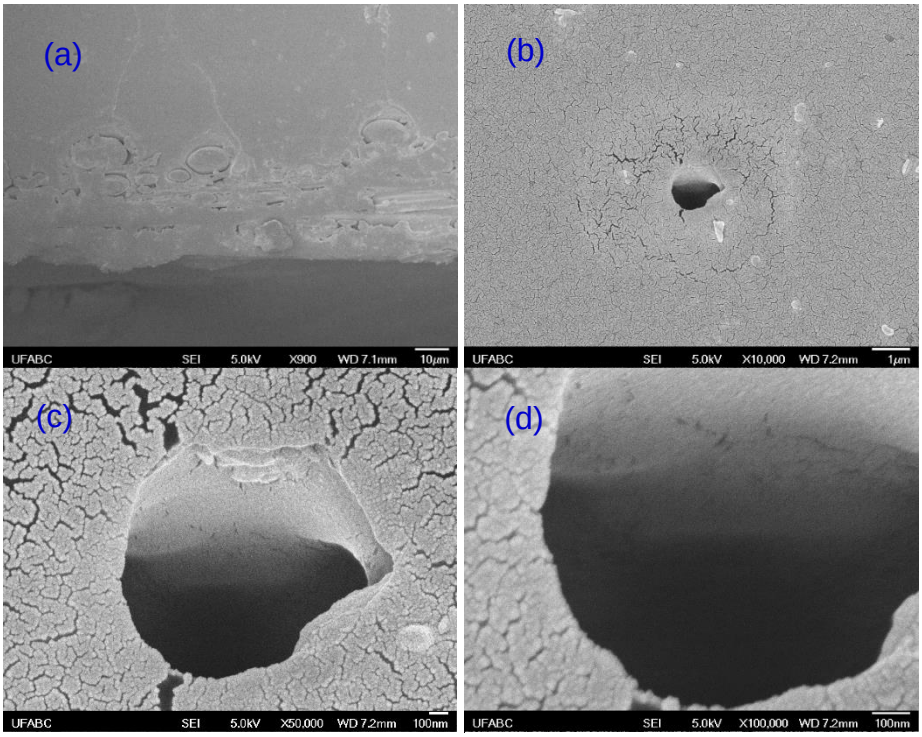
A amostra de PLA puro (Figura 30) apresentou características diferentes quando comparada as microscopias das amostras contendo a nanopartícula de ZnO. Pode ser observado um pouco de rugosidade na superfície e, numa maior ampliação, pode ser visualizado a presença de pequenas trincas (microtrincas) e, até mesmo a presença de furo na superfície do filme de PLA puro. Durante a preparação da amostra para a microscopia, podem surgir microtrincas, que são muitas vezes interpretadas como cavidades ou fratura na amostra (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

Na Figura 31, observa-se na ampliação 5000x, a presença de pequenas estruturas esféricas referentes as nanopartículas de ZnO, que estão dispersas e distribuídas. Assim como na Figura 30, referente ao PLA puro, observa-se um pouco de rugosidade, bem como, microtrincas, possivelmente, oriundas do preparo da amostra.

Nas Figuras de 32 a 34 pode ser notada a presença de estruturas esféricas, de tamanho superior a 100 nm, maior que o informado pelo fabricante, pelo formato são as nanopartículas, que possivelmente se aglomeraram. Nota-se, ainda, que a rugosidade na superfície diminui com o aumento do percentual de nanopartícula de ZnO e pode-se observar também o aparecimento de microtrincas.

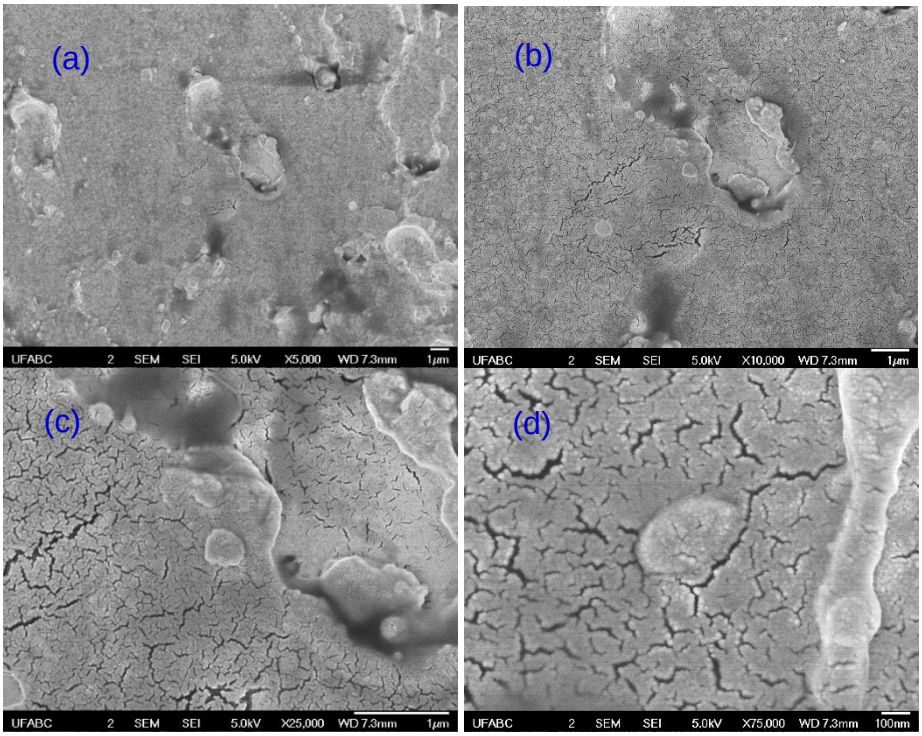
Pela análise morfológica dos filmes pode ser observada a rugosidade na superfície, bem como, a presença das microtrincas em todas as amostras, possivelmente, por conta do método de preparo (metalização da amostra com ouro). Pode ser observado também, pelo formato e pelas dimensões das nanopartículas houve aglomeração.

Figura 30. Imagens de MEV FEG para amostra de PLA puro: (a) aumento de 900x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x.



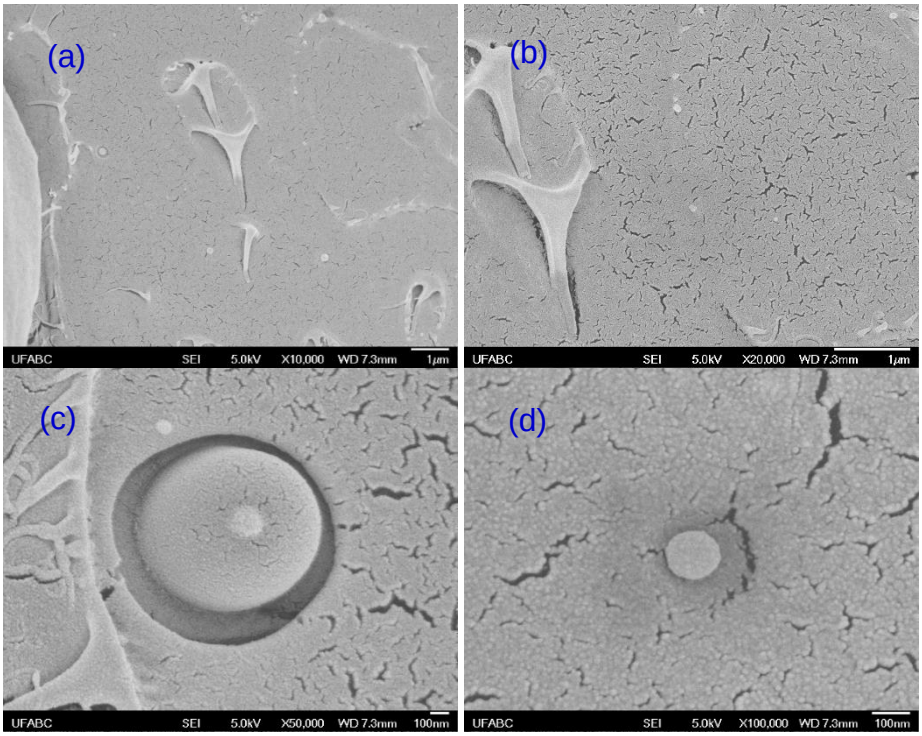
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 31. Imagens de MEV FEG para amostra de PLA com 0,1% de nanoZnO: (a) aumento de 5000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 25000x e (d) aumento de 75000x.



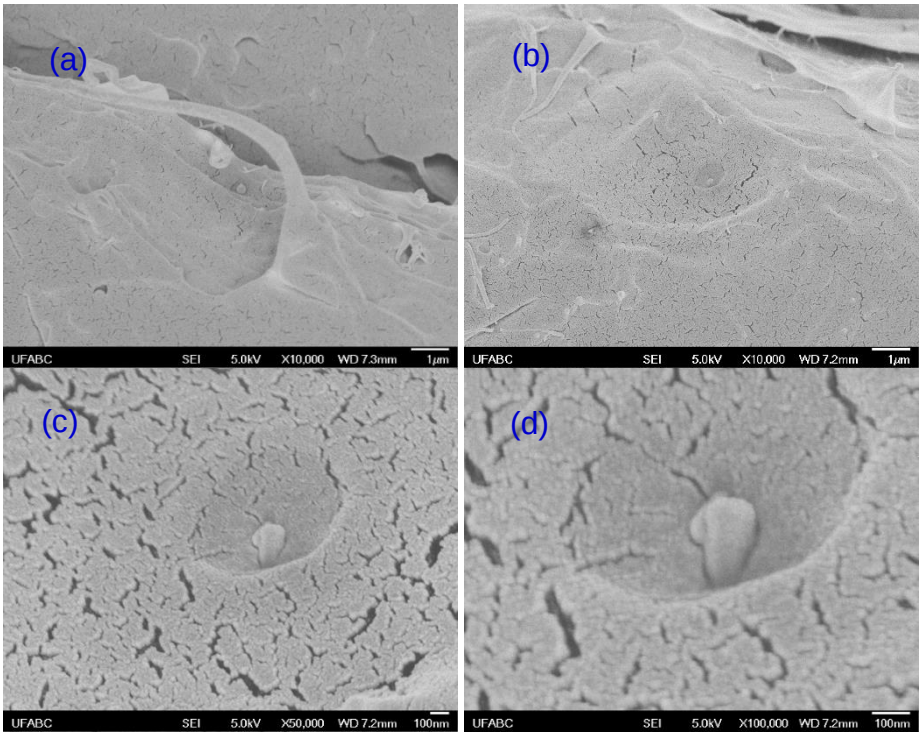
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 32. Imagens de MEV FEG para amostra de PLA com 0,25% de nanoZnO: (a) aumento de 10000x, (b) aumento de 20000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x.



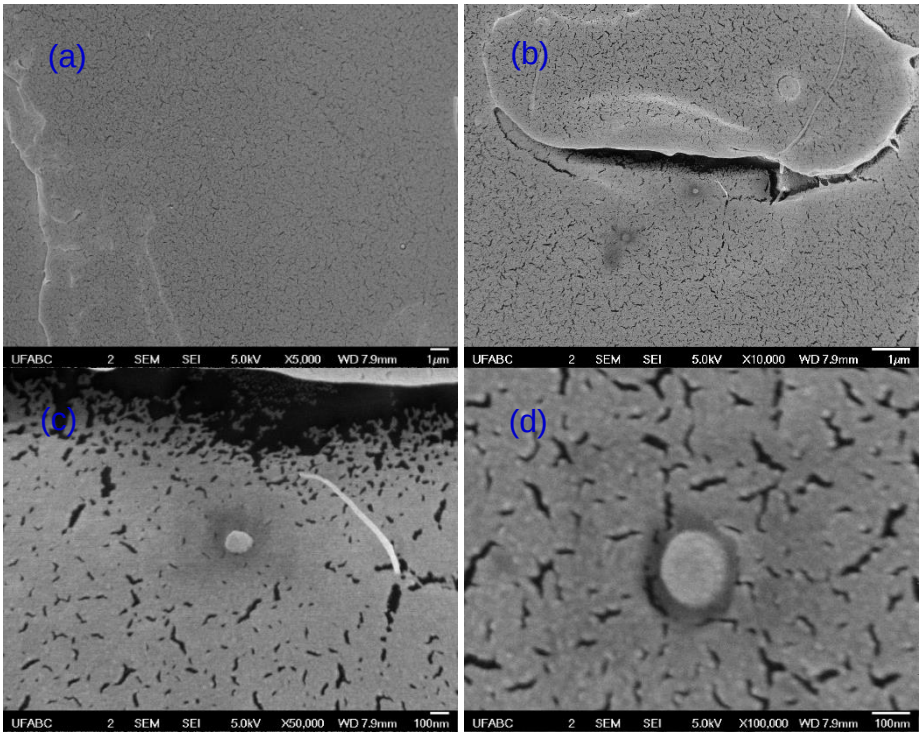
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 33. Imagens de MEV FEG para amostra de PLA com 0,3% de nanoZnO: (a) aumento de 10000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 34. Imagens de MEV FEG para amostra de PLA com 0,5% de nanoZnO: (a) aumento de 5000x, (b) aumento de 10000x, (c) aumento de 50000x e (d) aumento de 100000x.



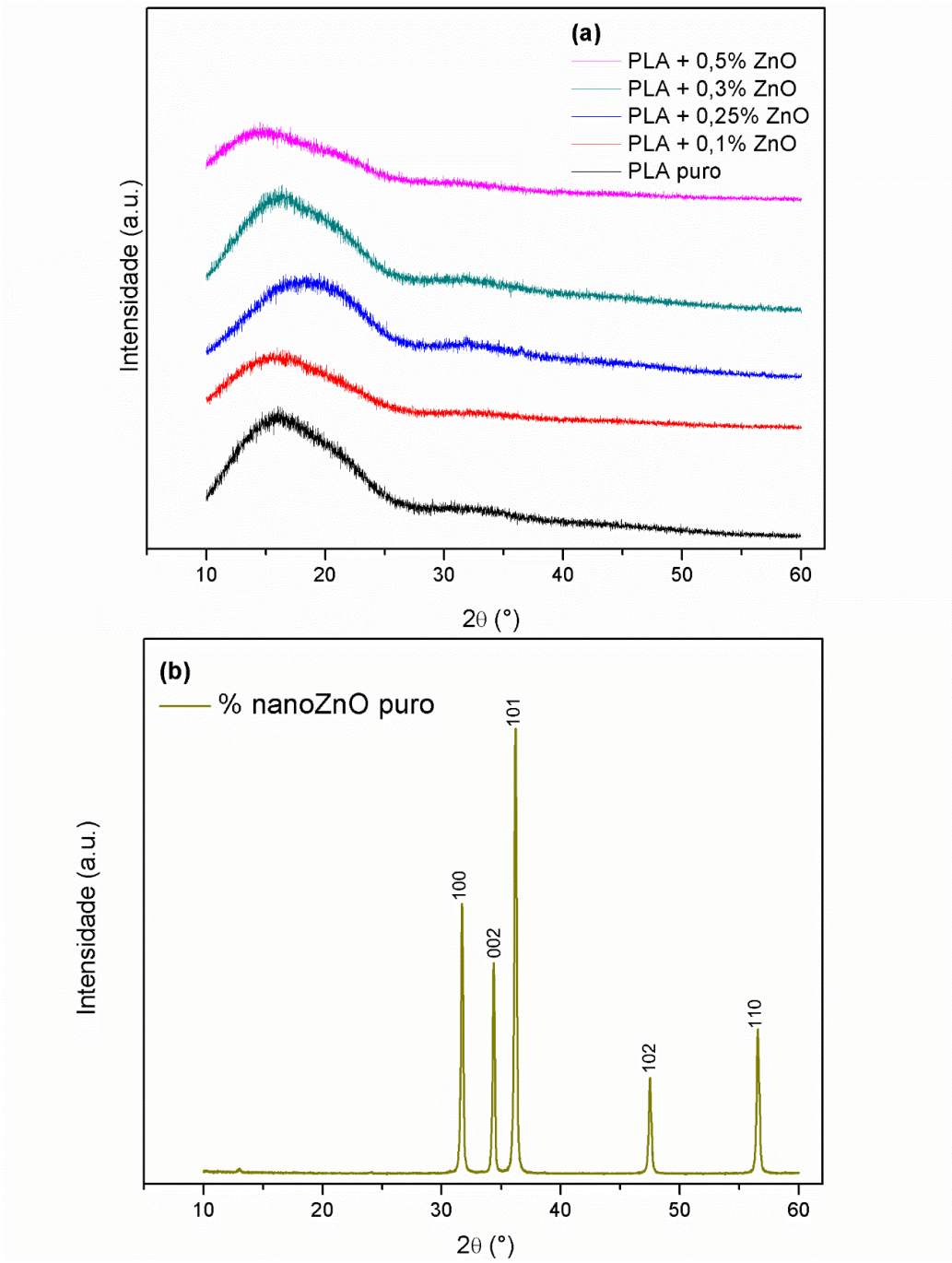
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X (XRD)

Os padrões de difração de raios X dos filmes de PLA e PLA/nanoZnO e da nanopartícula de ZnO estão mostrados na Figura 35. As curvas de XRD dos filmes de PLA e PLA/nanoZnO (Fig. 35(a)) mostraram um halo amorfo, indicando baixo grau de cristalinidade destes filmes. Também se observou na Fig. 35(b) o padrão de difração de raios X das nanopartículas de ZnO. A partir da análise do padrão de difração de raios X das nanopartículas de ZnO, tem-se que as nanopartículas de ZnO apresentam uma natureza monofásica com uma estrutura de wurtzita hexagonal (BIRAJDAR *et al.*, 2016). Os picos característicos do ZnO (DHOLE *et al.*, 2018; RAHMAN; ISLAM; LI, 2018) nos ângulos de 2θ = 32°, 34°, 36°, 48°e 57°, que são correspondentes ao plano (100), (002), (101), (102) e (110), respectivamente, demonstram a natureza cristalina da nanopartícula para taxa de varredura de $2° < 2\theta < 60°$ adotada na análise. Estes picos da nanopartícula não foram observados nos nanocompósitos de PLA/nanoZnO para todas as concentrações adotadas, bem como, o não aparecimento dos picos característicos de cristalinidade do PLA (2θ = 14.8°, 16.7°, 19° e 22.3°) (NOFAR;

PARK, 2018), o que leva a afirmar que a nanopartícula não teve efeito significativo na orientação molecular, não atuou como agente nucleante, quando comparado com o PLA puro, que apresenta halo amorfo.

Figura 35. (a) Difratogramas de PLA puro e dos PLA com nanoZnO para as concentrações 0,1; 0,25; 0,3; 0,5 m/m % e (b) difratograma da nanopartícula de óxido de zinco (nanoZnO).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Pela análise de difração de raios X pode ser observado o caráter amorfo dos filmes.

5.3 ANÁLISE TÉRMICA

5.3.1 Análise termogravimétrica

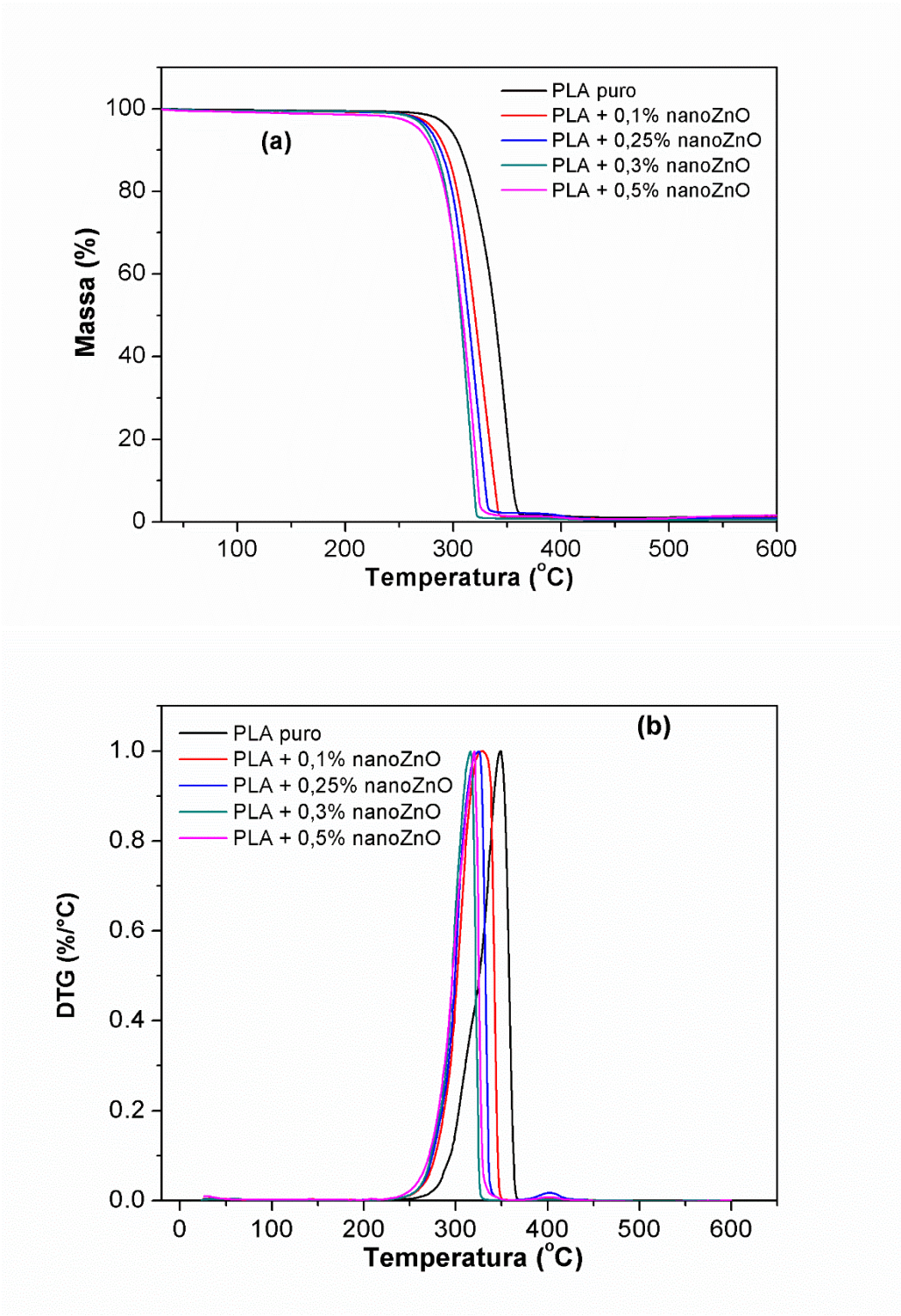
Os termogramas de TGA das amostras, tanto de PLA puro como as de PLA com a nanopartícula de ZnO, apresentaram um único estágio de perda de massa, conforme pode ser visualizado na Figura 36. A curva de TGA da amostra de PLA puro apresentou a primeira temperatura, que é a menor temperatura, a qual se pode evidenciar o ínicio da variação de massa (T_{onset}) em 300°C e, a temperatura, ao qual indica que a variação de massa com a temperatura foi concluida (T_{endset}) em 358°C. A maior variação de massa com a temperatura para PLA puro foi evidenciada na temperatura do pico na curva DTG (T_{peak}) e ocorreu em 348°C. Houve uma perda de massa de aproximadamente 99% e um resíduo de 1%, que sugere uma pureza elevada no grade do PLA. Estes valores estão na faixa de temperatura esperada (QU *et al.*, 2013; RODRÍGUEZ-TOBÍAS; MORALES; GRANDE, 2016). Pode ser observado que nas amostras de PLA com nanopartícula ZnO ocorreu uma diminuição da estabilidade térmica (Tabela 3), evidenciada pela temperatura inicial de degradação (T_{onset}), que diminuiu progressivamente com o aumento da concentração da nanopartícula de ZnO. Essa perda de estabilidade térmica pode estar associada ao efeito catalisador do ZnO na degradação, pois o PLA é sensível à hidrólise, ao cisalhamento e ao contato com produtos à base de Zn (PANTANI *et al.*, 2013; BIRAJDAR *et al.*, 2016).

Tabela 3. TGA e DTG: Temperaturas características das amostras correspondentes de nanocompósitos PLA e PLA/ZnO.

Amostra	**T_{onset}** (± 2°C)	**T_{endset}** (± 2°C)	**T_{peak}** (± 2°C)	**Resíduo em 600°C (%)**
PLA puro	300	358	348	1
PLA + 0,1% nanoZnO	288	342	329	1
PLA + 0,25% nanoZnO	283	332	325	1
PLA + 0,3% nanoZnO	279	322	316	1,3
PLA + 0,5% nanoZnO	279	325	320	1,5

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 36. (a) TG e (b) DTG termogramas de PLA puro e PLA/nanoZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

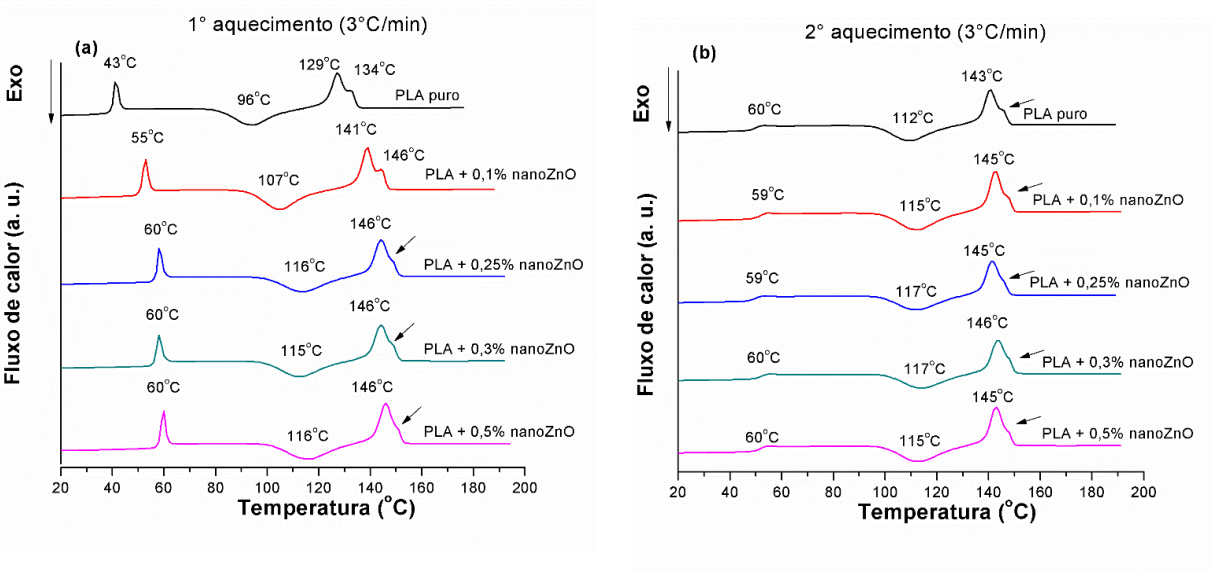
Pelos resultados obtidos na análise termogravimétrica pode ser percebido que a estabilidade térmica dos filmes foi reduzida com o aumento da concentração da nanopartícula de ZnO.

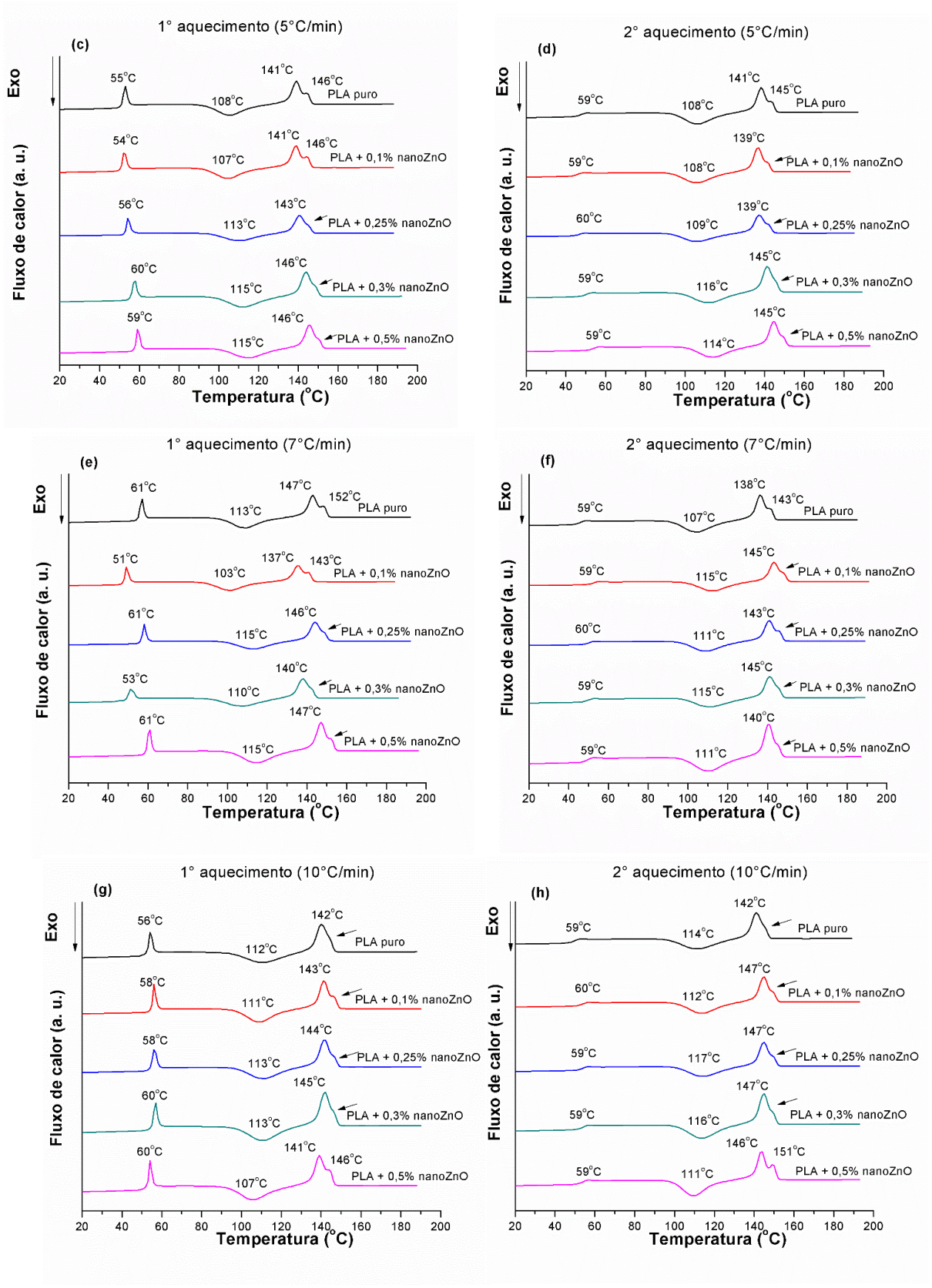
5.3.2 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As análises de calorimetria diferencial de varredura tiveram o propósito verificar o efeito da adição da nanocarga em diferentes proporções sobre as temperaturas de transição do PLA (T_g, T_{cc} e T_m). O estudo começou com taxa de aquecimento e resfriamento de 10°C/min, como não houve, durante o resfriamento, o aparecimento da temperatura de cristalização (T_c), foi reduzindo para 7°C/min, 5°C/min e 3°C/min, a fim de verificar se em taxas mais reduzidas de resfriamento, os filmes cristalizavam. Não foi observado T_c para nenhuma amostra, em todas as taxas de resfriamento empregadas. Porém, todas as amostras, em todas as taxas, durante o aquecimento, cristalizaram, pois apresentaram o fenômemo de *cold crystallization*, indicado pelo aparecimento da temperatura de *cold crystallization*, T_{cc}.

As curvas de DSC para as taxas de aquecimento de 3, 5, 7 e 10°C/min estão mostradas nas Figuras 37.

Figura 37. Curvas de DSC do 1° aquecimento e do 2° aquecimento para as taxas de 3°C/min (a) e (b), 5°C/min (c) e (d), 7°C/min (e) e (f) e 10°C/min (g) e (h) para os filmes de (—) PLA puro, (—) PLA com 0,1%m/m de nanoZnO, (—) PLA com 0,25% m/m de nanoZnO, (—) PLA com 0,3% m/m de nanoZnO e (—) PLA com 0,5% m/m de nanoZnO.

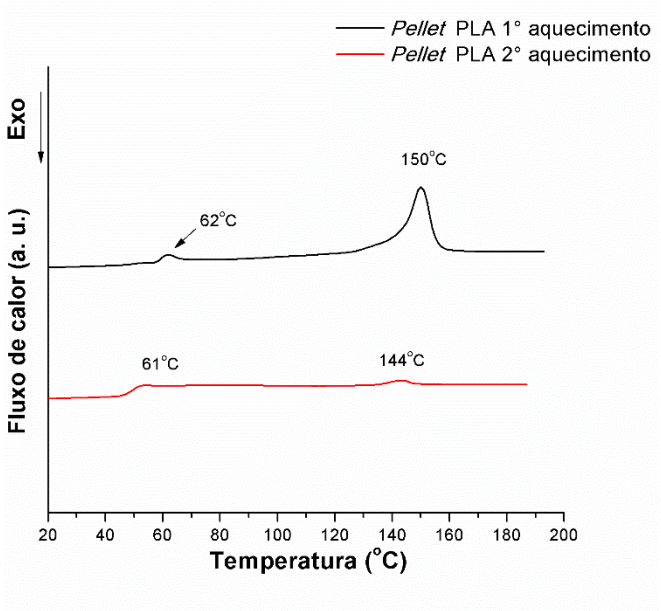




Fonte: Elaborado pelo autor

Observa-se nas curvas de primeiro aquecimento o pico referente à relaxação entálpica que ocorre entre, 43-60°C, 54-60°C, 51-61°C e 56-60°C para as taxas de 3°C/min, 5°C/min, 7°C/min e 10°C/min, respectivamente. Nas curvas de segundo aquecimento observa-se que a temperatura de transição vítrea (T_g) se manteve constante (59°C) para todas as taxas adotadas e, não foi mais observado o pico de relaxação entálpica, já que a historia térmica foi apagada. Há uma tendência no aumento da temperatura referente ao pico dessa relaxação com o aumento da concentração da nanopartícula de ZnO, o que leva à hipótese, que a mobilidade da fase amorfa foi reduzida, podendo evidenciar a melhor interação da fase amorfa com a nanopartícula. Esse resultado será invetigado mais profundamento pela análise de RMN. O pico de relaxação entálpica está relacionado com a perda da mobilidade (SURUNA *et al.*, 2005) e é típico de material polimérico que se encontra no estado vítreo e sofreu envelhecimento físico (PANTANI *et al.*,2013) durante estocagem. Para se ter certeza que o pico de relaxação entálpica encontrado nos materiais processados é oriundo do envelhecimento físico, foi realizada a análise no *pellet* de PLA puro na taxa de 10°C/min (Figura 38).

Figura 38. Curvas de DSC para *pellet* de PLA à taxa de 10°C/min.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Pela curva de DSC correspondente ao primeiro aquecimento do *pellet* de PLA (Figura 38), fica evidenciado o pico de relaxação entálpica relacionado em 62°C, que apresenta um valor de entalpia de relaxação (ΔH_r) de 1,63 J/g. No segundo aquecimento a T_g foi 61°C. O perfil da curva de relaxação leva a crer que o material sofreu envelhecimento durante a estocagem. Segundo Brüster e colaboradores (2018), o processo de envelhecimento físico é acelerado por qualquer fator que contribua para a mobilidade da cadeia, como por exemplo o uso de plastificantes e/ou redução da massa molar.

O processo de relaxação entálpica está relacionada exclusivamente para as regiões amorfas das amostras e também é mais perceptível em amostras com menor grau de cristalinidade (AUO *et al.*,2007; PAN; ZHU; INOUE, 2007). Na Tabela 4 podem ser vistos os valores de referentes a entalpia de relaxação (ΔH_r) para as taxas de aquecimento de 3°C/min, 5°C/min, 7°C/min e 10°C/min para todas as amostras. Pode ser observado que a ΔH_r varia tanto com o percentual de nanoZnO, quanto para a variação nos valores de taxa de aquecimento.

Tabela 4. Propriedades térmicas obtidas a partir da DSC para a primeira corrida de aquecimento: temperatura no pico entálpico (T_r), entalpia de relaxação (ΔH_r) das amostras correspondentes de nanocompósitos PLA e PLA/ZnO.

Amostra	**3°C/min**		**5°C/min**		**7°C/min**		**10°C/min**	
	T_r (± 2°C)	**ΔH_r (J/g)**	**T_r** (± 2°C)	**ΔH_r (J/g)**	**T_r** (± 2°C)	**ΔH_r (J/g)**	**T_r** (± 2°C)	**ΔH_r (J/g)**
PLA puro	43	7,28	55	8,39	61	7,24	56	8,15
PLA+0,1% nanoZnO	55	8,24	54	7,74	51	6,52	58	7,67
PLA+0,25% nanoZnO	60	7,26	56	6,41	61	6,40	58	7,83
PLA+0,3% nanoZnO	60	6,94	60	9,1	53	7,22	60	9,77
PLA+0,5% nanoZnO	60	7,79	59	7,83	61	10,72	60	9,12

Fonte: Elaborado pelo autor.

Pelos valores da Tabela 4, pode-se observar, que a taxa de aquecimento exerce influência nos valores de entalpia de relaxação. Há uma variação destes valores com a taxa, para os diferentes teores de nanoZnO.

Para taxa de 3°C/min, observa-se que a ΔH_r aumenta do PLA puro para PLA com 0,1%m/m, reduz para 0,25 e 0,3%m/m e volta aumentar e, apresenta maior valor para 0,5%m/m quando comparado ao PLA puro.

Para a taxa de 5°C/min, observa-se uma tendência de redução nos valores ΔH_r com o aumento do percentual nanoZnO quando comparado ao PLA puro, com exceção da amostra com 0,3%m/m.

Para a taxa de 7°C/min, observa-se que a uma redução dos valores ΔH_r do PLA puro para PLA com 0,25%m/m, porém, a partir de 0,3 até 0,5%m/m há um aumento desses valores com a concentração.

Para a taxa de 10°C/min, observa-se uma tendência ao aumento ΔH_r com o aumento do percentual de nanoZnO. É importante ressaltar que em maiores taxas de aquecimento a variação da mobilidade da cadeia com o tempo, tende a ser mais lenta, pois uma cadeia que está amorfa e se apresenta no estado vítreo, como o PLA, apresenta mobilidade reduzida e consequentemente, precisa de mais tempo para que o aumento da temperatura surta efeito na mobilidade molecular e o material passe do estado vítreo e entre no borrachoso. É importante ressaltar que o coeficiente de transferência de calor dos polímeros é baixo, o que retarda a mobilidade com o aumento da taxa de aquecimento (SURANA *et al.*,2005; RAVARI *et al.*,2013). Isso tende a deslocar as temperaturas dos picos entálpicos para valores maiores. Pelos valores da Tabela 4, pode ser obsevado um efeito inverso na mobilidade molecular entre a taxa de aquecimento e a concentração de nanopartícula, já que o aumento da nanopartícula tende a reduzir a mobilidade, alterando as temperaturas dos picos entálpicos para valores maiores.

Ainda em relação as curvas de DSC (Figuras 37 e 38), pode ser observado que durante o aquecimento, tanto o primeiro, quanto o segundo, para todas as amostras, em todas as taxas de aquecimentos adotadas, ocorre o fenômeno de *cold crystallization*. Esse fenômeno é bastante comum no PLA e ocorre devido à tem taxa de cristalização relativamente baixa, em função do resfriamento rápido do estado fundido, não havendo tempo suficiente para cristalização ocorrer completamente (JANDAS; MOHANTY; NAYAK, 2018). Porém, como é um polímero cristalizável que apresenta estrutura química rígida, durante o aquecimento a mobilidade da cadeia aumenta e a cristalização ocorre.

A Tabela 5 apresenta os valores temperatura de *cold crystallization* (T_{cc}), entalpia de *cold crystallization* (ΔH_{cc}), temperatura de fusão cristalina (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e o grau de cristalidade (X_c) obtidas a partir do primeiro aquecimento das amostras.

Tabela 5. Propriedades térmicas determinadas a partir de medições DSC para primeira corrida de aquecimento: Temperatura de *cold crystallization* (T_{cc}), entalpia *cold crystallization* (ΔH_{cc}), temperatura de fusão (T_m), entalpia de fusão (ΔH_m) e grau de cristalização (X_c) das amostras de PLA puro e nanocompósitos de PLA/ZnO.

Amostra	**3°C/min**					**5°C/min**				
	T_{cc} (± 2°C)	**ΔH_{cc} (J/g)**	**T_m (± 2°C)**	**ΔH_m (J/g)**	**X_c(%)**	**T_{cc} (± 2°C)**	**ΔH_{cc} (J/g)**	**T_m (± 2°C)**	**ΔH_m (J/g)**	**X_c(%)**
PLA puro	96	19,14	129; 134	31,53	13,3	108	25,03	141; 146	32,04	7,5
PLA+0,1% nanoZnO	107	23,06	141; 146	36,12	14,0	107	23,91	141; 146	30,64	7,2
PLA+0,25% nanoZnO	116	22,30	146	28,61	6,8	113	16,36	143	25,57	9,9
PLA+0,3% nanoZnO	115	20,35	146	30,54	10,9	115	24,15	146	34,25	10,8
PLA+0,5% nanoZnO	116	20,13	146	32,39	13,1	115	20,28	146	32,08	12,7
Amostra	**7°C/min**					**10°C/min**				
	T_{cc} (± 2°C)	**ΔH_{cc} (J/g)**	**T_m (± 2°C)**	**ΔH_m (J/g)**	**X_c(%)**	**T_{cc} (± 2°C)**	**ΔH_{cc} (J/g)**	**T_m (± 2°C)**	**ΔH_m (J/g)**	**X_c(%)**
PLA puro	113	25,69	147; 152	32,86	7,7	112	19,92	142	33,48	14,5
PLA+0,1% nanoZnO	103	23,69	137; 143	24,36	0,7	111	25,28	143	32,10	7,3
PLA+0,25% nanoZnO	115	23,36	146	26,13	2,9	113	24,42	144	30,36	6,4
PLA+0,3% nanoZnO	110	22,4	140	28,44	6,5	113	33,71	145	35,08	1,5
PLA+0,5% nanoZnO	115	32,68	147	39,59	7,4	107	30,77	141; 146	34,90	4,4

Fonte: Elaborado pelo autor.

Com base na Tabela 5, para a taxa de 3°C/min, observa-se aumento da ΔH_{cc} para os filmes nanocompósitos de PLA com ZnO em relação ao filme PLA puro. Os valores das T_{cc} e T_m para os filmes nanocompósitos de PLA com ZnO aumentaram em relação ao filme PLA puro, porém a partir de 0,25%m/m de nanoZnO ficaram constantes. Os valores de ΔH_m, bem com de X_c variam com o percentual de nanoZnO.

Para a taxa de 5°C/min, a T_{cc} se mantem constante até 0,1%m/m de nanoZnO, aumenta a partir de 0,25% e fica constante. A T_m se mante constante até 0,25% m/m de nanoZnO, aumenta a partir de 0,3% e fica constante. Os valores das ΔH_{cc} e ΔH_m variaram com o percentual de nanoZnO. O X_c tendeu a aumentar com a concentração de nanoZnO. O aumento de T_{cc} não era esperado já que o efeito nucleante de nanocargas normalmente é evidenciado com a redução T_{cc} (PLUTA, 2006; KRATOCHVÍL; KELNAR, 2017).

O efeito do processamento associado com o teor de nanoZnO pode ter exercido um papel fundamental, pois o fluxo de processameto induz a orientação molecular, que influencia fortemente na cristalização, e a estrutura resultante tende a ser estabilizada pela interação entre a cristalização e a relaxação. O cisalhamento pode aumentar a taxa de nucleação (BOJDA; PIORKOWSKA, 2016).

Para a taxa de 7°C/min, observa-se que os valores das T_{cc} e T_m, das ΔH_{cc} e ΔH_m, bem como do X_c variam com o percentual de nanoZnO. A T_{cc} reduz em relação ao PLA puro para o nanocompósito com 0,1% de ZnO. As concentrações acima deste percentual apresentam maiores valores de T_{cc}, exceto para amostra com 0,3%m/m de nanoZnO. Os valores da ΔH_m e do X_c diminuiram no nanocompósito com 0,1% de ZnO em relação ao PLA puro, e a partir da concentração 0,25%nanoZnO, o X_c das amostras aumenta com a concentração da nanopartícula. Porém, os valores de X_c ainda são menores quando comparados ao PLA puro, o que indica que para essa taxa, o tempo de cristalização reduzido, interferiu na formação dos cristais.

Para a taxa de 10°C/min, os valores das das T_{cc} e T_m se mantiveram constante, exceto para amostra de PLA com 0,5% de nanoZnO, que apresentou redução no valor da T_{cc}. Os valores do X_c tenderam a reduzir com a presença da nanopartícula, mas aumentou para amostra com 0,5% de nanoZnO, que pode ter ocorrido um efeito nucleante a partir dessa concentração, a essa taxa, ja que T_{cc} reduziu e X_c aumentou ao comparar com a amostra com 0,3%. As amostras com as nanopartículas apresentaram menores valores de X_c ao compararmos com a amostra de PLA puro. O X_c tende a reduzir com a presença da nanopartícula, indicando que para essa taxa o tempo de cristalização não foi suficiente, assim como a taxa de 7°C/min. Os valores das ΔH_{cc} e ΔH_m variaram com o percentual da nanopartícula.

Pelos resultados obtidos, pode-se notar que a taxa (de aquecimento e resfriamento) exerce uma influência no X_c. Para a amostra de PLA puro, na maior taxa (10°C/min), alcança-se o maior percentual de cristalinidade (14,5%). Em maiores taxas de aquecimento, a variação da mobilidade da cadeia com tempo, tende a ser mais lenta, o que reduz o tempo de cristalização. Porém, nas amostras que apresentam a nanopartícula, devido a redução da mobilidade, se faz necessário menores taxas de aquecimento, ou seja, maiores tempos de cristalização, para que a amostra cristalize mais.

De certo modo, as entalpias tendem a aumentar com a taxa, com maiores teores da nanopartícula, salvo algumas amostras estudadas. O aumento na quantidade de calor necessária para que as transformações químicas e/ou físicas aconteçam é influenciado pela taxa. Em geral, maiores valores, necessitam de mais calor ou energia para uma transformação ocorra, pois o tempo a uma dada temperatura é reduzido. A presença da nanopartícula tende a reduzir a mobilidade, necessitando de mais calor para que as transformações ocorram.

Também foi observado que a T_m apresentou perfil bimodal, o que indica populações de cristais de tamanhos diferenciados. É importante ressaltar que os valores de ΔH_m foram calculados considerando toda a área referente a fusão cristalina (área referentes aos dois picos de T_m).

5.4 CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL (GPC)

A análise de GPC mostrou os valores de massa molar (MM) obtidos para os filmes de PLA puro e para os nanocompósitos de PLA com ZnO. É importante ressaltar que o *pellet* de PLA foi analisado para saber a influência do processamento na massa molar.

Os valores encontrados para as massas molares numérica média (M_n) e ponderal média (M_w), para as respectivas distribuições de massas molares ou polidispersões (M_w/M_n) e os percentuais de redução de MM em relação aos valores do PLA *pellet* encontram-se na Tabela 6.

Pelos valores de MM obtidos, podemos observar que a influência do processamento na redução da MM é um fator mais pronunciado quando comparado ao efeito da concentração da nanopartícula, já que, a MM entre PLA *pellet* e PLA puro processado, demostra uma queda de aproximadamente 32% no valor de massa molar numérica média (M_n). Nota-se uma variação expressiva nos valores das MM, enquanto as polidispersões não variam tão significativamente. As amostras apresentam valores de polidispersão estreita.

Essa redução dos valores de MM dos filmes processados em relação a MM do *pellet*, pode ter colaborado para o aumento nos valores de entalpia de relaxação (ΔH_r) dos processados em relação ao *pellet*, conforme evidenciado na análise de DSC, já

que a ΔH_r está relacionada com o envelhecimento físico, que por sua vez, é acelerado com aumento da mobilidade da cadeia, oriundo da redução da MM (BRÜSTER *et al*., 2018).

Tabela 6. Valores de MM obtidos e percentuais de redução de MM.

Valores referentes à MM	**PLA *pellet***	**PLA puro (processado)**	**PLA+0,1% nanoZnO**	**PLA+0,25% nanoZnO**	**PLA+0,3% nanoZnO**	**PLA+0,5% nanoZnO**
M_n (g. mol^{-1})	116120	79100	86870	83250	105140	86090
Redução de M_n (%)	0	31,88	25,19	28,31	9,46	25,86
M_w (g. mol^{-1})	186340	160660	146310	149350	163820	153720
Redução de M_w (%)	0	13,78	21,48	19,85	12,08	17,51
M_w/M_n	1,6	2,0	1,7	1,8	1,6	1,8

Fonte: Elaborado pelo autor.

Em relação as amostras processadas, pode ser notado que os valores de M_n dos filmes com a nanopartícula ZnO, para as concentrações 0,1; 0,25; 0,3 e 0,5% m/m, apresentaram valores maiores quando comparado ao filme processado de PLA puro. Observando os valores M_n, pode-se dizer que, a nanopartícula não contribuiu para redução da MM. Porém, ao se comparar com os valores de M_w dos filmes com a nanopartícula ZnO com o filme de PLA puro, ocorre o inverso, com exceção da amostra com 0,3% m/m de nanopartícula de ZnO. É importante ressaltar, que dentre os filmes com a nanopartícula, a composição com 0,3% m/m apresentou os maiores valores, tanto para M_n quanto para M_w, portanto, foi a concentração houve a menor degradação da MM no processamento.

5.5 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR)

5.5.1 NMR no domínio do tempo

Pela análise de NMR no domínio do tempo, pode ser observado que há um aumento nos valores do tempo de relaxação T_1H (Tabela 7) dos filmes de PLA com nanopartículas de ZnO, para todas as concentrações quando comparado ao filme de PLA puro. É observado para as concentrações de 0,1% e 0,25% m/m de ZnO uma

tendência ao aumento dos valores de T_1H e, a para a concentração de 0,3% e 0,5% m/m de ZnO estes valores tendem a reduzir (Figura 39). O aumento nos valores do tempo de relaxação T_1H indica aumento da rigidez. Portanto, pode-se dizer, que houve redução do grau de liberdade, ou seja, uma restrição da mobilidade molecular do PLA, ocasionada pela presença da nanopartícula (BRITO, *et al.*, 2013; RODRIGUES; SEBASTIÃO; TAVARES, 2017; STUEBER; JEHLE, 2017). Embora a presença da nanopartícula diminua a mobilidade, contribuindo para o aumento da rigidez da matriz de PLA, dentre os filmes nanocompósitos, o de maior concentração, 0,5% m/m de nanoZnO, apresenta maior mobilidade molecular que o de concentração 0,1% (Figura 39). Além disso, o aumento de valores de T_1H nas formulações com nanoZnO, não está atrelado ao aumento do grau de cristalinidade, que seria também um fator que contribuiria, mas pelos resultados obtidos na DSC e na DRX, os filmes são praticamente amorfos. Sendo assim, o aumento de valores de T_1H pode ser indicativo de interação da nanopartícula de ZnO com a matriz de PLA.

Uma redução da amplitude das curvas de domínio dos tempos de relaxação de acordo com o aumento da concentração de ZnO mostraram tendência a aumentar a interação intermolecular, uma vez que o estreitamento da largura do domínio está relacionado com um menor grau de heterogeneidade da amostra (CHIMANOWSKY Jr., 2015).

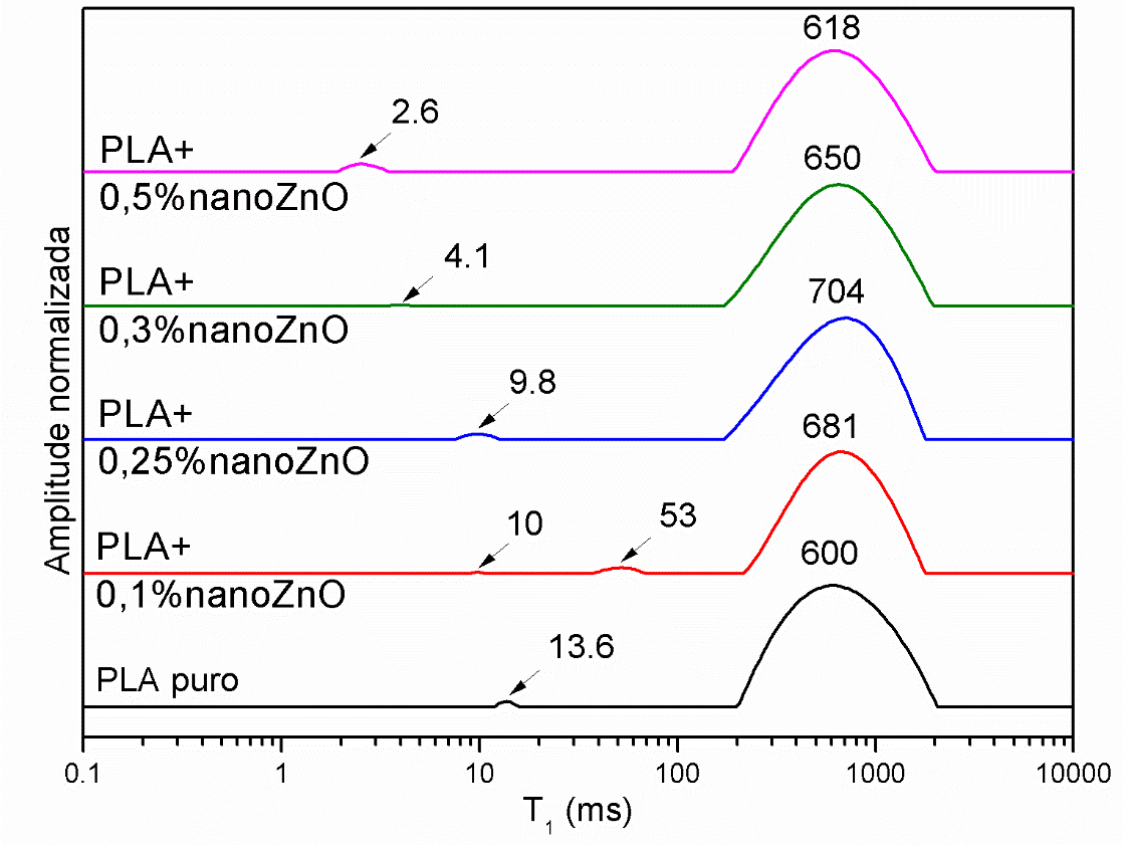
Observa-se que todas as amostras exibem dois domínios de tempo: um domínio rígido (maiores valores de T_1H) e outro com maior mobilidade molecular (menores valores de T_1H). A presença destas pequenas curvas em regiões de T_1H menores se referem à presença de umidade (SILVA, 2016).

Tabela 7. Valores dos tempos de relaxação do hidrogênio de acordo com o percentual de nanoZnO presente nos filmes de PLA.

%m/m nanoZnO	**T_1H (ms) ± 2%**
0	600
0,1	681
0,25	704
0,3	650
0,5	618

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 39. Curvas de distribuiçao de domínios T_1H para PLA e os nanocompósitos de PLA/ZnO.

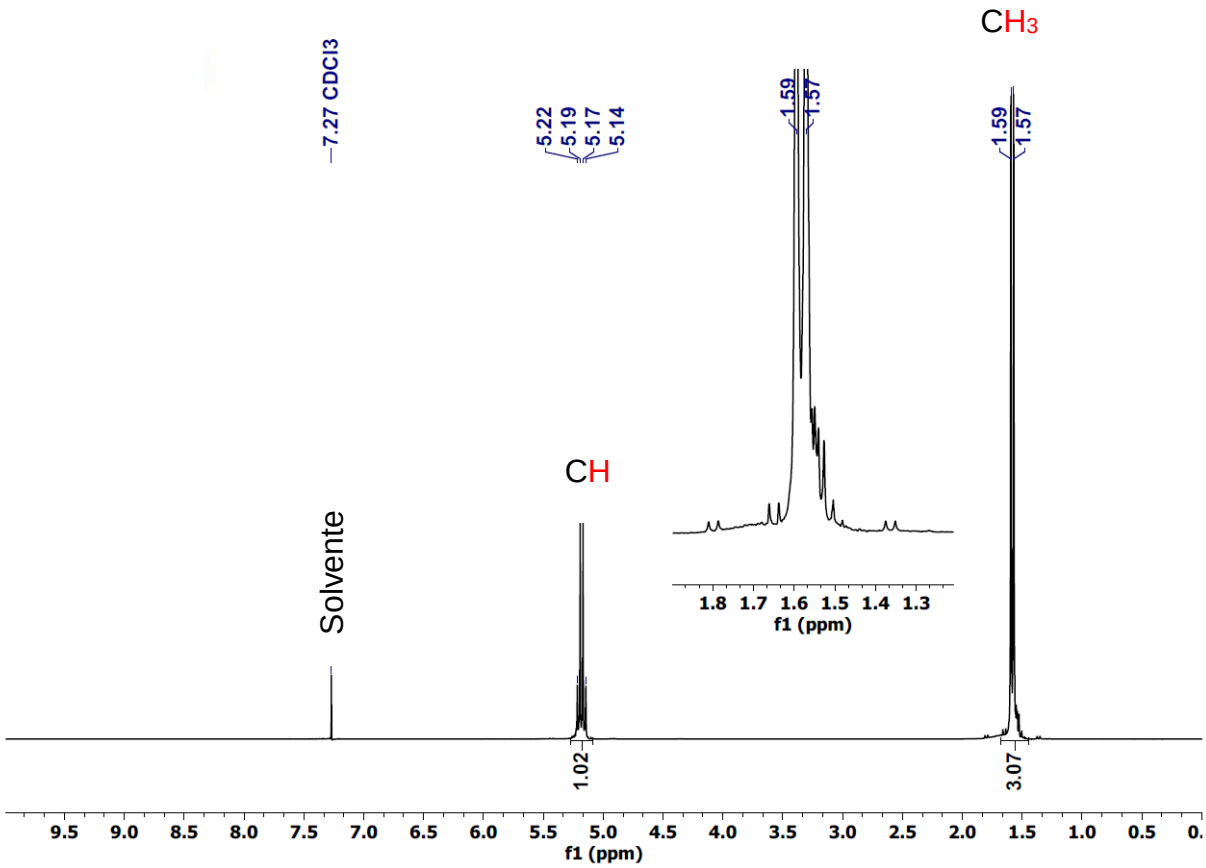


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5.2 NMR em solução

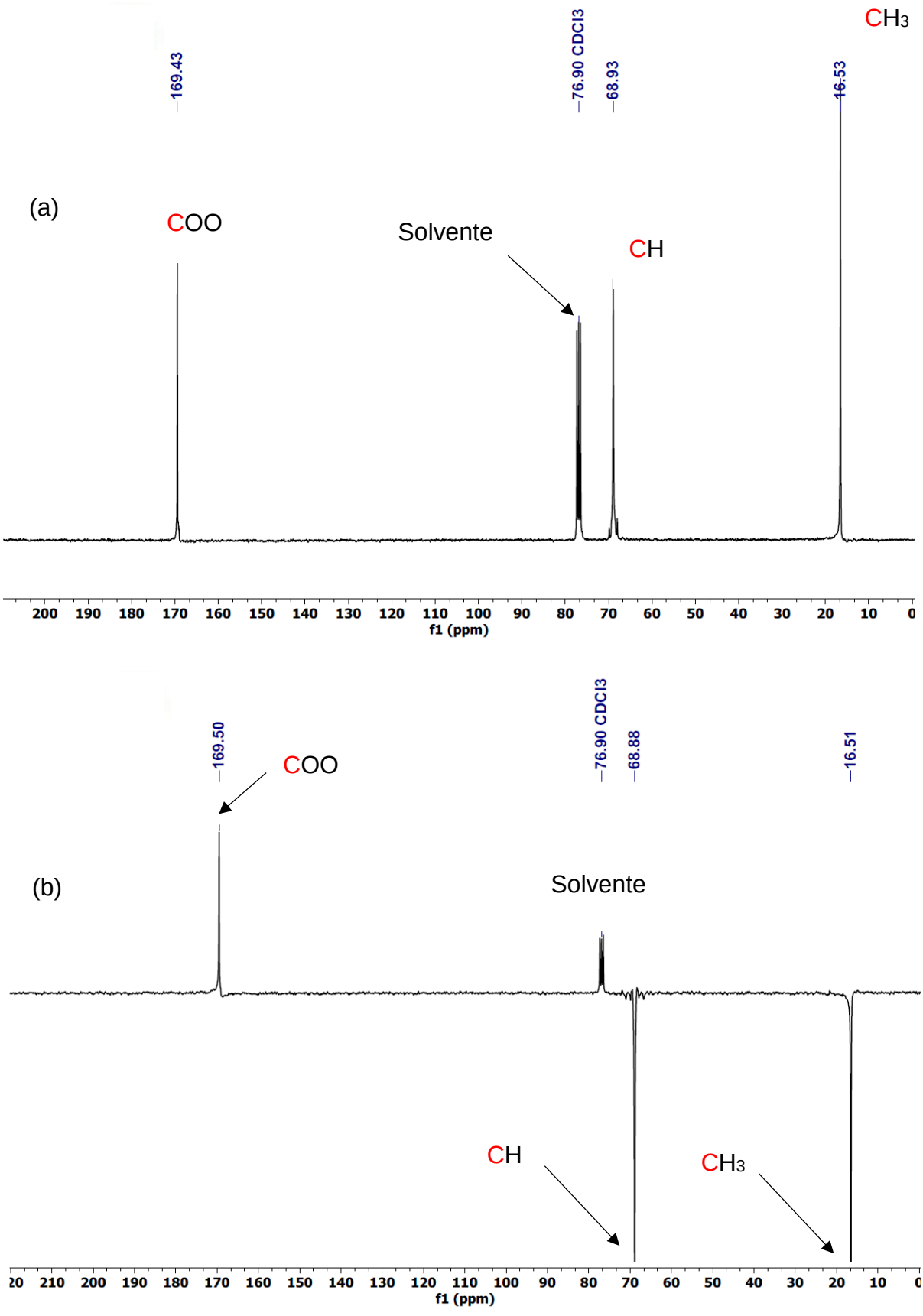
A estrutura química do PLA foi caracterizada por meio das análises NMR de ^{1}H e NMR ^{13}C (Figuras 40 e 41). Geralmente, os PLAs comerciais são copolímeros de L-lactídeo e uma pequena quantidade de D-lactídeo. Sendo assim, objetivo principal dessa análise foi verificar a presença de isômero D, uma vez que este interfere a cristalização do PLA, diminuindo a pureza ótica (BOJDA; PIORKOWSKA, 2016).

Figura 40. Espectros de NMR de ^{1}H em solução do PLA.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 41. Espectros de NMR de ^{13}C em solução do PLA (a) sem APT (b) com APT.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Pelos espectros de NMR de ^{13}C obtidos não foi observada a presença do isômero D no *pellet* de PLA. A sensibilidade da técnica não detectou os sinais, sendo possível que o teor dessas unidades seja menor que 0,5%m/m. Sendo assim, podemos dizer que a resina é um polímero de PLLA com baixo teor de unidades D-lactila, confome os sinais de RMN listados na Tabela 8.

Tabela 8. Assinalamento dos espectro de NMR de ^{13}C do *pellet* de PLA.

^{13}C	**Deslocamento químico (ppm)**
COO	169,43; 169,50
CH	68,93; 68,88
CH_3	16,53; 16,51

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.6 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada para verificar se durante o processamento o PLA sofreu algum o processo degradativo. Teve também como objetivo, investigar as mudanças provocadas nas interações entre os componentes do sistema face à adição das nanopatículas em suas diferentes proporções.

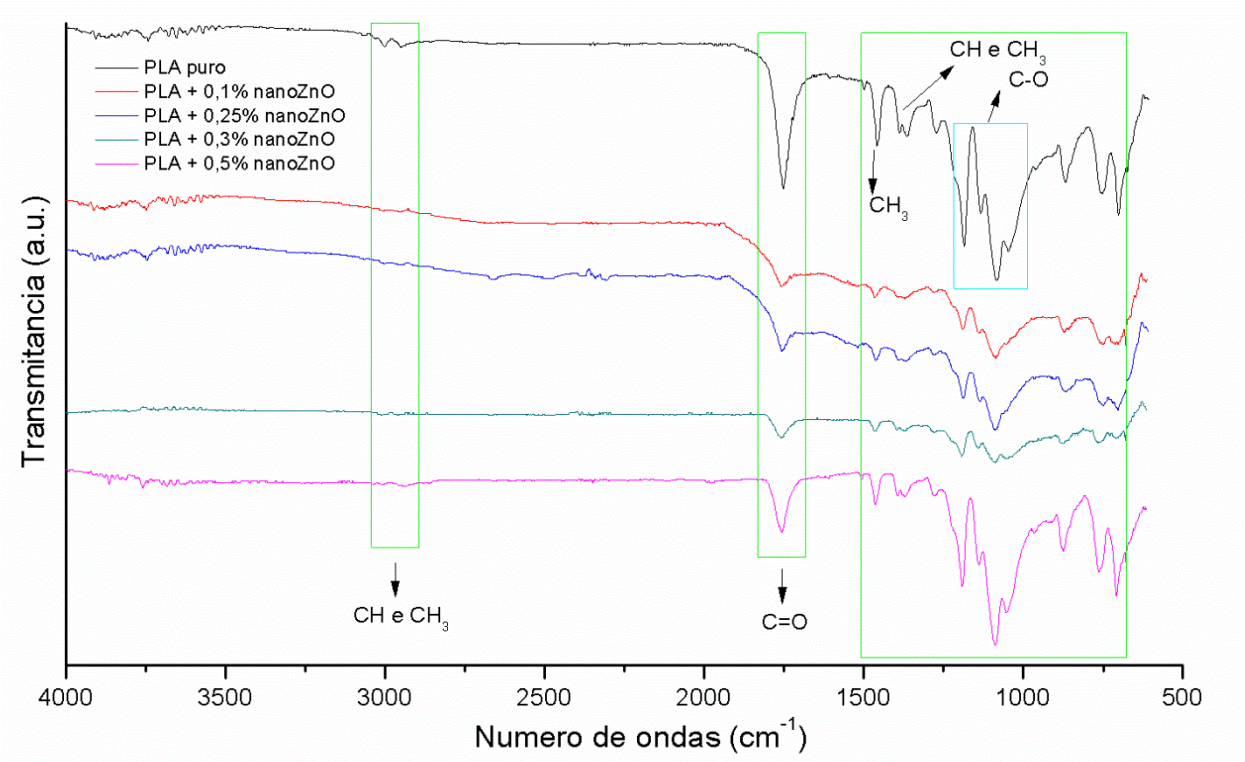
O PLA apresenta frequências de estiramento características para C=O, – CH_3 assimétrica, –CH_3 simétrica, e C-O, em 1752, 2997, 2952 e 1083 cm^{-1}, respectivamente. Frequências de deformação angular –CH_3 assimétrica e –CH_3 simétrica foram identificados em 1459 e 1366 cm^{-1}, respectivamente. Não foi observado o pico referente ao terminal hidroxila na faixa de 3330-3500 cm^{-1} (KEMALA; BUDIANTO; SOEGIYONO, 2012).

Na Figura 42 podem ser observados as regiões espectrais referentes às bandas do PLA para todas as composições. Não houve mudança na sua estrutura química, já que, não foi observado o aparecimento de uma nova banda.

Os espectros de FTIR dos materiais com nanopartícula de ZnO apresentaram variações nos picos do PLA em relação ao polímero puro, principalmente no que diz

respeito à intensidade e proporcionalidade entre as suas bandas de absorção. Isso indica uma influência mais direta da nanopartícula nas cadeias do PLA, principalmente devido ao tamanho reduzido desta nanopartícula (~100 nm).

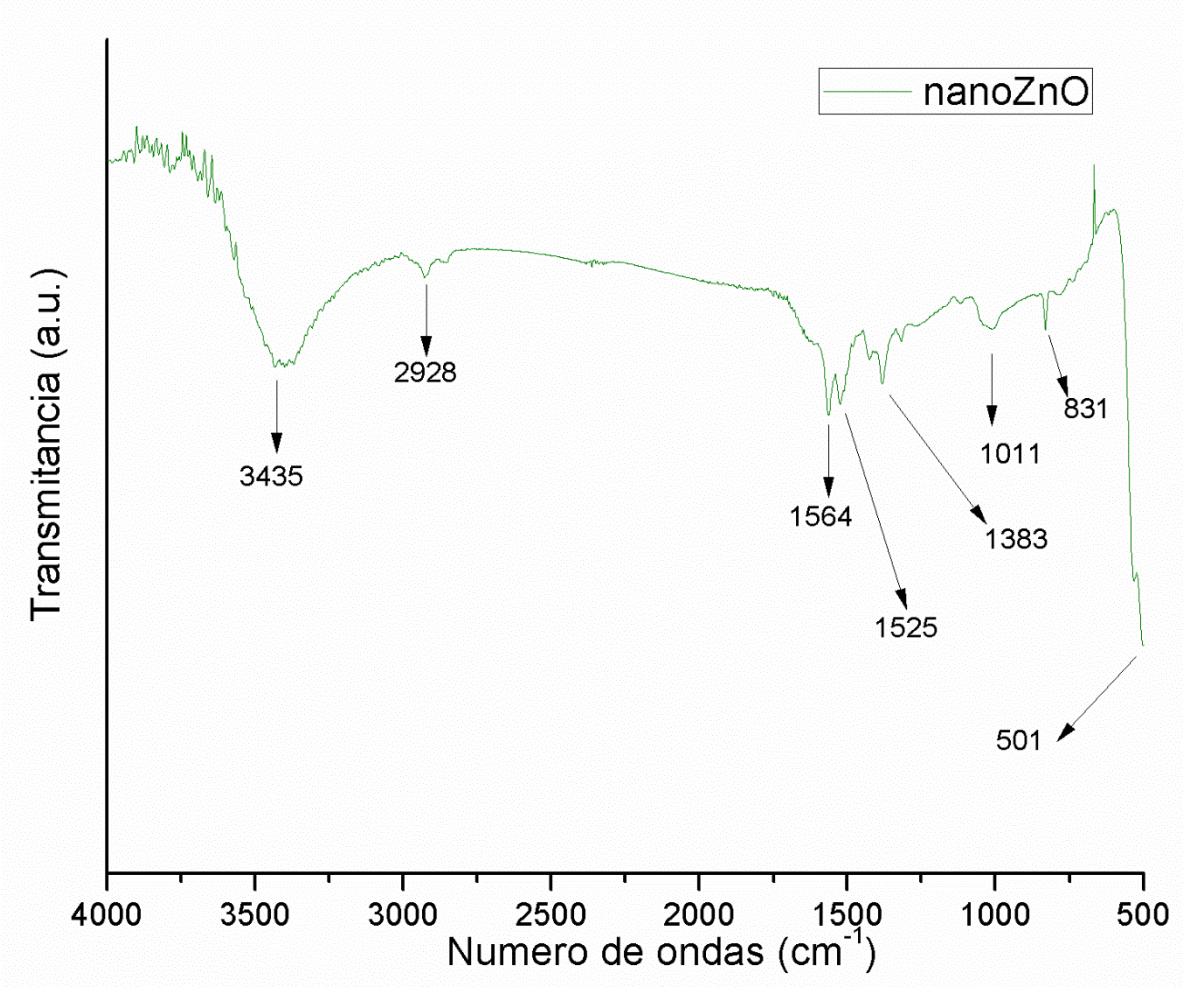
Figura 42. Espectros de Infravermelho dos filmes de PLA com diferentes teor de nanopartículas ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro de FTIR da nanopartícula de ZnO geralmente mostra uma banda de absorção característica na faixa entre 420 e 510 cm^{-1} devido a dois modos de estiramento óptico transversal de ZnO (AN˘ZLOVAR *et al.*, 2012). Geralmente, óxidos de metal dão bandas de absorção em região de impressão digital, isto é, abaixo de 1000 cm^{-1}, resultante de vibrações inter-atômicas (KHAN; NAQVI; AHMAD, 2015). Vários picos podem ser observados no espectro entre os comprimentos de onda de 4000 a 500 cm^{-1} (Figura 43). O pico observado em 3435 cm^{-1} (Figura 42) é referente ao estiramento da hidroxila O-H, que fica na superfície de ZnO (AN˘ZLOVAR *et al.*, 2012). Os demais podem indicar presença de resíduos dos precursores utilizados na reação de obtenção da nanopartícula de ZnO (AN˘ZLOVAR *et al.*, 2012; RAO; RAO, 2015).

Figura 43. Espectro de Infravermelho da nanopartícula ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.7 ANÁLISES DINÂMICO-MECÂNICAS (DMA)

As análises dinâmico-mecânicas são muito sensíveis às transformações (ou movimentos) que ocorrem em nível molecular, sendo capazes de detectar movimentos significativos, como a transição vítrea e relaxações secundárias. Estas análises têm como um dos principais objetivos relacionar as propriedades macroscópicas, tais como as propriedades mecânicas, as relaxações moleculares associadas a mudanças conformacionais e as deformações microscópicas geradas a partir de rearranjos moleculares. As propriedades mecânicas dos materiais são avaliadas a partir de uma solicitação, na forma de uma deformação ou na aplicação de uma tensão, com o monitoramento da resposta do material, expressa como tensão ou como deformação, respectivamente. Estes experimentos são destrutivos, já que

uma de suas finalidades é a determinação de propriedades limite do material (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001; CHIMANOWSKY Jr., 2015).

O pico máximo de tan δ fornece a posição da T_g. A largura do pico que ocorre na transição vítrea está relacionada com a homogeneidade do sistema. A mobilidade da cadeia é outra informação que pode ser observada. Quando a cadeia tem facilidade na movimentação molecular, a tan δ tende a diminuir e, quando há impedimento, a tan δ tende a aumentar (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001; CANEVAROLO Jr., 2003).

O pico máximo de tan δ ocorrido na T_g está associado ao decaimento da curva do módulo de armazenamento (E'). A medida que a temperatura aumenta, o E' tende a cair, pois conforme a mobilidade molecular aumenta, a rigidez e a resistência mecânica à deformação decrescem. Isso é bem visível para a região onde ocorre a T_g. Em materiais que sofrem o fenômeno de *cold crystallization*, durante o aquecimento entre a transição vítrea e a fusão, o E' tende a aumentar, pois a mobilidade molecular da cadeia aumenta à medida que a temperatura se eleva, permitindo a cristalização. O E' é uma propriedade que é proporcional ao grau de cristalinidade. Isso é um efeito sobreposto da temperatura quando ocorre *cold crystallization*. No aquecimento, o aumento da mobilidade molecular entre a região da T_g e T_m, pode favorecer a cristalização, caracterizada pela T_{cc}. Esse efeito tem sido relatado para o PLA, onde as cadeias se reorganizam, aumentando o E' (MENARD; MENARD, 2015).

Os valores de tan δ e do módulo de armazenamento (E') para os filmes de PLA com nanopartícula de ZnO estão sumarizados na Tabela 9.

Nas Figura 44 e 45 podem ser vistos o gráficos de tan δ e módulo de armazenamento (E'), respectivamente, em função da temperatura para os filmes de PLA puro e PLA com nanopartícula de ZnO.

Em relação aos dados da Tabela 9 e da Figura 44, observamos que a T_g varia entre 56-61°C. A amostra com 0,1%m/m de nanoZnO apresentou maior valor de T_g, sendo possivelmente, a amostra de maior restrição molecular.

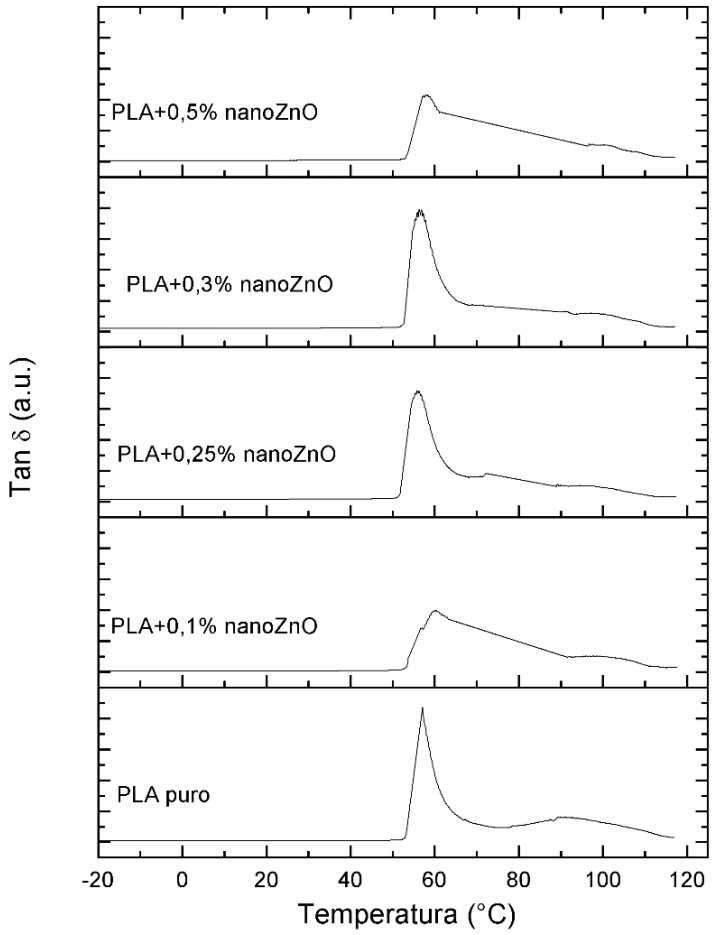
Pode ser visto que, à medida que a concentração da nanopartícula se eleva, o pico de tan δ fica menos definido e tende a ser mais alargado em relação a amostra do filme de PLA puro. Os resultados sugerem que há uma heterogeneidade do sistema, e corroboram os resultados observados pela técnica de RMN domínio do tempo.

Tabela 9. Valores das temperaturas para os picos médios da tan δ e dos módulos de armazenamento a obtidos com as análises de DMA para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO.

Amostras	**Ponto médio do pico tan δ (ºC)**		**Valores de E'(MPa)**			
	T_g (tan δ máx.)	Temperatura nos outros picos menores de tan δ	E' mín.	E' máx.	E' à 25ºC	E' *cold crystallizattion*
PLA puro	57	92	1,0 (80ºC)	2117 (-20ºC)	1974	85,6 (113ºC)
PLA+0,1% nanoZnO	61	98	2,0 (63ºC)	1618 (51ºC)	583	85,5 (112ºC)
PLA+0,25% nanoZnO	56	72 e 98	1,6 (89ºC)	2545 (-20ºC)	2419	92,1 (115ºC)
PLA+0,3% nanoZnO	57	96	1,7 (91ºC)	2555 (-20ºC)	2441	113,3 (114ºC)
PLA+0,5% nanoZnO	58	97	4,0 (97ºC)	2782 (-20ºC)	2677	100,3 (114ºC)

Fonte: Elaborado pelo autor.

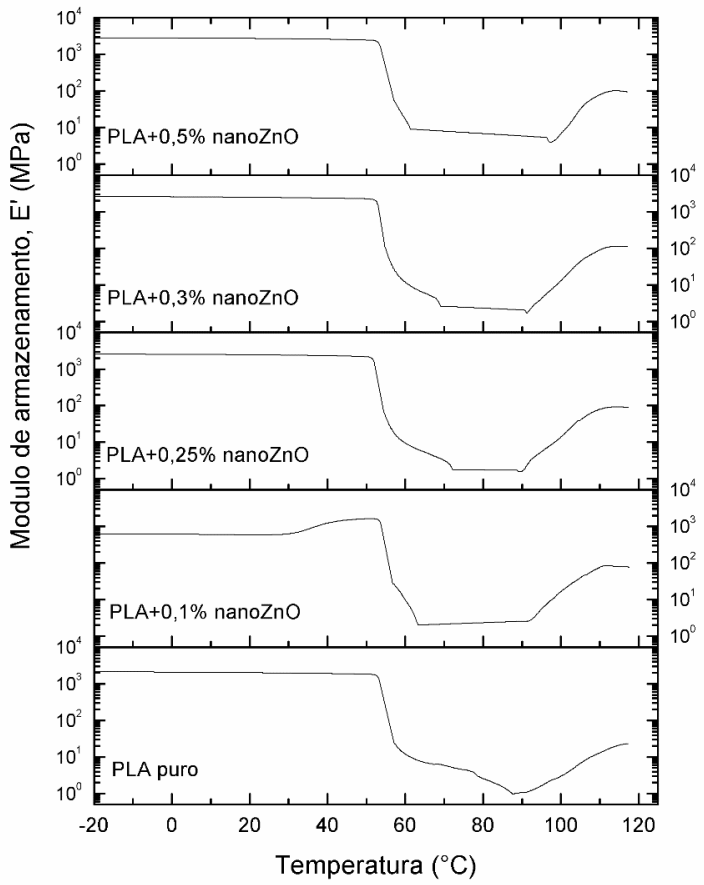
Figura 44. Curvas de tan δ em função da temperatura para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Uma outra característica importante é o aparecimento de outros picos de tan δ, após a T_g. Estes picos são referentes às relaxações secundárias relacionadas com a fração cristalina (α*). A transição α*, que ocorre numa determinada temperatura ($T\alpha$*), entre a T_g e a T_{cc}, no platô borrachoso, pode estar associada a pequenas estruturas cristalinas (cristalitos) que deslizam umas sobre as outras durante o ensaio, tende a formar um pico na curva de tan δ e o E' é reduzido (MENARD; MENARD, 2015).

Figura 45. Curvas de módulo de armazenamento (E') em função da temperatura para os filmes nanocompósitos de PLA/ZnO.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando a Figura 45 e os dados da Tabela 9, observa-se que os módulos de armazenamento tendem a aumentar quando o teor da nanopartícula é mais concentrado, salvo a amostra com 0,1%m/m de nanoZnO. Era esperado o aumento do E', já que a nanocarga confere rigidez ao sistema (redução da mobilidade), o que contribuiu para o incremento nos valores de E'.

Não é incomum o aparecimento de um pico no módulo de armazenamento anterior à queda que corresponde à T_g. Isso é mostrado na Figura 44, para amostra de PLA com 0,1% de nanoZnO. Este pico é corresponde a um rearranjo molecular

para aliviar as tensões congeladas abaixo do T_g (relaxações secundárias referentes a região amorfa) oriundas do processamento (MENARD; MENARD, 2015).

Outra característica interessante, foi o fenômeno de *cold crystallization*. Na T_{cc}, o E' aumenta em relação ao E' mínimo, que ocorre na transição secundária entre a T_g e T_{cc}.

5.8 TESTE ANTIBROBIANO

Tanto o filme de PLA quanto os filmes dos nanocompósitos de PLA/nanoZnO não apresentaram atividade antimicrobiana, tanto pelo método de difusão em disco, pois não houve formação de halo característico (Figura 46), quanto pelo método de difusão em meio líquido (Figura 47), pois a solução turvou, indicando o crescimento das bactérias analisadas. Pelo método de difusão em meio líquido, foi feito o plaqueamento para cada concentração, bem como o controle, para saber a quantidade de bactéria formadora de colônias (Tabela 10).

Tabela 10. Resultado da contagem de células das bactérias analisadas (UFC = Unidade formadora de colônia).

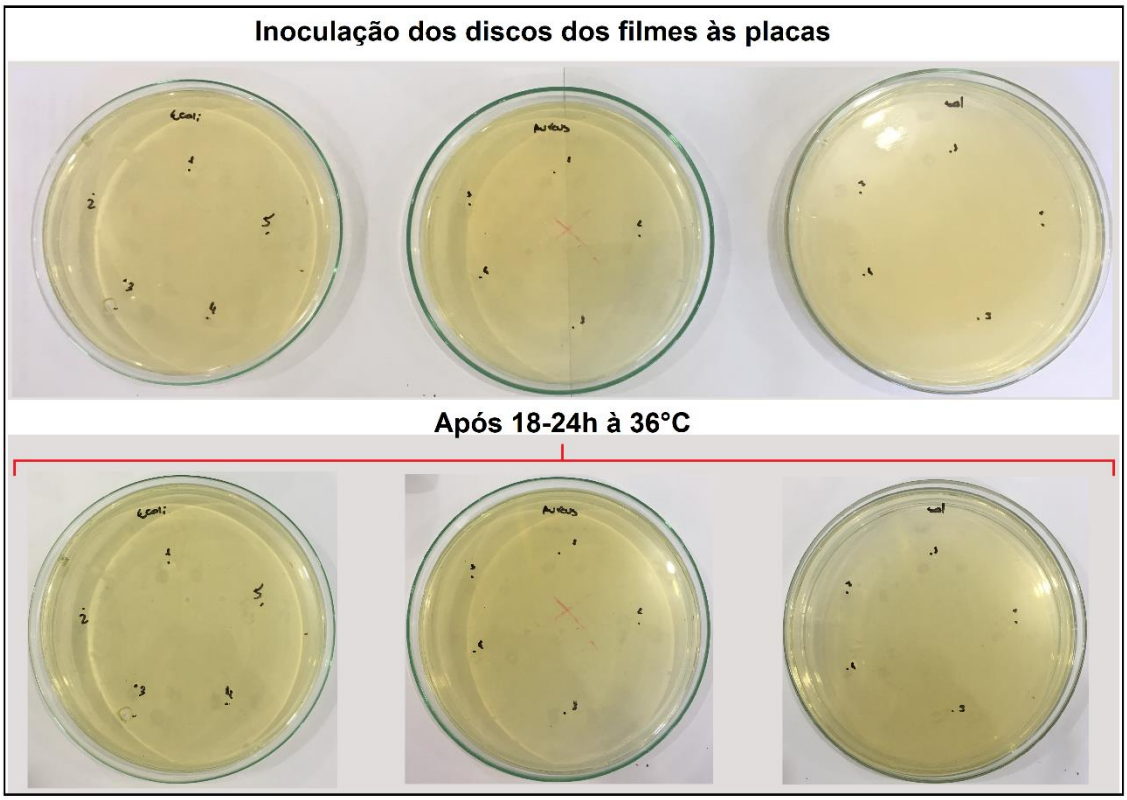
Amostras	*Salmonella*	*S. aureus*	*E. coli*
Controle	$4{,}6x10^6$ UFC/ml	$3{,}6x10^7$ UFC/ml	$2{,}7x10^7$ UFC/ml
PLA puro	$4{,}5x10^6$ UFC/ml	$3{,}6x10^7$ UFC/ml	$2{,}2x10^7$ UFC/ml
PLA+0,1% nanoZnO	$4{,}3x10^6$ UFC/ml	$3{,}4x10^7$ UFC/ml	$2{,}5x10^7$ UFC/ml
PLA+0,25% nanoZnO	$4{,}7x10^6$ UFC/ml	$3{,}8x10^7$ UFC/ml	$2{,}5x10^7$ UFC/ml
PLA+0,3% nanoZnO	$4{,}5x10^6$ UFC/ml	$3{,}5x10^7$ UFC/ml	$2{,}6x10^7$ UFC/ml
PLA+0,5% nanoZnO	$4{,}7x10^6$ UFC/ml	$3{,}5x10^7$ UFC/ml	$2{,}3x10^7$ UFC/ml

Fonte: Elaborado pelo autor.

É válido ressaltar que a atividade biocida dos materiais metálicos e seus óxidos está relacionada com a dimensão nanométrica das partículas, sendo muito mais eficiente quando comparada as da escala micrométrica. Essa atividade também é influenciada pelo método de incorporação de nanopartícula na matriz, sendo o mais adotado por solução, pela afinidade, pela dispersão/distribuição, pela concentração, formato, composição e cristalinidade da nanopartícula (LLORENS *et al*., 2012; ATAEEFARD; MIRJALILI, 2013; CRUZ-ROMERO *et al*., 2013; RHIM; PARK; HA,

2013). A boa dispersão de ZnO é um parâmetro crítico para obter propriedade antimicrobiana e, segundo BUSTOS-TORRES *et al.* (2017), a propriedade de proteção UV eficiente.

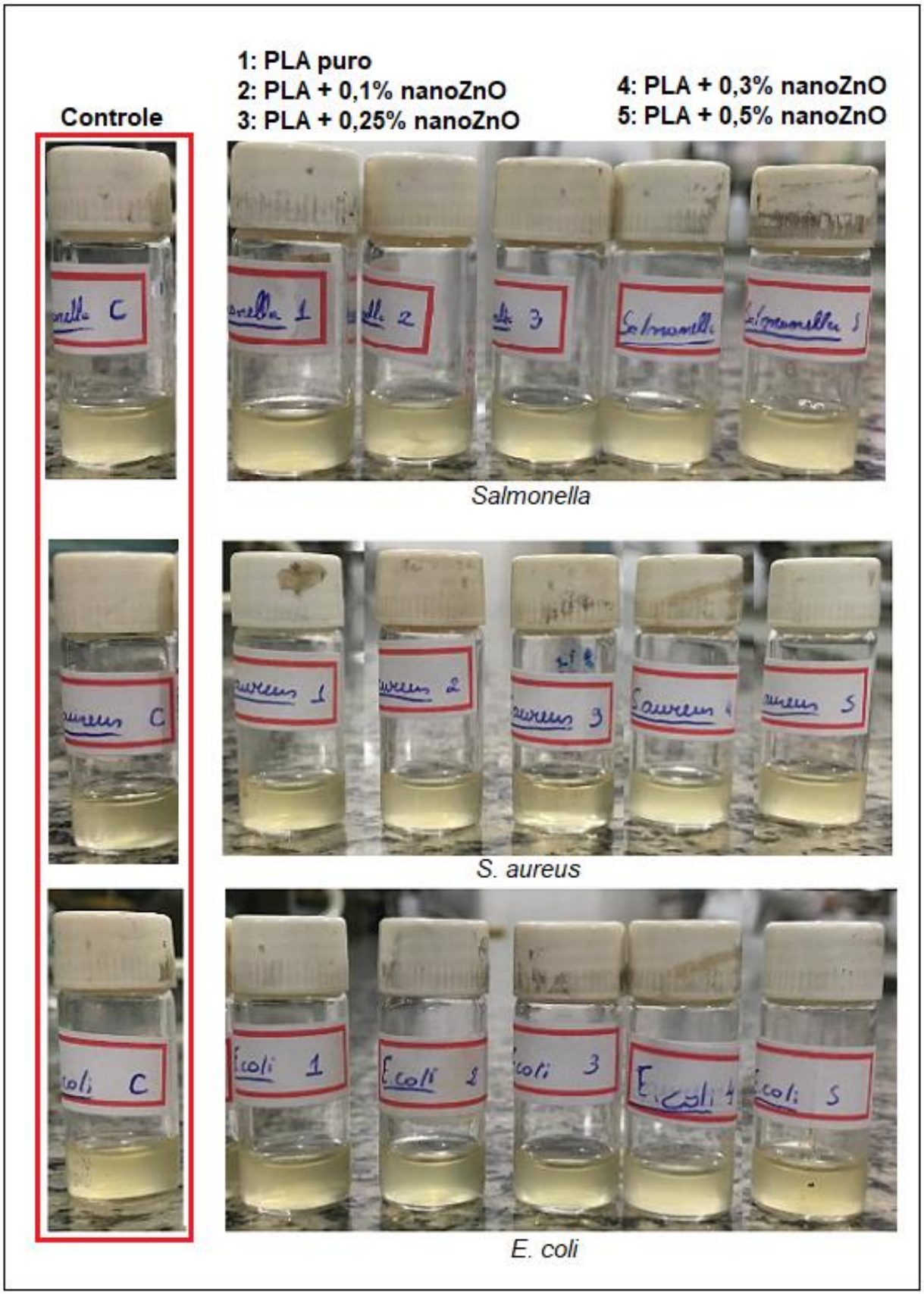
Figura 46. Resultado do teste antimicrobiano pelo método de difusão em disco.



Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com MEV-FEG, a nanopartícula estava dispersa e distribuída, porém a baixa mobilidade, indicada pelos resultados de T_1H, pode ter dificultado a difusão da nanopartícula nos ensaios de antibiograma, ocasionando o não surgimento da atividade biocida da nanoZnO presentes nos filmes.

Figura 47. Resultado do teste antimicrobiano pelo método de difusão em meio líquido.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÕES

Os filmes de PLA com a nanopartícula de ZnO foram preparados por extrusão.

Os resultados de MEV-FEG demonstraram a presença de estruturas esféricas, de tamanho superior a 100 nm, maior que o informado pelo fabricante, pelo formato são as nanopartículas, que possivelmente se aglomeraram.

Os difratogramas de raios X demonstraram o caráter amorfo dos filmes.

Os resultados da análise termogravimétrica (TGA) mostraram que há uma diminuição da estabilidade térmica, com o aumento da concentração da nanopartícula de ZnO.

Os resultados de DSC demostraram que os materiais sofrerem envelhecimento físico na estocagem e somente cristalizavam durante a corrida de aquecimento, dando origem ao fenômeno de *cold crystallization* para todas as taxas de aquecimento adotadas. Não foi observado pico referente a temperatura de cristalização durante o resfriamento. As T_gs se mantiveram constantes, mas as temperaturas nos picos de relaxação entálpica (T_r) foram deslocadas para maiores valores com taxa de aquecimento e os valores de T_m tendem de aumentar com a concentração da nanopartícula e a apresentarem perfil bimodal, o que indica, populações de cristais de tamanhos diferenciados. Foi possível observar que, mesmo com a presença da nanopartícula, o PLA cristalizou muito pouco, devido à baixa mobilidade da cadeia evidenciada pelo aumento nos valores do T_1H dos filmes, corroborando com os resultados DRX e DSC.

A análise de GPC demonstrou que a influência do processamento na redução da MM é mais acentuada do que o efeito da concentração da nanopartícula, embora, pelas análises de FTIR não tenha aparecido mudança na estrutura química do PLA, já que, não foi observado o aparecimento de uma nova banda.

Na análise de DMA, o módulo de armazenamento tendeu a aumentar com o teor da nanopartícula. Foi observado as relaxações secundárias e primárias. O fenômeno de *cold crystallization* também foi evidenciado, corroborando com o DSC.

A não presença da atividade biocida, pode estar vinculada à baixa mobilidade das cadeias (a T_g é alta) e consequente dificuldade de difusão da nanopartícula nos testes antibiogramas, bem como a aglomeração das nanopartículas, que prejudica a

ação biocida. O método de obtenção dos filmes por fusão pode ter exercido influência na atividade antimicrobiana dos filmes, bem como na redução dos valores de massa molar.

7 SUGESTÕES

Adicionar as formulações, o uso de plastificantes, para melhorar a mobilidade da fase amorfa;

Estudar novas formulações com concentrações maiores e/ou modificação da nanopartícula;

Estudar novas condições de processamento (temperatura e rotação) para maiores concentrações da nanopartícula. A máquina de processamento apresenta limitações quanto ao torque. Em geral, o aumento da nanopartícula, aumenta rapidamente este valor, ocasionando paradas no processamento;

Se faz necessário um estudo reológico mais aprofundado;

O uso de outras nanocargas de razão de aspecto maiores que 1, pois podem auxiliar a difusão das nanopartículas com ação biocida.

REFERÊNCIAS

AAMER, A. S.; FARIHA, H.; ABDUL, H.; SAFIA. A. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, [S.l.], v. 26, p. 246–265, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>. Acesso em: 28 jan. 2015.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Perguntas e Respostas sobre materiais em contato com alimentos. Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia para Alegações (GEARE) e Gerência Geral de Alimentos (GGALI)**. [S.l.: s.n.] Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/90666300462a38a5ba4abfec1b28f937/Embalagens.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 24 abr. 2015.

AHMED, J.; ARFAT, Y. A.; ATTAR, H. A.; AURAS, R.; EJAZ, M. Rheological, structural, ultraviolet protection and oxygen barrier properties of linear low- density polyethylene films reinforced with zinc oxide (ZnO) nanoparticles. **Food Packaging and Shelf Life**, [S.l.], v. 13, p. 20-26, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.04.005>. Acesso em: 29 ago. 2018.

ALTOÉ, R. **Preparação, Caracterização e Avaliação de Sistemas Nanocompósitos EVA/Argila para Aplicação em Embalagens.** 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – IMA, UFRJ, RJ, 2009. Disponível em:<http://teses2.ufrj.br/64/teses/750749.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2014.

AN˘ZLOVAR, A.; OREL, Z. C.; KOGEJ, K.; ˘ZIGON, M. Polyol-Mediated Synthesis of Zinc Oxide Nanorods and Nanocomposites with Poly(methylmethacrylate). **Journal of Nanomaterials**, [S.l.], v. 2012, Article ID 760872, p. 1-9, 2012. Disponível em: <doi:10.1155/2012/760872>. Acesso em: 18 jan. 2019.

APPLEROT, G.; PERKAS, N.; AMIRIAN, G.; GIRSHEVITZ, O.; GEDANKEN, A. Coating of glass with ZnO via ultrasonic irradiation and a study of its antibacterial properties. **Applied Surface Science**, [S.l.], v. 256, p. S3–S8, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2009.04.198>. Acesso em: 20 jun. 2014.

AOU, K.; HSU, S. L.; KLEINER, L. W.; TANG, F. W. Roles of Conformational and Configurational Defects on the Physical Aging of Amorphous Poly(lactic acid). **The Journal of Physical Chemistry B**, [S.l.], v. 111, p. 12322-12327, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jp074509t>. Acesso em: 19 nov. 2018.

ATAEEFARD, M.; MIRJALILI, F. Using mechanical technique for preparing antibacterial offset lithography ink with ZnO nanoparticles. **Composites Part B: Engineering**, [S.l.], v. 51 92–97, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2013.03.001>. Acesso em: 20 jun. 2014.

AZEREDO, H. M. C. Antimicrobial nanostructures in food packaging. **Food Science & Technology**, [S.l.], v. 30, p. 56-69, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.006>. Acesso em: 27 abr. 2015.

AZLIN-HASIM, S.; CRUZ-ROMERO, M. C.; GHOSHAL, T.; MORRIS, M. A.; CUMMINS, E.; KERRY, J. P. Application of silver nanodots for potential use in antimicrobial packaging applications. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 27, p. 136–143, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.10.012>. Acesso em: 22 jun. 2016.

BAJPAI, V. K.; KAMLE, M.; SHUKLA, S.; MAHATO, D. K.; CHANDRA, P.; HWANG, S. K.; KUMAR, P.; HUH, Y. S.; HAN, Y. K. Review Article Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. **Journal of Food and Drug Analysis**, [S.l.], v. 26, Issue 4, p. 1201-1214, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.011>. Acesso em: 29 jun. 2018.

BASU, A.; NAZARKOVSKY, M.; GHADI, R.; KHAN, W.; DOMB A. J. Poly(lactic acid)-based nanocomposites. **Polymers for Advanced Technologies**, [S.l.], v. 28(8) 919-930, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pat.3985>. Acesso em: 15 dez. 2018.

BIRAJDAR, S. D.; BHAGWAT, V.; SHINDE, A. B.; JADHAV, K. M. Effect of Co^{2+} ions on structural, morphological and optical properties of ZnO nanoparticles synthesized by sol–gel auto combustion method. **Materials Science in Semiconductor Processing**, [S.l.], v. 41, p. 441-449, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mssp.2015.10.002>. Acesso em: 03 set. 2016.

BOJDA, J.; PIORKOWSKA, E. Shear-induced nonisothermal crystallization of two grades of PLA. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 50 p. 172-181, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2016.01.006>. Acesso em: 17 out. 2018.

BOUWMEESTER, H.; DEKKERS, S.; NOORDAM, M. Y.; HAGENS, W. I.; BULDER, A. S.; HEER, C.; VOORDE, S. E.C.G. T.; WIJNHOVEN, S. W. P.; MARVIN, H. J. P.; SIPS, A. J. A. M. Review of health safety aspects of nanotechnologies in food production. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, [S.l.], v. 53, p. 52-62, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.10.008>. Acesso em: 20 jun. 2014.

BOVEY, F. A.; MIRAU, P. A. **NMR of Polymers.** [S.l.], Elsevier Science, 1996. Disponível em: <https://books.google.pt/books?id=VMNqzXh_0-MC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 24 abr. 2015.

BRITO, L. M.; CHÁVEZ, F.V.; TAVARES, M. I. B.; SEBASTIÃO, P. J. O. Molecular Dynamic Evaluation of starch-PLA blends nanocomposite with organoclay by proton NMR relaxometry. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 32, p. 1181–1185, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2013.07.002>. Acesso em: 10 out. 2018.

BRÜSTER, B.; MONTESINOS, A.; REUMAUX, P.; PÉREZ-CAMARGO, R. A.; MUGICA, A.; ZUBITUR, M.; MÜLLER, A. J.; DUBOIS, P.; ADDIEGO, F. Crystallization kinetics of polylactide: Reactive plasticization and reprocessing effects. **Polymer Degradation and Stability**, [S.l.], v. 148 56-66, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.01.009>. Acesso em: 29 ago. 2018.

BUSTOS-TORRES, K. A.; VAZQUEZ-RODRIGUEZ, S.; CRUZ, A. M.; SEPULVEDA-GUZMAN, S.; BENAVIDES, R.; LOPEZ-GONZALEZ, R.; TORRES-MARTÍNEZ, L. M. Influence of the morphology of ZnO nanomaterials on photooxidation of polypropylene/ZnO composites. **Materials Science in Semiconductor Processing**, [S.l.], v. 68, p. 217-225, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mssp.2017.06.023>. Acesso em: 22 jun. 2016.

CANEVAROLO Jr., S. V. Análise dinâmico-mecânica. In:_____. **Técnicas de caracterização de polímeros.** São Paulo: Artliber, 2003. p. 263-284.

CASANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis.** 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/MoniseCristinaRibeiroCasanovaR.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2014.

CERQUEIRA, M. A.; VICENTE, A. A.; PASTRANA, L. M. Chapter 1: Nanotechnology in Food Packaging: Opportunities and Challenges. **Nanomaterials for Food Packaging Materials, Processing Technologies, and Safety Issues Micro and Nano Technologies 2018**, [S.l.], p. 1-11. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51271-8.00001-2>. Acesso em: 15 mar. 2018.

CHAUDHRY, Q.; CASTLE, L. Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 22, p. 595-603, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.01.001>. Acesso em: 24 abr. 2015.

CHIMANOWSKY Jr., J. P. **Degradação termo-oxidativa e termomecânica de Nanocompósitos de poliestireno e argila, avaliação das Interações intermoleculares por meio da ressonância magnética nuclear**. 2015. 158f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015 Disponível em: <http://objdig.ufrj.br/64/teses/831121.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2017.

CRUZ-ROMERO, M. C.; MURPHY, T.; MORRIS, M.; CUMMINS, E.; KERRY, J. P. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications. **Food Control**, [S.l.], v. 34, p. 393-397, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.042>. Acesso em: 24 abr. 2015.

CUSHEN, M.; KERRY, J.; MORRIS, M.; CRUZ-ROMERO, M.; CUMMINS, E. Nanotechnologies in the food industry e Recent developments, risks and regulation. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 24, p. 30-46, 2012. Disponível em: <doi:10.1016/j.tifs.2011.10.006>. Acesso em: 20 jun. 2014.

DASTAFKAN, K.; OBEYDAVI, A. K.; RAHIMI, M. Crystallization and solid solution attainment of samarium doped ZnO nanorods via a combined ultrasonic-microwave irradiation approach. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.l.], v. 42, p. 97–111, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.11.008>. Acesso em: 20 ago. 2018.

DASTJERDI, R., MONTAZER, M. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], v. 79, p. 5-18, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.03.029>. Acesso em: 17 out. 2018.

DEAN, K., YU, L., WU, D. Y. Preparation and characterization of melt-extruded thermoplastic starch/clay nanocomposites. **Composites Science and Technology**, [S.l.], v. 67, p. 413-421, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2006.09.003>. Acesso em: 20 jun. 2014.

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. Porto Alegre, EDIPUCRS, 2007. Disponível em: <http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>. Acesso em: 22 jan. 2019

DEGRUSON, M. L. Biobased Polymer Packaging. **Reference Module in Food Science 2016**, [S.l.], p. 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03373-4>. Acesso em: 03 maio 2016.

DHOLE, S. G.; DAKE, S. A.; PRAJAPATI, T. A.; HELAMBE, S. N. Effect of ZnO filler on structural and optical properpies of polyaniline-ZnO nanocomposites. **Procedia Manufacturing**, [S.l.], v. 20, p.127-134, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2018.02.018>. Acesso em: 20 ago. 2018.

DIMITRIJEVICA, M.; KARABASILA, N.; BOSKOVICA, M.; TEODOROVICA, V.; VASILEVA, D.; DJORDJEVICB, V.; KILIBARDAC, N.; COBANOVICA, N. Safety aspects of nanotechnology applications in food packaging. **Procedia Food Science**, [S.l.], v. 5, p. 57 – 60, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.015>. Acesso em: 28 set. 2015.

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. Disponível em: <doi:10.1016/j.jcis.2011.07.017>. Acesso em: 28 jan. 2015.

ELUMALAI, K.; VELMURUGAN, S.; RAVI, S.; KATHIRAVAN, V.; ASHOKKUMAR, S. Bio-fabrication of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of curry leaf (*Murraya koenigii*) and its antimicrobial activities. **Materials Science in Semiconductor Processing**, [S.l.], v. 34, p. 365–372, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2015.01.048>. Acesso em: 03 set. 2016.

EMBLEM, A. 3-Packaging functions. **Packaging Technology Fundamentals, Materials and Processes**, [S.l.], p. 24-49, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1533/9780857095701.1.24>. Acesso em: 08 nov. 2018.

EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 11, p. 742–748, 2010. Disponível em: <doi:10.1016/j.ifset.2010.06.003>. Acesso em: 27 abr. 2015.

EMAMIFAR, A.; KADIVAR, M.; SHAHEDI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, 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. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.011>. Acesso em: 27 abr. 2015.

ESPITIA, P. J. P.; SOARES, N. F. F.; TEÓFILO, R. F.; COIMBRA, J. S. R.; VITOR, 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. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 94 p. 199– 208, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.003>. Acesso em: 20 jun. 2014.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. C. Nanotecnologia: Aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, [S.l.], v. 32, no. 7, p. 1860-1870, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v32n7/33.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2015.

FORTUNATI, E.; ARMENTANO, I.; ZHOU, Q.; PUGLIA, D.; TERENZI, A.; BERGLUND, L. A.; KENNY, J. M. Microstructure and nonisothermal cold crystallization of PLA composites based on silver nanoparticles and nanocrystalline cellulose. **Polymer Degradation and Stability**, [S.l.], v. 97, p. 2027-2036, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.03.027>. Acesso em: 24 ago. 2018.

GALLAND; G.B.; TAVARES, M.I.B. Ressonância magnética nuclear. In: CANEVAROLO Jr., Sebastião V. **Técnicas de caracterização de polímeros.** São Paulo: Artliber, 2003. p. 61-82.

GOUVÊA, R. F. **Nanocompósito de óxido de grafeno reduzido e óxido de zinco incorporado em biopolímero para aplicação como embalagens ativas.** 2016. 61f. Dissertação (mestrado) Programa de) Pós-graduação em Ciência de Alimentos Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <http://objdig.ufrj.br/13/dissert/846328.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2017.

HABIBI, N.; KARIMI, B. Fabrication and characterization of zinc oxide nanoparticle coated magnetic iron oxide: Effect of S-layers adsorption on surface of oxide. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [S.l.], v. 20, p. 3033–3036, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.11.039>. Acesso em: 28 jan. 2015.

HE, X.; HWANG, H. M. Review Article: Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. **Journal of Food and Drug Analysis**, [S.l.], v. 24, p. 671-681, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.06.001>. Acesso em: 08 nov. 2018.

HUANG, S.; GUILD, B.; NEETHIRAJAN, S.; THERRIEN, P.; LIM, L. T..; WARRINER, K.; Antimicrobial coatings for controlling Listeria monocytogenes based on polylactide modified with titanium dioxide and illuminated with UV-A, **Food Control**, [S.l.], v. 73, part b, p. 421-425, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.030>. Acesso em: 02 fev. 2017.

JAYARAMUDU, J.; DAS, K.; SONAKSHI, M.; REDDY, G. S. M.; ADERIBIGBE, B.; SADIKU, R.; RAY,S. S. Structure and properties of highly toughened biodegradable polylactide/ZnO biocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 64, p. 428-434, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.034>. Acesso em: 03 set. 2016.

JIANG, L.; ZHANG, J. 7 Biodegradable and Biobased Polymers. **Applied Plastics Engineering Handbook (Second Edition) Processing, Materials, and Applications Plastics Design Library**, [S.l.], p. 127-143, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-39040-8.00007-9>. Acesso em: 03 set. 2016.

KADER, A. A., 2005. Increasing food availability by reducing postharvest losses of fresh produce. **In: 5th Int. Postharvest Symposium.** Davis, p. 2169-2176. Disponível em: <http://ucce.ucdavis.edu/files/datastore/234-528.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2015.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 106, p. 190–199, 2014a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.007>. Acesso em: 23 jan. 2015.

KANMANI, P.; RHIM, J. W. Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films. **Food Chemistry**, [S.l.], v. 148, p. 162–169, 2014b. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.047>. Acesso em: 23 jan. 2015.

KEMALA, T.; EMIL, B.; BAMBANG, S. Preparation and characterization of microspheres based on blend of poly(lactic acid) and poly(e-caprolactone) with poly(vinyl alcohol) as emulsifier. **Arabian Journal of Chemistry**, [S.l.], v. 5, p. 103-108. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2010.08.003>. Acesso em: 18 jan. 2019.

KING, T.; OSMOND-MCLEOD, M. J.; DUFFY, L. L. Review Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 72, p. 62-73, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.015>. Acesso em: 08 nov. 2018.

KRATOCHVíL, J.; KELNAR, I. Non-isothermal kinetics of cold crystallization in multicomponent PLA/thermoplastic polyurethane/nanofiller system. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, [S.l.], v. 130(2), p. 1043–1052, 2017. Disponível em: <DOI 10.1007/s10973-017-6417-y>. Acesso em: 07 maio 2017.

JANDAS, P. J.; MOHANTY, S., NAYAK, S. K. Cold crystallization kinetics of biodegradable polymer blend; controlled by reactive interactable and nano nucleating agent. **Advanced Composites and Hybrid Materials**, [S.l.], v. 1 p. 624–634, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s42114-018-0048-z>. Acesso em: 17 out. 2018.

JAYARAMUDU, J.; DAS, K.; SONAKSHI, M.; REDDY, G. S. M.; ADERIBIGBE, B.; SADIKU, R.; RAY, S. S. Review structure and properties of highly toughened biodegradable polylactide/ZnO biocomposite films. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l.], v. 64, p. 428– 434, 2014. Disponível em: <DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.12.034>. Acesso em: 25 abr. 2015.

JIN, F. L.; HU, R. R.; PARK, S. J. Improvement of thermal behaviors of biodegradable poly(lactic acid) polymer: A review. **Composites Part B: Engineering**, Jilin City, v. 169, p. 287-296, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.10.078>. Acesso em: 08 nov. 2018.

JIN, T., SUN, D., SU, J. Y. E ZHANG, H. Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* enteritidis and *S. coli* O157:H7. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 74, p. M46-M52, 2009. Disponível em: <doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.01013.x>. Acesso em: 08 nov. 2018.

LAGARON, J. M.; LOPEZ-RUBIO, A. Nanotechnology for bioplastics: opportunities, challenges and strategies. **Food Science & Technology**, [S.l.], v. 22, p. 611-617, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.01.007>. Acesso em: 25 abr. 2015.

LAI, X. L.; YANG, W.; WANG, Z.; SHI, D. W.; LIU, Z. Y.; YANG, M. B. Enhancing crystallization rate and melt strength of PLLA with four-arm PLLA grafted silica: The effect of molecular weight of the grafting PLLA chains. **Journal of Applied Polymer Science**, [S.l.], v. 135(2), 2017. Disponível em: <DOI: 10.1002/APP.45675>. Acesso em: 22 ago. 2017.

LI, Y. Q.; FU, S. Y. MAI, Y. W. Preparation and characterization of transparent ZnO/epoxy nanocomposites with high-UV shielding efficiency. **Polymer**, [S.l.], v. 47, p. 2127-2132, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2006.01.071>. Acesso em: 02 nov. 2018.

LLORENS, A.; LLORET, E.; PICOUET, P. A.; TRBOJEVICH, R.; FERNANDEZ, A. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 24, p. 19-29, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.001>. Acesso em: 23 jan. 2015.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. E. C. **Caracterização de polímeros: Determinação de peso molecular e análise térmica**. Rio de Janeiro: E-papers, 2001. 366 p.

MAHALIK, N. P.; NAMBIAR, A. N. Trends in food packing and manufacturing systems and technology. **Food Science & Technology**, [S.l.], v. 21, p. 117-128, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.12.006>. Acesso em: 27 out. 2014.

MAJEED, K.; JAWAID, M.; HASSAN, A.; BAKAR, A. A.; KHALIL, H. P. S. A.; SALEMA, A. A.; INUWA, I. Review Potential materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites. **Materials and Design**, [S.l.], v. 46, p. 391–410, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2012.10.044>. Acesso em: 24 abr. 2015.

MATOS, J.R.; MACHADO, L.D.B. Análise térmica - Termogravimetria. In: CANEVAROLO Jr., Sebastião V. **Técnicas de caracterização de polímeros.** São Paulo: Artliber, 2003. p. 209-228.

MENARD, K. P.; MENARD, N. H. R. **Dynamic mechanical analysis in the analysis of polymers and rubbers**. USA: Encyclopedia of Polymer Science and Technology. Copyright c 2015 John Wiley & Sons, 2015. 33p. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0471440264.pst102.pub2>. Acesso em: 15 fev. 2019.

MIHINDUKULASURIYA, S. D. F.; LIM, L. T. Nanotechnology development in food packaging: A review. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 40, p. 149-167, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.009>. Acesso em: 28 nov. 2014.

MITTAL, A. K.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Research review paper - Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. **Biotechnology Advances**, [S.l.], v. 31, p. 346–356, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>. Acesso em: 23 jan. 2015.

MOHAMMADI, H.; KAMKAR, A.; MISAGHI, A. Nanocomposite films based on CMC, okra mucilage and ZnO nanoparticles: Physico mechanical and antibacterial properties. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 181, p. 351–357, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.045>. Acesso em: 04 jul. 2019.

MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA composites: From production to properties. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.l.], v.107, p. 17-46, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.003>. Acesso em: 20 ago. 2018.

MURARIU, M.; DOUMBIA, A.; BONNAUD, L.; DECHIEF, A. L.; PAINT, Y.; FERREIRA, M.; CAMPAGNE, C.; DEVAUX, E.; DUBOIS, P. High-Performance polylactide/ZnO nanocomposites designed for films and fibers with special end-use Properties. **Biomacromolecules**, [S.l.], v. 12, p. 1762-1771, 2011. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bm2001445>. Acesso em: 20 mar. 2015.

MUTH, M. K.; BIRNEY, C.; CUÉLLAR, A.; FINN, S. M.; FREEMAN, M.; GALLOWAY, J. M.; GEE, I.; GEPHART, J.; JONES, K.; LOW, L.; MEYER, E.; READ, Q.; SMITH, T.; WEITZ, K.; ZOUBEK, S. A systems approach to assessing environmental and economic effects of food loss and waste interventions in the United States. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 685, p. 1240–1254, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.230>. Acesso em: 08 jul. 2019.

NAKAZATO, G.; KOBAYASHI, R. K. T.; SEABRA, A. B.; DURAN, N. Use of nanoparticles as a potential antimicrobial for food packaging. **Food Preservation Nanotechnology in the Agri-Food Industry**, [S.l.], p. 413-447, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804303-5.00012-2>. Acesso em: 20 ago. 2018.

NOFAR, M.; PARK, C. B. Polylactide Crystallization Kinetics in Presence of Dissolved Gas, Polylactide Foams - Fundamentals, Manufacturing, and Applications. **Plastics Design Library**, [S.l.], p. 57-111, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813991-2.00004-4>. Acesso em: 20 ago. 2018.

OLIVEIRA, A. L. C. **Iniciadores de zinco(ii) contendo fenóxi-iminas para polimerização de l-lactídeo visando a obtenção de biomateriais.** 2017. 210f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: <http://objdig.ufrj.br/64/teses/858238.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2017.

OTHMAN, S. H. Bio-nanocomposite Materials for Food Packaging Applications:Types of Biopolymer and Nano-sized Filler. In: “ST26943”, 2nd International Conference on Agricultural and Food Engineering, CAFEi2014”. **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, [S.l.], v. 2, p. 296 – 303, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.042>. Acesso em: 29 nov. 2014.

PAN, P.; ZHU, B.; INOUE, Y. Enthalpy Relaxation and Embrittlement of Poly(L-lactide) during Physical Aging. **Macromolecules**, [S.l.], v. 40, p. 9664-9671, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ma071737c>. Acesso em: 19 out. 2018.

PANIGRAHI, S.; KUNDU, S.; GHOSH, S. K.; NATH, S.; PAL, T. Sugar assisted evolution of mono- and bimetallic nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.l.], v. 264, p. 133–138, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.04.017>. Acesso em: 23 jan. 2015.

PANTANI, R.; GORRASI, G.; VIGLIOTTA, G.; MURARIU, M.; DUBOIS, P. PLA-ZnO nanocomposite films: Water vapor barrier properties and specific end-use characteristics. **European Polymer Journal**, [S.l.], v. 49, p. 3471–3482, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.08.005>. Acesso em: 23 jan. 2015.

PATIÑO, J. H.; HENRÍQUEZ, L. E.; RESTREPO, D.; MENDOZA, M. P.; LANTERO, M. I.; GARCÍA, M. A. Evaluation of polyamide composite casings with silver–zinc crystals for sausages packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, [S.l.], v. 1, p. 3 – 9, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2013.09.001>. Acesso em: 23 jan. 2015.

PEDROZA, O. J. O.; TAVARES, M. I. B. The influence of physical treatment in the polystyrene pentads microstructure determination by NMR. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 24, n. 5, p. 604-606, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142941805000395>. Acesso em: 05 fev. 2015.

PEELMAN, N.; RAGAERT, P.; VANDEMOORTELE, A.; VERGULDT, E.; MEULENAER, B.; DEVLIEGHERE, F. Use of biobased materials for modified atmosphere packaging of short and medium shelf-life food products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [S.l.], v. 26, p. 319–329, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2014.06.007>. Acesso em: 23 jan. 2015.

PLUTA, M.; Melt Compounding of Polylactide/Organoclay: Structure and Properties of Nanocomposites. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, [S.l.], v. 44, p. 3392–405, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/polb.20957>. Acesso em: 23 jan. 2015.

PRABHU, S., POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**, [S.l.], v. 2:32, p. 1-10, 2012. Disponível em: <http://www.inl-journal.com/content/2/1/32>. Acesso em: 08 ago. 2015.

PRASAD, P.; KOCHHAR, A. Active Packaging in Food Industry: A Review. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, [S.l.], v. 8, p. 1-7, 2014. Disponível em: <DOI: 10.9790/2402-08530107>. Acesso em: 24 abr. 2015.

QU, M.; TU, H.; AMARANTE, M.; SONG, Y. Q.; ZHU, S. S. Zinc Oxide Nanoparticles Catalyze Rapid Hydrolysis of Poly(lactic acid) at Low Temperatures. **Journal of Applied Polymer Science**, [S.l.], v. 131(11), 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/app.40287>. Acesso em: 02 abr. 2014.

RAHMAN, M. M.; ISLAM, M. S.; LI, G. S. Development of PLA/CS/ZnO nanocomposites and optimization its mechanical, thermal and water absorption properties. **Polymer Testing**, Natore, v. 68, p. 302-308, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.04.026>. Acesso em: 20 ago. 2018.

RAO, N. S.; RAO, M. V. B. Structural and Optical Investigation of ZnO Nanopowders Synthesized from Zinc Chloride and Zinc Nitrate. **American Journal of Materials Science 2015**, [S.l.], v. 5(3), p. 66-68, 2015. Disponível em: <DOI: 10.5923/j.materials.20150503.02>. Acesso em: 19 jan. 19.

RAQUEZ, M.; HABIBI, Y.; MURARIU, M.; DUBOIS, P. Polylactide (PLA)-based nanocomposites. **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 38, p. 1504– 1542, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.014>. Acesso em: 24 abr. 2015.

RAVARI, F.; MASHAK, A.; NEKOOMANESH, M.; MOBEDI, H. Non-isothermal cold crystallization behavior and kinetics of poly(L-lactide): effect of L-lactide dimer. **Polymer Bulletin**, [S.l.], v. 70(9), p. 2569–2586, 2013. Disponível em: <DOI 10.1007/s00289-013-0972-6>. Acesso em: 20 ago. 2018.

RESOLUÇÃO **RDC Nº 91**, DE 11 DE MAIO DE 2001, DA ANVISA. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/390501/ALIMENTOS%2BRESOLU%25C3%2587%25C3%2583O%2B-%2BRDC%2BN%25C2%25BA%2B91%252C%2BDE%2B11%2BDE%2BMAIO%2BDE%2B2001%2B-%2BCrit%25C3%25A9rios%2BGerais.pdf/eee88345-870a-47d3-8767-d84758ee5d29>. Acesso em: 12 mar. 2014; 20 ago. 2018.

RIBEIRO, V. F.; SIMÕES, D. N.; PITTOL, M.; TOMACHESKI, D.; MARLENE, R.; SANTANA C. Material Properties: Effect of copper nanoparticles on the properties of SEBS/PP compounds. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 63, p. 204-209, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.07.033>. Acesso em: 20 ago. 2018.

RHIM, J. W.; HONG, S. I.; PARK, H. M.; NG, P. K. W. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.l.], v. 54, p. 5814–5822, 2006. Disponível em: <10.1021/jf060658h>. Acesso em: 27 out. 2014.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA., C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 38, p. 1629–1652, 2013. Disponível em:<http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008>. Acesso em: 23 jan. 2015.

ROBERTSON, G.L. Chapter 3: Edible, biobased and biodegradable food packaging materials. In:_____ **Food Packaging: Principles and Practice**, third ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2013a, FL, p. 49–90.

ROBERTSON, G. L. Chapter 23: Food packaging and sustainability. In:_____ **Food Packaging: Principles and Practice**, third ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2013b, FL, p. 670–767.

ROBERTSON, G. L. Biobased but not biodegradable: a new paradigm for sustainable food packaging? **Food Technology**, [S.l.], v. 68 (6), p. 61–70, 2014. Disponivel em: <https://www.ift.org/~/media/food%20technology/pdf/2014/06/0614_feat_3_biobasedpackaging.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2018.

ROBERTSON, G. L. Definitions, Functions, Attributes and Environments of Food Packaging. **Reference Module in Food Science 2018**, [S.l.], p. 1-5, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22537-7>. Acesso em: 20 abr. 2018.

RODRIGUES, E. J. R.; SEBASTIÃO, P.J.O.; M. I. B. TAVARES, ^{1}H time domain NMR real time monitoring of polyacrylamide hydrogels synthesis. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 60, p. 396-404, 2017. Disponível em: <10.1016/j.polymertesting.2017.04.028>. Acesso em: 10/10/2018.

RODRÍGUEZ-TOBÍAS, H.; MORALES, G.; GRANDE, D. Improvement of mechanical properties and antibacterial activity of electrospun poly(D,L-lactide)-based mats by incorporation of ZnO-graft-poly(D,L-lactide) nanoparticles. **Materials Chemistry and Physics**, [S.l.], v. 182, p. 324-331, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2016.07.039>. Acesso em: 20 ago. 2018.

ROSLI, N. A.; AHMAD, I.; ANUAR, F. H.; ABDULLAH, I. Mechanical and thermal properties of natural rubber-modified poly(lactic acid) compatibilized with telechelic liquid natural rubber. **Polymer Testing**, Selangor, v. 54, p. 196–202, 2016. Disponível em: <10.1016/j.polymertesting.2016.07.021>. Acesso em: 02 nov. 2018.

RUIZ-HITZKY, E.; DARDER, M.; ARANDA, P. An introduction to bio-nanohybrid materials. In: RUIZ-HITZKY, E; ARIGA, K.; LVOV, Y. **Bio-inorganic hybrid nanomaterials: Strategies, Syntheses, Characterization and Applications.** [S.l.], Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008, p. 1-40. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9783527621446.ch1>. Acesso em: 20 mar. 2015.

SAEIDLOU, S.; HUNEAULT, M. A.; LI, H.; PARK, C. B. Poly(lactic acid) crystallization. **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 37, p. 1657-1677, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2012.07.005>. Acesso em: 08 nov. 2018.

SARASUA, J. R.; PRUDHOMME, R. E.; WISNIESKI, M.; BORGNE, A. L.; SPASSKY, N. Crystallization and melting behavior of polylactides. **Macromolecules**, [S.l.], v. 31, p. 3895-3905, 1998. Disponível em: <DOI: 10.1021/ma971545p>. Acesso em: 02 nov. 2018.

SCAFFARO, R.; LOPRESTI, F.; BOTTA, L. PLA based biocomposites reinforced with *Posidonia oceanica* leaves. **Composites Part B: Engineering**, [S.l.], v. 139, p. 1–11, 2017. Disponível em: <10.1016/j.compositesb.2017.11.048>. Acesso em: 20 ago. 2018.

SHANKAR, S.; WANG, L.-F.; RHIM, J.-W. Incorporation of zinc oxide nanoparticles improved the mechanical, water vapor barrier, UV-light barrier, and antibacterial properties of PLA-based nanocomposite films. **Materials Science & Engineering C**, [S.l.], v. 93, p. 289–298, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.002>. Acesso em: 03 jul. 2019.

SHANKAR, S.; TENG, X.; LI, G.; RHIM, J. W. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/ZnO nanocomposite films. **Food Hydrocolloids**, [S.l.], v. 45, p. 264-271, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.001>. Acesso em: 03 maio 2016.

SILVA, M. B. R. **Investigação dos efeitos sinérgicos de nanopartículas de óxido de zinco e argila organofílica em nanocompósitos a base de PHB.** 2016. 90f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Polímeros, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <http://objdig.ufrj.br/64/teses/857530.pdf>. Acesso em: 01 nov. 2017.

SILVA, M. B. R.; TAVARES, M. B. I.; SILVA, E. O.; NETO, R. P. C. Material characterisation: Dynamic and structural evaluation of poly(3-hydroxybutyrate) layered nanocomposites. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 32, p. 165–174, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2012.09.006>. Acesso em: 22 jun. 2016.

SILVA, R. T.; PASBAKHSH, P.; LEE, S. M.; KIT, A. Y. ZnO deposited/encapsulated halloysite–poly (lactic acid) (PLA) nanocomposites for high performance packaging films with improved mechanical and antimicrobial properties. **Applied Clay Science**, [S.l.], v. 111, p. 10–20, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clay.2015.03.024>. Acesso em: 03 maio 2016.

SIRACUSA, V.; LOTTI, N. Biobased Plastics for Food Packaging. **Reference Module in Food Sciences 2018**, [S.l.], p. 1-19, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22413-X>. Acesso em: 27 set. 2018.

SILVESTRE, C., DURACCIO, D. CIMMINO, S. Food packaging based on polymer nanomaterials. **Progress in Polymer Science**, [S.l.], v. 36, p. 1766-1782, 2011. Disponível em: <doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.02.003>. Acesso em: 27 out. 2014.

SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. Potential perpectives of bio-nanocomposites for packaging applications. **Food Science & Technology**, [S.l.], v. 18, p. 84-95, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.004>. Acesso em: 27 out. 2014.

SOZER, N.; KOKINI, J. L. Cell Press Review: Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends in Biotechnology**, [S.l.], v. 27, p. 82-89, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.10.010>. Acesso em: 28 jan. 2015.

STELLA, D. 8 - Optimized food supply chains to reduce food losses. **Saving Food Production, Supply Chain, Food Waste and Food Consumption**, [S.l.], p. 227-248, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815357-4.00008-0>. Acesso em: 09 jul. 2019.

STUEBER, D.; JEHLE, S. Quantitative Component Analysis of Solid Mixtures by Analyzing Time Domain ^{1}H and ^{19}F T_1 Saturation Recovery Curves (qSRC). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.l.], v. 106, p. 1828-1838, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.xphs.2017.03.034>. Acesso em: 10 out. 2018.

SUNG, S. Y.; SIN L. T.; TEE T. T.; BEE, S. T.; RAHMAT, A. R.; RAHMAN, W. A. W. A.; TAN, A. C.; VIKHRAMAN, M. Antimicrobial agents for food packaging applications. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 33, p. 110-123, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.08.001>. Acesso em: 24 abr. 2015.

SURANA, R.; PYNE, A.; RANI, M.; SURYANARAYANAN, R. Measurement of enthalpic relaxation by differential scanning calorimetry—effect of experimental conditions. **Thermochimica Acta**, [S.l.], v.433, p. 173–182, 2005. Disponível em: <doi:10.1016/j.tca.2005.02.014>. Acesso em: 27 out. 2014.

TANKHIWALE, R.; BAJPAI, S. K. Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S.l.], v. 90, p. 16– 20, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.09.031>. Acesso em: 27 out. 2014.

TRANDAFILOVIĆ, L. V.; BOŽANIĆ, D. K.; DIMITRIJEVIĆ-BRANKOVIĆ, S.; LUYT, A. S.; DJOKOVIĆ, V. Fabrication and antibacterial properties of ZnO–alginate nanocomposites. **Carbohydrate Polymers**, [S.l.], v. 88 p. 263–269, 2012. Disponível em: <doi:10.1016/j.carbpol.2011.12.005>. Acesso em: 28 jan. 2015.

VIDOR, F. F.; WIRTH, G. I.; HILLERINGMANN, U. Low temperature fabrication of a ZnO nanoparticle thin-film transistor suitable for flexible electronics. **Microelectronics Reliability**, [S.l.], v. 54, p. 2760–2765, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.microrel.2014.07.147>. Acesso em: 20 mar. 2015

WU, D.; WU, L.; WU, L.; XU, B.; ZHANG, Y.; ZHANG M. Nonisothermal Cold Crystallization Behavior and Kinetics of Polylactide/Clay Nanocomposites. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, [S.l.], v. 45, p. 1100–1113, 2007. Disponível em: <DOI 10.1007/s10973-017-6783-5>. Acesso em: 17 out. 2018.

WHEATON, C. A., HAYES, P. G., IRELAND, B. J. Complexes of Mg, Ca and Zn as homogeneous catalysts for lactide polymerization. **Dalton Transactions**, [S.l.], p. 4832–4846, 2009. Disponível em: <DOI: 10.1039/B819107G>. Acesso em:12 mar. 2014.

ZHANG, L.; JIANG, Y.; DING, Y.; DASKALAKIS, N.; JEUKEN, L.; POVEY, M.; O'NEILL, A. J.; YORK, D. W. Mechanistic investigation into antibacterial behavior of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. **Journal of Nanoparticle Research**, [S.l.], v. 12, p. 1625-1636, 2010. Disponível em: <DOI 10.1007/s11051-009-9711-1>. Acesso em: 02 nov. 2018.

ZHANG, B.; HAN, J. Enhanced Protective Properties and UV Stability of Poly(lactic acid)/Poly(vinyl acetate)/ZnO Microcapsule Nanocomposite. **Journal of Vinyl & Additive Technology**, [S.l.], p. 1-8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/vnl.21604>. Acesso em: 02 nov. 2018.

ZHOU, Y.; LEI, L.; YANG, B.; LI, J.; REN, J. Preparation and characterization of polylactic acid (PLA) carbon nanotube nanocomposites. **Polymer Testing**, [S.l.], v. 68, p. 34–38, 2018. Disponível em: <10.1016/j.polymertesting.2018.03.044>. Acesso em: 26 mar. 2018.

21CFR182.8991 FDA. Disponível em: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.8991>. Acesso em: 08 nov. 2018.