

UNIVERSIDADE COMUNITÁRIA DA REGIÃO DE CHAPECÓ
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

Ana Paula Capelezzo

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FILMES
POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS ADITIVADOS COM
COMPOSTOS À BASE DE ZINCO**

Chapecó, 2017.

UNIVERSIDADE COMUNITÁRIA DA REGIÃO DE CHAPECÓ

Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FILMES
POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS ADITIVADOS COM
COMPOSTOS À BASE DE ZINCO**

Ana Paula Capelezzo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Comunitária da Região de Chapecó, como parte dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Profa. Dra. Josiane Maria Muneron de Mello

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Antônio Fiori

Chapecó – mar, 2017.

Ficha catalográfica

C238a	<p>Capelezzo, Ana Paula</p> <p>Avaliação da atividade antimicrobiana de filmes poliméricos biodegradáveis aditivados com compostos à base de zinco / Ana Paula Capelezzo. -- 2017.</p> <p>124 f. : il.</p> <p>Orientadora: Prof^a. Dr^a. Josiane Maria Muneron de Mello Coorientador: Prof. Dr. Márcio Antônio Fiori Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Comunitária da Região de Chapecó, 2017 Inclui bibliografia</p> <p>1. Polímeros. 2. Biodegradação. I. Mello, Josiane Maria Muneron de. II. Fiori, Márcio Antônio. III. Título.</p> <p>CDD 23 -- 668.9</p>
-------	--

Catálogo na fonte Bibliotecária Daniele Lopes CRB 14/989


UNOCHAPECÓ

UNIVERSIDADE COMUNITÁRIA DA REGIÃO DE CHAPECÓ
Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* em Ciências Ambientais

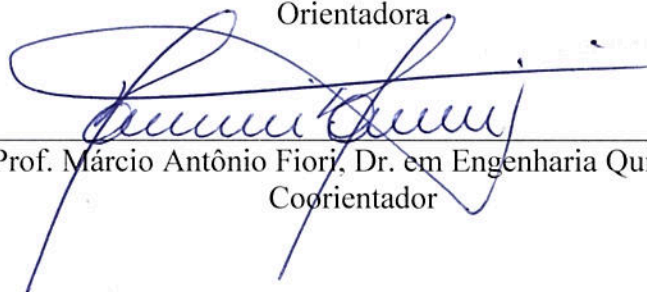
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FILMES
POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS ADITIVADOS COM
COMPOSTOS À BASE DE ZINCO**

Ana Paula Capelezzo

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Ambientais
sendo aprovado em sua forma final.

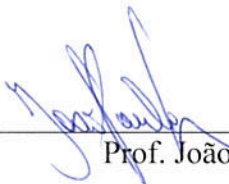


Prof^ª. Josiane Maria Muneron de Mello, Dra. em Engenharia Química
Orientadora



Prof. Márcio Antônio Fiori, Dr. em Engenharia Química
Coorientador

BANCA EXAMINADORA



Prof. João Paulo Bender, Dr. em Engenharia de Alimentos



Prof^ª. Maria Ana Pignatell Marcon Martins, Dra. em Engenharia Química



Prof^ª. Francieli Dalcanton, Dra. em Engenharia de Alimentos

Chapecó, 29 de março de 2017.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais Wilson Capelezzo e Elaine Capelezzo, pelo incentivo, amor e carinho incondicionais. Por abrirem mão de seus sonhos em favor dos meus. Amo vocês.

À minha irmã Juliana Capelezzo, por dividir comigo todos os momentos vividos ao longo dessa jornada acadêmica, pelo companheirismo, pela torcida e motivação de sempre.

Ao meu amor por entender minha ausência, por me apoiar, por me tornar uma pessoa melhor, pelo abraço, pelo sorriso.

À Laura Cassol Mohr, minha amiga, irmã, aquela que divide comigo seus dias, que me ouve, me apoia, me dá conselhos, me instiga a buscar pelo conhecimento cada vez mais, aquela que eu preciso dar conselhos, uns puxões de orelha, pelos momentos de alegria, de tristeza, pelas incansáveis análises microbiológicas, pela ajuda, por seguir comigo agora em mais um etapa. Obrigado por tudo amiga me faltam palavras pra expressar o quanto te admiro e o quanto és especial pra mim.

À minha Orientadora, Prof. Dra. Josiane Maria Muneron de Mello, por ser um exemplo de profissional, mãe e mulher. Pela sua competência, orientação, sugestões e por sua vontade de colher os frutos desse trabalho, acreditando mais do que eu mesma que daria certo. Obrigado por sempre estar presente e por fazer acontecer.

Ao meu Coorientador, Prof. Dr. Márcio Antônio Fiori, por todo o suporte fornecido no decorrer deste trabalho, pela confiança, por acreditar em meu trabalho, por sempre estar disposto em ajudar, em discutir resultados e me instigar a continuar na vida acadêmica. Obrigado por sua sabedoria.

Às professoras Msc. Raquel Zeni Ternus, Dra. Francieli Dalcanton e Dra. Carolina Riviera Duarte Maluche Baretta pelo suporte fornecido no decorrer da pesquisa e aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais.

Aos técnicos dos laboratórios de Produtos Naturais e Microbiologia por nos auxiliarem durante a realização dos experimentos.

À Janayne Sander Godoy e Alessandra Bellei Sgnaulin, pela ajuda durante os experimentos, por sempre estarem dispostas a auxiliar e aprender. Vocês são ótimas IC's.

À BASF por fornecer a matéria-prima necessária para a realização desta pesquisa.

À Kher Group pela gentileza de nos ceder os aditivos antimicrobianos.

À professora Maria Ana Pignatel Marcon Martins pelo auxílio fornecido na elaboração dos filmes poliméricos e por estar sempre disposta a nos ajudar quando solicitada.

À Unochapecó pela infraestrutura fornecida.

A CAPES pelo incentivo financeiro.

À todos meu muito obrigada.

“Que a vida é trem-bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir”

Ana Vilela

RESUMO

Frente à problemática que circunda a utilização dos polímeros convencionais, bem como os problemas ocasionados pelo seu descarte indevido é que algumas alternativas têm sido pesquisadas visando minimizar tais danos. Uma opção interessante é o uso de polímeros biodegradáveis, que podem ser degradados pela ação de microrganismos, reduzindo significativamente seu tempo de degradabilidade. O Ecoflex[®] é um polímero biodegradável da classe dos co-poliésteres alifáticos aromáticos produzidos pela empresa alemã BASF, sendo um dos mais utilizados dentre os polímeros biodegradáveis no setor de embalagens. Além da preocupação com o meio ambiente, as indústrias estão investindo em tecnologias inovadoras, buscando aumentar a qualidade dos alimentos, sendo as embalagens antimicrobianas um tipo promissor de embalagem ativa, as quais apresentam um composto antimicrobiano incorporado à matriz polimérica, capaz de eliminar ou inibir o crescimento de microrganismos deteriorantes e/ou patogênicos. Visando melhorar algumas propriedades dos polímeros biodegradáveis ou agregar funcionalidade aos mesmos é que se faz o uso de aditivos à matriz polimérica, dentre os quais pode-se citar o uso de nanopartículas de óxido de zinco e microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico, cuja função é atuar como agentes antimicrobianos. Logo, este trabalho teve como objetivo obter filmes poliméricos biodegradáveis aditivados com 1 e 2% (m/m) de nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO) e 1 e 2% (m/m) de microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico (MCs-Zn), e avaliar a atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*), além de verificar a biodegradabilidade e as propriedades mecânicas dos mesmos após a aditivação. Os aditivos antimicrobianos foram caracterizados morfológicamente a partir da análise de microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão (MEV-FEG) e quanto à sua atividade antimicrobiana pelo ensaio de difusão em meio sólido. Os *pellets* de Ecoflex[®] foram caracterizados termicamente através da técnica de termogravimetria (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC). Juntamente com os aditivos antimicrobianos, os *pellets* de Ecoflex[®] foram misturados manualmente, sendo o processamento realizado em extrusora industrial monorosca. Os filmes poliméricos foram caracterizados quanto à sua atividade antimicrobiana através das técnicas de difusão em meio sólido e curva de morte bacteriana, termicamente a partir do ensaio de DSC e mecanicamente pelo ensaio de tração. Realizou-se também um teste de liberação de zinco em solução aquosa e o ensaio de biodegradação baseado na respirometria. O ensaio de difusão em meio sólido para as NPs-ZnO e as MCs-Zn mostrou que ambas são eficazes no combate de *S. aureus* e *E. coli*, sendo seu efeito mais pronunciado para *S. aureus*. A partir dos resultados de curva de morte verificou-se que os filmes poliméricos obtidos foram eficazes no controle do crescimento de *S. aureus* e *E. coli* com uma concentração inicial de 10^4 UFC.mL⁻¹ após 24 h de contato. Diante dos resultados obtidos, pode-se optar pela menor concentração de aditivo estudada e como agente antimicrobiano as MCs-Zn. A avaliação térmica revelou que a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn desfavoreceu a formação de cristais na denominada Fase 2 durante o resfriamento, porém, favoreceu a formação de uma nova fase cristalina, denominada Fase 1. Já, para o aquecimento, a adição das mesmas favoreceu a formação de cristais na Fase 1, tornando os materiais mais cristalinos e, em contrapartida a Fase 2 que antes existia para o Ecoflex[®] puro deixa de existir. Os ensaios mecânicos mostraram que a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn reduziram significativamente a tensão máxima e a tensão de ruptura e, não teve influência significativa no percentual de deformação e no módulo de elasticidade. Quando submetidos ao ensaio de liberação em solução aquosa, os filmes poliméricos liberaram uma quantidade de zinco que atende a legislação proposta pela ANVISA. Quando avaliada a

biodegradação dos filmes obtidos, o ensaio evidenciou que a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn ao filme polimérico biodegradável não apresentou diferença significativa quando comparado a biodegradação do Ecoflex[®] puro, após 90 dias.

Palavras-chave: Polímeros biodegradáveis, Ecoflex[®], NPs-ZnO, MCs-Zn, Atividade antimicrobiana, Biodegradação.

ABSTRACT

In view of the problems surrounding the use of conventional polymers, as well as the problems caused by their undue disposal, some alternatives have been researched in order to minimize such damages. An interesting option is to use biodegradable polymers, which can be degraded by the microorganisms' action, reducing their degradability time. Ecoflex[®] is a biodegradable polymer of the aromatic aliphatic copolymer class produced by BASF, one of the most used among the biodegradable polymers in the packaging sector. In addition to the concern with the environment, industries are investing in innovative technologies, seeking to increase the food quality and antimicrobial packaging has been a promising type of active packaging which present an antimicrobial compound incorporated into the polymer matrix, capable of eliminating or inhibiting the deteriorating and/or pathogenic microorganisms' growth. Aiming to improve some biodegradable polymers' properties or to add functionality to them, the use of additives into the polymer matrix is indicated. We can mention the use of zinc oxide nanoparticles and glass microparticles doped with ionic zinc, whose function is to act as antimicrobial agents. The objective of this work was to obtain biodegradable polymeric films with 1 and 2% (w/w) of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) and 1 and 2% (w/w) glass microparticles doped with ionic zinc (Zn-MCs) and to evaluate the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*), besides verifying their biodegradability after the additivation and evaluating the mechanical properties of these films. The antimicrobial additives were characterized morphologically from scanning electron microscopy coupled with FEG (SEM-FEG) and their antimicrobial activity by the antimicrobial tests of agar diffusion. The Ecoflex[®] pellets were thermally characterized by thermogravimetry (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC). The Ecoflex[®] pellets together with the antimicrobial additives were mixed manually and processed in an industrial single screw extruder. Polymeric films were characterized for their antimicrobial activity through agar diffusion tests and bacterial death curve, thermally from the DSC test and mechanically by the tensile test. A zinc release test in aqueous solution and biodegradation test by the respirometry analysis were also performed. The agar diffusion tests for the ZnO-NPs and the Zn-MCs showed that both are effective in the treatment of *S. aureus* and *E. coli*, but their effect is more pronounced for *S. aureus*. From the death curve results it was found that the polymer films obtained were effective in controlling the growth of *S. aureus* and *E. coli* with an initial concentration of 10^4 CFU.mL⁻¹ after 24 h of contact. Considering the obtained results, it is possible to opt for the lower concentration of the additive studied and MCs-Zn as antimicrobial agent. The thermal evaluation revealed that the addition of the ZnO-NPs and the Zn-MCs did not favor the formation of crystals in Phase 2 during the cooling, but favored the formation of a new crystalline phase, called Phase 1. For the heating, the addition of the same favored the formation of crystals in Phase 1, making the materials more crystalline and, in return Phase 2 that previously existed for pure Ecoflex[®] ceases to exist. The mechanical tests showed that the addition of the ZnO-NPs and the Zn-MCs significantly reduced the maximum tensile and breaking tensile and had no significant influence on the percentage of deformation and elastic modulus. When subjected to the release test in aqueous solution, the polymer films released an amount of zinc that complies with the legislation proposed by ANVISA. When the films' biodegradation was evaluated, the test showed that the addition of NPs-ZnO and MCs-Zn to the biodegradable polymeric film did not present significant difference when compared to biodegradation of the pure Ecoflex[®], after 90 days.

Key-words: Biodegradable polymers, Ecoflex[®], ZnO-NPs, Zn-MCs, antimicrobial activity, biodegradation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. OBJETIVOS	25
2.1 Geral	25
2.2 Específicos	25
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1 Polímeros convencionais	26
3.2 Polímeros biodegradáveis	27
3.2.1 Ecoflex®	32
3.3 Aditivação de polímeros e a propriedade antimicrobiana.....	34
3.3.1 Nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO)	39
3.3.2 Microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico (MCs-Zn)	43
3.3.3 Polímeros biodegradáveis aditivados com ZnO	45
3.4 Microrganismos modelo para o estudo da atividade antimicrobiana	46
4. MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 Caracterização dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) e do polímero biodegradável Ecoflex®	50
4.1.1 Caracterização morfológica dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) .	50
4.1.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs-ZnO e das MCs-Zn	50
4.1.3 Análises térmicas do polímero biodegradável	52
4.2 Obtenção dos filmes poliméricos com diferentes concentrações de aditivos antimicrobianos	53
4.3 Caracterização dos filmes poliméricos	54
4.3.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos obtidos, através do ensaio de difusão em meio sólido	54
4.3.2 Curva de morte bacteriana	54
4.3.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	56
4.3.4 Ensaio mecânico de tração	57
4.3.5 Estudo de liberação de compostos de zinco em meio aquoso.....	58
4.3.6 Ensaio de biodegradação dos filmes poliméricos.....	59
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 Caracterização dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) e do polímero biodegradável Ecoflex®	63
5.1.1 Caracterização morfológica dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) .	63
5.1.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs-ZnO e das MCs-Zn	64
5.1.3 Análises térmicas do polímero biodegradável	66

5.2 Resultados das caracterizações dos filmes poliméricos biodegradáveis obtidos com diferentes concentrações dos aditivos antimicrobianos.....	68
5.2.1 Análises microbiológicas dos filmes poliméricos obtidos com os diferentes aditivos antimicrobianos e sem aditivo	69
5.2.2 Resultados da análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) dos filmes poliméricos obtidos	78
5.2.3 Resultados dos ensaios mecânicos de tração para os filmes poliméricos obtidos ..	84
5.2.4 Ensaio de liberação do zinco presente nos polímeros obtidos, quando em solução aquosa.....	89
5.2.5 Ensaio de biodegradação.....	91
6. CONCLUSÃO	95
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	97
8. REFERÊNCIAS.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação dos polímeros biodegradáveis de acordo com a fonte de obtenção ..	30
Figura 2 - Estrutura química das unidades repetitivas do polímero Ecoflex [®]	32
Figura 3 - Mecanismo de ação de nanopartículas de óxidos metálicos em microrganismos...	41
Figura 4 - Esquema ilustrativo da diferença na parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas.....	47
Figura 5 - Fluxograma de trabalho	49
Figura 6 - Esquema ilustrativo do ensaio experimental da técnica de difusão em meio sólido a partir de orifício	52
Figura 7 - Esquema representativo do processo de extrusão dos filmes poliméricos: a) alimentação, b) rosca, zonas de aquecimento e canhão, c) cabeçote e matriz, d) sopro, e) estiramento do balão e f) bobinamento do filme	53
Figura 8 – Esquema representativo da técnica de curva de morte.....	56
Figura 9 - Esquema representativo dos corpos de prova para a realização do ensaio mecânico de tração	57
Figura 10 - Equipamento universal de testes mecânicos	57
Figura 11 - Esquema representativo do ensaio de biodegradação	62
Figura 12 – Imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão (MEV-FEG) para o agente antimicrobiano (a) NPs-ZnO com ampliação de 100k vezes e (b) MCs-Zn com ampliação de 50k vezes	63
Figura 13 - Resultados dos testes de difusão em meio sólido a partir de orifício para as NPs-ZnO e MCs-Zn. (a) NPs-ZnO/ <i>S. aureus</i> , (b) NPs-ZnO/ <i>E. coli</i> , (c) MCs-Zn/ <i>S. aureus</i> , (d) MCs-Zn/ <i>E. coli</i>	64
Figura 14 - Termograma de TGA e Diferencial do termograma de TGA para o Ecoflex [®]	66
Figura 15 – Termograma de DSC para o Ecoflex [®] com as curvas de aquecimento e de resfriamento.....	67
Figura 16 - Filmes poliméricos biodegradáveis com diferentes concentrações de (a) NPs-ZnO e (b) MCs-Zn	69
Figura 17 - Resultados dos testes de difusão em meio sólido para o filme de Ecoflex [®] puro frente à (a) <i>S. aureus</i> e (b) <i>E. coli</i>	69
Figura 18 - Análise microbiológica a partir do método de difusão em meio sólido para (a) Ecoflex [®] + 1% NPs-ZnO/ <i>S. aureus</i> (b) e Ecoflex [®] + 1% NPs-ZnO/ <i>E. coli</i> (c) Ecoflex [®] + 2% NPs-ZnO/ <i>S. aureus</i> (d) e Ecoflex [®] + 2% NPs-ZnO/ <i>E. coli</i>	70
Figura 19 - Análise microbiológica a partir do método de difusão em meio sólido para (a) Ecoflex [®] + 1% MCs-Zn/ <i>S. aureus</i> (b) e Ecoflex [®] + 1% MCs-Zn/ <i>E. coli</i> (c) Ecoflex [®] + 2% MCs-Zn/ <i>S. aureus</i> (d) e Ecoflex [®] + 2% MCs-Zn/ <i>E. coli</i>	71
Figura 20 - Curva de morte para a bactéria <i>S. aureus</i> obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex [®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e para o filme polimérico Ecoflex [®] sem a adição de NPs-ZnO	72
Figura 21 - Curva de morte para a bactéria <i>E. coli</i> obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex [®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e para o filme polimérico Ecoflex [®] sem adição de NPs-ZnO	73
Figura 22 - Curva de morte para a bactéria <i>S. aureus</i> obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex [®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn e para o filme polimérico Ecoflex [®] sem adição de MCs-Zn.....	75

Figura 23 - Curva de morte para a bactéria <i>E. coli</i> obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex [®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn e para o filme polimérico Ecoflex [®] sem adição de MCs-Zn.....	75
Figura 24 - Termograma de DSC de resfriamento para o Ecoflex [®] puro e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO	79
Figura 25 – Termograma de DSC para o 2º aquecimento do Ecoflex [®] puro e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO	80
Figura 26 - Termograma de DSC de resfriamento para o filme polimérico Ecoflex [®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn	82
Figura 27 – Termograma de DSC para o 2º aquecimento do filme polimérico Ecoflex [®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex [®] com 1 e 2% m/m de MCs-Zn.....	82
Figura 28 - Diagrama característico de tensão em função da deformação para o filme polimérico de Ecoflex [®] puro, e para os filmes poliméricos contendo 1% NPs-ZnO + Ecoflex [®] , 2% NPs-ZnO + Ecoflex [®] , 1% MCs-Zn + Ecoflex [®] e 2% MCs-Zn + Ecoflex [®]	84
Figura 29 - Média e desvio padrão para a tensão máxima das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn	85
Figura 30 - Média e desvio padrão para a tensão de ruptura das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn.....	86
Figura 31 - Média e desvio padrão para a deformação das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn	86
Figura 32 - Média e desvio padrão para o módulo de elasticidade das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn.....	87
Figura 33 - Curva padrão de absorvância em função da concentração de Zn.....	89
Figura 34 - Curva de biodegradação cumulativa para os filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% de NPs-ZnO, Ecoflex [®] com 1 e 2% de MCs-Zn e somente do solo sem polímero	91
35 - Imagens dos filmes poliméricos com e sem aditivação, nas diferentes concentrações dos dois aditivos utilizados, expostos ao processo de biodegradação em 0 dias (a) após transcorridos 90 dias (b) de ensaio, obtidas com aumento de 50 vezes.....	94
Figura 36 – Ficha técnica do Ecoflex [®] . Fonte: BASF, (2016).....	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades do Ecoflex [®]	33
Tabela 2 - Valores médios \pm desvio padrão amostral do halo de inibição a partir do teste de difusão em meio sólido para as NPs-ZnO e as MCs-Zn frente as bactérias <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	65
Tabela 3 - Resultados da análise microbiológica de curva de morte para os filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, Ecoflex [®] com 1 e 2% de NPs-ZnO e Ecoflex [®] com 1 e 2% de MCs-Zn ...	77
Tabela 4 - Porcentagem de redução de colônias bacterianas de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> após 24 h de contato com os filmes poliméricos obtidos	78
Tabela 5 – Valores de variação da entalpia referentes aos picos das fases denominadas 1 e 2 para o resfriamento e aquecimento para o filme polimérico de Ecoflex [®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO	81
Tabela 6 – Valores de variação de entalpia referentes aos picos das fases denominadas 1 e 2 para o filme polimérico de Ecoflex [®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex [®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn	83
Tabela 7 - Resultado das propriedades mecânicas de tração para os filmes poliméricos de Ecoflex [®] puro, do Ecoflex [®] com 1 e 2% de NPs-ZnO e do Ecoflex [®] com 1 e 2% de MCs-Zn	87
Tabela 8 – Porcentagem e concentração de zinco liberado em solução aquosa, em função do tempo de exposição, da temperatura da solução e do tipo de filme polimérico aditivado	90
Tabela 9 - Quantidade total de CO ₂ produzida para cada amostra de polímero obtida e para o solo sem polímero, após 90 dias de análise	92

LISTA DE ABREVIATURAS

H ₂ O	Água
<i>A. cepa</i>	<i>Allium cepa</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
ABIPLAST	Associação Brasileira da Indústria do Plástico
Ag	Prata
Ag ⁺	Íon de prata
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
Au	Ouro
<i>B. atrophaeus</i>	<i>Bacillus atrophaeus</i>
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
BaCl ₂	Cloreto de bário
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
Ba(OH) ₂	Hidróxido de bário
<i>B. cinerea</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
C	Carbono
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>C. freundii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
CaO	Óxido de cálcio
CH ₄	Metano
CIM	Concentração Mínima Inibitória
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CO ₂	Dióxido de carbono
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
<i>D. magna</i>	<i>Daphnia magna</i>
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos

EPAGRI	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EVA	Espuma vinílica acetinada
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
KOH	Hidróxido de potássio
LPOL	Laboratório de polímeros da Universidade de Caxias do Sul
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
MCs-Zn	Microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico
MEV- FEG	Microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão
MgO	Óxido de magnésio
MO	Microscopia ótica
N	Nitrogênio
NaOH	Hidróxido de sódio
NPs-Au	Nanopartículas de ouro
NPs-Ag	Nanopartículas de prata
NPs-CaO	Nanopartículas de óxido de cálcio
NPs-TiO ₂	Nanopartículas de dióxido de titânio
NPs-ZnO	Nanopartículas de óxido de zinco
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
OH [•]	Radical Hidroxila
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PA6	Poliamida 6
PBAT	Poli (butileno adipato co tereftalato)
PCL	Poli (caprolactona)

PCL-T	Poli (caprolactona triol)
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PEBDL	Polietileno de baixa densidade linear
PEBDL-AM	Polietileno de baixa densidade linear-Anidrido Maleíco
<i>P. expansum</i>	<i>Penicillium expansum</i>
<i>P. subcapitata</i>	<i>Pseudokirhneriella subcapitata</i>
PET	Poli (etileno tereftalato)
PHB	Poli (hidroxibutirato)
PHBv	Poli (hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato)
PLA	Poli (ácido láctico)
PLA/CLO20A	5% Cloisite 20A/ Poli (ácido láctico)
PLA/CLO30B	5% Cloisite 30B/ Poli (ácido láctico)
PLDLA	Poli (L-co-D, L ácido láctico)
PLLA	Poli (L-Ácido Lático)
PP	Polipropileno
ppm	Partes por milhão
ppb	Partes por bilhão
PS	Poliestireno
PU	Poliuretano
PVC	Poli (cloreto de vinila)
RPM	Rotações por minuto
<i>R. stolonifer</i>	<i>Rizhopus stolonifer</i>
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>S. choleraesuis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>S. enteritidis</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>S. typhimurium</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TGA	Análise Termogravimétrica
TiO ₂	Dióxido de titânio
UFC.cm ⁻²	Unidades Formadoras de Colônias por cm ²
UFC.mL ⁻¹	Unidades formadoras de colônias por mL

UV

V. fischeri

Zn²⁺

ZnO

Ultravioleta

Vibrio fischeri

Íon de zinco

Óxido de zinco

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Área superficial da amostra	[cm ²]
C	Contagem de colônias	[UFC.cm ⁻²]
D	Fator de diluição	[adimensional]
Dex	Diâmetro externo formado pela ação do agente antimicrobiano sobre os microrganismos	[mm]
Din	Diâmetro ocupado pelo agente antimicrobiano	[mm]
m _{CO2}	Massa de CO ₂ produzido no processo de biodegradação	[mg]
N	Número de células viáveis por cm ²	[UFC.cm ⁻²]
V	Volume de água salina 0,85% usada para a lavagem da amostra	[mL]
V _{HCl}	Volume de ácido clorídrico gasto na titulação	[mL]

1. INTRODUÇÃO

Grande parte do consumo mundial de embalagens deriva de polímeros convencionais produzidos a partir de fontes não renováveis como o petróleo. Embora seu emprego seja recomendado em uma vasta gama de processos e produtos, esses polímeros, após serem descartados, podem permanecer por longos períodos no ambiente, sendo a natureza incapaz de assimilar suas substâncias em um ciclo equilibrado de produção, uso e descarte, o que provoca consequências ambientais comprometedoras para o equilíbrio do planeta (MORAES, 2004; BRITO et al., 2011).

Segundo estimativas, são necessários de 100 a 150 anos para que esses polímeros sejam degradados no ambiente, aumentando assim a cada dia, a quantidade de lixo plástico descartado na natureza. Portanto, a poluição causada pelos polímeros se tornou uma preocupação mundial, que além de poluir rios e lagos, causando enchentes, também poluem o solo de um modo geral. Outro agravante, é que essa classe de polímeros faz o uso do petróleo para sua produção, sendo esta matéria-prima exaurível e altamente poluidora (CHIELLINI e SOLARO, 1996; RAGHAVAN, 1995; BRITO et al., 2011).

Frente a essa problemática, pesquisadores e indústrias vêm buscando alternativas para minimizar os impactos ambientais causados pelo descarte inadequado dos polímeros convencionais. Neste cenário, o uso de polímeros biodegradáveis vem ganhando força e conquistando adeptos, sendo que nas últimas duas décadas, houve um crescente interesse público e científico com relação ao uso e desenvolvimento desta classe de polímeros (RHIM, PARK e HA, 2013; ELVERS et al., 2016). De acordo com a ASTM D 883-12 os polímeros biodegradáveis são facilmente atacados por microrganismos, sendo degradados em um curto espaço de tempo, gerando, através de sua decomposição, produtos menos agressivos ao meio ambiente como dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), água (H_2O), entre outros.

A produção em escala industrial desta classe de polímeros, já é uma realidade, e ainda, tem-se a possibilidade de aditivção, que além de manter sua principal característica, que é sua biodegradação, também permite agregar funcionalidade ao mesmo, como por exemplo, atividade antimicrobiana, proteção ultravioleta e barreira a gases (BECARO, 2014).

O controle dos agentes deteriorantes e/ou patogênicos torna-se indispensável, garantindo que alimentos de qualidade cheguem aos consumidores finais. Assim, o emprego de embalagens antimicrobianas, as chamadas embalagens ativas, apresenta-se como uma alternativa interessante no que diz respeito à preservação dos alimentos, contribuindo para o

retardo do processo de deterioração, reduzindo ou inibindo o crescimento de microrganismos, consequentemente aumentará a vida útil possibilitando a manutenção da qualidade e segurança dos alimentos embalados (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; SOARES et al., 2009; ESPITIA et al., 2012, DROVAL et al., 2014).

Recentemente o uso de micropartículas e nanopartículas antimicrobianas mostra-se como uma alternativa promissora no controle da contaminação oriunda de bactérias e fungos patogênicos, que representam um problema de saúde pública, promovendo assim, a preservação de alimentos e, desta forma evitando prejuízos econômicos em virtude da perda e desperdício dos mesmos, além de minimizar riscos de intoxicações alimentares oriundas da má conservação destes (ESPITIA et al., 2012; SIRELKHATIM et al., 2015). Deste modo, recomenda-se a incorporação de agentes antimicrobianos à diferentes matrizes poliméricas, que inibem ou até mesmo matam os microrganismos presentes em alimentos e demais superfícies contaminadas.

Existem diversos tipos de íons ou óxidos metálicos que podem ser aplicados para inibir ou matar bactérias e fungos como prata (Ag), ouro (Au), cobre (Cu), dióxido de titânio (TiO₂), óxido de magnésio (MgO), óxido de cálcio (CaO) e óxido de zinco (ZnO). Tanto na forma de nanopartículas metálicas quanto de partículas de vidro dopadas com íons metálicos podem ser aplicados como aditivos antimicrobianos em diferentes materiais poliméricos (GIBELLI, 2012; DROVAL et al., 2014; SANTOS et al., 2014; SAORIN, 2015; KIRSCHNER et al., 2017). Na forma de nanopartículas, estes compostos, podem apresentar novas propriedades, diferentes daquelas apresentadas na escala macroscópica, principalmente em virtude de suas propriedades físico-químicas únicas devido ao seu pequeno tamanho e grande área específica (SOUZA, 2015a).

Os compostos de zinco têm se mostrado eficientes agentes antimicrobianos e, ainda, despertam interesse devido algumas propriedades multifuncionais, como fotocatalítico, atóxico e baixo custo, sendo, o óxido de zinco, ZnO, classificado em um grupo de agentes antimicrobianos inorgânicos altamente seguros e extremamente estáveis termicamente, quando comparado aos agentes antimicrobianos orgânicos (DAGOSTIN et al., 2010; XIE et al., 2011; MOEZZI, McDONAGH e CORTIE, 2012; DOUMBIA et al., 2015).

Esses compostos quando inseridos em diferentes matrizes, interagem com parede celular bacteriana resultando na destruição da integridade celular, sendo os mecanismos de ação mais prováveis a liberação de íons de zinco (Zn²⁺) e a formação de espécies reativas de oxigênio (DOUMBIA et al., 2015). Na forma de nanopartículas, possui vantagens devido à

relação volume/área, garantindo a manutenção da atividade antimicrobiana mesmo na presença de pequena quantidade de pó (SMIJS e PAVEL, 2011). As microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico possuem o princípio de ação em função do Zn^{2+} , sendo um material que possui boa distribuição em diferentes matrizes e elevada atividade antimicrobiana (SANTOS et al., 2014; KIRSCHNER et al., 2017).

Já existem no mercado diversos polímeros convencionais com propriedades antimicrobianas (TANKHIWALE e BAJPAI, 2012; DROVAL et al., 2014, OTHMAN et al., 2014), porém, devido a degradação lenta dessa classe de polímeros é que se preconiza o estudo de polímeros biodegradáveis. A proposta de adicionar compostos antimicrobianos em polímeros biodegradáveis tem como objetivo aumentar a vida útil de produtos alimentícios, cosméticos e medicamentos que utilizam algum tipo de polímero para seu acondicionamento e, ainda, reduzir significativamente o tempo de degradação do polímero quando depositado no meio ambiente.

Logo, inserindo-se nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO) ou microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico (MCs-Zn) em uma matriz polimérica biodegradável, espera-se que estas manifestem a atividade antimicrobiana e ao mesmo tempo preservem a principal propriedade desta classe de polímeros, que é a decomposição em um curto espaço de tempo. Existem poucos relatos na literatura sobre a obtenção de materiais antimicrobianos aditivados com compostos a base de zinco em diferentes matrizes poliméricas biodegradáveis, impulsionando desta forma, novas pesquisas nesta área que além de se preocupar com a questão ambiental, devido à utilização de materiais menos agressivos ao meio ambiente ainda, aplica aditivos capazes de inibir ou até mesmo causar a morte de microrganismos causadores de diversas doenças.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Obter e caracterizar filmes poliméricos biodegradáveis aditivados com NPs-ZnO e com MCs-Zn e avaliar sua atividade antimicrobiana.

2.2 Específicos

- Caracterizar os aditivos, NPs-ZnO e MCs-Zn, por meio de suas propriedades morfológicas;
- Caracterizar os *pellets* do polímero biodegradável por meio de suas propriedades térmicas;
- Obter filmes poliméricos aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos frente à bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* (*E. coli*);
- Verificar se a adição dos aditivos antimicrobianos influenciam nas propriedades térmicas e mecânicas do polímero biodegradável Ecoflex®;
- Verificar se ocorre à liberação do zinco, presente nos filmes poliméricos, em solução aquosa;
- Verificar se a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn influenciam no processo de biodegradação dos filmes poliméricos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Polímeros convencionais

A palavra polímero (do grego: “poli” = muitos e “mero” = partes) é utilizada para designar moléculas formadas por um grande número de unidades moleculares repetidas, chamadas de monômeros, ligadas entre si por ligações covalentes, formando compostos com cadeias longas e alta massa molecular (CANEVAROLO JR., 2006).

Os polímeros são materiais versáteis, baratos, leves, duráveis, resistentes à corrosão e possuem propriedades de isolamento térmico e elétrico. Devido à diversidade dos polímeros e de suas propriedades, estes são utilizados em quase todas as atividades industriais, desde a automobilística até a medicina. Os polímeros sintéticos são produzidos através da polimerização de monômeros derivados do petróleo e os plásticos são feitos a partir desses polímeros combinados a vários aditivos químicos (LOPES, 2010).

Os produtos formados a partir de polímeros convencionais são considerados inertes ao ataque imediato de microrganismos. Essa propriedade faz com que esses materiais demorem centenas de anos para se decomporem, ficando acumulados no meio ambiente e desencadeando sérios problemas ambientais (CHIELLINI e SOLARO, 1996; BRITO et al., 2011; CASARIN et al., 2013).

De acordo com a Associação Brasileira da Indústria do Plástico (ABIPLAST, 2015), os polímeros mais consumidos atualmente são: PET (poli tereftalato de etileno), PEAD (polietileno de alta densidade), PVC (poli cloreto de vinila), PEBD (polietileno de baixa densidade), PEBDL (polietileno de baixa densidade linear), PP (polipropileno), PS (poliestireno), EVA (espuma vinílica acetinada) que, apesar do avanço no processamento e fabricação, geram dois grandes problemas: o uso de fonte não renovável (como o petróleo) para obtenção de sua matéria-prima e a grande quantidade de lixo gerada após seu descarte (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006).

A produção de polímeros aumentou substancialmente durante os últimos anos, passou de 0,5 milhões de toneladas em 1950 para 280 milhões de toneladas em 2012, sendo o Brasil responsável por 2% desta produção, o que corresponde a aproximadamente 6 milhões de toneladas (THOMPSON et al., 2009; SCHLEMMER; ANDREANI e VALADARES, 2014). De acordo com a ABIPLAST (2015) os principais setores consumidores de transformados de plásticos são a construção civil (25,7%), indústria alimentícia (19,0%), indústria

automobilística e de autopeças (12,1%) e máquinas e equipamentos (7,3%). Na área alimentícia, grande parte dos plásticos é utilizada como embalagens, cujo objetivo é proteger o alimento, com a finalidade de preservar suas características, por meio das propriedades de barreira aos fatores ambientais, tais como luz, umidade, oxigênio e microrganismos, mantendo o mesmo sem alterações indesejáveis durante o transporte e armazenamento (LANDIM et al., 2016).

Devido ao uso acentuado dessa classe de polímeros e os problemas oriundos de seu descarte indevido é que diversas pesquisas vêm sendo realizadas visando o desenvolvimento, produção e aplicação de materiais menos agressivos ao meio ambiente que, em sua maioria apresentam durabilidade durante o uso e degradabilidade após o descarte (CHANDRA e RUSTGI, 1998; PELLICANO; PACHEKOSKI e AGNELLI, 2009; BALAKRISHNAN et al., 2010; LLORENS et al., 2015; YAHIAOUI et al., 2015).

3.2 Polímeros biodegradáveis

A degradação de qualquer polímero pode ser definida como o resultado de interações complexas de efeitos sinérgicos de radiação, temperatura e umidade, microrganismos, além de outros fatores ambientais. O processo de degradação causa alguns efeitos nos polímeros como alterações na estrutura química e em sua superfície, perda das propriedades mecânicas, fragilização, redução da massa molecular e diminuição da transparência (FERREIRA, 2004). Existem diversos tipos de degradação, separadas por dois grupos: degradação abiótica (mecânica, térmica, termodegradação, química, fotodegradação, radiação solar) e a degradação biótica (biodegradação) (FERREIRA, 2004; OJEDA, 2008).

De acordo com a *American Society for Testing and Materials* (ASTM) no documento D 883-12 intitulado *Standard Terminology Relating to Plastics*, os polímeros biodegradáveis são aqueles em que a degradação ocorre principalmente pela ação de microrganismos tais como bactérias, fungos e algas de ocorrência natural. Em geral, derivam desse processo CO₂, CH₄, componentes celulares microbianos e outros produtos.

Conforme exposto por Kurusu (2011, pg. 20), o processo de degradação dos polímeros biodegradáveis ocorre em etapas distintas:

Primeiro os microrganismos aderem na superfície do polímero, etapa chamada de biodeterioração. Depois os microrganismos secretam enzimas que são capazes de hidrolisar os polímeros, ou seja, ocorre a quebra das cadeias poliméricas, etapa de biofragmentação. Só após, a quebra destas cadeias é que os microrganismos conseguem efetivamente assimilar o polímero através de suas membranas

consumindo-o. É, nesta etapa conhecida como mineralização, que a biomassa do polímero é transformada nos produtos da biodegradação, como CO₂, por exemplo.

A biodegradação depende de fatores ambientais como calor, umidade, luz, oxigênio, nutrientes e minerais, que interferem diretamente na taxa de degradabilidade. Estes fatores ambientais influenciam não somente no polímero a ser degradado, mas também têm influência na população microbiana e na atividade dos diferentes microrganismos. O resultado final, da biodegradação destes polímeros, é a perda parcial ou total de sua integridade estrutural e, conseqüente diminuição na massa molecular (FRANCHETTI e MARCONATO, 2006; NAMPOOTHIRI, NAIR e JOHN, 2010).

Polímeros contendo ligações hidrolisáveis ao longo da cadeia (isto é ligações amida, éster e ureia) são suscetíveis à biodegradação por microrganismos e, com o intuito de tornar a cadeia polimérica mais favorável à biodegradação, os seguintes substituintes têm sido incorporados, em posição intermolecular, à mesma como benzila, hidroxila, carbonila, metila e grupo fenila (PELLICANO, 2008). A presença de anéis aromáticos na cadeia polimérica influencia na taxa de biodegradação dos polímeros, ou seja, polímeros alifáticos tendem a degradar hidroliticamente mais rapidamente que polímeros aromáticos (PELLICANO, 2008).

Uma importante propriedade dos materiais poliméricos que deve ser considerada no estudo da sua degradação é o grau de cristalinidade. Em geral, polímeros com altos teores de cristais são degradados mais lentamente do que polímeros com regiões amorfas (FERREIRA, 2004; OJEDA, 2008). Estudos mostram que regiões amorfas degradam mais rapidamente em relação às regiões cristalinas, ou seja, os microrganismos degradam de maneira seletiva. Sendo a região amorfa menos ordenada e com menor empacotamento das cadeias, ela está mais susceptível ao ataque de enzimas e microrganismos. De uma maneira geral, quanto mais cristalino for o polímero menor será a sua taxa de degradação (PELLICANO, 2008).

A biodegradação pode ser avaliada por diferentes técnicas dentre as quais pode-se citar a compostagem que, de acordo com Guidoni et al. (2013), é “a decomposição e estabilização biológica de substratos orgânicos, sob condições termofílicas e aeróbias controladas”, sendo uma de suas principais características a diversidade microbiana, a qual favorece o processo de biodegradação. A compostagem é um processo biológico que pode ser afetado por diversos fatores, os quais influenciam na atividade microbiológica, como: teor de umidade, temperatura, aeração, concentração de nutrientes, tamanho de partículas e pH (BRANDALISE, 2008).

Corrêa et al. (2008) avaliaram a biodegradação do PHB em compostagem. O solo simulado consistia em lodo argiloso, areia, matéria orgânica (esterco de vaca) e água, sendo

este mantido a temperatura constante e protegido da luz. As amostras foram enterradas no solo simulado e avaliados a cada 30 dias por um período de 5 meses. Depois de serem retiradas do solo simulado, cada amostra foi lavada e depois seca. Observou-se uma considerável diminuição de peso com o tempo, indicando que as amostras sofreram biodegradação.

Outro método capaz de avaliar a biodegradação é o método de *Sturm* ou respirometria que baseia-se na quantificação do CO₂ produzido durante a degradação. O CO₂ capturado por uma solução aquosa alcalina (geralmente hidróxido de sódio - NaOH, hidróxido de bário - Ba(OH)₂ ou hidróxido de potássio - KOH). O sistema deve ser vedado, com finalidade de não sofrer interferência do CO₂ oriundo do ar atmosférico. Um sal é utilizado para sessar a reação, formando um precipitado branco saturado. A solução aquosa alcalina remanescente, a qual não reagiu com o CO₂ produzido no processo de degradação é então, titulada utilizando-se um ácido e fenolftaleína como indicador. Quanto maior a quantidade de CO₂ gerado no processo, maior a potencialidade de biodegradação do polímero (ROSA et al., 2002; MARIANI, 2005).

Souza et al. (2014) avaliaram a influência de argilas organofílicas no processo de biodegradação do PLA. Os nanocompósitos foram preparados com a incorporação de 5% das argilas Cloisite 20A e 5% Cloisite 30B ao PLA. Foi verificado no ensaio de biodegradação através do método de *Sturm* que a incorporação da argila organofílica Cloisite 20A na matriz do PLA não alterou significativamente a curva de mineralização do polímero puro. Para o nanocompósito PLA/CLO30B, foi verificado que a biodegradação ocorreu de forma mais lenta, quando comparada aos outros materiais, o que pode estar relacionado a um efeito antimicrobiano da argila Cloisite 30B.

Moraes (2004) avaliou a degradação PHB 100%, PHB + 1% Ecoflex[®], PHB + 5% Ecoflex[®], PHB + 10% Ecoflex[®], PHB + 30% Ecoflex[®], PHB + 50% Ecoflex[®], através do método de *Sturm*. Os resultados da evolução da liberação de CO₂ produzido pelas amostras analisadas mostram que a presença de Ecoflex[®] favoreceu a biodegradação para as composições com 1, 5 e 10%, superando inclusive a biodegradação apresentada pela celulose usada como controle positivo. A maior liberação de CO₂ ocorreu para a blenda polimérica com 5% de Ecoflex[®] que liberou aproximadamente 40 g de CO₂ durante o período avaliado.

Ainda, é possível avaliar a biodegradação através da disposição em solo que simula um ambiente real de descarte de resíduos sólidos. No solo estão presentes diferentes microrganismos com diferentes sistemas enzimáticos, o que o torna propício para estudos de biodegradação. O solo deve fornecer condições adequadas para que ocorra o processo de

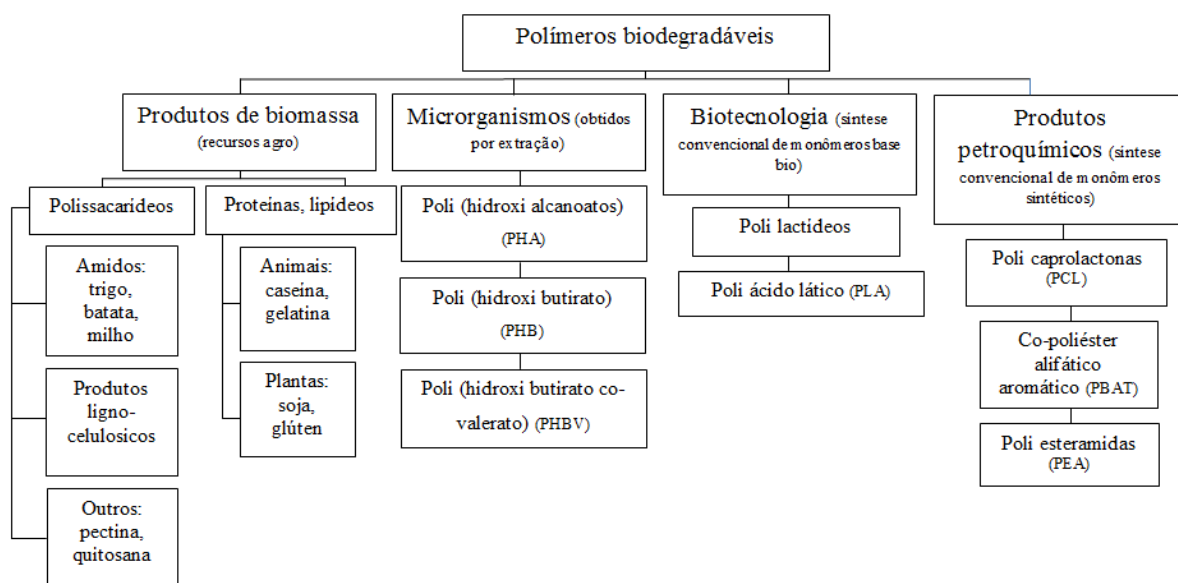
biodegradação, com temperatura ideal em torno de 25 a 30 °C e a umidade corrigida a 60% da capacidade máxima de retenção de água (MARIANI, 2005).

Casarin et al. (2013) estudaram a degradação, em solo simulado, de blendas do polímero biodegradável PHB com os copoliésteres também biodegradáveis EastarBio® e Ecoflex®, na composição de 75% de PHB e 25% dos copoliésteres. Os autores avaliaram também a influência da adição de pó de serra ou farinha de madeira, na proporção de 70% da blenda e 30% de pó de serra. O solo utilizado foi um fertilizante orgânico composto. A biodegradação foi avaliada para amostras após 30, 60 e 90 dias em contato com solo. Os materiais estudados biodegradaram nas condições testadas. A blenda PHB/EastarBio® (75/25) + 30% pó de serra apresentou maior redução de massa, 29% após 90 dias.

Pellicano, Pachekoski e Agnelli (2009) analisaram a influência da adição de amido de mandioca na biodegradação da blenda polimérica PHBv/Ecoflex® (49/21/30) em solo (composto orgânico humificado à base de esterco de aves e materiais orgânicos de origem vegetal). Após 120 dias de experimento, os autores observaram pontos ou regiões de pigmentação marrom-escura e aspecto rugoso decorrentes do processo de biodegradação. Ainda, verificaram que a adição do amido de mandioca favorece a biodegradação quando comparada à da blenda de PHBv/Ecoflex® (70/30).

Com o intuito de minimizar problemas ambientais e atender às exigências do mercado, muito se têm investido nessa nova classe de polímeros, que são divididos em diferentes categorias de acordo com sua fonte de obtenção, conforme mostra a Figura 1.

Figura 1 - Classificação dos polímeros biodegradáveis de acordo com a fonte de obtenção



Fonte: Adaptado Averous e Boquillon, 2004.

De acordo com a Figura 1, têm-se quatro grupos de polímeros biodegradáveis, sendo eles os polímeros oriundos de biomassa, tais como os polímeros obtidos a partir de recursos agrícolas (amido e celulose); os polímeros oriundos do metabolismo microbiano (poli (hidroxi alcanatois) - PHAs); polímeros sintetizados convencionalmente a partir de monômeros oriundos de recursos agrícolas (poli (ácido láctico) - PLA) e os polímeros biodegradáveis obtidos a partir de fontes não renováveis, como é o caso dos co-poliéster alifático aromático (poli (butileno adipato co-tereftalato) - PBAT).

Dentre os polímeros biodegradáveis se destacam o PLA, Poli (hidroxi butirato) (PHB), Poli (hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (PHBv), Poli (caprolactona) (PCL) e os co-poliésteres alifáticos aromáticos, como o PBAT, sendo que alguns destes polímeros apresentam excelentes aplicações no setor de embalagens e filmes, devido a sua alta resistência à umidade, gordura, mudança de temperatura e propriedade de barreira a gases. Eles também são aplicados na medicina, para o desenvolvimento de próteses, implantes e liberação controlada de drogas (PELLICANO; PACHEKOSKI e AGNELLI, 2009).

Ainda, dentre as muitas possibilidades de aplicações, pode-se também citar o emprego em fibras (ALMASI et al., 2015; ORUE et al., 2015), encapsulação de compostos (MARTINS et al., 2014) suportes (SIVLIM et al., 2012; MORI et al., 2015) e blendas poliméricas (MOFOKENG e LUYT, 2015; NERKAR et al., 2015). Alguns polímeros biodegradáveis já são produzidos em escala industrial por empresas de diferentes partes do mundo, destacando-se as empresas japonesas *Mitsui Chemicals* e *Shimadzu*, a alemã *Basf* e a americana *Cargill Dow* (BRITO et al., 2011; XIAO et al., 2012).

O crescimento desse mercado é confirmado com o aumento dos números apresentados no setor. Na Europa, a produção em 2013 de polímeros biodegradáveis foi de 1,6 milhões de toneladas, com uma projeção de produção para 2018 de 6,7 milhões de toneladas (AZEVEDO, et al., 2016). O Brasil pode se tornar um grande produtor e exportador de polímeros biodegradáveis de fontes renováveis, pois dispõe de matéria-prima renovável de baixo custo, além de possuir inúmeros grupos de pesquisa capazes de fornecer mão-de-obra qualificada para tal finalidade (PELLICANO, PACHEKOSKI e AGNELLI, 2009).

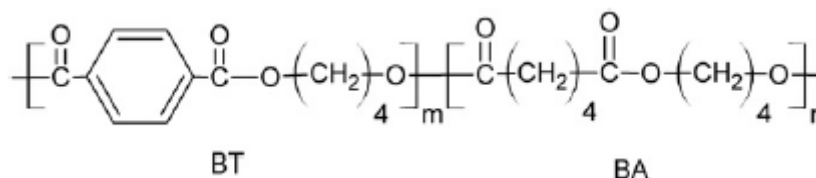
De acordo com Siegenthaler et al. (2012) a biodegradação não é dependente da origem ou da matéria-prima do polímero, mas é função da sua estrutura química, fato este que possibilita, por exemplo, a biodegradação de polímeros oriundos do petróleo, como é o caso dos co-poliésteres alifáticos aromáticos. O campo dos polímeros biodegradáveis ainda é emergente, porém, um grande número destes tem sido sintetizado e a aplicabilidade deles vem

crecendo nos mais diversos segmentos. Dentre os polímeros que vêm ganhando destaque no setor de embalagens biodegradáveis tem-se o Ecoflex[®].

3.2.1 Ecoflex[®]

Em 1998 a empresa alemã BASF lançou no mercado um co-poliéster alifático aromático, poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT), cujo nome comercial é Ecoflex[®], material este pioneiro no setor de polímeros biodegradáveis com compostabilidade certificada, sendo matéria-prima para diversos materiais compostáveis e de “base bio” (KIJCHAVENGKUL et al., 2010; BASF, 2016). A Figura 2 representa a estrutura química dos meros que compõem o Ecoflex[®], sendo “m” e “n” extensores de cadeia, também chamados de componentes modulares.

Figura 2 - Estrutura química das unidades repetitivas do polímero Ecoflex[®]



Fonte: Kijchavengkul et al., 2010.

O Ecoflex[®] é constituído por dois tipos de dímeros, sendo BT a seção rígida formada por uma unidade de repetição de éster que consiste em 1,4 butanodiol e os monômeros de ácido tereftálico; enquanto a seção flexível BA, consiste em 1,4 butanodiol e monômeros de ácido adípico (KIJCHAVENGKUL et al., 2010). Possui propriedades semelhantes ao PEBD devido a sua alta massa molecular (aproximadamente $14,2 \times 10^4 \text{ g.mol}^{-1}$) e da sua estrutura química de cadeia longa ramificada. Possui características como elasticidade, resistência à água e à ruptura, processável em plantas de filme soprado convencionais como o Polietileno (PE), imprimíveis, soldáveis e adequados para contato com alimentos (WENG et al., 2013; BASF, 2016).

Foi o primeiro material totalmente biodegradável produzido pela BASF. Para comprovar a eficiência, o PBAT possui certificações europeias (EN13432) e norte-americanas (ASTM 6400) que atestam a sua biodegradabilidade e compostabilidade (GAMA, 2014). Degrada-se em poucas semanas com a ajuda de enzimas naturais. Não tem efeitos adversos no ambiente e tem excelentes propriedades físicas que podem ser misturadas com outras resinas biodegradáveis para conferir alta flexibilidade (IBRAHIM et al., 2011).

O PBAT apresenta boa compatibilidade com amido, celulose, lignina, PLA, PHB, o que possibilita misturas que são completamente biodegradáveis e, contêm alta proporção de recursos renováveis (AZEVEDO, et al., 2016). A literatura reporta alguns trabalhos utilizando-se o PBAT, os principais referem-se ao uso deste polímero na preparação de blendas como os desenvolvidos por Pellicano, Pachekoski e Agnelli (2009) que adicionaram amido de mandioca na blenda polimérica PHBv/PBAT, Casarin (2004) que estudou a adição de pós de madeira em blendas de PHB/PBAT, Pinheiro (2012) adicionou fibra natural de munguba nativa da Amazônia ao PBAT.

As aplicações típicas do Ecoflex[®] são para filmes de embalagem, filmes agrícolas e sacos de adubo. A alta resistência à umidade, à gordura e à mudança de temperatura confere a este polímero qualidade satisfatória para aplicações em embalagens de alimentos, tais como carnes, frutas, verduras, comida rápida, inclusive em itens congelados e revestimento de copos descartáveis - sem perda do sabor, aroma e frescor, sendo desenvolvido especialmente para aplicações em filmes flexíveis (PELLICANO, 2008, BASF, 2016). Na Tabela 1, encontram-se algumas propriedades do Ecoflex[®] como densidade, ponto de fusão, resistência à tração, transparência e ponto de amolecimento.

Tabela 1 - Propriedades do Ecoflex[®]

Propriedades	Valor	Método de teste
Densidade (g.cm ⁻³)	1,25 - 1,27	ISO 1183
Ponto de fusão (°C)	110 - 120	DSC
Transparência (%)	82	ASTM 1003
Resistência à tração (MPa)	35 - 44	ISO 527
Ponto de amolecimento Vicat (°C)	91	ISO 306

Fonte: BASF, 2016.

De acordo com a BASF (2016), testes cientificamente reconhecidos (teste de crescimento de plantas e testes toxicológicos) demonstraram na prática que o Ecoflex[®] não tem consequências negativas para a natureza ou para o ambiente. Além disso, é um dos poucos polímeros compostáveis que cumprem os requisitos do Regulamento Europeu (UE) nº 10/2011 de 14 de Janeiro de 2011, relativo aos materiais e objetos plásticos destinados a entrar em contato com os alimentos.

Witt et al. (2001) avaliaram a biodegradabilidade e o impacto ecotoxicológico dos intermediários de degradação de co-poliéster alifático aromático Ecoflex[®]. A biodegradação foi avaliada num meio sintético a 55 °C por 22 dias, com a bactéria termófila

Themomonospora fusca. Os resultados indicaram uma despolimerização de 99,9%. Os testes toxicológicos com *Daphnia magna* (pulgas aquáticas – crustáceos) e com *Photobacterium phosphoreum* (bactérias luminescentes) mostraram que não existem efeitos tóxicos significativos. Portanto os autores concluíram que não há indícios de riscos ambientais quando Ecoflex[®] é submetido a processos de compostagem.

Tan et al. (2008) investigaram a degradação biológica aeróbica do Ecoflex[®] quando submetido a 29 espécies de bactérias, fungos e leveduras presentes no solo e produtores de enzimas, em condições ambientais. De acordo com os resultados, o Ecoflex[®] pode ser degradado por diversos tipos de microrganismos. No entanto, após 21 dias de teste somente uma degradação parcial do material foi observada visualmente e mecanicamente pelo enfraquecimento das amostras, sendo que a perda de massa não foi tão significativa quanto os aspectos visuais. De acordo com os autores, as bactérias degradam preferencialmente as ligações éster entre os componentes alifáticos do copolímero e a taxa de biodegradação dos oligômeros foi maior do que as das cadeias poliméricas. Na temperatura ambiente, a biodegradação ocorre mais lentamente, quando comparado a sistemas compostos (ambiente adequado de solo/água e temperaturas elevadas que favoreçam a ação dos microrganismos).

3.3 Aditivção de polímeros e a propriedade antimicrobiana

Conhecer a estrutura e as propriedades químicas e físicas de um polímero é essencial para definir a utilização em alguma aplicação tecnológica. Contudo, as propriedades dos polímeros podem ser melhoradas por transformações químicas ou adição de compostos específicos que conferem novas propriedades ao material polimérico produzido (PORTO, 2007).

Os aditivos são componentes adicionados aos materiais poliméricos que permitem melhorar ou aperfeiçoar diversas propriedades de acordo com a aplicação desejada. Ainda, estes podem ser aplicados tendo em vista, redução de custo e facilitar o processamento (BRASKEM, 2002; BECARO, 2014). Os principais aditivos utilizados atualmente são como agentes antioxidantes, antifúngicos, antibacterianos, fotocatalíticos e outros (RHIM, PARK e HÁ, 2013).

Agentes antimicrobianos são exemplos de aditivos que vem ganhando notoriedade, sendo de interesse na área científica e tecnológica, pois atuam na preservação possibilitando aumentar a vida útil do produto. Grandes perdas em alimentos são causadas devido à deterioração microbiana, e diversas ações podem ser tomadas a fim de diminuir a

multiplicação destes agentes nos alimentos, dentre as quais pode se destacar o uso de embalagens adequadas a sua conservação.

A indústria de embalagens, para o setor alimentício, constitui-se como um importante setor para a economia mundial. O segmento de alimentos é um dos setores que mais exige investimentos em tecnologias inovadoras de embalagens, na maioria das situações com o objetivo de aumentar a vida útil dos alimentos acondicionados. O grande foco das inovações neste segmento tem-se voltado para as embalagens ativas. Estas embalagens têm a capacidade de alterar significativamente as condições dos produtos e dos meios de acondicionamento, no sentido de aumentar a vida útil, a segurança e a qualidade ou melhorar as características sensoriais dos alimentos (MEDEIROS et al., 2011).

As embalagens antimicrobianas agem contra o crescimento e proliferação dos microrganismos patogênicos, estendendo a vida de prateleira dos alimentos e o período de latência dos microrganismos (OTHMAN et al., 2014; PIRES, PETZHOLD e SANTOS, 2014). A propriedade antimicrobiana pode ser agregada pela adição de *saches* contendo agentes antimicrobianos voláteis ou pela incorporação de compostos ativos com propriedades antimicrobianas diretamente na matéria-prima das embalagens poliméricas (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; SOARES et al., 2009).

Alguns íons metálicos como os íons de cobre (Cu), ouro (Au) e a prata (Ag) tem sido investigados quanto a sua atividade antimicrobiana (SILVA, 2015). Óxidos metálicos, com destaque para o óxido de zinco (ZnO), óxido de cobre (CuO), dióxido de titânio (TiO₂), óxido de magnésio (MgO) e o óxido de cálcio (CaO), têm sido foco de pesquisas por serem seguros para humanos, animais e meio ambiente em baixas concentrações e também em função da sua capacidade de resistir a rigorosas condições de processamento (SAWAI, 2003; RAI, YADAV e GADE, 2009; NAFCHI et al., 2012).

A utilização de cobre como agente antimicrobiano remete há muitos anos atrás, sendo que as antigas civilizações já se beneficiavam deste metal para evitar a proliferação de microrganismos. Atualmente, a inativação microbiana com o cobre abrange um amplo espectro, incluindo superfícies recobertas, nanopartículas e liberação de íons do referido metal, haja vista, que este apresenta atividade antimicrobiana comprovada frente a muitas bactérias causadoras de infecções, bem como diferentes tipos de vírus e fungos, sendo que o cobre tem sido utilizado durante décadas como um fungicida eficaz (CIOFFI et al., 2005; KLEIN et al., 2013; PALZA, QUIJADA e DELGADO, 2015).

A eficácia deste metal como agente antimicrobiano tem impulsionado estudos para diferentes aplicações, dentre as quais podem ser citadas a purificação de água (DANKOVICH e SMITH, 2014) e ainda, desenvolvimento de novos materiais antimicrobianos tais como cerâmicas (KLEIN et al., 2013), tecidos (EL-NAHHAL et al., 2014; SEDIGHI, MONTAZER e HEMMATINEJAD, 2014), polímeros (WEICKMANN et al., 2005; PALZA, QUIJADA e DELGADO, 2015; ZHONG et al., 2015) e vidros (YATES et al., 2008).

O CuO vem sendo protagonista de diversos estudos nos mais variados campos de aplicações, destacando-se na área de sensores de gás (ZOOLOFAKAR et al., 2013; CRETU et al., 2016), catálise (ZHAI et al., 2013), supercondutores (ISHII et al., 2014; PENG et al., 2013) e, principalmente, atividade antimicrobiana de partículas em escala nano (AHAMED et al., 2014; AZAM et al., 2012; BOGDANOVIĆ et al., 2014).

Swarnkar et al. (2016) avaliaram a atividade antimicrobiana de nanofios de CuO frente à estirpes gram-positivas (*Bacillus subtilis* e *S.aureus*) e gram-negativas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhi*). Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram de $16,0 \pm 0,6$, $19,0 \pm 0,6$, $23,0 \pm 0,9$, $25,0 \pm 1,0$ e $28,0 \pm 1,0$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* e *B. subtilis*, respectivamente. A partir dos valores de CIM verificou-se uma atividade antimicrobiana mais intensa contra estirpes bacterianas gram-positivas, muito provavelmente em função da parede celular desse tipo de bactéria.

O Au é um metal precioso e vem desempenhando um papel importante na história humana, sendo um material inerte, resistente à oxidação, o que faz com que seu uso seja interessante em tecnologias e dispositivos em nanoescala, possuindo uma variedade de aplicações, dentre as quais a atividade antimicrobiana e o bloqueio de radiação ultravioleta (UV) (BINDHU e UMADEV, 2014; GANESAN e PRABU, 2015).

O ouro na forma de nanopartículas (NPs-Au) e na forma iônica tem sido estudado quanto sua atividade antimicrobiana. A utilização de NPs-Au dá-se principalmente devido às suas propriedades físicas e químicas específicas como relação superfície/volume, função dielétrica, condutividade e propriedade inerte à oxidação. A principal vantagem das NPs-Au é que são facilmente sintetizadas e têm uma baixa toxicidade em comparação com outros nanomateriais (ZHANG et al., 2015; SHAMAILA et al., 2016).

Ahmad et al. (2013) sintetizaram NPs-Au pelo método solvotérmico e testaram sua atividade antifúngica contra *Candida albicans* (*C. albicans*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) e *Candida glabrata* (*C. glabrata*). As NPs-Au exibiram excelente atividade antifúngica, sendo que as NPs-Au com tamanho de partícula de 7 nm foram mais eficazes no

tratamento de *Candida* sp. quando comparadas às NPs-Au com 15 nm e ao fluconazol (controle positivo).

Shamaila et al. (2016) avaliaram a atividade antimicrobiana de NPs-Au contra *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), verificando que concentrações abaixo de $9 \mu\text{g.mL}^{-1}$ são suficientes para causar a morte das bactérias em estudo. Através do teste do halo de inibição, constataram que os maiores halos foram para *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente.

A Ag é um elemento metálico branco e brilhante, na sua forma pura é dúctil e maleável e tem boa condutividade térmica e elétrica. Desde a antiguidade, os íons de prata (Ag^{2+}) têm sido reconhecidos como eficazes agentes antimicrobianos. Sua atividade antimicrobiana deve-se a ação dos Ag^{2+} que rompem a membrana celular em baixas concentrações promovendo o efeito bacteriostático, ou seja, inibem o crescimento de bactérias (FEITOR, 2010).

A atividade antimicrobiana de NPs-Ag é bem reportada na literatura (KIM et al., 2007; ANTUNES et al., 2013; MAITI et al., 2014), podendo ser utilizadas para reduzir infecções, prevenir a colonização bacteriana em superfícies de prótese, em cateteres e materiais odontológicos, bem como na indústria de alimentos, no tratamento de água e na fabricação de tintas antibacterianas (GUZMÁN, DILLE e GODET, 2008).

O TiO_2 é empregado em uma infinidade de aplicações, dentre as quais como material de auto-limpeza e auto-desinfecção em revestimentos de superfície, cosméticos, produtos farmacêuticos, processamento do papel, entre outros (PIŞKIN, PALANTÖKEN e YILMAZ, 2013). Devido à elevada atividade fotocatalítica deste material, explora-se sua atividade antimicrobiana para aplicações na indústria de alimentos. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA) o TiO_2 é não tóxico para uso em alimentos, para humanos, drogas, cosméticos e materiais de contato com alimentos (OTHMAN et al., 2014).

Pişkin, Palantöken e Yılmaz (2013) estudaram a atividade antimicrobiana de NPs- TiO_2 contra uma variedade de bactérias através dos testes de difusão e CIM. Os valores do halo de inibição para *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *B. subtilis* foram de 31, 29, 15, 2 e 15 mm, respectivamente. E o valor de CIM foi de 9,7, 19,5, 19,0, 9,7 e 19,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Os resultados mostraram que as NPs- TiO_2 possuem atividade antimicrobiana eficaz contra as estirpes bacterianas estudadas.

Othman et al. (2014) desenvolveram um filme revestido com NPs- TiO_2 e estudaram sua aplicação como embalagem antimicrobiana de alimentos. A atividade antimicrobiana das

películas revestidas com NPs-TiO₂ expostas sob luz UV e luz fluorescente aumentou com o aumento da concentração de TiO₂ e o tempo de exposição à luz. Verificou-se também que a atividade antimicrobiana das películas expostas à luz UV foi maior do que aquela sob luz fluorescente. O filme desenvolvido tem potencial para ser usado como embalagem antimicrobiana e pode prolongar a vida de prateleira, manter a qualidade e garantir a segurança dos alimentos.

O MgO é utilizado em muitas aplicações tais como catálise, suportes de catalisadores, remediação de resíduos tóxicos, aditivos em óleos combustíveis pesados, filmes finos supercondutores, na medicina, também é utilizado como agente antimicrobiano na forma de nanopartículas (OURAIPRYVAN, SREETHAWONG e CHAVADEJ, 2009; BERTINETTI et al., 2009; MARTÍNEZ-BOUBETA et al., 2010; MIRZAEI e DAVOODNIA, 2012; LEUNG et al., 2014). As NPs-CaO também são estudadas quanto sua atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli* (SAWAI, 2003) e *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) (TANG et al., 2013).

Compostos de zinco têm se mostrado eficientes agentes antimicrobianos e, ainda despertam interesse devido a algumas propriedades multifuncionais, como fotocatalítico, atóxico e baixo custo, sendo o ZnO classificado em um grupo de agentes antimicrobianos inorgânicos altamente seguros e extremamente estáveis termicamente quando comparados aos agentes antimicrobianos orgânicos, o que torna interessante seu emprego tanto em formulações na microescala quanto em nanoescala (DAGOSTIN et al., 2010; MOEZZI, McDONAGH e CORTIE, 2012; DOUMBIA et al., 2015).

O zinco é um oligoelemento vital e benéfico encontrado no corpo humano. Embora esteja presente em pequenas quantidades, este realiza uma variedade de funções em relação ao sistema imune, a divisão celular, fertilidade, manutenção e crescimento corporal. Sendo ainda, um elemento necessário para a formação, mineralização, desenvolvimento e manutenção de ossos saudáveis, tendo efeito positivo sobre a produção de testosterona, hormônios da tireoide, insulina e produção de vitamina D (MOEZZI, McDONAGH e CORTIE, 2012; BALASUBRAMANIAN et al., 2015).

Esse composto é amplamente empregado nos mais diversos segmentos e, vem ganhando notoriedade devido principalmente sua propriedade antimicrobiana, sendo empregado nos setores têxtil (EL-NAGGAR et al., 2003; VIGNESHWARAN et al., 2006; DOUMBIA et al., 2015), de embalagens (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; SUNG et al., 2013) e dispositivos médicos (LI et al., 2009(a); PREMANATHAN et al., 2011; MIRZA et

al., 2015). Na forma de nanopartículas ou microcápsulas, sua propriedade antimicrobiana é ainda mais evidenciada.

Em virtude da sua propriedade antimicrobiana, o ZnO é um ingrediente ativo para aplicações dermatológicas em cremes, loções e pomadas. Ainda, nanopartículas de ZnO são usados em papéis de parede em hospitais como agentes antimicrobianos (RAVISHANKAR; JAMUNA, 2011).

Aditivos com tamanho na ordem nanométrica tem atraído grande atenção, principalmente quando inseridos em materiais poliméricos, devido a proporcionarem a melhoria de algumas propriedades térmicas e mecânicas destes materiais.

3.3.1 Nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO)

O advento da nanotecnologia, que envolve a fabricação e a utilização de materiais com tamanho de cerca de 100 nm, trouxe grandes oportunidades para o desenvolvimento de materiais com novas propriedades para utilização como agentes antimicrobianos. Assim, o interesse em compostos inorgânicos em tamanho “nano” tem aumentado progressivamente ao longo dos últimos anos (SURENDRA et al., 2016; YALCINKAYA e LUBASOVA, 2017).

Nano, do grego “anão”, refere-se à um prefixo utilizado para designar um bilionésimo; desta forma, um nanômetro (nm) corresponde à bilionésima parte de um metro (10^{-9} m). O principal interesse em nanopartículas consiste no fato de que as propriedades físicas e químicas deste grupo de materiais dependem fortemente da forma e tamanho da partícula, podendo ter suas funções otimizadas com base nestas características (GOUVEIA et al., 2005).

Um dos materiais que têm provado ser eficaz contra as bactérias em geral é o ZnO. Esta substância é atualmente considerada um material seguro, aprovado pela FDA. Além disso, a ascensão e fabricação de NPs-ZnO abrem um leque de possibilidades para que as mesmas possam ser incorporadas dentro diferentes matrizes, incluindo os polímeros biodegradáveis (MIRZA et al., 2015).

As NPs-ZnO possuem características importantes, como estabilidade química e física, elevada atividade de catálise, eficaz atividade antibacteriana, bem como intensa adsorção de energia tanto no UV quanto no infravermelho com ampla gama de aplicações como semicondutores, sensores, células solares, etc, (GHULE et al., 2006; MATEI et al., 2008).

Ainda, esses materiais são amplamente utilizados em muitos produtos de consumo, como cosméticos, produtos têxteis, cerâmicas, transformação de borracha, tratamento de efluentes e loções para a pele. Em cosméticos seu uso é preconizado devido à capacidade

deste composto absorver tanto raios UV-A quanto raios UV-B. Em tecidos, são utilizadas devido à propriedade antimicrobiana e absorvedor de raios ultravioleta (KUMARI et al., 2011).

Na indústria alimentícia são amplamente utilizadas em embalagens, cuja função é conferir proteção antimicrobiana aos alimentos, uma vez que a presença destas nanopartículas na matriz polimérica permite que a embalagem interaja com o alimento, tendo um papel dinâmico na sua preservação. Além disso, as NPs-ZnO permitem que algumas propriedades de empacotamento tais como resistência mecânica, estabilidade e propriedades de barreira sejam melhoradas (ESPITIA et al., 2012).

As NPs-ZnO têm sido testadas frente a uma gama de bactérias, tais como *S. typhimurium* e *S. aureus* (AKBAR e ANAL, 2014), *E. coli* e *S. aureus* (EMAMI-KARVANI e CHEHRAZI, 2011), *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enteritidis* (JIN et al., 2009), *P. aeruginosa* (PREMANATHAN et al., 2011), *Bacillus atrophaeus* (TAM et al., 2008), *Enterococcus faecalis* (VOICU et al., 2013) e fungos como *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* (HE et al., 2011), *C. albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* e *Rhizopus stolonifer* (SAWAI e YOSHIKAWA, 2004), sendo efetivas mesmo em baixas concentrações para quase todas as estirpes bacterianas.

Quando incorporadas em diferentes matrizes, as NPs-ZnO mantém sua atividade antimicrobiana, conforme citado por Anitha et al. (2013), que estudaram a adição de NPs-ZnO em fibras de acetato de celulose. A atividade antimicrobiana das fibras de acetato de celulose puras e carregadas de NPs-ZnO foram testadas frente a *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Citrobacter freundii* (*C. freundii*). A zona de inibição microbiana das fibras de acetato de celulose carregadas de NPs-ZnO após 24 h foram de 27, 22 e 14 mm para *S. aureus*, *C. freundii* e *E. coli*, respectivamente. No entanto, nenhuma atividade antibacteriana foi mostrada contra *K. pneumoniae*. As fibras de acetato de celulose puras não apresentaram atividade antimicrobiana frente a nenhuma das bactérias em estudo.

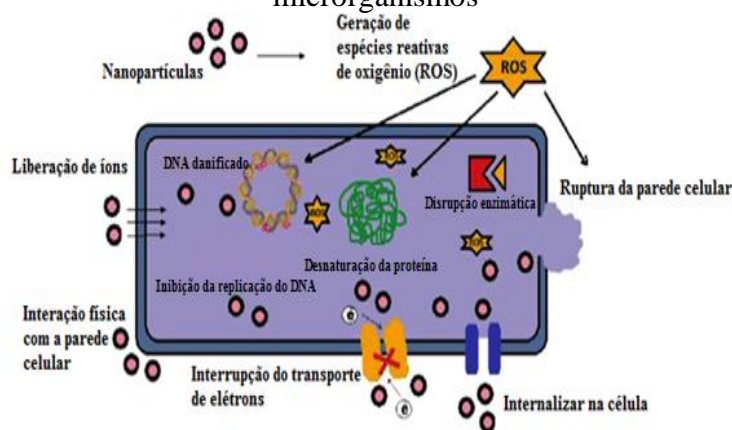
Bhadra et al. (2011) encapsularam nanobastões de ZnO com quitosana e testaram sua atividade antimicrobiana frente a *E. coli*. Os autores observaram que os nanobastões de ZnO com quitosana apresentaram halo de inibição superior a quitosana, NPs-ZnO puras e a amoxicilina. Ghule et al. (2006) prepararam e caracterizam NPs-ZnO que foram usadas como revestimento em superfície de papel e testaram sua atividade antimicrobiana contra *E. coli*, obtendo resultados satisfatórias contra o microrganismo em estudo.

Droval et al. (2008) estudaram a atividade antimicrobiana de NPs-ZnO contra *E. coli*, *S. aureus* e *A. niger*, quando misturado com Poliamida 6 (PA6) e Polietileno de baixa densidade (PEBD), com teores de carga de 0,5, 1, 3 e 5% (m/m). Quando avaliada a atividade antimicrobiana de 5% (m/m) de NPs-ZnO em PEBD verificou-se que a quantidade de bactérias, que era de $1,5 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ no tempo zero, diminuiu, para $3,4 \times 10^3$ e 8×10^3 UFC.mL⁻¹ após 48 h para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Para 5% (m/m) de NPs-ZnO em PA6 a redução foi ainda maior, restando ao final de 48 h apenas 500 e 15 UFC.mL⁻¹ para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Os resultados ainda mostraram, que quando dispersas no PA6 as NPs-ZnO apresentam resultados semelhantes ao observado para as NPs-ZnO puras.

Li et al. (2009b) inseriram NPs-ZnO em Poliuretano (PU) e constataram uma melhora significativa na resistência à tração e módulo de Young, características estas conseguidas pela incorporação de até 2% em massa do aditivo e, que a resistência à abrasão das camadas de PU aumentou expressivamente devido à adição de NPs-ZnO. Além disso, testou-se a propriedade antibacteriana através do método de diluição em ágar e o resultado indicou que os filmes de PU aditivados com NPs-ZnO mostraram excelente atividade antibacteriana, especialmente para *E. coli*.

Diversos mecanismos de ação têm sido propostos para explicar a atividade antimicrobiana de nanopartículas de óxidos metálicos, dentre os quais pode se citar a liberação de íons, a geração de espécies reativas de oxigênio, a interação física das mesmas com a parede celular dos microrganismos, a interrupção do transporte de elétrons e a internalização das mesmas para dentro das células microbianas conforme é apresentado na Figura 3.

Figura 3 - Mecanismo de ação de nanopartículas de óxidos metálicos em microrganismos



Fonte: Adaptado Dizaj et al., 2014.

De acordo com Dizaj et al. (2014), a geração de espécies reativas de oxigênio pode causar danos no DNA, desnaturação da proteína, disrupção enzimática e ruptura da parede celular microbiana. Outro possível mecanismo para explicar a atividade antimicrobiana é a liberação de Zn^{2+} , que podem causar dano celular à membrana dos microrganismos e ainda, interagir com o conteúdo intracelular (BRAYNER et al., 2006).

Segundo Yamamoto (2001), a geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a partir da superfície, é considerada como um meio eficaz para a inibição de crescimento bacteriano. Devido sua propriedade fotocatalítica, quando irradiadas no comprimento de onda adequado, esses materiais criam pares elétrons/buraco, que podem oxidar componentes orgânicos e a água, produzindo H_2O_2 e radicais, tais como hidroxila (OH^{\cdot}) ou superóxido ($O_2^{\cdot-}$). Tais radicais conferem a propriedade antimicrobiana, uma vez que rompem a parede das células patógenas (TAM et al., 2008; GITTARD et al., 2009).

Recentemente, tem crescido o interesse em questões de segurança relativas à utilização de nanopartículas em embalagens para alimentos. Estudos têm se concentrado na possibilidade de migração das nanopartículas da embalagem para o alimento e se essa migração teria um impacto negativo sobre a segurança ou a qualidade do produto embalado (BRADLEY et al., 2011). De acordo com a Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999 da ANVISA, que dispõe sobre corantes em embalagens e equipamentos plásticos destinados a estar em contato com alimentos o limite de migração específico para o zinco é de 25 ppm (BRASIL, 1999).

Frente a isso, faz-se necessário investigar o comportamento e os efeitos das nanopartículas e, ainda como esses materiais são liberados no meio ambiente. Alguns organismos podem ser utilizados como bioindicadores a fim investigar a toxicidade das NPs-ZnO, como raízes de *Allium cepa* (Ghodake, Seo e Lee, 2011; Kumari et al., 2011), a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Franklin et al., 2007), crustáceos *Daphnia magna* e *Thamnocephalus platyurus* e a bactéria *Vibrio fischeri* (Heinlaan et al., 2008) e ratos (Wang et al., 2006).

A toxicidade das NPs-ZnO e de outras nanopartículas de óxidos metálicos é verificada quando em elevadas concentrações, porém em baixas concentrações as mesmas não são tóxicas para as células humanas (JESLINE et al., 2015).

Ghodake, Seo e Lee (2011) investigaram a fitotoxicidade NPs-ZnO utilizando as raízes de *Allium cepa* como um organismo indicador. Diferentes concentrações de NPs-ZnO foram utilizadas (5, 10, e 20 $\mu g.mL^{-1}$). O alongamento das raízes *A. cepa* foi fortemente

influenciado pelas NPs-ZnO, houve adsorção significativa de NPs-ZnO para o sistema de raízes; as NPs-ZnO foram capazes de afetar os processos de desenvolvimento, crescimento e divisão celular da planta experimental. As NPs-ZnO bloquearam as fases de crescimento, devido à sua acumulação e mostraram efeitos perigosos nos níveis celular e cromossômico.

Em estudo semelhante, Kumari et al. (2011) avaliaram os efeitos citogenéticos e genotóxicos de NPs-ZnO em células da raiz de *Allium cepa*. As raízes foram tratadas com quatro concentrações diferentes (25, 50, 75, e 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) de NPs-ZnO. Os autores também concluíram que as NPs-ZnO podem ser agentes clastogênico/genotóxico e citotóxico.

3.3.2 Microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico (MCs-Zn)

A microencapsulação pode ser definida como uma técnica de embalagem de sólidos, líquidos ou gases com revestimentos finos, formando partículas chamadas de microcápsulas (GHARSALLAOUI et al., 2007). Possui como finalidades a liberação controlada de algumas substâncias com possibilidade de atuação em locais específicos, por um determinado período de tempo e a uma velocidade específica e o isolamento e proteção, do microencapsulado/hóspede, contra fatores ambientais, como a luz, temperatura, ar e umidade (RISCH e REINECCIUS, 1995; SUAVE et al., 2006; TIWARI et al., 2008; CHATTERJEE e BHATTACHARJEE, 2013).

Esta técnica permite a obtenção de partículas com propriedades funcionais, constituídas basicamente por um material de suporte, chamado de agente encapsulante e um composto bioativo (hóspede), o qual é distribuído no núcleo da partícula (RISCH e REINECCIUS, 1995). A técnica de microencapsulação pode ser aplicada em vários setores industriais, destacando-se as áreas farmacêutica, alimentar, agrícola e médica, sendo amplamente utilizada na encapsulação de óleos essenciais, corantes, aromatizantes, edulcorantes, microrganismos, entre outros (AZEREDO, 2005).

As etapas fundamentais de um método de microencapsulação são a incorporação dos compostos bioativos; formação das gotículas; remoção do solvente; coleta das microcápsulas e secagem (DALMORO et al., 2012). De acordo com Suave et al. (2006), os principais métodos de encapsulação são: *spray drying*, *spray cooling*, extrusão, coacervação, liofilização e emulsificação. Segundo Silva et al. (2014), as cápsulas podem ser classificadas de acordo com o seu tamanho em macrocápsulas ($> 5.000 \mu\text{m}$), microcápsulas ($0,2 \text{ à } 5000 \mu\text{m}$) e nanocápsulas ($< 0,2 \mu\text{m}$).

Neste trabalho explorou-se a utilização de microcápsulas formadas por vidro e Zn^{2+} . O vidro é constituído basicamente por sílica, alumina, lítio e sódio (FIORI et al., 2009). Para a obtenção das microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico, ocorre um processo de troca iônica, sendo esta uma operação de adsorção na qual o adsorvente efetua a troca de um soluto por outro (FOUST, 1982), neste caso ocorre a substituição do sódio pelo zinco. De acordo com Woinarski et al. (2003), os íons de sódio (Na^+) são mais facilmente removidos da estrutura do vidro que outros cátions e, portanto, são mais facilmente trocados por qualquer outro íon metálico.

Alguns íons metálicos apresentam a propriedade oligodinâmica e são aplicados pela indústria na produção de materiais antimicrobianos. De acordo com Chakravarti et al. (2005) e Mukherjee et al. (2012), a propriedade oligodinâmica é um efeito letal que os íons metálicos de algumas espécies químicas exercem sobre bactérias, fungos e outros microrganismos patogênicos, mesmo em baixas concentrações de íons, causando a inibição ou morte dos mesmos.

A magnitude do efeito antimicrobiano proporcionado pelo vidro-zinco dependerá da quantidade de Zn^{2+} adsorvida pelo vidro durante a troca iônica e das características cinéticas do processo de dessorção (liberação) de Zn^{2+} no meio externo contendo o microrganismo (MENDES, 2016).

Quando utiliza-se as MCs-Zn, um efeito semelhante ao que acontece com as NPs-ZnO é esperado, visto que o provedor da atividade antimicrobiana nestes materiais é o Zn^{2+} . Kirschner et al. (2017) adicionaram *masterbatch* (pré-mistura de um polímero com um aditivo utilizado para melhorar a distribuição dos agentes antimicrobianos na matriz polimérica) de PEBD contendo microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico e nanopartículas de óxido de zinco em placas de PA6 e testaram sua atividade antimicrobiana frente à *S. aureus* e *S. typhimurium*. Os resultados mostraram que uma maior atividade antimicrobiana foi observada com as poliamidas aditivadas com *masterbatch* contendo MCs-Zn, quando comparado ao *masterbatch* contendo NPs-ZnO, devido a facilidade de dispersão destas microcápsulas na matriz polimérica, tornando o material mais homogêneo.

Santos et al. (2014) adicionaram partículas de vidro dopadas com Zn^{2+} em PEAD e PEBDL e testaram sua atividade antimicrobiana frente à *S. aureus* e *E. coli*. Os resultados do ensaio de difusão em meio sólido indicaram a presença de um efeito antimicrobiano para ambas as bactérias, sendo este efeito pode ser atribuído às espécies de Zn^{2+} presentes na superfície das partículas de vidro dopadas ou a liberação das mesmas para o meio externo.

Ainda, observou-se distribuição mais uniforme das partículas de vidro dopadas com zinco iônico no PEBDL quando comparado ao PEAD.

3.3.3 Polímeros biodegradáveis aditivados com ZnO

A literatura relata diversos trabalhos utilizando compostos à base de zinco em matrizes poliméricas. Pascual e Vicente (2014a) prepararam um bionanocompósito a partir do PHB/NPs-ZnO. Os autores avaliaram a morfologia, propriedades térmicas, mecânicas, barreira a gases, migração de gases e potencial antibacteriano do mesmo. O bionanocompósito obtido apresentou maior estabilidade térmica e aumento do módulo à tração e resistência ao impacto. Ainda, a redução da capacidade de absorção de água foi observada, assim como melhoria da barreira a gases. A atividade antimicrobiana do bionanocompósito foi atestada, sendo que este novo material pode ser usado como alternativa para materiais de embalagem de plásticos sintéticos, especialmente para uso em recipientes de alimentos, bebidas e aplicações descartáveis.

Em outro trabalho Pascual e Vicente (2014b), desenvolveram um bionanocompósito formado por PBHv/NPs-ZnO, com função antimicrobiana para aplicação em embalagens de alimentos. Os filmes de PHBv/NPs-ZnO mostraram atividade antibacteriana contra bactérias estudadas, sendo que o efeito sobre *E. coli* foi mais evidente do que em *S. aureus*.

Shoja et al. (2015) prepararam e caracterizaram um microcompósito de PCL/ZnO, e avaliaram suas propriedades antimicrobianas frente à *Salmonella choleraesuis* e *B. subtilis*. Os resultados revelaram que há atividade antibacteriana, porém, com maior eficácia contra a bactéria gram-positiva (*B. subtilis*), quando comparado a gram-negativo, devido a diferença na organização da parede celular desta classe de microrganismos, que apresenta-se mais susceptível à atuação de agentes antimicrobianos.

Augustine et al. (2014) inseriram NPs-ZnO em fibras de Poli (caprolactona) electrospun (PCL) e investigaram o efeito de NPs-ZnO sobre as propriedades mecânicas e atividade antibacteriana. Os autores verificaram que as fibras obtidas possuem atividade antimicrobiana frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*. Quanto as propriedades mecânicas, verificou-se que as NPs-ZnO aumentaram a estabilidade, porém em concentrações mais elevadas, as mesmas fizeram com que diminuísse a fase cristalina de PCL.

Murariu et al. (2011) dispersaram NPs-ZnO em uma matriz de PLA e estudaram como a adição das mesmas afetaria as propriedades da matriz de poliéster. Os autores utilizaram dois tipos de nanopartículas, sendo estas sem tratamento e também tratadas superficialmente

com silano. As nanopartículas tratadas com silano forneceram um nanocompósito com melhor desempenho mecânico, maior estabilidade térmica e dispersão mais uniforme quando comparado ao nanocompósito aditivado com NPs-ZnO sem tratamento.

Bussiere et al. (2012) estudaram o efeito de NPs-ZnO tratadas com trietoxi caprylsilane na cristalização isotérmica e não isotérmica do PLA. Os autores concluíram que as NPs-ZnO desempenharam um papel de anti-nucleação na cristalização de nanocompósitos de PLA. Este efeito tem sido associado principalmente às interações entre os grupos silano na superfície de nanopartículas e macromoléculas PLA.

Ghahfarrokhi et al. (2015) investigaram o efeito de NPs-ZnO como um agente protetor de raios UV em biopolímeros kefiran. Os autores verificaram que o aumento do teor de Zn proporciona uma elevação na resistência à tração, alongamento na ruptura e aumento da energia de tração para quebrar o filme kefiran. Nanocompósitos com um teor de Zn superior a 2% produziram um filme com capacidade de proteção de raios UV, boas propriedades visuais, baixa sensibilidade à água e baixa permeabilidade ao vapor de água.

Venkatesan e Rajeswari (2017) obtiveram filmes de PBAT/NPs-ZnO e avaliaram suas propriedades mecânicas, térmicas e a atividade biológica. Os nanocompósitos apresentam um aumento significativo na estabilidade mecânica e térmica. E quando verificada a atividade antimicrobiana pelo método de difusão em meio sólido verificou-se maiores halos para *E. coli*, quando comparados os valores obtidos para *S. aureus*.

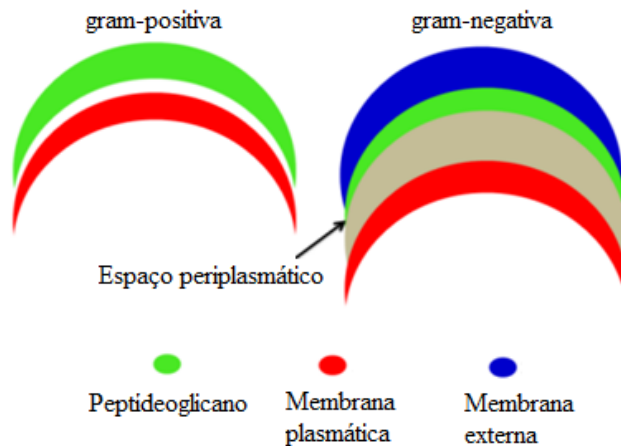
3.4 Microrganismos modelo para o estudo da atividade antimicrobiana

Na maioria dos trabalhos realizados avaliando a atividade antimicrobiana, utilizam-se como base de estudos uma bactéria gram-positiva e uma gram-negativa, sendo utilizadas usualmente *S. aureus* e *E. coli* para tal finalidade, sendo estas as espécies patogênicas mais comuns (FEITOR, 2010; SILVA, 2015).

As bactérias gram-positivas apresentam uma parede celular com uma camada espessa de peptídeoglicano situada sobre a membrana citoplasmática, não existindo membrana exterior. Já, para as bactérias gram-negativas o peptídeoglicano encontra-se entre a membrana citoplasmática e a membrana exterior da bactéria. As paredes celulares de bactérias gram-negativas são mais complexas do que a parede celular das gram-positivas, tanto do ponto de vista estrutural quanto químico. Estruturalmente, as paredes celulares de gram-negativas contêm duas camadas externas à membrana citoplasmática (SILVA JÚNIOR, 2013). Na

Figura 4, encontra-se um diagrama simplificado do envelope celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Figura 4 - Esquema ilustrativo da diferença na parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas



Fonte: TORTORA, FUNKE e CASE, 2017.

O *S. aureus* é uma bactéria de forma esférica, do grupo dos cocos gram-positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 μm de diâmetro, imóveis, não-esporulados e geralmente não-encapsulados, frequentemente encontrado na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis (SANTOS et al., 2007; LUNA et al., 2010). Mesmo sendo considerado parte da flora natural do ser humano, o *S. aureus* pode tornar-se patogênico e causar uma ampla variedade de infecções, desde as mais simples como espinhas e furúnculos até as mais graves como pneumonia e meningite (SANTOS et al., 2007; SALES e SILVA, 2012).

O alto potencial infeccioso do *S. aureus* não está restrito apenas à sua facilidade de multiplicação e disseminação nos tecidos, mas também à produção de moléculas com grande poder patogênico, que incluem enzimas e toxinas. As infecções causadas por essa bactéria são tratadas classicamente com derivados da penicilina, porém, a resistência às substâncias antimicrobianas comuns pode, em parte, ser atribuída ao uso abusivo de antibióticos, o que dificulta o tratamento de infecções bacterianas (CRUVINEL, et al., 2011; CAVALCANTI-DANTAS et al., 2016). Segundo dados do Ministério da Saúde, no período de 2000 a 2011, ocorreram, no Brasil, 8.623 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e destes, 759 foram causadas por *S. aureus* (BRASIL, 2010).

A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa, não esporulada, podendo ser imóvel ou móvel por flagelos peritricos, fermentadora de açúcares, anaeróbia facultativa pertencente à Família *Enterobacteriaceae*. É encontrada na microbiota intestinal, tanto de seres humanos quanto de animais de sangue quente (SANTOS et al., 2009; ALVES, 2012; PAULA, CASARIN e

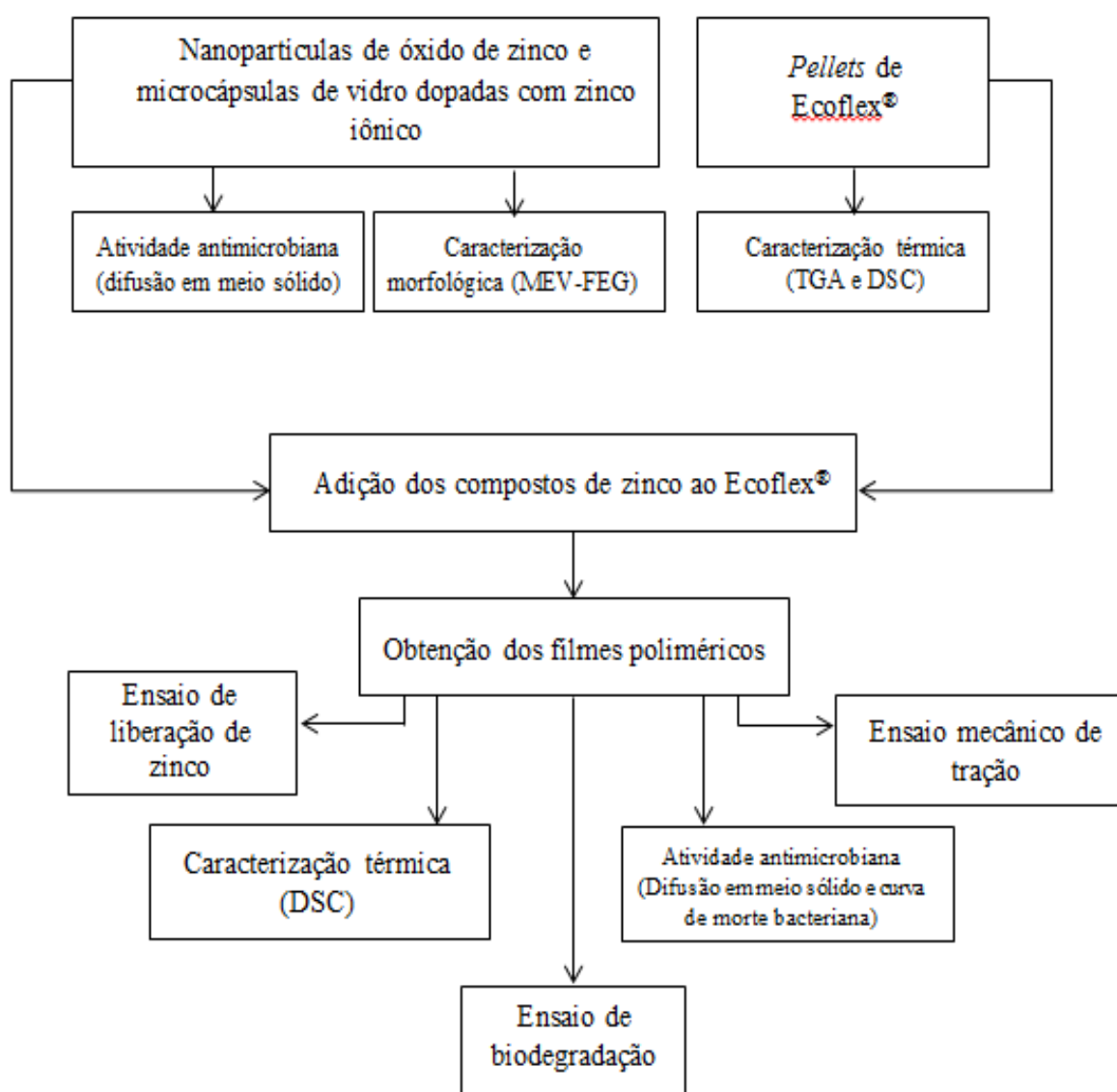
TONDO, 2014). Ela pode crescer em uma ampla faixa de temperatura, entre 8 e 48 °C, entretanto sua temperatura ótima de crescimento é de cerca de 39 °C e o pH ótimo se encontra na faixa de 6,0 a 8,0 (FRANCO e LANDGRAF, 2005; MADIGAN, MARTINKO e PARKER, 2010). Praticamente todos os alimentos de origem vegetal e/ou animal que não tenham sido processados podem veicular *E. coli*, sendo os alimentos crus, especialmente os de origem animal (ex. leite não pasteurizado) potencialmente contaminados, podendo causar infecções do trato urinário e, quando na produção de toxinas causar doenças de origem alimentar graves (ALVES, 2012; TORTORA, FUNKE e CASE, 2017).

4. MATERIAL E MÉTODOS

As nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO) e as microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico (MCs-Zn) foram cedidas pela *Kher Group* e os *pellets* de Ecoflex[®] pela BASF.

A metodologia experimental empregada no referido estudo foi organizada em uma sequência de etapas conforme é apresentado na Figura 5. Cada etapa, presente na Figura 5, será detalhada a seguir.

Figura 5 - Fluxograma de trabalho



Fonte: Elaboração própria.

4.1 Caracterização dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) e do polímero biodegradável Ecoflex®

As NPs-ZnO e as MCs-Zn foram caracterizadas quanto a sua morfologia por microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão e quanto sua atividade antimicrobiana por difusão em meio sólido a partir de orifício. Já, os *pellets* do polímero biodegradável Ecoflex® foram caracterizados através de suas propriedades térmicas por meio dos ensaios de termogravimetria e por calorimetria diferencial de varredura. Na sequência serão apresentadas as técnicas de caracterizações de forma mais detalhada.

4.1.1 Caracterização morfológica dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn)

Uma amostra de cada aditivo foi analisada morfológicamente através da microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão (MEV-FEG), a fim de verificar a estrutura dos aditivos antimicrobianos, e determinar o tamanho e formato dos mesmos. Os ensaios morfológicos foram realizados em equipamento de MEV-FEG (modelo Tescan) no laboratório de polímeros-LPOL da Universidade de Caxias do Sul – UCS.

4.1.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs-ZnO e das MCs-Zn

A técnica de difusão em meio sólido a partir de orifício foi utilizada a fim de verificar a atividade antimicrobiana das NPs-ZnO e das MCs-Zn antes de adicioná-las a matriz polimérica. Esta técnica foi realizada conforme as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012).

Os ensaios foram realizados utilizando-se os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 8739) conservados em um *ependorf* contendo glicerina a aproximadamente -10 °C. As suspensões bacterianas foram cultivadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI, marca Himedia) e encaminhadas para estufa bacteriológica (marca Quimis, modelo Q316m5) a temperatura de 37±1 °C por um período de 24 h.

Após decorrido este período, fez-se necessário isolar algumas colônias bacterianas a fim de garantir que a absorvância lida no espectrofotômetro seja única e exclusivamente referente à concentração de microrganismos. Para tal verteu-se *Mueller Hinton* (marca Merck) em uma placa de petri e deixou-se solidificar. Com o auxílio de um *swab* (marca Absorve) retirou-se uma alíquota da suspensão bacteriana que foi colocada sobre o meio de cultura.

Com uma alça de Drigalski essa alíquota foi espalhada de modo a obter o isolamento de algumas colônias, essas placas foram levadas para a estufa bacteriológica a uma temperatura de 37 ± 1 °C por um período de 24 h.

Utilizando-se uma alça descartável retiraram-se algumas colônias bacterianas que foram colocadas em água salina estéril (0,85%), ajustadas até que se obtivesse uma concentração de 10^8 UFC.mL⁻¹. Para tal, utilizou-se um espectrofotômetro (marca Bel photonics, modelo 1105) no comprimento de onda de 619 nm, sendo que para se obter tal concentração de microrganismos a absorbância lida no equipamento estava entre 0,08 e 0,1.

Verteu-se meio de cultura ágar *Mueller Hinton* nas placas de petri (90x15 mm) deixando solidificar. Os microrganismos de interesse foram semeados em forma de estrias sobre o ágar pela técnica de plaqueamento em superfície com o auxílio de um *swab*, realizando-se a semeadura em três direções garantindo a total deposição dos mesmos. Em cada placa, foram feitos três orifícios equidistantes, utilizando-se uma ponteira de 1000 µL, com diâmetro de aproximadamente 8 mm, sendo depositado em cada orifício aproximadamente 0,10 g de NPs-ZnO e também de MCs-Zn, separadamente.

Em cada tampa das placas de petri fixou-se um papel filtro autoclavado para evitar que gotículas de água gotejassem sobre o ágar, prejudicando a visualização do halo de inibição. As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C na estufa bacteriológica por 24 h e, após decorrido este tempo, o halo de inibição de crescimento microbiano formado foi mensurado, com auxílio de uma régua milimétrica, sendo este ensaio realizado em triplicata. A Equação 1 apresenta o cálculo do halo de inibição.

$$\text{Halo de inibição} = D_{\text{ex}} - D_{\text{in}} \quad (1)$$

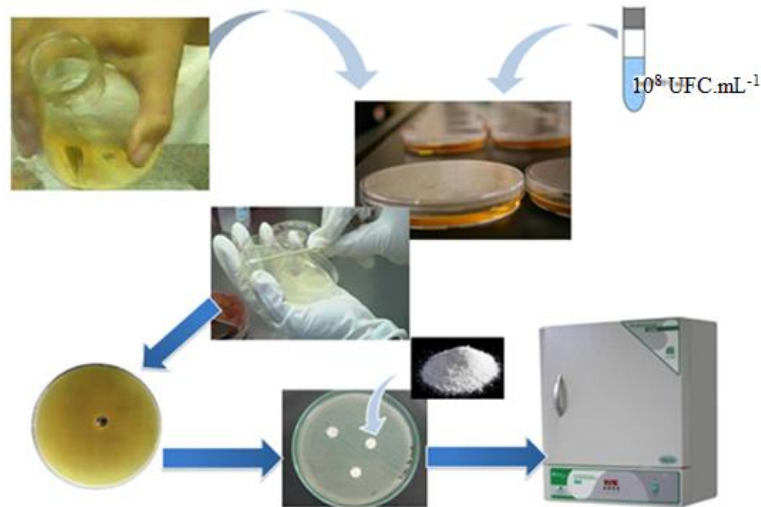
Onde:

D_{ex} : diâmetro externo formado pela ação do agente antimicrobiano sobre os microrganismos (mm)

D_{in} : diâmetro ocupado pelo agente antimicrobiano (mm).

O esquema representativo da técnica de difusão em meio sólido a partir de orifício pode ser observado na Figura 6. Os ensaios microbiológicos foram realizados no laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Comunitária de Chapecó – Unochapecó. Os resultados foram submetidos ao teste de *Tukey* de modo a avaliar a existência de diferenças significativas ao nível de significância 5% ($p < 0,05$) utilizando o *software* Statistica® 7.0 (StatSoft®, USA).

Figura 6 - Esquema ilustrativo do ensaio experimental da técnica de difusão em meio sólido a partir de orifício



Fonte: Elaboração própria.

4.1.3 Análises térmicas do polímero biodegradável

Uma amostra dos *pellets* do polímero biodegradável Ecoflex[®] foi caracterizada por Termogravimetria (TGA) e por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). A partir destas análises foi possível avaliar o perfil de decomposição térmico e as temperaturas correspondentes à fusão e cristalização deste material.

A Análise Termogravimétrica foi realizada utilizando-se um Analisador Termogravimétrico (marca Shimadzu, modelo TGA 50). As análises foram efetuadas sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL.min⁻¹ e velocidade de aquecimento 10 °C.min⁻¹. Os ensaios de TGA foram realizados no laboratório de polímeros-LPOL da Universidade de Caxias do Sul – UCS.

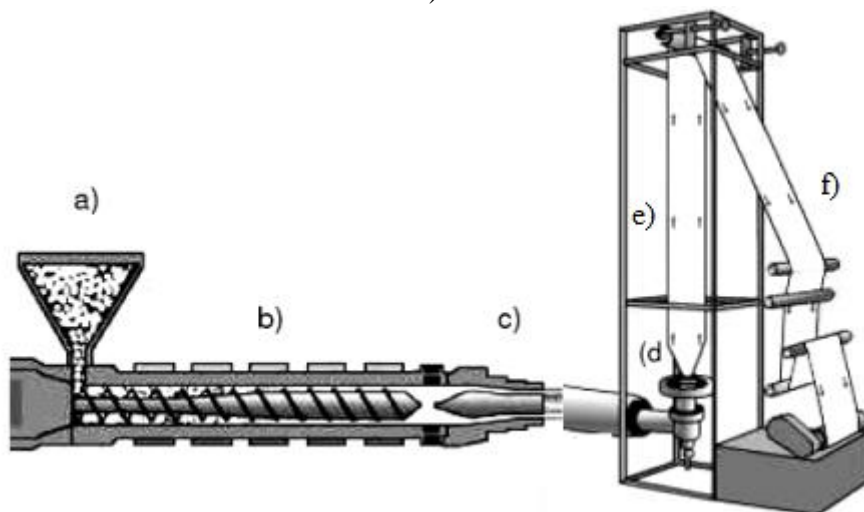
As análises de DSC foram realizadas em um Analisador Termogravimétrico (marca Shimadzu, modelo DSC 50), utilizando-se 10,9 mg de material polimérico, num intervalo de temperatura de 25 °C a 250 °C com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e atmosfera inerte de nitrogênio de alta pureza com vazão de 50 mL.min⁻¹. Foram obtidos termogramas durante o aquecimento e resfriamento do polímero Ecoflex[®]. Levou-se em consideração apenas o segundo aquecimento, para garantir que toda a história térmica oriunda do processamento do material fosse destruída pelo primeiro aquecimento. Os ensaios de DSC foram realizados no laboratório de polímeros-LPOL da Universidade de Caxias do Sul – UCS.

4.2 Obtenção dos filmes poliméricos com diferentes concentrações de aditivos antimicrobianos

Os aditivos antimicrobianos, NPs-ZnO e MCs-Zn, foram secos em estufa (marca Cid, modelo 311 cg), sob temperatura de 70 °C durante 1 h. Tanto as NPs-ZnO quanto as MCs-Zn foram misturadas manualmente com os *pellets* de Ecoflex[®] nas concentrações de 1 e 2% (m/m), até a completa homogeneização.

Após homogeneização prévia, o processamento foi realizado em uma extrusora industrial monorosca de balão (marca Oryzon), que possui sete zonas de aquecimento, sendo as quatro primeiras mantidas à 130 °C e as demais à 145 °C. A velocidade de rotação foi de 85 rpm. Os parâmetros de extrusão foram baseados na ficha técnica do polímero biodegradável (Anexo 1) e no ensaio de TGA. A Figura 7 mostra o esquema representativo do processo de extrusão.

Figura 7 - Esquema representativo do processo de extrusão dos filmes poliméricos: a) alimentação, b) rosca, zonas de aquecimento e canhão, c) cabeçote e matriz, d) sopro, e) estiramento do balão e f) bobinamento do filme



Fonte: Adaptado PAOLI, 2008.

Os *pellets* de Ecoflex[®] juntamente com as NPs-ZnO em diferentes concentrações foram colocados na extrusora através do funil de alimentação. A rosca e as zonas de aquecimento fazem com que o polímero se funda e seja direcionado para o cabeçote. O filme polimérico toma forma através de um balão de sopro, sendo que nesta etapa se regulou a espessura em torno de 0,03 mm. Os rolos de recolhimento servem para recolher o filme que foi enrolado em uma bobina. O mesmo procedimento foi utilizado para obtenção dos filmes

poliméricos aditivados com as MCs-Zn, e também com uma amostra de filme polimérico sem nenhum aditivo. Os filmes poliméricos foram processados no laboratório de polímeros da Universidade do Sul de Santa Catarina – UNISUL.

4.3 Caracterização dos filmes poliméricos

Os filmes poliméricos obtidos nas diferentes concentrações de NPs-ZnO e MCs-Zn, e sem aditivos, foram avaliados quanto a atividade antimicrobiana pelo ensaio de difusão em meio sólido e pelo ensaio de curva de morte; quanto às propriedades mecânicas os filmes foram avaliados por meio de ensaios de tração; quanto as propriedades térmicas por ensaios de DSC. Ainda realizaram-se ensaios de liberação de zinco dos filmes formados, em solução aquosa e também avaliou-se a biodegradação dos filmes com e sem aditivo em solo. Os procedimentos são detalhados a seguir.

4.3.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos obtidos, através do ensaio de difusão em meio sólido

A atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn, foi testada de acordo com o ensaio de difusão em meio sólido conforme já descrito no item 4.1.2, porém neste caso não foi feito orifício no ágar, sendo que uma amostra de cada filme foi disposta sobre o mesmo em cada placa. Os filmes foram cortados em círculos com diâmetro de 20 mm. O controle negativo foi o filme polimérico de Ecoflex[®] puro, ou seja, sem adição de aditivos. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado foi analisado através da presença ou ausência de halo de inibição de crescimento microbiano em torno do filme. Quando necessário, a Equação 1 foi utilizada para o cálculo do halo de inibição.

4.3.2 Curva de morte bacteriana

O ensaio de curva de morte bacteriana foi realizado, para todos os filmes poliméricos obtidos, conforme metodologia descrita pela norma japonesa JIS Z 2801-10 com algumas modificações. As suspensões bacterianas de *S. aureus* e *E. coli* foram cultivadas em caldo BHI durante 24 h a 37 ± 1 °C e após ajustadas em água salina 0,85% para uma concentração de 10^4 UFC.mL⁻¹, utilizando um espectrofotômetro no comprimento de onda de 619 nm, sendo

que para se obter tal concentração de microrganismos a absorvância lida no equipamento estava entre 0,040 e 0,049.

O preparo da amostra consistiu na adição de 40 µL da suspensão bacteriana a cada corpo de prova (que consistia numa amostra de filme polimérico nas medidas de 4x4 cm) e adição de 1 mL de água salina 0,85% ao redor de cada um destes, a fim de manter a umidade do ambiente propícia ao crescimento bacteriano, sendo que cada corpo de prova foi colocado individualmente em uma placa de petri. Uma lamínula de vidro estéril era colocada sobre cada corpo de prova a fim de espalhar a alíquota de bactérias por toda e extensão dos mesmos. As placas foram então, encaminhadas à estufa bacteriológica à 37±1 °C. A análise foi realizada nos tempos de 0, 1, 2, 3, 6 e 24 h. Em cada tempo retirou-se uma amostra da estufa bacteriológica e, esta foi inserida em um saco de *stomacher* (marca Nazco whirl-pak) juntamente com 10 mL de água salina 0,85% e, então homogeneizada por aproximadamente 1 min (amostra 10⁰). Com uma pipeta coletou-se 1 mL do lavado que foi transferido para um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina 0,85%, sendo essa caracterizada como a diluição 10⁻¹, desta retirou-se 1 mL que foi transferido para outro tubo de ensaio contendo 9 mL de água salina 0,85%, caracterizando a diluição 10⁻².

Retirou-se 0,1 mL do saco de *stomacher*, e das respectivas diluições que foram semeados em profundidade, juntamente com 7 mL caldo *Mueller Hinton*. As placas de petri foram homogeneizadas e incubadas em estufa bacteriológica na posição invertida a 37±1 °C por um período de 24 h. Repetiu-se o procedimento para todos os tempos de análise, sendo que o ensaio foi realizado em triplicata.

Após decorridas as 24 h de incubação, as placas amostradas foram retiradas da estufa bacteriológica para realização da contagem de Unidades Formadoras de Colônias por cm² (UFC.cm⁻²), com o auxílio de um contador de colônias (marca Quimis, modelo Q295B). O número de bactérias viáveis por área foi calculado de acordo com a Equação 2.

$$N = \frac{C \cdot D \cdot V}{A} \quad (2)$$

Em que:

N: número de células viáveis por cm²;

C: Contagem de colônias (de 30 a 300 UFC.cm⁻²);

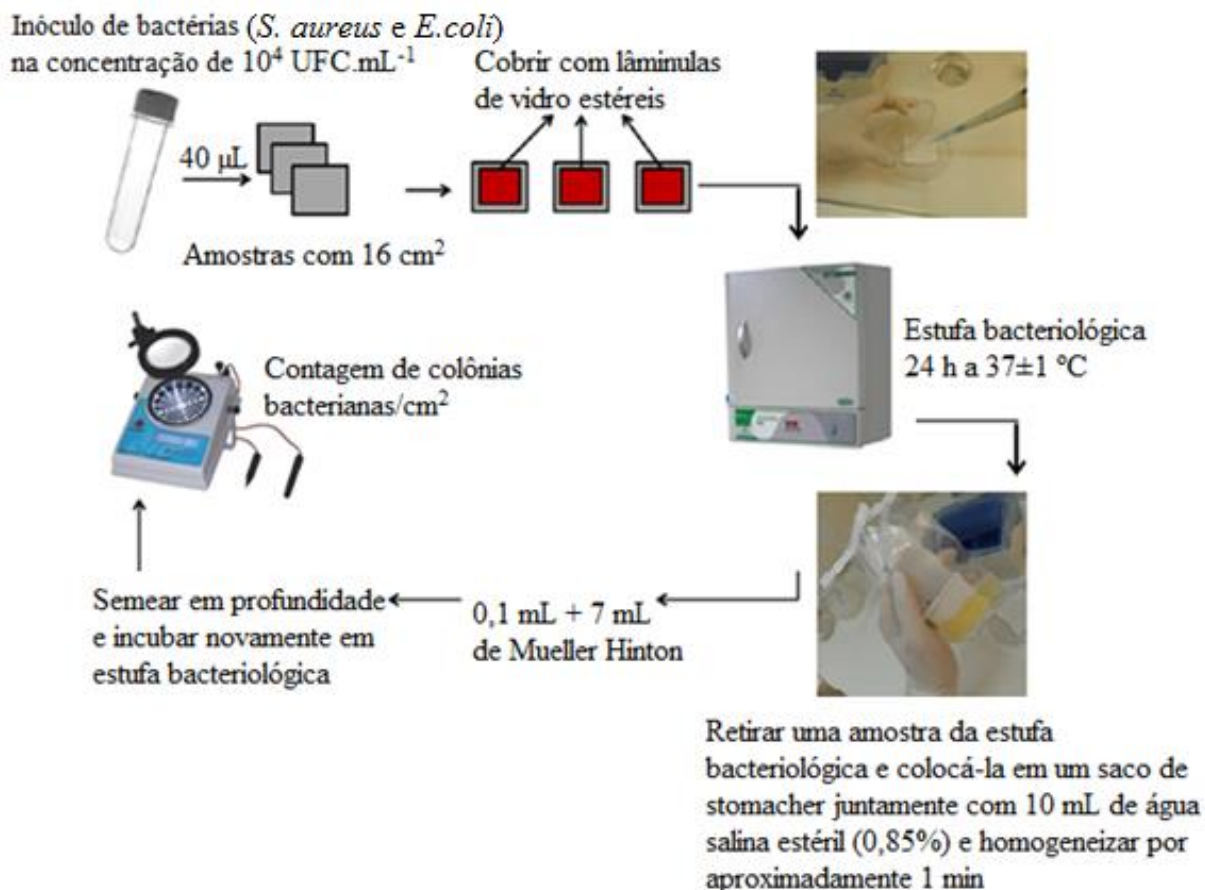
D: Fator de diluição (adimensional);

V: Volume (mL) de água salina 0,85% usado para a lavagem da amostra (10 mL);

A: Área superficial da amostra (16 cm²);

Os resultados foram submetidos ao teste de *Tukey* de modo a avaliar a existência de diferenças significativas ao nível de significância 5% ($p < 0,05$) utilizando o *software* Statistica® 7.0 (StatSoft®, USA). O esquema representativo do ensaio de curva de morte pode ser visualizado na Figura 8.

Figura 8 – Esquema representativo da técnica de curva de morte



Fonte: Elaboração própria.

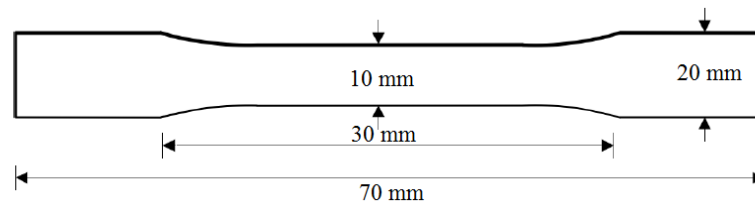
4.3.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Os filmes poliméricos obtidos, com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn, foram submetidos ao ensaio de calorimetria diferencial de varredura (DSC), conforme descrito no item 4.1.3, com o intuito de analisar se os aditivos alteram as propriedades térmicas do polímero biodegradável, principalmente em termos de cristalinidade.

4.3.4 Ensaio mecânico de tração

Os filmes poliméricos obtidos foram submetidos ao ensaio mecânico de tração de acordo com a ASTM D-882-10, sendo o corpo de prova apresentado na Figura 9. Com esse ensaio obteve-se dados como tensão máxima, tensão de ruptura, deformação e módulo de elasticidade.

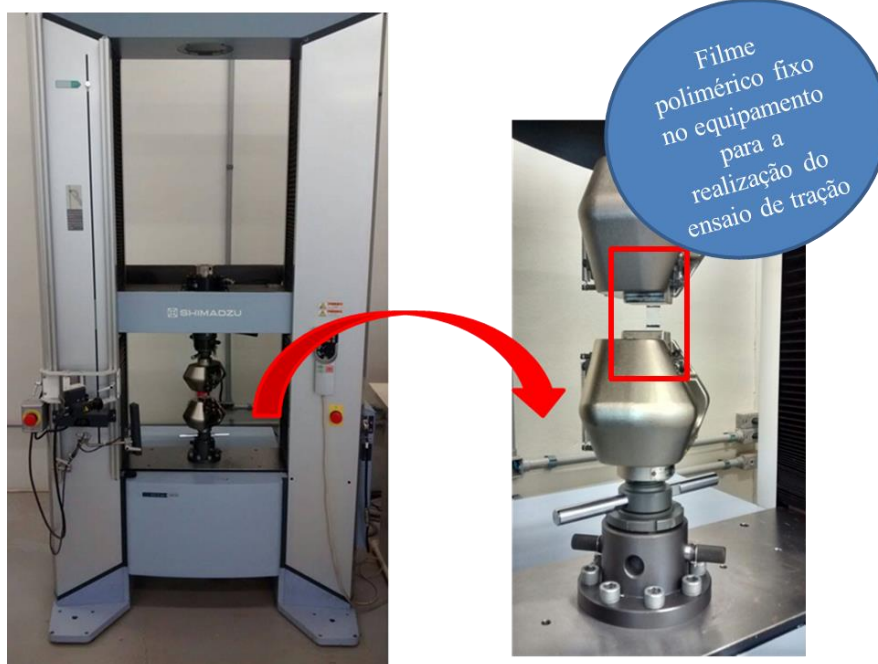
Figura 9 - Esquema representativo dos corpos de prova para a realização do ensaio mecânico de tração



Fonte: Elaboração própria.

Os ensaios mecânicos foram realizados no equipamento universal de testes mecânicos (marca Shimadzu, modelo AG-X plus) com célula de carga de 100 kN, conforme mostra a Figura 10. Estes ensaios foram realizados no laboratório de análises mecânicas da Universidade Comunitária da Região de Chapecó – Unochapecó.

Figura 10 - Equipamento universal de testes mecânicos



Fonte: Elaboração própria.

Os ensaios foram realizados com doze réplicas para cada filme, sendo que os parâmetros de tensão máxima, tensão de ruptura, deformação e módulo de elasticidade apresentados fazem referência à média aritmética dos ensaios, retirando as amostras que apresentaram maior desvio padrão amostral. Os resultados das análises mecânicas foram submetidos ao teste de *Tukey* de modo a avaliar a existência de diferenças significativas ao nível de significância 5% ($p < 0,05$) utilizando o *software* Statistica[®] 7.0 (StatSoft[®], USA).

4.3.5 Estudo de liberação de compostos de zinco em meio aquoso

A fim de verificar se ocorre ou não a migração e/ou liberação de óxido de zinco e zinco iônico dos filmes poliméricos em solução aquosa, realizou-se o teste de liberação de metais em água ultrapura seguindo a Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999 da ANVISA, sendo este um método capaz de determinar qualitativamente e quantitativamente a presença de metais em solução aquosa (BRASIL, 1999).

As amostras dos filmes poliméricos preparados com Ecoflex[®] sem aditivos e Ecoflex[®] com diferentes concentrações de NPs-ZnO e MCs-Zn foram imersas em 300 mL de água ultrapura de tal forma que a relação área de material de contato/volume de água compreendesse $2 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$, com uma superfície de contato de aproximadamente 600 cm^2 (somatória de todas as superfícies postas em contato com a água ultrapura), conforme descrito na Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999 da ANVISA.

Para embalagens de alimentos com tempo prolongado de contato (tempo maior de 24 h) a Resolução preconiza que o ensaio de liberação seja realizado nas temperaturas de 5 e 40 °C, sendo que para se atingir essas temperaturas as amostras foram acondicionadas em uma estufa incubadora DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio (marca Quimis) e estufa (marca Quimis). Três alíquotas de 10 mL cada, foram coletadas em 0 e 10 dias de ensaio, e armazenadas a uma temperatura de aproximadamente 7 °C, envoltas por papel alumínio. Após cada coleta, o volume de 30 mL de água ultrapura era repostado para que não houvesse diferença de volume com o passar dos dias de análise.

Para a leitura das mesmas foi necessário acidificar cada alíquota para que os compostos de zinco não precipitassem, mascarando o resultado real. Utilizou-se uma solução de HCl $0,5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (marca Vetec) para acidificar as mesmas, sendo que as amostras que continham NPs-ZnO foram acidificadas até atingir pH em torno de 3 e as amostras contendo MCs-Zn foram acidificadas até atingir pH abaixo de 0,8. Estes valores foram determinados em ensaios prévios, onde diversos pHs ácidos foram testados, a fim de verificar qual se

aproximava mais da concentração real das soluções preparadas com 0,5 ppm de NPs-ZnO e 0,5 ppm de MCs-Zn. As amostras acidificadas em diferentes pHs foram lidas no equipamento de absorção atômica, sendo que em pH de 3 para as NPs-ZnO o valor lido no equipamento que mais se aproximou da concentração real, enquanto que para as MCs-Zn em pH de 0,8 o valor foi mais próximo.

As amostras foram submetidas à análise no espectrômetro de absorção atômica (marca Perkin Elmer, modelo Analyst 800 AAS) pelo método de chama no laboratório de Tecnologia Ambiental da Universidade Comunitária de Chapecó – Unochapecó. As análises foram realizadas em duplicata em função da grande quantidade de filme requerida para se obter os 600 cm² de superfície de contato.

4.3.6 Ensaio de biodegradação dos filmes poliméricos

Com a finalidade de avaliar se a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn afetam a biodegradação do filme de Ecoflex[®], foram realizados testes conforme as normas da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) D-5988-12 (*Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in Soil*) e ASTM D 5338-03 (*Standard test method for determining aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions, incorporating thermophilic temperatures*), aliadas com a metodologia proposta por Mariani (2005) e César (2007) com algumas modificações. A referida metodologia tem como base o teste de respirometria.

4.3.6.1 Caracterização do solo utilizado no ensaio de biodegradação

O solo utilizado no ensaio de biodegradação foi um solo de floresta, caracterizado como latossolo, coletado a 10 cm de profundidade da camada superficial na cidade de Chapecó/SC no mês de outubro de 2016.

Este solo foi peneirado para uma granulometria de 2 mm e encaminhado para caracterização nos laboratórios de análise de solos da Unochapecó e EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina) apresentando as seguintes especificações: umidade do solo 25,91%, capacidade de retenção de água do solo atual 67,7%, nitrogênio 0,20%, carbono orgânico 1,68% e relação C/N de 8. De acordo com César (2007), resíduos que apresentam relação C/N maior que 20 têm pequena taxa de mineralização, logo,

o solo utilizando durante o ensaio de biodegradação no presente trabalho apresenta características desejáveis para tal finalidade.

4.3.6.2 Ensaio de biodegradação para os filmes poliméricos obtidos

Porções de 200 g de solo foram pesadas e dispostas em recipientes de vidro, com volume de 3 L, juntamente com os filmes poliméricos (2x2 cm) enterrados na porção de solo. O ensaio de biodegradação foi realizado com dois filmes poliméricos aditivados com NPs-ZnO (1 e 2%), dois filmes poliméricos aditivados com MCs-Zn (1 e 2%) e com filme polimérico sem aditivo. Três recipientes contendo apenas o solo foram usados como branco. Um *snap cap* (recipiente de vidro) contendo 10 mL de uma solução de NaOH (marca Merck) $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ (solução captadora de CO_2) e outro contendo 30 mL de água destilada foram dispostos dentro dos recipientes de vidro. Um recipiente contendo apenas um *snap cap* com NaOH e outro com água destilada foi utilizado como controle negativo. Os recipientes de vidro foram incubados em uma estufa incubadora DBO (marca Dist) a uma temperatura de $28 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ e na ausência de luz.

Para garantir que a umidade do solo ficasse acima de 60% durante todo o experimento, após decorridos 30 dias adicionou-se 2 mL de água destilada no solo a cada 6 dias, sendo este procedimento realizado até os 90 dias de ensaio.

A cada 3 dias os recipientes de vidro eram retirados da estufa DBO, colocados sobre uma bancada e a reação entre o NaOH e o CO_2 era paralisada através da adição de 1 mL de uma solução de BaCl_2 $0,5 \text{ Mol.L}^{-1}$ (marca Dinâmica). Em seguida os *snap caps* eram retirados de dentro dos recipientes de vidro e o NaOH remanescente que não reagiu com o CO_2 era titulado com uma solução de HCl (marca Vetec) $0,5 \text{ Mol.L}^{-1}$, utilizando como indicador a fenolftaleína. A solução de NaOH era reposta nos *snap caps*, que eram novamente inseridos nos recipientes de vidro, lacrados com papel filme e levados novamente a estufa incubadora DBO. Através da relação estequiométrica tornou-se possível calcular a quantidade de CO_2 liberada pelo processo de biodegradação dos materiais poliméricos, sendo que, quanto maior os índices deste gás, maior as taxas de biodegradação. Para o cálculo da quantidade, em massa, de CO_2 real produzido, utilizou-se a Equação 3.

$$m_{\text{CO}_2} = (V_{\text{HCl}} \text{ gasto para titular o branco} - V_{\text{HCl}} \text{ gasto para titular a amostra}) * 0,5 * 22 \quad (3)$$

Na qual:

m_{CO_2} : massa de CO_2 produzido no processo de biodegradação (mg);

V_{HCl} : Volume de ácido clorídrico gasto na titulação (mL);

0,5: Normalidade da solução de HCl;

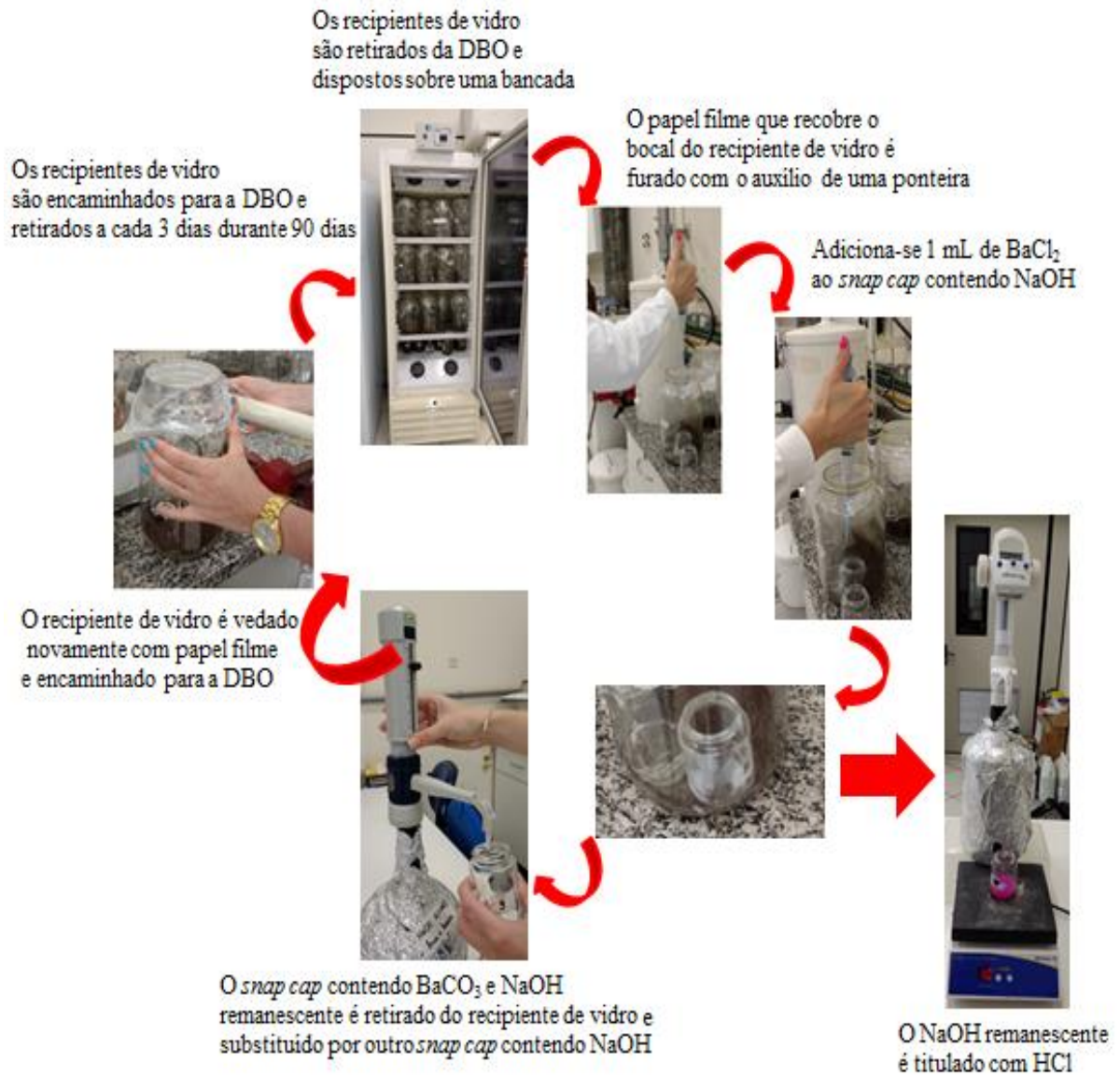
22: Equivalente grama do CO_2 .

Os resultados foram expressos em quantidade normalizada de colônias bacterianas por cm^2 de amostra, onde se dividiu todos os valores de contagem de colônias bacterianas pelo valor da contagem inicial no tempo zero.

Uma amostra de cada filme polimérico, antes de ser submetida ao ensaio de biodegradação foi analisada por microscopia ótica (MO), utilizando-se um microscópio (marca Tecnival, modelo Estereomicroscopio Tecnival Binocular SQZDS4BI70) com aumento de 50 vezes. Após 90 dias de ensaio de biodegradação uma amostra de cada filme polimérico foi lavada com água destilada e seca naturalmente e, posteriormente analisadas novamente por MO.

Os testes de biodegradação foram realizados em triplicata no laboratório de produtos naturais da Universidade Comunitária de Região de Chapecó – Unochapecó e a análise de MO foi realizada no Laboratório de Botânica da Unochapecó. Os resultados da biodegradação das amostras foram submetidos ao teste de *Tukey* de modo a avaliar se houve diferenças significativas ao nível de significância 5% ($p < 0,05$) utilizando o *software* Statistica[®] 7.0 (StatSoft[®], USA). O esquema ilustrativo do ensaio de biodegradação encontra-se na Figura 11.

Figura 11 - Esquema representativo do ensaio de biodegradação



Fonte: Elaboração própria.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

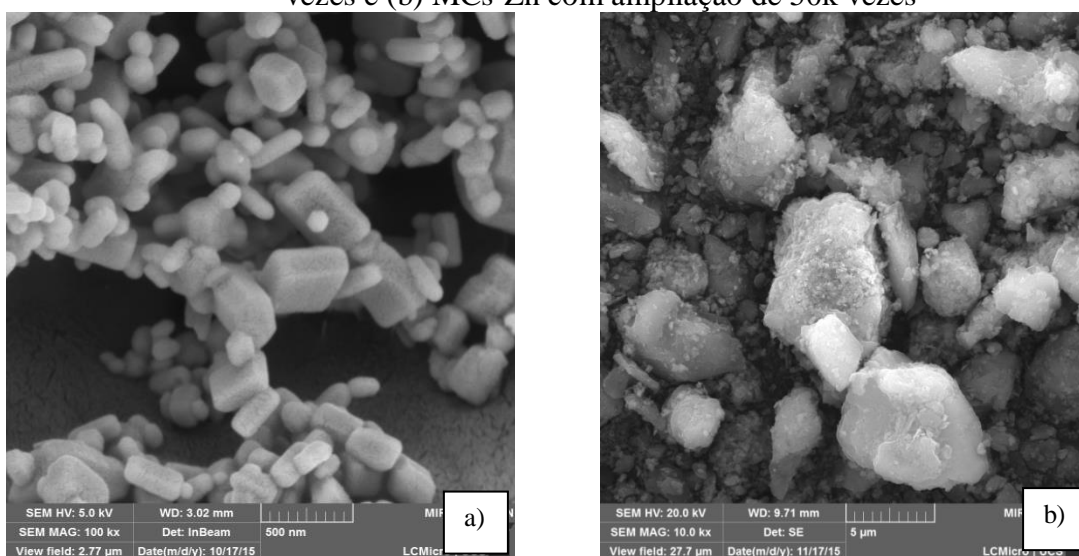
Neste capítulo, primeiramente serão apresentados os resultados da caracterização morfológica e microbiológica dos aditivos antimicrobianos utilizados e os resultados da caracterização térmica dos *pellets* do polímero biodegradável. Na sequência apresentar-se-ão os resultados obtidos, para os filmes poliméricos com e sem aditivos, submetidos aos ensaios microbiológicos de difusão em meio sólido e curva de morte, análise térmica de DSC, análise mecânica de tração, ensaio de liberação de zinco em solução aquosa e ensaio de biodegradação.

5.1 Caracterização dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn) e do polímero biodegradável Ecoflex®

5.1.1 Caracterização morfológica dos aditivos antimicrobianos (NPs-ZnO e MCs-Zn)

As imagens de superfície das NPs-ZnO e das MCs-Zn, obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura com canhão de campo de emissão (MEV-FEG), são apresentadas na Figura 12. A Figura 12 (a) apresenta as NPs-ZnO com ampliação de 100.000 vezes e a Figura 12 (b) as MCs-Zn com ampliação de 50.000 vezes.

Figura 12 – Imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura com canhão de campo de emissão (MEV-FEG) para o agente antimicrobiano (a) NPs-ZnO com ampliação de 100k vezes e (b) MCs-Zn com ampliação de 50k vezes

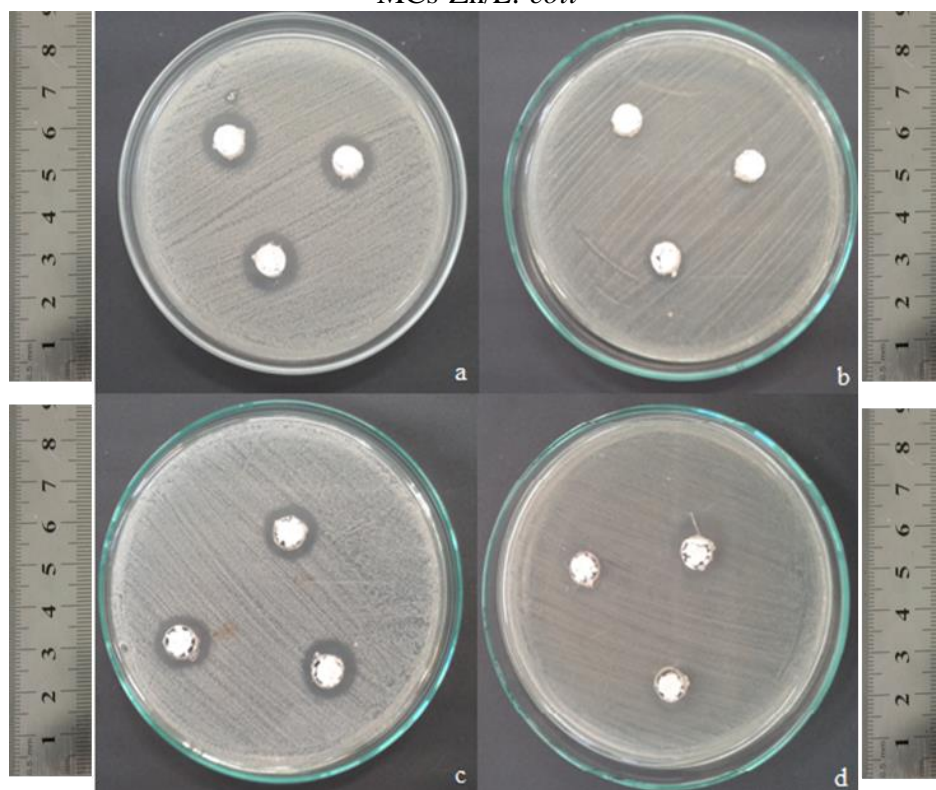


É possível verificar através da Figura 12 (a), que as NPs-ZnO possuem formato de bastões com diâmetro médio de aproximadamente 20 nm e com diferentes comprimentos que podem atingir valores de até 200 nm. Em algumas situações é possível observar a formação de pequenos aglomerados, que segundo Dantas et al. (2016), refere-se à adesão das nanopartículas entre si por forças de atração fracas como as de Van der Waals, as quais são significativamente maiores em nanopartículas. Pela Figura 12 (b), observa-se que as MCs-Zn, possuem tamanho variando de 1 µm a 10 µm e com formatos irregulares. De acordo com Kirschner (2016), a presença de faces lisas nas partículas indica que as microcápsulas são cristalinas e, que estas são constituídas por compostos de sílica e de alumina distribuídos uniformemente e ainda, que contém espécies de zinco intercaladas e distribuídas na sua estrutura.

5.1.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das NPs-ZnO e das MCs-Zn

A Figura 13 apresenta os resultados microbiológicos, do teste de difusão em meio sólido a partir de orifício, para as NPs-ZnO, frente à bactéria *S. aureus*, Figura 13 (a), *E. coli*, Figura 13 (b), e para as MCs-Zn, frente a *S. aureus*, Figura 13 (c) e *E. coli*, Figura 13 (d).

Figura 13 - Resultados dos testes de difusão em meio sólido a partir de orifício para as NPs-ZnO e MCs-Zn. (a) NPs-ZnO/*S. aureus*, (b) NPs-ZnO/*E. coli*, (c) MCs-Zn/*S. aureus*, (d) MCs-Zn/*E. coli*



A Tabela 2 apresenta os valores médios do halo de inibição através do teste de difusão em meio sólido a partir de orifício para as NPs-ZnO e as MCs-Zn frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

Tabela 2 - Valores médios \pm desvio padrão amostral do halo de inibição a partir do teste de difusão em meio sólido para as NPs-ZnO e as MCs-Zn frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*

Amostras	Valores médios do halo de inibição (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
NPs-ZnO	7,3 \pm 0,6 ^a	2,0 \pm 1,0 ^a
MCs-Zn	7,0 \pm 1,0 ^a	4,7 \pm 2,1 ^a

* Letras minúsculas iguais representam que não há diferenças significativas entre colunas ($p < 0,05$)

Através da Figura 13 e da Tabela 2, observa-se a presença de um efeito antibacteriano para ambos os aditivos frente às duas estirpes bacterianas testadas. É possível constatar que, tanto para as NPs-ZnO quanto para as MCs-Zn, os maiores halos de inibição são observados para a bactéria gram-positiva *S. aureus*, fato este já esperado, pois de acordo com Muñoz-Bonilla e Fernández-García (2012), as células bacterianas gram-positivas possuem apenas uma camada exterior, o que facilita a penetração de moléculas externas, promovendo a interação com a membrana citoplasmática e tornando-as mais frágeis, quando comparadas às células bacterianas gram-negativas. Estas possuem uma membrana adicional com uma estrutura de bicamada fosfolipídica, responsável pela proteção da membrana citoplásmica interior, em maior grau, o que promove maior resistência a essa classe de bactérias, justificando a ocorrência de um halo menor para *E. coli*.

Resultados semelhantes foram encontrados por Premanathan et al. (2011), que avaliaram a atividade antibacteriana de NPs-ZnO contra bactérias gram-negativas, *E. coli* e *P. aeruginosa*, bem como contra a bactéria gram-positiva *S. aureus*, sendo que o efeito foi mais pronunciado contra a bactéria gram-positiva do que contra as bactérias gram-negativas, tal como no presente estudo.

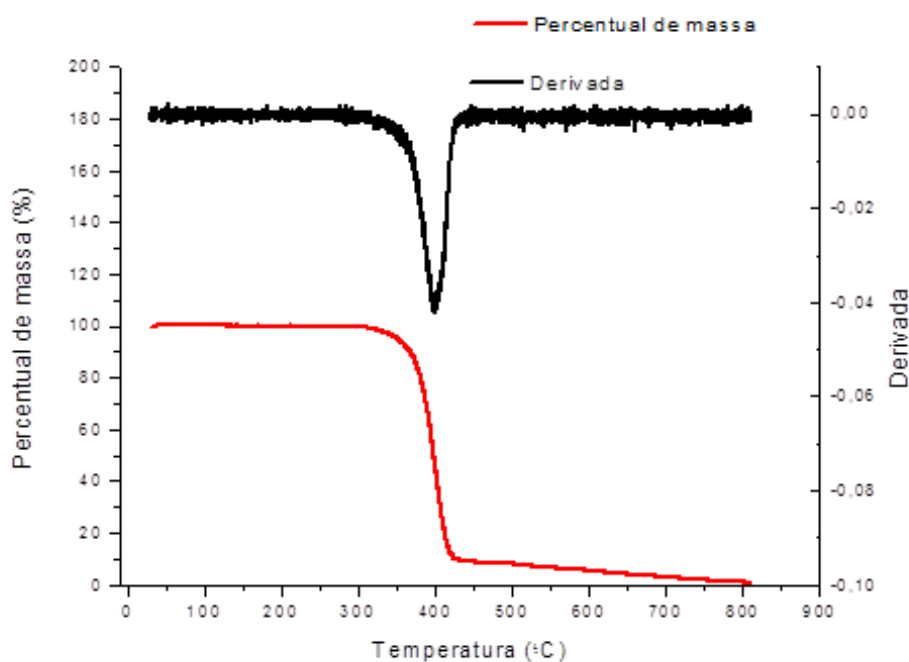
Ainda, outra explicação para o aumento da resistência de *E. coli* quando comparado ao *S. aureus* é devido a diferença na polaridade da membrana celular, uma vez que a membrana do *S. aureus* tem carga negativa menor quando comparado ao *E. coli* (SONOHARA et al., 1995). De acordo com Gordon et al. (2011), isto permitiria uma maior penetração de radicais livres, tais como radicais hidroxila, superóxido e íons peróxido causando danos e morte celular em *S. aureus* para concentrações abaixo da necessária para provocar o mesmo efeito em *E. coli*.

Além disso, vários fatores podem afetar a atividade antimicrobiana, entre os quais o tamanho das nanopartículas e, desta forma, a área de superfície, bem como a sua atividade em sinergia com outros agentes antimicrobianos (ESPITIA et al., 2012). Quando comparados os diferentes aditivos antimicrobianos frente à mesma bactéria, observa-se através da análise estatística que não houve diferença significativa entre ambos. Ou seja, um efeito antimicrobiano muito semelhante é observado para as NPs-ZnO e MCs-ZnO quando estudada a mesma estirpe bacteriana.

5.1.3 Análises térmicas do polímero biodegradável

Os *pellets* do polímero biodegradável Ecoflex[®] foram submetidos à caracterização térmica pelas técnicas de Análise Termogravimétrica (TGA) e por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). A partir destas análises foi possível avaliar o perfil de decomposição térmico do material polimérico em estudo. O termograma da análise bem como sua derivada para os *pellets* de Ecoflex[®] são apresentados na Figura 14.

Figura 14 - Termograma de TGA e Diferencial do termograma de TGA para o Ecoflex[®]



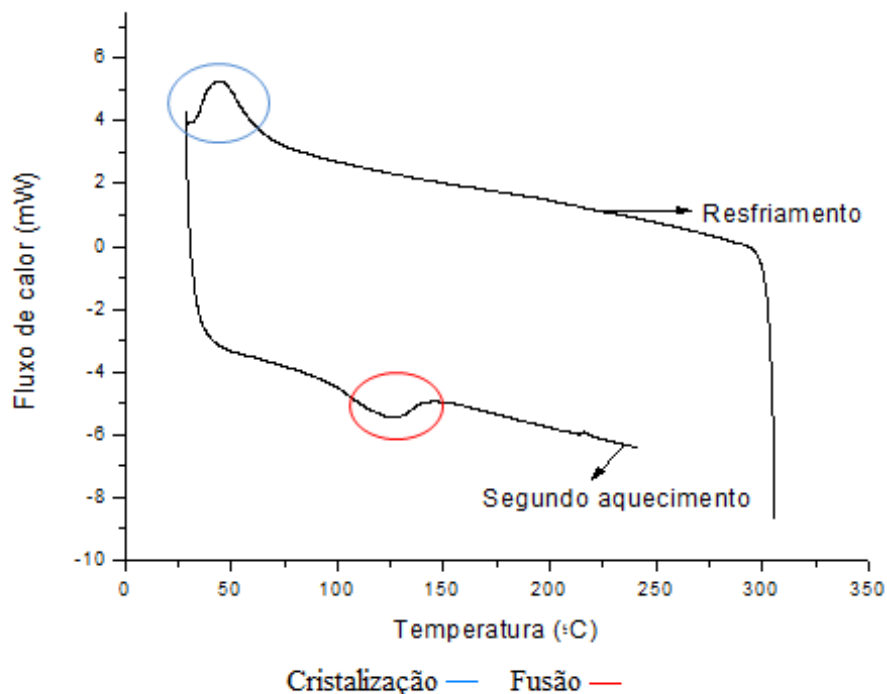
Conforme apresentado na Figura 14, verifica-se uma redução significativa na massa do polímero, a qual se inicia na temperatura aproximada de 320 °C, estendendo-se até a temperatura de aproximadamente 430 °C. Nesta faixa de temperatura ocorre uma severa degradação térmica do material, com perda de aproximadamente 90% da massa do mesmo.

Zehetmeyer (2016) encontrou resultados semelhantes aos do presente estudo, sendo que a degradação/decomposição iniciou na temperatura próxima de 320 °C e terminou em torno de 490 °C, apresentando mais de 90% de perda de massa. Vieira (2010), também encontrou resultados semelhantes ao do presente estudo, onde a degradação do Ecoflex[®] iniciou em uma temperatura aproximada de 300 °C e se estendeu até a temperatura de 485 °C.

De acordo com Ibrahim et al. (2011), o Ecoflex[®] apresenta dois principais estágios de degradação, em que o primeiro ocorre entre temperaturas de 340 e 400 °C, que pode ser devido à decomposição máxima do co-poliéster alifático ácido adípico e 1,4-butanodiol, já o segundo estágio ocorre em torno da temperatura de 600 °C, com a decomposição do co-poliéster aromático ácido tereftálico. Logo, durante o processamento térmico deste material polimérico, recomenda-se que a temperatura não ultrapasse os 320 °C, pois nesta temperatura inicia-se a degradação térmica do material, comprometendo a estrutura do mesmo.

A Figura 15 mostra a curva de calorimetria diferencial de varredura (DSC) da segunda rampa de aquecimento para o material polimérico comercial Ecoflex[®] e também a curva de resfriamento.

Figura 15 – Termograma de DSC para o Ecoflex[®] com as curvas de aquecimento e de resfriamento



Conforme observado na Figura 15, na curva do segundo aquecimento, é possível verificar que na temperatura de aproximadamente 126,45 °C ocorre uma transição de primeira

ordem, na qual a energia gasta é utilizada para realizar a fusão do material polimérico, estando este de acordo com o apresentado na ficha técnica do Ecoflex[®] fornecida pela BASF, que é na temperatura de 110 à 120 °C. Zehetmeyer (2016) desenvolveu embalagens ativas de PBAT/nisina e verificou que a temperatura de fusão do PBAT puro foi de 125,4 °C, estando de acordo com a encontrada no presente estudo. Vacciola (2015) obteve através da análise de DSC a temperatura de fusão do Ecoflex[®] de 119,7 °C, também estando próxima ao valor encontrado no presente estudo.

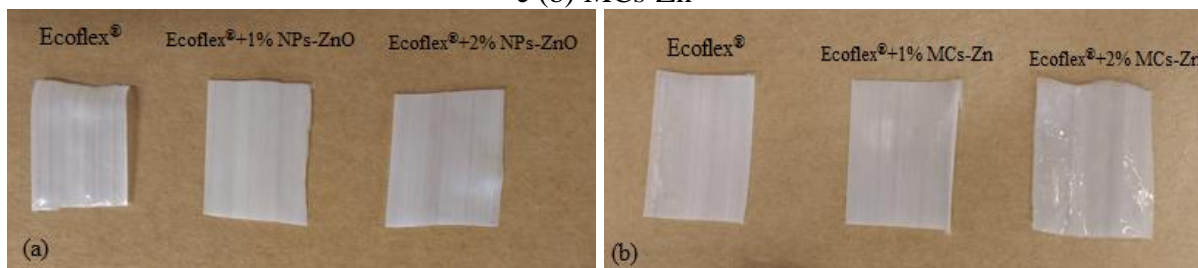
Através da Figura 15, verifica-se que quando o material é resfriado, na temperatura de aproximadamente 43 °C, ocorre outra transição na estrutura do material, sendo esta caracterizada como uma cristalização, referente ao pico de fusão apresentado na curva do segundo aquecimento. Pinheiro (2012) obteve uma temperatura de cristalização para o Ecoflex[®] de 42 °C, muito semelhante ao obtido no presente estudo. Alguns trabalhos como o de Vieira (2010) e Kuchnier (2014), obtiveram valores mais altos de temperatura de cristalização, sendo 56 °C e 81 °C, respectivamente. Este fato é justificado devido à sensibilidade deste polímero à taxa de resfriamento.

Pellicano (2008) verificou que utilizando-se diferentes taxas de aquecimento e resfriamento os valores de temperatura de fusão e cristalização são alterados para o Ecoflex[®], sendo que a temperatura de cristalização é mais afetada pela variação destes parâmetros. Quando utilizou uma taxa de aquecimento de 20 °C.min⁻¹ e taxa de resfriamento de 80 °C.min⁻¹, os valores de temperatura de fusão e cristalização foram de 120,4 e 29,8 °C, respectivamente. Para a taxa de aquecimento e resfriamento de 10 °C.min⁻¹ os valores de temperatura de fusão e cristalização foram de 121,5 e 42,4 °C, respectivamente. Logo, pode-se constatar que a temperatura de fusão é pouco afetada por diferentes taxas de aquecimento, entretanto a temperatura de cristalização sofre mudanças significativas, dependendo da taxa de resfriamento utilizada.

5.2 Resultados das caracterizações dos filmes poliméricos biodegradáveis obtidos com diferentes concentrações dos aditivos antimicrobianos

Uma imagem dos diferentes filmes poliméricos obtidos é apresentada na Figura 16, em que a Figura 16 (a) mostra os filmes aditivados com 1 e 2% (m/m) das NPs-ZnO e do filme sem aditivo, e a Figura 16 (b) apresenta os filmes aditivados com 1 e 2% (m/m) das MCs-Zn e do filme sem o aditivo.

Figura 16 - Filmes poliméricos biodegradáveis com diferentes concentrações de (a) NPs-ZnO e (b) MCs-Zn

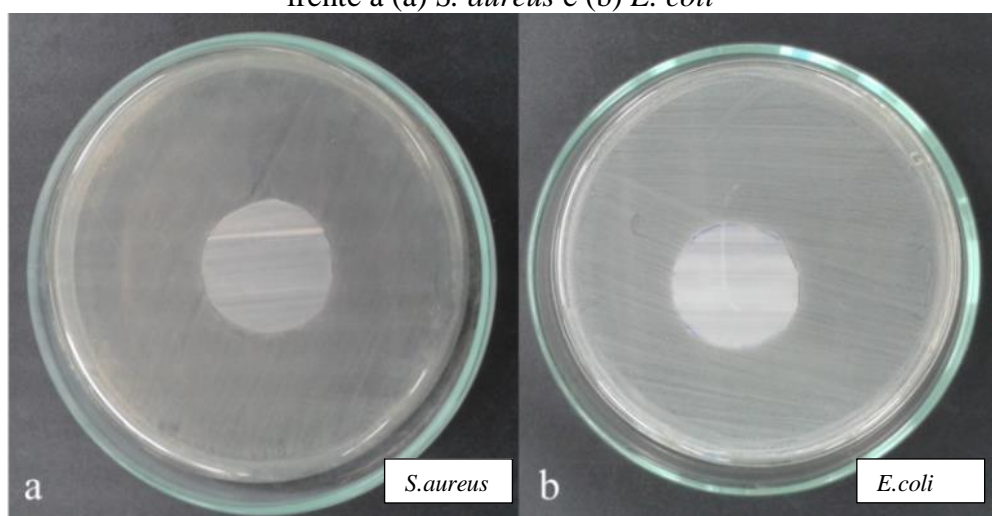


Conforme pode ser observado, pela Figura 16, houve uma variação na opacidade dos filmes poliméricos obtidos na presença dos diferentes aditivos antimicrobianos. Porém, são necessárias caracterizações específicas para determinar a real diferença entre os filmes.

5.2.1 Análises microbiológicas dos filmes poliméricos obtidos com os diferentes aditivos antimicrobianos e sem aditivo

Com o intuito de comprovar que o Ecoflex[®] por si só não é um agente antimicrobiano e que os agentes capazes de promover a inibição ou morte celular são os aditivos NPs-ZnO e MCs-Zn, o teste de difusão em meio sólido foi realizado para o filme de Ecoflex[®] puro, ou seja, sem a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn, para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, os resultados são apresentados na Figura 17 (a) e Figura 17 (b), respectivamente.

Figura 17 - Resultados dos testes de difusão em meio sólido para o filme de Ecoflex[®] puro frente à (a) *S. aureus* e (b) *E. coli*



Através da Figura 17, pode-se verificar que o Ecoflex[®] puro não apresentou atividade antimicrobiana para as bactérias estudadas, pois não houve a formação de halo e, conseqüente

inibição ou morte das bactérias, *S. aureus* e *E. coli*. Este resultado já era esperado visto que o polímero estudado não apresenta em sua composição aditivos antimicrobianos.

Quando adicionadas em diferentes matrizes, espera-se que as NPs-ZnO e as MCs-Zn sejam capazes de se difundir e migrar até a superfície da matriz e da superfície da matriz para o meio externo e desta forma, manifestar um comportamento antimicrobiano análogo ao que acontece com as mesmas puras. As Figuras 18 e 19 mostram os resultados para o ensaio de difusão em meio sólido para os filmes obtidos com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e para os filmes obtidos com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn, respectivamente, para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

Figura 18 - Análise microbiológica a partir do método de difusão em meio sólido para (a) Ecoflex[®] + 1% NPs-ZnO/*S. aureus* (b) Ecoflex[®] + 1% NPs-ZnO/*E. coli* (c) Ecoflex[®] + 2% NPs-ZnO/*S. aureus* (d) e Ecoflex[®] + 2% NPs-ZnO/*E. coli*

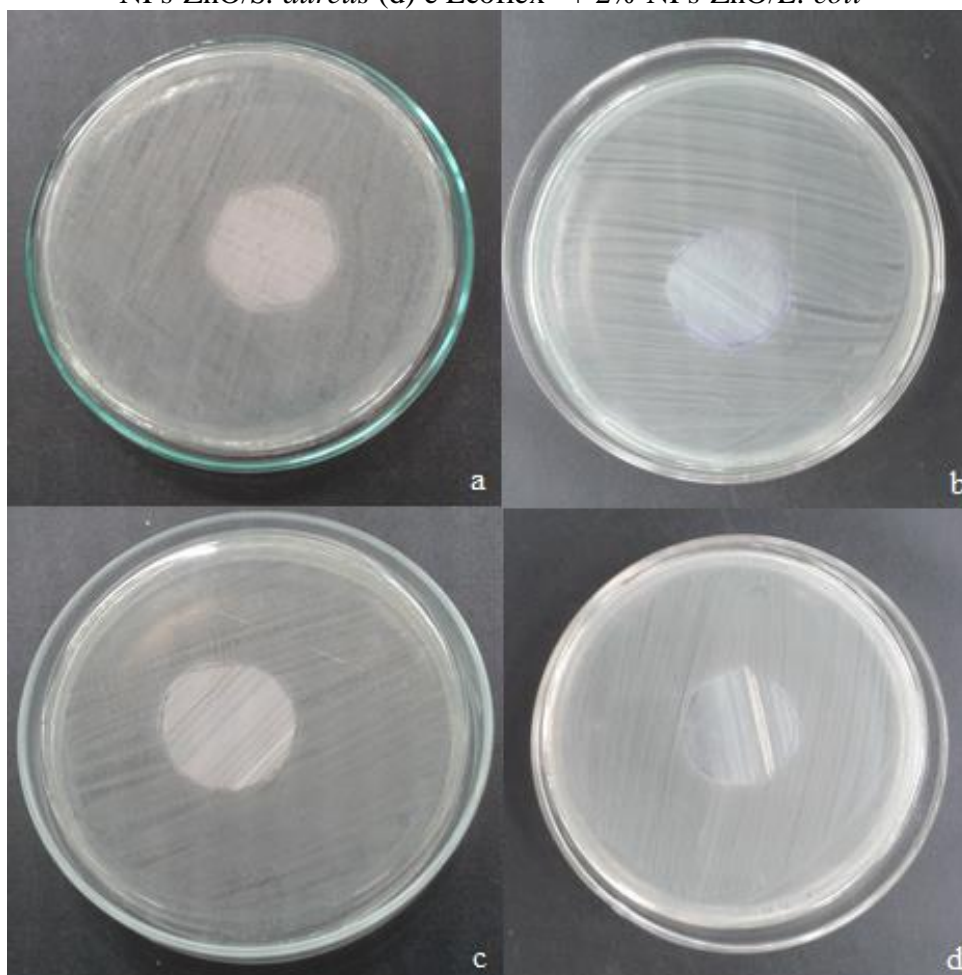
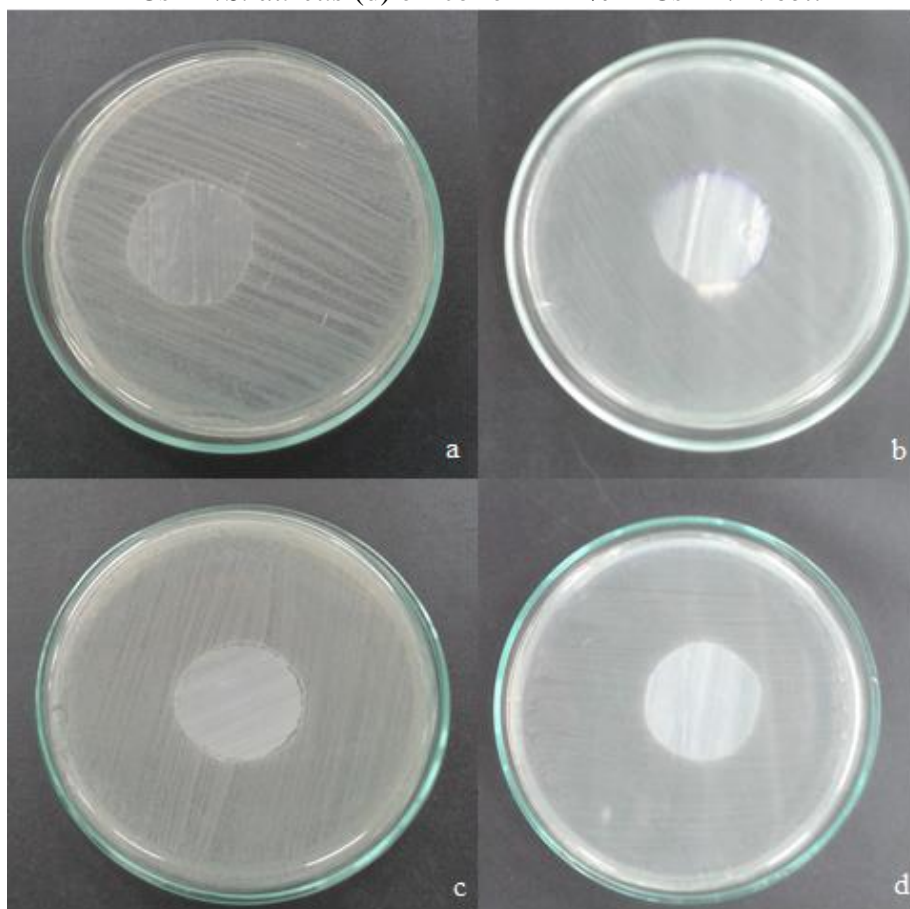


Figura 19 - Análise microbiológica a partir do método de difusão em meio sólido para (a) Ecoflex[®] + 1% MCs-Zn/*S. aureus* (b) Ecoflex[®] + 1% MCs-Zn/*E. coli* (c) Ecoflex[®] + 2% MCs-Zn/*S. aureus* (d) Ecoflex[®] + 2% MCs-Zn/*E. coli*



Conforme pode ser observado, pelas Figuras 18 e 19, não houve a formação do halo de inibição para nenhum dos filmes obtidos. Isso se deve, provavelmente, ao fato de que não ocorreu a difusão e/ou migração do composto antimicrobiano da superfície do filme para o meio externo. Ainda, a atividade antimicrobiana depende fortemente da distribuição dos agentes antimicrobianos na matriz polimérica, sendo que se esta não ocorrer de forma homogênea, às mesmas estarão distribuídas aleatoriamente nos filmes, prejudicando sua atividade (CHANG et al., 2014).

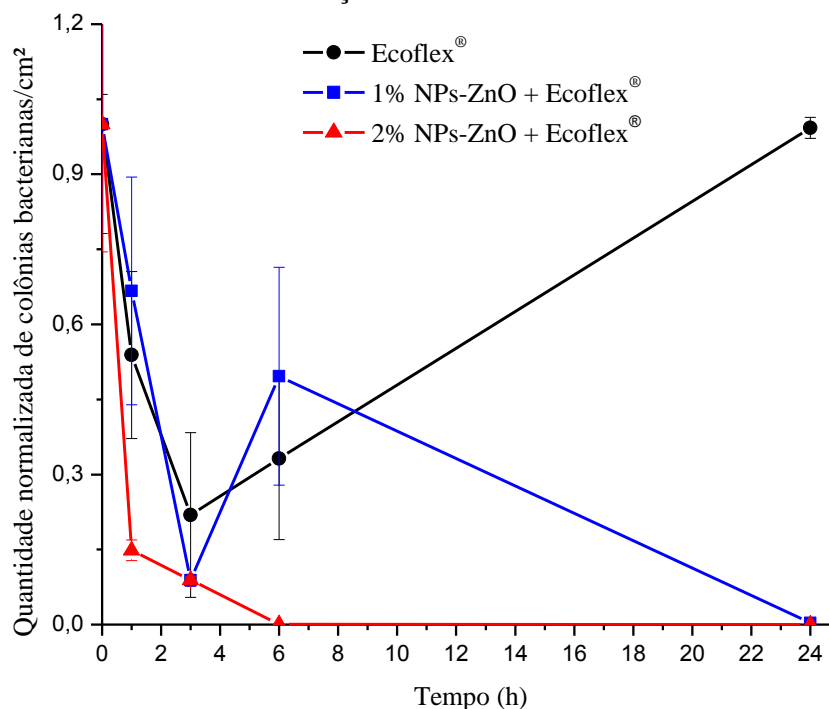
Um resultado semelhante foi obtido por Souza (2015b), que submeteu filmes de PEBD e PEBDL-AM (Anidrido Maleíco), aditivados com diferentes concentrações de NPs-ZnO ao teste de difusão em meio sólido para *S. aureus*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* e *B. cereus*, não observando a formação de halo de inibição, concluindo que os resultados obtidos sugerem que as NPs-ZnO ficaram aprisionadas no interior da matriz polimérica, não permitindo o

contato com os microrganismos e, portanto, não pronunciando o potencial efeito antimicrobiano das NPs-ZnO.

Com relação às microcápsulas de vidro, Santos et al. (2014) comentam que as partículas de vidro são relativamente grandes, inertes a reações químicas e apolares, e quando dispersas no volume de uma matriz polimérica, as partículas de vidro têm grande dificuldade em difundir para a superfície do polímero. Porém, o teste de difusão em meio sólido não é suficiente para verificar a atividade antimicrobiana de filmes poliméricos aditivados com NPs-ZnO e MCs-Zn. A normativa que regulamenta a atividade antimicrobiana de produtos antimicrobianos é JIS Z 2801-10, a partir do teste de curva de morte.

As Figuras 20 e 21 apresentam os resultados microbiológicos de curvas de morte para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente, obtidos para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO. O filme polimérico de Ecoflex[®] puro, ou seja, sem adição do aditivo, também foi submetido ao ensaio de curva de morte, sendo este a contraprova (branco). Os resultados são expressos em quantidade normalizada de colônias bacterianas por cm² de amostra.

Figura 20 - Curva de morte para a bactéria *S. aureus* obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e para o filme polimérico Ecoflex[®] sem a adição de NPs-ZnO



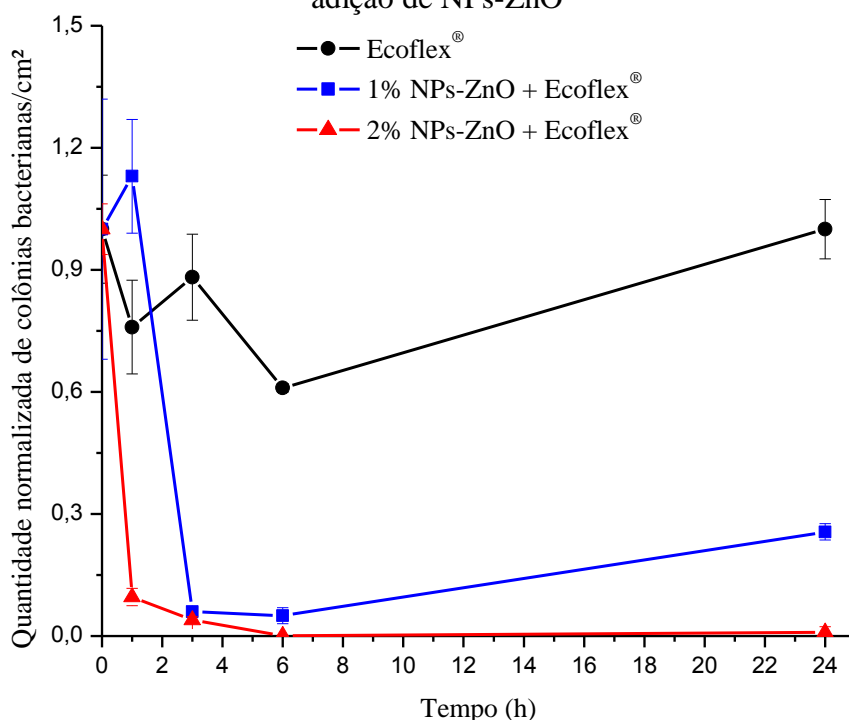
Como pode ser observado na Figura 20, ambos os filmes poliméricos apresentaram atividade antimicrobiana contra a bactéria *S. aureus*. Verifica-se que para a maior

concentração de aditivo (2% m/m), a partir de 6 h de contato dos microrganismos com o filme polimérico, houve 100% de morte das bactérias. Para o filme polimérico aditivado com 1% (m/m) de NPs-ZnO, a redução foi de 99,7% de células bacterianas, em um tempo de 24 h.

Verificou-se um grande desvio padrão amostral no filme polimérico aditivado com 1% de NPs-ZnO, devido provavelmente a eliminação não uniforme dos microrganismos na superfície do filme, causada pela formação de grandes regiões ausentes de aditivos, devido à aglomeração das NPs-ZnO. Vale ressaltar que para cada tempo de análise foi utilizada uma amostra de filme polimérico distinta, sendo essa amostra destrutiva, logo, não era garantida uma distribuição homogênea dos agentes antimicrobianos nos filmes poliméricos em diferentes tempos de análise, fato este que possivelmente contribui na dispersão dos resultados obtidos na curva de morte.

Para o Ecoflex[®] puro, a quantidade de bactérias após 24 h de análise é muito semelhante à quantidade inicial, mostrando que este polímero por si só não atua como agente antimicrobiano. Porém, nas primeiras horas de contato das bactérias com o filme polimérico houve uma redução da contagem de células bacterianas, possivelmente devido a adaptação das mesmas, que gera um estresse levando algumas células à morte.

Figura 21 - Curva de morte para a bactéria *E. coli* obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e para o filme polimérico Ecoflex[®] sem adição de NPs-ZnO



Através da Figura 21, verifica-se que, para a bactéria *E. coli*, há uma queda brusca na quantidade de colônias bacteriana na primeira hora de contato com o filme, e após 24 h

atinge-se um percentual de remoção de 77,5% para o filme polimérico aditivado com 1% (m/m) de NPs-ZnO e 99,1% para o filme aditivado com 2% (m/m) de NPs-ZnO. Com o resultado da curva de morte em 24 h de contato da bactéria com o filme polimérico aditivado, verifica-se que o aditivo não foi capaz de causar a morte de 100% das células bacterianas. Isso deve-se possivelmente a maior resistência, ocasionada pela proteção da membrana citoplasmática interior, que esta classe de bactéria apresenta, quando comparada as bactérias gram-positivas (MUÑOZ-BONILLA e FERNÁNDEZ-GARCÍA, 2012).

Kirschner et al. (2017) estudaram a incorporação do *masterbatch* de PEBD/NPs-ZnO em PA6 e testaram sua atividade antimicrobiana frente à *S. typhimurium* e *S. aureus*. Os autores verificaram que a atividade antibacteriana é evidente, mas foi observada uma elevada dispersão para os valores medidos. A alta dispersão pode ser associada a uma possível falta de homogeneização na matriz da PA6-PEBD/NPs-ZnO. As nanopartículas formam aglomerados e dessa forma a distribuição das mesmas fica prejudicada, impossibilitando que a atividade antimicrobiana seja verificada em toda a extensão do filme.

As Figuras 22 e 23 apresentam os resultados microbiológicos de curvas de morte para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente, obtidos para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn. As Figuras apresentam também a curvas de morte obtidas para o filme polimérico de Ecoflex[®] puro, ou seja, sem aditivo, o qual foi usado como contraprova (branco).

Através da Figura 22, quando avaliada a atividade antimicrobiana do filme polimérico aditivado com 1% (m/m) de MCs-Zn frente à *S. aureus*, é possível verificar que após 6 h de contato do filme polimérico com a referida bactéria houve uma redução bacteriana considerável, sendo que em 24 h ocorre a morte de 100% das colônias bacterianas. Já, para o filme polimérico aditivado com 2% de MCs-Zn, é possível verificar que após 1 h de análise houve a morte de 100% das colônias bacterianas. O percentual de aditivo é um fator positivo na redução do tempo de morte celular quando avaliada a bactéria *S. aureus*

Figura 22 - Curva de morte para a bactéria *S. aureus* obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn e para o filme polimérico Ecoflex[®] sem adição de MCs-Zn

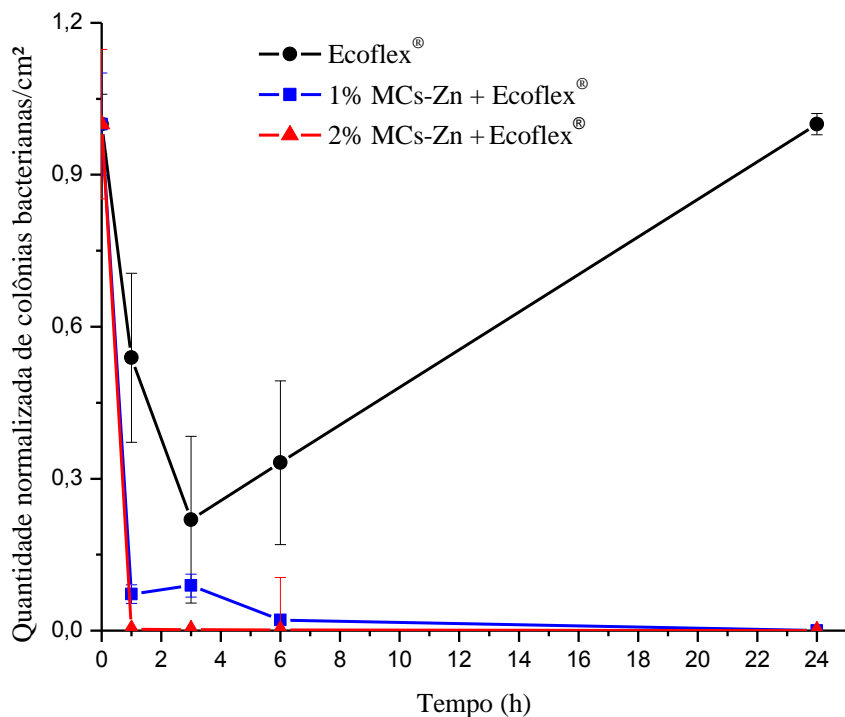
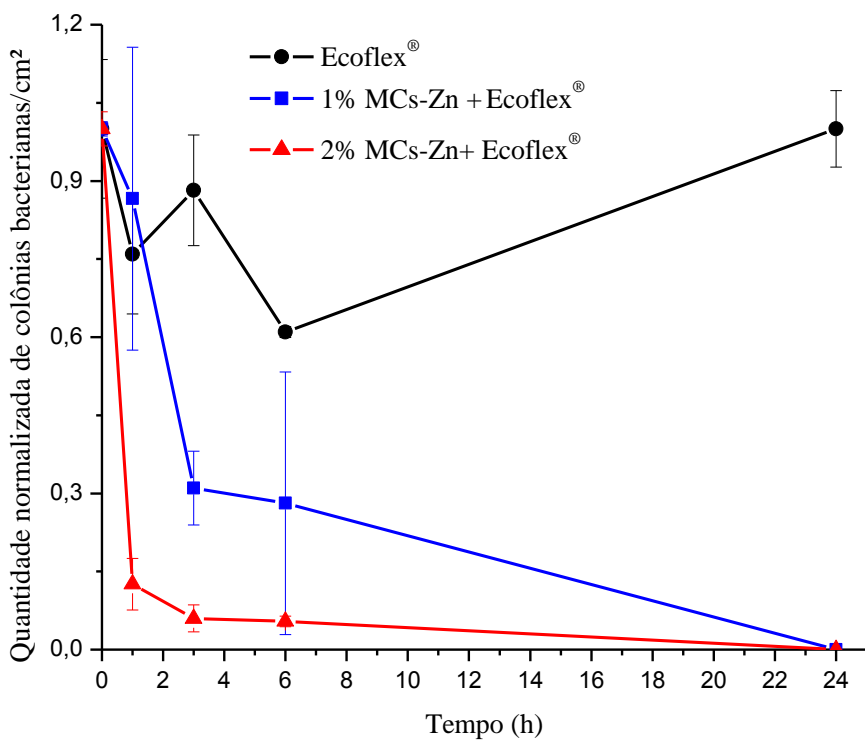


Figura 23 - Curva de morte para a bactéria *E. coli* obtida com os filmes poliméricos de Ecoflex[®] aditivados com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn e para o filme polimérico Ecoflex[®] sem adição de MCs-Zn



Através da Figura 23, verifica-se que tanto para 1 quanto para 2% de MCs-Zn, após 24 h de contato do filme polimérico com a bactéria *E. coli*, 100% da morte celular foi observada, mostrando-se como potencial agente antimicrobiano. Novamente, o efeito antimicrobiano foi menor ao longo do tempo para *E. coli* quando comparado a *S. aureus*, fato este já esperado devido a diferença na parede celular dessas bactérias. Verificou-se ainda, um grande desvio padrão amostral para o filme polimérico aditivado com 1% de MCs-Zn, este fato deve-se possivelmente a eliminação não uniforme dos microrganismos na superfície do filme.

Kirschner et al. (2017) estudaram a incorporação do *masterbatch* de PEBD/microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico em PA6 e testaram sua atividade antimicrobiana frente à *S. typhimurium* e *S. aureus*. Quando avaliada a atividade antimicrobiana do *masterbatch* de PEBD/microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico em PA6 frente à *S. typhimurium* verificou-se que, para o maior percentual de *masterbatch* (4%) os efeitos antibacterianos foram mais pronunciados. Para *S. aureus* a análise mostrou que a PA6-PEBD/microcápsulas de vidro dopadas com zinco iônico têm excelente atividade antimicrobiana em ambos os percentuais de *masterbatch* testados (2 e 4%). Os autores concluíram que mesmo em pequenos percentuais do *masterbatch*, o efeito antibacteriano é significativo frente a *S. aureus*, sendo um percentual maior necessário para causar o mesmo efeito contra *S. typhimurium*, corroborando o fato da diferença na parede celular dessas bactérias.

Quando submetidos esses resultados, de curva de morte (Figura 21 à 24), à análise estatística, conforme mostra a Tabela 3, verificou-se que, para as nanopartículas (NPs-ZnO), não houve diferença significativa com um nível de confiança de 95% entre a concentração de 1 e 2% do aditivo antimicrobianos após 24 h de contato entre os filmes poliméricos e a bactéria *S. aureus*, apenas, houve diferença estatisticamente significava entre o filme de Ecoflex[®] puro e os diferentes percentuais de NPs-ZnO. Já para a bactéria *E. coli*, verificou-se que o filme de Ecoflex[®] puro diferiu estatisticamente dos filmes aditivados com 1 e 2% de NPs-ZnO e que houve diferença estatisticamente significativa entre os percentuais de aditivos.

Para as microcápsulas, MCs-Zn, a análise estatística, Tabela 3, mostra que há diferença significativa entre o filme de Ecoflex[®] puro e os filmes obtidos com diferentes percentuais de MCs-Zn após 24 h de análise e, que não há diferença estatisticamente significativa entre os aditivos antimicrobianos. Para a bactéria *E. coli*, verificou-se que há diferença significativa entre o filme de Ecoflex[®] puro e os filmes obtidos com diferentes

percentuais de MCs-Zn após 24 h de análise e, que não há diferença estatisticamente significativa entre os aditivos antimicrobianos quando testados frente à bactéria gram-negativa *E. coli*.

Tabela 3 - Resultados da análise microbiológica de curva de morte para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% de MCs-Zn

Amostra	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	0 h	24 h	0 h	24 h
Ecoflex [®]	1,000±0,059 ^{aA}	1,000±0,020 ^{aA}	1,000±0,133 ^{aA}	1,000±0,073 ^{aA}
1% NPs-ZnO	1,000±0,218 ^{aA}	0,003±0,005 ^{bB}	1,000±0,319 ^{aA}	0,256±0,020 ^{bA}
2% NPs-ZnO	1,000±0,255 ^{aA}	0,000±0,000 ^{bB}	1,000±0,063 ^{aA}	0,009±0,013 ^{cB}
1% MCs-Zn	1,000±0,101 ^{aA}	0,000±0,000 ^{bB}	1,000±0,014 ^{aA}	0,000±0,000 ^{cB}
2% MCs-Zn	1,000±0,158 ^{aA}	0,000±0,000 ^{bB}	1,000±0,033 ^{aA}	0,000±0,000 ^{cB}

* Letras maiúsculas iguais representam que não há diferenças significativas entre colunas e letras minúsculas iguais representam que não há diferenças significativas entre linhas (p<0,05)

Através da análise estatística, é possível dizer que o filme de Ecoflex[®] puro diferiu significativamente dos diferentes percentuais de NPs-ZnO e MCs-Zn, quando avaliada a atividade antimicrobiana frente à *S. aureus* e *E. coli*, após 24 h de análise. Para a bactéria *S. aureus* verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre nenhum dos aditivos bem como entre os diferentes percentuais de aditivos avaliados no tempo de 24 h. Para *E. coli*, o percentual de 1% de NPs-ZnO diferiu estatisticamente de 2% de NPs-ZnO e 1 e 2% de MCs-Zn no tempo de 24 h.

Logo, para o combate da bactéria gram-positiva *S. aureus* após 24 h é indiferente o aditivo antimicrobiano e o percentual de massa utilizado. Desta forma, pode-se optar pela menor concentração de aditivo que é de 1% (m/m), o que é menos custoso e pelas MCs-Zn, que possuem a vantagem de não ser obtidas pela tecnologia nano, que possuem um pré-conceito em torno da sua forma de obtenção. Para a bactéria gram-negativa *E. coli*, pode-se optar também pela utilização de 1% (m/m) de MCs-Zn. Ainda, pode-se dizer que as MCs-Zn distribuem-se mais uniformemente na matriz polimérica quando comparadas as NPs-ZnO, que formam aglomerados prejudicando desta forma a atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos aditivados com diferentes percentuais de NPs-ZnO pode ser prejudicada devido uma possível aglomeração das NPs-ZnO ao longo da matriz polimérica, que pode promover a formação de *clusters* localizados em regiões específicas das placas de amostra (KIRSCHNER et al., 2017).

A Tabela 4 apresenta o percentual de redução das referidas bactérias após 24 h de contato com os filmes poliméricos aditivados com NPs-ZnO e com MCs-Zn e também do filme polimérico não aditivado, ou seja, do Ecoflex[®] puro.

Tabela 4 - Porcentagem de redução de colônias bacterianas de *S. aureus* e *E. coli* após 24 h de contato com os filmes poliméricos obtidos

Amostras	% de redução <i>S. aureus</i>	% de redução <i>E. coli</i>
Ecoflex [®] puro	0,0±0,0	21,9±5,3
Ecoflex [®] + 1% NPs-ZnO	99,7±0,5	77,5±1,8
Ecoflex [®] + 2% NPs-ZnO	100,0±0,0	99,1±1,2
Ecoflex [®] + 1% MCs-Zn	100,0±0,0	100,0±0,0
Ecoflex [®] + 2% MCs-Zn	100,0±0,0	100,0±0,0

A partir da Tabela 4 verifica-se que para o filme de Ecoflex[®] sem aditivo houve uma redução de 21,9% para o ensaio microbiológico realizado com *E. coli*, possivelmente devido à falta de nutrientes e umidade, levando a morte celular. Kirschner et al. (2017) verificaram que quando avaliado somente a PA6 sem o *masterbatch*, os resultados microbiológicos mostraram que a partir de 400 min a quantidade de ambas as bactérias em estudo decresce, fato este, que pode ser explicado devido a redução da umidade na placa, levando algumas células bacterianas à morte. Segundo Tortora, Funke e Case (2017) a morte das bactérias ocorre naturalmente devido à ausência de nutrientes e água na superfície suficiente para manter os microrganismos vivos. Logo, o PA6 sem o *masterbatch* não é capaz de causar a morte das células bacterianas, estas morrem devido as condições do meio não serem adequadas para seu crescimento.

Para os demais casos a quantidade de bactérias se manteve constante após 24 h, observando-se um leve decréscimo na fase inicial, período este de adaptação dos microrganismos, ou seja, alguns morrem e outros se adaptam e assim após as 24 h de análise a quantidade final de células bacterianas é praticamente igual à quantidade inicial de células bacterianas.

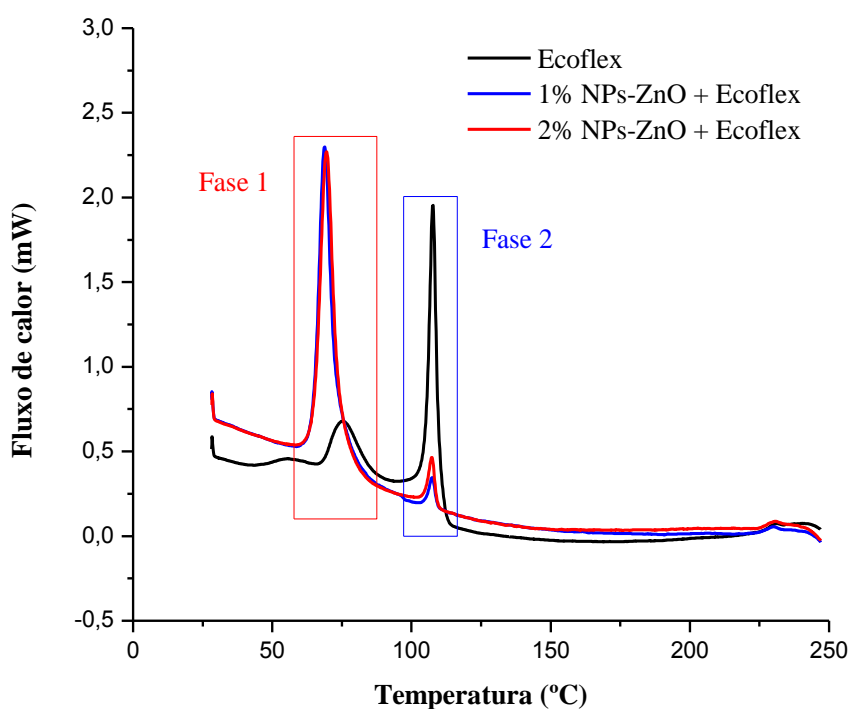
5.2.2 Resultados da análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) dos filmes poliméricos obtidos

Após a obtenção dos filmes poliméricos realizou-se a caracterização térmica apenas pelo DSC, sendo o TGA desnecessário em virtude de que os aditivos antimicrobianos não

alteram significativamente a degradação térmica quando incorporados à matriz polimérica, conforme apresentado por Scheibel, Zehetmeyer e Oliveira (2013). Os aditivos antimicrobianos não interagem quimicamente com o polímero apenas fisicamente o que é mostrado no ensaio de DSC.

Os termogramas de DSC de resfriamento para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] com 1 e 2 % de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% de MCs-Zn estão apresentados nas Figuras 24 e 26, respectivamente, e os termogramas de DSC de para o segundo aquecimento para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] com 1 e 2 % de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% de MCs-Zn estão apresentados nas Figuras 25 e 27, respectivamente. Ambas as Figuras apresentam também os termogramas para o filme polimérico de Ecoflex[®] puro. Esta análise foi realizada a fim de estudar o efeito dos agentes antimicrobianos no comportamento térmico do Ecoflex[®].

Figura 24 - Termograma de DSC de resfriamento para o Ecoflex[®] puro e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO

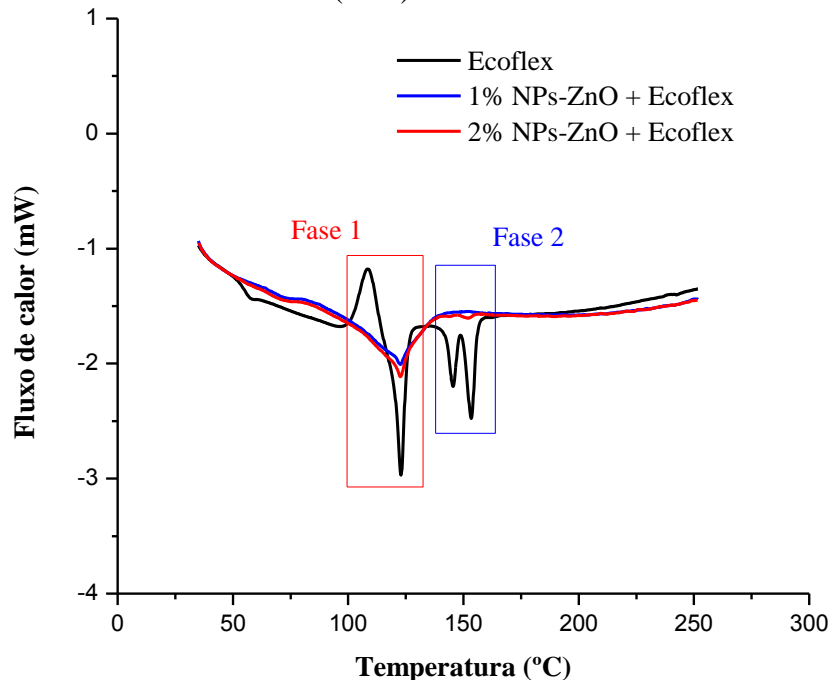


Através da Figura 24 verifica-se a presença de dois picos exotérmicos distintos referentes à cristalização dos filmes poliméricos, um em uma temperatura aproximada de 70 °C (denominada Fase 1) e outro na temperatura de 108 °C (denominada Fase 2). Na Fase 1, os picos maiores são para os filmes poliméricos aditivados com 1 e 2% de NPs-ZnO. Isso indica que houve a formação de uma maior quantidade de cristais nesses filmes poliméricos quando resfriados. Logo, pode-se dizer que as NPs-ZnO favorecem a nucleação da Fase 1. Os agentes

nucleantes são usados em polímeros justamente para aumentar a taxa de cristalização, ou seja modificar a temperatura de cristalização. Neste caso, pode-se verificar que a adição das NPs-ZnO deslocou a temperatura de cristalização para temperaturas mais baixas quando comparado ao polímero sem aditivo. Desta forma, é possível dizer que as NPs-ZnO favoreceram a cristalinidade do filme polimérico. Quando comparado os filmes poliméricos com as diferentes proporções de aditivo (1 e 2%), observa-se que praticamente não houve alterações de temperatura e na taxa de cristalização.

Com relação a Fase 2, da Figura 24, observa-se que o pico do filme polimérico Ecoflex[®] puro é consideravelmente maior quando comparado aos filmes poliméricos aditivados com 1 e 2% de NPs-ZnO, liberando uma quantidade de energia maior, em virtude da maior quantidade de cristais. Ainda, verifica-se que a temperatura de cristalização é praticamente a mesma para todos os filmes poliméricos obtidos. De acordo com Zehetmeyer (2016), na presença de alguns aditivos, tais como antimicrobianos, estes podem reduzir o espaço disponível para o crescimento dos cristais, reduzindo assim a cristalinidade e induzindo variações nas propriedades térmicas e mecânicas.

Figura 25 – Termograma de DSC para o 2º aquecimento do Ecoflex[®] puro e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO



Pode-se observar também, pela Figura 25, que a adição de NPs-ZnO alterou a cristalinidade do Ecoflex[®], tornando os filmes poliméricos mais cristalinos na denominada Fase 1, com uma conformação de cristais diferenciada, devido a largura do pico. A adição das NPs-ZnO não altera a temperatura de fusão dos filmes poliméricos obtidos na Fase 1, sendo

essa semelhante à do Ecoflex[®] puro, temperatura de 126,45 °C, porém, observa-se que a adição das mesmas faz com que seja necessária uma energia maior para que ocorra a fusão dos filmes. Fato este, já esperado, devido à quantidade maior de cristais formados nesta fase, quando comparado ao Ecoflex[®] puro, necessitando assim uma maior energia para que ocorra a fusão.

Tais resultados podem ser avaliados também através dos valores da variação da entalpia obtidos no termograma de resfriamento e de aquecimento, apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores de variação da entalpia referentes aos picos das fases denominadas 1 e 2 para o resfriamento e aquecimento para o filme polimérico de Ecoflex[®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO

Amostra	Resfriamento		Aquecimento	
	ΔH (J/g) fase 1	ΔH (J/g) fase 2	ΔH (J/g) fase 1	ΔH (J/g) fase 2
Ecoflex [®]	6,79	5,11	22,40	21,95
1% NPs-ZnO	13,02	1,07	58,32	-
2% NPs-ZnO	13,02	1,32	74,61	-

Através da Tabela 5, verifica-se que na Fase 1, tanto para o resfriamento como o aquecimento, a adição das NPs-ZnO no filme polimérico aumentou a variação da entalpia, deixando-os mais cristalinos, quando comparado ao Ecoflex[®] puro. E com relação a Fase 2, a variação da entalpia dos picos com aditivo foi menor no resfriamento e deixou de existir no aquecimento. Ou seja, observa-se que a partir da adição de 1 e 2% de NPs-ZnO, o pico que antes existia para o Ecoflex[®] puro desaparece na Fase 2, tornando os filmes menos cristalinos.

Scheibel, Zehetmeyer e Oliveira (2013) adicionaram NPs-Ag ao PBAT e verificaram que houve um leve aumento na temperatura de cristalização, bem como na taxa de cristalinidade do material com maior porcentagem de carga. Por outro lado, as temperaturas de fusão dos nanocompósitos não apresentaram variação significativa.

O mesmo comportamento é observado para os filmes poliméricos aditivados com as MCs-Zn. Em que os termogramas de DSC de resfriamento e segundo aquecimento são apresentados nas Figuras 26 e 27, respectivamente, e os valores da variação de entalpia, na Tabela 6.

Figura 26 - Termograma de DSC de resfriamento para o filme polimérico Ecoflex[®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

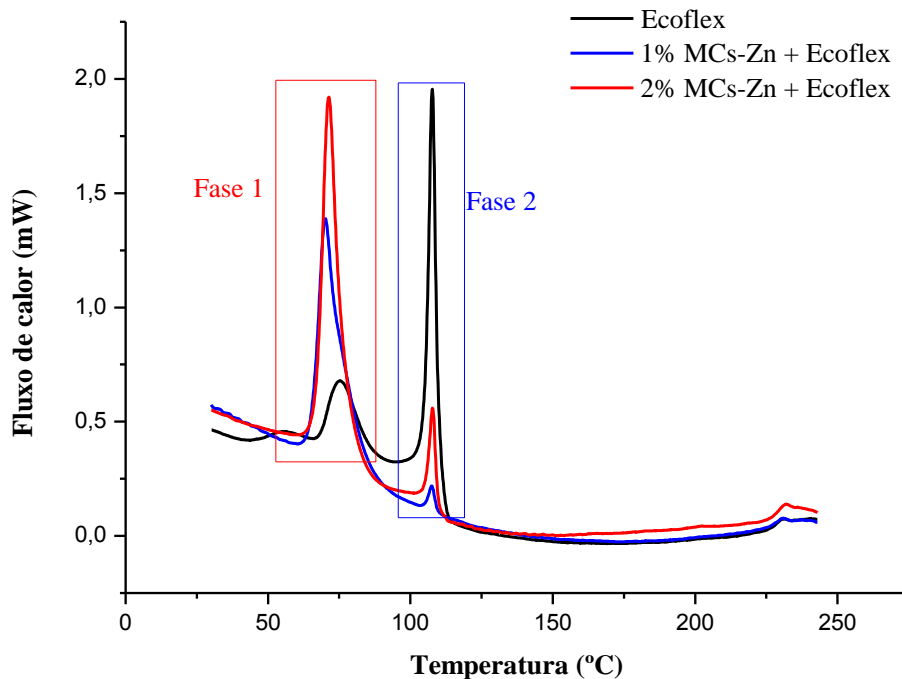


Figura 27 – Termograma de DSC para o 2º aquecimento do filme polimérico Ecoflex[®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex[®] com 1 e 2% m/m de MCs-Zn

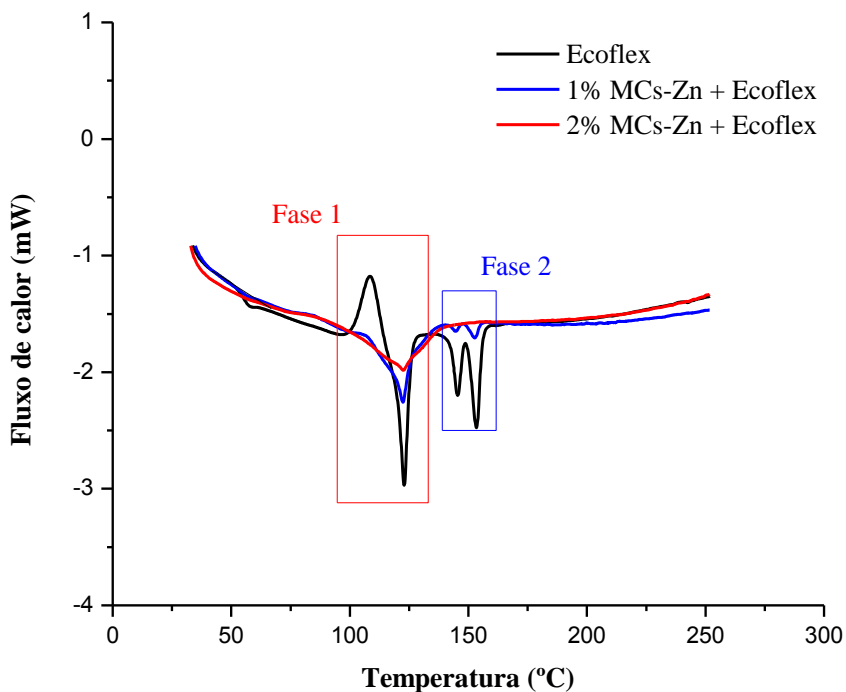


Tabela 6 – Valores de variação de entalpia referentes aos picos das fases denominadas 1 e 2 para o filme polimérico de Ecoflex[®] puro e para os filmes poliméricos Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

Amostra	Resfriamento		Aquecimento	
	ΔH (J/g) fase 1	ΔH (J/g) fase 2	ΔH (J/g) fase 1	ΔH (J/g) fase 2
Ecoflex [®]	6,82	5,58	21,82	23,08
1% MCs-Zn	11,87	5,17	43,02	23,19
2% MCs-Zn	11,19	0,48	57,16	-

Conforme pode ser observado pelas Figuras 26 e 27, com a adição das MCs-Zn um comportamento térmico muito semelhante ao que acontece com as NPs-ZnO é observado. Entretanto, na presença das NPs-ZnO o efeito é mais pronunciado devido a maior quantidade de zinco, aproximadamente 80% destas é zinco (valor obtido através da razão entre o peso molecular do zinco e do óxido de zinco). As MCs-Zn, são formadas por vidro e Zn²⁺, sendo que apenas 20% destas é zinco, considerando-se a eficiência de troca do sódio pelo zinco de 100%.

Por meio da Figura 26, termograma de DSC do resfriamento, verifica-se a presença de dois picos exotérmicos distintos referentes à cristalização dos filmes poliméricos. Na denominada Fase 1, os picos maiores são para os filmes poliméricos aditivados com 1 e 2% de MCs-Zn, implicando em uma maior cristalização dos filmes poliméricos aditivados quando comparados ao Ecoflex[®] puro. As MCs-Zn também atuam como agentes nucleantes na Fase 1. Através da Tabela 6, verifica-se que as maiores variações de entalpia são para os filmes aditivados com 1 e 2% de MCs-Zn. A adição das MCs-Zn deslocou a temperatura de cristalização para temperaturas mais baixas. Porém, observa-se que as alterações de temperatura são pouco significativas, quando se compara os filmes poliméricos aditivados com MCs-Zn e para o filme polimérico Ecoflex[®] puro.

Durante o resfriamento, na denominada Fase 2, o pico do Ecoflex[®] puro é nitidamente maior quando comparado com os filmes poliméricos aditivados com as MCs-Zn, liberando uma quantidade de energia superior em virtude da presença mais acentuada de cristais, corroborando o fato da variação de entalpia do Ecoflex[®] puro ser maior. Pode-se notar também, pela Figura 26, que a temperatura de cristalização é praticamente a mesma para todos os filmes poliméricos obtidos.

Ainda, quando comparada a variação da entalpia da Fase 2 do resfriamento para os filmes poliméricos aditivados com NPs-ZnO e MCs-Zn, Tabela 5 e 6, respectivamente,

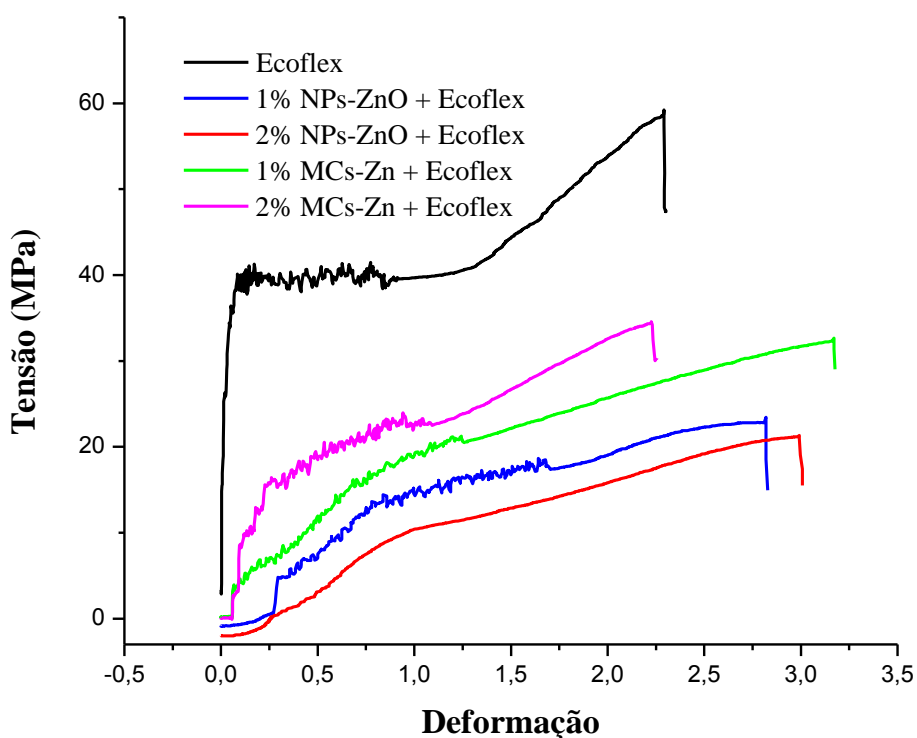
verifica-se que é necessário uma quantidade maior de massa de MCs-Zn para se obter o mesmo efeito observado nas NPs-ZnO, haja vista, que com 1% NPs-ZnO a variação da entalpia é de 1,07 J/s, sendo um valor muito próximo deste alcançado apenas com 2% de MCs-Zn.

Quando comparado a denominada Fase 2 do segundo aquecimento para ambos os polímeros com aditivos antimicrobianos, através das Figuras 25 e 27, percebe-se que na presença das NPs-ZnO, em ambas as concentrações de estudo, o pico que antes existia para o Ecoflex[®] puro deixa de existir. Porém, para as MCs-Zn esse fato é observado apenas para a maior concentração de aditivo, logo, necessita-se de uma quantidade maior das mesmas para se obter o mesmo efeito observado para 1% de NPs-ZnO.

5.2.3 Resultados dos ensaios mecânicos de tração para os filmes poliméricos obtidos

A fim de verificar se a adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn altera as propriedades mecânicas do Ecoflex[®] puro, ensaios mecânicos de tração foram realizados para todos os filmes poliméricos obtidos. A Figura 28 apresenta o digrama de tensão em função da deformação para todas as amostras analisadas.

Figura 28 - Diagrama característico de tensão em função da deformação para o filme polimérico de Ecoflex[®] puro, e para os filmes poliméricos contendo 1% NPs-ZnO + Ecoflex[®], 2% NPs-ZnO + Ecoflex[®], 1% MCs-Zn + Ecoflex[®] e 2% MCs-Zn + Ecoflex[®]



Como pode-se observar, através da Figura 28, houveram possíveis diminuições no módulo de elasticidade e tensão a partir da adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn em diferentes concentrações. A diferença nas propriedades mecânicas entre os filmes poliméricos aditivados com diferentes agentes antimicrobianos é pequena, possivelmente devido à erros experimentais e a célula de carga usada no experimento não ser sensível a ponto de detectar pequenas variações nas propriedades dos filmes.

As Figuras 29, 30, 31 e 32 mostram os resultados de tensão máxima, tensão de ruptura, deformação e módulo de elasticidade, respectivamente. A Tabela 7 mostra os valores médios para cada um desses parâmetros com seu respectivo desvio padrão juntamente com a análise estatística.

Figura 29 - Média e desvio padrão para a tensão máxima das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

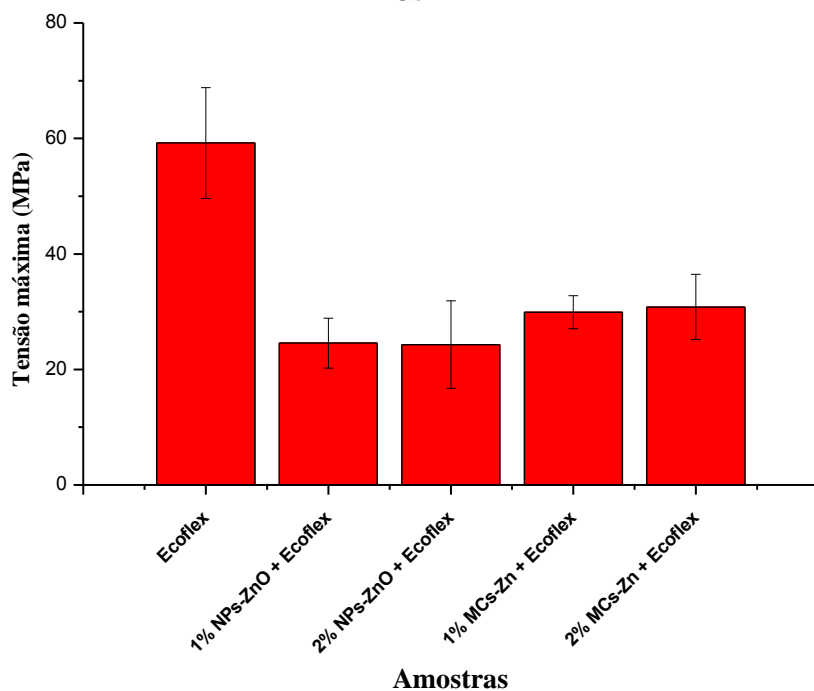


Figura 30 - Média e desvio padrão para a tensão de ruptura das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

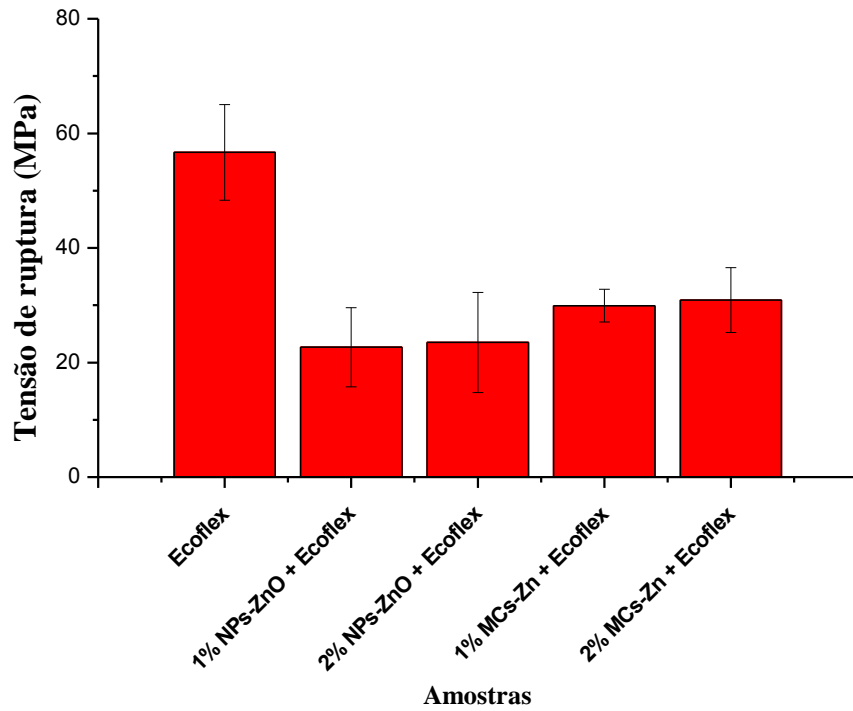


Figura 31 - Média e desvio padrão para a deformação das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

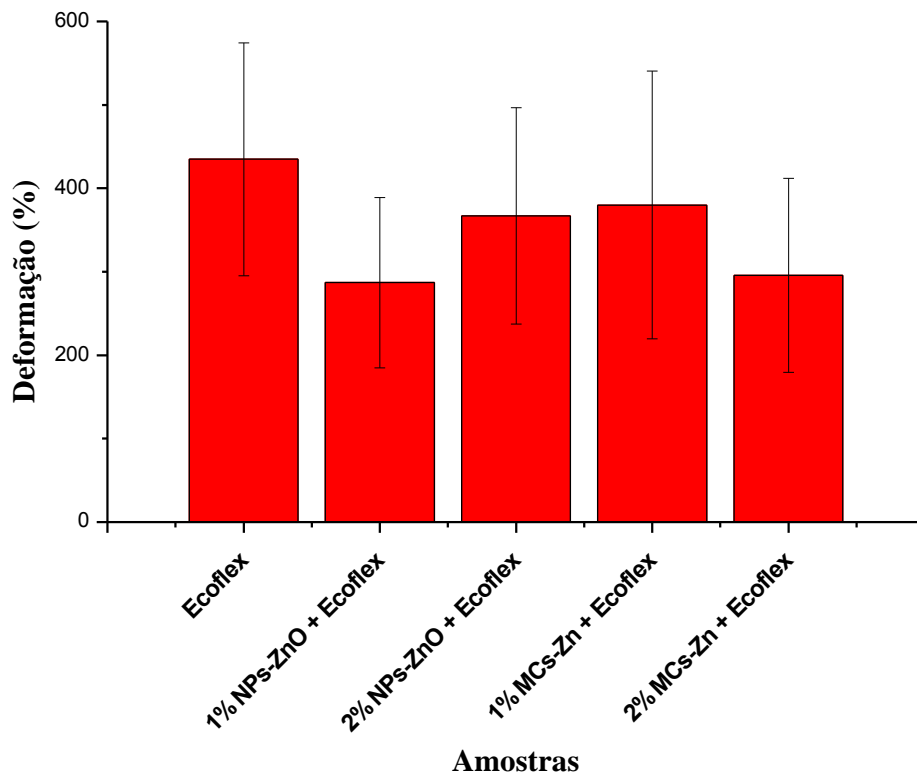


Figura 32 - Média e desvio padrão para o módulo de elasticidade das amostras dos filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de MCs-Zn

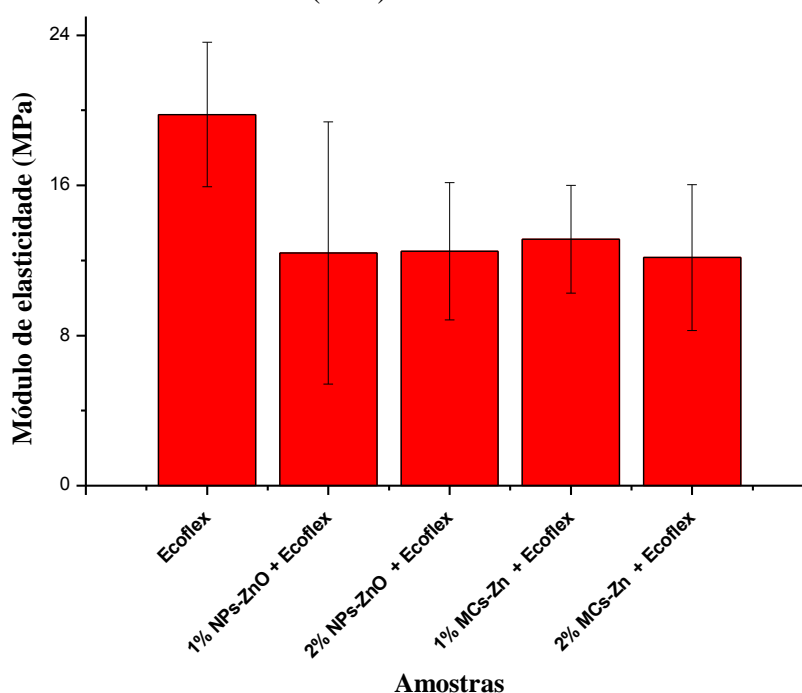


Tabela 7 - Resultado das propriedades mecânicas de tração para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, do Ecoflex[®] com 1 e 2% de NPs-ZnO e do Ecoflex[®] com 1 e 2% de MCs-Zn

Amostra	Tensão Máxima (MPa)	Tensão de Ruptura (MPa)	Deformação (%)	Módulo de elasticidade (MPa)
Ecoflex [®]	56,68±8,36 ^a	59,20±9,60 ^a	434,78± 139,50 ^a	19,77±3,85 ^a
1% NPs-ZnO	22,66±6,91 ^b	24,56±4,30 ^b	286,89± 101,81 ^a	12,40±6,99 ^a
2% NPs-ZnO	23,50±8,72 ^b	24,28±7,57 ^b	366,87± 129,62 ^a	12,48±3,66 ^a
1% MCs-Zn	29,92±2,86 ^b	29,92±2,86 ^b	379,90± 160,39 ^a	13,12±2,87 ^a
2% MCs-Zn	30,88±5,66 ^b	30,88±5,66 ^b	295,58± 116,27 ^a	12,16±3,89 ^a

* Letras minúsculas iguais representam que não há diferenças significativas na coluna (p<0,05)

Conforme ilustrado na Figura 28 e apresentado na Tabela 7, a adição dos aditivos antimicrobianos leva a possíveis diminuições nas propriedades mecânicas dos filmes poliméricos. Quando avaliado a tensão máxima, Figura 29 e Tabela 7, verifica-se que o filme de Ecoflex[®] puro diferiu estatisticamente dos demais filmes poliméricos aditivados. O mesmo é observado para os valores de tensão de ruptura, Figura 30. De acordo com Zehetmeyer, Scheibel e Oliveira (2013), a alteração das propriedades mecânicas desses materiais dá-se devido à substituição parcial do polímero pelas nanopartículas, ou ainda, que as

nanopartículas, ocupam os espaços vazios entre as cadeias poliméricas aumentando a resistência do material, devido a maior compactação.

Observa-se também, pela Figura 31, uma redução no percentual de deformação após a adição das NPs-ZnO e MCs-Zn, porém de acordo com a análise estatística não houve diferença significativa entre as mesmas. Fato este que pode ser explicado pelo elevado erro experimental, ocasionado pela má distribuição dos aditivos na matriz polimérica e pela célula de carga ser pouco sensível para filmes poliméricos.

Analisando a Figura 32, verifica-se que o módulo de elasticidade diminuiu, quando comparado à amostra do Ecoflex[®] puro com as amostras do Ecoflex[®] aditivado, indicando uma redução na rigidez destes materiais e conseqüentemente a obtenção de um material mais flexível. Porém, ao analisar-se a Tabela 7, percebe-se que esta diminuição não é estatisticamente significativa, sendo que a adição dos agentes antimicrobianos não alterou o módulo de elasticidade dos filmes.

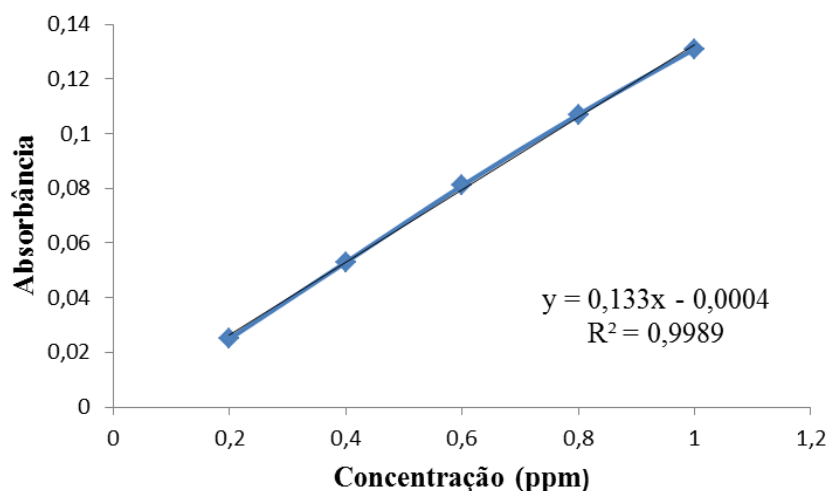
De acordo com Shankar e Rhim (2016), as propriedades mecânicas do filme PBAT foram influenciadas pela adição de nanopartículas de prata (NPs-Ag). A resistência à tração do PBAT aumentou significativamente. Já, a deformação diminuiu ligeiramente após a incorporação das NPs-Ag. O módulo de elasticidade não mudou significativamente após a adição das NPS-Ag. Este fato deve-se ao aumento das interações intermoleculares do PBAT com as NPs-Ag. Díez-Pascual e Díez-Vicente (2014) relataram uma melhora nas propriedades mecânicas de poli (3-hidroxi-butirato-co-3- Hidroxivalerato) quando reforçado com NPs-ZnO. Yu et al. (2016), também mostraram melhoria nas propriedades mecânicas de compósitos de nanocristais de celulose/poli (ácido láctico) reforçados com nanopartículas de prata.

De acordo com Venkatesan e Rajeswari (2017), as propriedades mecânicas do filme PBAT são superiores quando NPs-ZnO estão dispersas em sua matriz. Uma melhoria no comportamento mecânico é esperada devido à boa dispersão das NPs-ZnO na matriz polimérica. O maior percentual de deformação é devido à presença de NPs-ZnO na matriz PBAT, aumentando a flexibilidade dos filmes. Fato este, não observado no presente estudo, muito provavelmente em função da má distribuição das NPs-ZnO e MCs-Zn e pela célula de carga usada no ensaio de tração não ser sensível a ponto de detectar pequenas variações nas propriedades mecânicas dos filmes.

5.2.4 Ensaio de liberação do zinco presente nos polímeros obtidos, quando em solução aquosa

O ensaio de liberação do zinco em água ultrapura foi realizado a fim de identificar se em um tempo determinado ocorre ou não a liberação deste metal e se a concentração liberada atende a legislação da ANVISA que é de 25 ppm. Na Figura 33 tem-se o gráfico de Absorbância em função da concentração para o padrão de Zn, sendo esta curva utilizada para a leitura das amostras posteriormente.

Figura 33 - Curva padrão de absorbância em função da concentração de Zn



A equação matemática que ilustra a curva obtida experimentalmente é $y = 0,133x - 0,0004$. O método pode ser considerado com boa linearidade, haja vista, que o R^2 foi de 0,9989 e ainda, o coeficiente linear é muito próximo a zero (0,0004). A partir da curva de calibração pode-se calcular os limites de detecção e quantificação para o método, que foram de 0,0099 e 0,0301 ppm, respectivamente. Logo, amostras com concentração abaixo de 0,0099 ppm (limite de detecção) não serão identificadas pelo método; concentrações entre o limite de detecção e o limite de quantificação ($0,0099 \text{ ppm} < C < 0,0301 \text{ ppm}$) são apenas detectados, mas não necessariamente quantificados. Já concentrações acima de 0,0301 ppm (limite de quantificação) são possíveis de serem identificadas e também quantificadas. A Tabela 8 mostra os resultados obtidos para as leituras das amostras durante o ensaio de verificação da liberação do zinco presente nos filmes aditivados, em solução aquosa. Os ensaios foram realizados com diferentes temperaturas e as amostras coletadas no tempo inicial e após 10 dias do filme aditivado em contato com solução aquosa.

Tabela 8 – Porcentagem e concentração de zinco liberado em solução aquosa, em função do tempo de exposição, da temperatura da solução e do tipo de filme polimérico aditivado

Amostra	Tempo (dias)	Temperatura (°C)	% de liberação de Zn	Conc. de Zn (ppm)
1% NPs-ZnO	0	5	0,003	0,003±0,007
2% NPs-ZnO	0	5	0,145	0,189±0,087
1% MCs-Zn	0	5	0,000	0,000±0,000
2% MCs-Zn	0	5	0,046	0,060±0,066
1% NPs-ZnO	10	5	0,026	0,023±0,056
2% NPs-ZnO	10	5	0,253	0,331±0,061
1% MCs-Zn	10	5	0,193	0,037±0,086
2% MCs-Zn	10	5	0,375	0,137±0,019
1% NPs-ZnO	0	40	0,000	0,000±0,000
2% NPs-ZnO	0	40	0,296	0,387±0,102
1% MCs-Zn	0	40	0,000	0,000±0,000
2% MCs-Zn	0	40	0,276	0,101±0,026
1% NPs-ZnO	10	40	0,000	0,000±0,000
2% NPs-ZnO	10	40	4,130	5,396±0,320
1% MCs-Zn	10	40	0,000	0,000±0,000
2% MCs-Zn	10	40	1,344	0,491±0,271

Conforme observado na Tabela 8, houve a liberação de uma pequena quantidade de Zn, estando estes valores dentro dos valores permitidas pela legislação proposta pela ANVISA que prevê um limite de 25 ppm para corantes em embalagens e equipamentos plásticos destinados a estar em contato com alimentos. No geral, os maiores índices de liberação foram verificados para as maiores concentrações de aditivos.

Os resultados do ensaio de liberação vêm ao encontro dos resultados obtidos no ensaio de difusão em meio sólido, Figuras 18 e 19, onde não ocorreu a formação de halo de inibição, corroborando o fato de que nenhuma ou uma ínfima quantidade de compostos de zinco migram e/ou difundem para a superfície dos filmes poliméricos, não sendo capazes de causar a inibição ou morte microbiana. Kirschnier et al. (2017) estudaram a liberação de Zn em placas de PEBD, obtendo resultados compatíveis com o presente estudo, onde houve a liberação de concentrações abaixo de 1 ppm.

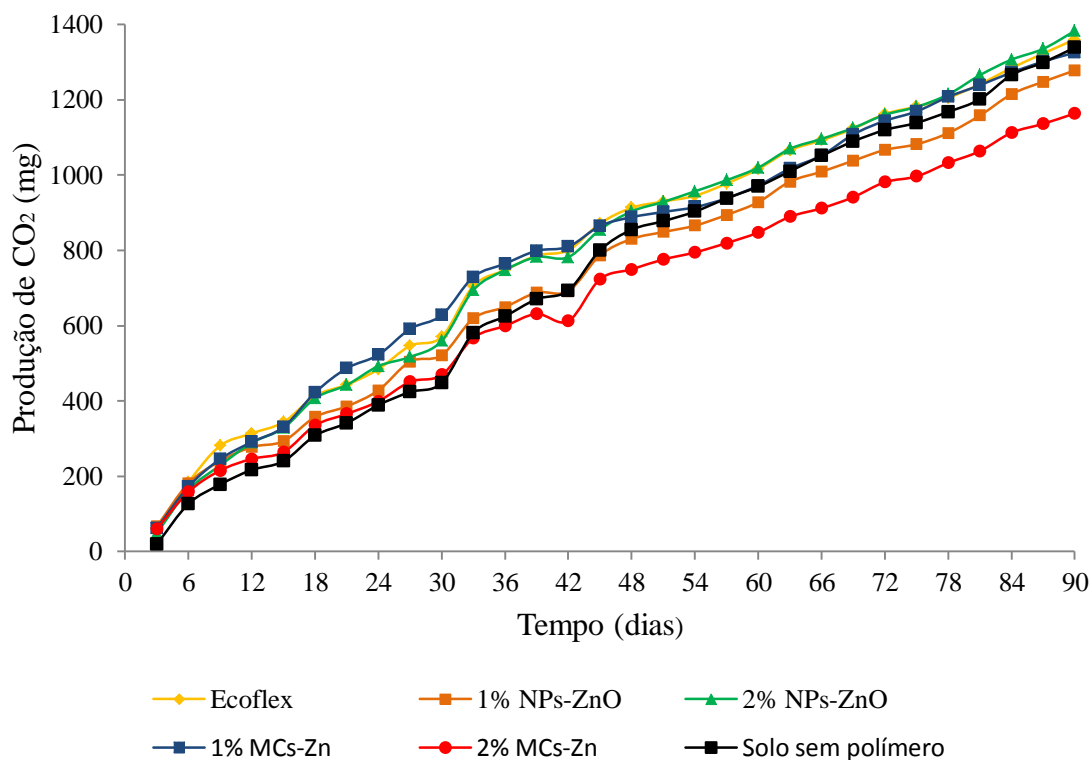
Com esses resultados, pode-se dizer que os filmes poliméricos aditivados apresentam-se seguros para serem utilizados como embalagens em alimentos.

5.2.5 Ensaio de biodegradação

O processo de biodegradação ocorre quando os microrganismos presentes no solo utilizam o carbono oriundo do material polimérico como fonte de energia para manter suas funções vitais. O dióxido de carbono (CO_2) produzido durante esse processo é usado como medida para quantificar a degradação dos materiais poliméricos. Deste modo, quanto maior a quantidade de CO_2 produzida, mais rápido e eficaz é o processo de biodegradação.

A quantidade de CO_2 total produzida por cada filme polimérico obtido (com e sem aditivção) após 90 dias de teste de biodegradação é apresentada na Figura 34. Além dos filmes poliméricos, essa figura apresenta a quantidade de dióxido de carbono produzida para uma amostra controle, que corresponde ao solo, ou seja, sem adição do polímero.

Figura 34 - Curva de biodegradação cumulativa para os filmes poliméricos de Ecoflex[®] puro, Ecoflex[®] com 1 e 2% de NPs-ZnO, Ecoflex[®] com 1 e 2% de MCs-Zn e somente do solo sem polímero



Ao analisar a Figura 34, verifica-se que, aparentemente todos os filmes poliméricos e o branco (solo sem polímero) produziram uma quantidade muito semelhante de CO₂. Através da análise estatística torna-se possível ter um panorama mais exato de tal análise. A Tabela 9 apresenta os valores de produção de CO₂ após 90 dias de ensaio de biodegradação, bem como sua análise de variância (ANOVA) pelo teste de *Tukey*.

Tabela 9 - Quantidade total de CO₂ produzida para cada amostra de polímero obtida e para o solo sem polímero, após 90 dias de análise

Amostra	Produção de CO ₂ no 90º dia do ensaio de biodegradação (mg)
Ecoflex [®]	1363,96±73,05 ^a
1% NPs-ZnO	1278,24±65,14 ^a
2% NPs-ZnO	1371,88±215,28 ^a
1% MCs-Zn	1324,88±141,40 ^a
2% MCs-Zn	1164,02±112,56 ^a
Solo sem polímero	1338,84±54,11 ^a

*Letras minúsculas iguais representam que não há diferenças significativas na coluna (p<0,05)

Conforme exposto na Tabela 9, os filmes poliméricos não diferem entre si quanto a produção de CO₂, sendo estatisticamente iguais, inferindo que a adição de diferentes concentrações de NPs-ZnO e de MCs-Zn não afetam na biodegradação do Ecoflex[®]. Também verifica-se através da Tabela 9 que, os filmes poliméricos com e sem aditivo não diferem quanto a quantidade de CO₂ produzida quando comparados ao solo sem o polímero. Este resultado juntamente com o resultado de liberação de zinco leva a crer que os filmes poliméricos obtidos podem ser utilizados como embalagens que entram em contato com alimentos, estando à liberação dentro dos níveis aceitáveis para tal finalidade e a adição dos agentes antimicrobianos em estudo não afeta no processo de biodegradação.

Casarin et al. (2013) avaliaram o processo de biodegradação em solo do Ecoflex[®] e verificaram após 90 dias uma perda de massa de 3,27 ± 0,21%. Šerá et al. (2016) estudaram a biodegradação do Ecoflex[®] puro em solo sob condições aeróbicas a 25 °C. O referido polímero apresentou uma biodegradação muito limitada, atingindo um nível geral de mineralização de cerca de 7% após 100 dias de incubação. Saadi et al. (2013) obtiveram 10% degradação do PBAT após 75 dias de incubação em solo à 30 °C. Inferindo que em condições muito semelhantes as utilizadas no presente estudo o Ecoflex[®] não sofre degradação, sendo necessárias condições mais específicas, como compostagem, para que de fato esse polímero se degrade em um curto espaço de tempo. De acordo com a BASF, o Ecoflex[®] atinge mais de

90% de conversão de carbono em CO₂ depois de aproximadamente 80 dias de análise em compostagem.

Weng et al. (2013) avaliaram a degradação em solo do Ecoflex[®] (PBAT). Os autores enterraram as amostras à 40 cm de profundidade e posteriormente regaram o solo até cerca de 10 cm abaixo da superfície. Em seguida, espalharam sementes de capim na superfície do solo e regularmente molhavam o mesmo, mantendo-o sempre úmido. Após 30 dias de experimento os autores observaram uma mudança na coloração, decorridos 60 dias a amostra se fragmentou e depois de 120 dias apenas uma pequena quantidade de resíduos permaneceu.

Na Figura 35 encontram-se as imagens obtidas com auxílio de um estereomicroscópio com aumento de 50 vezes em 0 dias (a) e após 90 dias (b) enterrados em solo, dos filmes poliméricos obtidos.

Ao analisar a Figura 35 é possível perceber que não há diferenças entre os filmes poliméricos nos tempos de 0 e 90 dias de ensaio, corroborando o fato de que não ocorreu a biodegradação dos mesmos nas condições estudadas. É perceptível a presença de alguns pontos escuros nos filmes poliméricos aditivados com 1 e 2% de MCs-Zn, sendo possivelmente as microcápsulas distribuídas na matriz do polímero biodegradável, já que esse fato não é observado para os filmes aditivados com as NPs-ZnO. Ainda, percebem-se claramente as linhas de orientação de máquina, entretanto, nenhum indicio de degradação, como fissuras, trincas ou ranhuras são observados.

Pellicano (2008) estudou a biodegradação do Ecoflex[®] em solo compostado. Após 60 dias de ensaio, as amostras já apresentam indícios de biodegradação, com a fragilização dos corpos de prova e mudanças na coloração. Weng et al. (2013) verificaram em seu trabalho que após um mês, a amostra PBAT já apresentava mudanças na cor, dois meses depois a amostra estava fragmentada e quatro meses mais tarde, apenas uma pequena quantidade de fragmentos permaneceu. De acordo com Mohanty e Nayak, (2012), o PBAT sofre biodegradação sob condições de compostagem, atingindo 80% de biodegradação em 180 dias. Muniyasamy et al. (2013) observaram um comportamento de degradação semelhante, onde a taxa de biodegradação foi cerca de 90% em um período de 180 dias sob condições de compostagem.

O presente trabalho foi realizado sem aeração, sob temperatura ambiente e sem umidade do ar controlada, logo, as taxas de biodegradação são menores e, conseqüentemente, um tempo de 90 dias foi insuficiente para que a mineralização de toda a amostra aconteça.

35 - Imagens dos filmes poliméricos com e sem aditivação, nas diferentes concentrações dos dois aditivos utilizados, expostos ao processo de biodegradação em 0 dias (a) após transcorridos 90 dias (b) de ensaio, obtidas com aumento de 50 vezes



São raros os estudos publicados sobre NPs-ZnO e MCs-Zn incorporadas ao Ecoflex®, com a finalidade de avaliar a ação antibacteriana, a influência nas propriedades térmicas e mecânicas e o processo de biodegradação, portanto isso faz deste trabalho um estudo inovador na área de materiais poliméricos biodegradáveis com propriedade antimicrobiana.

6. CONCLUSÃO

- Quando submetidas ao ensaio de difusão em meio sólido as NPs-ZnO e MCs-Zn puras apresentaram halo médio de inibição de $7,3\pm 0,6$ e $7,0\pm 1,0$ mm para *S. aureus* e $2,0\pm 1,0$ e $4,7\pm 2,1$ mm para *E. coli*, respectivamente, sendo o efeito antimicrobiano mais pronunciado contra *S. aureus*;
- O Ecoflex[®] é termicamente estável até a temperatura de 320 °C, temperatura esta que não deve ser ultrapassada durante o processamento deste material;
- Na faixa de temperatura de 320 °C à 430 °C ocorre uma perda de massa de aproximadamente 90% para os *pellets* de Ecoflex[®] puro;
- O Ecoflex[®] apresentou temperaturas de fusão e cristalização de 126,45 °C e 43 °C, respectivamente;
- No ensaio de difusão em meio sólido para os filmes poliméricos aditivados, com 1 e 2% de NPs-ZnO e 1 e 2% de MCs-Zn, não houve a formação do halo de inibição, muito provavelmente em virtude de que não ocorreu a difusão e/ou migração do composto antimicrobiano, responsável este pela morte ou inibição dos microrganismos, para a superfície do filme e/ou da superfície do filme para o meio externo;
- Os ensaios de curva de morte indicam que a aditivação do polímero biodegradável Ecoflex[®] com 1 e 2% (m/m) de NPs-ZnO e MCs-Zn resulta em filmes poliméricos eficientes no tratamento de *S. aureus* e *E. coli* com uma concentração inicial de 10^4 UFC.mL⁻¹. Através da análise estatística dos ensaios de curva de morte, verificou-se que houve diferença significativa entre 1% (m/m) de NPs-ZnO frente aos demais aditivos antimicrobianos, quando avaliada a bactéria gram-negativa *E. coli*. Para *S. aureus*, verificou-se que não há diferença significativa entre os percentuais utilizados bem como entre os aditivos antimicrobianos NPs-ZnO e MCs-Zn;
- Tanto a adição das NPs-ZnO quanto das MCs-Zn proporcionou um aumento na cristalinidade do material, favorecendo a formação de cristais na Fase 1. Durante o aquecimento, na Fase 2, observou-se que a adição dos agentes antimicrobianos desfavoreceu a formação de cristais, sendo que o pico que existia para o Ecoflex[®] puro deixa de existir. Ainda, é necessária uma quantidade maior de MCs-Zn para se obter o mesmo efeito observado para as NPs-ZnO;
- Os ensaios mecânicos revelaram que a adição de NPs-ZnO e MCs-Zn em diferentes concentrações promovem a diminuição das propriedades mecânicas do Ecoflex[®], como tensão

máxima e de ruptura. Já o módulo de elasticidade e o percentual de deformação não foram afetados significativamente após a adição das mesmas;

- O ensaio de liberação do zinco revelou que os resultados obtidos estão dentro do limite proposto pela ANVISA, que é de 25 ppm;

- A análise de biodegradação evidenciou que a adição de ambos os aditivos antimicrobianos não alterou a taxa de produção de CO₂. O que permite concluir que através da adição das NPs-ZnO e das MCs-Zn ao polímero biodegradável Ecoflex[®] foi possível agregar à atividade antimicrobiana aos filmes poliméricos sem comprometer sua degradabilidade;

- Pode-se optar pela menor concentração de aditivo estudada, visto que esta concentração apresenta os mesmos resultados antimicrobianos verificados para a maior concentração de aditivo, fato este que diminui o custo para a obtenção dos filmes poliméricos. Ainda, a utilização das MCs-Zn, é preconizada devido a vantagem de não serem sintetizadas pela tecnologia nano, a qual possui um pré-conceito em torno da sua forma de obtenção e quais os possíveis danos por ela causados.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estender o tempo de avaliação do processo de biodegradação dos filmes poliméricos aditivados;
- Utilizar um solo de compostagem e temperaturas mais elevadas para o estudo de biodegradação dos filmes poliméricos;
- Estudar o efeito ecotoxicológico dos filmes poliméricos obtidos no solo;
- Desenvolver filmes poliméricos com menores concentrações de NPs-ZnO e MCs-Zn e avaliar sua atividade antimicrobiana;
- Realizar o ensaio mecânico de tração com uma célula de carga mais sensível;
- Realizar a Análise Térmica Dinâmico-Mecânica (DMTA);
- Incorporar *masterbatches* de NPs-ZnO e MCs-Zn ao filme polimérico com o intuito de melhorar a distribuição dos aditivos antimicrobianos neste.

8. REFERÊNCIAS

- ABIPLAST - Associação Brasileira da Indústria do Plástico. Perfil 2015. São Paulo. Disponível em: <http://file.abiplast.org.br/download/2016/perfil_2015_ok.pdf>. Acesso em 27 de fevereiro de 2017.
- AHAMED, M., ALHADLAQ, H. A., KHAN, M. A. M., KARUPPIAH, P., AL-DHABI, N. A. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, vol. 2014, p. 1-4, 2014.
- AHMAD, T., WANI, I. A., LONE, I. H., GANGULY, A., MANZOOR, N., AHMAD, A., AHMED, J., AL-SHIHRI, A. S. Antifungal activity of gold nanoparticles prepared by solvothermal method. *Materials Research Bulletin*, vol. 48, p. 12–20, 2013.
- AKBAR, A., ANAL, A. K. Zinc oxide nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready-to- eat poultry meat. *Food Control*, vol. 38, p. 88-95, 2014.
- ALMASI, H., GHANBARZADEH, B., DEHGHANNYA, J., ENTEZAMI, A. K., ASL, A. K. Novel nanocomposites based on fatty acid modified cellulose nanofibers/poly (lactic acid): Morphological and physical properties. *Food Packaging and Shelf Life*, vol. 5, p. 21-31, 2015.
- ALVES, A. R. F. Doenças alimentares de origem bacteriana. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Fernando Pessoa - UFP, Porto, Portugal, 2012.
- American Society for Testing and Materials – ASTM D 883-12 - Standard terminology relating to plastics, 2012.
- American Society for Testing and Materials – ASTM D-5988-12. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Materials in Soil, 2012.
- American Society for Testing and Materials – ASTM D-5338-11. Standard test method for determining aerobic biodegradation of plastic materials under controlled composting conditions, incorporating thermophilic temperatures, 2011.
- American Society for Testing and Materials – ASTM D-882-10. Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, 2010.

- ANITHA, S., BRABU, B., THIRUVADIGAL, D. J., GOPALAKRISHNAN, C., NATARAJAN, T. S. Optical, bactericidal and water repellent properties of electrospun nanocomposite membranes of cellulose acetate and ZnO. *Carbohydrate Polymers*, vol. 97, p. 856–863, 2013.
- ANTUNES, F. S., DAL'ACQUA, N., BERGMANN, C. P., GIOVANELA, M. Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. *Estudos Tecnológicos em Engenharia*, vol. 9, nº 1, p. 20-26, 2013.
- APPENDINI, P., HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 3, p. 113-126, 2002.
- AUGUSTINE, R., MALIK, H. N., SINGHAL, D. K., MUKHERJEE, A., MALAKAR, D., KALARIKKAL, N., THOMAS, S. Electrospun polycaprolactone/ZnO nanocomposite membranes as biomaterials with antibacterial and cell adhesion properties. *Journal of Polymer Research*, vol. 21, nº 3, p. 1-17, 2014.
- AVEROUS, L., BOQUILLON, N. Biocomposites based on plasticized starch: thermal and mechanical behaviours. *Carbohydrate Polymers*, vol. 56, p. 111-122, 2004.
- AZAM, A., AHMED, A. S., OVES, M., KHAN, M. S., HABIB, S. S., MEMIC, A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study. *International Journal of Nanomedicine*, vol. 7, p. 6003-6009, 2012.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição*, vol. 16, nº 1, p. 89-97, 2005.
- AZEVEDO, J. B., CARVALHO, L. H., CANEDO, E. L., BARBOSA, J. D. V., SILVA, M. W. S. Avaliação da biodegradação em compósitos com fibras naturais através de perda de massa e produção de CO₂. *Revista Virtual de Química*, vol. 8, nº 4, p. 1115-1129, 2016.
- BALAKRISHNAN, H., HASSAN, A., WAHIT, M. U., YUSSUF, A. A., RAZAK, S. B. A. Novel toughened polylactic acid nanocomposite: Mechanical, thermal and morphological properties. *Materials and Design*, vol. 31, p. 3289-3298, 2010.

BALASUBRAMANIAN, P., STROBEL, L. A., KNESER, U., BOCCACCINI, A. R. Zinc-containing bioactive glasses for bone regeneration, dental and orthopedic applications. *Biomedical Glasses*, vol. 1, p. 51-69, 2015.

BASF. Disponível em:

<http://www.plasticsportal.net/wa/plasticsEU~ru_RU/portal/show/content/products/biodegradable_plastics/ecoflex>. Acesso em 13 de abril de 2016.

BECARO, A. A. Estudos da atividade antimicrobiana, de migração e toxicidade de nanopartículas de prata aplicadas em filmes poliméricos. 158 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR, São Carlos, SP, 2014.

BERTINETTI, L., DROUET, C., COMBES, C., REY, C., TAMPIERI, A., COLUCCIA, S. AND MARTRA, G., Surface characteristics of nanocrystalline apatites: Effect of MgO surface enrichment on morphology, surface hydration species, and cationic environments. *Langmuir*, vol. 25, p. 5647-5654, 2009.

BHADRA, P., MITRA, M. K., DAS, G. C., DEY, R., MUKHERJEE, S. Interaction of chitosan capped ZnO nanorods with *Escherichia coli*. *Materials Science and Engineering C*, vol. 31, p. 929-937, 2011.

BINDHU, M. R., UMADEVI, M. Antibacterial activities of green synthesized gold nanoparticles. *Materials Letters*, vol. 120, p. 122-125, 2014.

BOGDANOVIĆ, U., LAZIĆ, V., VODNIK, V., BUDIMIR, M., MARKOVIĆ, Z., DIMITRIJEVIĆ, S. Copper nanoparticles with high antimicrobial activity. *Materials Letters*, vol. 128, p. 75-78, 2014.

BRADLEY, E. L., CASTLE, L., CHAUDHRY, Q. Applications of nanomaterials in food packaging with a consideration of opportunities for developing countries. *Trends in Food Science & Technology*, vol. 22, p. 604-610, 2011.

BRANDALISE, R. N. Avaliação da degradação biótica e abiótica da mistura polimérica de polietileno de alta densidade com o poli (álcool vinílico). 161 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Materiais). Universidade de Caxias do Sul – UCS, Caxias do Sul, RS, 2008.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999. Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos, 1999.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos MINISTÉRIO DA SAÚDE Brasília – DF 2010.

BRASKEM. Glossário de termos aplicados a polímeros. 2002. Disponível em: <http://www.braskem.com.br/Portal/Principal/Arquivos/html/boletm_tecnico/Glossario_de_termos_aplicados_a_polimeros.pdf>. Acesso em 21 de maio de 2015.

BRAYNER, R., ILIOU, R. F., BRIVOIS, N., DJEDIAT, S., BENEDETTI, M. F., FIÉVET, F. Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium. *NanoLetters*, vol. 6, p. 866-870, 2006.

BRITO, G. F., AGRAWAL, P., ARAÚJO, E. M., MÉLO, T. J. A. Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, vol. 6.2, p. 127-139, 2011.

BUSSIÈRE, P. O., THERIAS, S., GARDETTE, J. L., MURARIU, M.; DUBOIS, P.; BABA, M. Effect of ZnO nanofillers treated with triethoxy caprylsilane on the isothermal and non-isothermal crystallization of poly (lactic acid). *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 14, p. 12301-12308, 2012.

CANEVAROLO JR., S. V. Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros. 2. ed. rev. e ampl. São Paulo: Artliber, 2006.

CASARIN, S. A. Desenvolvimento e caracterização de blendas e de compostos empregando polímeros biodegradáveis. 131 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos, SP, 2004.

CASARIN, S. A., AGNELLI, J. A. M., MALMONGE, S. M., ROSÁRIO, F. Blendas PHB/Copoliésteres Biodegradáveis – Biodegradação em Solo. *Polímeros*, vol. 23, nº 1, p. 115-122, 2013.

CAVALCANTI-DANTAS, V. M., MEDEIROS, K. L., AZEVÊDO, T. K. B., SANTANA, G. M., PEREIRA, A. V., GÓIS, M. B., PEREIRA, M. S. V., PEREIRA, J. V. Taninos: principal componente do extrato *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke inibe o crescimento de cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* de origem bovina. *Biotemas*, vol. 29, nº 1, p. 109-114, 2016.

CÉSAR, M. E. F. Biodegradação da blenda poli (ϵ - caprolactona) e amido de milho adipatado, em diferentes granulometrias, incubadas em dois solos. 54 f. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade de São Paulo - USP, Piracicaba, SP, 2007.

CHAKRAVARTI, A., GANGODAWILA, S., LONG, M. J., MORRIS, N. S., BLACKLOCK, A, R. E., STICKLER, D. J. An electrified catheter to resist encrustation by *Proteus mirabilis* biofilm. *The Journal of Urology*, vol. 174, p. 1129-1132, 2005.

CHANDRA, R., RUSTGI, R. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, vol. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHANG, B. P., AKIL, H. M., NASIR, R. B. M., BANDARA, I. M. C. C. D., RAJAKPASE, S. The effect of ZnO nanoparticles on the mechanical, tribological and antibacterial properties of ultra-high molecular weight polyethylene, *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, vol. 33, nº 7, p. 674-686, 2014.

CHATTERJEE, D., BHATTACHARJEE, P. Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of Food engineering*, vol. 117, p. 545-550, 2013.

CHIELLINI, E., SOLARO, R. Biodegradable Polymeric Materials. *Advanced Materials*, vol. 8, nº 4, p. 305-313, 1996.

CIOFFI, N., TORSI, L., DITARANTO, N., TANTILLO, G., GHIBELLI, L., SABBATINI, L., BLEVE-ZACHEO, T., D'ALESSIO, M., ZAMBONIN, P. G., TRAVERSA, E. Copper nanoparticle/polymer composites with antifungal and bacteriostatic properties. *Chemistry of materials*, vol. 17, p. 5255-5262, 2005.

CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Performance standards for antimicrobial disk susceptible tests; Approved standard – Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, Pennsylvania, 2012.

CORRÊA, M. C. S., REZENDE, M. L., ROSA, D. S., AGNELLI, J. A. M., NASCENTE, P. A. P. Surface composition and morphology of poly (3-hydroxybutyrate) exposed to biodegradation. *Polymer Testing*, vol. 27, p. 447-452, 2008.

CRETU, V., POSTICA, V., MISHRA, A. K., HOPPE, M., TIGINYANU, I., MISHRA, Y. K. L., CHOW, L., LEEUW, N. H., ADELUNG, R., LUPAN, O. Synthesis, characterization and DFT studies of zinc-doped copper oxide nanocrystals for gas sensing applications. *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 4, nº 17, p. 6527-6539, 2016.

CRUVINEL, A. R.; SILVEIRA, A. R.; SORES, J. S. Perfil antimicrobiano de *Staphylococcus aureus* isolado de pacientes hospitalizados em UTI no Distrito Federal. *Cenarium Farmacêutico*, nº 4, p. 1-11, 2011.

DAGOSTIN, V. S., GOLÇALVES, D. L., PACHECO, C. B., ALMEIDA, W. B., THOMÉ, I. P., PICH, C. T., PAULA, M. M. S., SILVA, L., ANGIOLETTO, E., FIORI, M. A. Bactericidal polyurethane foam mattresses: Microbiological characterization and effectiveness. *Materials Science and Engineering C*, vol. 30, p. 705-708, 2010.

DALMORO, A., BARBA, A. A., LAMBERTI, G., D'AMORE, M. Intensifying the microencapsulation process: Ultrasonic atomization as an innovative approach. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 80, p. 471-477, 2012.

DANKOVICH, T. A., SMITH, J. A. Incorporation of copper nanoparticles into paper for point-of-use water purification. *Water research*, vol. 63, p. 245-251, 2014.

DIZAJ, S. M., LOTFIPOUR, F., BARZEGAR-JALALI, M., ZARRINTAN, M. H., ADIBKIA, K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*, vol. 44, p. 278-284, 2014.

DANTAS, J., LEAL, E., MAPOSSA, A. B., SILVA, A. S., COSTA, A. C. F. M. Síntese, caracterização e performance catalítica de nanoferritas mistas submetidas a reação de transesterificação e esterificação via rota metálica e etélica para biodiesel. *Revista Matéria*, vol. 21, nº 4, p. 1080-1093, 2016.

DÍEZ-PASCUAL, A. M., DÍEZ-VICENTE, A. L. ZnO-Reinforced Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) bionanocomposites with antimicrobial function for food packaging. *Applied Materials e Interfaces*, vol. 6, p. 9822-9834, 2014.

DROVAL, G., ARANBERRI, I., BILBAO, A., GERMAN, L., VERELST, M., GHYS, J. D. Antimicrobial activity of nanocomposites: poly (amide) 6 and low density poly (ethylene) filled with zinc oxide. *e-Polymers*, n° 128, p. 1-13, 2008.

DROVAL, G., ARANBERRI, I., GERMÁN, L., IVANO, E., DIMITROVA, E., KOTSILKOVA, R., VERELST, M., GHYS, J. D. Thermal and rheological characterization of antibacterial nanocomposites: Poly (amide) 6 and low-density poly (ethylene) filled with zinc oxide. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, vol. 27 p. 268-284, 2014.

DOUMBIA, A. S., VEZIN, H., FERREIRA, M., CAMPAGNE, C., DEVAUX, E. Studies of polylactide/zinc oxide nanocomposites: influence of surface treatment on zinc oxide antibacterial activities in textile nanocomposites. *Journal of applied polymer science*, vol. 132, n° 17, p. 1-10, 2015.

EL-NAGGAR, A. M., ZOHDY, M. H., HASSAN, M. S., KHALIL, E. M. Antimicrobial protection of cotton and cotton/polyester fabrics by radiation and thermal treatments. I. effect of ZnO formulation on the mechanical and dyeing properties. *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 88, p. 1129-1137, 2003.

EL-NAHHAL, I. M., ZOURAB, S. M., KODEH, F. S., SELMANE, M., GENOIS, I., BABONNEAU, F. Nanostructured copper oxide-cotton fibers: synthesis, characterization, and applications. *International Nano Letters*, vol. 2, n° 14, 2014.

ELVERS, D., SONG, C. H., STEINBUCHER, A., LEKER, J. Technology trends in biodegradable polymers: evidence from patent analysis. *Polymer reviews*, vol. 0, n° 0, p. 1-23, 2016.

EMAMI-KARVANI, Z., CHEHRAZI, P. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, vol. 5, p. 1368-1373, 2011.

- ESPITIA, P. J. P., SOARES, N. F. F., COIMBRA, J. S. R., ANDRADE, N. J., CRUZ, R. S., MEDEIROS, E. A. A. Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. *Food and bioprocess technology*, vol. 5, p. 1447-1464, 2012.
- FEITOR, M. C. Efeito antibacteriano de tecidos têxteis revestidos por prata através da técnica de deposição por plasma. 117 f. Tese (Doutorado em Engenharia dos Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN, 2010.
- FERREIRA, J. C. C. G., Estudo da degradabilidade de poliestireno modificado quimicamente. 103 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade do Minho, Portugal, 2004.
- FIORI, M. A., PAULA, M. M. S., BERNARDIN, A. M., RIELLA, H. G., ANGIOLETTO, E. Bactericide glasses developed by Na⁺/Ag⁺ ionic exchange. *Materials Science and Engineering C*, vol. 29, 1569-1573, 2009.
- FOUST, A. S. Princípios das operações unitárias. 2. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1982. 670 p.
- FRANCHETTI, S. M. M., MARCONATO, J. C. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. *Química Nova*, vol. 29, p. 811-816, 2006.
- FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2005. p.182.
- FRANKLIN, N. M., ROGERS, N. J., APTE, S. C., BATLEY, G. E., GADD, G. E., CASEY, P. S. Nanoparticulate ZnO, Bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): The importance of particle solubility. *Environmental science & technology*, vol. 41, p. 8484-8490, 2007.
- GAMA, B. E. P. N. da. Preparação e caracterização do polímero biodegradável poli-butileno adipato cotereftalato, associado aos polímeros semicondutores poli-o-etoxianilina e poli-ometoxianilina e ao óxido de estanho e índio. 78 f. Dissertação (Mestrado em Física dos Materiais). Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, Ouro Preto, MG, 2014.
- GANESAN, R. M., PRABU. H. G. Synthesis of gold nanoparticles using herbal *Acorus calamus* rhizome extract and coating on cotton fabric for antibacterial and UV blocking applications. *Arabian Journal of Chemistry*, p. 1-9, 2015.

GHAHFARROKHI, I. S.; KHODAIYAN, F.; MOUSAVI, M.; YOUSEFI, H. Preparation of UV-protective kefir/nano-ZnO nanocomposites: Physical and mechanical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 72, p. 41-46, 2015.

GHARSALLAOUI, A., ROUDAUT, G., CHAMBIN, O., VOILLEY, A., SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, vol. 40, p. 1107-1121, 2007.

GHODAKE, G., SEO, Y. D., LEE, D. S. Hazardous phytotoxic nature of cobalt and zinc oxide nanoparticles assessed using *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 186, p. 952-955, 2011.

GHULE, K., GHULE, A. V., CHEN, B., LING, Y. Preparation and characterization of ZnO nanoparticles coated paper and its antibacterial activity study. *Green Chemistry*, vol. 8, p. 1034-1041, 2006.

GIBELLI, I. C. Ação antibacteriana de nanopartículas de prata em Poli (ácido láctico) – PLA e a avaliação da Biodegradação. 62 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos, SP, 2012.

GITTARD, S. D., PERFECT, J. R., RIVIERE, N. A. M., WEI, W., JIN, C., NARAYAN, R. J. Assessing the antimicrobial activity of zinc oxide thin films using disk diffusion and biofilm reactor. *Applied Surface Science*, vol. 255, p. 5806-5811, 2009.

GORDON, T., PERLSTEIN, B., HOUBARA, O., FELNER, I., BANIN, E., MARGEL, S. Synthesis and characterization of zinc/iron oxide composite nanoparticles and their antibacterial properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, vol. 374, p. 1-8, 2011.

GOUVEIA, P. S., ESCOTE, M. T., LONGO, E., LEITE, E. R., CARREÑO, N. L. V., FONSECA, F. C., JARDIM, R. F. Síntese e caracterização de nanocompósitos Ni:SiO₂ processados na forma de filmes finos. *Química Nova*, vol. 28, nº 5, p. 842-846, 2005.

GUIDONI, L. L. C. BITTENCOURT, G., MARQUES, R. V., CORRÊA, L. B., CORRÊA, E. K. Compostagem domiciliar: implantação e avaliação do processo. *TECNO-LÓGICA*, vol. 17, nº 1, p. 44-51, 2013.

GUZMÁN, M. G., DILLE, J., GODET, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, vol 2, n° 7, p. 1-8, 2008.

HEINLAAN, M., IVASK, A., BLINOVA, I., DUBOURGUIER, H., KAHRU, A., Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, vol. 71, p. 1308-1316, 2008.

HE, L., LIU, Y., MUSTAPHA, A., LIN, M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microbiological Research*, vol. 166, p. 207-215, 2011.

IBRAHIM, N. A., RAHIM, N. M., YUNUS, W. Z. W., SHARIF, J. A study of poly vinyl chloride/poly (butylene adipate-co-terephthalate) blends. *Journal of Polymer Research*, vol.18, p. 891–896, 2011.

ISHII, K., FUJITA, M., SASAKI, T., MINOLA, M., DELLEA, G., MAZZOLI, C., KUMMER, K., GHIRINGHELLI, G., BRAICOVICH, L., TOHYAMA, T., TSUTSUMI, K., SATO, K., KAJIMOTO, R., IKEUCHI, K., YAMADA, K., YOSHIDA, M., KUROOKA, M., MIZUKI, J. High-energy spin and charge excitations in electron-doped copper oxide superconductors. *Nature Communications*, vol. 5, n° 3714, 2014.

JESLINE, A., JOHN, N. P., NARAYANAN, P. M., VANI, C., MURUGAN, S. Antimicrobial activity of zinc and titanium dioxide nanoparticles against biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied Nanoscience*, vol.5, p.157-162, 2015.

JIN, T., SUN, D., SU, J.Y., ZHANG, H., SUE, H.-J. Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, and *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of food science*, vol. 74, p. 1-7, 2009.

JIS Z 2801:2010. Antibacterial products - Test for antibacterial activity and efficacy.

KIJCHAVENGKUL, T., AURAS, R., RUBINO, M., SELKE, S., NGOUAJIO, M., R. FERNANDEZ, T. Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. *Polymer Degradation and Stability*, vol. 95, p. 2641-2647, 2010.

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

effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 3, p. 95-101, 2007.

KIRSCHNER, M. R. C. Avaliação do desempenho antibacteriano de placas de poliamida 6 aditivadas com compostos a base de zinco em *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais). Universidade Comunitária da Região de Chapecó – Unochapecó, Chapecó, SC, 2016.

KIRSCHNER, M. R. C., RIPPEL, T., TERNUS, R. Z. DUARTE, G. W., RIELLA, H. G., DAL MAGRO, J., MELLO, J. M. M., SILVA, L. L., FIORI, M. A. Antibacterial polyamide obtained by the incorporation of glass microparticles doped with ionic zinc and by zinc oxide nanoparticle: Evaluation with *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of applied polymer science*, vol. 134, nº 26, p. 1-11, 2017.

KLEIN, T. Y., WEHLING, J., TRECCANI, L., REZWAN, K. Effective bacterial inactivation and removal of copper by porous ceramics with high surface area. *Environmental Science & Technology*, vol. 47, p. 1065-1072, 2013.

KUCHNIER, C. N. Estudo do efeito de aditivo extensor de cadeia multifuncional em blendas de PLA/PBAT. 154 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, 2014.

KUMARI, M., KHAN, S. S., PAKRASHI, S., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N. Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 190, p. 613–621, 2011.

KURUSU, R. S. O efeito do tempo e do recozimento nas propriedades mecânicas e de biodegradação de materiais baseados no Poli (3-hidroxibutirato) (PHB). 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Universidade de São Paulo - USP, São Paulo, SP, 2011.

LANDIM, A. P. A. M., BERNARDO, C. O., MARTINS, I. B. A., FRANCISCO, M. R., SANTOS, M. B., MELO, N. R. Sustentabilidade quanto às embalagens de alimentos no Brasil. *Polímeros*, vol. 26, p. 82-92, 2016.

LEUNG, Y. H., NG, A. M. C., XU, X., SHEN, Z., GETTINGS, L. A., WONG, M. T., CHAN, C. M. N., GUO, M. Y., NG, Y. H., DJURISIC, A. B., LEE, P. K. H., CHAN, W. K.,

YU, L. H., PHILLIPS, D. L., MA, A. P. Y., LEUNG, F. C. C. Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards *Escherichia coli*. *Small*, vol. 10, n° 6, p. 1171-1183, 2014.

LI, Z., YUBAO, L., Y, Z., LAN, W., JANSEN, J. In vitro and in vivo evaluation of the bioactivity of ZnO containing nano-hydroxyapatite/chitosan cement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 93, n° 1, p. 269-279, 2009 (a).

LI, J. H., HONG, R. Y., LI, M. Y., LI, H. Z., ZHENG, Y., DING, J. Effects of ZnO nanoparticles on the mechanical and antibacterial properties of polyurethane coatings. *Progress in Organic Coatings*, vol. 64, p. 504-509, 2009 (b).

LLORENS, E., CALDERÓN, S., VALLE, L. J., PUIGGALÍ, J. Polybiguanide (PHMB) loaded in PLA scaffolds displaying high hydrophobic, biocompatibility and antibacterial properties. *Materials Science and Engineering C*, vol. 50, p. 74-84, 2015.

LOPES, M. S. G. Produção de plásticos biodegradáveis utilizando hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar. 68 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia). Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, 2010.

LUNA, C. M., RODRIGUEZ-NORIEGA, E., BAVESTRELLO, L., GOTUZZO, E. Tratamento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina na América Latina. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, vol. 14, p. 119-127, 2010.

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., PARKER, J. Microbiologia de Brock. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAITI, S., KRISHNAN, D., BARMAN, G., GHOSH, S. K., LAHA, J. K. Antimicrobial activities of silver nanoparticles synthesized from *Lycopersicon esculentum* extract. *Journal of Analytical Science and Technology*, vol. 5, n° 40, p. 1-7, 2014.

MARIANI, P. D. S. C. Estudo da biodegradação da blenda poli (ϵ -caprolactona) e amido modificado em meios sólido e líquido. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, 2005.

MARTÍNEZ-BOUBETA, C., BALCELLS, L., CRISTÒFOL, R., SANFELIU, C., RODRÍGUEZ, E., WEISSLEDER, R., LOPE-PIEDRAFITA, S., SIMEONIDIS, K., ANGELAKERIS, M., SANDIUMENGE, F., CALLEJA, A., CASAS, L., MONTY, C.,

MARTÍNEZ, B. Self-assembled multifunctional Fe/MgO nanospheres for magnetic resonance imaging and hyperthermia. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 6, p. 362-370, 2010.

MARTINS, I. M., BARREIRO, M. F., COELHO, M., RODRIGUES, A. E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. *Chemical Engineering Journal*, vol. 245, p. 191-200, 2014.

MATEI, A., CERNICA, I., CADAR, O., ROMAN, C., SCHIOPU, V. Synthesis and characterization of ZnO – polymer nanocomposites. *International Journal of Material Forming*, p. 767-770, 2008.

MEDEIROS, E. A. A., SOARES, N. F. F., POLITO, T. O. S., SOUSA, M. M., SILVA, D. F. P. Sachês antimicrobianos em pós-colheita de manga. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol. 33, p. 363-370, 2011.

MENDES, E. Modelagem cinética da adsorção e da dessorção de íons zinco por micropartículas de vidro ricas em sódio no desenvolvimento de aluminossilicatos antimicrobianos atóxicos. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, 2016.

MIRZA, E. H., IBRAHIM, W. M. A. B. W., MURPHY, B. P., DJORDJEVIC, I. Polyoctanediol citrate-zinc oxide nano-composite multifunctional tissue engineering scaffolds with anti-bacterial properties. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 10, p. 415-428, 2015.

MIRZAEI, H., DAVOODNIA, A. Microwave assisted sol-gel synthesis of MgO nanoparticles and their catalytic activity in the synthesis of hantzsch 1,4-Dihydropyridines. *Chinese journal of catalysis*, vol. 33, p. 1502-1507, 2012.

MOEZZI, A., McDONAGH, A. M., CORTIE, M. B. Zinc oxide particles: Synthesis, properties and applications. *Chemical Engineering Journal*, vol. 185-186, p. 1-22, 2012.

MOFOKENG, J. P., LUYT, A. S. Morphology and thermal degradation studies of melt-mixed poly(hydroxybutyrate-co-valerate) (PHBV)/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) biodegradable polymer blend nanocomposites with TiO₂ as filler. *Journal of Materials Science*, vol. 50, p. 3812-3824, 2015.

MOHANTY, S., NAYAK, S. K. Biodegradable nanocomposites of Poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) and organically modified layered silicates. *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 20, p. 195-207, 2012.

MORAES, M. F. V. Produção e caracterização da blenda polimérica biodegradável poli (hidroxibutirato)[PHB]/copoliéster alifático aromático [Ecoflex[®]] para aplicações em embalagens. 134 f. Dissertação (Mestrado Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP, Belo Horizonte, MG, 2004.

MORI, C. L. S. O., PASSOS, N. A., OLIVEIRA, J. E., ALTOÉ, T. F., MORI, F. K., MATTOSO, L. H. C., SCOLFORO, J. R., TONOLI, G. H. D. Nanostructured polylactic acid/candeia essential oil mats obtained by electrospinning. *Journal of Nanomaterials*, vol. 2015, p. 1-9, 2015.

MUKHERJEE, S. G., O'CLAONADH, N., CASEY, A., CHAMBERS, G. Comparative in vitro cytotoxicity study of silver nanoparticle on two mammalian cell lines. *Toxicology in Vitro*, vol. 26, p. 238-251, 2012.

MUNIYASAMY, S., REDDY, M. M., MISRA, M., MOHANTY, A. Biodegradable green composites from bioethanol co-product and poly (butylene adipate-co-terephthalate). *Industrial Crops and Products*, vol. 43, p. 812-819, 2013.

MUÑOZ-BONILLA, A., FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science*, vol. 37, p. 281-339, 2012.

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*, vol. 12, p. 1762-1771, 2011.

NAFCHI, A. M., ALIAS, A. K., MAHMUD, S., ROBAL, M. Antimicrobial, rheological, and physicochemical properties of sago starch films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Journal of Food Engineering*, vol. 113, p. 511-519, 2012.

NAMPOOTHIRI, K. M., NAIR, N. R., JOHN, R. P. An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology*, vol. 101, p. 8493-8501, 2010.

NERKAR, M., RAMSAY, J. A., RAMSAY, B. A., VASILEIOU, A. A., KONTOPOULOU, M. Improvements in the melt and solid-state properties of poly (lactic acid), poly-3-hydroxyoctanoate and their blends through reactive modification. *Polymer*, vol. 64, p. 51-61, 2015.

OJEDA, T. Biodegradabilidade de materiais poliméricos. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências dos materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

ORUE, A., JAUREGI, A., RODRIGUEZ, C. P., LABIDI, J., ECEIZA, A., ARBELAIZ, A. The effect of surface modifications on sisal fiber properties and sisal/poly (lactic acid) interface adhesion. *Composites Part B: Engineering*, vol. 73, p. 132-138, 2015.

OURAIPRYVAN, P., SREETHAWONG, T., CHAVADEJ, S. Synthesis of crystalline MgO nanoparticle with mesoporous-assembled structure via a surfactant-modified sol–gel process. *Materials Letters*, vol. 63, p. 1862-1865, 2009.

OTHMAN, S. H., SALAM, N. R. A., ZAINAL, N., BASHA, R. K., TALIB, R. A. Antimicrobial activity of TiO₂ nanoparticle-coated film for potential food packaging applications. *International Journal of Photoenergy*, vol. 2014, p. 1-6, 2014.

PALZA, H., QUIJADA, R., DELGADO, K. Antimicrobial polymer composites with copper microand nanoparticles: Effect of particle size and polymer matrix. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, p. 1-15, 2015.

PAOLI, M. A. Degradação e estabilização de polímeros. 2ª versão on-line, 2008. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com/blog/wp-content/uploads/2008/09/polimeros.pdf>>. Acesso em 27 de fevereiro de 2017.

PASCUAL, A. M. D., VICENTE, A. L. D. Poly (3-hydroxybutyrate)/ZnO bionanocomposites with improved mechanical, barrier and antibacterial properties. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 15, p. 10950-10973, 2014 (a).

PASCUAL, A. M. D., VICENTE, A. L. D. ZnO-Reinforced Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) bionanocomposites with antimicrobial function for food packaging. *Applied Materials e Interfaces*, vol. 6, p. 9822–9834, 2014 (b).

PAULA, C. M. D., CASARIN, L. S., TONDO, E. C. *Escherichia coli* O157:H7 - patógeno alimentar emergente. *Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia*, vol. 2, nº 04, p. 23-33, 2014.

PELLICANO, M. Desenvolvimento e caracterização de blendas PHBV/Ecoflex[®] e suas modificações com amidos. 156 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia dos Materiais). Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR, São Carlos, SP, 2008.

PELLICANO, M., PACHEKOSKI, W., AGNELLI, J. A. M. Influência da Adição de Amido de Mandioca na Biodegradação da Blenda Polimérica PHBV/Ecoflex[®]. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 19, p. 212-217, 2009.

PENG, Y., MENG, J., MOU, D., HE, J., ZHAO, L., WU, Y., LIU, G., DONG, X., HE, S., ZHANG, J., WANG, X., PENG, Q., WANG, Z., ZHANG, S., YANG, F., CHEN, C., XU, Z., LEE, T. K., ZHOU, X. J. Disappearance of nodal gap across the insulator–superconductor transition in a copper-oxide superconductor. *Nature Communications*, vol. 4, nº 2459, p. 1-8, 2013.

PINHEIRO, I. F. Biocompósitos poliméricos de Poli (butileno adipato-co-tereftalato) – PBAT e fibra natural de Munguba, nativa da Amazônia (*Pseudobombax munguba*). 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas– UNICAMP, Campinas, SP, 2012.

PIRES, M., PETZHOLD, C. L., SANTOS, R. V., PERÃO, L., CHIES, A. P. Efeito da migração de composto antimicrobiano nas propriedades finais de selagem de filme poliolefínico, *Polímeros Ciência e Tecnologia*, vol. 24, nº 2, p. 237-242, 2014.

PIŞKIN, S., PALANTÖKEN, A., YILMAZ, M. S. Antimicrobial activity of synthesized TiO₂ nanoparticles. *International conference on emerging trends in engineering and technology*, 2013.

PORTO, L. C. Filmes formados por gelatina e poli (acrilamida-co-ácido acrílico): efeito da composição, do plastificante e agente reticulante nas propriedades térmicas, mecânicas e absorção de água. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, 2007.

- PREMANATHAN, M., KARTHIKEYAN, K., JEYASUBRAMANIAN, K., MANIVANNAN, G. Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 7, p. 184-192, 2011.
- RAGHAVAN, D. Characterization of biodegradable plastics. *Polymer-Plastics Technology And Engineering*, vol. 34, nº 1, p. 41-63, 1995.
- RAI, M., YADAV, A., GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, vol. 27, p. 76-83, 2009.
- RAVISHANKAR, R. V.; JAMUNA, B. A. Nanoparticles and their potential application as antimicrobials. In: MENDEZ-VILAS, A. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances, Editora: Formatex Research Center, vol. 2, p. 197-209, 2011.
- RISCH, S. J., REINECCIUS, G. A. Encapsulation and controlled release of food ingredients. Washington, DC: American Chemical Society (ACS), 1995.
- RHIM, J. W., PARK, H. M., HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in Polymer Science*, vol. 38, p. 1629-1652, 2013.
- ROSA, D. S., CHUI, Q. S. H., PANTANO FILHO, R., AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de poli- β -(Hidroxibutirato), poli- β -(Hidroxibutirato-co-valerato) e poli- ϵ -(caprolactona) em solo compostado. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 12, nº 4, p. 311-317, 2002.
- SAADI, Z., CESAR, G., BEWA, H., BENGUIGUI, L. Fungal degradation of Poly (Butylene Adipate-Co-Terephthalate) in soil and in compost. *Journal of polymers and the environment*, vol. 21, p. 893-901, 2013.
- SALES, L. M., SILVA, T. M. *Staphylococcus aureus* meticilina resistente: um desafio para a saúde pública. *Acta Biomedica Brasiliensia*, vol. 3, nº 1, p. 1-13, 2012.
- SANTOS, A. L., SANTOS, D. O., FREITAS, C. C., FERREIRA, B. L. A., AFONSO, I. F., RODRIGUES, C. R., CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, vol. 43, nº 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, A. C. M., ZIDKO, A. C. M., PIGNATARI, A. C. C., GALES, A. C., SILVA, R. M. A virulência de *Escherichia coli* patogênica extra-intestinal (ExPEC) em relação à idade e ao sexo do hospedeiro. *O mundo da saúde*, vol. 33, nº 4, p. 392-400, 2009.

SANTOS, M. F., MACHADO, C., TACHINSKI, C. G., FIORI JÚNIOR, J., PILETTI, R., PETERSON, M., FIORI, M.A. Application of glass particles doped by Zn⁺² as an antimicrobial and atoxic compound in LLDPE and HDPE. *Materials Science and Engineering C*, vol. 39, p. 403-410, 2014.

SAORIN, F. Estudo de vida útil de alimentos acondicionados em embalagens com partículas de prata incorporadas na estrutura do material. 171 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, 2015.

SAWAI, J. Quantitative evaluation of antibacterial activities of metallic oxide powders (ZnO, MgO and CaO) by conductimetric assay. *Journal of Microbiological Methods*, vol. 54, p. 177-182, 2003.

SAWAI, J., YOSHIKAWA, T. Quantitative evaluation of antifungal activity of metallic oxide powders (MgO, CaO and ZnO) by an indirect conductimetric assay. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 96, p. 803-809, 2004.

SCHEIBEL, J. M., ZAHETMEYER, G., OLIVEIRA, R. V. B. Análises térmicas dos nanocompósitos de PBAT/nanopartículas de prata. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, Florianópolis, 2013.

SCHLEMMER, D. A., ANDREANI, L., VALADARES, L. F. Biomateriais: polímeros e compósitos. Comunicado Técnico/Recomendações Técnicas. ISSN 2177-4447. Brasília, DF. Dezembro, 2014. Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=ad&id=1005850&biblioteca=vazio&busca=1005850&qFacets=1005850&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em 21 de março de 2017.

SEDIGHI, A, MONTAZER, M., HEMMATINEJAD, N. Copper nanoparticles on bleached cotton fabric: in situ synthesis and characterization. *Cellulose*, vol. 21, nº 3, p. 2119-2132, 2014.

ŠERÁ, J., STLOUKAL, P., JA NČOVÁ, P., VERNEY, V., PEKAŘOVÁ, S., KOUTNÝ, M Aliphatic Copolyester in Soil under Mesophilic Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 64, nº 28, p. 5653-5661, 2016.

SHAMAILA, S., ZAFAR, N., RIAZ, S., SHARIF, R., NAZIR, J., NASEEM, S. Gold nanoparticles: an efficient antimicrobial agent against enteric bacterial human pathogen. *Nanomaterials*, vol. 6, nº 71, p. 1-10, 2016.

SHANKAR, S., RHIM, J-W. Tocopherol-mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial PBAT/silver nanoparticles composite films. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 72, p. 149-156, 2016.

SHOJA, M., SHAMELI, K., AHMAD, M. B., KALANTARI, K. Preparation, characterization and antibacterial properties of polycaprolactone/zno microcomposites. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 10, nº 1, p. 169-178, 2015.

SIEGENTHALER, K. O., KUNKEL, A., SKUPIN, G., YAMAMOTO, M. Ecoflex[®] and Ecovio[®]: Biodegradable, Performance-Enabling Plastics. *Advanced Polymer Science*, vol. 245, p. 91-136, 2012.

SILVA JÚNIOR, F. A. G. Preparação e caracterização de compósitos polímeros/semicondutor inorgânico a partir da técnica de eletrofição. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos materiais). Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Juazeiro, BA, 2013.

SILVA, H. F. O. Nanopartículas de prata conjugadas com hclato de doxiciclina: síntese, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*. 79 f. Dissertação (Mestrado em química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Natal, RN, 2015.

SILVA, P. T., FRIES, L. L. M., MENEZES, C. R., HOLKEM, A. T., SCHWAN, C. L., WIGMANN, É. F., BASTOS, J. O., SILVA, C. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, vol. 44, nº 7, p. 1304-1311, 2014.

SIRELKHATIM, A., MAHMUD, S., SEENI, A., KAUS, N. H. M., ANN, L. C., BAKHORI, S. K.M., HASAN, H., MOHAMAD, D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, vol. 7, nº 3, p. 219-242, 2015.

SIVLIM, T., AKKAN, S., ALTIN, I., KOÇ, M., SÖKMEN, M. TiO₂ immobilized biodegradable polymer for photocatalytic removal of chlorophenol. *Water Air Soil Pollut*, vol. 223, p. 3955–3964, 2012.

SMIJS, T. G., PAVEL, S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnology, Science and Applications*, vol. 4, p. 95–112, 2011.

SOARES, N. F. F., SILVA, W. A., PIRES, A. C. S., CAMILLOTO, G. P., SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. *Revista Ceres*, vol. 56, p. 370-378, 2009.

SONOHARA, R., MURAMATSU, N., OHSHIMA, H., KONDO, T. Difference in surface properties between *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* as revealed by electrophoretic mobility measurements. *Biophysical Chemistry*, vol. S5, p. 273-277, 1995.

SOUZA, D. A. R. Revestimento de substrato têxtil com nanoestruturas de ZnO para aplicação antimicrobiana. 154 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC, 2015(a).

SOUZA, R. C. Ação antimicrobiana de filmes de polietileno de baixa densidade e polietileno de baixa densidade linear modificado com anidrido maleico incorporados com nanopartículas de óxido de zinco. 131 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Florianópolis, SC, 2015(b).

SOUZA, P. M. S., MORALES, A. R., MEI, L. H. I., MARIN-MORALES, M. A. Estudo da influência de argilas organofílicas no processo de biodegradação do PLA. *Polímeros*, vol. 24, n°1, p. 110-116, 2014.

SUAVE, J., DALL'AGNOL, E. C., PEZZIN, A. P. T., SILVA, D. A. K., MEIER, M. M., SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. *Revista Saúde e Meio Ambiente*, vol. 7, n° 2, p. 12-20, 2006.

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*, vol. 33, p. 110-123, 2013.

- SURENDRA, T. V., ROOPANI, S. M., AL-DHABI, N. A., ARASU, M. V., SARKAR, G., SUTHINDHIRAN, K. Vegetable peel waste for the production of ZnO nanoparticles and its toxicological efficiency, antifungal, hemolytic, and antibacterial activities. *Nanoscale Research Letters*, vol. 11, p. 1-10, 2016.
- SWARNKAR, R. K., PANDEY, J. K., SOUMYA, K. K., DWIVEDI, P. SUNDARAM, S., PRASAD, S., GOPAL. R. Enhanced antibacterial activity of copper/copper oxide nanowires prepared by pulsed laser ablation in water medium. *Applied Physics A*, vol. 122, n° 704, p. 1-7, 2016.
- TAM, K. H., DJURIŠIĆ, A. B., CHAN, C. M. N., XI, Y. Y., TSE, C. W., LEUNG Y. H., CHAN, W. K., LEUNG, F. C. C., AU, D. W. T. Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method. *Thin Solid Films*, vol. 516, p. 6167–6174, 2008.
- TAN, F. T., COOPER, D. G., MARIC´, M., NICELL, J. A. Biodegradation of a synthetic copolyester by aerobic mesophilic microorganisms. *Polymer Degradation and Stability*, vol. 93, p. 1479–1485, 2008.
- TANG, Z., YU, Z., ZHANG, Z., ZHANG, X., PAN, Q., SHI, L. Sonication-assisted preparation of CaO nanoparticles for antibacterial agents. *Química Nova*, vol. 36, n° 7, p. 933-936, 2013.
- TANKHIWALE, R., BAJPAI, S. K. Preparation, characterization and antibacterial applications of ZnO-nanoparticles coated polyethylene films for food packaging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 90, p. 16-20, 2012.
- THOMPSON, R. C., MOORE, C. J., VOM SAAL, F. S., SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, vol. 364, p. 2153-2166, 2009.
- TIWARI, S., GOEL, A., JHA, K. K., SHARMA, A. Microencapsulation techniques and its application: a review. *The Pharmacy Research*, vol. 2, p. 103-109, 2008.
- TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 935.

VACCIOLI, K. Estudo da blenda PBAT/PLA com cargas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Universidade de São Paulo – USP, São Paulo, SP, 2015.

VENKATESAN, R., RAJESWARI, N. ZnO/PBAT nanocomposite films: investigation on the mechanical and biological activity for food packaging. *Polymer Advanced Technologies*, vol. 28, p. 20-27, 2017.

VIEIRA, M. M. G. Desenvolvimento de compostos poliméricos biodegradáveis modificados com cargas e fibras naturais vegetais. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos, SP, 2010.

VIGNESHWARAN, N., KUMAR, S., KATHE, A. A., VARADARAJAN, P. V., PRASAD, V. Functional finishing of cotton fabrics using zinc oxide–soluble starch nanocompósitos. *Nanotechnology*, vol. 17, p. 5087-5095, 2006.

VOICU, G., OPREA, O., VASILE, B. S., ANDRONESCU, E. Antibacterial activity of zinc oxide – gentamicin hybrid material. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, vol. 8, p. 1191-1203, 2013.

WANG, B., FENG, W., WANG, T., JIA, G., WANG, M., SHI, J., ZHANG, F., ZHAO, Y., CHAI, Z. Acute toxicity of nano and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicology Letters*, vol. 161, p. 115-123, 2006.

WEICKMANN, H., TILLER, J. C., THOMANN, R., MULHAUPT, R. Metallized organoclays as new intermediates for aqueous nanohybrid dispersions, nanohybrid catalysts and antimicrobial polymer hybrid nanocomposites. *Macromolecular Materials and Engineering*, vol. 290, p. 875-883, 2005.

WENG, Y., JIN, Y., MENG, Q., WANG, L., ZHANG, M., WANG, Y. Biodegradation behavior of poly (butylene adipate-coterephthalate) (PBAT), poly (lactic acid) (PLA), and their blend under soil conditions. *Polymer Testing*, vol. 32, 918-926, 2013.

WITT, U., EINING, T., YAMAMOTO, M., KLEEGERG, I., DECKWER, W. MÜLLER, L. Biodegradation of aliphatic-aromatic copolyester: evaluation of the final biodegradability and ecotoxicological impact of degradation intermediates. *Chemosphere*, vol. 44, p. 289-299, 2001.

WOINARSKI, A. Z., SNAPE, I., STEVENS G. W., STARK, S. C. The effects of cold temperature on copper ion exchange by natural zeolite for use in a permeable reactive barrier in Antarctica. *Cold Regions Science and Technology*, vol. 37, p. 159-168, 2003.

YAHIAOUI, F., BENHACINE, F., FERFERA-HARRAR, H., HABI, A., HADJ-HAMOU, A. S., GROHENS, Y. Development of antimicrobial PCL/nanoclay nanocomposite films with enhanced mechanical and water vapor barrier properties for packaging applications. *Polymer Bulletin*, vol. 72, p. 235-254, 2015.

YALCINKAYA, F., LUBASOVA, D. Quantitative evaluation of antibacterial activities of nanoparticles (ZnO, TiO₂, ZnO/TiO₂, SnO₂, CuO, ZrO₂, and AgNO₃) incorporated into polyvinyl butyral nanofibers. *Polymer Advanced Technology*, vol. 28, p. 137-140, 2017.

YAMAMOTO, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*, vol. 3, p. 643-646, 2001.

YATES, H.M., BROOK, L. A., SHEEL D. W., DITTA, I.B., STEELE, A., FOSTER, H. A. The growth of copper oxides on glass by flame assisted chemical vapour deposition. *Thin Solid Films*, vol. 517, p. 517-521, 2008.

YU, H. Y., YANG, X. Y., LU, F. F., CHEN, G. Y., YAO, J. M. Fabrication of multifunctional cellulose nanocrystals/poly(lactic acid) nanocomposites with silver nanoparticles by spraying method. *Carbohydrate Polymers*, vol. 140, p. 209-219, 2016.

XIAO, L., WANG, B., YANG, G., GAUTHIER, M. Poly (Lactic Acid)-based biomaterials: synthesis, modification and applications. In: GHISTA, D. N. Biomedical Science, Engineering and Technology, Editora In tech, p. 247-282, 2012.

XIE, Y., HE, Y., IRWIN, P. L., JIN, T., SHI, X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and environmental microbiology*, vol. 77, p. 2325–2331, 2011.

ZEHETMEYER, G. Desenvolvimento e caracterização de embalagens ativas compostas de PBAT com incorporação de nisina. 200 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, RS, 2016.

ZEHETMEYER, G., SCHEIBEL, J. M., OLIVEIRA, R. V. B. Nanocompósitos biodegradáveis de PBAT/nanopartículas de prata: caracterização das propriedades mecânicas. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013.

ZHAI, Q., XIE, S., FAN, W., ZHANG, Q., WANG, Y., DENG, W., WANG, Y. Photocatalytic conversion of carbon dioxide with water into methane: platinum and copper (I) oxide co-catalysts with a core-shell structure. *Angewandte Chemie*, vol. 25, p. 5888-5891, 2013.

ZHANG, Y., DASARI, T. P. S., DENG, H., YU, H. Antimicrobial activity of gold nanoparticles and ionic gold. *Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, vol. 3, nº 33, p. 286-327, 2015.

ZHONG, T., OPORTO, G. S., JACZYNSKI, J., JIANG, C. Nanofibrillated cellulose and copper nanoparticles embedded in polyvinyl alcohol films for antimicrobial applications. *BioMed Research International*, vol. 2015, p. 1-9, 2015.

ZOOLFAKAR, A. S., AHMAD, M. Z., RANI, R. A., OU, J. Z., BALENDHRAN, S., ZHUIYKOV, S., LATHAM, K., WLODARSKI, W., KALANTAR-ZADEH, K. Nanostructured copper oxides as ethanol vapour sensors. *Sensors and Actuators B*, vol. 185, p. 620-627, 2013.

ANEXO 1

Figura 36 – Ficha técnica do Ecoflex®. Fonte: BASF, (2016)



Product Information

Biodegradable Polymers

Version 1.0
January 2013
G-PMS/B

ecoflex® F Blend C1200

Biodegradable polyester for compostable film

® – ecoflex is a registered trademarks of BASF SE;
Lupolen is a registered trademark of
Lyondell Basell group companies

Product description

ecoflex® F Blend C1200 is our biodegradable, statistical, aliphatic-aromatic copolyester based on the monomers 1.4-butanediol, adipic acid and terephthalic acid in the polymer chain. ecoflex® F Blend C1200 will biodegrade to the basic monomers 1.4-butanediol, adipic acid and terephthalic acid and eventually to carbon dioxide, water and biomass when metabolized in the soil or compost under standard conditions.

ecoflex® F Blend C1200 has properties similar to PE-LD because of its high molecular weight and its long chain branched molecular structure.



1 | 3

Continua...

Continuação Figura 36...

Product information ecoflex® F Blend C 1200

- Transparent to translucent, semi-crystalline structure with DSC melting point in the range of PE-LD: 110- 120°C
- High ultimate elongation at break and high failure energy (dart drop)
- High, but controllable water vapour transmission rate (WVTR)
- MVR (190°C, 2.16kg): 2.5 - 4.5 ml/10 min
- Good thermostability up to 230°C
- regular predrying of pellets
- Good processability on blown film lines
- Down gaging to 10 µm possible
- Weldable and printable

ecoflex® F Blend C1200 fulfils the requirements of the European standard DIN EN 13432, the US standard ASTM D 6400 and the Japanese GreenPla standard for compostable and biodegradable polymers, because it can be degraded by micro-organisms. The biodegradation process in soil depends on the specific environment (climate, soil quality, population of micro-organisms).

ecoflex® F Blend C1200 is one of the few biodegradable plastics, which complies in its composition with the European and American food stuff legislation for food contact: EU Directive 2002/72/EC (as amended) and US food contact notification FCN 907. Specific limitations and more details are given on request. The converter or packer has to check the suitability of the article for the application.

Form supplied and storage

ecoflex® F Blend C1200 is supplied as lens shaped pellets in 1t big bags or bulk containers. Temperatures during transportation and storage may not exceed 70°C at any time. Storage time of unopened bags may not surpass 12 month at room temperature (23°C).

Quality Control

ecoflex® F Blend C1200 is produced as a standard material in a continuous production process according to DIN EN ISO 9001:2000. The melt volume rate, MVR, at 190°C, 2.16 kg, according to ISO 1133 has been defined as specified parameter for quality control. A certificate can be provided with each lot number (10t) upon request. In order to obtain a high accuracy for the MVR measurement the granules should be dried for 30 minutes at 70°C using e.g. an electronic moisture analyser (e.g. Brabender Aquatrac plus). Other data given in our literature are typical values, which are not part of our product specification for ecoflex® F Blend C1200.

Applications

ecoflex® F Blend C1200 has been developed for the conversion to flexible films using a blown film or cast film process. Typical applications are packaging films, agricultural films and compost bags. In view of numerous factors influencing functionality and shelf life of ecoflex® films and finished articles made thereof these parameters have to be tested by the converters before utilisation.

We supply technical service information concerning the blown or cast film process with ecoflex® F Blend C1200 on demand.

Continua...

Continuação Figura 36...

Product information ecoflex® F Blend C 1200

Intellectual Property

It is the responsibility of those to whom we supply our products to ensure that any proprietary rights and existing laws and legislation are observed. Some uses of ecoflex® and product obtained by use of ecoflex® are subject of intellectual property rights. Purchase of ecoflex® does not entitle the buyer or any third to produce, offer or use any blends of ecoflex® protected under property rights and all their equivalents as listed here:

- EP-B 1656423
- EP-B 937120
- EP-B 950689
- EP-B 1838784
- EP-B 947559
- EP-B 965615

Typical basic material properties of ecoflex® F Blend C1200

Property	Unit	Test Method	ecoflex® F Blend C1200	Lupolen® 2420 F
Mass density	g/cm³	ISO 1183	1.25-1.27	0.924
Melt flow rate MFR 190 °C, 2.16 kg	g/10 min	ISO 1133	2.7-4.9	0.6-0.9
Melt volume rate MVR 190 °C, 2.16 kg	ml/10 min	ISO 1133	2.5-4.5	0.8-1.2
Melting point	°C	DSC	110-120	111
Shore D hardness	–	ISO 868	32	48
Vicat VST A / 50	°C	ISO 306	91	96

Typical properties of ecoflex® F Blend C1200 blown film, 50 µm

Property	Unit	Test Method	ecoflex® F Blend C1200	Lupolen® 2420 F
Transparency	%	ASTM D 1003	82	89
Tensile strength	N/mm²	ISO 527	35/44	26/20
Ultimate strength	N/mm²	ISO 527	36/45	–
Ultimate Elongation	%	ISO 527	560/710	300/600
Failure Energy (Dyna Test)	J/mm	ISO 53373	24	5.5
Permeation rates:				
Oxygen (22 °C, dry)	cm³/(m²·d·bar)	ASTM D 3985	1200	2900
Water vapour (23 °C, 85% r.h.)	[g/(m²·d)]	ASTM F-1249	135	1.7

Note

The information submitted in this document is based on our current knowledge and experience. In view of the many factors that may affect processing and application, these data do not relieve processors of the responsibility of carrying out their own tests and experiments; neither do they imply any legally binding assurance for a special purpose. It is the responsibility of those to whom we supply our products to ensure that any proprietary rights and existing laws and legislation are observed.

BASF SE
Biodegradable Polymers
67066 Ludwigshafen, Deutschland
www.plasticsportal.eu/ecoflex