

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELABORAÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE POLIETILENO
LINEAR DE BAIXA DENSIDADE E AMIDO DE MANDIOCA COM
INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

Gabriela Zanghelini
Florianópolis – SC
2017

GABRIELA ZANGHELINI

ELABORAÇÃO DE FILMES MULTICAMADAS DE POLIETILENO
LINEAR DE BAIXA DENSIDADE E AMIDO DE MANDIOCA COM
INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
Coorientadora: Leidiani Müller

Florianópolis – SC
2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi, pelo conhecimento e dedicação; à minha co-orientadora e amiga, Leidiani Müller, pelo apoio constante, dedicação e companheirismo em todas as horas ao longo dos últimos meses, e por ser uma fonte de inspiração; aos colegas do Laboratório de Materiais e Corrosão e do Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos pelo convívio e pela troca de experiências; aos meus pais, Airton e Marlene, pelo carinho, confiança e apoio incondicional; à Débora e o Robson pela paciência e elevadas doses de humor em intervalos regulares; a todos que, mesmo nos pequenos gestos, foram essenciais na realização deste trabalho.

“A partir de certo ponto não há mais retorno. É este o ponto que tem de ser alcançado”.

Franz Kafka

RESUMO

O polietileno linear de baixa densidade (PELBD) é um termoplástico com vasta utilização em embalagens de alimentos em virtude de seu baixo custo, suas boas propriedades mecânicas e elevada capacidade de selagem a quente. Alguns dos fatores limitantes encontrados na utilização desse polímero em embalagens alimentícias são sua baixa energia de superfície com conseqüente baixa adesão a materiais e sua alta permeabilidade a gases. O amido de mandioca é um polissacarídeo de origem vegetal com alta disponibilidade, alta barreira a gases e alta biodegradabilidade. Tendo em vista as propriedades complementares desses dois polímeros, o presente trabalho objetivou a produção de filmes multicamadas de PELBD e amido incorporados com nanopartículas de óxido de zinco (NPs-ZnO) com potencial atividade antimicrobiana. A compatibilização dos polímeros foi promovida através do tratamento do filme de PELBD com aplicação de plasma de descarga de barreira dielétrica empregando ar como gás ionizante, seguido pela deposição da solução de amido com as NPs-ZnO por *casting*. Os testes microbiológicos comprovaram o efeito bactericida do filme com nanopartículas nas concentrações de 3 e 8% em relação ao amido frente a *Staphylococcus aureus*. A morfologia de superfície foi avaliada por análises de microscopia eletrônica de varredura e ângulo de contato, enquanto as propriedades mecânicas foram medidas por ensaios de resistência à tração. A inibição microbiológica foi comprovada para os filmes de PELBD-Amido com 3 e 8% NPs-ZnO nas primeiras 9 horas.

Palavras-chave: Polietileno. Amido. Plasma a frio. Nanopartículas. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Linear low-density polyethylene (LLDPE) is a thermoplastic polymer with vast employment in food packaging due to its low cost, good mechanical properties and high heat sealing capacity. Some of the limiting factors for the use of this polymer in food packaging are its low surface energy with consequent low adhesion to different materials and its high permeability to gases. Cassava starch is a polysaccharide of vegetable origin with high availability, good gas barrier and high biodegradability. Taking into consideration the complementary properties of these two polymers, the current work aimed to produce multilayer films of LLDPE and starch incorporated with NPs-ZnO with potential antimicrobial activity. The compatibilization of the polymers was promoted through the treatment of the LLDPE film with a dielectrical barrier plasma discharge, followed by the deposition of a starch solution with NPs-ZnO by casting. The microbiological tests proved the bactericide effect of the film with nanoparticles in the concentrations of 3 and 8 % in relation to the starch against *Staphylococcus aureus*. The surface morphology was evaluated by scanning electron microscopy and contact angle, while the mechanical properties were measured by tensile strength assays. The microbiological inhibition was confirmed for the LLDPE-Starch films with 3 and 8% ZnO nanoparticles in the first 9 hours.

Keywords: Polyethylene. Starch. Cold plasma. Nanoparticle. Antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do polietileno	16
Figura 2 – Estruturas da cadeia polimérica de PEAD, PELBD e PEBD.....	17
Figura 3 – Estrutura molecular do amido	19
Figura 4 – Estrutura molecular da Amilose (a) e Amilopectina (b).....	19
Figura 5 – Molhabilidade de uma superfície sólida com água como líquido molhante e ar como meio circundante.	
Figura 6 – Interações entre produto e ambiente através de embalagens plásticas.....	24
Figura 7 – Representação esquemática de um reator de descarga de barreira dielétrica.....	30
Figura 8 – Esquema do reator de plasma DBD	33
Figura 9 – distribuição de frequência dos diâmetros para as nanopartículas de ZnO nos sentidos do (a) comprimento e (b) largura.....	37 e 38
Figura 10 – Micrografias da superfície do filme de PELBD nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c).....	41
Figura 11 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c).....	42
Figura 12 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido incorporado com 3% NPs-ZnO nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)	42
Figura 13 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido incorporado com 8% NPs-ZnO nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)	42
Figura 14 – Curva de crescimento de <i>S. aureus</i> em amostras de PELBD e amido sem NPs-ZnO (●), com 3% de NPs-ZnO (●) e com 8% de NPs-ZnO (●).	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Ângulos de contato médios e respectivos desvios padrão das amostras de PELBD, PELBD-Amido e PELBD-Amido incorporados com 3 e 8% de NPs-ZnO.	39
Tabela 2 – Dados de espessura, tensão máxima no yield point e tensão máxima e alongamento na ruptura com respectivos desvios padrão para os filmes multicamadas.	40
Tabela 3 – Resultados de EDS para os filmes de PELBD, PELBD-Amido e PELBD-Amido incorporado com NPs-ZnO nas concentrações de 3 e 8%.	43
Tabela 4 – Resultados dos testes microbiológicos de crescimento de <i>S. aureus</i> em filmes com área de 9,62 cm ²	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina Trifosfato
BHI	Infusão Cérebro-Coração
CO ₂	Dióxido de Carbono
DBD	Descarga de Barreira Dielétrica
EDS	Espectrômetro Dispersivo de Raios-X
GRAS	Geralmente Reconhecido como Seguro
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
N ₂	Gás nitrogênio
NPs-ZnO	Nanopartículas de Óxido de Zinco
O ₂	Gás oxigênio
PCA	<i>Plate Count Agar</i>
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PELBD	Polietileno Linear de Baixa Densidade
WDS	Espectrômetro Dispersivo de Comprimento de Onda
ZnO	Óxido de Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
3.1	POLÍMEROS.....	15
3.1.1	Polietileno	16
3.1.1.1	Polietileno Linear de Baixa Densidade	17
3.1.2	Polímeros biodegradáveis	18
3.1.3	Amido	18
3.1.3.1	Filmes de amido	20
3.2	FILMES MULTICAMADAS.....	21
3.3	PROPRIEDADES FÍSICAS DE EMBALAGENS POLIMÉRICAS	22
3.3.1	Molhabilidade	23
3.3.2	Propriedades de barreira	23
3.3.3	Propriedades mecânicas	24
3.4	AGENTES ANTIMICROBIANOS EM EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS	25
3.4.1	Nanopartículas metálicas	26
3.4.1.1	Nanopartículas de Óxido de Zinco.....	26
3.5	BACTÉRIAS PATOGÊNICAS EM ALIMENTOS	27
3.6	PLASMA	28
3.6.1	Plasma a frio	29
3.6.1.1	Descarga de barreira dielétrica.....	29
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	MATÉRIAS PRIMAS	32

4.2	OBTENÇÃO DOS FILMES	32
4.2.1	Filmes de PELBD	32
4.2.2	Solução de amido com NPs-ZnO	32
4.2.3	Tratamento com plasma DBD e obtenção do filme multicamadas	33
4.3	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO 33	
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES MULTICAMADAS	34
4.4.1	Ângulo de contato	34
4.4.2	Resistência à tração	34
4.4.3	Microscopia eletrônica de varredura com EDS	35
4.5	ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS	35
4.5.1	Avaliação da capacidade antimicrobiana das NPs-ZnO em superfícies ..	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1	CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO 37	
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PELBD E AMIDO	38
5.2.1	Ângulo de Contato	39
5.2.2	Resistência à tração	40
5.2.3	Microscopia Eletrônica de Varredura com EDS	40
5.3	ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	43
6	CONCLUSÕES	45
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

1 INTRODUÇÃO

Materiais poliméricos transparentes derivados do etileno compõem uma parcela significativa das embalagens na indústria de alimentos devido às suas características de leveza, baixo custo, alta resistência mecânica e facilidade de processamento. Dentre a extensa gama de poliolefinas com utilização comercial o polietileno linear de baixa densidade (PELBD) apresenta grande potencial por suas propriedades adequadas de cristalinidade, densidade, temperatura de fusão e resistência à tração inerentes à sua cadeia linear com ramificações curtas, bem como melhor processabilidade e uma alta capacidade de selagem a quente.

Um fator limitante no emprego de polietilenos para embalagens alimentícias é sua baixa propriedade de barreira para gases, característica a qual é fundamental no incremento da vida útil de diversos alimentos. Tal fator é geralmente solucionado pela produção de filmes multicamadas, compostos por uma superposição de diferentes polímeros com propriedades complementares. Entretanto, esses filmes podem ser dispendiosos e de difícil reciclagem. Além disso, poliolefinas apresentam baixa energia de superfície, com consequente redução de sua capacidade de impressão, aderência e biocompatibilidade, as quais dificultam a realização da etapa de rotulagem e a produção de embalagens multicamadas ou laminadas.

A utilização de polímeros oriundos de recursos renováveis na produção de filmes é uma alternativa para reduzir a quantidade de resíduos de plásticos sintéticos dispersos no meio ambiente. A principal vantagem econômica e ambiental dos biopolímeros é sua passividade a sofrer ataque microbiano e, conseqüentemente, alta taxa de biodegradação. Um biopolímero de crescente interesse na indústria de alimentos é o amido, um polissacarídeo de origem vegetal e um dos compostos orgânicos de maior abundância na natureza.

O amido de mandioca na forma de filme apresenta alta reatividade química e excelente barreira ao oxigênio e a aromas. Entretanto, seu emprego na indústria de embalagens alimentícias ainda é limitado por suas características de baixa resistência mecânica e hidrofilicidade. As dificuldades de processamento comuns a polímeros biodegradáveis podem ser favorecidas pela adição de agentes plastificantes como o glicerol, os quais permitem facilitar a fusão durante processo de formação de filme e aumentar a mobilidade molecular.

Dentre as tecnologias empregadas atualmente que possibilitam a modificação de propriedades de superfície sem alterar a estrutura dos polímeros, o plasma a frio é de amplo interesse. Por se tratar de uma tecnologia veloz, eficiente e sem geração de resíduos nocivos ou uso de solvente, a opção pelo tratamento por plasma de descarga de barreira dielétrica (DBD) como alternativa para os tratamentos químicos usuais tem se tornado frequente nos últimos anos. A descarga controlada de radicais e íons sobre a superfície polimérica permite alterar contínua e uniformemente suas propriedades físicas e químicas, além de promover a incorporação de grupos funcionais. Poucos segundos de exposição de um polímero ao plasma já são suficientes para causar modificações significativas na superfície do polímero.

Visando a obtenção de um filme multicamadas com boas propriedades de barreira e mecânica e de possível caráter antimicrobiano, o presente trabalho propõe a produção de um filme multicamadas pela submissão de PELBD na forma de filmes ao plasma de DBD, seguida pelo espalhamento de uma fina camada de uma solução de amido de mandioca adicionado de NPs-ZnO em sua superfície. A viabilidade econômica do processo é favorecida pela opção por pressão atmosférica, eliminando assim a necessidade do uso de vácuo, e através uso do ar como gás de geração do plasma.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir um filme multicamadas de polietileno linear de baixa densidade tratado por plasma e amido de mandioca incorporado com nanopartículas de óxido de zinco com potencial atividade antimicrobiana visando a produção de embalagens alimentícias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Avaliar a aplicação de um plasma DBD para aumentar a adesividade e compatibilidade entre as camadas de PELBD e amido.
- b. Avaliar a atividade antimicrobiana do filme multicamadas incorporado com nanopartículas de óxido de zinco em diferentes concentrações frente a *Staphylococcus aureus*;
- c. Caracterizar o filme multicamadas quanto à morfologia de superfície, resistência à tração, ângulo de contato e composição química.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 POLÍMEROS

Polímeros são moléculas de cadeias longas, compostas de repetições de subunidades estruturais, que são os blocos constituintes de todas as classes de organismos vivos. Essas macromoléculas podem ser encontradas na natureza, geralmente na forma de polissacarídeos como o amido ou a celulose, ou sintetizadas, constituindo materiais de ampla utilização comercial como os plásticos. Polímeros podem ser classificados em homopolímeros, compostos de um único monômero, ou heteropolímeros, formados por diferentes comonômeros com proporção e distribuição variáveis (MILES, 1975; EBEWELE, 2000; SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002; MANO; MENDES, 2004).

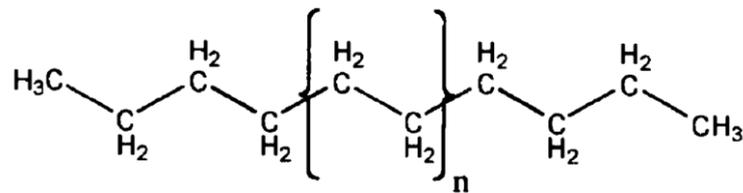
As propriedades dos polímeros dependem, sobretudo, da distribuição das fases amorfas (desordenadas) e cristalinas (COUTINHO *et al.*, 2003). A cristalinidade é inversamente proporcional ao grau de ramificação, uma vez que cadeias mais longas e lineares apresentam maior facilidade de alinhamento, enquanto ramificações atuam como obstáculos à cristalização. Uma maior proporção de regiões cristalinas sugere maior compactação de cadeias e, portanto, maior densidade (FRIED, 1995; GARCIA, 2002; SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002; SEYMOUR; CARRAHER, 2003).

A cristalinidade mais elevada de um polímero resulta no aumento das suas características de opacidade, resistência ao rasgamento e ao impacto, temperatura de selagem, bem como resistência química, enquanto a porção amorfa contribui para a elasticidade, maciez, flexibilidade e permeabilidade a líquidos e gases. O balanço adequado dessas características define as propriedades ideais do *grade* de acordo com a aplicação almejada, o que é alcançado através dos processos de polimerização (EBEWELE, 2000; SARANTÓPOULOS, 2002; MANO; MENDES, 2004). Atualmente mais de trinta tipos de polímeros são utilizados na produção de embalagens e há constante investimento em desenvolvimentos tecnológicos na indústria, visando a melhoria de materiais através de diferentes combinações de resinas e tratamentos (FABRIS *et al.*, 2006).

3.1.1 Polietileno

Polietileno (C_2H_4)_n é um homopolímero flexível e parcialmente cristalino constituído por uma longa cadeia de átomos de carbono unidos a pares de hidrogênio e ligados covalentemente entre si, como ilustrado pela Figura 1. Seu grau de polimerização, ou número de repetições dos monômeros de etileno, geralmente assume valores entre 100 e 250 mil. O polietileno (PE) é geralmente classificado em ramificado ou linear, homo ou copolímero (PEACOCK, 2000; GARCIA, 2002; JORGE, 2013).

Figura 1 – Estrutura química do polietileno



Fonte: (PEACOCK, 2000).

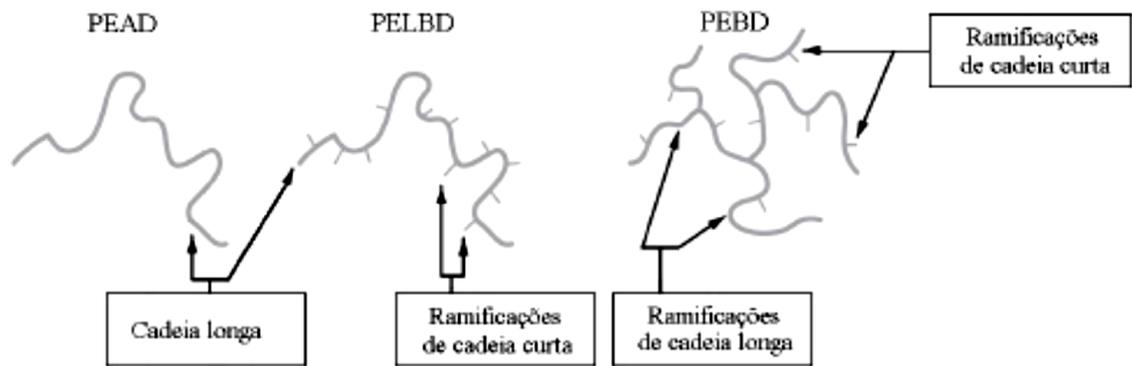
O polietileno é vastamente empregado na forma de filme como embalagem flexível na indústria de alimentos, por suas características estruturais e propriedades intrínsecas. Dentre os seus atributos de maior interesse comercial citam-se: baixo custo, elevada capacidade de termoselagem, não toxicidade, alta barreira ao vapor d'água e boa resistência à maior parte dos produtos químicos, exceto ácidos oxidantes, halogênios livres e cetonas. Entretanto, os polietilenos apresentam baixa barreira a gases (O₂, CO₂ e N₂) e alta permeabilidade a óleos e gorduras, fatores os quais podem limitar seu emprego como invólucro de certos alimentos (PAINE, F.; PAINE, H., 1992; COLES *et al.*, 2003; COUTINHO *et al.*, 2003; JORGE, 2013).

As condições reacionais e do sistema catalítico intrínsecos aos processos de polimerização do etileno produzem diferentes conformações desse polímero, as quais distinguem-se quanto ao número e comprimento de ramificações e, conseqüentemente, nos quesitos morfologia, flexibilidade, elasticidade e resistência ao impacto e à tração. As conformações de maior importância comercial são o polietileno de baixa densidade (PEBD), o polietileno linear de baixa densidade (PELBD) e o polietileno de ultra alta densidade (PEUAD) (EBEWELE, 2000; SEYMOUR; CARRAHER, 2003).

3.1.1.1 Polietileno Linear de Baixa Densidade

O PELBD é um copolímero linear formado por etileno e uma α -olefina (1-octeno, 1-hexeno, 1-buteno), constituído de cadeias com ramificações curtas dispostas de maneira aleatória entre cada 25 e 100 átomos de carbono. Sendo assim, apresenta estrutura e propriedades intermediárias em relação aos polietilenos de alta e baixa densidade, como ilustrado na Figura 2. A linearidade confere força ao polímero, enquanto as ramificações intensificam sua resistência (SEYMOUR; CARRAHER, 2003). Esse copolímero é frequentemente empregado em embalagens de gêneros de primeira necessidade por sua resistência mecânica, suas boas propriedades dielétricas e sua flexibilidade (BECKER, 2002), bem como elevada capacidade de selagem a quente (COUTINHO *et al.*, 2003).

Figura 2 – Estruturas da cadeia polimérica de PEAD, PELBD e PEBD



Fonte: (MILANI, 2010).

O PELBD, tal qual a maior parte das poliolefinas, apresenta superfície quimicamente inerte e quase hidrofóbica. A baixa energia superficial aliada à hidrofobicidade tem por consequência dificultar a adesão a diferentes superfícies e substratos polares, limitando a utilização do polímero em embalagens multicamadas e laminados e prejudicando a impressão sobre a sua superfície (SILVEIRA, 2012). De maneira geral, uma maior adesividade só é garantida quando a energia de superfície de um polímero supera a do material com o qual será ligado, o que pode ser alcançado em polímeros com baixa energia de superfície através de tratamentos visando a modificação da superfície, sejam esses físicos ou químicos (EBEWELE, 2000; DORAI; KUSHNER, 2003).

3.1.2 Polímeros biodegradáveis

A maior parte dos polímeros sintéticos produzidos atualmente é obtida a partir de petroquímicos, atuando como fontes majoritárias de poluição ambiental quando dispersos na natureza e compondo uma parcela significativa do lixo urbano (THARANATHAN, 2003; RAY; BOUSMINA, 2005). Apesar de os plásticos serem polímeros orgânicos, sua alta resistência ao ataque microbiano caracteriza-os como não compostáveis, ou não passíveis da conversão da matéria orgânica em gases, visto que seu processo de degradação pode levar centenas de anos (ROBERTSON, 2013). Sendo assim, a substituição dos plásticos convencionais por polímeros biodegradáveis provenientes de fontes renováveis, principalmente visando aplicações a curto prazo como alimentos, apresenta grande vantagem econômica e ambiental (AVÉROUS; POLLET, 2012).

Polímeros biodegradáveis podem ser classificados de acordo com sua síntese em quatro categorias: produtos de fontes renováveis, englobando polissacarídeos, proteínas e ligninas, originados de recursos agrícolas; polímeros oriundos de microrganismos, como os polihidroxi-alcanoatos (PHA); produtos da biotecnologia, como os polilactídeos; polímeros de origem petroquímica, como as policaprolactonas (PCL) (AVÉROUS; POLLET, 2012).

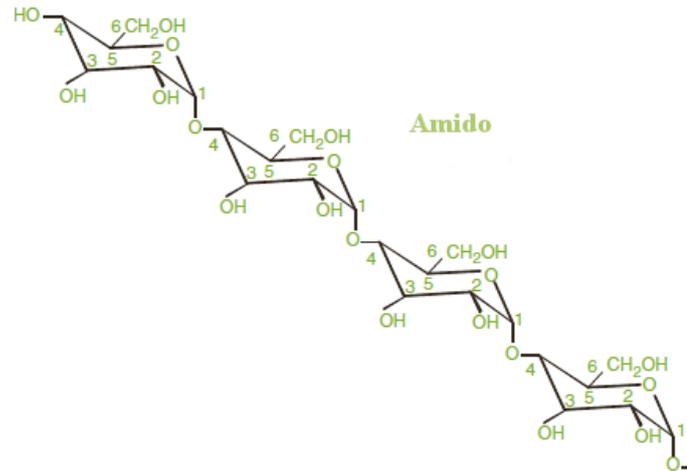
Biopolímeros são polímeros derivados de matérias primas provenientes de fontes renováveis. A utilização destes possui como principais vantagens um menor impacto ambiental em relação à sua origem, o balanço positivo de carbono pós-compostagem e a capacidade de estabelecer um ciclo de vida fechado (RAY; BOUSMINA, 2005; BRITO *et al.*, 2011).

3.1.3 Amido

O amido é um polissacarídeo semicristalino de origem vegetal composto exclusivamente por anéis de D-glicose conectados por ligações α -(1,4) e α -(1,6) e considerado um dos três compostos orgânicos mais abundantes na natureza. Sintetizado nos plastídeos citoplasmáticos, o composto é um agregado dos açúcares oriundos da fotossíntese encontrado em raízes, caules, folhas, frutos e sementes na forma de grânulos com 2-100 μm de diâmetro (LIU *et al.*, 2009), atuando como reserva energética de tecidos fotossintéticos. Classificado como termofixo físico, o polímero apresenta baixa resistência mecânica e a temperaturas

elevadas, vulnerabilidade ao ataque microbiano e tendência à absorção de umidade (ROBYT, 1998; MCGEE, 2004; MANO; MENDES, 2004; GLITTENBERG, 2012;).

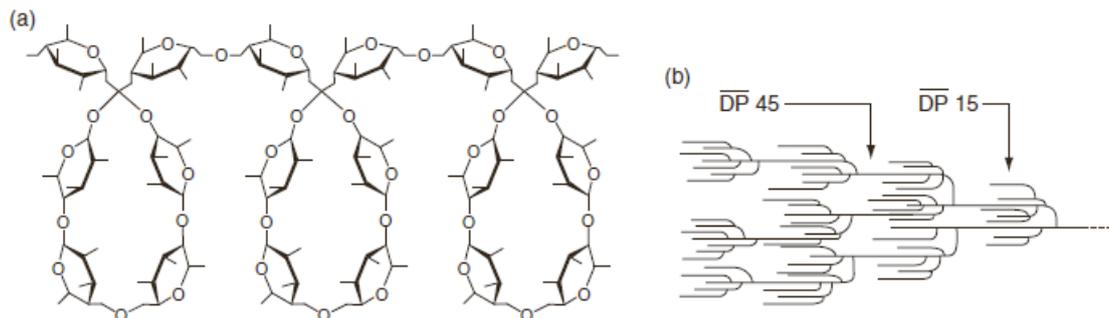
Figura 3 – Estrutura molecular do amido.



Fonte: Adaptado de (GLITTENBERG, 2012).

Os grãos de amido são compostos por um arranjo alternado de áreas cristalinas e amorfas nas quais se distribuem cadeias longas e lineares de amilose e cadeias curtas e ramificadas de amilopectinas, cuja estrutura está representada na Figura 4 (MCGEE, 2004). Na forma granular o amido é insolúvel em água à temperatura ambiente e acessível a reações enzimáticas e químicas (GLITTENBERG, 2012).

Figura 4 – Estrutura molecular da amilose (a) e amilopectina (b)



Fonte: (GLITTENBERG, 2012).

A amilose é considerada um polímero linear propenso a se agregar em formato helicoidal singular ou duplo, gerando um núcleo hidrofóbico no interior da molécula capaz de complexar com compostos lipídicos e iodados. A amilopectina, um dos polímeros de maior

massa encontrado na natureza, tende a se agregar em duplas hélices de forma altamente compactada, ocasionando domínios cristalinos e dificultando a retenção de água pelo grânulo. A região cristalina é menos suscetível a sofrer hidrólise enzimática e outras reações químicas que a porção amorfa (WRIGLEY *et al.*, 2016). A proporção generalizada de amilose e amilopectina presentes no amido são, respectivamente, 20-30% e 70-80% (FENNEMA, 1996; ROBYT, 1998; BEMILLER; WHISTLER, 2009).

Na presença de água fria os grãos de amido podem absorver até 30% de seu peso em água. Sob influência de calor há um acréscimo na energia cinética e desestabilização da ordem molecular, levando ao rompimento das ligações de hidrogênio entre as hélices e aumentando, conseqüentemente, a higroscopicidade (MCGEE, 2004). A presença de calor associada a uma quantidade excessiva de água ocasiona um processo de gelatinização, no qual ocorre um inchamento irreversível dos grãos seguido pela fusão de cristálitos, lixiviação da amilose e solubilização do amido, resultando em uma pasta viscosa. O resfriamento da pasta resultante da gelatinização promove a reorganização molecular, produzindo um gel viscoelástico, firme e rígido que tende a reduzir sua solubilidade progressivamente ao longo do armazenamento em um processo denominado retrogradação (FENNEMA, 1996; WRIGLEY *et al.*, 2016).

3.1.3.1 Filmes de amido

Amido é geralmente utilizado na elaboração de filmes biodegradáveis por sua não toxicidade e alta reatividade química, além de apresentar uma estrutura química que confere ao filme uma excelente barreira a oxigênio (MCHUGH; KROCHTA, 1994). Entretanto, o polímero apresenta processamento termoplástico difícil, resultante de uma mobilidade interna limitada. A dificuldade de fusão e a baixa flexibilidade podem ser contornadas através da adição de agentes plastificantes, dentre os quais a água e o glicerol são os de uso mais frequente (RAY; BOUSMINA, 2005; SOUZA *et al.*, 2012).

Belibi *et al* (2014) observaram que a proporção de glicerol está diretamente relacionada com as propriedades mecânicas e de barreira em filmes de amido de mandioca. Segundo os autores, um aumento na concentração desse plastificante resulta em maior teor de umidade, hidrossolubilidade e permeabilidade ao vapor d'água, acompanhados de uma redução na resistência à tração e ao alongamento. A adição de agentes plastificantes e a

absorção de moléculas de água por polímeros hidrofílicos aumentam a mobilidade da cadeia polimérica, ocasionando, em contrapartida, maior permeabilidade a gases (BANKER; GORE; SWARBRICK, 1966).

Filmes de amido podem ser obtidos por extrusão ou *casting* (VARTIAINEN; VÄHÄNISSI; HARLIN, 2014), resultando em um produto translúcido, sem sabor e incolor (VAN SOEST, 1996). O teor ideal de umidade do produto é de 5 a 8% e a espessura do filme geralmente assume valores entre 25 μm e 1,27 mm (TWINAME; MISTLER, 2001; THARANATHAN, 2003). Entretanto, a aplicação desse biopolímero na indústria de embalagens alimentícias é limitado por fatores como a hidrofiliabilidade e a baixa resistência mecânica.

3.2 FILMES MULTICAMADAS

Filmes compostos por um polímero puro são limitados quanto às propriedades mecânicas ou de barreira requeridas para a constituição de uma embalagem alimentícia (DUNCAN, 2011). Quando originados de um polímero sintético, os filmes costumam apresentar alta permeabilidade a gases e aromas, enquanto os derivados de polímeros naturais se caracterizam por baixas resistência mecânica e flexibilidade. Sendo assim, uma solução para suprir os crescentes desafios da indústria de embalagens para alimentos é a combinação de polímeros com propriedades complementares, obtendo um filme denominado multicamadas (FEREYDOON; EBNESAJJAD, 2012).

Por sua alta disponibilidade e baixo custo o polietileno é um dos polímeros mais utilizados na fabricação de embalagens. Sua alta permeabilidade a gases, aromas e óleos e baixa biodegradabilidade podem ser complementadas pela combinação com polímeros naturais utilizando técnicas como *blending* (NORDIN, 2007) ou imersão (FANTA *et al.*, 2002), ou através do uso de plasma frio a fim de aumentar sua compatibilidade com um material biopolimérico (SHIN *et al.*, 2002; THEAPSAK; WATTHANAPHANIT; RUJIRAVANIT, 2012).

Um dos maiores desafios da indústria de alimentos é preservar a qualidade inicial, as características sensoriais e a segurança de um alimento pelo maior tempo possível. Sendo assim, há a crescente tendência de complementar as propriedades de barreira de uma

embalagem com uma barreira antimicrobiana, cumprindo os objetivos de uma embalagem alimentícia através da eliminação ou redução do crescimento de micro-organismos presentes na superfície do alimento ou na própria embalagem (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Uma maneira de adicionar essa barreira é através da incorporação de agentes antimicrobianos diretamente ao polímero por *blending*, imobilização ou revestimento, o que exige alta compatibilidade entre o agente antimicrobiano e o material polimérico a fim de garantir a integridade física da embalagem (HAN, 2003).

3.3 PROPRIEDADES FÍSICAS DE EMBALAGENS POLIMÉRICAS

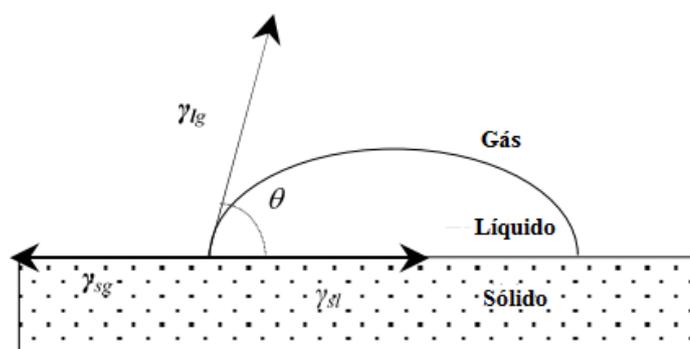
Embalagem para alimento é, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, o invólucro, recipiente ou qualquer forma de acondicionamento, removível ou não, destinada a cobrir, empacotar, envasar, proteger ou manter, especificamente ou não, matérias-primas, produtos semielaborados ou produtos acabados (CABRAL *et al.*, 1984).

A embalagem oferece uma interface entre o alimento e o ambiente externo que atua como instrumento para o controle das taxas de transmissão de radiação e de transferência de gases, vapor d'água e substâncias voláteis, bem como da movimentação de microrganismos (PAINE, F.; PAINE, H, 1992; SANT'ANA, 2014). Portanto, propriedades como molhabilidade, propriedades de barreira e propriedades mecânicas devem ser estipuladas de acordo com o alimento ao qual se destina a embalagem, garantindo assim a manutenção da qualidade ao longo da vida útil do produto (COLES *et al.*, 2003).

3.3.1 Molhabilidade

A tendência de um líquido a espalhar-se sobre uma superfície é denominada molhabilidade, representada quantitativamente através da medida do ângulo de contato entre o fluido molhante e a superfície. O ângulo de contato é determinado pelas tensões interfaciais no ponto triplo entre uma superfície sólida e dois fluidos (neste trabalho, o filme polimérico, a água e o ar, respectivamente) e caracteriza o formato da gota do fluido molhante sobre a superfície, como observado na Figura 5. Segundo Wang, Shi e Wang (2015), um fluido é considerado hidrofóbico quando apresenta ângulos de contato superiores a 110° , ou hidrofílico para ângulos inferiores a esse valor (KASALKOVA *et al.*, 2015).

Figura 5 – Molhabilidade de uma superfície sólida com água como líquido molhante e ar como meio circundante.



Fonte: Adaptado de Wang, Shi e Wang (2015).

A molhabilidade de um polímero está diretamente relacionada à sua energia de superfície, sendo esta maior em polímeros hidrofílicos e menor nos hidrofóbicos. Essa energia é essencial para permitir a aderência de embalagens plásticas a outros plásticos ou outros materiais distintos, constituindo embalagens multicamadas, laminadas e blendas pelos processos de coextrusão, laminação e mistura, respectivamente (COLES *et al.*, 2003).

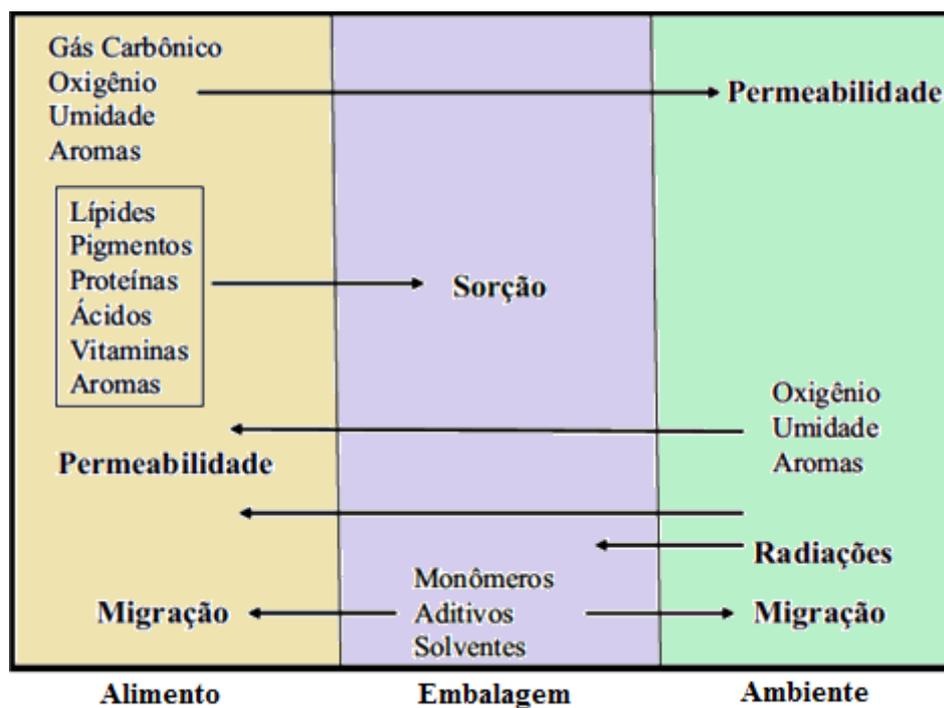
3.3.2 Propriedades de barreira

A embalagem deve garantir a proteção de um alimento de ações do meio externo como os fatores ambientais, que englobam gases, vapor d'água, luz, substâncias voláteis e contaminação. Similarmente, é essencial evitar a migração de aromas característicos do produto do interior da embalagem para o ambiente e a desidratação indesejada por perda de

vapor d'água, bem como a modificação acidental da atmosfera contida no interior da embalagem (PAINE, F.; PAINE, H, 1992; JORGE, 2013). As interações propensas a ocorrer entre o alimento envolto por uma embalagem plástica e o meio externo são ilustradas pela Figura 6.

A permeação através de uma superfície polimérica ocorre em três etapas: a absorção inicial do penetrante pela superfície, a migração ou difusão do penetrante através do polímero e sua dessorção e evaporação a partir da superfície oposta. A taxa de permeação segue a Lei de Fick da difusão, sendo, portanto, diretamente proporcional ao gradiente de concentração do permeante. Para espessuras muito baixas o transporte de gases pode ocorrer por porosidade, através de poros microscópicos ou rachaduras (COLES *et al.*, 2003; FERREYDOON; EBNEAJJAD, 2012; BUTLER; MORRIS, 2013; ROBERTSON, 2013).

Figura 6 – Interações entre produto e ambiente através de embalagens plásticas



Fonte: (CATALÁ; GAVARA, 2002)

3.3.3 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dependem do material plástico, de sua espessura e gramatura e do seu processo de fabricação. As medidas dessas propriedades permitem verificar a qualidade da embalagem para garantir a devida proteção do alimento de qualquer

contato com o meio externo e de possíveis danos físicos inerentes às etapas de transporte, armazenamento e distribuição (COLES *et al.*, 2003; SEYMOUR; CARRAHER, 2003).

Segundo Jorge (2013), a resistência ao alongamento decorrente de tração é característica essencial para uma embalagem flexível considerando-se seus processos de acondicionamento, impressão, conversão e manuseio. Sendo assim, as propriedades de tração permitem identificar e caracterizar filmes flexíveis quanto à aplicação, ao desenvolvimento, à especificação e à sua qualidade (SARANTÓPOULOS, 2002).

O ensaio de determinação desse fator é realizado através de um analisador de textura no qual aplicam-se forças opostas visando o alongamento do material. A análise da curva de força por deformação gerada permite obter as propriedades de resistência à tração no ponto de ruptura e no *yield point*, ou ponto a partir do qual o filme passa a ser alongado sem aumento da resistência, ou inelasticamente (SARANTÓPOULOS, 2002; SEYMOUR; CARRAHER, 2003; ROBERTSON, 2013).

3.4 AGENTES ANTIMICROBIANOS EM EMBALAGENS ALIMENTÍCIAS

Antimicrobiano é qualquer substância capaz de eliminar ou reduzir o crescimento de uma população de micro-organismos deteriorantes ou patogênicos. A deterioração microbiana ocorre, sobretudo, na superfície de alimentos sólidos e semissólidos e, portanto, uma tecnologia emergente é a adição de pequenas quantidades de agentes antimicrobianos à superfície de um material polimérico para uso alimentício (HAN, 2003; ROBERTSON, 2013), promovendo assim contato direto entre a substância com propriedades antimicrobianas e o alimento.

Em embalagens alimentícias a ação antimicrobiana pode ocorrer tanto através da migração total ou parcial de um composto da embalagem para o alimento ou o meio circundante, quanto através do contato direto com um microrganismo agindo na superfície do alimento (VERMEIREN *et al.*, 2002). Os agentes antimicrobianos mais comumente empregados nessas embalagens são ácidos orgânicos, óleos essenciais, bacteriocinas, álcoois, enzimas, antibióticos, fungicidas e metais (MEXIS; KONTOMINAS, 2014).

3.4.1 Nanopartículas metálicas

Nanopartículas são materiais com componentes estruturais menores que 1 µm em uma ou mais dimensões. O tamanho reduzido e conseqüente extensa área superficial confere aos nanomateriais propriedades e funcionalidades singulares, bem como capacidade de penetrar barreiras fisiológicas e danificar organismos vivos, resultando em um vasto potencial de aplicação em diversas áreas (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007).

As nanopartículas metálicas tem sido objeto de inúmeros estudos por seu potencial antimicrobiano e suas diversas morfologias e formas de obtenção, além de apresentarem maior estabilidade em relação aos agentes antimicrobianos orgânicos (DE AZEREDO, 2013). Sendo assim, essas nanopartículas são constantemente utilizadas para reforçar a matriz de polímeros sintéticos ou biopolímeros, visando aprimorar a conservação de alimentos minimamente processados. Mohammed Fayaz *et al.* (2009), Emamifar *et al.* (2010) e Zhou *et al.* (2011) eficazmente empregaram nanopartículas de prata em embalagens poliméricas a fim de aumentar a vida útil de cenouras e peras pré-esterilizadas, suco de laranja e pedaços de maçã, respectivamente. Resultados similares foram obtidos empregando-se nanopartículas de ZnO em embalagens envolvendo pedaços de maçã (LI *et al.*, 2011), suco de laranja (EMAMIFAR *et al.*, 2010) e carne de frango pronta para consumo (AKBAR; ANAL, 2014)

3.4.1.1 Nanopartículas de Óxido de Zinco

O óxido de zinco (ZnO) é um agente antimicrobiano inorgânico de origem química considerado como substância segura (GRAS) pela *U.S. Food and Drug Administration* (UFDA). Nanopartículas de ZnO, por sua vez, são compostos polares e hidrofílicos que se caracterizam por possuir as três dimensões particuladas na escala nanométrica (HOLKAR *et al.*, 2016). As principais vantagens de sua aplicação como antimicrobiano em produtos de cunho alimentício são a presença nos mesmos de elementos minerais essenciais para o organismo humano (PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008), sua alta resistência a microrganismos e suas propriedades ópticas, elétricas e químicas (SAWAI *et al.*, 1996).

É provável que os principais mecanismos de ação das NPs-ZnO envolvam o estresse oxidativo, sendo este proveniente da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), da desestabilização da membrana bacteriana devido a um acúmulo de NPs-ZnO, do esgotamento

do nível de adenosina trifosfato (ATP) e/ou da liberação de íons zinco (YAMAMOTO, 2001; BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007; PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008). Acredita-se ainda que a atividade antimicrobiana se deva à geração de grupos H_2O_2 a partir da superfície das NPs-ZnO, o qual pode rapidamente penetrar a parede celular de uma bactéria com consequente inibição do seu crescimento. Esse mecanismo geralmente apresenta maior eficiência para bactérias gram-positivas que para as gram-negativas, o que pode ser justificado através da interação das NPs-ZnO com componentes específicos que estão presentes em maior abundância em bactérias gram-positivas ou da ação quelante e maior aderência da camada de peptidoglicano circundando as mesmas (SAWAI *et al.*, 1996; YAMAMOTO, 2001; TAYEL *et al.*, 2011).

A atividade antimicrobiana de um pó de ZnO (contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* no estudo referido) se intensifica com o decréscimo do tamanho da partícula e o aumento da concentração do pó, o que justifica a maior efetividade observada no uso de nanopartículas, as quais apresentam maior razão superfície/volume (YAMAMOTO, 2001; PADMAVATHY; VIJAYARAGHAVAN, 2008).

3.5 BACTÉRIAS PATOGÊNICAS EM ALIMENTOS

A garantia de qualidade de um alimento visada pelas indústrias alimentícias engloba, além das bactérias deteriorantes, que podem comprometer as características sensoriais e a vida útil de um produto, as bactérias patogênicas, que frequentemente apresentam riscos severos à saúde do consumidor. Bactérias são frequentemente classificadas de acordo com a estrutura de sua parede celular em gram-positivas e gram-negativas, sendo que as primeiras se caracterizam por uma membrana grossa de peptidoglicano envolvendo a parede celular, enquanto as últimas são compostas por uma camada fina de peptidoglicano entre uma membrana interna e outra externa, esta contendo lipopolissacarídeos (TALARO; CHESS, 2015).

Um exemplo de bactérias gram-positivas comumente presente em alimentos são *Staphylococcus aureus*, bactérias catalase-positivas e produtoras de toxinas, capazes de metabolizar glicose de forma fermentativa ou oxidativa. Esses microrganismos são anaeróbios facultativos, i.e., podem crescer de forma aeróbica, quando na presença de aminoácidos e vitaminas, ou anaeróbica, quando diante de uracila e uma fonte fermentável de carbono. *S. aureus* crescem em temperaturas entre 7 e 48°C (temperatura ótima de 37°C) e pH entre 4 e

10 (pH ótimo de 6-7), sendo comumente encontrados na natureza, na microflora cutânea de mamíferos terrestres e aquáticos e nas vias aéreas de seres humanos (MARTIN; IANDOLO, 1999; JAY, 2000, MARTIN; ASPERGER; ZANGERL, 2011; LINA; DUMITRESCU, 2014). Em alimentos sua presença é significativa em derivados lácteos não pasteurizados e em produtos cárneos, bem como em produtos com condições higiênicas precárias em alguma etapa da cadeia produtiva (MEDVEĎOVÁ *et al.*, 2009).

3.6 PLASMA

Plasma é um gás total ou parcialmente ionizado constituído de partículas (elétrons, íons, nêutrons e fótons) submetidas a constantes colisões com conseqüente transferência de energia. Frequentemente considerado como o quarto estado da matéria, o plasma compõe a maior parte da matéria visível e governa os principais processos ocorridos no sistema solar. O plasma pode ser classificado em dois grupos principais: plasma de alta temperatura, ou de equilíbrio térmico, e plasma de baixa temperatura; este se subdivide em plasma de quasi-equilíbrio, ou termal, e o de não-equilíbrio, ou não termal (NEHRA *et al.*, 2008; PIEL, 2010).

O primeiro grupo é geralmente aplicado na forma de tochas de plasma e aparelhos de micro-ondas que, por produzirem alto fluxo de calor, são comumente utilizados no processamento de materiais e tratamento de resíduos. Já o plasma de baixa temperatura canaliza a energia proveniente das colisões de partículas nos elétrons, mantendo prótons e nêutrons em temperatura ambiente. A baixa temperatura do gás aliada ao não-equilíbrio termodinâmico possibilita o emprego dessa tecnologia em materiais termossensíveis como polímeros e tecidos biológicos (NEHRA *et al.*, 2008).

Um plasma é gerado através da aplicação de energia a um gás, promovendo a reorganização da sua estrutura eletrônica e a produção de espécies excitadas e íons, estados nos quais as espécies permanecem por um curto intervalo de tempo e retornam ao estado fundamental pela emissão de um fóton. A fonte de energia pode ser termal ou proveniente de uma corrente elétrica ou radiações eletromagnéticas, e o gás a ser ionizado pode variar entre gases simples, como ar e nitrogênio, gases nobres, como hélio e argônio, ou uma combinação desses (TENDERO *et al.*, 2006; BÁRDOS; BARÁNKOVÁ, 2008; NIEMIRA, 2012).

3.6.1 Plasma a frio

Os principais tratamentos superficiais de filmes poliméricos com gases ionizados são o tratamento por chama, a descarga corona e o tratamento por plasma, diferindo apenas no método de ionização, na densidade e na temperatura dos elétrons bombardeados sobre a superfície (COLTRO *et al.*, 2001; YAM, 2009). O tratamento a plasma é de grande importância industrial para a modificação de superfícies de polímeros sem alterar suas propriedades estruturais. O plasma a frio, especificamente, resulta de descargas de baixa pressão, nas quais o equilíbrio termodinâmico não é atingido e a temperatura dos elétrons supera significativamente a das espécies pesadas (SORRENTINO; CARRINO; NAPOLITANO, 2007).

A descarga de plasma resulta em modificações na superfície do polímero, tais quais a incorporação de grupos funcionais propensos a interagir entre si, aumento da energia de superfície, descontaminação biológica de superfícies inertes, aumento da hidrofobicidade ou hidrofobicidade, incremento nas propriedades de barreira, remoção de contaminantes, melhora nos processos de tintura e impressão e modificação da morfologia de superfície. Por conseguinte, é uma excelente alternativa para contornar as dificuldades de impressão e de aderência de polímeros de baixo custo, viabilizando assim sua utilização na produção de embalagens para alimentos (CHAN; KO; HIRAOKA, 1996).

Nas últimas décadas o plasma a frio a pressões próximas da atmosférica vem adquirindo importância tanto para aplicações científicas quanto industriais, uma vez que não requer a utilização de reatores a vácuo, oferecendo assim vantagens econômicas e operacionais, além de ser ecologicamente seguro. Formas usualmente empregadas desses plasmas incluem jato de plasma à pressão atmosférica, descarga de cátodo oco, descarga corona e descarga de barreira dielétrica (NEHRA *et al.*, 2008).

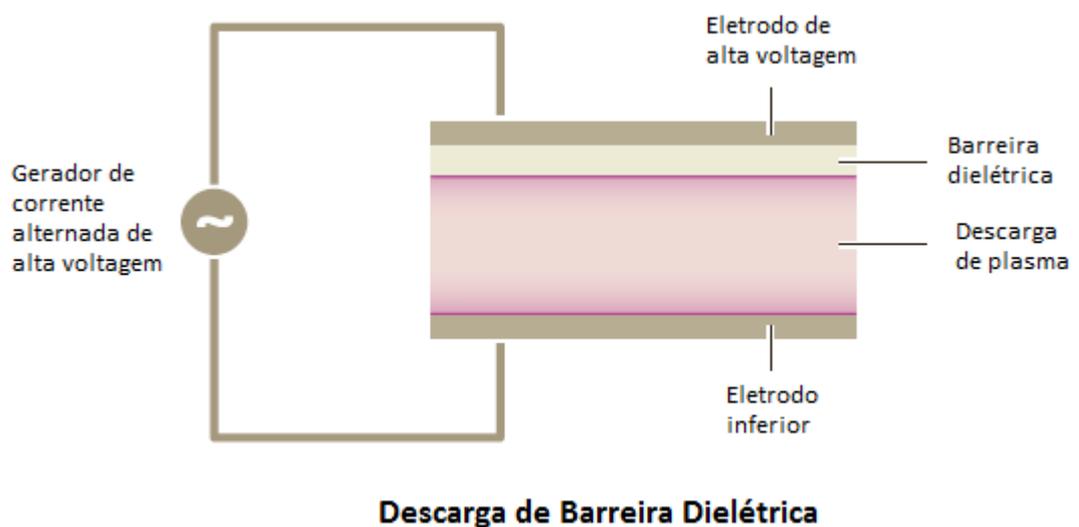
3.6.1.1 Descarga de barreira dielétrica

DBD é um tipo de descarga de corrente alternada capaz de gerar plasma a frio à pressão atmosférica e a temperaturas moderadas de gás que pode operar de modo contínuo, sem a necessidade de gases especiais (THEAPSAK; WATTHANAPHANIT; RUJIRAVANIT, 2012), o que o torna uma tecnologia promissora para uso industrial. O fator

diferencial desse tipo de plasma é a separação entre o eletrodo e a descarga pela barreira dielétrica, evitando assim a decapagem e a corrosão do eletrodo. A tecnologia, inicialmente concebida para a produção de ozônio destinada à potabilização de água, atualmente se distribui em inúmeras aplicações, tais quais o tratamento de superfícies, o controle de poluição e a produção de painéis de exibição (NEHRA *et al.*, 2008).

Um aparato de plasma DBD consiste em dois eletrodos metálicos dispostos paralelamente a uma distância de poucos milímetros um do outro, com uma camada dielétrica cobrindo ao menos um dos eletrodos. Um gás circula através desse espaço milimétrico gerando uma descarga incandescente ou filamentosa, dependendo da composição do gás utilizado (TENDERO *et al.*, 2006). A configuração de um reator DBD pode ser observada na Figura 7.

Figura 7 – Um reator de Descarga de Barreira Dielétrica



Fonte: Adaptado de NIEMIRA (2012).

Durante a aplicação do plasma três efeitos ocorrem simultaneamente, alterando a superfície polimérica. i) A ablação é a quebra de ligações covalentes das cadeias poliméricas devido à abundância de partículas energéticas do plasma sobre a superfície do polímero, gerando compostos de menor peso molecular. ii) A reticulação é um processo similar ocorrido na presença de gases inertes que, na ausência de sequestradores de radicais livres, pode culminar na formação de ligações com radicais livres de outras cadeias poliméricas. iii) Já a ativação envolve a substituição de grupos funcionais na superfície do polímero por átomos ou

grupos químicos oriundos do plasma com formação de radicais livres e geração de espécies estáveis (COLTRO *et al.*, 2001).

O efeito do processo é diretamente influenciado pela escolha do gás. Plasmas contendo oxigênio possibilitam a ocorrência de dois processos: a gravura da superfície polimérica, gerando produtos voláteis, e a produção de grupos funcionais com oxigênio na superfície devido à reação de espécies ativas do plasma com moléculas da superfície e com contaminantes orgânicos (CHAN; KO; HIRAOKA, 1996). Optando-se pelo uso de ar como gás ionizante o plasma DBD resulta em aumento efetivo da hidrofilicidade, da rugosidade e da razão O/C sobre as superfícies de filmes de amido de milho com alta concentração de amilose (PANKAJ *et al.*, 2015b), em filmes de gelatina (PANKAJ *et al.*, 2015a) e em polímeros sintéticos como polipropileno (SORRENTINO; CARRINO; NAPOLITANO, 2007; LEROUX *et al.*, 2008) e poliestireno (CUI *et al.*, 2007), com recuperação parcial da hidrofobicidade mediante a reorganização dos grupos polares ao longo do tempo de armazenamento (WIACEK, 2015).

No presente trabalho a tecnologia de plasma DBD será utilizada para modificar a superfície de um polímero de PELBD a fim de aumentar sua adesividade e compatibilidade com uma cobertura de solução de amido e nanopartículas de ZnO. Pretende-se, desta maneira, confeccionar filmes multicamadas de alta eficiência e baixo custo, sem para isso requerer o uso de adesivos ou outros aditivos que poderiam resultar em complicações regulamentares e dificuldade de reciclagem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS PRIMAS

O PELBD na forma de *pellets* foi cedido pela empresa Dow Brasil. O amido de mandioca foi adquirido no mercado local (Florianópolis, SC, Brasil), da marca Yoki Alimentos S.A. O plastificante utilizado foi glicerol. As nanopartículas de ZnO foram fornecidas pela empresa Kher Nanotecnologia Química Ltda.

4.2 OBTENÇÃO DOS FILMES

4.2.1 Filmes de PELBD

Para a obtenção dos filmes de PELBD os *pellets* do polímero foram espalhados em um molde de *mylar* de 10 x 15 cm, e este foi posicionado sobre a chapa inferior de uma termoprensa hidráulica (Somar, Brasil) a 130°C, onde foi mantido enclausurado entre as duas chapas sem pressão por 7 min. Em seguida, a pressão foi elevada a 2, 4, 6 e 8 T por 1, 1,5, 3 e 5 min, respectivamente, sendo o molde em seguida retirado da chapa e colocado sobre a bancada para resfriamento e retirada do filme. Posteriormente, os filmes foram cortados em formato circular com 3,5 cm de diâmetro e colados com fita dupla face no centro de uma placa de Petri de 8,5 cm de diâmetro, a qual atua como barreira dielétrica durante a aplicação do plasma, evitando assim a quebra de arco.

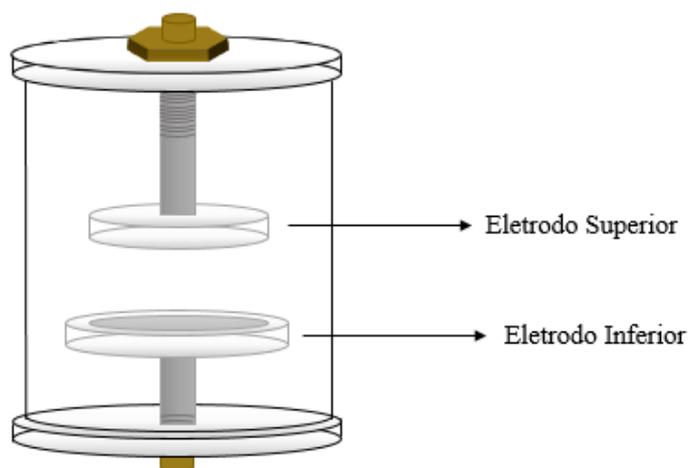
4.2.2 Solução de amido com NPs-ZnO

As soluções de amido foram preparadas pesando-se em um béquer 3% de amido, 0,8% de glicerol e nanopartículas de ZnO nas concentrações de 3 e 8% em relação à massa de amido. Por último foram adicionados 96,2% de água destilada e a mistura foi aquecida até aproximadamente 80 °C sob agitação manual até o ponto de gelatinização do amido (baseado em BELIBI *et al.* (2014)). A mistura foi então levada para sonicar por 1 hora a fim de melhor distribuir as nanopartículas em solução.

4.2.3 Tratamento com plasma DBD e obtenção do filme multicamadas

Para o tratamento com plasma utilizou-se um reator de DBD com dois eletrodos de aço inoxidável, conforme observado na Figura 8, acoplado a uma fonte de alta tensão modelo Pulse 0130 da marca Inergiae. O gás ionizante empregado foi o ar, por seu baixo custo e alta disponibilidade. As placas de Petri contendo filmes de PELBD foram posicionadas no eletrodo inferior do reator a uma distância de, aproximadamente, 5 mm do eletrodo superior e submetidas a uma descarga de plasma a 32 kV e 132 Hz por 2 minutos, a fim de aumentar a adesividade entre o PELBD e o amido. Após o tratamento 12 mL da solução de amido com ZnO previamente preparada foram pipetados sobre a placa com o polietileno e as placas foram secas em estufa com convecção à temperatura ambiente (estimada em 30°C) por 20 h.

Figura 8 – Esquema do reator de plasma DBD



Fonte: a autora

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

As NPs-ZnO foram caracterizadas através de microscopia eletrônica de transmissão (MET), uma técnica que produz imagens de alta resolução na escala nanométrica a partir da interação de um feixe concentrado de elétrons e uma amostra com gradientes de densidades eletrônicas em uma câmara de vácuo, permitindo a obtenção de informações morfológicas, cristalográficas e composicionais das amostras. A análise de MET foi conduzida no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC no equipamento JEM-1011 TEM, a 100kV (SOUZA, 2015). Para a preparação das amostras as NPs-ZnO foram diluídas em água

destilada a uma concentração de $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ e uma gota da solução foi adicionada a um *grid*, o qual é composto de um filme de carbono amorfo apoiado em uma malha de cobre. As imagens obtidas das NPs-ZnO utilizadas neste trabalho foram tratadas com o software ImageJ (Wayne Rasband, USA) para determinar seus tamanhos médios.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES MULTICAMADAS

4.4.1 Ângulo de contato

Os materiais avaliados foram o filme de PELBD antes e após o tratamento com plasma (a fim de verificar alterações na energia de superfície) e o filme multicamadas sem NPs-ZnO e com 3 e 8% das mesmas (visando investigar a ocorrência de alterações na molhabilidade decorrentes da adição das NPs). Para a medida do ângulo de contato tiras das amostras foram coladas com fita dupla face na superfície de medida do goniômetro e uma gota de água foi depositada por uma seringa sobre a amostra. O teste foi repetido em diferentes pontos de cada tira, realizando dez medidas de cada ponto em intervalos de 1 s. As medidas foram realizadas na Central de Análises do departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, no dispositivo Ramé-Hart Instrument Co. (modelo Ramé-Hart 250); as imagens foram capturadas e os ângulos medidos pelo *software* DROPimage.

4.4.2 Resistência à tração

As análises de resistência à tração foram realizadas em um analisador de texturas da marca Stable Micro Systems, modelo TA.HD *plus Texture Analyzer*, na Central de Análises da Universidade Federal de Santa Catarina. As amostras foram cortadas com as dimensões de 35 x 6 mm e espessuras de 0,35, 0,43, 0,47 e 0,47 mm para o PELBD, PELBD-Amido, 3% NPs-ZnO e 8% NPs-ZnO, respectivamente. Os ensaios foram conduzidos em triplicata com velocidade constante de 10 mm.s^{-1} e uma célula de carga de 50 kg.

4.4.3 Microscopia eletrônica de varredura com EDS

O MEV permite a captura de imagens com resolução de até 0,4 nm e a caracterização de materiais através da emissão de um feixe de elétrons de alta energia que interage ou reflete na amostra, emitindo um sinal magnético (HOSMANI; KUPPUSAMI; GOYAL, 2014). Os filmes foram analisados no equipamento JEOL JSM-6701F no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME) a fim de se observar a topografia dos filmes, além da distribuição das NPs-ZnO na camada de amido. Também foi realizada a análise qualitativa da composição química por dispersão de raios X no espectrômetro EDS acoplado ao MEV.

Para a preparação das amostras pequenos pedaços retangulares de cada polímero (PELBD, PELBD-Amido, PELBD-Amido + 3% NPs-ZnO e PELBD-Amido + 8% NPs-ZnO) foram colados sobre um cilindro metálico com uma fita de carbono e, em seguida, cobertos por uma fina camada de ouro, a fim de garantir a condutividade elétrica. As análises de MEV foram conduzidas a 5 kV com aumentos de 35, 50 e 500 X, enquanto para o EDS a voltagem foi de 15 kV.

4.5 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Os testes microbiológicos foram realizados com o intuito de avaliar o efeito bacteriostático e/ou bactericida do ZnO incorporado ao filme frente a bactérias do tipo *Staphylococcus aureus*.

4.5.1 Avaliação da capacidade antimicrobiana das NPs-ZnO em superfícies

O método é baseado na norma JIS Z 2801, traduzido e publicado pela *Japanese Standards Association*, e consiste no estudo da ação de uma superfície sobre determinada bactéria ao longo do tempo de contato.

Para a preparação do inóculo mãe, 2 mL de cepas de *Staphylococcus aureus* foram adicionadas a um erlenmeyer contendo 160 mL de caldo BHI (*Brain-Heart Infusion*), o qual foi posteriormente agitado e incubado em estufa a 36 °C por 24 h, resultando em uma

concentração inicial de 10^8 UFC/mL. Em seguida, diluiu-se sucessivamente este inóculo para partir de uma concentração inicial relativamente baixa, de 10^2 UFC/mL, tentando simular a concentração aproximada tolerada de *S. aureus* em alimentos. Uma alíquota de 50 μ L foi transferida deste tubo para a superfície de cada amostra de filme multicamadas em formato circular com 3,5 cm de diâmetro, correspondente a uma área de 9,62 cm² compostos de PELBD e amido sem nanopartículas, e nas concentrações de 3 % e 8 % de NPs-ZnO.

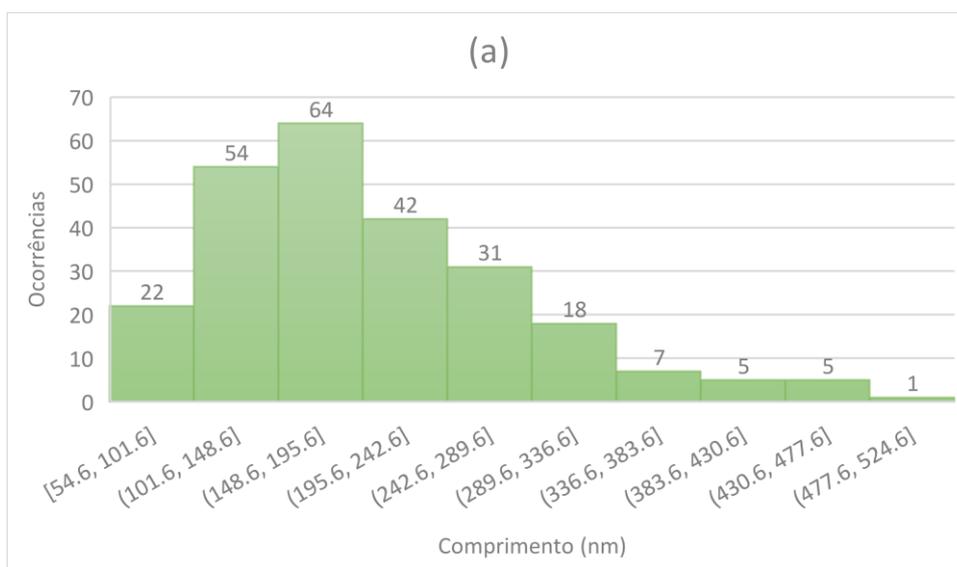
De acordo com o método (JIS Z 2801), realizou-se o *swab* da superfície em contato com o inóculo em diferentes tempos para observar uma possível inibição. Os tempos escolhidos foram de 0 h (para conhecimento da concentração inicial pelo *swab*), 9 h (por se tratar de um ponto em plena fase de multiplicação – log) e 22 h (um ponto já no início da fase de desaceleração de crescimento); para isto as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C, visando simular o desenvolvimento dos *S. aureus* em contato com os filmes a temperatura ambiente. Em cada ponto realizou-se a técnica de *swab*, o qual foi mergulhado em um tubo com caldo BHI e realizadas sucessivas diluições em água peptonada 0,1%. Estas diluições foram inoculadas pela técnica de plaqueamento em profundidade em placas de petri e depositando-se uma camada fina de ágar PCA (*Plate Count Agar*) sobre o inóculo. As placas foram incubadas invertidas em uma estufa a 36°C. A contagem das colônias foi realizada 48 h após cada etapa do plaqueamento. O procedimento foi realizado em duplicata a fim de verificar o crescimento das colônias ao longo do tempo.

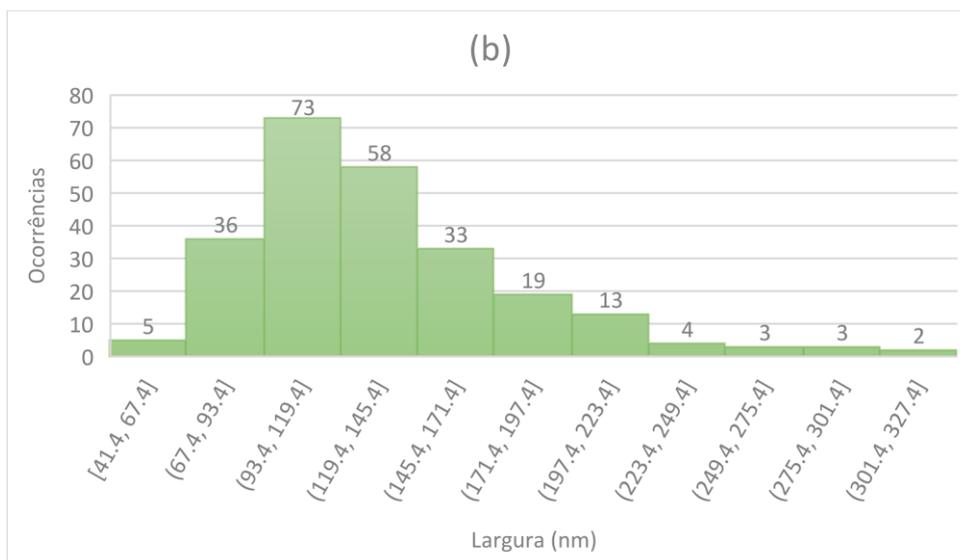
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO

Uma observação inicial da análise de MET permite verificar a presença de NPs-ZnO esféricas e em bastão; a partir da mensuração subsequente através do *software* ImageJ foram encontradas partículas com diâmetros variando entre 41 e 525 nm, sendo as médias no sentido do comprimento e largura de 200,9 e 133,9 nm, respectivamente. A distribuição de frequência está ilustrada graficamente na Figura 9 (a e b). As medidas apontam um tamanho elevado para as NPs-ZnO, mas que ainda se encontram na nanoescala e, portanto, apresentam propriedades de nanopartículas (BUZEA; PACHECO; ROBBIE, 2007).

Figura 9 – Distribuição de frequência dos diâmetros para as nanopartículas de ZnO nos sentidos do (a) comprimento e (b) largura.





5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES DE PELBD E AMIDO

Testes preliminares realizados pela autora com diferentes maneiras de compatibilizar o PELBD e o amido permitiram verificar que a aplicação do plasma no PELBD aumentou a compatibilidade entre os dois polímeros para a subsequente deposição do amido por *casting*. Na realização do mesmo processo de produção do filme multicamadas omitindo-se a aplicação do plasma não foi possível garantir um espalhamento uniforme da solução de amido sobre o filme de PELBD. O plasma DBD aplicado em materiais hidrofóbicos, tais quais o polietileno, resulta no aumento da energia de superfície e da molhabilidade pela incorporação de grupos funcionais sobre sua superfície (DE GEYTER *et al.*, 2014). Tal efeito resulta em maior aderência entre o filme de PELBD e o amido com NPs-ZnO, sendo este de natureza hidrofílica.

Em seu estudo aplicando plasma DBD a polipropileno com diferentes gases, De Geyter *et al.* (2007) concluíram que o tratamento DBD empregando o ar é mais eficiente no aumento da molhabilidade que com gases inertes como He e Ar, uma vez que a reação entre os radicais formados na superfície polimérica e as espécies de oxigênio é mais rápida para o ar, enquanto para o Ar e He há uma competição entre o *cross-linking* e a oxidação da superfície, o que prejudica a modificação da mesma.

5.2.1 Ângulo de Contato

Os ângulos de contato foram medidos a fim de verificar a hidrofiliicidade do filme multicamadas e o efeito da incorporação das nanopartículas em duas concentrações (3 e 8%) nesse parâmetro. Os resultados das análises de ângulo de contato com respectivos desvios padrão estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 – Ângulos de contato médios e respectivos desvios padrão das amostras de PELBD, PELBD-Amido e PELBD-Amido incorporados com 3 e 8% de NPs-ZnO.

Amostra	Ângulo de contato
PELBD	90.10 ± 0.21
PELBD-Amido	26.51 ± 0.27
3% NPs-Zno	33.93 ± 1.18
8% NPs-Zno	56.43 ± 0.05

A partir dos ângulos de contato listados na Tabela 1 nota-se que a face do filme de PELBD sem tratamento com plasma apresenta caráter muito mais hidrofóbico que o mesmo adicionado de uma camada de amido. Como na embalagem multicamadas proposta neste trabalho a camada de PELBD se situa na face externa da embalagem, esse caráter mais hidrofóbico é desejável garante a integridade da embalagem quando exposta a ambientes de maior umidade; similarmente, a presença do amido, altamente hidrofílico, na face interna é essencial para promover a interação das nanopartículas de caráter antimicrobiano incorporadas na camada de amido com o alimento acondicionado.

Observa-se um aumento do ângulo de contato conforme se incrementa a porcentagem de NPs-ZnO adicionadas, indicando que a hidrofiliicidade é inversamente proporcional à concentração das nanopartículas. Esse resultado é positivo, pois permite controlar a facilidade com que o interior da embalagem interage com o alimento.

Han *et al.* (1997) e De Geyter *et al.* (2007) associaram a redução drástica do ângulo de contato em polímeros tratados com plasma a frio utilizando ar ou outros gases contendo oxigênio à formação de grupos funcionais hidrofílicos, tais quais CO, COO, COOH e OH, sobre a superfície polimérica. O mecanismo envolve a abstração de um hidrogênio terciário ou secundário da cadeia polimérica por átomos de oxigênio, fótons, íons e radicais OH presentes no plasma, resultando na formação de um radical alquila (iniciação), o qual, quando

em contato com oxigênio e ozônio presentes na atmosfera, ocasiona a formação de radicais alcoxi ou peróxi (propagação). Ambos radicais podem reagir com espécies de oxigênio atômico e molecular provenientes da descarga de plasma para formar grupos funcionais hidrofílicos (terminação) (DORAI; KUSHNER, 2003; DE GEYTER *et al.*, 2007).

5.2.2 Resistência à tração

As amostras dos filmes apresentaram pouca diferença em relação à espessura, tensão máxima no yield point e tensão máxima e alongamento na ruptura (Tabela 2). Durante as análises observou-se que a camada de amido das amostras de PELBD-Amido, 3% NPs-ZnO e 8% NPs-ZnO se rompia rapidamente, restando apenas a camada base de PELBD, a qual possui maior espessura, durante a maior parte do processo de alongamento, ocasionando uma semelhança nos resultados dos diferentes filmes multicamadas.

De maneira geral, as amostras com a camada adicional de amido (com e sem NPs) causaram uma redução na parte elástica do alongamento. A redução na tensão máxima no *yield point*, que marca a transição entre os alongamentos elástico e inelástico, aumenta conforme o aumento da concentração de NPs-ZnO.

Tabela 2 – Dados de espessura, tensão máxima no *yield point* e tensão máxima e alongamento na ruptura com respectivos desvios padrão para os filmes.

Filme	Espessura (mm)	Tensão Máxima no <i>Yield Point</i> (MPa)	Tensão Máxima na Ruptura (MPa)	Alongamento (%)
PELBD	0.35	20.52 ± 3.70	26.28 ± 0.26	553.57 ± 23.98
PELBD-Amido	0.43	15.07 ± 0.71	30.86 ± 2.17	533.71 ± 39.55
3% NPs-ZnO	0.47	16.64 ± 3.63	32.6 ± 0.79	560.57 ± 17.35
8% NPs-ZnO	0.47	13.18 ± 2.22	29.86 ± 2.49	607.71 ± 28.48

5.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com EDS

O MEV foi realizado para os filmes de PELBD, PELBD-Amido e PELBD-Amido incorporado com NPs-ZnO nas concentrações de 3 e 8% (Figuras 10 a 13) com o intuito de identificar possíveis alterações de textura decorrentes da adição de amido, bem como a distribuição das NPs-ZnO. As micrografias, dispostas nas Figuras 10 a 13, foram obtidas com os aumentos de 35, 50 e 500x.

O filme de PELBD apresentou uma superfície lisa com visíveis rachaduras, provavelmente decorrentes do processo de termoprensagem e a confinamento dos *pellets* durante o processo entre as folhas do molde de *mylar*. Uma comparação visual entre as micrografias das Figuras 10 e 11 permite verificar que o filme com a camada adicional de amido (Figura 10) se assemelhou ao PELBD, inclusive cobrindo os eventuais arranhões. Já a adição de NPs-ZnO resultou em uma superfície mais rugosa e com rachaduras, as quais situam-se nos pontos de maior aglomeração das NPs, indicando uma distribuição desigual do antimicrobiano.

Na concentração de 8% das NPs (Figura 13) as rachaduras são ainda mais frequentes e evidentes que com 3%, o que a princípio poderia resultar da maior quantidade de NPs-ZnO e consequente maior quantidade de aglomerados no filme de maior concentração. Entretanto, as micrografias mostraram protuberâncias com aproximadamente o mesmo tamanho e distribuição, havendo inclusive ocorrência de aglomerados maiores no filme de 3% NPs-ZnO. Sendo assim, uma possibilidade que explicaria tal comportamento é que a presença das nanopartículas dificulte a gelatinização completa do amido, resultando em uma cinética diferente de secagem (provavelmente mais rápida) que, quando realizada nas mesmas condições que o filme de PELBD-Amido, resulta em rachaduras. Essa possível diferença na gelatinização tornou-se evidente já na obtenção das soluções, sendo que as mesmas se apresentavam menos viscosas com o aumento da concentração de NPs.

Figura 10 – Micrografias da superfície do filme de PELBD nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)

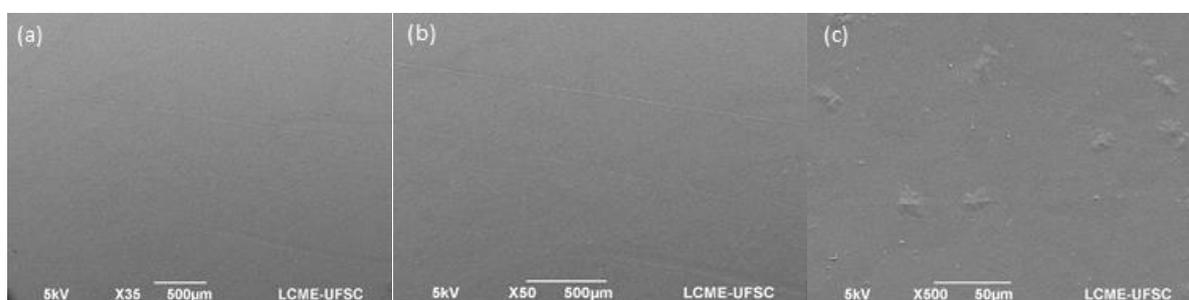


Figura 11 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)

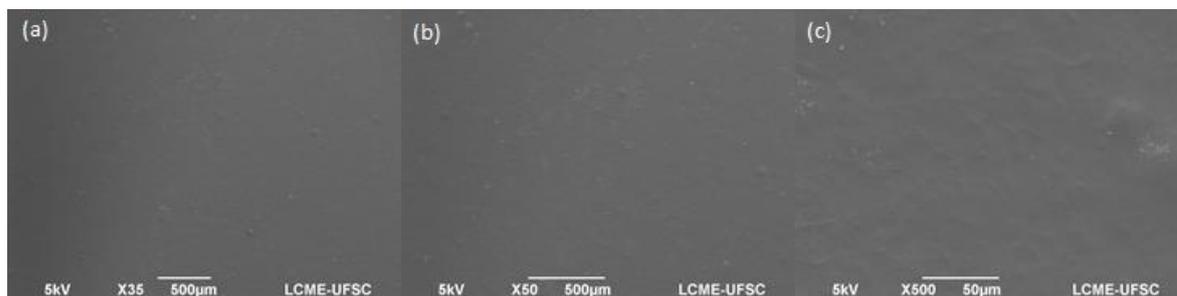


Figura 12 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido incorporado com 3% NPs-ZnO nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)

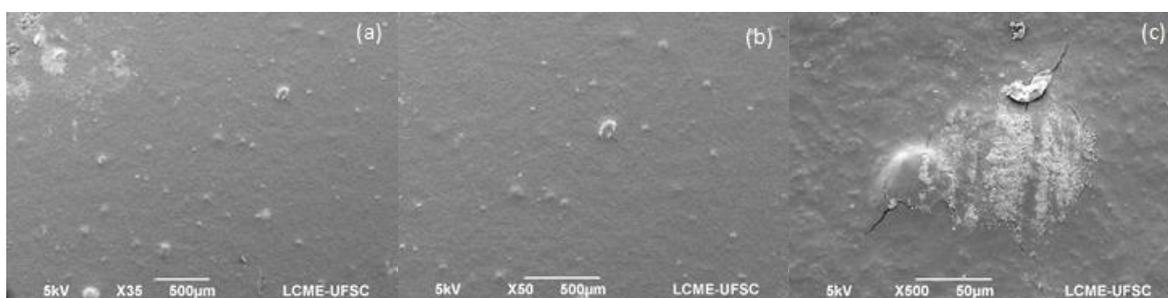
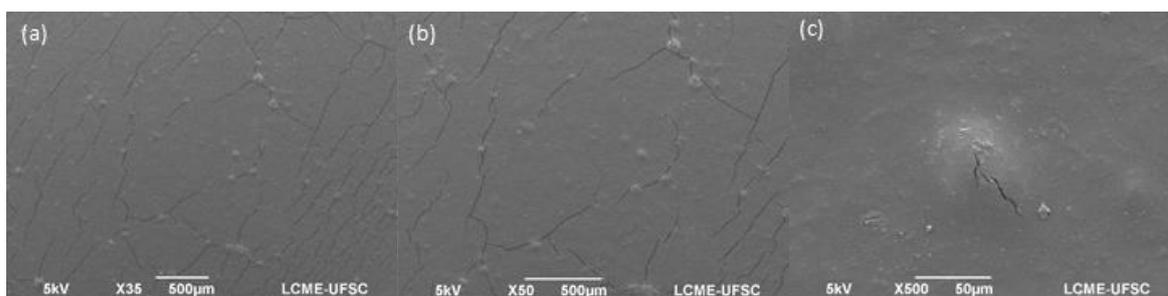


Figura 13 – Micrografias da superfície do filme de PELBD e amido incorporado com 8% NPs-ZnO nas ampliações de 35x (a), 50x (b) e 500x (c)



Os resultados da análise de EDS confirmam a presença e distribuições percentuais esperadas dos elementos C, O e Zn nos filmes. O filme de PELBD, por ser composto unicamente de uma longa e ligeiramente ramificada cadeia de carbono e hidrogênio, deve apresentar 100% do elemento C. Já nos demais filmes espera-se uma presença significativa de oxigênio, uma vez que contam com uma camada adicional de amido, um carboidrato composto de unidades repetidas de glicose ($C_6H_{12}O_6$).

Nos resultados do EDS listados na Tabela 3 observa-se maior presença dos elementos O e Zn no filme de menor concentração de nanopartículas de ZnO (3% NPs-ZnO), contrariando o resultado previsto. Uma possível explicação é a maior viscosidade da solução com 3% NPs-ZnO quando comparada à com 8%, possivelmente decorrente da maior dificuldade de gelatinização do amido conforme o aumento da concentração das NPs. Assim, esperar-se-ia melhor distribuição das NPs-ZnO no filme menos viscoso; como a análise de EDS se baseia em pequenos pontos ao longo do filme, é possível que na amostra de 3% NPs-ZnO a área selecionada contivesse um aglomerado de NPs-ZnO e amido, enquanto na amostra de 8% NPs-ZnO a melhor distribuição das NPs tenha reduzido a presença desses aglomerados.

Tabela 3 – Resultados de EDS para os filmes de PELDB, PELBD-Amido e PELBD-Amido incorporado com NPs-ZnO nas concentrações de 3 e 8%.

	C	O	Zn
PELBD	100 ± 0,45	0	0
PELBD-Amido	68,15 ± 0,92	31,85 ± 0,56	0
3% NPs-ZnO	65,50 ± 1,15	24,20 ± 0,46	10,30 ± 0,40
8% NPs-ZnO	90,90 ± 0,60	7,70 ± 0,30	1,46 ± 0,20

5.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS FILMES

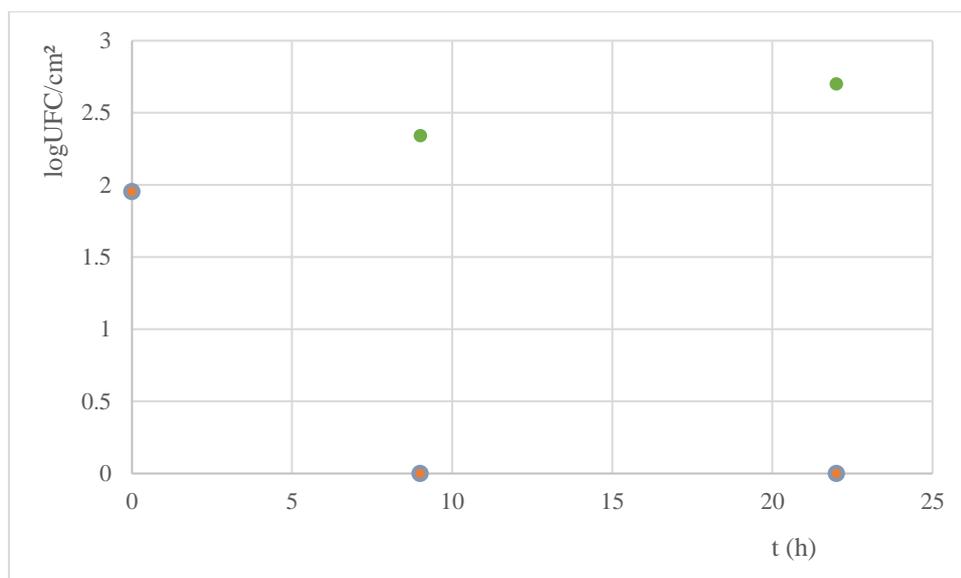
A utilização do filme de PELBD e amido como controle permite acompanhar o comportamento de *S. aureus* quando em contato com o filme multicamadas sem a adição de agentes microbianos. A curva de crescimento referente à amostra de controle (Figura 14 (●)), construída a partir dos resultados apresentados na Tabela 4, permite observar que no intervalo de tempo entre 9 e 22 h de experimento as bactérias em contato com o amido apresentam crescimento característico da fase log, na qual ocorre o crescimento exponencial das bactérias na presença de substrato.

Uma comparação das curvas da amostra controle (em verde) com as correspondentes aos filmes com 3 e 8% de NPs-ZnO (em laranja e azul, respectivamente) comprova o caráter antimicrobiano do filme com as nanopartículas frente a *S. aureus*, com uma inibição de crescimento. Em um período de 9 horas as duas concentrações de NPs foram capazes de impedir o crescimento das colônias de *S. aureus*.

Tabela 4 – Resultados dos testes microbiológicos de crescimento de *S. aureus* em filmes com área de 9,62 cm²

t (h)	PELBD + Amido	Filme 3% NPs-ZnO	Filme 8% NPs-ZnO
0	$6,4 \times 10^2$	$6,4 \times 10^2$	$6,4 \times 10^2$
9	$1,6 \times 10^3$	Ausência	Ausência
22	$3,7 \times 10^3$	Ausência	Ausência

Figura 14 – Curva de crescimento de *S. aureus* em amostras de PELBD e amido sem NPs-ZnO (●), com 3% de NPs-ZnO (●) e com 8% de NPs-ZnO (●).



A concentração de NPs-ZnO utilizada nos testes microbiológicos para as quais foi observado efeito bactericida foi de 0,9 e 2,4 mg/mL (NPs-ZnO/solução de amido) para as amostras de 3 e 8%, respectivamente. Estudos anteriores empregando as NPs-ZnO frente a *S. Aureus* obtiveram resultados semelhantes, obtendo a inibição da bactéria com concentrações de 0,375, 0,625, 1,2 e 1,5 mg/mL das NPs (JONES *et al.*, 2008; EMAMI-KARVANI; CHEHRAZI, 2011; SALIANI; JALAL; KAFSHDARE GOHARSHADI, 2014; ALEAGHIL *et al.*, 2016).

A ação antimicrobiana das NPs-ZnO se deve, provavelmente, ao contato de Zn²⁺ liberado pelo ZnO com as células bacterianas. O íon positivamente carregado é atraído pelas cargas negativas da membrana celular, penetra na membrana e reage com o tiol no interior da mesma, afetando a capacidade de divisão do microrganismo e, conseqüentemente, a proliferação microbiana (LI; LI; QIN, 2010).

6 CONCLUSÕES

A aplicação do plasma DBD sobre o filme de PELBD seguida por uma cobertura fina do mesmo com a solução de amido é uma maneira eficiente de aumentar a compatibilidade entre as camadas hidrofóbica e hidrofílica, respectivamente.

As análises microbiológicas provaram o caráter antimicrobiano das nanopartículas de ZnO incorporadas à camada de amido frente a *S. aureus* nas concentrações de 3 e 8% NPs-ZnO nas primeiras 9 h. É possível que esse efeito possa ser observado em um intervalo de tempo menor para os dois filmes, aspecto o qual pode ser investigado em futuros trabalhos.

A adição das NPs-ZnO resulta em grandes alterações nas propriedades mecânicas, como observada nos resultados do teste de resistência à tração, além de resultar em rachaduras observadas na análise de MEV. Observou-se ainda um aumento no ângulo de contato conforme aumenta a quantidade de nanopartículas, tornando o filme levemente mais hidrofóbico.

Acredita-se que a adição das NPs diretamente ao amido em pó tenha prejudicado o processo de gelatinização do amido, visto que a hidrofilicidade das NPs-ZnO pode ter ocasionado uma competição pela água posteriormente adicionada. Estudos mais detalhados ainda são requeridos para analisar maneiras mais eficientes de incorporar NPs ao amido.

A produção dos filmes multicamadas proposta neste trabalho é um processo envolvendo diversas etapas que podem ser facilmente reproduzidas em larga escala por baixo custo e curto tempo de processamento. Os filmes resultantes apresentam camadas bem aderidas uma à outra, boa resistência mecânica e efeito bactericida diante de *S. Aureus* em alimentos com alta atividade de água, tais quais queijos e carnes, sendo, portanto, uma alternativa viável para uso na indústria de alimentos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEAGHIL, S. A. *et al.* Antibacterial activity of Zinc oxide nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, n. 1, p. 1569–1575, 2016.
- 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**, v. 38, n. 1, p. 88–95, 2014.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 3, n. 2, p. 113–126, 2002.
- ASPERGER, H.; ZANGERL, P. Pathogens in Milk | *Staphylococcus aureus* – Dairy. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. (s.l.) Elsevier, 2011. v. 4p. 111–116.
- AVÉROUS, L.; POLLET, E. Biodegradable Polymers. In: **Green Energy and Technology**. London: Springer-Verlag, 2012. v. 50p. 13–39.
- BANKER, G.S., GORE, A.Y., SWARBRICK, J. Water vapour transmission properties of free films. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 18, n. 7, p. 457–466, 1966.
- BÁRDOS, L.; BARÁNKOVÁ, H. Plasma processes at atmospheric and low pressures. **Vacuum**, v. 83, n. 3, p. 522–527, 2008.
- BECKER, M. R. Preparação e avaliação das propriedades de misturas de polietileno de baixa densidade com polietileno linear de baixa densidade. p. 84, 2002.
- BELIBI, P. C. *et al.* A comparative study of some properties of cassava and tree cassava starch films. **Physics Procedia**, v. 55, p. 220–226, 2014.
- BEMILLER, J.; WHISTLER, R. (EDS.). **Starch: Chemistry and Technology**. 3. ed. (s.l.) Elsevier Inc., 2009.
- BRITO, G. F. *et al.* Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 6, n. 2, p. 127–139, 2011.
- BUTLER, T. I.; MORRIS, B. A. PE-Based Multilayer Film Structures. In: **Plastic Films in Food Packaging**. First Edit ed. (s.l.) Elsevier Inc., 2013. p. 21–52.
- BUZEA, C.; PACHECO, I. I.; ROBBIE, K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. **Biointerphases**, v. 2, n. 4, p. MR17-R71, 2007.
- CABRAL, A., C.; MADI, L., F., C.; SOLER, R., M., ORTIZ, S., A. - **Embalagens de Produtos Alimentícios**. Campinas: ITAL, Campinas - SP; 1983. 338p.
- CATALÁ, R.; GAVARA, R. Migración de Componentes y Resíduos de Envases em Contacto com Alimentos, Valencia: p. 346, 2002.

CHAN, C.-M.; KO, T.-M.; HIRAOKA, H. Polymer surface modification by plasmas and photons. **Surface Science Reports**, v. 24, n. 1-2, p. 1–54, 1996.

CHAIWAT, W. *et al.* Argon Plasma Treatment of Tapioca Starch Using a Semi-continuous Downer Reactor. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 7, p. 1125–1134, 2016.

COLES, R. *et al.* Food Packaging Technology. **Packaging technology series**, p. 368, 2003.

COLTRO, L.; ALVES, R. M. V. Tratamento superficial de filmes flexíveis por plasma. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 13, n. ABRIL / MAIO / JUNHO, p. 708–714, 2001.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. DE. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 1, p. 1–13, 2003.

CUI, N. Y. *et al.* Surface oxidation of a Melinex 800 PET polymer material modified by an atmospheric dielectric barrier discharge studied using X-ray photoelectron spectroscopy and contact angle measurement. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 8, p. 3865–3871, 2007.

DE AZEREDO, H. M. C. Antimicrobial nanostructures in food packaging. **Trends in Food Science and Technology**, v. 30, n. 1, p. 56–69, 2013.

DE GEYTER, N. *et al.* Treatment of polymer films with a dielectric barrier discharge in air, helium and argon at medium pressure. **Surface and Coatings Technology**, v. 201, n. 16–17, p. 7066–7075, 2007.

DORAI, R.; KUSHNER, M. J. A model for plasma modification of polypropylene using atmospheric pressure discharges. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, n. 6, p. 666–685, 2003.

DUNCAN, T. V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 363, n. 1, p. 1–24, 2011.

EBEWELE, R. O. **Polymer Science and Technology**. Boca Raton: CRC Press, 2000.

EMAMI-KARVANI, Z.; CHEHRAZI, P. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on Gram-positive and Gram-negative bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 18, p. 5–10, 2012.

EMAMIFAR, A. *et al.* Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 742–748, 2010.

ENDRES, H. J.; SIEBERT-RATHS, A. Performance Profile of Biopolymers Compared to Conventional Plastics. (s.l.) Elsevier B.V., 2012. v. 10.

FANTA, G. F. *et al.* Formation of hydrophilic starch coatings on polyethylene films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 84, n. 9, p. 1781–1788, 31 maio 2002.

FABRIS, S.; FREIRE, M. T. D. A.; REYES, F. G. R. Embalagens plásticas: Tipos de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de legislação. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 19, n. 2, p. 59–70, 2006.

FENNEMA, O. R. (ED.). **Food Chemistry**. 3. ed. Madison, WI: Marcel Dekker, Inc., 1996.

FEREYDOON, M.; EBNESAJJAD, S. **Development of High-Barrier Film for Food Packaging**. First Edition ed. (s.l.) Elsevier Inc., 2012.

FRIED, J. R. **Polymer science and technology**. Upper Saddle River: Prentice Hall PTR, 1995.

GARCIA, E. A evolução da família dos polietilenos. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 14, n. JANEIRO / FEVEREIRO / MARÇO, 2002.

GLITTENBERG, D. Starch-Based Biopolymers in Paper, Corrugating, and Other Industrial Applications. (s.l.) Elsevier B.V., 2012. v. 10

HAN, S. *et al.* Polymer surface modification by plasma source ion implantation. **Surface and Coatings Technology**, v. 93, n. 2–3, p. 261–264, set. 1997.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. 6th. ed. (s.l.) Aspen Publishers, Inc., 2000.

JONES, N. *et al.* Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. **FEMS Microbiology Letters**, v. 279, n. 1, p. 71–76, 2008.

LI, W. L. *et al.* Development of Nano-ZnO Coated Food Packaging Film and its Inhibitory Effect on *Escherichia coli* *In Vitro* and in Actual Tests. **Advanced Materials Research**, v. 152–153, p. 489–492, 2011.

LIU, H. *et al.* Thermal processing of starch-based polymers. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, n. 12, p. 1348–1368, 2009.

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. In: **Novel Food Packaging Techniques**. (s.l.) Elsevier, 2003. p. 50–70.

HOLKAR, C. R. *et al.* Recent developments in synthesis of nanomaterials utilized in polymer based composites for food packaging applications. **Journal of Food Bioengineering and Nanoprocessing**, v. 1, n. 1, p. 80–105, 2016.

HOSMANI, S.; KUPPUSAMI, P.; GOYAL, R. K. **An Introduction to Surface Alloying of Metals**. Springer, 2014. p. 103–124.

JAPANESE STANDARDS ASSOCIATION. **Norma JIS Z 2801: 2000** - Antimicrobial products - Test for antimicrobial activity and efficacy. Tokyo, 2001.

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

KASALKOVA, N. S. *et al.* Wettability and Other Surface Properties of Modified Polymers. **Wetting and Wettability**, p. 323–356, 2015.

LEROUX, F. *et al.* Polypropylene film chemical and physical modifications by dielectric barrier discharge plasma treatment at atmospheric pressure. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 328, n. 2, p. 412–420, 2008.

LI, W. L. *et al.* Development of Nano-ZnO Coated Food Packaging Film and its Inhibitory Effect on *Escherichia coli* In Vitro and in Actual Tests. **Advanced Materials Research**, v. 152–153, p. 489–492, 2010.

MANO, E. B.; MENDES, L. C. **Introdução a Polímeros**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2004.

MARTIN, E.; LINA, G.; DUMITRESCU, O. STAPHYLOCOCCUS | *Staphylococcus aureus*. In: Encyclopedia of Food Microbiology (s.l.) Elsevier, 2014. v. 3.

MARTIN, S. E.; IANDOLO, J. J. STAPHYLOCOCCUS | Introduction. In: Encyclopedia of Food Microbiology. (s.l.) Elsevier, 1999. p. 2062–2065.

MCGEE, H. **On food and cooking**. 2. ed. New York: Scribner, 2004.

MCHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Sorbitol-plasticized vs glycerol-plasticized whey-protein edible films - integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 4, p. 841–845, 1994.

MEDVEĐOVÁ, A. *et al.* Growth characterisation of *Staphylococcus aureus* in milk: A quantitative approach. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, n. 6, p. 443–453, 2009.

MEXIS, S. F.; KONTOMINAS, M. G. **PACKAGING | Active Food Packaging**. Second Edition ed. (s.l.) Elsevier, 2014. v. 2

MILANI, M. A. Obtenção de PELBD através da Copolimerização de eteno com α -olefinas produzidas in situ. (s.l.) UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2010.

MILES, D. C.; BRISTON, J. H. Tecnologia dos Polímeros. São Paulo: Polígono, 1975.

MOHAMMED FAYAZ, A. *et al.* Mycobased synthesis of silver nanoparticles and their incorporation into sodium alginate films for vegetable and fruit preservation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 14, p. 6246–6252, 2009.

NEHRA, V.; KUMAR, A.; DWIVEDI, H. K. Atmospheric Non-Thermal Plasma Sources. **International Journal of Engineering**, v. 2, n. 1, p. 53–68, 2008.

NIEMIRA, B. A. Cold plasma decontamination of foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 125–142, 2012.

NORDIN, H. Z. B. **THE EFFECT OF DIFFERENT LDPE/STARCH CONTENT IN THERMOFORMED FOOD PACKAGING PRODUCT**. (s.l.) Universiti Teknologi Malaysia, 2007.

PADMAVATHY, N.; VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 9, n. 3, p. 035004, 2008.

PAINE, F. A.; PAINE, H. Y. **A Handbook of Food Packaging**. Boston, MA: Springer US, 1992.

PANKAJ, S. K. *et al.* Applications of cold plasma technology in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 5–17, jan. 2014.

PANKAJ, S. K. *et al.* Characterization of dielectric barrier discharge atmospheric air cold plasma treated gelatin films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 6, p. 61–67, 2015a.

PANKAJ, S. K. *et al.* Dielectric barrier discharge atmospheric air plasma treatment of high amylose corn starch films. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1076–1082, 2015b.

PEACOCK, A. **Handbook of Polyethylene: Structures: Properties, and Applications**. Baytown: CRC Press, 2000.

PIEL, A. **Plasma Physics**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. v. 9

PORTO, M. F. *et al.* Atomic force microscopy, scanning electric potential microscopy and contact-angle surface analysis of low-density polyethylene grafted with maleic anhydride. **Progress in Colloid and Polymer Science**, v. 128, p. 86–91, 2004.

RAY, S. S.; BOUSMINA, M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. **Progress in Materials Science**, v. 50, n. 8, p. 962–1079, 2005.

ROBERTSON, G. L. **Food Packaging: Principles and Practice**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2013.

ROBYT, J. F. **Essentials of Carbohydrate Chemistry**. Springer Science & Business Media, 1998.

SALIANI, M.; JALAL, R.; KAFSHDARE GOHARSHADI, E. Effects of pH and Temperature on Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanofluid Against Escherichia coli O157: H7 and Staphylococcus aureus. **Jundishapur journal of microbiology**, v. 8, n. 2, p. e17115, 2015.

SANT'ANA, P. L. **Plásticos comerciais tratados a plasma para dispositivos ópticos e embalagens alimentícias**. (s.l.) Universidade Estadual Paulista, 2014.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. *et al.* **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ ITAL, 2002. 267 p.

SAWAI, J. *et al.* Detection of active oxygen generated from ceramic powders having antibacterial activity. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, v. 29, n. 4, p. 627–633, 1996.

SCHULTZ, M. E. R. Modificação química de polietileno linear de baixa densidade e aplicação em blendas com poli (tereftalato de etileno). (s.l: s.n.).

SEYMOUR, R. B.; CARRAHER, C. E. **Seymour/Carraher's polymer chemistry: an introduction**. 6. ed. New York: CRC Press, 2003.

SHIN, G. H. *et al.* Preparation of Plastic and Biopolymer Multilayer Films by Plasma Source Ion Implantation. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 16, p. 4608–4614, 2002.

SILVEIRA, M. R. DA S. Funcionalização do Polietileno Linear de Baixa Densidade para promover adesão. (s.l.) UFRGS, 2012.

SORRENTINO, L.; CARRINO, L.; NAPOLITANO, G. Oxygen cold plasma treatment on polypropylene: influence of process parameters on surface wettability. **Surface Engineering**, v. 23, n. 4, p. 247–252, 2007.

SOUZA, A. C. *et al.* Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 110–117, 2012.

SOUZA, R. C. DE. 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. (s.l.) Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

TALARO, K. P.; CHESS, B. Foundations in microbiology. Ninth Edit ed. (s.l.) McGraw-Hill Education, 2015.

TAYEL, A. A. *et al.* Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens. **Journal of Food Safety**, v. 31, n. 2, p. 211–218, 2011.

TENDERO, C. *et al.* Atmospheric pressure plasmas: A review. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 1, p. 2–30, 2006.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 3, p. 71–78, 2003.

THEAPSAK, S.; WATTHANAPHANIT, A.; RUJIRAVANIT, R. Preparation of chitosan-coated polyethylene packaging films by DBD plasma treatment. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 4, n. 5, p. 2474–2482, 2012.

TWINAME, E. R.; MISTLER, R. E. Tape Casting and Lamination. In: **Encyclopedia of Materials: Science and Technology**. 2. ed. (s.l.) Elsevier, 2001. p. 9083–9088.

VAN SOEST, J. J. G. *et al.* Changes in the mechanical properties of thermoplastic potato starch in relation with changes in B-type crystallinity. **Carbohydrate Polymers**, v. 29, n. 3, p. 225–232, 1996.

VARTIAINEN, J.; VÄHÄ-NISSI, M.; HARLIN, A. Biopolymer Films and Coatings in Packaging Applications—A Review of Recent Developments. **Materials Sciences and Applications**, v. 05, n. 10, p. 708–718, 2014.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. **Food Additives and Contaminants**, v. 19, n. November 2012, p. 163–171, 2002.

WANG, H.; SHI, H.; WANG, Y. The Wetting of Leaf Surfaces and Its Ecological Significances. **Wetting and Wettability**, p. 295–321, 2015.

WIACEK, A. E. Effect of surface modification on starch biopolymer wettability. **Food Hydrocolloids**, v. 48, p. 228–237, 2015.

WRIGLEY, C. W. *et al.* (EDS.). **The World of Food Grains**. 2. ed. (s.l.) Academic Press, 2016.

YAM, K. L. (ED.). **Encyclopedia of packaging technology**. 3. ed. New Brunswick: John Wiley & Sons, 2009.

YAMAMOTO, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. **International Journal of Inorganic Materials**, v. 3, n. 7, p. 643–646, 2001.

ZHOU, L. *et al.* Effect of PE/Ag₂O nano-packaging on the quality of apple slices. **Journal of Food Quality**, v. 34, n. 3, p. 171–176, 2011.