



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

Débora Mink

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO EM EMBALAGEM DE  
PRESUNTO FATIADO PARA INATIVAÇÃO BACTERIANA**

Florianópolis - SC

2023

Débora Mink

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO EM EMBALAGEM DE  
PRESUNTO FATIADO PARA INATIVAÇÃO BACTERIANA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi

Coorientadoras: Dra. Denise Adamoli Laroque  
Dra. Raquel da Silva Simão

Florianópolis - SC

2023

Mink, Débora

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO EM EMBALAGEM DE PRESUNTO FATIADO PARA INATIVAÇÃO BACTERIANA / Débora Mink ; orientador, Bruno Augusto Mattar Carciofi, coorientadora, Denise Adamoli Laroque, coorientadora, Raquel da Silva Simão, 2023.

75 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Alimentos prontos para o consumo. 3. *Listeria monocytogenes*. 4. In-package. 5. Plasma frio. I. Augusto Mattar Carciofi, Bruno. II. Adamoli Laroque, Denise. III. da Silva Simão, Raquel IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Alimentos. V. Título.

Débora Mink

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO EM EMBALAGEM DE  
PRESUNTO FATIADO PARA INATIVAÇÃO BACTERIANA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Alimentos.

Florianópolis, 03 de Julho de 2023.

---

Prof. Dr. Marco Di Luccio  
Coordenador do Curso

**Banca examinadora:**

---

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi  
Orientador

---

Profa. Dra. Patrícia Poletto  
Membro interno - UFSC

---

Me. Sandra Tiemi Seó  
Membro interno - UFSC

Florianópolis, 2023.

Este trabalho é dedicado ao mais grandioso Engenheiro  
e ao Dono de toda ciência, Deus, o Criador.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me capacitado, dado saúde e força durante a graduação e durante este projeto, que toda honra e toda glória sejam dadas a Ti, Senhor.

Aos meus pais, Mariane e Zélio, por terem me incentivado, acreditado em mim e por terem provido financeiramente por todo este tempo, sem eles, nada teria sido possível.

À minha irmã, Priscila, que sempre acreditou e torceu por mim.

Ao meu namorado, Klisman, pelo amor, paciência, suporte, companhia, amizade e por sempre ter acreditado mais em mim do que eu mesma.

Ao Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi pela orientação, atenção, disponibilidade e pela confiança depositada em meu trabalho.

Às minhas coorientadoras, Dra. Denise Adamoli Laroque e Dra. Raquel da Silva Simão, pelo aprendizado, suporte, disponibilidade, auxílio nos experimentos, pelas palavras de apoio e carinho, pelos momentos de descontração e amizade, agradeço de coração.

À Me. Sandra, pelos conselhos, ideias, auxílio e pela amizade.

Às bolsistas de Iniciação científica, Giovana, Giulia e Karen, pelo auxílio na esterilização de materiais para as análises.

À infraestrutura e aos colaboradores da Central de Análises e dos laboratórios PROFI e LIEB.

À UFSC e aos professores pela qualidade de ensino.

À BRF pelo patrocínio.

A todos, agradeço.

## RESUMO

A garantia da segurança microbiológica de produtos prontos para consumo, especialmente produtos fatiados, é de suma importância devido às associações com doenças transmitidas por alimentos, incluindo listerioses, que podem levar à morte. O plasma frio é uma tecnologia de tratamento superficial não-térmica emergente na indústria alimentícia devido ao seu efeito antimicrobiano, e, também, pode-se evitar contaminação pós-processo quando o plasma frio é gerado dentro da própria embalagem selada (*in-package*). No entanto, o plasma frio gerado e sua eficácia é dependente das condições de processo e das propriedades da matriz alimentícia ao qual é submetido. Diante desse contexto, este estudo investigou a formação de plasma frio atmosférico (PFA) utilizando um reator de descarga de barreira dielétrica (DBD), com aplicação direta (dentro da área de incidência dos eletrodos) e indireta (fora da área de incidência dos eletrodos) do PFA, dentro de embalagens seladas de presunto fatiado através da determinação do ângulo de contato de um polímero (polietileno de baixa densidade - PEBD) com água destilada. Além disso, foram avaliados os efeitos do plasma formado na coloração e pH do presunto, e na inativação de *Listeria monocytogenes* logo após aplicação do plasma, após 30 min do tratamento e após armazenamento por 5 dias a 4 °C. Duas condições de processo foram fixadas para o estudo: 23 kV/45 Hz e 28 kV/120 Hz, nas quais o plasma formado foi visivelmente estável. Em 10 s de tratamento direto com plasma frio, o ângulo de contato do PEBD dentro da embalagem reduziu de  $91,44 \pm 4,05^\circ$  para  $63,33 \pm 0,28^\circ$  e  $59,43 \pm 2,59^\circ$  na condição de 23 kV/45 Hz e 28 kV/120 Hz, respectivamente. A redução máxima do ângulo de contato ocorreu em 30 s de tratamento, em ambas as condições de operação, reduzindo o ângulo de contato para aproximadamente  $53^\circ$ , o qual permaneceu praticamente constante até 4 min de tratamento. Não houve redução dos valores do ângulo de contato para os tratamentos indiretos. A inativação de *L. monocytogenes* no presunto fatiado ocorreu somente com o contato prolongado de 5 dias (4 °C) entre o presunto e as espécies reativas, tratado com plasma frio direto por 4 min, reduzindo até  $0,74 \pm 0,29$  log. Porém, quando foi adicionado ágar PCA sobre o presunto, houve redução em todas as condições de tratamento direto, com máxima redução de  $1,49 \pm 0,47$  log. Não houve inativação com o tratamento indireto com plasma frio. O pH e a cor (parâmetro  $a^*$ ) somente alteraram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) no tratamento direto com plasma frio a 28 kV/120 Hz, e a 23 kV/45 Hz, diminuindo o pH de  $6,19 \pm 0,04$  para  $6,04 \pm 0,09$  e o parâmetro  $a^*$  de  $11,16 \pm 0,34$  para  $10,40 \pm 0,29$ , respectivamente. Dessa forma, mesmo sendo confirmada a formação do plasma frio dentro da embalagem, a eficácia de inativação bacteriana irá depender, dentre outros fatores, da rugosidade da superfície do alimento, e para melhor compreensão desse efeito, mais estudos devem ser realizados.

**Palavras-chave:** Alimentos prontos para o consumo; *In-package*; *Listeria monocytogenes*; Plasma frio.

## ABSTRACT

The guarantee of microbiological safety in ready-to-eat products, especially sliced products, is fundamental due to their associations with foodborne illnesses, including listeriosis, which can lead to death. Cold plasma is an emerging non-thermal surface treatment technology in the food industry because of its antimicrobial effect. In addition, contamination after processing can be avoided when cold plasma is generated within the already sealed packaging (in-package). However, the generation of cold plasma and its effectiveness are dependent on the process conditions and the properties of the food matrix to which it is applied. Thus, this study investigated the formation of atmospheric cold plasma (ACP) using a dielectric barrier discharge (DBD) reactor, with direct application (within the electrode's area of incidence) and indirect application (outside the electrode's area of incidence) of ACP, within sealed packages of sliced ham through the determination of the contact angle of a polymer (low-density polyethylene - LDPE) with distilled water. Furthermore, the effects of the formed plasma on the color and pH of the ham, as well as the inactivation of *Listeria monocytogenes* immediately after plasma application, after a 30 min treatment, and after storage for 5 days at 4 °C were evaluated. Two process conditions were fixed for the study: 23 kV/45 Hz and 28 kV/120 Hz, in which the formed plasma was noticeably stable. In 10 s of direct treatment with cold plasma, the contact angle of LDPE inside the packaging decreased from  $91.44 \pm 4.05^\circ$  to  $63.33 \pm 0.28^\circ$  and  $59.43 \pm 2.59^\circ$  at the conditions of 23 kV/45 Hz and 28 kV/120 Hz, respectively. The maximum reduction in contact angle occurred at 30 s of treatment, under both operating conditions, decreasing the contact angle to approximately  $53^\circ$ , which remained almost constant for up to 4 min of treatment. There was no reduction in the contact angle for the indirect treatments. The inactivation of *L. monocytogenes* in sliced ham occurred only with prolonged 5-day contact (4 °C) between the ham and the reactive species, treated with direct cold plasma for 4 min, resulting in a reduction of up to  $0.74 \pm 0.29$  log. However, when agar PCA was added over ham, there was a reduction in all direct treatment conditions, with a maximum reduction of  $1.49 \pm 0.47$  log. No inactivation was observed in the indirect cold plasma treatment. pH and color (parameter  $a^*$ ) only showed significant changes ( $p \leq 0.05$ ) in the direct treatment with cold plasma at 28 kV/120 Hz and 23 kV/45 Hz, with a decrease in pH from  $6.19 \pm 0.04$  to  $6.04 \pm 0.09$  and a decrease in parameter  $a^*$  from  $11.16 \pm 0.34$  to  $10.40 \pm 0.29$ , respectively. Therefore, even though the formation of cold plasma within the packaging was confirmed, the effectiveness of bacterial inactivation will depend, among other factors, on the surface roughness of the food. To better understand this effect, further studies should be conducted.

**Keywords:** Cold plasma; In-package; *Listeria monocytogenes*; Ready-to-eat foods.

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 - Diagrama esquemático de (a) tratamento direto e (b) indireto com plasmas DBD em amostras sólidas.....  | 23 |
| Figura 2 - Mecanismo de inativação de bactérias gram-negativas e gram-positivas utilizando plasma frio.....   | 27 |
| Figura 3 - Embalagem do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.): vistas (a) frontal e (b) lateral.....   | 34 |
| Figura 4 - Arranjo original das fatias dentro da embalagem do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.).....   | 34 |
| Figura 5 - Arranjo padronizado dentro da embalagem das fatias do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.) para os tratamentos direto (círculo vermelho) e indireto (retângulo preto) de plasma frio.....            | 35 |
| Figura 6 - Reator de descarga de barreira dielétrica (Inergiae, Pulse 0130, Brasil): (i) fio terra, (ii) fonte de alta tensão, (iii) fio de alta tensão, (iv) caixa de acrílico e (v) eletrodos.....                            | 36 |
| Figura 7 - Posicionamento da embalagem de presunto no reator de plasma frio DBD.....  | 37 |
| Figura 8 - Posicionamento do polímero sobre o presunto para a análise do ângulo de contato por tratamento (a) direto e (b) indireto. O círculo vermelho representa a posição do eletrodo.....                                   | 38 |
| Figura 9 - (a) Aparato construído para medição do ângulo de contato e (b) goniômetro (Ramé-Hart Inst. Co., 250-F1, USA): (i) micropipeta, (ii) microscópio digital, (iii) lâmpada LED, (iv) lâmina de vidro e (v) suportes..... | 39 |
| Figura 10 - Fotografia obtida no aparato construído da gota de 5 $\mu$ L formada sobre a superfície do polímero.....  | 40 |
| Figura 11 - Tratamento da imagem pelo <i>plug-in contact angle</i> do aplicativo ImageJ v. 1.53t: (a) seleção manual dos pontos nas extremidades da gota e (b) formação, pelo software, da elipse que passa pelos pontos.....   | 40 |
| Figura 12 - Preparo do inóculo de <i>L. monocytogenes</i> .....   | 41 |
| Figura 13 - Procedimento para a inoculação de <i>L. monocytogenes</i> no presunto fatiado para o tratamento (a) direto e (b) indireto. As áreas inoculadas são representadas pelo círculo e retângulo em vermelho.....          | 42 |
| Figura 14 - Conformação para os testes de inativação de <i>L. monocytogenes</i> no ágar PCA.....  | 43 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 15 - Procedimento para a inoculação de <i>L. monocytogenes</i> no ágar PCA para o tratamento (a) direto e (b) indireto. As áreas inoculadas são representadas pelo círculo e retângulo em vermelho. ....   | 44 |
| Figura 16 - Procedimento para a rinsagem de <i>L. monocytogenes</i> no presunto fatiado. ....   | 45 |
| Figura 17 - Diagrama do espaço de cor CIELab. ....  | 46 |
| Figura 18 - (a) Tratamento direto/área de cobertura do eletrodo superior, (b) região de análise do tratamento indireto e (○) regiões de leitura de cor e pH no presunto. ....   | 47 |
| Figura 19 - Faixas de frequência em diferentes tensões para geração de plasma frio visualmente uniforme e estável dentro da embalagem de presunto, com distância entre os eletrodos de 13 mm e à pressão atmosférica. ....  | 48 |
| Figura 20 - Formação de plasma frio (descarga violeta) estável e uniforme dentro da embalagem. ....   | 48 |
| Figura 21 - Média e desvio padrão das duplicatas experimentais da evolução temporal dos valores do ângulo de contato do polímero dentro da embalagem de presunto submetidos ao tratamento por plasma frio na condição de tratamento de (a) 23 kV/45 Hz e (b) 28 kV/120 Hz: Tratamento direto (△ cinética 1 e ◇ cinética 2); Tratamento indireto (■ cinética 1 e ● cinética 2); - - - média do tratamento indireto. .... | 50 |
| Figura 22 - (a) Ângulo de contato inicial do polímero e (b) ângulo de contato após aplicação do plasma frio durante 4 min na condição de 28 kV/120 Hz. ....   | 51 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 - Estudos da literatura sobre aplicação de plasma frio em alimentos embalados em condições ambientes. ....  | 29 |
| Tabela 2 - Condições de tratamento de plasma frio e tempo de espera para a rinsagem do presunto fatiado embalado. ....   | 52 |
| Tabela 3 - Concentração e redução de <i>L. monocytogenes</i> no presunto embalado para os tratamentos diretos e indiretos com plasma frio. ....  | 53 |
| Tabela 4 - Condições de tratamento e tempo de espera para a rinsagem do ágar PCA. ....   | 55 |
| Tabela 5 - Resultados da redução de <i>L. monocytogenes</i> no ágar PCA para 4 min de tratamento direto com plasma frio. ....  | 56 |
| Tabela 6 - Média e desvio padrão dos parâmetros de cor ( $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ ) e diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) do presunto fatiado antes e após 4 min de tratamento por plasma frio nas amostras embaladas. .... | 58 |
| Tabela 7 - Média e desvio padrão do pH do presunto fatiado embalado, antes e após 4 min de tratamento por plasma frio. ....  | 60 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|       |   |
|-------|---|
| BHI   | <i>Brain Heart Infusion Agar</i>                      |
| BOD   | Estufa incubadora para demanda bioquímica de oxigênio |
| CIE   | Commision Internationale de L'Éclairage               |
| DBD   | Descarga de barreira dielétrica                       |
| DDP   | Diferença de potencial elétrica                       |
| DTA   | Doenças transmitidas por alimentos                    |
| ERN   | Espécies reativas do nitrogênio                       |
| ERO   | Espécies reativas do oxigênio                         |
| EVOH  | Poli(etileno-co-álcool vinílico)                      |
| PA    | Poliamida   |
| PCA   | <i>Plate count agar</i>                               |
| PEAD  | Polietileno de alta densidade                         |
| PEBD  | Polietileno de baixa densidade                        |
| PEBDL | Polietileno linear de baixa densidade                 |
| PET   | Polietileno tereftalato                               |
| PP    | Polipropileno   |
| PS    | Poliestireno  |
| RHA   | Razão de volume entre <i>headspace</i> e amostra      |
| RTE   | <i>Ready-to-eat</i>                                   |
| UFC   | Unidades formadoras de colônia                        |

## SUMÁRIO

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>15</b> |
| <b>2</b>     | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>17</b> |
| 2.1          | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 17        |
| <b>3</b>     | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....   | <b>18</b> |
| 3.1          | PLASMA .....   | 18        |
| 3.2          | PLASMA FRIO .....  | 19        |
| <b>3.2.1</b> | <b>Mecanismo de geração do plasma frio</b> .....                             | <b>21</b> |
| <b>3.2.2</b> | <b>Descarga de barreira dielétrica</b> .....                                 | <b>23</b> |
| 3.3          | PLASMA FRIO: FERRAMENTA DE DESCONTAMINAÇÃO .....                             | 24        |
| <b>3.3.1</b> | <b>Mecanismo de inativação bacteriana</b> .....                              | <b>25</b> |
| <b>3.3.2</b> | <b>Descontaminação <i>in-package</i></b> .....                               | <b>27</b> |
| 3.3.2.1      | <i>Influência da embalagem na eficiência e formação do plasma frio</i> ..... | 30        |
| 3.4          | CONTAMINAÇÃO EM PRODUTOS FATIADOS DO TIPO <i>READY-TO-EAT</i> ..             | 32        |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....   | <b>33</b> |
| 4.1          | PREPARO DA AMOSTRA .....   | 33        |
| 4.2          | REATOR DBD DE PLASMA FRIO .....  | 35        |
| 4.3          | APLICAÇÃO DE PLASMA FRIO DBD NAS EMBALAGENS DE PRESUNTO FATIADO.....         | 36        |
| 4.4          | AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO DENTRO DA EMBALAGEM DE PRESUNTO .....   | 37        |
| <b>4.4.1</b> | <b>Análise do ângulo de contato</b> .....                                    | <b>38</b> |
| 4.5          | TESTE DE INATIVAÇÃO MICROBIOLÓGICA.....                                      | 41        |
| <b>4.5.1</b> | <b>Inóculo</b> .....   | <b>41</b> |
| <b>4.5.2</b> | <b>Inoculação</b> .....  | <b>42</b> |
| <b>4.5.3</b> | <b>Enumeração de células microbianas</b> .....                               | <b>44</b> |
| 4.6          | TESTES DE QUALIDADE .....  | 45        |
| <b>4.6.1</b> | <b>Cor</b> .....   | <b>45</b> |
| <b>4.6.2</b> | <b>pH</b> .....  | <b>46</b> |
| 4.7          | ANÁLISE ESTATÍSTICA .....  | 47        |
| <b>5</b>     | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | <b>47</b> |
| 5.1          | CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO PLASMA FRIO: TENSÃO E FREQUÊNCIA                    |           |

|       |   |           |
|-------|---|-----------|
| 5.2   | VALIDAÇÃO DO APARATO CONSTRUÍDO PARA MEDIÇÃO DO ÂNGULO DE CONTATO.....                                  | 49        |
| 5.3   | AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO DENTRO DA EMBALAGEM DE PRESUNTO FATIADO POR ÂNGULO DE CONTATO..... | 49        |
| 5.4   | INATIVAÇÃO MICROBIANA .....   | 52        |
| 5.4.1 | <b>Inativação microbiana no presunto .....</b>  | <b>52</b> |
| 5.4.2 | <b>Inativação microbiana no ágar PCA .....</b>  | <b>54</b> |
| 5.5   | TESTES DE QUALIDADE .....   | 57        |
| 5.5.1 | <b>Cor.....</b>   | <b>57</b> |
| 5.5.2 | <b>pH.....</b>  | <b>59</b> |
| 6     | <b>CONCLUSÃO.....</b>   | <b>61</b> |
|       | <b>REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>63</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

A contaminação microbiana em alimentos é uma grande preocupação para a indústria alimentícia, para as agências reguladoras e para os consumidores (Song, 2009). As doenças transmitidas por alimentos (DTA), como resultado da ingestão de alimentos contaminados, são um problema de saúde pública global. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, por ano, ocorrem mundialmente cerca de 600 milhões de casos e 420 mil mortes (Yadav *et al.*, 2019).

O processamento de alimentos, juntamente com um complexo maquinário e linha de produção, oferece altos riscos de contaminação cruzada de microrganismos (Zhang *et al.*, 2021), visto que estes podem sobreviver no ambiente de processamento e podem ser transferidos para o produto a partir de superfícies de equipamentos, como fatiadores (Rød *et al.*, 2012), utensílios e operadores. A preocupação se estende aos produtos prontos para consumo (*ready-to-eat* - RTE), que geralmente não são aquecidos pelo consumidor antes do consumo e que são altamente susceptíveis à contaminação pós-processo.

A infecção associada ao consumo de alimentos contaminados com *Listeria monocytogenes* (listeriose) é danosa para mulheres grávidas, recém-nascidos, adultos com mais de 65 anos ou pessoas imunossuprimidas, podendo levar à morte. Essas doenças são comumente associadas a alimentos RTE refrigerados, visto que a contaminação pode agravar-se devido ao longo tempo de armazenamento, comprometendo a segurança do produto. Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2023), produtos RTE fatiados, como queijos e presuntos, estão entre os alimentos com maior risco de contaminação, com casos recorrentes de surtos de listeriose. Portanto, faz-se necessária a garantia em oferecer um alimento seguro aos consumidores.

O plasma frio é uma tecnologia emergente e promissora, que tem atraído interesse para a descontaminação não térmica da superfície de alimentos (Khani, 2017; Misra *et al.*, 2017), como método alternativo para aqueles produtos que não podem ser higienizados através de métodos convencionais (Ragni *et al.*, 2010). A tecnologia de geração de plasma frio dentro de uma embalagem selada é uma aplicação que abre muitas possibilidades para a indústria, podendo prolongar o tempo de ação das espécies reativas do plasma sobre os microrganismos, e evitando, assim, a contaminação pós-processo (Laroque *et al.*, 2022).

A confirmação da formação do plasma frio dentro de uma embalagem é necessária para indicar que o produto alimentício está recebendo a descarga do plasma e, assim, reagir com as

espécies reativas formadas e, conseqüentemente, inativar os microrganismos. A fim de evitar técnicas complexas e dispendiosas para confirmar a formação e ação do plasma frio dentro da embalagem, e considerando a dificuldade de determinação do plasma devido aos diversos interferentes e à instabilidade das espécies reativas, a medição do ângulo de contato de uma amostra de polímero submetido ao tratamento por plasma frio sobre a amostra embalada pode ser uma técnica simples e adequada para avaliar a formação de plasma frio. O plasma frio é capaz de modificar as propriedades químicas e físico-mecânicas de polímeros, aumentando a sua rugosidade e sua hidrofiliçidade (Sani *et al.*, 2023), ou seja, reduz o ângulo de contato superficial do polímero com a gota de água.

Os efeitos de descontaminação da descarga de plasma frio em bactérias, esporos e outros microrganismos patogênicos são provenientes da geração de coquetéis de espécies reativas, incluindo espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, fótons UV, radicais livres, cargas positivas e negativas, sendo que a concentração e formação dessas espécies dependem dos parâmetros de processo, incluindo a tensão aplicada, composição do gás, temperatura, umidade relativa, duração do tratamento e do armazenamento (Park *et al.*, 2018), do material e geometria dos eletrodos, da barreira dielétrica (Olthoff *et al.*, 1995), do pH, temperatura e da própria matriz alimentícia (Feizollahi *et al.*, 2020).

As descargas de plasma frio à pressão atmosférica e à temperatura próxima da temperatura ambiente tornam o processo de descontaminação prático, barato e adequado para aplicações em que se deseja a preservação, inocuidade e segurança do produto (Ragni, 2010). Porém, devido à complexidade da composição das matrizes alimentícias e das propriedades dielétricas da embalagem, estudos dos parâmetros de operação são necessários para garantir o sucesso da aplicação do plasma frio nos alimentos, assegurando sua descontaminação e minimizando impactos organolépticos e físico-químicos (Laroque *et al.*, 2022).

## 2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo foi investigar a formação de plasma frio dentro de embalagens de presunto fatiado seladas e os efeitos do plasma formado na inativação de *Listeria monocytogenes*.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Gerar plasma frio dentro de uma embalagem de produtos fatiados utilizando um reator de descarga de barreira dielétrica;
- Avaliar diferentes condições de processo, tais como, frequência, tensão de pico e distância entre os eletrodos, para produzir o plasma frio dentro da embalagem selada;
- Montar um aparato de medição de ângulo de contato e validar com um goniômetro;
- Analisar, a partir da medição do ângulo de contato, a geração do plasma frio dentro da embalagem;
- Avaliar o efeito do plasma frio na cor e no pH do presunto;
- Investigar o efeito inibitório do plasma frio em *Listeria monocytogenes* no presunto fatiado embalado a partir das melhores condições obtidas de formação de plasma frio.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PLASMA

O plasma é descrito como o quarto estado da matéria no universo, ou seja, ao subir o nível de energia cinética das moléculas ou átomos de um material em estado sólido, obtém-se o estado líquido, por diante o estado gasoso e então o plasma (Bittencourt, 2013; Fridman, 2008), proveniente da aplicação de uma grande quantidade de energia para ionizar o gás (Chen *et al.*, 2019), o qual possui propriedades complexas e únicas (Misra *et al.*, 2016).

O plasma é constituído por altas concentrações de espécies químicas ativas, como elétrons, íons positivos e negativos, átomos e moléculas altamente excitadas, partículas neutras e radicais livres (Bourig, 2009; Khani *et al.*, 2017). É um potencial emissor de radiação eletromagnética do espectro ultravioleta e de luz visível (Misra *et al.*, 2017), além de ser um meio propício para a ocorrência de diversas reações químicas (Muhammad, *et al.*, 2018). Porém, o mecanismo, comportamento e composição de cada plasma é peculiar e depende das condições de formação as quais é submetido, como pressão, configuração, fontes de alimentação e a própria natureza do gás. Devido à presença de cargas elétricas livres, como elétrons e íons, o plasma, diferente do gás não excitado, torna-se um excelente condutor elétrico, às vezes até mais que o ouro e o cobre. (Fridman, 2008; Khani *et al.*, 2017). Para ser considerado plasma, um gás não precisa estar totalmente ionizado, mas pode estar parcialmente ionizado, o que ocorre na maioria dos casos (Arpini, 2017).

O plasma pode ser classificado em duas categorias: plasma térmico (quente) e plasma não térmico (frio), as quais se distinguem pelo estado de equilíbrio termodinâmico entre os elétrons e íons que o compõem, onde o grau de ionização e a temperatura do elétron estão intimamente relacionados (Bittencourt, 2013; Misra *et al.*, 2017). A temperatura do plasma é, como nos gases, definida conforme a quantificação de energia média das partículas carregadas ou neutras, juntamente com seu grau de locomoção dentro do sistema. Ademais, visto que o plasma é um sistema multicomponente, torna-se capaz de possuir distintas temperaturas dentro do mesmo espaço (Fridman, 2008).

O plasma térmico encontra-se em equilíbrio termodinâmico local (ETL). Isso significa que a temperatura dos elétrons é igual à temperatura das partículas mais pesadas, os íons (Fridman, 2008; Tendero *et al.*, 2006). Pode-se dizer que o plasma em condições de equilíbrio termodinâmico local segue as principais leis de equilíbrio da termodinâmica, portanto, é

caracterizado por uma única temperatura em cada ponto do espaço do sistema. Essa condição de equilíbrio termodinâmico acontece devido às colisões de elétrons com as partículas pesadas, que, devido ao efeito Joule, podem equilibrar suas temperaturas. (Fridman, 2008). O aquecimento necessário para a geração do plasma térmico é na ordem de 20.000 K e requer altas pressões (Misra *et al.*, 2016).

Por sua vez, o plasma não térmico está fora do equilíbrio termodinâmico local (non-ETL) (Fridman, 2008), isto é, a temperatura global do sistema e dos íons é muito menor que a temperatura dos elétrons (Lieberman e Lichtenberg, 2005; Misra *et al.*, 2017; Tendero *et al.*, 2006). O sistema não consegue chegar a uma condição de equilíbrio devido ao tempo ou energia não serem suficientes (Fridman, 2008). A temperatura do plasma não térmico varia de 300 a 1.000 K (Chen *et al.*, 2019), e, por isso, é subdividido em plasma de quase-equilíbrio, que varia de 100 a 150 °C, aproximadamente, e plasma de não-equilíbrio (plasma frio), que se encontra geralmente a uma temperatura inferior a 60 °C (Misra *et al.*, 2016), com capacidade de aproximar-se da temperatura ambiente (Fridman, 2008; Lieberman e Lichtenberg, 2005).

### 3.2 PLASMA FRIO

Os plasmas de não-equilíbrio - plasmas frios - são tipicamente induzidos e sustentados por meio de descargas elétricas a um gás ou mistura de gases, por meio de fontes de energia de micro-ondas, radiofrequência, corrente pulsada, alternada ou contínua (Laroussi, 2002; Misra *et al.*, 2016). São obtidos em condições atmosféricas ou de pressão reduzida e requerem menos energia de entrada (Fridman, 2008; Misra *et al.*, 2017).

Os sistemas de plasma frio destacam-se principalmente por sua capacidade de gerar meios com alta densidade eletrônica, agentes quimicamente e biologicamente ativos, envolvendo milhares de reações (Misra *et al.*, 2017), mantendo sua temperatura baixa, além da possibilidade do uso de diferentes gases como gás de formação de plasma (Khani *et al.*, 2017), sem necessidade de formação de vácuo (Misra *et al.*, 2017). Devido à sua baixa energia de ionização, gases como o hélio e o argônio são mais facilmente ionizados na presença de um campo elétrico e produzem uma gama de elétrons que podem ser úteis em reações (Khani *et al.*, 2017). Por outro lado, os plasmas formados com ar atmosférico apresentam diversas propriedades antimicrobianas e oxidativas devido, principalmente, à formação de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio.

Muitos fatores influenciam a formação das espécies reativas e sua concentração no plasma, incluindo o gás no qual o plasma é induzido, a configuração da fonte de plasma, a injeção de energia para o gás, a duração do tratamento, os níveis de umidade do meio (Moiseev *et al.*, 2014) e o método de geração de plasma (descarga de barreira dielétrica, descarga corona, plasma a jato, plasma a vácuo, radiofrequência, micro-ondas etc.) (Fridman, 2008).

As aplicações de tratamentos com plasma frio mostram-se promissoras para diversas áreas, como na indústria têxtil (Jelil, 2015) e eletrônica (Kortshagen, 2016), na medicina (Dolci *et al.*, 2018) com a esterilização de ferramentas sensíveis ao calor, cicatrização de feridas e diferenciação celular (Adhikari *et al.*, 2020), na modificação de superfícies para melhorar a molhabilidade e adesão de polímeros (Baier *et al.*, 1992; Dumitrascu *et al.*, 2005), na destruição de compostos orgânicos voláteis (Abd Allah *et al.*, 2014), destruição de poluentes (Kogelschatz, 2003; Chirokov *et al.*, 2005), e, inclusive, na indústria alimentícia (Tolouie *et al.* 2017).

Para a indústria alimentícia, diversos estudos relatam a funcionalidade do plasma a frio para melhorar a qualidade, vida útil e a segurança dos alimentos. O plasma frio é uma tecnologia potencial para melhorar as propriedades físico-químicas e funcionais das proteínas (solubilidade, formação de espuma (Chen *et al.*, 2019), capacidade de retenção de água, geleificação e emulsificação) (Li *et al.*, 2023), para a modificação de amido e biofilmes (Kopuk *et al.*, 2022; Ji *et al.*, 2019), hidrogenação de óleo vegetal sem produzir ácidos graxos trans (Yepez e Keener, 2016), degradação eficiente de agroquímicos (Hu *et al.*, 2013; Sarangapani *et al.*, 2017), alérgenos (Ekezie *et al.*, 2019; Tammineedi *et al.*, 2013), antinutrientes (Li *et al.*, 2017) e toxinas (Gao *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2017), ademais, possui propriedades de inativação e ativação de enzimas (Khani *et al.*, 2017; Takai *et al.*, 2011) como consequência da dose de plasma aplicada (Adhikari *et al.*, 2020), destacando-se a inativação da enzima peroxidase (Khani *et al.*, 2017).

Devido à sua eficiente atividade antimicrobiana, o plasma pode ser também aplicado de maneira útil na inativação de uma ampla gama de microrganismos patogênicos ou não, como esporos (Patil *et al.*, 2014), biofilmes (Jahid *et al.*, 2014; Niemira *et al.*, 2014) e vírus (Bae *et al.*, 2015) em superfícies de alimentos (Chen *et al.*, 2019), em água proveniente da lavagem de aves (Rowan *et al.*, 2007), para a descontaminação pós-colheita (Adhikari *et al.*, 2020) de frutas, hortaliças frescas (Critzler *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2019), grãos, sementes e leguminosas (Adhikari *et al.*, 2020; Selcuk *et al.*, 2008) sem reduzir suas qualidades sensoriais e nutritivas (Chen, 2019), devido à sua baixa temperatura (Khani *et al.*, 2017), sendo uma ótima alternativa

para a descontaminação de alimentos que não podem ser higienizados por meios convencionais ou térmicos. O plasma à condição atmosférica e à temperatura próxima da temperatura ambiente torna a descontaminação prática, barata e adequada para aplicações que requerem a conservação do produto (Ragni *et al.*, 2010).

Embora o plasma frio vem atraído o interesse da indústria e da academia em relação à descontaminação de alimentos (Khani *et al.*, 2017), ele é considerado uma tecnologia de tratamento superficial, ou seja, a profundidade de penetração do plasma na superfície das amostras é baixa e difere-se em alimentos sólidos e líquidos (Surowsky *et al.*, 2014), requerendo, muitas vezes, um longo tempo de processamento (Khani *et al.*, 2017). Além disso, os efeitos do plasma produzido por cada sistema são complexos e únicos, gerando impactos nos atributos de qualidade físicos (morfologia da superfície, textura, sabor, cor), químicos (escurecimento enzimático, degradação e oxidação ou melhoramento da carga de compostos antioxidantes, mudança de pH, valores nutricionais) e fisiológicos (fotossíntese pós-colheita, respiração) distintos em diferentes alimentos, sendo dependentes de sua natureza e composição (alimentos frescos, processados, gordurosos, proteicos *etc.*) (Chen *et al.*, 2019).

Os desafios para o uso industrial do plasma frio incluem a necessidade de otimização ou padronização de tratamentos (propriedades dielétricas, configuração da câmara de tratamento, características do eletrodo), o esclarecimento sobre a toxicidade proveniente de alimentos tratados com o plasma, aprovação regulatória e aceitação do consumidor (Cullen *et al.*, 2017; Laroque *et al.*, 2022), além de minimizar a degradação da qualidade dos alimentos e garantir a inibição microbiana combinando o tratamento do plasma frio com outros tratamentos de descontaminação microbiana, visto que a eficácia do plasma frio melhora quando utilizado em combinação de métodos (Jeon *et al.*, 2022), como, por exemplo, o processamento térmico e a aplicação de produtos químicos antimicrobianos.

### **3.2.1 Mecanismo de geração do plasma frio**

A ionização do gás de formação, ou seja, a conversão de espécies neutras em elétrons e íons positivos, é a primeira reação química que deve ser levada em consideração (Fridman, 2008) no mecanismo de geração do plasma. Para ocorrer a ionização, é necessário que o gás passe por um processo de ruptura, que é descrito pela teoria de Townsend (Fridman, 2008; Misra *et al.*, 2016; Xiao, 2016). Ao aplicar uma alta diferença de potencial entre dois eletrodos separados por uma distância  $d$ , gera-se um campo elétrico com força

suficiente para induzir o processo de ionização, gerando inúmeros elétrons livres (Khani *et al.*, 2017).

A teoria de Townsend descreve que ao incidir uma tensão maior ou igual à tensão de ruptura de um gás, a energia cinética das moléculas aumenta, porém, ao invés de ocorrer o aumento da temperatura do volume de gás, os elétrons são os primeiros a absorver a energia proveniente do campo elétrico formado, devido à sua baixa massa e alta mobilidade (Fridman *et al.*, 2005). Em oposição ao campo elétrico, os elétrons são liberados da superfície do cátodo. À medida que a tensão aumenta, a corrente elétrica também aumenta, até atingir um ponto de saturação, onde os elétrons são acelerados para a direção do ânodo. Até este ponto, as colisões entre elétrons e espécies pesadas são elásticas, não sendo capazes de causar ionização ou excitação (Laroque *et al.*, 2022; Xiao, 2016). A partir do momento em que os elétrons adquirem certa energia, através de colisões inelásticas, eles transmitem energia para as espécies pesadas do gás de fundo (Bourig, 2009; Ragni *et al.*, 2010), fornecendo energia para ionização, excitação, dissociação e outros processos químicos (Fridman, 2008), aumentando exponencialmente a concentração de íons e elétrons no gás (Von Engel, 1994), formando corrente elétrica e avalanche de elétrons devido à migração dos portadores de carga (Laroque *et al.*, 2022). Haverá a ocorrência de sequenciais avalanches de elétrons devido ao movimento dos íons e suas colisões com o cátodo, emitindo elétrons secundários (Von Engel, 1994; Xiao, 2016), por consequência, acontece a ruptura dielétrica do gás, formando microcanais de descarga altamente condutores, os chamados *streamers* (Arpini, 2017).

Após a ruptura, em baixas pressões, poderá ocorrer o fenômeno luminoso de descarga incandescente (Misra *et al.*, 2016). Quando o ânodo captura elétrons, um volume de íons positivos se forma entre os eletrodos, assim, os íons se recombinaem com os elétrons livres e, por consequência, fótons são emitidos, causando a fotoionização do gás próximo e a geração de mais elétrons. Isto resulta em avalanches autossustentáveis que se juntam à avalanche principal, formando, então, um processo rápido e contínuo com formação de um canal altamente condutivo (Laroque *et al.*, 2022).

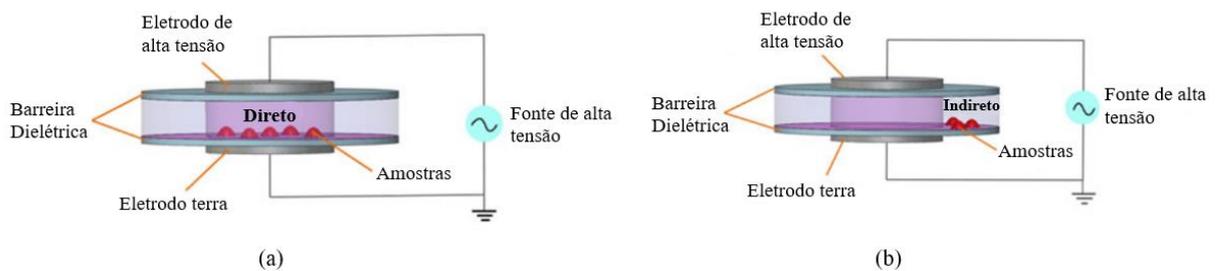
A ruptura dielétrica do gás submetido a uma diferença de potencial pode ser predita pela lei de Paschen (Garner *et al.*, 2020). A lei de Paschen afirma que a voltagem requerida para iniciar a ruptura dielétrica de um gás específico entre dois eletrodos é função do produto da pressão ( $p$ ) e distância entre os eletrodos ( $d$ ) (Misra *et al.*, 2016). Devido às poucas colisões que ocorrem em baixos valores do produto  $pd$ , a tensão de ruptura é grande, necessitando de maior energia para produzir plasma. Seguindo a mesma lógica, para valores do produto  $pd$  elevados,

devido às frequentes colisões que fazem com que as partículas percam energia rapidamente, é necessário aumentar a energia fornecida para alcançar a tensão de ruptura (Nehra *et al.*, 2008), portanto, um meio termo é requerido.

### 3.2.2 Descarga de barreira dielétrica

A descarga de barreira dielétrica (DBD) é um dos métodos mais comuns de descarga de alta tensão (Chen *et al.*, 2019) de corrente periódica (Bourig, 2009) para a formação de plasma à pressão atmosférica e temperatura ambiente (Arpini, 2017; Bourig, 2009). Consiste em um dispositivo de dois eletrodos condutores separados por uma distância  $d$ , geralmente alguns milímetros (Bourig, 2009), no qual uma camada dielétrica cobre um ou ambos os eletrodos (Ragni, 2010), limitando a corrente de condução e a transferência de carga (Misra *et al.*, 2016). A DBD é gerada em dispositivos de geometria plano-a-plano ou coaxial (Bourig, 2009), geralmente com frequências entre 0,05 e 500 kHz (Fridman, 2008; Moreau *et al.*, 2008), com amplitude de tensão oscilando entre 1 e 100 kV (Feizollahi *et al.*, 2020), e pode tratar as amostras direta ou indiretamente (Chen *et al.*, 2019), como ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Diagrama esquemático de (a) tratamento direto e (b) indireto com plasmas DBD em amostras sólidas.



Fonte: adaptado de Chen *et al.* (2019)

Sua geometria e configuração tem por objetivo evitar a formação de caminhos preferenciais das micro descargas e de formação de arco elétrico, que é sempre acompanhado por um superaquecimento local (Bourig, 2009).

A DBD é um dos métodos de formação de plasmas frios mais utilizados (Tendero *et al.*, 2006), devido a sua capacidade de trabalhar em uma ampla faixa de pressão (Misra *et al.*, 2016), voltagens e frequências, de utilizar várias fontes de gás, por obter um plasma

distribuído de forma mais homogênea, caracterizado por um grande número de microdescargas de curta duração (Chen *et al.*, 2019). Este dispositivo consegue combinar processos de ozonização, impacto de elétrons e fotólise ultravioleta (Arpini, 2017). Diante disso, tem grande potencial para ser comercializado na indústria alimentícia (Kogelschatz 2003).

A incandescência da DBD é resultante do fenômeno de colapso de Townsend, caracterizada pelo plasma difuso e homogêneo e pela presença de *streamers* que cobrem inteiramente a superfície do eletrodo (Gouda *et al.*, 1999).

O tratamento de alimentos embalados, com geração de plasma frio dentro da embalagem selada, é uma aplicação que abre muitas possibilidades para o sistema DBD. Esse procedimento prolonga o tempo de ação das espécies reativas sobre os microrganismos, evita a contaminação pós-processo (Laroque *et al.*, 2022), e a própria embalagem age como uma barreira dielétrica.

### 3.3 PLASMA FRIO: FERRAMENTA DE DESCONTAMINAÇÃO

Devido às diversas vantagens potenciais em relação aos métodos tradicionais de esterilização e inativação microbiana, incluindo baixo custo operacional de processo, curto tempo de tratamento a baixas temperaturas, redução significativa no consumo de água (Chiang *et al.*, 2010; Korachi *et al.*, 2010; Song *et al.*, 2009) e a aplicabilidade em uma gama de produtos alimentícios, o plasma não térmico em pressão atmosférica vem recebendo uma crescente atenção entre as tecnologias emergentes não térmicas avançadas (Misra *et al.*, 2016).

A maioria dos estudos referentes à redução da carga microbiana por plasma frio (não térmico) está relacionada à *Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *Escherichia coli*, e *Listeria monocytogenes*, os quais são os principais microrganismos patógenos responsáveis pela maioria dos surtos de origem alimentar (Misra *et al.*, 2019).

Devido à complexidade da composição das matrizes alimentícias, são necessários diversos ajustes em relação aos parâmetros de operação para garantir o sucesso da aplicação do plasma frio nos alimentos, assegurando sua descontaminação e minimizando impactos organolépticos e físico-químicos (Laroque *et al.*, 2022).

Em produtos alimentícios, o plasma frio pode ter efeito letal sobre microrganismos por exposição direta (causa danos ao DNA e à membrana celular) ou indireta (radicais, partículas carregadas e reativas do plasma reagem com a membrana celular) ao gás ionizado (Mandal *et al.*, 2018).

### 3.3.1 Mecanismo de inativação bacteriana

O efeito antimicrobiano do plasma frio é devido, principalmente, à ação isolada ou em combinação sinérgica (Laroussi e Leipold, 2004) de diversas espécies reativas, íons, elétrons, radicais livres e radiação UV formados no plasma (Laroque *et al.*, 2022; Ragni *et al.*, 2010), que atacam de várias formas as células microbianas (Misra *et al.*, 2016). A composição do plasma e, conseqüentemente, sua eficácia germicida, depende de diversos fatores, como: (i) a matriz alimentícia - pH, umidade, propriedades de superfície e relação superfície/volume (Liao *et al.*, 2017); (ii) parâmetros de operação (Misra *et al.*, 2017) - temperatura, umidade relativa do meio, tensão e frequência utilizada (Laroque *et al.*, 2022; Misra *et al.*, 2016), material e geometria dos eletrodos, barreira dielétrica (Olthoff *et al.*, 1995), composição e taxa de fluxo do gás de formação, *gap*, *headspace*; (iii) tempo de exposição do produto ao plasma (Feizollahi *et al.*, 2020; Liao *et al.*, 2017); (iv) uso de tratamento direto ou indireto (Misra *et al.*, 2016); (v) tamanho do reator de plasma (Laroque *et al.*, 2022); e (vi) tipo de microrganismo, sua contagem inicial e fase de crescimento (Amini e Ghoranneviss, 2016; Feizollahi *et al.*, 2020).

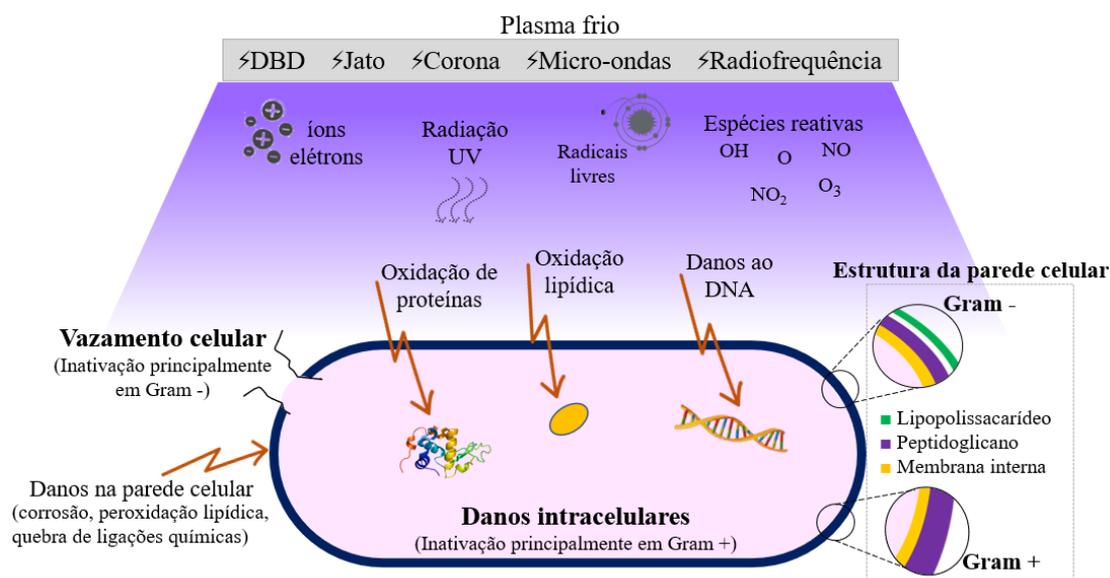
Devido às complexidades da química do plasma e dos sistemas microbianos, vários mecanismos de inativação bacteriana por plasma frio foram propostos, porém, ainda não estão totalmente elucidados e em concordância (Liao *et al.*, 2017). Segundo Deng *et al.* (2006), a inativação microbiana pode ser causada por cinco mecanismos físicos: a ação de espécies reativas, de partículas carregadas, fótons UV, campo elétrico e calor. De maneira geral, os microrganismos expostos ao plasma frio, devido à ação da radiação UV, partículas carregadas e das espécies reativas, são inibidos por danos oxidativos à membrana celular, clivagem de ligações peptídicas na estrutura celular e do DNA - retardando a replicação celular, vazamento de constituintes intracelulares (Adhikari *et al.*, 2020; Brun *et al.*, 2018), inativações enzimáticas, desnaturação proteica e oxidação de aminoácidos (Laroque *et al.*, 2022). Os radicais formados pela quebra das duplas ligações lipídicas insaturadas da membrana celular podem causar lesões na superfície celular, destruindo-as rapidamente (Misra *et al.*, 2011). A exposição à radiação UV pode causar modificações no DNA e falhas nas replicações celulares (Ragni *et al.*, 2010). Na exposição a campos elétricos intensos, a membrana celular da bactéria pode ser rompida devido à ação eletrostática (Misra *et al.*, 2017). Além disso, as partículas carregadas desempenham um papel importante na ruptura da membrana devido às forças eletrostáticas, além da inibição da respiração (Ragni *et al.*, 2010).

Ao utilizar o ar atmosférico como gás ionizante para a formação de plasma frio, formam-se espécies reativas do oxigênio e espécies reativas do nitrogênio, uma vez que a maior parte do ar é composta de nitrogênio e oxigênio (Khani *et al.*, 2017), além de radiação UV, íons energéticos e partículas carregadas (Cullen *et al.*, 2015), produzindo ataques aos componentes intracelulares e à parede celular microbiana, levando à ruptura celular e oxidação de peptidoglicanos ou lipopolissacarídeos (Gan *et al.*, 2021).

Dentre as espécies reativas do oxigênio comumente associadas à atividade antimicrobiana estão incluídos a formação de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), ozônio ( $O_3$ ) e os radicais ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroperóxil, alcóxil ( $RO^{\bullet}$ ), peroxy ( $RO_2^{\bullet}$ ), oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), hidroxila ( $^{\bullet}OH$ ), e ânion carbonato ( $CO_3^{\bullet-}$ ) (Misra *et al.*, 2017). As espécies reativas do oxigênio interagem de forma prejudicial com biomoléculas celulares vitais, como DNA, proteínas e enzimas na célula, podem alterar potencialmente a função das membranas biológicas por meio da interação com lipídios, causando a formação de peróxidos de ácidos graxos insaturados e oxidação dos aminoácidos das proteínas (Misra *et al.*, 2016). Dentre as espécies reativas do nitrogênio comumente associadas à atividade antimicrobiana estão incluídos a formação de óxido nítrico ( $NO^{\bullet}$ ), radical dióxido de nitrogênio ( $^{\bullet}NO_2$ ), peroxinitrito ( $ONO_2^-$ ), ácido peroxinitroso ( $OONO$ ) e alquilperoxinitrito ( $ROONO$ ) (Arjunan *et al.*, 2015).

Em relação à classificação Gram da bactéria, diferentes padrões de mecanismo de dano celular entre bactérias Gram-negativas (GN) e Gram-positivas (GP), como ilustrado na Figura 2, foram observados em estudos anteriores (Han *et al.*, 2014; Laroussi, *et al.*, 2003). Para as células GN, o ataque ao envelope celular é o principal alvo das espécies reativas do oxigênio (ERO) e da radiação UV, causando oxidação e danos irreversíveis à parede celular, bem como liberação de compostos intracelulares como proteínas, DNA e lipídios devido à ruptura celular. Por sua vez, para as células GP, os graves danos são intracelulares, porém, sem ruptura e vazamentos (Han *et al.*, 2016). Além disso, a interação das espécies reativas do oxigênio com o peptidoglicano da parede celular causa quebras de ligações estruturalmente importantes: C-O, C-N e C-C (Yusupov *et al.*, 2013; Yusupov *et al.*, 2012).

Figura 2 - Mecanismo de inativação de bactérias gram-negativas e gram-positivas utilizando plasma frio.



Fonte: adaptado de Laroque *et al.* (2022)

### 3.3.2 Descontaminação *in-package*

Dentre várias configurações possíveis de se utilizar o plasma frio, a abordagem comumente chamada *in-package* vem se destacando na indústria alimentícia. O termo *in-package* refere-se à tecnologia em que uma embalagem selada – de plástico ou ocasionalmente vidro (Moutiq *et al.*, 2020), contendo o produto alimentício destinado à descontaminação (Misra *et al.*, 2013) será submetido a uma diferença de potencial entre dois eletrodos e, conseqüentemente, o gás contido dentro da embalagem, podendo ser ar ou gás de atmosfera modificada, será ionizado, gerando micro descargas (Pankaj *et al.*, 2015), ou seja, haverá a formação de plasma dentro da própria embalagem (Lee *et al.*, 2020; Moutiq *et al.*, 2020).

Sendo assim, a ideia-chave deste processo baseia-se no fato de que as espécies ativas formadas se concentrarão dentro da embalagem primária selada, onde o plasma atuará como agente esterilizante e efetuará a inativação microbiana sem afetar a integridade dos materiais da embalagem (Misra *et al.*, 2019). Ademais, o próprio material polimérico da embalagem atua como uma barreira dielétrica (Kim, Bang, e Min, 2019; Misra *et al.*, 2015), permitindo a geração de uma descarga estável (Misra *et al.*, 2014).

Muitas das espécies do plasma têm um tempo de vida longo, variando de minutos a horas (Moiseev *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2018), além de uma alta difusividade, garantindo um

tratamento uniforme do produto (Moutiq *et al.*, 2020). No entanto, as espécies ativas eventualmente se recombinaem espontaneamente para formar o gás original, ou seja, o processo começa com uma composição gasosa conhecida e termina com essa mesma composição após o tempo necessário para a recombinação, eliminando efetivamente uma população significativa de microrganismos deteriorantes (Misra *et al.*, 2019) ou patógenos. O tempo de recombinação depende de alguns fatores, como: da energia das espécies, temperatura, pressão, tipo e volume da embalagem, presença de alimentos, umidade, luz e concentração inicial de cada espécie na embalagem (Attri *et al.*, 2015; Moiseev *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2018).

O tratamento de plasma frio *in-package* atraiu considerável atenção de pesquisa para sua possível aplicação na indústria de produção de alimentos (Kim *et al.*, 2019; Li e Farid, 2016; Min *et al.*, 2017; Pignata *et al.*, 2017), pois a geração de plasma dentro de uma embalagem selada permite: (i) evitar a contaminação pós-processamento do alimento já tratado (Feizollahi *et al.*, 2020; Li e Farid, 2016), (ii) ter a possibilidade de utilizar o ar como fonte de plasma, sendo considerada uma tecnologia econômica (Kang *et al.*, 2021), (iii) diminuir a carga microbiana do material da embalagem, (iv) utilizar uma variedade de materiais de embalagem (Pankaj *et al.*, 2014) e atmosferas de gás modificadas (Misra *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2017), (v) armazenar sob congelamento, refrigeração ou diretamente em condições de temperatura ambiente (Misra *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2017), (vi) aumentar a vida útil de alimentos (Min *et al.*, 2018) e (vii) descontaminação simultânea do alimento e embalagem, simplificando eficientemente o processo de produção (Misra *et al.*, 2019).

Há estudos que relatam que os sistemas de plasma *in-package* possuem grande êxito na inativação de uma ampla classe de patógenos e microrganismos deteriorantes em frutas, vegetais, laticínios, ovos, carne ou produtos à base de carne (Misra *et al.*, 2016).

Este processo destaca-se como uma forma de prevenção e proteção adicional da possibilidade de contaminação cruzada por trabalhadores, equipamentos ou outros fatores causados por eventuais falhas na segurança e higiene da linha de processamento.

A Tabela 1 apresenta um compilado de estudos reportados na literatura sobre a aplicação de plasma frio *in-package* em condições de pressão e temperatura ambientes.

Tabela 1 - Estudos da literatura sobre aplicação de plasma frio em alimentos embalados em condições ambientes.

| Amostra                                 | Embalagem          |                   | Reator CP                         | Condições de processo |                    |                  | RHA | Microrganismo | Inativação<br>(log UFC/g)  | Resultados relevantes   | Referência           |             |
|---|--------------------|-------------------|-----------------------------------|-----------------------|--------------------|------------------|-----|---------------|--|---|----------------------|-------------|
|   | Material           | Espessura<br>(mm) |                                   | Tempo<br>(min)        | Frequência<br>(Hz) | Voltagem<br>(kV) |     |               |  |   |                      | Gap<br>(cm) |
| Bolos coreanos de arroz cozidos a vapor | PEBD               | 70                |                                   | 3                     | -                  | 21               | 3,5 | -             | Mesófilos  | Sem alteração de cor e firmeza  | Kang et al. (2021)   |             |
|   | PP                 |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   | Nylon/PEBD fundido |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   | Nylon/PP fundido   |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
| Mix de vegetais (tomate uva)            | PEBD + nylon (3%)  | 50                | DBD (direto)                      | 3                     | 60                 | 28,2             | 6   | -             | <i>S. Montevideo</i><br><i>S. Enteritidis</i><br><i>S. Typhimurium</i> | -   | Kim et al. (2019)    |             |
|   | PEBD               |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   | PET                |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   | PP                 |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   |                    |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
| Tomate uva                              | PET                | -                 | Corona (adaptado de DBD - direto) | 3                     | 1000               | 35               | -   | 27            | <i>S. Anatum</i><br><i>S. Stanley</i><br><i>S. Enteritidis</i>         | Sem alteração de cor, firmeza, perda de peso, concentração de licopeno e ácido ascórbico residual | Min et al. (2018)    |             |
|   |                    |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
|   |                    |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
| Morangos                                |                    | 50                | DBD (indireto)                    | 5                     | 50                 | 60               | 4   | -             | Mesófilos<br><i>Lev. e bolores</i>                                     | Mudança de a cor e a firmeza insignificantes  | Misra et al. (2014a) |             |
|   |                    |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
| Peito de frango                         | PP                 | -                 | DBD (direto)                      | 5                     | 60                 | 100              | -   | -             | Mesófilos<br>Psicrotróficos<br><i>Enterobacteriaceae</i>               | Sem alteração significativa de cor, pH, CRA e oxidação lipídica                                   | Moutiq et al. (2020) |             |
|   |                    |                   |                                   |                       |                    |                  |     |               |  |   |                      |             |
| Frango assado                           |                    | 25                |                                   | 3                     | -                  | 70               | 8   | 2,68          | Microrganismos totais  | Sem alteração significativa de cor e pH   | Zhang et al. (2022)  |             |

Fonte: Autora (2023)

### 3.3.2.1 Influência da embalagem na eficiência e formação do plasma frio

A eficácia da inativação microbiana *in-package*, além de ser influenciada pela composição e quantidade de espécies reativas do plasma, bem como pelo contato entre as espécies reativas e os alimentos (Laroussi e Leipold, 2004), também é fortemente influenciada pelos parâmetros de embalagem, incluindo o material polimérico e espessura da embalagem, distância do eletrodo e da amostra (Kim *et al.*, 2019), formato da embalagem, presença ou ausência de embalagem secundária e pela proporção de volume do *headspace* e da amostra (Kang *et al.*, 2021).

Esta tecnologia tem sido estudada utilizando diversos materiais de embalagem, como, por exemplo, o polietileno de baixa densidade (PEBD), polietileno de alta densidade (PEAD), poliestireno (PS) (Keener *et al.*, 2011), polipropileno (PP), polietileno tereftalato (PET) e laminados com *nylon* (Kang *et al.*, 2021). A diferença na eficácia da inativação microbiana da amostra consequente do uso de diferentes materiais poliméricos da embalagem, pode ser explicada, em parte, pelas diferenças de permissividade dielétrica, as quais podem induzir diferentes níveis (Li *et al.*, 2007), homogeneidade e estabilidade das micro descargas, produzindo diferentes composições e quantidades de espécies reativas do plasma frio (Shuiliang *et al.*, 2016). Maiores permissividades dielétricas resultam em maiores micro descargas e mais espécies reativas no plasma, resultando em maior inativação. O efeito do material de embalagem na inativação microbiana também depende do tipo de microrganismo (Kim *et al.*, 2019).

Kim *et al.* (2019) investigaram como o material, formato da embalagem, composição do gás de formação, distância entre o eletrodo e a amostra, presença de embalagem secundária e a razão de volume entre *headspace* e amostra (RHA) afetavam na inativação de *Salmonella* Montevideo, *S. Enteritidis*, e *S. Typhimurium* por plasma frio *in-package* em uma mistura de vegetais (alface, repolho roxo, cenoura e tomate uva). A tensão aplicada foi de 28,2 kV e 60 Hz por 3 min, com tratamento direto, *gap* de 6 cm e em condições atmosféricas. Os autores observaram que a inativação do patógeno foi mais eficaz na embalagem composta por PEBD e *nylon* (3%) do que puramente PEBD, com uma inativação de  $2,3 \pm 0,1$  e  $1,8 \pm 0,3$  log UFC/tomate, respectivamente. A diferença na eficácia da inativação pode ser explicada pela diferença da permissividade dielétrica entre os diferentes materiais, que podem induzir diferentes níveis de microdescarga (Li *et al.*, 2007) e, portanto, diferentes quantidades de espécies reativas no plasma frio (Shuiliang *et al.*, 2016), na qual a maior permissividade

dielétrica do compósito com *nylon* (4,0–6,0) (Lampman, 2003) em relação ao PEBD (2,3) (Basri *et al.*, 2017) pode ter levado a maiores microdescargas e maior formação de espécies reativas no plasma, resultando em uma maior inativação. Os efeitos de RHA mostraram melhores resultados na inativação quando o *headspace* foi maior, ou seja, o aumento do volume da embalagem levou a um aumento do volume total de gás nela contida, produzindo, assim, uma maior quantidade de espécies reativas. A inativação para RHA de 43:1 e 30:1 foi de  $2,7 \pm 0,2$  e  $1,5 \pm 0,3$  log UFC/tomate, respectivamente. Uma maior inativação também foi observada no tratamento direto, em que o alimento foi posicionado entre os dois eletrodos, fazendo com que as espécies reativas de vida curta estejam mais disponíveis para a reagir com a amostra em comparação com o tratamento indireto, no qual a amostra foi posicionada fora da área dos eletrodos, fazendo com que as espécies reativas de vida curta fossem perdidas ou reagissem durante seu percurso ao alimento. A inativação pelo tratamento direto foi de  $3,8 \pm 0,4$  log UFC/tomate, enquanto para o tratamento indireto foi de  $1,5 \pm 0,3$  log UFC/tomate. Além disso, os autores reportaram que o uso de diferentes gases de formação não acarretaram em diferenças significativas na inativação microbiana.

Kang *et al.* (2021) avaliaram o efeito do material, formato e presença de embalagem secundária na inativação de bactérias aeróbicas mesófilas nativas por plasma *in-package* em bolos coreanos de arroz cozidos a vapor. A condição de processo foi de uma tensão aplicada de 21 kV por 3 min, com tratamento direto, *gap* de 3,5 cm e em condições atmosféricas. Os autores também reportaram que a laminação de PP ou PEBD com *nylon* aumentou a inativação microbiana em, pelo menos, 1,8 vezes, ou seja, os resultados sugeriram que materiais de embalagem com altos valores de permissividade dielétrica seriam mais eficazes como embalagens para alimentos a serem descontaminados pelo tratamento de plasma frio *in-package*.

Os autores também relatam que para uma embalagem primária de PET semirrígida, a presença de uma embalagem secundária reduziu o nível de inativação de  $1,2 \pm 0,1$  log UFC/g para  $0,75 \pm 0,05$  log UFC/g. Portanto, os autores sugerem que as amostras sejam embaladas apenas por uma única embalagem para passar pelo tratamento, e após, se necessário, embalar com um segundo material. Porém, caso a natureza da linha de produção exija a presença de uma embalagem secundária antes do tratamento por plasma frio, o espaço entre o primeiro e o segundo material de embalagem deve ser minimizado e, o material polimérico deve ser atenciosamente selecionado de acordo com a permissividade dielétrica de ambos os materiais de embalagem. O formato da embalagem também interferiu nos resultados da inativação

microbiana, visto que, as embalagens semirrígidas de PET têm contato mais uniforme com o eletrodo inferior, além de apresentar uma diferença de altura uniforme em relação ao eletrodo superior. Assim, as descargas elétricas ocorrem em uma área relativamente grande, produzindo maior quantidade de espécies reativas de plasma dentro da embalagem, alcançando maior inativação microbiana (Kim *et al.*, 2019).

Por questões de segurança e qualidade, é importante que a embalagem mantenha sua integridade e funcionalidade após o tratamento com o plasma. De forma geral, o tratamento por plasma frio *in-package* não altera significativamente a permeabilidade da embalagem em relação ao vapor de água, a taxa de transmissão de oxigênio, as propriedades de tração (Kang *et al.*, 2021) e a resistência dos materiais poliméricos (Puligundla *et al.*, 2016). Todavia, a avaliação de todas as possíveis alterações induzidas pelo plasma frio no material é necessária, principalmente os limites de migração de compostos ao alimento (Pankaj *et al.*, 2014).

### 3.4 CONTAMINAÇÃO EM PRODUTOS FATIADOS DO TIPO *READY-TO-EAT*

A preferência do consumidor por conveniência e praticidade faz com que os produtos fatiados prontos para o consumo (*ready-to-eat* - RTE) ganhem força no mercado. No entanto, este hábito de consumo implica no aumento de doenças transmitidas por alimentos (DTA), visto que esses produtos, após passarem pelo devido tratamento térmico na linha de produção, ainda são copiosamente manipulados, mantidos refrigerados por um longo período (Martins, 2009) e geralmente não são aquecidos pelo consumidor antes do consumo (Lis *et al.*, 2018).

Produtos alimentícios RTE contaminados, principalmente produtos cárneos e frutos do mar, são identificados como produtos de alto risco para a saúde humana (Misra *et al.*, 2016). A contaminação da superfície dos produtos prontos para o consumo pode ocorrer durante o pós-processamento, em virtude de diversas bactérias, inclusive a *Listeria monocytogenes*, que podem sobreviver no ambiente fabril por meses, podendo ser transferida para o produto por meio de contaminações cruzadas a partir de superfícies de equipamentos, como fatiadores (Rød *et al.*, 2012), utensílios e operadores.

Para controlar as contaminações pós-processamento de microrganismos na superfície de produtos já tratados, a indústria faz uso de diversos tratamentos, incluindo o processamento térmico, de alta pressão e aditivos antimicrobianos (Jiang *et al.*, 2015). No entanto, cada um desses processos tem suas desvantagens, por exemplo, os tratamentos térmicos podem

impactar negativamente a qualidade sensorial e nutricional dos produtos (Pietrasik *et al.*, 2012). Diante disso, a tecnologia de plasma frio *in-package* torna-se uma alternativa promissora para o controle de contaminação pós-processo.

Song *et al.* (2009) avaliaram a eficiência do plasma frio na inativação microbiana em queijo e presunto fatiado inoculados com três cepas de *L. monocytogenes*. Os testes foram realizados em diferentes potências de entrada (75, 100, 125 e 150 W) e tempos de exposição (60, 90 e 120 s), em condições atmosféricas. Os autores observaram que o plasma atmosférico reduziu significativamente a contagem de *L. monocytogenes* na superfície do presunto e queijo fatiado, porém, a eficácia da inativação foi influenciada pelo tempo de tratamento, potência e tipo de superfície do alimento. A redução microbiana aumentou com o aumento da potência de entrada e do tempo de exposição ao plasma. Além disso, a inativação microbiana da superfície do queijo foi muito maior que na do presunto, sendo associada à estrutura porosa do presunto, o qual pode possuir muitos locais de fixação e migração bacteriana, potencialmente protegendo as células da exposição ao plasma.

Nesse sentido, a hipótese do presente estudo foi que a aplicação de plasma frio em um presunto embalado e selado poderia potencializar o efeito do tratamento, uma vez que as espécies geradas teriam maior tempo para reagir com os microrganismos menos expostos. Além disso, a inserção de outra barreira dielétrica (no caso, a embalagem) poderia diminuir a potência, e, conseqüentemente, abrandar os efeitos do plasma frio nas propriedades organolépticas do produto.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 PREPARO DA AMOSTRA

Neste estudo, utilizou-se o presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.) de embalagem abre e fecha (Figura 3), adquirido em supermercados locais. O produto foi armazenado sob resfriamento a 4 °C antes dos testes. O material da tampa da embalagem é constituído por laminação de vários polímeros: PET (12 µm), PE (11 µm), adesivo de coextrusão (15 µm), PA (7 µm), EVOH (9 µm), PA (8 µm), adesivo de coextrusão (15 µm) e PE (11 µm). Por outro lado, a base (recipiente) é constituída por laminação dos seguintes polímeros: PET rígido (150 µm), PE (8 µm), adesivo de coextrusão (10 µm), PA (4 µm), EVOH (6 µm), PA (4 µm), adesivo de coextrusão (10 µm), e PE (9 µm). As dimensões de

largura, comprimento e profundidade da embalagem são de 149,90 mm, 248,65 mm e 17,10 mm, respectivamente.

Figura 3 - Embalagem do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.): vistas (a) frontal e (b) lateral.



Fonte: Autora (2023)

A Figura 4 mostra como o presunto encontrava-se arranjado originalmente dentro da embalagem.

Figura 4 - Arranjo original das fatias dentro da embalagem do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.).

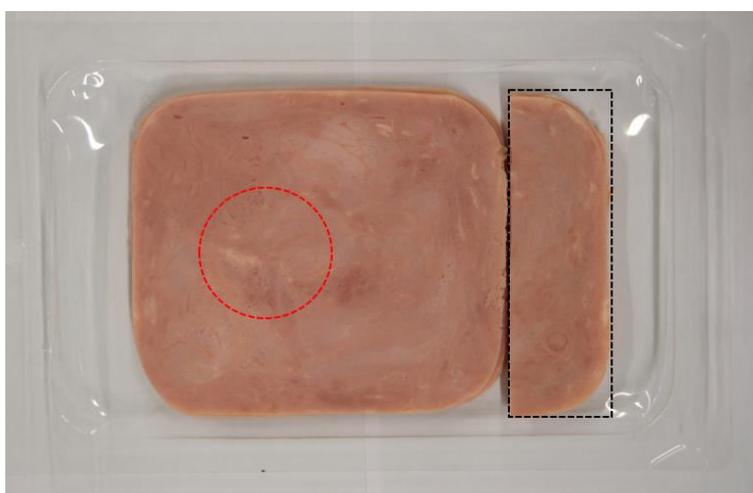


Fonte: Autora (2023)

Para uma melhor uniformidade da aplicação do plasma frio, as fatias de presunto foram organizadas dentro da embalagem, como apresentado na Figura 5. Para avaliar o tratamento

direto, utilizou-se cerca de 9 fatias inteiras do presunto, com dimensões aproximadas de 112,35 x 123,35 mm, e, para o tratamento indireto, utilizou-se  $\frac{1}{4}$  das fatias do presunto, com dimensões aproximadas de 112,35 x 30,84 mm, ambos com espessura padronizada em  $9,08 \pm 0,27$  mm. O excesso de líquido dentro da embalagem foi removido com papel toalha. Após, as embalagens foram fechadas com auxílio de fita dupla face com cuidado para que a tampa da embalagem não encostasse no presunto.

Figura 5 - Arranjo padronizado dentro da embalagem das fatias do presunto cozido fatiado Soltíssimo (Sadia, BRF S.A.) para os tratamentos direto (círculo vermelho) e indireto



Fonte: Autora (2023)

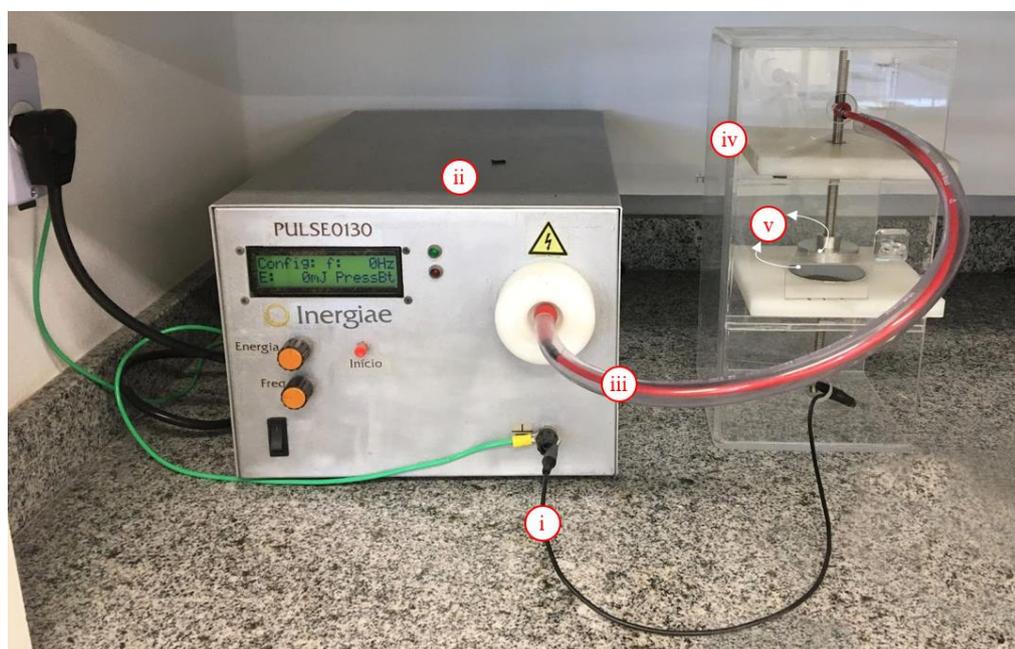
#### 4.2 REATOR DBD DE PLASMA FRIO

Para a aplicação do plasma frio, utilizou-se um reator de descarga de barreira dielétrica (DBD), desenvolvido no Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos (PROFI, UFSC). O reator DBD, ilustrado na Figura 6, consiste num sistema composto por uma fonte de alta tensão e 2 eletrodos circulares de aço inoxidável paralelos em uma caixa de acrílico com 16,4 cm de largura e 33,3 cm de altura. Os eletrodos são fixados em chapas de poliacetal que se encaixam na caixa de acrílico. O eletrodo superior de 50,9 mm de diâmetro é fixado pelo sistema de roscas, que permite a regulagem da distância entre os eletrodos. O eletrodo inferior de 64,50 mm de diâmetro é acoplado dentro da chapa de poliacetal, a fim de evitar caminhos preferenciais que possam levar à formação de arco elétrico.

A fonte utilizada é de alta tensão pulsada negativa, modelo Pulse 0130 da empresa Inergiae, para gerar a descarga elétrica. Essa fonte é capaz de gerar pulsos energéticos com

um máximo de 0,2 J de energia, resultando em tensões de saída de até 32 kV com uma frequência máxima de 1000 Hz. A taxa de repetição desses pulsos pode chegar a 500 Hz, o que se traduz em uma potência de saída de até 100 W. A operação dessa fonte se baseia no princípio de acumulação e descarga de energia. É possível controlar a tensão e a frequência utilizando um potenciômetro de múltiplas voltas, e monitorar a energia de saída e a temperatura interna da fonte por meio do painel de exibição da fonte (Müller, 2019).

Figura 6 - Reator de descarga de barreira dielétrica (Inergiae, Pulse 0130, Brasil): (i) fio terra, (ii) fonte de alta tensão, (iii) fio de alta tensão, (iv) caixa de acrílico e (v) eletrodos.

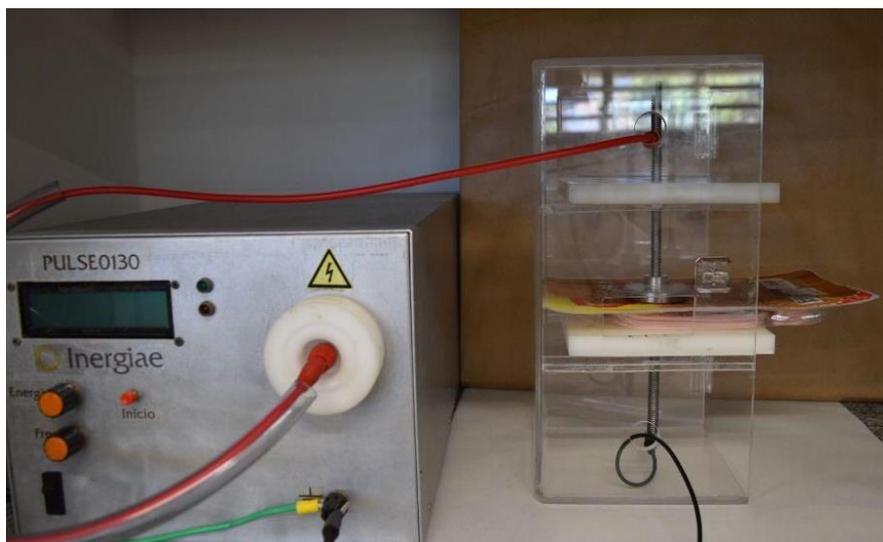


Fonte: Autora (2023)

#### 4.3 APLICAÇÃO DE PLASMA FRIO DBD NAS EMBALAGENS DE PRESUNTO FATIADO

A embalagem fechada com o presunto fatiado foi posicionada entre os eletrodos, dentro do aparato de acrílico, de tal forma que a embalagem ficasse completamente encostada nos eletrodos, com uma distância de  $3,92 \pm 0,27$  mm da amostra em relação ao eletrodo superior (Figura 7).

Figura 7 - Posicionamento da embalagem de presunto no reator de plasma frio DBD.



Fonte: Autora (2023)

Primeiramente, foi realizada uma varredura de distância dos eletrodos, tensão e frequência em que era possível visualizar o plasma dentro da embalagem de presunto. Sendo selecionado uma distância e duas condições de tensão e frequência do plasma frio para a realização dos experimentos.

Os experimentos foram realizados em condições ambientes de umidade relativa e temperatura do ar de  $62,2 \pm 7,7\%$  e  $23,3 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente.

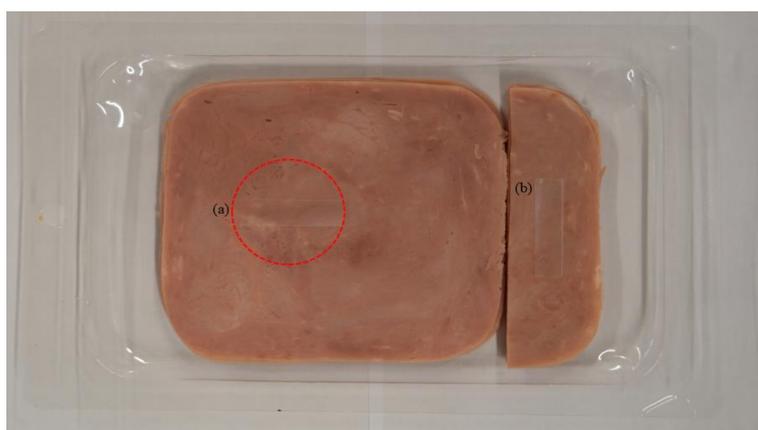
#### 4.4 AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO DENTRO DA EMBALAGEM DE PRESUNTO

Estudos relatam que as partículas energéticas geradas durante o tratamento por plasma frio em polímeros destroem as ligações entre as cadeias poliméricas na superfície de um filme plástico, aumentando a rugosidade da superfície do filme por meio da corrosão (Chen *et al.*, 2020; Pankaj *et al.*, 2014) e aumentam a hidrofiliabilidade da superfície (Müller, *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2015). Dessa forma, este fenômeno pode ser utilizado como forma de verificação da formação de plasma frio dentro da embalagem, comparando a hidrofiliabilidade anterior e posterior do polímero à exposição ao tratamento.

#### 4.4.1 Análise do ângulo de contato

A fim de confirmar a formação do plasma dentro da embalagem, foi analisada a alteração do ângulo de contato do polímero PEBD de 100  $\mu\text{m}$  de espessura com água destilada, em temperatura ambiente, em função do tempo de tratamento. A amostra do polímero foi padronizada em um retângulo com dimensões de 38 x 9 mm, colocado sobre o presunto na parte do tratamento direto, de modo que ficasse centralizada entre os eletrodos, e outra amostra sobre o tratamento indireto (Figura 8). A embalagem foi fechada e submetida ao tratamento, em duplicatas independentes de amostra, em tempos de até 240 s (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 210, e 240 s), e para cada tempo de tratamento foram realizadas 3 medições em cada amostra de polímero.

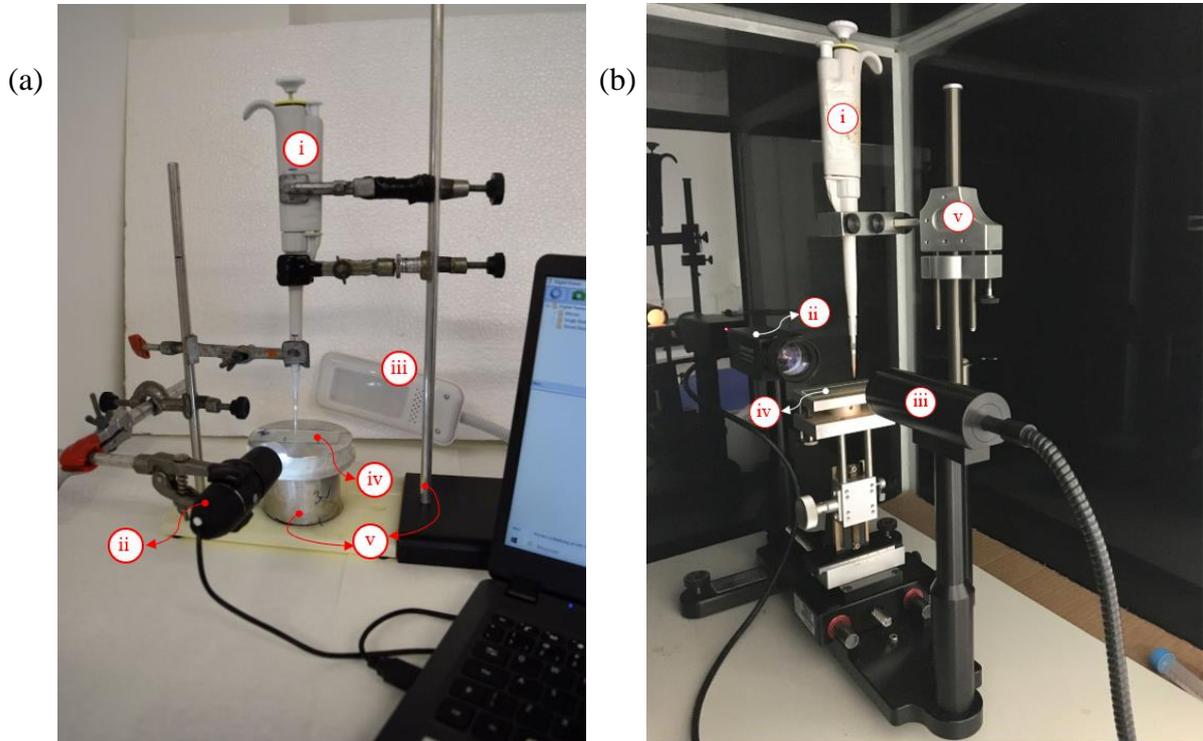
Figura 8 - Posicionamento do polímero sobre o presunto para a análise do ângulo de contato por tratamento (a) direto e (b) indireto. O círculo vermelho representa a posição do eletrodo.



Fonte: Autora (2023)

Para a análise do ângulo de contato, foi construído um aparato, ilustrado na Figura 9a, com o mesmo princípio de um goniômetro (Figura 9b). O aparato consiste em suportes, micropipeta, lâmpada LED, lâmina de vidro e um microscópio digital USB de resolução 640 x 480.

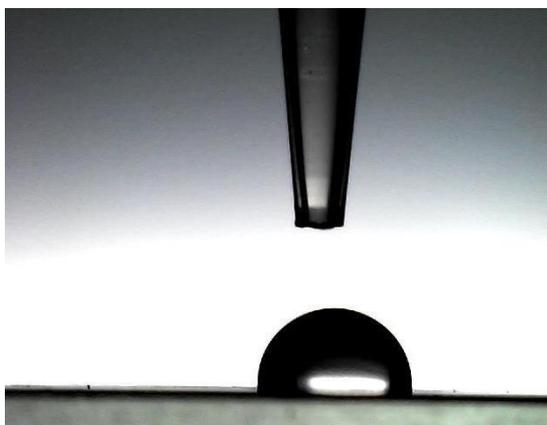
Figura 9 - (a) Aparato construído para medição do ângulo de contato e (b) goniômetro (Ramé-Hart Inst. Co., 250-F1, USA): (i) micropipeta, (ii) microscópio digital, (iii) lâmpada LED, (iv) lâmina de vidro e (v) suportes.



Fonte: Autora (2023)

O polímero previamente higienizado com álcool etílico hidratado 70%, seco com papel higiênico macio, seguido, ou não, pelo tratamento por plasma frio, foi fixado em uma lâmina de vidro com fita dupla face, e então levado ao aparato para fotografar com o microscópio digital a gota proveniente da micropipeta (Figura 10). A micropipeta teve sua gota padronizada em  $5 \mu\text{L}$ , através da calibração com balança analítica.

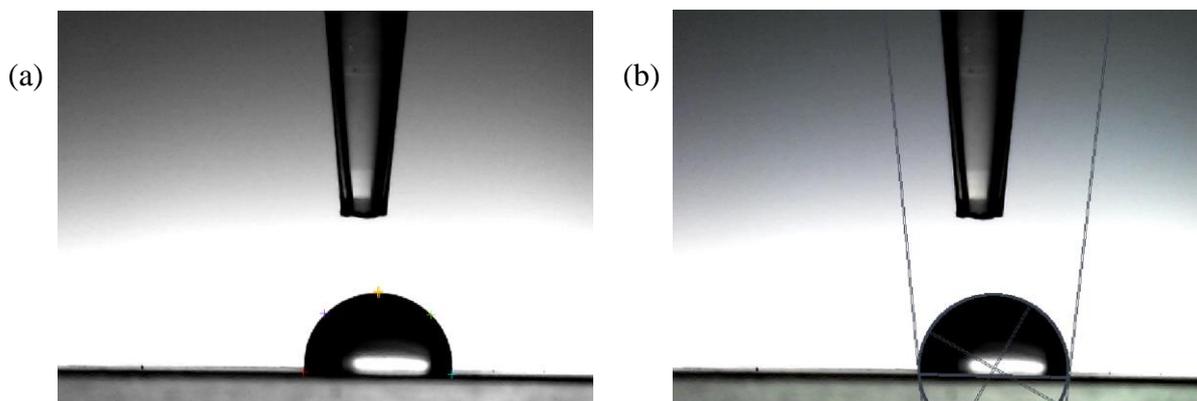
Figura 10 - Fotografia obtida no aparato construído da gota de 5  $\mu\text{L}$  formada sobre a superfície do polímero.



Fonte: Autora (2023)

Após a obtenção das fotografias, estas foram salvas e analisadas pelo *software* ImageJ v. 1.53t (*National Institutes of Health, USA*) para a obtenção do valor do ângulo de contato da gota com a superfície do polímero por meio do *plug-in contact angle* (Figura 11).

Figura 11 - Tratamento da imagem pelo *plug-in contact angle* do aplicativo ImageJ v. 1.53t: (a) seleção manual dos pontos nas extremidades da gota e (b) formação, pelo software, da elipse que passa pelos pontos.



Fonte: Autora (2023)

Para a validação da exatidão do aparato construído, primeiramente, as imagens obtidas no goniômetro foram tratadas no *software* DROPImage Advanced e no *software* ImageJ para comparação dos valores do ângulo de contato. Em seguida, o valor do ângulo de contato inicial do polímero (sem tratamento) determinado por meio do aparato foi comparado com os

resultados obtidos no goniômetro, utilizando-se o *software* ImageJ para o tratamento das imagens obtidas em ambos os equipamentos.

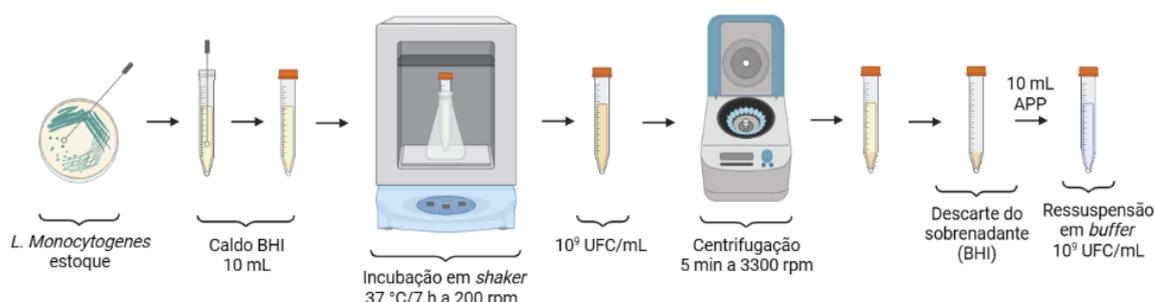
#### 4.5 TESTE DE INATIVAÇÃO MICROBIOLÓGICA

O microrganismo utilizado para os testes de inativação através da aplicação de plasma frio *in-package* no presunto fatiado e no ágar PCA (*Plate Count Agar*) foi a *Listeria monocytogenes* (CCT 7474), a qual foi isolada de salsichas no Laboratório da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (FEA, UNICAMP), adquirida na forma liofilizada da Coleção de Culturas Tropicais (Fundação André Tosello).

##### 4.5.1 Inóculo

A preparação do inóculo foi realizada por meio da incubação de uma unidade formadora de colônia (UFC), retirada com auxílio de uma alça bacteriológica de uma cepa estoque de *L. monocytogenes*, em estufa tipo *shaker* (Tecnal, TE-4200, Brasil), adicionada em 10 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) em tubo Falcon estéril descartável, mantido sob agitação constante de 210 rpm a 37 °C durante 7 h. O tempo de incubação foi previamente definido de forma que a concentração final das células ficasse em 10<sup>9</sup> UFC/mL, que corresponde ao início da fase estacionária de crescimento da *L. monocytogenes* (Massia, 2022). Após o tempo de incubação, o inóculo foi submetido à centrifugação durante 5 min a uma rotação de 3300 rpm, a fim de separar as células do caldo BHI. O caldo BHI (sobrenadante) foi descartado e as células foram ressuspensas em 10 mL de *buffer* (Figura 12), continuando com a concentração do inóculo em 10<sup>9</sup> UFC/mL.

Figura 12 - Preparo do inóculo de *L. monocytogenes*.



Fonte: Autora (2023)

## 4.5.2 Inoculação

### 4.5.2.1 Inoculação no presunto

A conformação e espessura do presunto fatiado dentro da embalagem para o tratamento direto e indireto de plasma frio foi a mesma já descrita no item 4.1. Para a análise da inativação da *L. monocytogenes*, foram adicionados 30  $\mu$ L do inóculo na concentração  $10^9$  UFC/mL tanto na parte direta quanto na indireta (Figura 13). Após a embalagem ser selada com fita dupla face, esta foi submetida ao tratamento com plasma frio (Figura 7). As condições de tratamento por plasma frio foram definidas com base na visualização do plasma frio formado e nos resultados obtidos na análise do ângulo de contato, sendo selecionadas duas condições de frequência e tensão e dois tempos de tratamento.

Para avaliação do efeito antimicrobiano das espécies reativas geradas no plasma frio dentro da embalagem, amostras foram separadas em 3 grupos: o 1º foi imediatamente submetido a rinsagem após a aplicação do plasma; o 2º, a rinsagem foi realizada após 30 min do tratamento; e o 3º, as amostras foram armazenadas em BOD a 4 °C por 5 dias e então realizada a rinsagem.

Figura 13 - Procedimento para a inoculação de *L. monocytogenes* no presunto fatiado para o tratamento (a) direto e (b) indireto. As áreas inoculadas são representadas pelo círculo e retângulo em vermelho.



Fonte: Autora (2023)

#### 4.5.2.2 Inoculação no ágar PCA

Para o teste de inativação microbiológica no ágar, a conformação do presunto fatiado dentro da embalagem para o tratamento direto e indireto foi a mesma já descrita no item 4.1, porém, foram retiradas algumas fatias de presunto de tal forma que, ao incluir o ágar (este retirado de uma placa de Petri de 90 mm de diâmetro), a espessura total (presunto + ágar) ficasse na espessura de, aproximadamente, 9 mm (Figura 14), ou seja, na mesma espessura definida para os outros testes já descritos, a fim de minimizar as perturbações e mudanças no sistema.

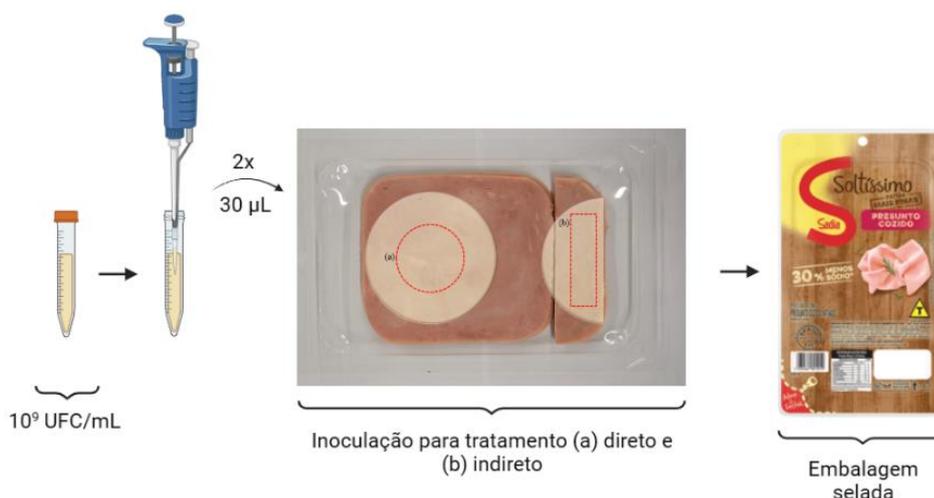
Figura 14 - Conformação para os testes de inativação de *L. monocytogenes* no ágar PCA.



Fonte: Autora (2023)

Para a análise da inativação da *L. monocytogenes*, foram inoculados 30  $\mu\text{L}$  do inóculo na concentração  $10^9$  UFC/mL no ágar, tanto na parte do tratamento direto - de modo que a inoculação ficasse dentro da área de cobertura do eletrodo superior - quanto no indireto (Figura 15), obtendo amostras com aproximadamente  $10^7$  UFC/amostra. Por fim, após a embalagem ser fechada com fita dupla face, esta foi submetida ao tratamento com plasma frio (Figura 7).

Figura 15 - Procedimento para a inoculação de *L. monocytogenes* no ágar PCA para o tratamento (a) direto e (b) indireto. As áreas inoculadas são representadas pelo círculo e retângulo em vermelho.



Fonte: Autora (2023)

Para avaliação do efeito antimicrobiano das espécies reativas geradas no plasma frio dentro da embalagem, as amostras foram também separadas em 3 grupos: o 1º foi imediatamente submetido a rinsagem após o tratamento com plasma; o 2º, a rinsagem foi realizada após 30 min do tratamento; e o 3º, as amostras foram armazenadas em BOD a 4 °C por 5 dias e então realizada a rinsagem.

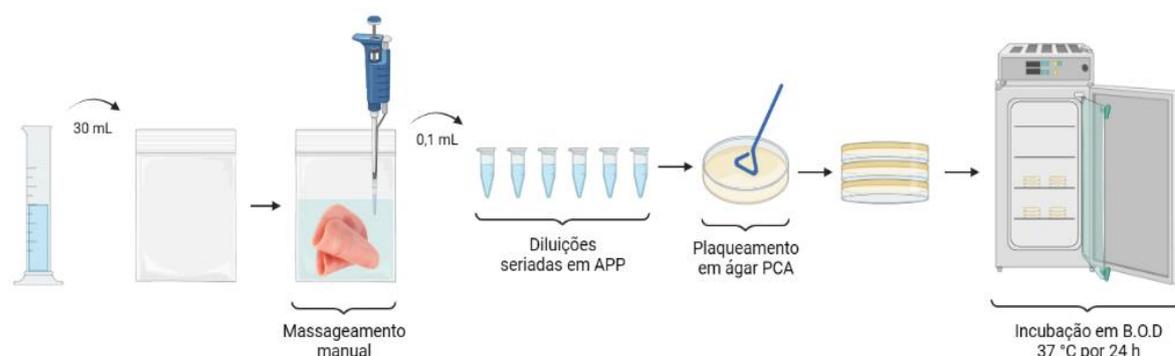
#### 4.5.3 Enumeração de células microbianas

A enumeração de células microbianas nas amostras teve início com a adição de 2 fatias de presunto ou do ágar em sacos para coleta de amostra estéril, e diluição em 30 mL de água peptonada 1%. As amostras foram massageadas manualmente até sua total desintegração, obtendo-se a primeira diluição. Em seguida, foi realizada diluição seriada, no qual 0,1 mL da diluição da amostra foi adicionada em microtubos Eppendorf com 0,9 mL de água peptonada 1%. Posteriormente, 0,1 mL de cada diluição foi adicionado na superfície de PCA em placas de Petri de 90 mm de diâmetro, descartáveis e estéreis, espalhadas com alça Drigalski estéril descartável. Para cada amostra, foram plaqueadas de 2 a 4 diluições. As placas invertidas foram incubadas em BOD a 37 °C por 24 h (Figura 16). Por fim, foram contadas as UFC resultantes, e os resultados foram expressos em log UFC/amostra. Este procedimento foi

realizado tanto para a parte que recebeu o tratamento por plasma frio direto como para o indireto. Como controle, foram utilizadas amostras sem tratamento. Também foram realizadas rinsagens de amostras sem inóculo e sem tratamento (branco), para confirmação que o presunto não apresentava contaminação, e que toda a contagem bacteriana era proveniente da inoculação da *L. monocytogenes*.

Para o cálculo da concentração microbiana após o tratamento (N), a contagem de UFC foi multiplicada pelo inverso das diluições. Os resultados foram expressos em  $\text{Log}(N_0/N)$ , em que  $N_0$  é a concentração microbiana inicial.

Figura 16 - Procedimento para a rinsagem de *L. monocytogenes* no presunto fatiado.



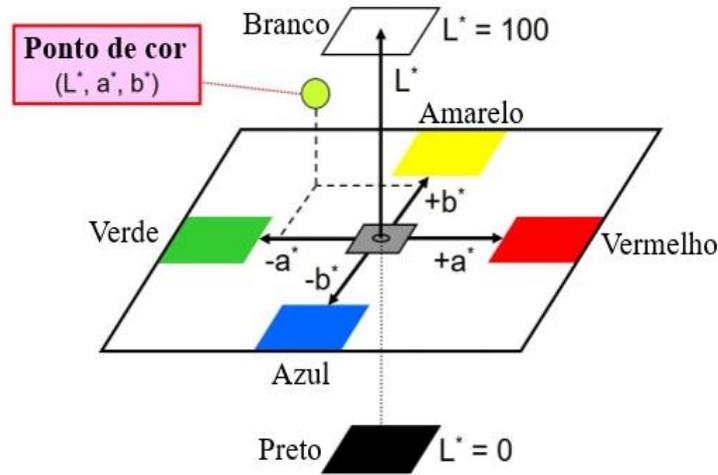
Fonte: Autora (2023)

## 4.6 TESTES DE QUALIDADE

### 4.6.1 Cor

A avaliação da cor do presunto foi realizada com um colorímetro (Delta Color, Delta Vista, Brasil), por meio do qual foi possível obter os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  do espaço de cor CIELab definidos pela CIE (*Commision Internationale de L'Èclairage*) (CIE, 1978). O parâmetro  $L^*$  varia do preto ao branco, o parâmetro  $a^*$  varia do verde ao vermelho e o parâmetro  $b^*$  varia do azul ao amarelo (Figura 17).

Figura 17 - Diagrama do espaço de cor CIELab.



Fonte: adaptado de Beetsma (2020)

A diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) foi determinada a partir da Equação 1, assumindo como referência a cor do presunto antes do tratamento com plasma frio.

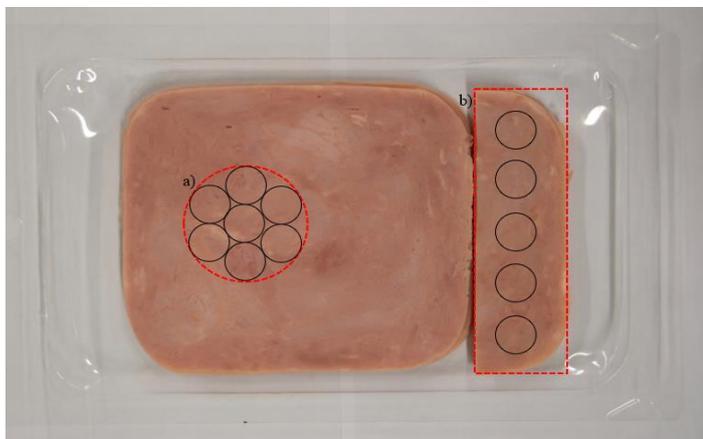
$$\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L_{Ref}^*)^2 + (a^* - a_{Ref}^*)^2 + (b^* - b_{Ref}^*)^2} \quad (1)$$

A distribuição e coleta de dados de coloração foi feita conforme a Figura 18, no qual, na parte do tratamento direto, foram realizadas 7 medições e, do indireto, 5 medições. A análise foi realizada em duplicata.

#### 4.6.2 pH

O pH do presunto antes e após o tratamento por plasma frio foi avaliado usando um medidor portátil de pH de superfícies (Akso, AK103, Taiwan). As medições foram realizadas conforme apresentado na Figura 18, no qual, na parte do tratamento direto, foram realizadas 7 medições e, do indireto, 5 medições. A análise foi realizada em duplicata.

Figura 18 - (a) Tratamento direto/área de cobertura do eletrodo superior, (b) região de análise do tratamento indireto e (○) regiões de leitura de cor e pH no presunto.



Fonte: Autora (2023)

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados de cor, pH e do ângulo de contato foram tratados estatisticamente utilizando o *software* Statistica 13.5.0.17 (TIBCO, USA), por meio da análise de variância (ANOVA). A comparação das médias das análises foi realizada pelo teste de Tukey, com nível de confiança de 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

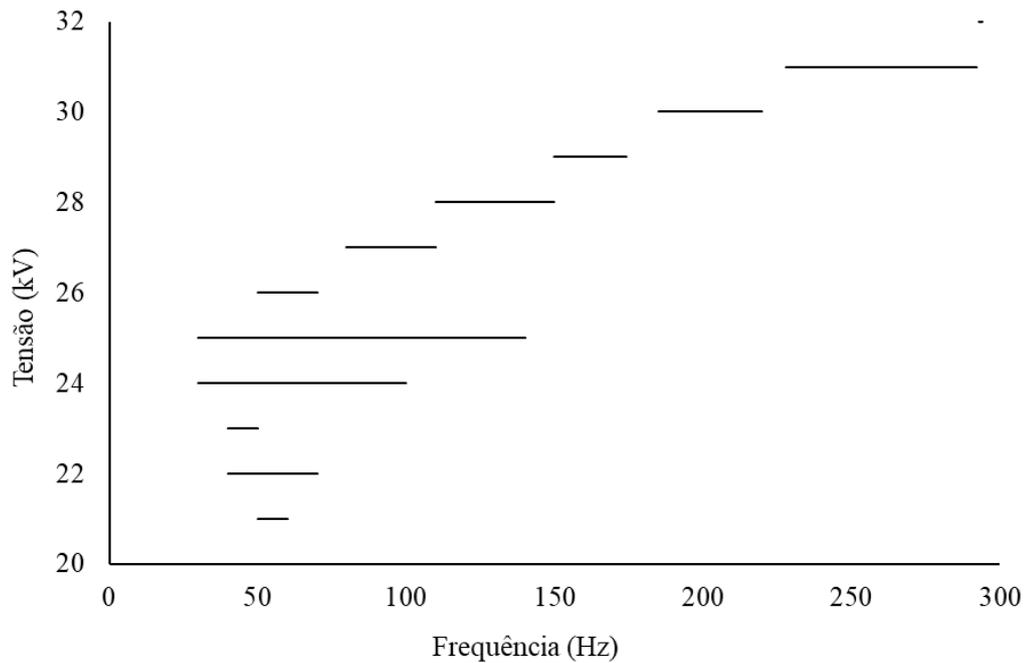
### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO DO PLASMA FRIO: TENSÃO E FREQUÊNCIA

Com o objetivo de determinar os parâmetros operacionais necessários para a geração de um plasma frio visualmente estável e uniforme, foram realizados testes em duas etapas. Na primeira etapa, alterou-se a distância entre os eletrodos superior e inferior, com o propósito de garantir a ocorrência de descargas elétricas em toda a circunferência do eletrodo superior dentro da embalagem. Como resultado, a distância entre os eletrodos foi padronizada em 13 mm, de tal maneira que a parte superior e inferior da embalagem ficasse em contato com os eletrodos. Em seguida, para cada tensão de pico (kV), foram analisados os intervalos de frequência (Hz), no qual a presença de plasma foi visualmente detectada dentro da embalagem. A Figura 19 apresenta o intervalo dos parâmetros de tensão e frequência nos quais

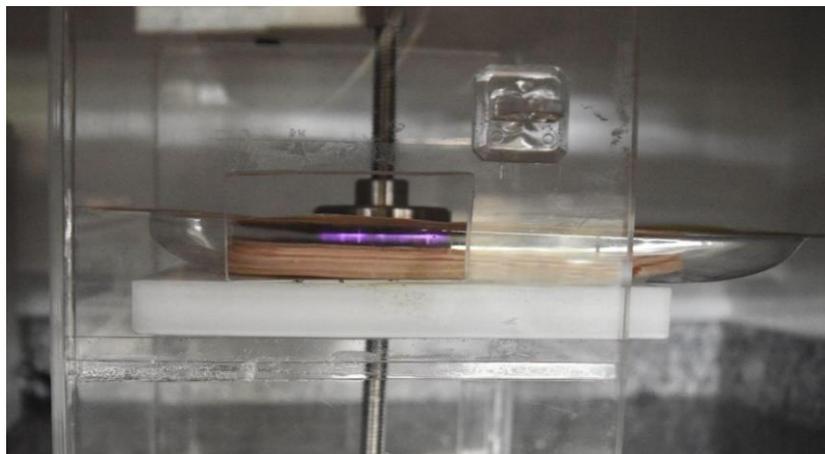
foram observadas descargas de plasma frio uniformes e estáveis dentro da embalagem (Figura 20).

Figura 19 - Faixas de frequência em diferentes tensões para geração de plasma frio visualmente uniforme e estável dentro da embalagem de presunto, com distância entre os eletrodos de 13 mm e à pressão atmosférica.



Fonte: Autora (2023)

Figura 20 - Formação de plasma frio (descarga violeta) estável e uniforme dentro da embalagem.



Fonte: Autora (2023)

Como consequência, duas condições de operação do plasma frio foram selecionadas para estudo: 23 kV em 45 Hz e 28 kV em 120 Hz.

## 5.2 VALIDAÇÃO DO APARATO CONSTRUÍDO PARA MEDIÇÃO DO ÂNGULO DE CONTATO

A comparação dos resultados do ângulo de contato das imagens obtidas e tratadas no *software* DROPimage Advanced do goniômetro com o *software* ImageJ apresentaram erros menores que 1,4%. Além disso, a média dos valores do ângulo de contato inicial do polímero (sem tratamento), determinado por meio do aparato construído (Figura 9a), comparada com o goniômetro (Figura 9b), apresentou um erro máximo de 4,8%. Portanto, a exatidão do aparato foi confirmada e seus resultados são considerados equivalentes aos resultados do goniômetro. Dessa forma, o aparato construído para medir o ângulo de contato pode ser uma alternativa ao goniômetro de forma efetiva, simples e viável, necessitando de acessórios de fácil acesso e relativamente baratos.

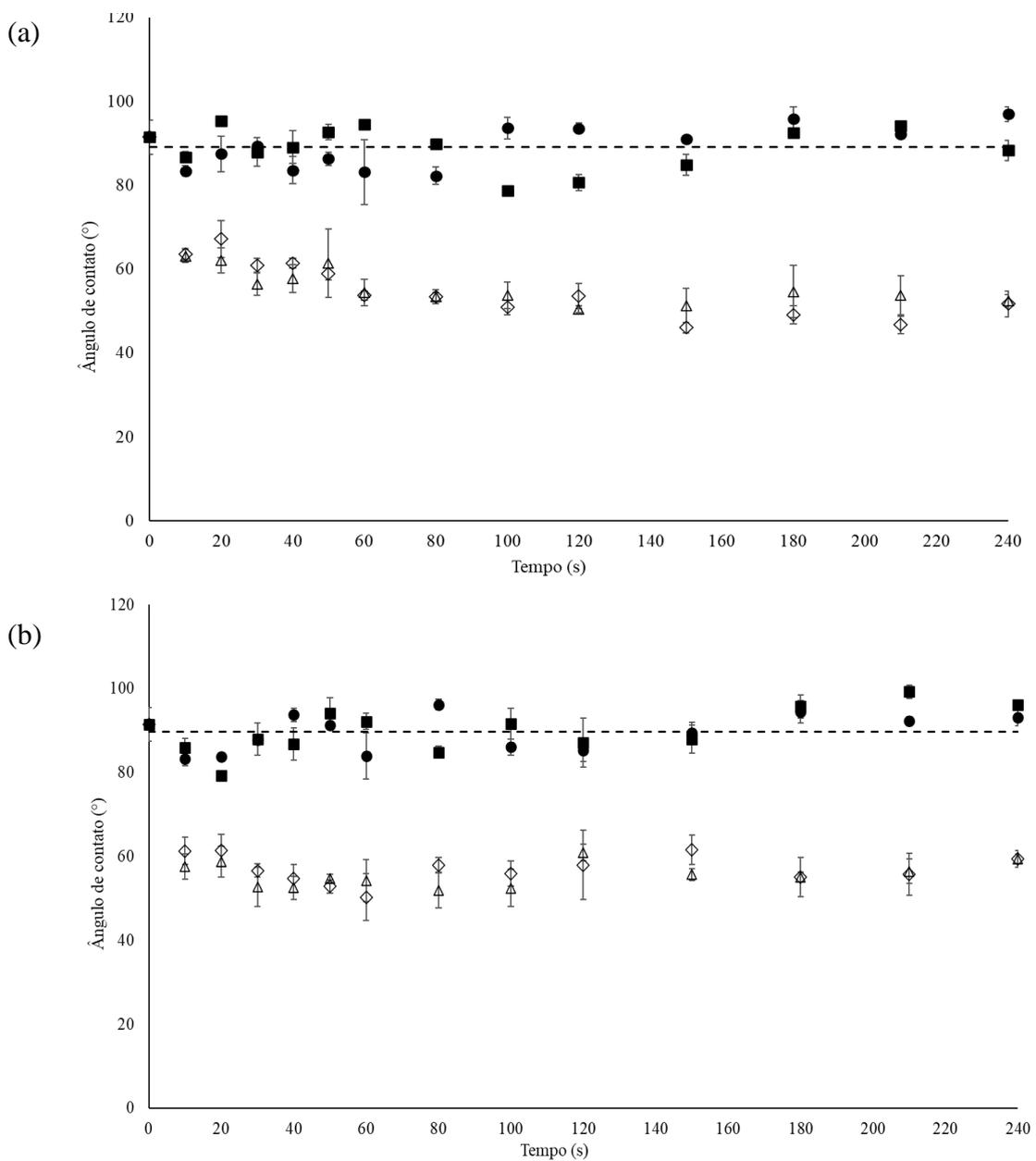
## 5.3 AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PLASMA FRIO DENTRO DA EMBALAGEM DE PRESUNTO FATIADO POR ÂNGULO DE CONTATO

A análise da mudança do ângulo de contato do polímero tem por objetivo confirmar a formação do plasma frio dentro da embalagem, ou seja, é um método indicativo de que o presunto receberia a descarga do plasma, e, conseqüentemente, reagiria com as espécies reativas formadas, podendo prosseguir para os testes de inativação microbiológica.

As análises da alteração do ângulo de contato da gota de água com o polímero foram realizadas nas duas condições definidas do plasma frio (23 kV/45 Hz e 28 kV/120 Hz), para o tratamento direto e indireto. O ângulo de contato inicial do polímero (sem tratamento) foi de  $91,44 \pm 4,05^\circ$ . Observa-se na Figura 21, que em ambas as condições, o tratamento indireto não acarretou em alterações significativas no ângulo de contato ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, no tratamento direto, as mudanças foram significativas ( $p \leq 0,05$ ), e, em 10 s de tratamento, o ângulo de contato diminuiu para  $63,33 \pm 0,28^\circ$  e  $59,43 \pm 2,59^\circ$  na condição 23 kV/45 Hz (Figura 21a) e 28 kV/120 Hz (Figura 21b), respectivamente. O menor valor do ângulo de contato (aproximadamente,  $53^\circ$ ) foi obtido em 30 s de tratamento para as duas condições de operação estudadas, permanecendo praticamente constante até os 4 min de tratamento. A

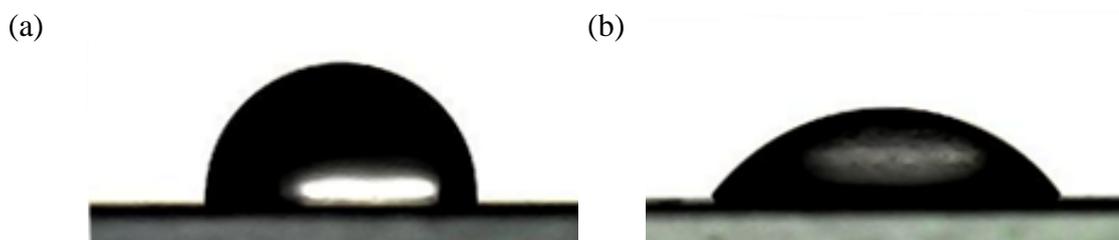
variação visual do ângulo de contato pode ser observada na Figura 22. Os desvios encontrados nos dados experimentais podem ser explicados pelo ruído do próprio método de análise e pela variação natural do ângulo de contato inicial do próprio polímero.

Figura 21 - Média e desvio padrão das duplicatas experimentais da evolução temporal dos valores do ângulo de contato do polímero dentro da embalagem de presunto submetidos ao tratamento por plasma frio na condição de tratamento de (a) 23 kV/45 Hz e (b) 28 kV/120 Hz: Tratamento direto ( $\triangle$  cinética 1 e  $\diamond$  cinética 2); Tratamento indireto ( $\blacksquare$  cinética 1 e  $\bullet$  cinética 2); - - - média do tratamento indireto.



Fonte: Autora (2023)

Figura 22 - (a) Ângulo de contato inicial do polímero e (b) ângulo de contato após aplicação do plasma frio durante 4 min na condição de 28 kV/120 Hz.



Fonte: Autora (2023)

Müller *et al.* (2022) avaliaram a mudança de ângulo de contato do PEBD linear com água, usando o mesmo reator de plasma frio DBD deste estudo, nas condições de operação de 32 kV/132 Hz, com distância entre os eletrodos de 5 mm, e tempo de tratamento de 120 s de forma direta e sem inserção de outra barreira dielétrica entre o polímero e os eletrodos, identificando uma redução do ângulo de contato de  $95,79 \pm 0,63^\circ$  para  $48,41 \pm 1,27^\circ$ .

Pankaj *et al.* (2015) avaliaram a mudança do ângulo de contato da água em um filme de gelatina bovina após tratamento com plasma frio DBD. Os autores reportaram uma redução máxima do ângulo de contato de  $126,27 \pm 0,39^\circ$  para  $28,10 \pm 0,34^\circ$  sob condição de 80 kV/50 Hz em 5 min de tratamento.

A inalteração do ângulo de contato do tratamento indireto pode indicar a necessidade de uma ação mais intensa (maior concentração de espécies reativas formadas) ou a incidência direta das microdescargas do plasma frio para que haja mudança no ângulo de contato, ou seja, é um indício de que as espécies reativas formadas não foram capazes de alterar ou danificar a superfície do polímero, ou ainda, não havia espécies reativas suficientes para causar essas alterações.

A alteração do ângulo de contato no polímero depositado sobre o presunto embalado, mesmo que apenas na parte de incidência direta do plasma frio, comprova que há a formação de plasma frio dentro da embalagem e sobre o presunto fatiado. Dessa forma, a técnica de medição de ângulo de contato de uma amostra de polímero pode ser um método simples, rápido, de baixo custo e eficiente para confirmar a formação de plasma dentro de uma embalagem fechada.

## 5.4 INATIVAÇÃO MICROBIANA

### 5.4.1 Inativação microbiana no presunto

As condições de tratamento direto e indireto (tensão, frequência, tempo de tratamento e tempo de espera para rinsagem) das amostras de presunto para os experimentos de inativação da *L. monocytogenes* estão descritas na Tabela 2, as quais foram definidas com base nos resultados de formação visual do plasma frio e do ângulo de contato.

Tabela 2 - Condições de tratamento de plasma frio e tempo de espera para a rinsagem do presunto fatiado embalado.

| Condição     | Tempo de tratamento (s) | Rinsagem após aplicação do plasma frio |
|--------------|-------------------------|--|
| 23 kV/45 Hz  | 10                      | Imediata<br>Após 5 dias                |
|              | 240                     | Imediata<br>Após 30 min<br>Após 5 dias |
| 28 kV/120 Hz | 10                      | Imediata<br>Após 5 dias                |
|              | 240                     | Imediata<br>Após 30 min<br>Após 5 dias |

Fonte: Autora (2023)

Embora o ângulo de contato do polímero tenha sido alterado pelo plasma frio no tratamento direto, indicando a formação de plasma dentro da embalagem, observou-se que nas condições estudadas, não houve inativação bacteriana na superfície do presunto fatiado logo após a aplicação do plasma frio (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentração e redução de *L. monocytogenes* no presunto embalado para os tratamentos diretos e indiretos com plasma frio.

| Condição | Tempo de tratamento (s) | Rinsagem    | Sem tratamento (log UFC/amostra) | Tratamento Direto              |                                | Tratamento Indireto            |                                |
|----------|-------------------------|-------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|          |                         |             |                                  | Concentração (log UFC/amostra) | Redução (logN <sub>0</sub> /N) | Concentração (log UFC/amostra) | Redução (logN <sub>0</sub> /N) |
| 23 kV    | 10                      | Imediata    | 7,80 ± 0,05                      | 7,70 ± 0,11                    | 0,10 ± 0,08                    | 7,78 ± 0,09                    | 0,06 ± 0,05                    |
|          |                         | Após 5 dias | 9,42 ± 0,25                      | 9,07 ± 0,41                    | 0,35 ± 0,41                    | 9,19 ± 0,28                    | 0,23 ± 0,28                    |
| 45 Hz    | 240                     | Imediata    | 7,80 ± 0,05                      | 7,73 ± 0,13                    | 0,07 ± 0,14                    | 7,82 ± 0,11                    | 0,02 ± 0,08                    |
|          |                         | Após 30 min | 7,80 ± 0,05                      | 7,81 ± 0,10                    | 0,02 ± 0,10                    | 7,86 ± 0,11                    | 0,03 ± 0,07                    |
|          |                         | Após 5 dias | 9,42 ± 0,25                      | 8,67 ± 0,29                    | 0,74 ± 0,29                    | 9,13 ± 0,01                    | 0,29 ± 0,28                    |
| 28 kV    | 10                      | Imediata    | 7,80 ± 0,05                      | 7,77 ± 0,24                    | 0,03 ± 0,24                    | 7,78 ± 0,16                    | 0,06 ± 0,10                    |
|          |                         | Após 5 dias | 9,42 ± 0,25                      | 9,32 ± 0,03                    | 0,10 ± 0,03                    | 9,36 ± 0,14                    | 0,06 ± 0,14                    |
| 120 Hz   | 240                     | Imediata    | 7,80 ± 0,05                      | 7,65 ± 0,25                    | 0,15 ± 0,23                    | 7,69 ± 0,09                    | 0,15 ± 0,11                    |
|          |                         | Após 30 min | 7,80 ± 0,05                      | 7,70 ± 0,20                    | 0,13 ± 0,20                    | 7,97 ± 0,12                    | -0,07 ± 0,12                   |
|          |                         | Após 5 dias | 9,42 ± 0,25                      | 8,91 ± 0,34                    | 0,51 ± 0,34                    | 9,35 ± 0,18                    | 0,07 ± 0,18                    |

Fonte: Autora (2023)

Song *et al.* (2009) observaram uma redução de *L. monocytogenes* de até 1,73 log UFC/g na superfície do presunto (não fatiado) por plasma frio direto (150 W/2 min) imediatamente após a aplicação. Essa diferença entre os resultados dos trabalhos pode ser explicada devido a duas hipóteses: (1) no presente trabalho, o presunto utilizado era fatiado, ou seja, o processo de fatiamento do presunto pode causar a formação de inúmeras ranhuras, estrias e poros, e, visto que o presunto já é uma matriz alimentícia porosa, a proteção das células bacterianas à exposição ao plasma pode ter sido intensificada; e (2) no estudo de Song *et al.* (2009), não havia barreiras entre o presunto e o eletrodo superior, assim, a inserção de uma barreira dielétrica (a própria embalagem), como no presente estudo, pode afetar a eficiência do plasma formado.

Kim *et al.* (2019) reportaram um aumento significativo na redução de *Salmonella* em tomate uva com o aumento do RHA, atribuído ao aumento do volume total de gás dentro da embalagem, que leva à produção de maiores quantidades de espécies reativas, ou seja, seus resultados sugerem que o aumento no volume total de gás aumenta a eficácia da inativação microbiana em alimentos embalados. Portanto, o espaço livre dentro da embalagem do presunto, utilizado no presente estudo, pode não ter sido grande suficiente para a produção de espécies reativas necessárias para inativar a *L. monocytogenes* no presunto, de forma imediata.

O tempo de contato prolongado (5 dias de armazenamento a 4 °C) entre as espécies reativas e o presunto resultou em uma inativação de até  $0,74 \pm 0,29$  log pelo tratamento direto. Segundo Ziuzina *et al.* (2014), o armazenamento prolongado pode promover a ação prolongada das espécies reativas do plasma sobre as células bacterianas devido ao confinamento das espécies reativas geradas dentro da embalagem, potencializando a difusão de espécies longevas na matriz alimentar e nas células bacterianas, iniciando reações em cadeia nas células bacterianas, levando a danos celulares. Dessa forma, ao longo do armazenamento de produtos tratados por plasma frio pode ocorrer a diminuição bacteriana, aumentando a segurança do alimento.

#### **5.4.2 Inativação microbiana no ágar PCA**

Os experimentos de inativação de *L. monocytogenes* em ágar PCA sobre o presunto em embalagem fechada teve como objetivo simular o tratamento com o presunto, em uma superfície mais lisa, sem porosidade, e, dessa forma, verificar a influência da rugosidade da superfície na inativação bacteriana.

As condições de tratamento direto e indireto (tensão, frequência, tempo de tratamento e tempo de espera para rinsagem) das amostras de ágar PCA para as análises de inativação da *L. monocytogenes* estão descritas na Tabela 4, as quais foram definidas a partir dos resultados obtidos na inativação no presunto embalado (item 5.4.1).

Tabela 4 - Condições de tratamento e tempo de espera para a rinsagem do ágar PCA.

| Condição     | Tempo de tratamento (s) | Rinsagem após aplicação do plasma frio |
|--------------|-------------------------|--|
| 23 kV/45 Hz  | 10                      | Imediata                               |
|              | 240                     | Imediata<br>Após 30 min                |
| 28 kV/120 Hz | 10                      | Imediata                               |
|              | 240                     | Imediata<br>Após 30 min<br>Após 5 dias |

Fonte: Autora (2023)

Para as duas condições de operação do plasma frio (23 kV/45 Hz e 28 kV/120 Hz) houve inativação da *L. monocytogenes* para as amostras tratadas por 4 min de forma direta (Tabela 5). As amostras tratadas por apenas 10 s e as amostras tratadas indiretamente não apresentaram redução na contagem da bactéria. Além disso, o tempo prolongado de contato das espécies reativas do plasma com a amostra, nas condições de processo testadas, não influenciou na redução microbiana.

Tabela 5 - Resultados da redução de *L. monocytogenes* no ágar PCA para 4 min de tratamento direto com plasma frio.

| Condição | Tempo de tratamento (s) | Rinsagem    | Sem tratamento (log UFC/amostra) | Tratamento Direto              |                                | Tratamento Indireto            |                                |
|----------|-------------------------|-------------|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|          |                         |             |                                  | Concentração (log UFC/amostra) | Redução (logN <sub>0</sub> /N) | Concentração (log UFC/amostra) | Redução (logN <sub>0</sub> /N) |
| 23 kV    | 10                      | Imediata    | 7,67 ± 0,10                      | 7,36 ± 0,19                    | 0,31 ± 0,16                    | 7,51 ± 0,08                    | 0,08 ± 0,08                    |
|          |                         | Imediata    |                                  | 6,56 ± 0,49                    | 1,14 ± 0,43                    | 7,64 ± 0,06                    | -0,05 ± 0,06                   |
| 45 Hz    | 240                     | Após 30 min |                                  | 6,23 ± 0,32                    | 1,44 ± 0,36                    | 7,61 ± 0,08                    | -0,02 ± 0,08                   |
|          |                         | Imediata    |                                  | 7,32 ± 0,13                    | 0,32 ± 0,18                    | 7,49 ± 0,32                    | 0,10 ± 0,32                    |
| 28 kV    | 10                      | Imediata    |                                  | 6,18 ± 0,36                    | 1,49 ± 0,47                    | 7,49 ± 0,15                    | 0,10 ± 0,15                    |
|          |                         | Imediata    |                                  | 7,11 ± 0,59                    | 1,10 ± 0,19                    | 7,67 ± 0,24                    | -0,07 ± 0,24                   |
| 120 Hz   | 240                     | Após 30 min | 9,70 ± 0,18                      | 8,29 ± 0,04                    | 1,40 ± 0,08                    | 9,62 ± 0,02                    | 0,04 ± 0,02                    |
|          |                         | Após 5 dias |                                  |                                |                                |                                |                                |

Fonte: Autora (2023)

Kim *et al.* (2019) reportaram uma diferença na inativação de *Salmonella* por tratamento direto e indireto do plasma frio (28,2 kV/3 min) *in-package* de tomates uvas, obtendo uma inativação de  $3,8 \pm 0,4$  e  $1,5 \pm 0,3$  log UFC/amostra para o tratamento direto e indireto, respectivamente. Essa diferença é explicada pelo fato de que, quando tratadas indiretamente, as partículas carregadas e as espécies transitórias de vida curta formadas pelo plasma não afetam a amostra sob tratamento, pois recombina-se antes de alcançá-la, deixando apenas as espécies reativas estáveis para atuar nas amostras (Misra *et al.*, 2013). Além disso, no tratamento direto, há incidência da radiação UV. Portanto, a não redução da contagem microbiana no presente estudo, na parte de tratamento indireto da amostra, pode ser explicado pelas espécies reativas de vida curta que possam ter sido perdidas ou reagiram em seu caminho para o alimento posicionado longe dos eletrodos. Além disso, a produção de espécies reativas pode não ter sido suficiente por conta da RHA.

A maior inativação de *L. monocytogenes* no ágar PCA (superfície lisa sem porosidade) em relação ao presunto fatiado (superfície extremamente porosa com ranhuras), submetidos às mesmas condições de tratamento com plasma frio, comprova que a eficácia germicida do plasma frio é dependente das características superficiais da matriz alimentícia submetida ao tratamento.

## 5.5 TESTES DE QUALIDADE

### 5.5.1 Cor

Dentre todos os critérios de qualidade, a cor é um indicador significativo de frescor e qualidade (Yadav *et al.*, 2019) e agradabilidade (Akhtar *et al.*, 2022). Além disso, a cor da carne e de produtos cárneos tem um impacto direto na aceitação e na preferência do consumidor durante a compra (Jayasena *et al.*, 2015). Métodos térmicos de descontaminação geralmente alteram as características sensoriais dos produtos. Portanto, o plasma frio, como uma tecnologia não-térmica de descontaminação, pode ajudar a manter a qualidade sensorial dos alimentos. Dessa forma, o objetivo da análise é determinar se o tratamento com plasma frio altera a coloração original do presunto.

Os parâmetros de cor do presunto fatiado submetido ao tratamento por plasma frio foram avaliados nas condições de operação de 23 kV/45 Hz e 28 kV/120 Hz, ambas análises em duplicatas, analisando a coloração inicial do presunto e após 4 min de tratamento, tanto da parte de tratamento direto quanto indireto (Tabela 6).

Tabela 6 - Média e desvio padrão dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) e diferença total de cor ( $\Delta E^*$ ) do presunto fatiado antes e após 4 min de tratamento por plasma frio nas amostras embaladas.

| Condição     |          | $L^*$               | $a^*$              | $b^*$              | $\Delta E^*$      |      |
|--------------|----------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------|
| 23 kV 45 Hz  | Direto   | Antes do tratamento | $56,35 \pm 0,92^a$ | $11,16 \pm 0,34^a$ | $6,41 \pm 0,83^a$ | 0,80 |
|              |          | Após o tratamento   | $56,35 \pm 0,79^a$ | $10,40 \pm 0,29^b$ | $6,66 \pm 0,93^a$ |      |
|              | Indireto | Antes do tratamento | $55,53 \pm 1,87^a$ | $11,16 \pm 0,75^a$ | $6,60 \pm 0,67^a$ | 1,01 |
|              |          | Após o tratamento   | $56,21 \pm 0,92^a$ | $10,75 \pm 0,36^a$ | $6,41 \pm 0,39^a$ |      |
| 28 kV 120 Hz | Direto   | Antes do tratamento | $55,54 \pm 2,20^a$ | $11,04 \pm 0,79^a$ | $5,21 \pm 0,77^a$ | 1,28 |
|              |          | Após o tratamento   | $54,74 \pm 2,15^a$ | $10,22 \pm 0,86^a$ | $5,80 \pm 0,91^a$ |      |
|              | Indireto | Antes do tratamento | $55,76 \pm 1,45^a$ | $10,95 \pm 0,85^a$ | $6,61 \pm 1,27^a$ | 0,60 |
|              |          | Após o tratamento   | $55,49 \pm 1,69^a$ | $10,54 \pm 0,70^a$ | $6,27 \pm 1,10^a$ |      |

Nota: médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras antes e após o tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: Autora (2023)

Os resultados demonstram que, para a condição de 23 kV/45 Hz, as mudanças nos parâmetros  $L^*$  e  $b^*$  não foram significantes ( $p > 0,05$ ), porém, a mudança no parâmetro  $a^*$  foi significativa ( $p \leq 0,05$ ), com uma pequena diminuição em relação ao parâmetro inicial, ou seja, as amostras tenderam a se afastar da coloração vermelha. Yadav *et al.* (2019) observaram semelhante comportamento para o tratamento de presunto com plasma frio DBD (28 kV/180 s). O decaimento do valor  $a^*$ , em amostras de carne tratadas com plasma frio DBD, pode ser explicado pela formação de metamioglobina durante o tratamento (Jayasena *et al.*, 2015). De acordo com Frohling *et al.* (2012), durante o tratamento da carne com plasma, produz-se peróxido de hidrogênio, dessa forma, a cor verde (valores negativos de  $a^*$ ) das carnes tratadas com plasma frio pode ser intensificada devido à reação entre o peróxido de hidrogênio e a mioglobina. Para a condição de 28 kV/120 Hz, por sua vez, as mudanças nos parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  não foram significativas ( $p > 0,05$ ).

Cserhalmi *et al.* (2006) relataram que a mudança de cor pode ser avaliada, de acordo com o valor de  $\Delta E^*$ , como não perceptível (0-0,5), levemente perceptível (0,5-1,5), perceptível (1,5-3,0), visível (3,0-6,0) e claramente visível (6,0-12,0) pelos consumidores. Assim, segundo este critério de avaliação, a alteração de cor ( $\Delta E^*$ ) do presunto pelo plasma frio pode ser considerada levemente perceptível pelos consumidores, para as duas condições de operação e para os tratamentos direto e indireto.

### 5.5.2 pH

O pH do presunto fatiado antes e após o tratamento de 4 min por plasma frio, nas condições de operação de 23 kV/45 Hz e de 28 kV/120 Hz, foi avaliado (Tabela 7). Observa-se que, para todas as condições de operação, exceto para o tratamento direto da condição 28 kV/120 Hz, as mudanças no pH da amostra não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Enquanto no tratamento direto, para a condição de 28 kV/120 Hz, apresentou uma pequena diminuição do pH, de  $6,19 \pm 0,04$  para  $6,04 \pm 0,09$ . A diminuição do pH após o tratamento com plasma frio pode ser atribuída às moléculas acidogênicas, como  $\text{NO}_x$ , que normalmente são geradas pelo plasma frio atmosférico (Stoffels *et al.*, 2008), à formação de ácidos, como os ácidos nítrico e nitroso, durante a interação do plasma frio com líquidos (Oehmigen *et al.*, 2010) ou até devido à dissociação de  $\text{H}^+$  das moléculas bacterianas (Korachi *et al.*, 2010).

Tabela 7 - Média e desvio padrão do pH do presunto fatiado embalado, antes e após 4 min de tratamento por plasma frio.

| Condição     |          | Antes do tratamento      | Após o tratamento        |
|--------------|----------|--------------------------|--------------------------|
| 23 kV 45 Hz  | Direto   | 6,18 ± 0,03 <sup>a</sup> | 6,17 ± 0,03 <sup>a</sup> |
|              | Indireto | 6,20 ± 0,03 <sup>a</sup> | 6,21 ± 0,01 <sup>a</sup> |
| 28 kV 120 Hz | Direto   | 6,19 ± 0,04 <sup>a</sup> | 6,04 ± 0,09 <sup>b</sup> |
|              | Indireto | 6,20 ± 0,03 <sup>a</sup> | 6,20 ± 0,02 <sup>a</sup> |

Nota: médias seguidas por letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras antes e após o tratamento, de acordo com o teste de Tukey.

Fonte: Autora (2023)

Moutiq *et al.* (2020) não observaram mudanças no pH de peito de frango tratados com plasma frio (100 kV/60 Hz/5 min), enquanto, Kim *et al.* (2013) observaram uma diminuição significativa após o tratamento com plasma frio DBD (3 kV/30 kHz/10 min) em lombo de porco.

## 6 CONCLUSÃO

A partir deste trabalho foi possível formar plasma frio, utilizando um reator DBD, com descargas homogêneas e estáveis dentro de uma embalagem de presunto fatiado. Através do aparato construído, que teve sua exatidão confirmada ao compará-lo com o goniômetro, foi possível comprovar a formação do plasma frio dentro da embalagem e sobre o presunto a partir dos experimentos do ângulo de contato de forma eficaz, reprodutível e acessível.

O tratamento por plasma frio não resultou na inativação da *L. monocytogenes* no presunto fatiado e embalado logo após o tratamento e com 30 min de contato com as espécies reativas, enquanto que no ágar sobre o presunto embalado, a redução máxima de *L. monocytogenes* foi de até  $1,49 \pm 0,47$  log. Portanto, dada a complexidade da composição das matrizes alimentícias, é inegável de que o plasma frio é uma tecnologia altamente seletiva quanto à matriz alimentícia, visto que, como observado neste estudo, superfícies porosas dificultam a exposição das células bacterianas ao plasma frio e às espécies reativas formadas, enquanto superfícies lisas obtêm mais sucesso na inativação microbiana. Além disso, o tratamento indireto não apresentou efeito na inibição da bactéria. Por outro lado, a exposição prolongada às espécies reativas na embalagem fechada, armazenada sob refrigeração por 5 dias, resultou em uma redução de até  $0,74 \pm 0,29$  log na condição de 23 kV/45 Hz/4 min.

O tratamento por até 4 min com o plasma frio não apresentou efeitos negativos na cor e no pH do produto. As alterações observadas foram sutis e provavelmente não seriam perceptíveis aos consumidores.

Portanto, os resultados obtidos neste estudo sugerem que a formação de plasma frio dentro de uma embalagem pode ser um método inovador, efetivo e viável para a garantia da segurança microbiológica de alimentos, desde que sejam consideradas as condições adequadas de processo, parâmetros operacionais e as propriedades singulares da matriz alimentícia.

Visando uma futura implementação prática dessa tecnologia em escala industrial, como uma tecnologia sustentável, a grande sensibilidade do método em relação aos parâmetros de processo e aos alimentos, faz com que demais estudos sejam imprescindíveis, a fim de assegurar a eficácia antimicrobiana do plasma frio, a qualidade dos alimentos e a segurança dos consumidores, reduzindo os riscos de doenças transmitidas por alimentos, e, além disso, para que requisitos regulatórios sejam aprovados.

Dessa forma, com o objetivo de melhorar a compreensão dos fenômenos envolvidos na aplicação do plasma frio em produtos embalados, possíveis direções para pesquisas futuras são: (i) estudar a inativação microbiológica em alimentos com diferentes rugosidades superficiais, como queijo e mortadela; (ii) analisar a influência da RHA dentro da embalagem; (iii) testar diferentes materiais de embalagem; (iv) comparar os resultados com o tratamento em alimento não embalado; (v) analisar a formação das espécies reativas dentro da embalagem por espectrometria de absorção e emissão óptica e relacionar com a alteração do ângulo de contato de um polímero sobre o alimento; (vi) estudar a cinética de crescimento/redução da bactéria no presunto após a aplicação do plasma frio em diferentes temperaturas de armazenamento; e (vii) testar diferentes gases de formação do plasma frio atmosférico.

## REFERÊNCIAS

- ABD ALLAH, Z.; WHITEHEAD, J. C.; MARTIN, P. Remediation of Dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) Using Non-thermal, Atmospheric Pressure Plasma Generated in a Packed-Bed Reactor. *Environmental Science & Technology*, v. 48, n. 1, p. 558-565, 2014. ISSN 0013-936X 1520-5851.
- ADHIKARI, Bhawana; PANGOMM, Kamonporn; VEERANA, Mayura; MITRA, Sarmistha; PARK, Gyungsoon. Plant Disease Control by Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 11, 14 fev. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2020.00077>.
- AKHTAR, Javeed *et al.* Cold plasma technology: fundamentals and effect on quality of meat and its products. **Food And Agricultural Immunology**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 451-478, 5 jul. 2022. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09540105.2022.2095987>.
- AMINI, Maryam; GHORANNEVISS, Mahmood. Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. **Lwt**, [S.L.], v. 73, p. 178-184, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.014>.
- ARPINI, César Augusto de Aguiar. **Construção e aplicação de um reator de plasma de barreira dielétrica na degradação de diclorometano**. 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.
- ARJUNAN, Krishna; SHARMA, Virender; PTASINSKA, Sylwia. Effects of Atmospheric Pressure Plasmas on Isolated and Cellular DNA—A Review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 16, n. 2, p. 2971-3016, 29 jan. 2015. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms16022971>
- ATTRI, Pankaj; KIM, Yong Hee; PARK, Dae Hoon; PARK, Ji Hoon; HONG, Young J.; UHM, Han Sup; KIM, Kyoung-Nam; FRIDMAN, Alexander; CHOI, Eun Ha. Generation mechanism of hydroxyl radical species and its lifetime prediction during the plasma-initiated ultraviolet (UV) photolysis. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 9332, 20 mar. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep09332>.
- BAE, San-Cheong; PARK, Shin Young; CHOE, Wonho; HA, Sang-Do. Inactivation of murine norovirus-1 and hepatitis A virus on fresh meats by atmospheric pressure plasma jets. **Food Research International**, [S.L.], v. 76, p. 342-347, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.039>.
- Baier, R.E., Carter, J.M., Sorensen, S.E., Meyer, A.E., McGowan, B.D., Kasprzak, S.A., 1992. Radiofrequency gas plasma (glow discharge) disinfection of dental operative instruments, including handpieces. **Journal of Oral Implantology**, v. 18, 236–242.
- BASRI, Mohammad Syamim Mohammad *et al.* Measurement of Dielectric Properties of Low-Density Polyethylene Nanocomposites Using “Sub-Hertz” Dielectric Spectroscopy. **Telkomnika (Telecommunication Computing Electronics And Control)**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 971, 1 mar. 2017. Universitas Ahmad Dahlan. <http://dx.doi.org/10.12928/telkomnika.v15i2.6153>.

BEETSMA, Jochum. **The CIELAB L\*a\*b\* System – the Method to Quantify Colors of Coatings**. 2020. Disponível em: <https://www.ulprospector.com/knowledge/10780/pc-the-cielab-lab-system-the-method-to-quantify-colors-of-coatings/>. Acesso em: 17 jun. 2023.

BITTENCOURT, J. A. *Fundamentals of plasma physics*. Springer Science & Business Media, 2013. ISBN 1475740301.

BOUCHER, Raymond M. Gut. **Seeded gas plasma sterilization method**. Titular: Us Patent. US n. US4207286A. Depósito: 10 jun. 1980. Concessão: 10 jun. 1980.

BOURIG, Ali. **Combustion Modification by Non-Thermal Plasma**. 2009. 213 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Process And Systems Engineering, The University Of Orléans, The University Of Magdeburg, Orléans, 2009.

BRUN, P.; BERNABÈ, G.; MARCHIORI, C.; SCARPA, M.; ZUIN, M.; CAVAZZANA, R.; ZANIOL, B.; MARTINES, E.. Antibacterial efficacy and mechanisms of action of low power atmospheric pressure cold plasma: membrane permeability, biofilm penetration and antimicrobial sensitization. **Journal Of Applied Microbiology**, [S.L.], v. 125, n. 2, p. 398-408, 20 maio 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13780>.

CANELLA, Daniela Silva *et al.* Ultra-Processed Food Products and Obesity in Brazilian Households (2008–2009). **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 92752, 25 mar. 2014. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092752>.

CDC. Listeria (Listeriosis). Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/index.html>>. Acesso em: 17 jun. 2023.

CHANG, J.-S.; LAWLESS, P.A.; YAMAMOTO, T.. Corona discharge processes. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 1152-1166, 1991. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/27.125038>.

CHEN, Ya-Qi *et al.* Chemical, physical and physiological quality attributes of fruit and vegetables induced by cold plasma treatment: mechanisms and application advances. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 60, n. 16, p. 2676-2690, 5 set. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2019.1654429>.

CHEN, Guiyun; CHEN, Yue; JIN, Nan; LI, Jing; DONG, Shuang; LI, Shuhong; ZHANG, Zhenya; CHEN, Ye. Zein films with porous polylactic acid coatings via cold plasma pre-treatment. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 150, p. 112382, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112382>.

CHIANG, M.H.; WU, J.y.; LI, Y.H.; WU, J.s.; CHEN, S.H.; CHANG, C.L.. Inactivation of *E. coli* and *B. subtilis* by a parallel-plate dielectric barrier discharge jet. **Surface And Coatings Technology**, [S.L.], v. 204, n. 21-22, p. 3729-3737, ago. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.04.057>.

CHIROKOV, A.; GUTSOL, A.; FRIDMAN, A. Atmospheric pressure plasma of dielectric barrier discharges. *Pure and Applied Chemistry*, v. 77, n. 2, p. 487-495, 2005. ISSN 1365-3075.

CRITZER, Faith J.; KELLY-WINTENBERG, Kimberly; SOUTH, Suzanne L.; GOLDEN, David A.. Atmospheric Plasma Inactivation of Foodborne Pathogens on Fresh Produce Surfaces. **Journal Of Food Protection**, [S.L.], v. 70, n. 10, p. 2290-2296, 1 out. 2007. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-70.10.2290>.

CSEHALMI, Zs.; SASS-KISS, Á.; TÓTH-MARKUS, M.; LECHNER, N.. Study of pulsed electric field treated citrus juices. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 7, n. 1-2, p. 49-54, jun. 2006. Elsevier BV.

CULLEN, Patrick J.; LALOR, James; SCALLY, Laurence; BOEHM, Daniela; MILOSAVLJEVIĆ, Vladimir; BOURKE, Paula; KEENER, Kevin. Translation of plasma technology from the lab to the food industry. **Plasma Processes And Polymers**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 1700085, 23 ago. 2017. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.201700085>.

CULLEN, Patrick J.; MILOSAVLJEVIĆ V. Spectroscopic characterization of a radio-frequency argon plasma jet discharge in ambient air. **Progresso da Física Teórica e Experimental**, [S.L.], 17p, jun. 2015.

DENG, X.; SHI, J.; KONG, M.G.. Physical Mechanisms of Inactivation of Bacillus subtilis Spores Using Cold Atmospheric Plasmas. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 1310-1316, ago. 2006. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tps.2006.877739>.

DOLCI, Luisa S.; LIGUORI, Anna; PANZAVOLTA, Silvia; MISEROCCHI, Anna; PASSERINI, Nadia; GHERARDI, Matteo; COLOMBO, Vittorio; BIGI, Adriana; ALBERTINI, Beatrice. Non-equilibrium atmospheric pressure plasma as innovative method to crosslink and enhance mucoadhesion of econazole-loaded gelatin films for buccal drug delivery. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 163, p. 73-82, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.12.030>.

DUMITRASCU, N.; TOPALA, I.; POPA, G.. Dielectric barrier discharge technique in improving the wettability and adhesion properties of polymer surfaces. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 1710-1714, out. 2005. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tps.2005.856335>.

EKEZIE, Flora-Glad Chizoba; SUN, Da-Wen; CHENG, Jun-Hu. Altering the IgE binding capacity of king prawn (*Litopenaeus Vannamei*) tropomyosin through conformational changes induced by cold argon-plasma jet. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 300, p. 125143, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125143>.

FEIZOLLAHI, Ehsan; MISRA, N.N.; ROOPESH, M. S.. Factors influencing the antimicrobial efficacy of Dielectric Barrier Discharge (DBD) Atmospheric Cold Plasma (ACP) in food processing applications. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 61, n. 4, p. 666-689, 25 mar. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2020.1743967>.

FRIDMAN, A. Plasma chemistry. Cambridge University Press, 2008. ISBN 1139471732.

FRIDMAN, A., Chirokov, A., & Gutsol, A. Non-thermal atmospheric pressure discharges. **Journal of Physics D: Applied Physics**, 38(2), R1–R24. 2005. doi:10.1088/0022-3727/38/2/r01

FRÖHLING, A. *et al.* Indirect plasma treatment of fresh pork: decontamination efficiency and effects on quality attributes. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 16, p. 381-390, out. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2012.09.001>.

GAN, Zhilin; FENG, Xiaoru; HOU, Yanan; SUN, Aidong; WANG, Ruixue. Cold plasma jet with dielectric barrier configuration: investigating its effect on the cell membrane of *e. coli* and *s. cerevisiae* and its impact on the quality of chokeberry juice. **Lwt**, [S.L.], v. 136, p. 110223, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110223>.

GAO, Lihong; SUN, Lei; WAN, Shungang; YU, Zebin; LI, Mingjie. Degradation kinetics and mechanism of emerging contaminants in water by dielectric barrier discharge non-thermal plasma: the case of 17 $\beta$ -estradiol. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 228, p. 790-798, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2013.05.079>.

GARNER, Allen L.; LOVELESS, Amanda M.; DAHAL, Jiba Nath; VENKATRAMAN, Ayyaswamy. A Tutorial on Theoretical and Computational Techniques for Gas Breakdown in Microscale Gaps. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 808-824, abr. 2020. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tps.2020.2979707>.

GOUDA, G.; MASSINES, F.. Role of excited species in dielectric barrier discharge mechanisms observed in helium at atmospheric pressure. **1999 Annual Report Conference On Electrical Insulation And Dielectric Phenomena (Cat. No.99Ch36319)**, [S.L.], v. 2, p. 496-499, 1999. IEEE. <http://dx.doi.org/10.1109/ceidp.1999.807844>.

HAN, L.; PATIL, S.; BOEHM, D.; MILOSAVLJEVIĆ, V.; CULLEN, P. J.; BOURKE, P.. Mechanisms of Inactivation by High-Voltage Atmospheric Cold Plasma Differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Applied And Environmental Microbiology**, [S.L.], v. 82, n. 2, p. 450-458, 15 jan. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/aem.02660-15>.

Han L, Patil S, Keener KM, Cullen PJ, Bourke P. 2014. Bacterial inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma: influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA damage. *J Appl Microbiol* 116:784–794. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.12426>.

HEISE, M.; NEFF, W.; FRANKEN, O.; MURANYI, P.; WUNDERLICH, J.. Sterilization of Polymer Foils with Dielectric Barrier Discharges at Atmospheric Pressure. **Plasmas And Polymers**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 23-33, mar. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/b:papo.0000039814.70172.c0>.

HU, Yingmei; BAI, Yanhong; YU, Hu; ZHANG, Chunhong; CHEN, Jierong. Degradation of Selected Organophosphate Pesticides in Wastewater by Dielectric Barrier Discharge Plasma. **Bulletin Of Environmental Contamination And Toxicology**, [S.L.], v. 91, n. 3, p. 314-319, 9 jul. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00128-013-1048-x>.

HUANG, Yaohua; YE, Xiaofei P; DOONA, Christopher J; FEEHERRY, Florence e; RADOSEVICH, Mark; WANG, Siqun. An investigation of inactivation mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* spores in non-thermal plasma of ambient air. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [S.L.], v. 99, n. 1, p. 368-378, 30 jul. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.9198>.

JAHID, Iqbal Kabir; HAN, Noori; HA, Sang-Do. Inactivation kinetics of cold oxygen plasma depend on incubation conditions of *Aeromonas hydrophila* biofilm on lettuce. **Food Research International**, [S.L.], v. 55, p. 181-189, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.005>.

JAYASENA, Dinesh D.; KIM, Hyun Joo; YONG, Hae In; PARK, Sanghoo; KIM, Kijung; CHOE, Wonho; JO, Cheorun. Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 46, p. 51-57, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.009>.

JELIL, R. Abd. A review of low-temperature plasma treatment of textile materials. **Journal Of Materials Science**, [S.L.], v. 50, n. 18, p. 5913-5943, 12 jun. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10853-015-9152-4>.

JEON, Ye Jeong; MYUNG, Ga Eun; MIN, Sea C.. In-package cold plasma treatment enhances the antimicrobial efficacy of malic acid-incorporated whey protein edible coating against *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in steamed fish paste. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 33, p. 100905, set. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100905>.

JI, Hui; HAN, Fei; PENG, Shanli; YU, Jiaojiao; LI, Ling; LIU, Yunguo; CHEN, Yue; LI, Shuhong; CHEN, Ye. Behavioral Solubilization of Peanut Protein Isolate by Atmospheric Pressure Cold Plasma (ACP) Treatment. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 2018-2027, 4 nov. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-019-02357-0>.

KANG, Joo Hyun; JEON, Ye Jeong; MIN, Sea Cheol. Effects of packaging parameters on the microbial decontamination of Korean steamed rice cakes using in-package atmospheric cold plasma treatment. **Food Science And Biotechnology**, [S.L.], v. 30, n. 12, p. 1535-1542, 18 set. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-021-00978-w>.

KEENER, Kevin M.; JENSEN, J. L.; VALDRAMIDIS, V. P.; BYRNE, E.; CONNOLLY, J.; MOSNIER, J. P.; CULLEN, P. J.. Decontamination of *Bacillus subtilis* Spores in a Sealed Package Using a Non-thermal Plasma System. **Plasma For Bio-Decontamination, Medicine And Food Security**, [S.L.], p. 445-455, 23 dez. 2011. Springer Netherlands. [http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-2852-3\\_34](http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-2852-3_34).

KHANI, Mohammad Reza; SHOKRI, Babak; KHAJEH, Khosro. Studying the performance of dielectric barrier discharge and gliding arc plasma reactors in tomato peroxidase inactivation. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 197, p. 107-112, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.11.012>.

KIM, Hyun-Joo; YONG, Hae In; PARK, Sanghoo; CHOE, Wonho; JO, Cheorun. Effects of dielectric barrier discharge plasma on pathogen inactivation and the physicochemical and sensory characteristics of pork loin. **Current Applied Physics**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 1420-1425, set. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cap.2013.04.021>.

KIM, Su Yeon; BANG, In Hee; MIN, Sea C.. Effects of packaging parameters on the inactivation of Salmonella contaminating mixed vegetables in plastic packages using atmospheric dielectric barrier discharge cold plasma treatment. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 242, p. 55-67, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.08.020>.

KOGELSCHATZ, U. Dielectric-barrier discharges: their history, discharge physics, and industrial applications. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, v. 23, n. 1, p. 1-46, 2003. ISSN 0272-4324.

KOPUK, Berkay; GUNES, Recep; PALABIYIK, Ibrahim. Cold plasma modification of food macromolecules and effects on related products. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 382, p. 132356, jul. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132356>.

KORACHI, May; GUROL, Ceyda; ASLAN, Necdet. Atmospheric plasma discharge sterilization effects on whole cell fatty acid profiles of Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Journal Of Electrostatics**, [S.L.], v. 68, n. 6, p. 508-512, dez. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.elstat.2010.06.014>.

KORTSHAGEN, Uwe. Nonthermal Plasma Synthesis of Nanocrystals: fundamentals, applications, and future research needs. **Plasma Chemistry And Plasma Processing**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 73-84, 29 set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11090-015-9663-4>.

Lampman, S., 2003. Physical, Chemical, and Thermal Analysis of Plastics. in: *Characterization and Failure Analysis of Plastics*. ASM International, USA, pp. 166.

LAROQUE, Denise Adamoli; SEÓ, Sandra Tiemi; VALENCIA, Germán Ayala; LAURINDO, João Borges; CARCIOFI, Bruno Augusto Mattar. Cold plasma in food processing: design, mechanisms, and application. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 312, p. 110748, jan. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110748>.

LAROUSSI, M. Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric-pressure plasmas: review, analysis, and prospects. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 30, n. 4, p. 1409-1415, ago. 2002. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tps.2002.804220>.

LAROUSSI, M.; LEIPOLD, F. Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. **International Journal Of Mass Spectrometry**, [S.L.], v. 233, n. 1-3, p. 81-86, abr. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2003.11.016>.

LEE, Eun Song; CHEIGH, Chan-Ick; KANG, Joo Hyun; LEE, Seung Young; MIN, Sea C.. Evaluation of In-Package Atmospheric Dielectric Barrier Discharge Cold Plasma Treatment as an Intervention Technology for Decontaminating Bulk Ready-To-Eat Chicken Breast

Cubes in Plastic Containers. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 10, n. 18, p. 6301, 10 set. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/app10186301>.

LI, Junguang; XIANG, Qisen; LIU, Xiufang; DING, Tian; ZHANG, Xiangsheng; ZHAI, Yafei; BAI, Yanhong. Inactivation of soybean trypsin inhibitor by dielectric-barrier discharge (DBD) plasma. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 232, p. 515-522, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.167>.

LI, Qi; SHEN, Fei; HE, Xueming; XING, Changrui; YAN, Wenjing; FANG, Yong; HU, Qihui. Modification of soy protein isolate using dielectric barrier discharge cold plasma assisted by modified atmosphere packaging. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 401, p. 134158, fev. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134158>.

LI, Ruixing; TANG, Qing; YIN, Shu; SATO, Tsugio. Investigation of dielectric barrier discharge dependence on permittivity of barrier materials. **Applied Physics Letters**, [S.L.], v. 90, n. 13, p. 131502, 26 mar. 2007. AIP Publishing

LI, Xiang; FARID, Mohammed. A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 182, p. 33-45, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.02.026>.

LIAO, Xinyu; LIU, Donghong; XIANG, Qisen; AHN, Juhee; CHEN, Shiguo; YE, Xingqian; DING, Tian. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: a review. **Food Control**, [S.L.], v. 75, p. 83-91, maio 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.021>.

LIEBERMAN, Michael A.; LICHTENBERG, Allan J.. **Principles of plasma discharges and materials processing**. 2. ed. New Jersey: Wiley, 2005. 794 p.  
Laroussi M, Mendis DA, Rosenberg M. 2003. Plasma interaction with microbes. *New J Phys* 5:41.41-41.10. <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/5/1/341>.

LIS, Karolina Anna; BOULAABA, Annika; BINDER, Sylvia; LI, Yangfang; KEHRENBERG, Corinna; ZIMMERMANN, Julia Louise; KLEIN, Günter; AHLFELD, Birte. Inactivation of Salmonella Typhimurium and Listeria monocytogenes on ham with nonthermal atmospheric pressure plasma. **Plos One**, [S.L.], v. 13, n. 5, 24 maio 2018. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0197773>.

MANDAL, Ronit; SINGH, Anika; SINGH, Anubhav Pratap. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 80, p. 93-103, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.014>.

MARTINS, Ana Paula Bortoletto *et al.* Participacao crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009). **Revista de Saúde Pública**, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 656-665, ago. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-8910.2013047004968>.

MARTINS, Elisabete Aparecida. **Listeria Monocytogenes em produtos fatiados do tipo ready-to-eat, presunto cozido e salame, comercializados no município de São Paulo: ocorrência, quantificação e sorotipagem**. 2009. 76 f. Tese (Doutorado) - Curso de Prática de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MASSIA, Ana Guimarães. **Efeito do congelamento e da temperatura de armazenamento na cinética de crescimento de *Listeria monocytogenes* em salsichas**. 2022. 94 f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

MIN, Sea C.; ROH, Si Hyeon; NIEMIRA, Brendan A.; BOYD, Glenn; SITES, Joseph E.; UKNALIS, Joseph; FAN, Xuotong. In-package inhibition of *E. coli* O157: h7 on bulk romaine lettuce using cold plasma. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 65, p. 1-6, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.010>.

MIN, Sea C.; ROH, Si Hyeon; NIEMIRA, Brendan A.; BOYD, Glenn; SITES, Joseph E.; FAN, Xuotong; SOKORAI, Kimberly; JIN, Tony Z.. In-package atmospheric cold plasma treatment of bulk grape tomatoes for microbiological safety and preservation. **Food Research International**, [S.L.], v. 108, p. 378-386, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.033>.

MISRA, N.N.; JO, Cheorun. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 64, p. 74-86, jun. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.005>.

MISRA, N.N.; KAUR, Seeratpreet; TIWARI, Brijesh K.; KAUR, Amritpal; SINGH, Narpinder; CULLEN, P.J.. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 44, p. 115-121, fev. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.019>.

MISRA, Nrusimha Nath; KEENER, Kevin M.; BOURKE, Paula; MOSNIER, Jean-Paul; CULLEN, Patrick J.. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. **Journal Of Bioscience And Bioengineering**, [S.L.], v. 118, n. 2, p. 177-182, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.02.005>.

Misra, N.N., Schlüter, O., Cullen, P.J., 2016. Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications. Academic Press, Elsevier, United Kingdom.

MISRA, N. N.; TIWARI, B. K.; RAGHAVARAO, K. S. M. S.; CULLEN, P. J.. Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens. **Food Engineering Reviews**, [S.L.], v. 3, n. 3-4, p. 159-170, 5 out. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12393-011-9041-9>.

MISRA, N.N.; YEPEZ, Ximena; XU, Lei; KEENER, Kevin. In-package cold plasma technologies. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 244, p. 21-31, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.09.019>.

MISRA, N. N., ZIUZINA, D., CULLEN, P. J., & KEENER, K. M. Characterization of a Novel Atmospheric Air Cold Plasma System for Treatment of Packaged Biomaterials. **Transactions Of The Asabe**, [S.L.], p. 1011-1016, 29 jul. 2013. American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE). <http://dx.doi.org/10.13031/trans.56.9939>.

MOISAN, M; BARBEAU, J; MOREAU, S; PELLETIER, J; TABRIZIAN, M; YAHIA, L'H. Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. **International Journal Of Pharmaceutics**, [S.L.], v. 226, n. 1-2, p. 1-21, set. 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-5173\(01\)00752-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-5173(01)00752-9).

MOISEEV, T; MISRA, N N; PATIL, S; CULLEN, P J; BOURKE, P; KEENER, K M; MOSNIER, J P. Post-discharge gas composition of a large-gap DBD in humid air by UV–Vis absorption spectroscopy. **Plasma Sources Science And Technology**, [S.L.], v. 23, n. 6, p. 065033, 20 out. 2014. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/23/6/065033>.

MONTEIRO, Carlos A. *et al.* NOVA. A estrela brilha. **World Nutrition: O Sistema Alimentar**, São Paulo, v. 7, n. 1-3, p. 28-40, mar. 2016.

MOREAU, M.; ORANGE, N.; FEUILLOLEY, M.G.J.. Non-thermal plasma technologies: new tools for bio-decontamination. **Biotechnology Advances**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 610-617, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.001>.

MOUTIQ, Rkia; MISRA, N.N.; MENDONÇA, Aubrey; KEENER, Kevin. In-package decontamination of chicken breast using cold plasma technology: microbial, quality and storage studies. **Meat Science**, [S.L.], v. 159, p. 107942, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107942>.

MUHAMMAD, Aliyu Idris; XIANG, Qisen; LIAO, Xinyu; LIU, Donghong; DING, Tian. Understanding the Impact of Nonthermal Plasma on Food Constituents and Microstructure—A Review. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 463-486, 18 jan. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-017-2042-9>.

MÜLLER, Leidiani. **Tratamento com plasma frio em PELBD para desenvolvimento de filmes antibacterianos contendo nanopartículas de ZnO, amido e quitosana**. 2019. 128 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/214745>. Acesso em: 13 abr. 2023.

MÜLLER, Leidiani *et al.* Cold atmospheric plasma for producing antibacterial bilayer films of LLDPE/cassava starch added with ZnO-nanoparticles. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, p. 100988–100988, 1 dez. 2022. Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100988>

NEHRA, Vijay *et al.* **Atmospheric Non-Thermal Plasma Sources**. India: International Journal Of Engineering, 2008. 16 p.

NIEMIRA, Brendan A.; BOYD, Glenn; SITES, Joseph. Cold Plasma Rapid Decontamination of Food Contact Surfaces Contaminated with Salmonella Biofilms. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 79, n. 5, p. 917-922, 17 abr. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12379>.

OEHMIGEN, K. *et al.* The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. **Plasma Processes And Polymers**, [S.L.], v. 7, n. 3-4, p. 250-257, 18 mar. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900077>.

OLTHOFF, J. K.; VAN BRUNT, R. J.; RADOVANOV, S. B.. Effect of electrode material on measured ion energy distributions in radio-frequency discharges. **Applied Physics Letters**, [S.L.], v. 67, n. 4, p. 473-475, 24 jul. 1995. AIP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1063/1.114540>.

PANKAJ, S.K.; BUENO-FERRER, C.; MISRA, N.N.; MILOSAVLJEVIĆ, V.; O'DONNELL, C.P.; BOURKE, P.; KEENER, K.M.; CULLEN, P.J.. Applications of cold plasma technology in food packaging. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 5-17, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2013.10.009>.

PANKAJ, S.K.; BUENO-FERRER, Carmen; MISRA, N.N.; O'NEILL, L.; TIWARI, B.K.; BOURKE, Paula; CULLEN, P.J.. Characterization of dielectric barrier discharge atmospheric air cold plasma treated gelatin films. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 6, p. 61-67, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.09.002>.

PARK, Sanghoo; CHOE, Wonho; JO, Cheorun. Interplay among ozone and nitrogen oxides in air plasmas: rapid change in plasma chemistry. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 352, p. 1014-1021, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2018.07.039>.

PATIL, S.; MOISEEV, T.; MISRA, N.N.; CULLEN, P.J.; MOSNIER, J.P.; KEENER, K.M.; BOURKE, P.. Influence of high voltage atmospheric cold plasma process parameters and role of relative humidity on inactivation of *Bacillus atrophaeus* spores inside a sealed package. **Journal Of Hospital Infection**, [S.L.], v. 88, n. 3, p. 162-169, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2014.08.009>.

PIETRASIK, Z.; PIERCE, D. L.; ZHANG, J.; MCMULLEN, L. M. Effect of post-packaging steam pasteurization on quality and consumer acceptance of fully cooked vacuum-packaged sliced Turkey breast, **58th International Congress of Meat Science and Technology**, Montreal, august, 2012.

PIGNATA, C. *et al.* A review on microbiological decontamination of fresh produce with nonthermal plasma. **Journal Of Applied Microbiology**. Torino, p. 1438-1455. 26 jan. 2017.

PINA-PEREZ, M.C.; MARTINET, D.; PALACIOS-GORBA, C.; ELLERT, C.; BEYRER, M.. Low-energy short-term cold atmospheric plasma: controlling the inactivation efficacy of bacterial spores in powders. **Food Research International**, [S.L.], v. 130, p. 108921, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108921>.

PULIGUNDLA, Pradeep; LEE, Taehoon; MOK, Chulkyoon. Inactivation effect of dielectric barrier discharge plasma against foodborne pathogens on the surfaces of different packaging materials. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 36, p. 221-227, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.027>.

RAGNI, Luigi; BERARDINELLI, Annachiara; VANNINI, Lucia; MONTANARI, Chiara; SIRRI, Federico; GUERZONI, Maria Elisabetta; GUARNIERI, Adriano. Non-thermal atmospheric gas plasma device for surface decontamination of shell eggs. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 100, n. 1, p. 125-132, set. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.036>.

Raizer, Y.P., 1991. Gas Discharge Physics. Springer, Berlin, ISBN: 3-540-19462-2.

RØD, Sara Katrine; HANSEN, Flemming; LEIPOLD, Frank; KNØCHEL, Susanne. Cold atmospheric pressure plasma treatment of ready-to-eat meat: inactivation of listeria innocua and changes in product quality. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 233-238, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.018>.

ROWAN, N. J.; ESPIE, S.; HARROWER, J.; ANDERSON, J. G.; MARSILI, L.; MACGREGOR, S. J.. Pulsed-Plasma Gas-Discharge Inactivation of Microbial Pathogens in Chilled Poultry Wash Water. **Journal Of Food Protection**, [S.L.], v. 70, n. 12, p. 2805-2810, 1 dez. 2007. International Association for Food Protection. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028x-70.12.2805>.

SANI, Iraj Karimi *et al.* Cold plasma technology: applications in improving edible films and food packaging. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 37, p. 101087, jun. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101087>.

SARANGAPANI, Chaitanya; O'TOOLE, Grainne; CULLEN, P.J.; BOURKE, Paula. Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 44, p. 235-241, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.012>.

SELCUK, Meral; OKSUZ, Lutfi; BASARAN, Pervin. Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp. by cold plasma treatment. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 99, n. 11, p. 5104-5109, jul. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.076>.

SHI, Tongna *et al.* Surface modification of porous poly(tetrafluoroethylene) film via cold plasma treatment. **Applied Surface Science**, [S.L.], v. 258, n. 4, p. 1474-1479, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2011.09.110>.

SHI, Hu; ILELEJI, Klein; STROSHINE, Richard L.; KEENER, Kevin; JENSEN, Jeanette L.. Reduction of Aflatoxin in Corn by High Voltage Atmospheric Cold Plasma. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 1042-1052, 11 fev. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-017-1873-8>.

SHUOLIANG, Yao; WENG, Shan; JIN, Qi; HAN, Jingyi; JIANG, Boqiong; WU, Zuliang. Equation of Energy Injection to a Dielectric Barrier Discharge Reactor. **Plasma Science And Technology**, [S.L.], v. 18, n. 8, p. 804-811, ago. 2016. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1009-0630/18/8/03>.

SONG, Hyun Pa; KIM, Binna; CHOE, Jun Ho; JUNG, Samooel; MOON, Se Youn; CHOE, Wonho; JO, Cheorun. Evaluation of atmospheric pressure plasma to improve the safety of sliced cheese and ham inoculated by 3-strain cocktail *Listeria monocytogenes*. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 432-436, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.02.010>.

SONG, Ah Young; OH, Yoon Ah; ROH, Si Hyeon; KIM, Ji Hyeon; MIN, Sea C.. Cold Oxygen Plasma Treatments for the Improvement of the Physicochemical and Biodegradable Properties of Polylactic Acid Films for Food Packaging. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 81, n. 1, p. 86-96, 8 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.13172>.

STOFFELS, Eva; SAKIYAMA, Yukinori; GRAVES, David B.. Cold Atmospheric Plasma: charged species and their interactions with cells and tissues. **Ieee Transactions On Plasma Science**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 1441-1457, ago. 2008. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/tps.2008.2001084>.

SUROWSKY, Björn; SCHLÜTER, Oliver; KNORR, Dietrich. Interactions of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma with Solid and Liquid Food Systems: a review. **Food Engineering Reviews**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 82-108, 27 jul. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12393-014-9088-5>.

TAKAI, Eisuke; KITANO, Katsuhisa; KUWABARA, Junpei; SHIRAKI, Kentaro. Protein Inactivation by Low-temperature Atmospheric Pressure Plasma in Aqueous Solution. **Plasma Processes And Polymers**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 77-82, 17 out. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.201100063>.

TAMMINEEDI, Chatrapati V.R.K.; CHOUDHARY, Ruplal; PEREZ-ALVARADO, Gabriela C.; WATSON, Dennis G.. Determining the effect of UV-C, high intensity ultrasound and nonthermal atmospheric plasma treatments on reducing the allergenicity of  $\alpha$ -casein and whey proteins. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 54, n. 1, p. 35-41, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.020>.

TENDERO, Claire; TIXIER, Christelle; TRISTANT, Pascal; DESMAISON, Jean; LEPRINCE, Philippe. Atmospheric pressure plasmas: a review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, [S.L.], v. 61, n. 1, p. 2-30, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2005.10.003>.

TOLOUIE, Haniye; MOHAMMADIFAR, Mohammad Amin; GHOMI, Hamid; HASHEMI, Maryam. Cold atmospheric plasma manipulation of proteins in food systems. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 58, n. 15, p. 2583-2597, 5 out. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2017.1335689>.

VON ENGEL, A.; MARTON, L.. Ionized Gases. **Physics Today**, [S.L.], v. 18, n. 10, p. 64-64, out. 1965. AIP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3046953>.

XIAO, Dengming. **Gas Discharge and Gas Insulation**. Shanghai: Springer, 2016. 367 p.

WANG, Jiamei; ZHUANG, Hong; HINTON, Arthur; ZHANG, Jianhao. Influence of in-package cold plasma treatment on microbiological shelf life and appearance of fresh chicken breast fillets. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 60, p. 142-146, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.07.007>.

XU, Lei; GARNER, Allen L.; TAO, Bernard; KEENER, Kevin M.. Microbial Inactivation and Quality Changes in Orange Juice Treated by High Voltage Atmospheric Cold Plasma. **Food And Bioprocess Technology**, [S.L.], v. 10, n. 10, p. 1778-1791, 11 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-017-1947-7>.

YADAV, Barun; SPINELLI, Ana Claudia; GOVINDAN, Byju N.; TSUI, Ying Y.; MCMULLEN, Lynn M.; ROOPESH, M.s.. Cold plasma treatment of ready-to-eat ham: influence of process conditions and storage on inactivation of listeria innocua. **Food**

**Research International**, [S.L.], v. 123, p. 276-285, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.065>.

YADAV, Barun; SPINELLI, Ana Claudia; MISRA, N. N.; TSUI, Ying Y.; MCMULLEN, Lynn M; ROOPESH, M.s.. Effect of in-package atmospheric cold plasma discharge on microbial safety and quality of ready-to-eat ham in modified atmospheric packaging during storage. **Journal Of Food Science**, [S.L.], v. 85, n. 4, p. 1203-1212, 2 mar. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.15072>.

YEPEZ, Ximena V.; KEENER, Kevin M.. High-voltage Atmospheric Cold Plasma (HVACP) hydrogenation of soybean oil without trans-fatty acids. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S.L.], v. 38, p. 169-174, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.09.001>.

YONG, Hae In; LEE, Haelim; PARK, Sangho; PARK, Jooyoung; CHOE, Wonho; JUNG, Samooel; JO, Cheorun. Flexible thin-layer plasma inactivation of bacteria and mold survival in beef jerky packaging and its effects on the meat's physicochemical properties. **Meat Science**, [S.L.], v. 123, p. 151-156, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.09.016>.

YUSUPOV, Maksudbek; BOGAERTS, Annemie; HUYGH, Stijn; SNOECKX, Ramses; VAN DUIN, Adri C. T.; NEYTS, Erik C.. Plasma-Induced Destruction of Bacterial Cell Wall Components: a reactive molecular dynamics simulation. **The Journal Of Physical Chemistry C**, [S.L.], v. 117, n. 11, p. 5993-5998, 6 mar. 2013. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp3128516>.

YUSUPOV, M; NEYTS, E C; KHALILOV, U; SNOECKX, R; VAN DUIN, A C T; A BOGAERTS,. Atomic-scale simulations of reactive oxygen plasma species interacting with bacterial cell walls. **New Journal Of Physics**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 093043, 26 set. 2012. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/14/9/093043>.

ZHANG, Xin; WANG, Shouwei; CHEN, XI; QU, Chao. Review controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products: an overview of outbreaks, current legislations, challenges, and future prospects. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 116, p. 24-35, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.014>.

ZIUZINA, D.; PATIL, S.; CULLEN, P.J.; KEENER, K.M.; BOURKE, P.. Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh produce. **Food Microbiology**, [S.L.], v. 42, p. 109-116, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.007>.