

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**FILMES DE POLIETILENO IMPREGNADOS COM ZEÓLITA
CONTENDO PRATA PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS COM
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS**

DAIANE LÚCIA BOSCHETTO

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da URI – Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL

DEZEMBRO DE 2009

**FILMES DE POLIETILENO IMPREGNADOS COM ZEÓLITA
CONTENDO PRATA PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS COM
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS**

DAIANE LÚCIA BOSCHETTO

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Marco Di Luccio, D.Sc.
Orientador

Sibele Berenice Castelã Pergher, D.Sc.
Orientadora

Luiz Carlos Alves de Oliveira, D.Sc.

Helen Treichel, D.Sc.

Erechim, 14 de dezembro de 2009

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

Dedico este trabalho:

Aos meus pais que sempre estiveram ao meu lado me dando carinho, atenção e incentivo para realização deste trabalho.

Aos meus amigos que sempre me deram força e carinho, acreditando em mim.

A professora Sibeles Berenice Castela Pergher pelo apoio, incentivo, paciência e dedicação, sendo muito importante para que esta etapa fosse cumprida com êxito.

Todos aqueles que por ventura não foram citados, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Marco Di Luccio e Sibeles Berenice Castela Pergher pela orientação, competência, esforço, grande estímulo e paciência;

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos José Vladimir de Oliveira, Débora de Oliveira, Helen Treichel, Marcos e Fernanda Corazza, Eunice Valduga, pelos bons momentos compartilhados e pelos ensinamentos;

Ao professor Rogério Cansian pelo auxílio, sugestões e colaborações durante o desenvolvimento deste trabalho, disponibilizando grande parcela de seu tempo me ajudando e tirando minhas dúvidas;

Aos colegas de Mestrado, da Microbiologia e do Laqam pela amizade, colaboração e principalmente pelos bons momentos vividos;

Ao Lindomar Lerin, pelo auxílio e colaboração nos testes realizados; ao Marcelo Mignoni pelo auxílio nas análises feitas na UFRGS:

Ao professor João H. dos Santos – Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) pela disponibilidade do material cedido.

À Petrobras pelo auxílio financeiro.

À URI – Campus de Erechim por disponibilizar a estrutura e recursos para realização deste projeto.

O fracasso jamais me surpreenderá se minha
decisão de vencer for suficientemente forte.

Og Mandino.

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

**FILMES DE POLIETILENO IMPREGNADOS COM ZEÓLITA
CONTENDO PRATA PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS COM
PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS**

DAIANE LÚCIA BOSCHETTO

Dezembro/2009

Orientadores: Marco Di Luccio

Sibele Berenice Castelã Pergher

Este trabalho teve como objetivo o preparo de filmes com propriedades antimicrobianas. Foi utilizada a Zeólita Y como suporte para estabilização da prata e sua impregnação foi realizada por troca iônica. As zeólitas impregnadas com diferentes concentrações de prata (0,5%, 1% e 5%) foram caracterizadas através das análises de Difração de Raios – X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Emissão de Raios – X por Dispersão de Energia (EDX), Análise Textural por Adsorção de Nitrogênio, Análise de Absorção Atômica por Plasma (AAP) e Análise de Absorção Atômica (AAS). Os resultados dessas análises mostraram que a impregnação da prata não alterou a estrutura da zeólita. Posteriormente avaliou-se a atividade antimicrobiana da zeólita impregnada com a prata utilizando a bactéria *Escherichia coli*, através do método das concentrações inibitórias mínimas (CIM). Somente a zeólita contendo 5% de prata apresentou atividade antimicrobiana. Os resultados mostram que a concentração inibitória mínima encontrada foi de 0,5 mg zeólita/mL, que corresponde a 25 µg Ag/mL. Foi

verificada a liberação dos íons prata da zeólita para o meio através de testes de lixiviação e leitura em Espectrômetro de Absorção Atômica (AAS), que indicou uma grande liberação da prata contida na estrutura zeolítica, de aproximadamente 56%. Os filmes poliméricos de polietileno contendo zeólita impregnada com prata foram preparados por solubilização e prensagem, variando-se a concentração de zeólita entre 1 e 10%. Os filmes foram caracterizados por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Análise Termogravimétrica (TGA), cor instrumental (CIELab). Os resultados mostraram que dentro da faixa de concentração estudada, a impregnação do polímero com a zeólita não influenciou as propriedades térmicas do filme, que medem inclusive o seu grau de cristalinidade. A atividade antimicrobiana dos filmes de polietileno impregandos com zeólita contendo prata, realizada pelo método de difusão em placas, mostrou que o filme contendo 5 % de zeólita com 5% de prata apresentou atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*. Isto mostra o potencial para aplicação em embalagens visando a segurança e conservação dos alimentos, no que se refere à contaminação superficial.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

POLYETHYLENE FILMS INCORPORATED WITH Ag-SUBSTITUTED ZEOLITE FOR APPLICATION IN ANTIMICROBIAL PACKAGES

DAIANE LÚCIA BOSCHETTO

December/2009

Advisors: Marco Di Luccio

Sibele Berenice Castelã Pergher

This work aimed to study the preparation of films with antimicrobial properties. The zeolite Y was used as support for stabilization of silver. The zeolites containing different concentrations of silver (0.5, 1.0 and 5.0%) were characterized by X-ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM), Energy-dispersive X-ray Spectroscopy (EDS), Textural Analysis by nitrogen adsorption, Plasma Atomic Absorption Spectroscopy (PAAS) and Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS). The results of these analyses showed that the silver impregnation did not alter the structure of the zeolite. The antimicrobial activity of the zeolite impregnated with silver (Ag-zeolite) was tested using *Escherichia coli* by the technique of minimum inhibitory concentrations (MIC). Only the zeolite with 5% of silver presented antimicrobial activity. The minimum inhibitory concentration was 0.5 mg zeolite-Ag/mL, which corresponds to 25 µg Ag/mL. The leaching of silver ions from off the zeolite to water, quantified by FAAS, was found to be 56%. The polymer films containing the Ag-zeolite were prepared by solubilization and hot-pressing, varying the concentration of Ag-zeolite from 1 to 10%. The films were characterized by Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetric Analysis (TGA) and

instrumental color (CIELab). Within the studied range, the impregnation of the zeolite in the polymer did not significantly alter its properties. The films impregnated with 5% of zeolite containing 5% of silver ions showed antimicrobial activity against *E. coli*. These results show the potential of application of such films in the production of antimicrobial packages, aiming at conservation and safety of foods.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 Embalagens Antimicrobianas	19
2.1.1 Agentes Antimicrobianos	Erro! Indicador não definido.
2.1.2 Prata como Agente Antimicrobiano	27
2.1.3 Incorporação de Antimicrobianos em Embalagens Plásticas	29
2.2 Polietileno de Baixa Densidade (LDPE)	35
2.3 Zeólitas	36
2.3.1 Zeólita Y	36
2.4 Métodos de Avaliação da Atividade Antimicrobiana	36
2.4.1 Antibiógrama em Meio Sólido	36
2.4.2 Cocentração Inibitória Mínima	37
3. Materiais e Métodos	40
3.1 Materiais	40
3.2 Métodos	41
3.2.1 Incorporação da prata na Zeólita Y	Erro! Indicador não definido.
3.3 Técnicas de Caracterização dos Materiais	Erro! Indicador não definido.
3.3.1 Difração de Raios – X (DRX)	39
3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Emissão de Raios – X por Dispersão de Energia (EDX)	42
3.3.3 Análise Textural por Adsorção de Nitrogênio	42
3.3.4 Análise de Absorção Atômica por Plasma (AAP)	42
3.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)	43
3.3.6 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	43
3.3.7 Análise de Cor Instrumental	43
3.4 Atividade Antimicrobiana da Zeólita Y Impregnada com Prata	44

3.5 Teste de Lixiviação da Prata no Meio	44
3.6 Preparo dos Filmes Poliméricos	45
3.7 Incorporação da Zeólita Impregnada com Prata no Polímero	45
3.8 Atividade Antimicrobiana do Polímero	46
 4. Resultados e Discussões	 47
4.1 Caracterização da Zeólita Y Impregnada com Prata	47
4.2 Atividade Antimicrobiana da Zeólita Y Impregnada com Prata	51
4.3 Testes de Lixiviação da Prata no Meio	54
4.4 Caracterização do Polímero	55
4.5 Atividade Antimicrobiana do Polímero contendo Zeólita Impregnada com Prata	59
 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	 61
5.1 CONCLUSÕES	61
5.2 SUGESTÕES	62
 6. REVISÃO BIBLIOGRÁICA	 63
 ANEXO 1	 73

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Sistemas de Embalagens de Alimentos e Comportamento Relativo de Substâncias Ativas.....	21
Figura 02 – Maneiras possíveis de construir sistemas de embalagens antimicrobianas nos alimentos: A – Uso de materiais de embalagens antimicrobianas; B – Revestimento antimicrobiano em embalagens convencionais; C – Imobilização de agentes antimicrobianos em materiais de embalagens poliméricas; D – Uso de bandeja ou almofadas antimicrobianas; E - Uso/inserção de sachês contendo agentes antimicrobianos temporários; F – Revestimento comestível antimicrobiano nos alimentos.....	23
Figura 03 – Exemplo de ramificações devido à transferência de cadeia intermolecular.....	31
Figura 04 – Exemplo de ramificações devido à transferência de cadeia intramolecular.....	31
Figura 05 – Unidades secundárias de construção SBU.....	33
Figura 06 – Alguns poliedros presentes nas estruturas zeolíticas.....	34
Figura 07 – Estrutura da Zeólita Y.....	35
Figura 08 – Difratoograma de Raios – X da Zeólita Y e das zeólitas impregnadas com prata	46
Figura 09 – Análise de EDX da Zeólita Y impregnada com 5% de Ag.....	47
Figura 10 – Microscopia Eletrônica de Varredura, (a) Zeólita Y, (b) Zeólita com 0,5% de Ag, (c) Zeólita com 1% de Ag, (d) Zeólita com 5% de Ag.....	49
Figura 11 – Atividade Antimicrobiana da Zeólita Y impregnada com 05%, 1% e 5% de prata, contra a <i>Escherichia coli</i> após 24 h de contato.	52
Figura 12 – Curva de DSC para temperatura de fusão do LDPE.....	54
Figura 13 – Curva de DSC para temperatura de cristalização do LDPE.....	55
Figura 14 – Curva de TGA do filme de LDPE preparado através do método de solubilização com solvente.....	56

Figura 15 – Ensaios de determinação de atividades antimicrobianas (a) do filme puro preparado por solubilização, (b) filme prensado com 5% de zeólita-Ag, (c) filme obtido por solubilização com 5% de zeólita-Ag e (d) ampliação de cModelo de ficha de avaliação sensorial para teste de diferença do controle.....58

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Exemplos de agentes antimicrobianos potenciais para sistemas de embalagem antimicrobiana de alimentos.	25
Tabela 02 - Valores de área específica BET e cristalinidade dos materiais zeolíticos.....	48
Tabela 03 - Composição química elementar (% em massa).....	48
Tabela 04 - Densidade óptica dos ensaios para análise da atividade antimicrobiana das zeólitas com e sem impregnação com prata. Valores obtidos após 24 h de incubação.....	50
Tabela 05 - Temperaturas de fusão, cristalização e grau de cristalinidade do polietileno em função da quantidade de zeólita adicionada.	55
Tabela 06 - Resultados de cor CIELab para os filmes de LDPE.....	57

1. INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, a indústria alimentícia vem sofrendo grandes mudanças para se adaptar às crescentes exigências dos consumidores. Estamos vivendo num mundo de produtos embalados, onde praticamente todos os produtos, seja na sua forma final, sejam nas fases intermediárias de fabricação e transporte, possui alguma forma de embalagem. A importância das embalagens vem fazendo com que este setor se reorganize para atender tal necessidade, prolongando a vida de prateleira desses alimentos e apresentando maior qualidade.

A embalagem é um fator importante na conservação dos alimentos e tem recebido cada vez mais importância devido às novas tendências de compra (via internet) e internacionalização dos supermercados, que resulta no aumento da distância de distribuição e na necessidade de aumentar o período de armazenamento dos produtos (VERMEIREM, et al. 1999; SONNEVELD, 2000; SUPPAKUL, et al., 2003).

O desenvolvimento da embalagem começa com a origem do homem (MOURA et al., 1990). Talvez a importância dela tenha sido entendida quando ele observou a facilidade de deterioração dos alimentos quando eles estavam sem algum tipo de invólucro. Os primeiros habitantes da terra precisavam também transportar e armazenar principalmente água e comida, mas eles enfrentavam muitas dificuldades no transporte, em consequência começaram a aprimorar cada vez mais as formas de embalagens.

As embalagens apresentam uma enorme variedade de formas, modelos e materiais de acordo com o produto a ser embalado. Isso explica a interligação da embalagem com o produto, não conseguindo considerar um sem o outro. Elas são importantes tanto para a distribuição de produtos industrializados, como para diminuir a perda de produtos primários e sua preservação (MOURA et al., 1990).

Tradicionalmente, a embalagem deve ajudar na manutenção da qualidade do alimento até seu estado final de processamento. No sentido convencional, ela deve aumentar a segurança do alimento de acordo com os mecanismos de barreiras a contaminações e prevenção de migração de seus próprios componentes para o

alimento. A embalagem normalmente deve ser inerte para o produto empacotado, mas para que essa embalagem tenha potencial para contribuir à qualidade, retenção e proteção é preciso um melhor estudo desta (ROONEY, 2005; AZEREDO, 2000).

As ocorrências de manifestações microbianas nos alimentos, principalmente derivados de leite e produtos cárneos, vêm conduzindo ao desenvolvimento inovador de tecnologias para inibição desse crescimento nos alimentos. Uma opção é usar um empacotamento que forneça uma margem de segurança e qualidade maiores, onde ocorra a interação com o produto, modificando alguma propriedade, objetivando uma maior segurança do alimento. A geração seguinte de embalagens de alimentos pode incluir materiais com propriedades antimicrobianas, conhecidas como embalagens ativas. Estas tecnologias podem desempenhar um papel importante no tempo de conservação dos alimentos e reduzir o risco dos microrganismos patogênicos (APPENDINI & HOTCHKISS, 2002; MORAES et al., 2007).

As embalagens ativas não devem ser confundidas com as embalagens inteligentes, as quais informam ou comunicam-se com o consumidor a respeito das propriedades atuais do alimento, ou aspectos dos registros de sua história (ROONEY, 2005). As embalagens ativas representam um conceito inovador e podem ser definidas como uma modalidade de embalagem no qual a embalagem, o produto e o ambiente interagem para prolongar a vida útil ou realçar a segurança das propriedades sensoriais do produto.

As embalagens antimicrobianas abrangem todas as técnicas de embalagem usadas para controlar o crescimento microbiano em um produto alimentício. Estas incluem os materiais da embalagem, as películas e os revestimentos comestíveis que contêm os agentes antimicrobianos e igualmente as técnicas que modificam a atmosfera dentro da embalagem (CHA & CHINNAN, 2004).

A incorporação de substâncias antimicrobianas em filmes plásticos tem como finalidade a liberação gradual destes sobre a superfície do alimento, impedindo ou inibindo o crescimento de microrganismos, aumentando assim, a vida de prateleira e ampliando aspectos da segurança, ao atuar sobre microrganismos patogênicos (VERMEIREN et al., 2002).

Existem muitos estudos relacionados com embalagens antimicrobianas, seus agentes e microrganismos que podem ser inibidos com esse tipo de embalagem. A atividade antimicrobiana de zeólitas impregnadas com prata é estudada por diversos autores, despertando o interesse a nível industrial e comercial. Porém, são poucos os relatos da produção de filmes de resinas termoplásticas impregnados com zeólita contendo prata. Os poucos estudos encontrados são referentes a filmes plásticos utilizados na área da saúde.

Face à relevância dos estudos relacionados à obtenção de produtos alimentícios seguros e saudáveis, dando ênfase à utilização de aditivos antimicrobianos, o presente trabalho teve como objetivo o preparo de filmes antimicrobianos à base de filmes de polietileno contendo zeólitas impregnadas com íons prata.

Dentre os objetivos específicos, destacam-se as principais etapas do estudo:

- Estudar a estabilização da prata na sua forma oxidada através de materiais zeolíticos
- Caracterizar a zeólita impregnada com prata com diferentes técnicas instrumentais
- Avaliar a atividade antimicrobiana de zeólitas impregnadas com diferentes teores de prata
- Preparo e caracterização de filmes poliméricos à base de polietileno com diferentes relações zeólita – polímero
- Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes poliméricos incorporados com zeólitas.

Esta dissertação está dividida em seis capítulos. No Capítulo 2 é apresentada uma breve revisão da literatura referente às zeólitas, polímeros e embalagens ativas. O Capítulo 3 apresenta uma descrição dos materiais e dos métodos utilizados. Os resultados experimentais obtidos foram reportados e discutidos no Capítulo 4. No Capítulo 5 são apresentadas as conclusões e sugestões pertinentes ao trabalho desenvolvido e, por fim, as referências bibliográficas, apresentadas no Capítulo 6.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Embalagens Antimicrobianas

A indústria alimentícia procura sempre desenvolver produtos com qualidade e segurança para atender a um mercado cada vez mais exigente. A crescente observação de intoxicações veiculadas por alimentos, destacando-se aquelas causadas por microrganismos, motiva as empresas que industrializam alimentos a buscar novas barreiras ao crescimento de microrganismos patogênicos. Neste contexto, pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de materiais antimicrobianos para aplicações em alimentos vêm crescendo significativamente nos últimos anos. Esta tecnologia pode ser considerada inovadora e desafiadora, mas promete ser um ramo promissor na indústria de alimentos gerando um impacto significativo no tempo de conservação e segurança alimentar (QUINTAVALLA & VICINI, 2002; ROONEY, 2005; SUPPAKUL et al., 2003).

Os alimentos, industrializados ou não, mantêm-se em constante atividade, manifestada por alterações de natureza química, física, microbiológica ou enzimática, podendo levar à perda de qualidade e redução da vida de prateleira. Destas alterações, a mais preocupante é a microbiológica. O crescimento microbiano é um problema grave que nos alimentos sólidos ou semi-sólidos ocorre primeiramente na superfície (HAN, 2005; QUINTAVALLA & VICINI, 2002; JAY, 1992).

Sabe-se que uma das funções das embalagens é preservar ao máximo a qualidade do produto, criando condições que minimizem alterações provenientes do ambiente, químicas, bioquímicas e microbiológicas. Contudo, o conceito tradicional de que esta função deve ser exercida sem a interação entre as embalagens e o produto vem sendo superado frente a novas tecnologias que estão sendo desenvolvidas nas últimas décadas, que justamente se opõe a esse conceito propondo a interação entre a embalagem e o produto. Embalagens com estas características são conhecidas como embalagens ativas, pois além de atuarem como uma barreira a agentes externos apresentam alguma outra função. Essas

embalagens ativas procuram corrigir deficiências presentes nas embalagens convencionais. Neste segmento, nos últimos anos, está sendo destacado o uso de agentes antimicrobianos nas embalagens (OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004).

O agente antimicrobiano interage com o produto ou o espaço livre entre a embalagem e o sistema do alimento atuando na redução, inibição ou retardamento do crescimento desses microrganismos, que podem estar no alimento ou no próprio material de embalagem (GONTARD, 1997; APPENDINI & HOTCHKISS, 2002; OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004).

As embalagens antimicrobianas são preparadas pela incorporação de substâncias antimicrobianas ao polímero, ou com o uso de materiais poliméricos antimicrobianos. E eles podem ser incorporados ao sistema de embalagem através simples mistura com o material, imobilização ou recobrimento.

Os sistemas de embalagem antimicrobianos são benéficos à indústria de alimentos e aos consumidores, pois podem alterar a fase *lag*, aumentado-a, e reduzindo a velocidade do crescimento dos microrganismos (HAN, 2002). Nos EUA, Japão e Austrália, o conceito de embalagens ativas está sendo aplicado com sucesso. Na Europa, o desenvolvimento e a aplicação deste tipo de embalagem são limitados devido à restrições de legislação, medo ou resistência do consumidor, necessidade de maior conhecimento sobre a efetividade, impacto econômico e ambiental (VERMEIREN et al., 2002).

Os filmes antimicrobianos são divididos em dois grupos, onde no primeiro o agente migra para a superfície do produto, enquanto que no segundo não é necessária a migração do produto para eles serem efetivos contra o crescimento microbiano superficial. Nos dois casos ocorre a necessidade de contato intenso entre o produto e o agente antimicrobiano (VERMEIREN et al., 2002; SUPPAKUL et al., 2003). O controle da taxa de migração do agente antimicrobiano da embalagem para o alimento é importante, deve ser capaz de controlar o crescimento microbiano e manter a concentração do princípio ativo acima da concentração inibitória mínima (BRODY et al., 2001).

O desenvolvimento dos sistemas de empacotamento antimicrobiano segue diversas considerações (QUINTAVALLA & VICINI, 2002). A maioria dos sistemas de

empacotamento de alimentos representa um sistema de embalagem/alimento ou um sistema embalagem/espaco livre/alimento (Figura 1). Um sistema embalagem/alimento é um produto alimentício sólido em contato com o material de embalagem ou um alimento com pouca viscosidade ou ainda líquido sem espaço livre. A difusão entre o material de embalagem e o alimento e a divisão entre eles são fenômenos principais da migração desse sistema. Agentes antimicrobianos podem ser incorporados inicialmente nos materiais de embalagem e migrar para o alimento por difusão.

Ainda, os sistemas que envolvem embalagem/espaco livre/alimento são representados por alimentos embalados em filmes flexíveis. A evaporação ou distribuição equilibrada de uma substância entre o espaço livre, o material da embalagem e o alimento, tem que ser considerada como mecanismo principal da migração para estimar a distribuição interfacial da substância. Uma substância ativa temporária pode ser usada nestes sistemas, podendo migrar pelo espaço livre e pelas aberturas de ar entre a embalagem e o alimento (HAN, 2000).

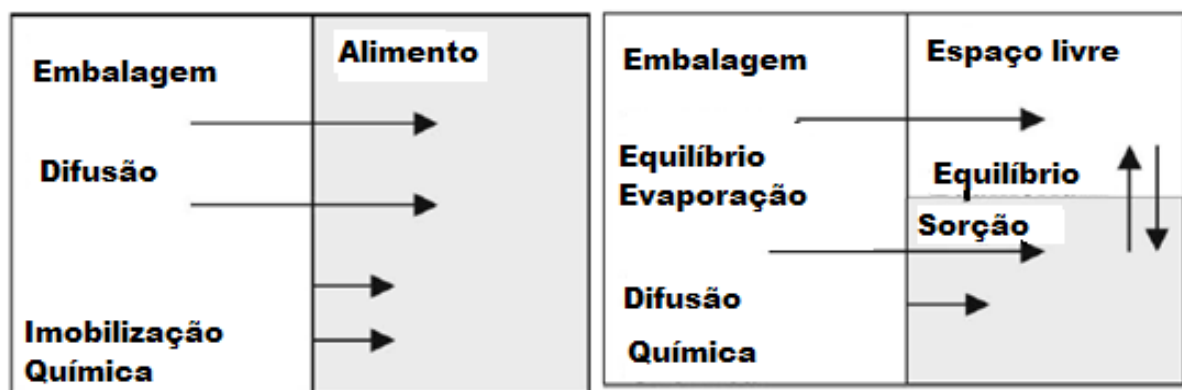


Figura 1 – Sistemas de embalagem de alimentos e comportamento relativo de substâncias ativas (adaptado de QUINTAVALLA & VICINI, 2002).

Existem vários tipos de embalagens antimicrobianas (Figura 2) (APPENDINI & HOTCHKISS, 2002):

- Adição de sachês contendo agentes antimicrobianos voláteis temporários nas embalagens. As almofadas absorventes são usadas nas bandejas para empacotamento de carnes absorvendo a água presente. Neste segmento, existem

ainda os absorventes de oxigênio e umidade utilizados em padarias e na embalagem de produtos cárneos para impedir a oxidação e condensação da água. Não são agentes antimicrobianos, mas a redução de oxigênio e da atividade de água inibe o crescimento microbiano.

- Incorporação de agentes antimicrobianos diretamente nos polímeros. Aplicados comercialmente em drogas, inseticidas, materiais têxteis, implantes cirúrgicos e outros dispositivos médicos.
- Antimicrobianos de revestimento ou de fixação na superfície do polímero. Utilizados para revestir frutas e hortaliças.
- Imobilização de antimicrobianos por íons ou por ligações covalentes no polímero.
- Uso de polímeros que são inerentemente antimicrobianos.

Existem ainda os revestimentos comestíveis antimicrobianos que são componentes do alimento, onde estão inseridos os agentes antimicrobianos naturais. São formados por pelo menos um componente capaz de formar uma matriz contínua como polissacarídeos, proteínas ou lipídeos. Elas apresentam uma enorme variedade de aplicações dependendo de suas propriedades. Podem apresentar algumas funções tais como controle de trocas gasosas, de entrada de água, umidade, retenção de aditivos promovendo uma resposta funcional significativa na superfície do produto entre outras (ROONEY, 2005; AZEREDO *et al.* 2000; CUQ *et al.*, 1995).

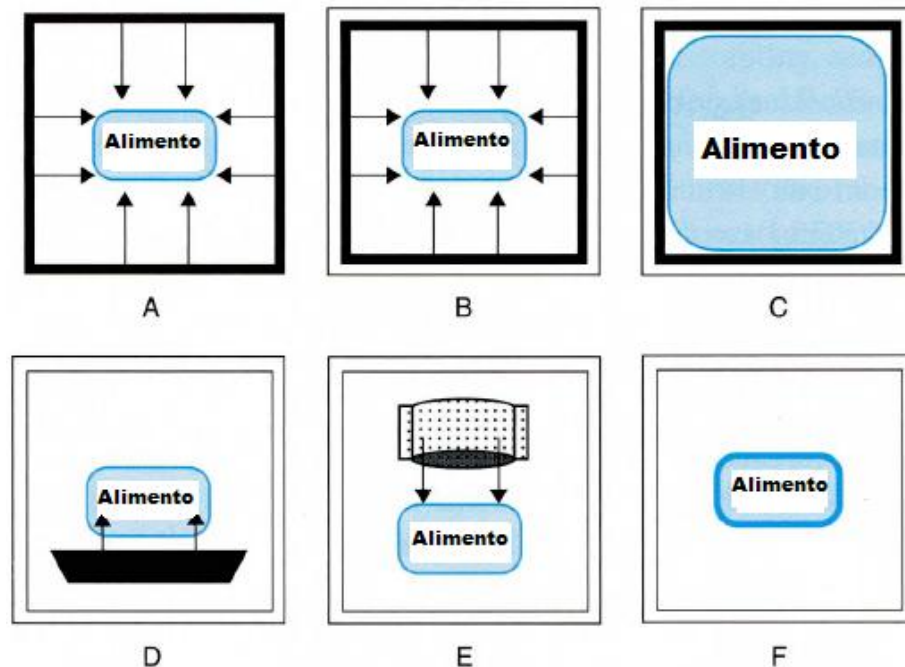


Figura 2 - Maneiras possíveis de construir sistemas de embalagem antimicrobianos nos alimentos: A – Uso de materiais de embalagem antimicrobianos; B – Revestimento antimicrobiano em embalagens convencionais; C – Imobilização de agentes antimicrobianos em materiais de embalagem poliméricos; D – Uso de bandejas ou almofadas antimicrobianas; E – Uso/Inserção de sachês contendo agentes antimicrobianos temporários; F – Revestimento comestível antimicrobiano nos alimentos (adaptado de HAN, 2003).

A escolha da forma ideal do empacotamento antimicrobiano a ser tomada é feita baseando-se em vários fatores cruciais. O mais importante é a exigência do alimento, seguida pela forma da embalagem e as exigências do agente ativo (ROONEY, 2005). Além destes aspectos, deve-se levar em consideração também: o tipo de agente antimicrobiano a incorporar e que atuará como mecanismo de inibição, a natureza química do agente, as características físico-químicas do alimento, fisiologia do microrganismo alvo e a microflora do alimento, a cinética de migração do agente antimicrobiano ao alimento, o ambiente e temperatura de estocagem, o processo de fabricação do filme, a toxidez e aspectos regulatórios, propriedades sensoriais do agente e adequação ao processo da embalagem antimicrobiana.

2.1.1 Agentes antimicrobianos

A maioria dos sistemas de embalagem dos alimentos consiste no produto alimentício, atmosfera do espaço livre e materiais de empacotamento. Algum destes três componentes do sistema de embalagem pode possuir um elemento antimicrobiano. O uso de embalagens com agentes antimicrobianos é mais eficiente, pela lenta migração dos agentes do material de embalagem para a superfície do alimento. Se um agente pode ser liberado do filme durante um período prolongado, a atividade pode igualmente ser prolongada na fase de transporte, armazenagem e distribuição (QUINTAVALLA & VICINI, 2002).

O desenvolvimento desses materiais com habilidade de inibir o crescimento microbiano foi de grande interesse nos últimos anos e seu potencial em produtos como pinturas, artigos de cozinha, utensílios escolares e hospitalares foram estudados. Novos materiais para embalagens antimicrobianas estão sendo desenvolvidos continuamente. Vários compostos naturais e sintéticos tem tido seu potencial antimicrobiano analisado dentro deste conceito, a exemplo de íons metálicos, ácidos orgânicos, bactericidas e fungicidas. Alguns agentes químicos existem naturalmente nas plantas ou produtos fermentados, mas são sintetizados principalmente quimicamente e categorizados como aditivos químicos, além dos agentes antimicrobianos comestíveis (MAGANA et al., 2007; MORAES et al., 2007; CHA & CHINNAN, 2004).

Pesquisas necessitam ser conduzidas para as diferentes aplicações em alimentos, a fim de se avaliar a potencialidade tecnológica, econômica e de segurança dos alimentos (SOARES et al., 2004). Os vários agentes antimicrobianos podem ser adicionados em sistemas e em materiais convencionais criando embalagens antimicrobianas diversas (YAMADA, 2004). Eles podem ser classificados em dois grupos: agentes químicos e naturais. (Tabela 1). Os agentes químicos podem ser misturados com outros ingredientes do alimento, incorporados em aditivos da embalagem ou introduzidos na atmosfera entre a embalagem e o alimento. Os agentes naturais podem apresentar além da atividade antimicrobiana

outra vantagem como atividade antioxidante, mas podem também apresentar problemas no que diz respeito ao sabor.

Tabela 1 – Exemplos de agentes antimicrobianos potenciais para sistemas de embalagem antimicrobiana de alimentos (adaptado de SUPPAKUL et al., 2003; YAMADA, 2004).

CLASSE	EXEMPLOS DE AGENTES ANTIMICROBIANOS
Ácidos orgânicos	Ácidos acético, benzóico, láctico, cítrico, málico, propiônico, sórbico, succínico, tartárico
Sal de ácido	Sorbato de potássio, benzoato de sódio
Anidrido ácido	Anidrido sórbico, anidrido benzóico
Ácido para benzóico	Propil parabeno, metil parabeno, etil parabeno
Álcool	Etanol
Bacteriocinas	Nisina, pediocina, subtilina, lacticina
Ácidos graxos	Ácido láurico, ácido palmitoléico
Éster de ácido graxo	Glicerol mono laurato
Agente quelante	EDTA, citrato, lactoferrina
Enzimas	Lisozima, glicose oxidase, lactoperoxidase
Metal	Prata, cobre
Antioxidantes	Butil-hidróxi- anisol, butil-hidróxi-tolueno, terc-butil-hidróxi quinona, sais de ferro
Antibiótico	Natamicina
Fungicida	Benomil, imazalil, dióxido de enxofre
Sanitizante	Ozônio, dióxido de cloro
Polissacarídeo	Quitosana
Fenólicos	Catequina, cresol, hidroquinona
Óleos voláteis de plantas	Alil isotiocianato, cinamaldeído, eugenol, linalool, terpineol, timol, carvacrol

Entretanto, um dos produtos mais discutidos e estudados é a zeólita onde íons de sódio são substituídos por íons de prata, convertendo atividade antibacteriana ao material. Elas apresentam poros que permitem a retenção, no interior de sua rede cristalina, de moléculas de dimensão inferiores às dimensões de seus poros e cavidades, criando um fenômeno de adsorção seletiva. Os íons de prata são

absorvidos pelas células microbianas que interrompem a atividade enzimática das células (OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004; BRODY; STRUPINSK; KLINE, 2001).

No Japão a zeólita com prata tem sido utilizada como o agente antimicrobiano, podendo ser incorporada em plásticos utilizados em material hospitalar, e em polímeros como polietileno, polipropileno, estireno de nylon e butadieno, em concentrações de 1 a 3%. Ela também é impregnada em cerâmica revestida manufaturadamente e é usada para preservação de alimentos, desinfecção de produtos médicos e descontaminação de materiais. (BRODY et al., 2001; SUPPAKUL et al., 2003; KOURAI et al., 1994; KAWAHARA et al., 2000).

Estes materiais já são utilizados em catéters, no controle de infecções nos aparelhos urinários e em materiais odontológicos (MATSUMURA et al., 1997). Uma das vantagens em utilizar as zeólitas é que elas possuem força mecânica elevada além da boa estabilidade térmica e química (CIOBANU et al., 2007).

O uso de agentes antimicrobianos deve seguir as recomendações e aprovação de agências reguladoras. Ele deve ser classificado como um aditivo de embalagem, substância de contato com alimentos ou como ingrediente ou aditivo de alimentos (AZEREDO et al., 2000). Diversas substâncias já foram aprovadas pelo FDA (“Food and Drug Administration”), nos Estados Unidos. No Brasil a legislação ainda não se pronunciou em relação aos aditivos nas embalagens. A Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) vem fazendo reuniões para definir o posicionamento em relação às embalagens antimicrobianas (SUPPAKUL, et al., 2003).

2.1.2 Prata como agente antimicrobiano

A atividade bactericida do íon de prata é conhecida há muito tempo, sendo utilizada em uma grande variedade de compostos como agentes tópicos aplicados para tratamento de queimaduras e de infecções oculares, além de ser utilizada como aditivo em materiais odontológicos e polímeros para embalagens de alimentos, dentre eles polietileno, polipropileno e poliamida (MATSUMURA et al., 2003; PEHLIVAN et al., 2005; KAWAHARA et al., 2000; RADHESKUMAR & MUNSTEDT 2006).

A emergente resistência e toxicidade de alguns materiais antimicrobianos realçaram o interesse no uso da prata como agente antimicrobiano. Ela possui propriedades originais, que a diferenciam de outros aditivos antimicrobianos, como elevada estabilidade térmica, atividade em longo prazo e se comparada com outros metais pesados, é relativamente menos tóxica ao ser humano com grande atividade antimicrobiana em baixas concentrações. O risco de desenvolvimento de resistência é completamente baixo (RADHESHKUMAR & MUNSTEDT, 2006; AWUAH et al., 2007; DAMM et al., 2008).

Os íons de prata atuam sobre uma grande variedade de bactérias, fungos e leveduras, por meio da alteração de seus metabolismos. Seus íons inativam as membranas das proteínas resultando na falha do DNA, igualmente ajudam na geração de espécies reativas de oxigênio. Os íons de prata dão forma a complexos com enxofre, nitrogênio ou oxigênio atuando dentro das bactérias, podendo conduzir a defeitos na divisão celular de modo que o plasma seja perdido (MATSUMURA et al., 2003; OLIVEIRA & OLIVEIRA, 2004; AWUAH et al., 2007; DAMM et al., 2008).

Em 9 de junho de 2000 a tecnologia do íon de prata recebeu a aprovação da Agência de Medicamentos e Alimentos (AMA) para alimentos e polímeros no mercado dos EUA (QUINTAVALLA & VICINI, 2002). Em uma concentração de $\mu\text{g L}^{-1}$ em água já podem matar bactérias, sendo esta concentração abaixo do nível de toxicidade que é de 10 mg de íons de prata por litro de água (SCHIERHOLZ et al., 1998; SCHIERHOLZ et al., 1999).

A propriedade antimicrobiana da prata é relacionada com a quantidade de prata e a taxa de prata liberadas. A prata em seu estado metálico (Ag^0) é inerte, mas reage com a umidade na pele ou alimento em que está em contato e começa a ionizar se tornando altamente reativa (Ag^+) (LANSDOWN, 2002; CASTELLANO et al., 2007).

Por causa destas propriedades particulares, a prata vem sendo incorporada em diferentes materiais como polímeros ou revestindo polímeros e em zeólitas conduzindo frequentemente à geração de materiais antimicrobianos. Os filmes contendo prata precisam liberar esses íons de prata para o ambiente onde se encontre o microrganismo, e esta condição é realizável em meio aquoso onde haverá interação entre as moléculas de água e a prata produzindo os íons de prata que realmente serão ativos (KAWASHITA et al., 2000). São propostas substâncias poliméricas que contenham grupos funcionais orgânicos onde ocorra a troca iônica retendo os íons metálicos.

RADHESKUMAR & MUNSTEDT (2006) obtiveram eficácia antimicrobiana do polipropileno contendo prata, entretanto, observaram que sua atividade seria prolongada se a mesma estivesse suportada em algum material. Neste contexto, estão sendo utilizados os materiais zeolíticos, que atuam como um reservatório inorgânico. Eles são utilizados como materiais suportes para a prata, fornecendo canais para as moléculas de água, melhorando a incorporação da matriz do polímero e dando características de difusão. Dessa forma, os íons de prata são liberados de uma forma controlada (MATSUURA et al., 1996; ABE et al., 2004).

A boa permutabilidade dos íons de prata na zeólita pode ser explicada pela polaridade elevada dos íons de prata. A carga eletrostática da estrutura da zeólita é capaz de polarizar os íons de prata de modo que se transformem em dipolos direcionando sua carga positiva para a extremidade carregada da estrutura (PEHLIVAN et al., 2005). O processo de liberação do íon de prata do material zeolítico é composto de três processos: difusão da água no composto, reação entre as moléculas de prata e água formando íons de prata e a migração dos íons de prata através do composto que conduz à liberação do agente ao ambiente da embalagem. O portador do material pode ser eficaz acelerando a difusão das

moléculas de água e a migração dos íons de prata através de matriz do polímero (RADHESHKUMAR & MUNSTEDT, 2006; MATSUMURA et al., 2003).

No Japão, as zeólitas contendo íons de prata são de grande interesse para os fabricantes que podem aplicar compostos antimicrobianos em seus produtos, e já são utilizadas em materiais como escovas dentais, utensílios de cozinha, brinquedos para crianças e instrumentos médicos (MATSUMURA et al., 2003; PEHLIVAN et al., 2005). Estudos demonstram que a incorporação de Zeólita-Ag em polímeros como polietileno é suficiente para reduzir, na superfície do plástico, o número de células de bactérias em 24 horas. Como a Ag-zeólita apresenta alta resistência térmica, esta pode ser incorporada aos polímeros por extrusão (BRODY; STRUPINSK; KLINE, 2001).

Outra forma do uso da prata como agente antimicrobiano é na forma de nanopartículas. O uso das nanopartículas está ganhando ímpeto neste século pelas propriedades químicas, óticas e mecânicas. Elas são consideradas promissoras devido à sua grande área superficial e já estão sendo utilizadas como droga desinfetante (RAI et al., 2009).

2.1.3 Incorporação de antimicrobianos em embalagens plásticas

Os trabalhos relacionados com embalagens antimicrobianas consideram a estrutura de monocamada, ou que a camada interna tenha atividade antimicrobiana e a externa ação de barreira e estrutura. Seria de grande importância a ampliação de estudos sobre multicamadas. A primeira camada, externa, previne a perda de substâncias ativas para o ambiente e atua como barreira e proteção; a segunda, intermediária, contendo o agente antimicrobiano; e a terceira, interna e em contato com o alimento, ser preparada em termos de difusividade e espessura para controlar o crescimento do microrganismo (BUONOCORE, 2005).

A base fundamental para os sistemas de embalagens ativas, com ação antimicrobiana, é a incorporação de substâncias antimicrobianas no polímero, e que atuem sobre o alimento sob uma das duas formas: o antimicrobiano é imobilizado, e

atua apenas na superfície de contato, ou quando o material ativo é colocado em contato com a umidade do alimento, o antimicrobiano é liberado e atua sobre o mesmo. Em ambos os casos, o objetivo do sistema é aumentar a vida de prateleira do alimento inibindo o crescimento microbiano e conservando suas propriedades sensoriais (BUONOCORE, 2005).

Os controles de migração para a superfície do alimento e a cinética de crescimento do microrganismo alvo são muito importantes e precisam ser avaliadas adequadamente. Quando a taxa de migração do antimicrobiano é maior do que a taxa de crescimento do microrganismo, a concentração do agente será inferior à concentração inibitória mínima (CIM) antes do término do período de estocagem esperado. Consequentemente o microrganismo irá crescer após a redução do agente. Por outro lado, quando a taxa de migração for muito lenta, o microrganismo crescerá antes da migração do agente antimicrobiano. A concentração do agente na superfície do alimento depende da taxa de migração, e é altamente dependente solubilidade do antimicrobiano no alimento. Deve-se conhecer o perfil de migração do agente e este precisa ser controlado para se obter ação antimicrobiana constante e acima da CIM durante toda vida de prateleira do alimento (HAN, 2003).

2.2 Polietileno de baixa densidade (LDPE)

O polietileno é um polímero parcialmente cristalino, flexível, cujas propriedades são acentuadamente influenciadas pela quantidade relativa das fases amorfa e cristalina. As menores unidades cristalinas, lamelas, são planares e consistem de cadeias perpendiculares ao plano da cadeia principal e dobradas em zig-zag, para cada 5 a 15nm, embora haja defeitos que são pouco frequentes (COUTINHO, et al., 2003). Ele é o plástico mais barato usado na fabricação de embalagens. É inodoro, insípido, atóxico e biológica e quimicamente inerte (MOURA, 1990).

Dependendo das condições reacionais e do sistema catalítico empregado na polimerização, cinco tipos diferentes de polietilenos podem ser produzidos: Polietileno de baixa densidade (LDPE); Polietileno de alta densidade (HDPE);

Polietileno linear de baixa densidade (LLDPE); Polietileno de ultra alto peso molecular (UHMWPE) e Polietileno de ultra baixa densidade (ULDPE) (COUTINHO et al., 2003).

Dentre eles, o polietileno de baixa densidade que foi utilizado neste trabalho, é um polímero parcialmente cristalino (50 – 60%), cuja temperatura de fusão (T_f) está na região de 110 a 115°C. A espectroscopia na região do infravermelho revela que o polietileno de baixa densidade contém cadeias ramificadas de dois tipos diferentes. O primeiro possui ramificações devido à transferência de cadeia intermolecular (PEREIRA, et al., 1997). Essas ramificações são na maioria das vezes, tão longa quanto a cadeia principal do polímero (Figura 3). Esse tipo de ligação tem um efeito acentuado sobre a viscosidade do polímero em solução.



Figura 3 – Exemplo de ramificações devido à transferência de cadeia intermolecular.

O segundo possui ramificações devido à transferência de cadeia intramolecular (Figura 4). Essas ramificações curtas são principalmente n-butila, porém grupos etila e n-hexila, em menores proporções, também são formados pela transferência de cadeia intramolecular, mostrado na Figura 4 (BILLMEYER, 1984; PEREIRA et al., 1997).

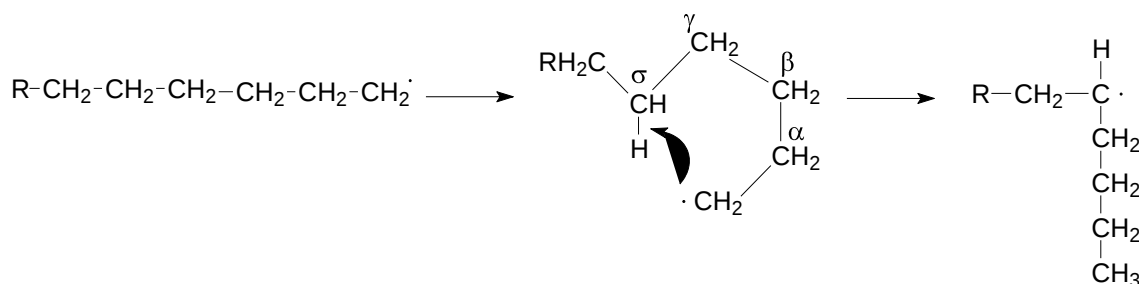


Figura 4 – Exemplos de ramificações devido à transferencia de cadeia intramolecular.

A ampla utilização do polietileno se deve ao seu baixo custo, características físicas, químicas e elétricas. O polietileno de baixa densidade tem sido largamente utilizado como isolante elétrico. Ele pode ser processado por extrusão, moldagem por sopro e moldagem por injeção. Assim sendo, é aplicado como filmes para embalagens industriais e agrícolas, filmes destinados a embalagens de alimentos líquidos e sólidos, filmes laminados e plastificados para alimentos, embalagens para produtos farmacêuticos e hospitalares, brinquedos e utilidades domésticas, revestimento de fios e cabos, tubos e mangueiras (COWIE, 1991; Catálogos de produtos OPP, 2000).

2.3 Zeólitas

Ao se falar de zeólitas se faz referência a uma família de minerais que são aluminossilicatos hidratados altamente cristalinos que ao se desidratar transformam-se, num cristal ideal, em uma estrutura porosa com diâmetro de poros que vão desde 3 a 20 Å é obtida. Faz-se referência também a uma família de minerais naturais ou sintéticos aos quais teriam propriedades de troca de íons e dessorção reversível de água, dando assim origem à palavra zeólita que é a união das palavras gregas, Zeo: que ferve e Lithos: pedra. Elas apresentam uma grande variedade de minerais tanto sintéticos como naturais que possuem características estruturais comuns. O corpo cristalino é formado pela combinação tridimensional de tetraedros TO_4 onde $T = Si, Al, B, Ga, Ge, Fe, P, Co$, etc, os quais se unem por meio de átomos

de oxigênio comuns (MARTINEZ, 2002). Os tetraedros enlaçados contêm cavidades na forma de canais e caixas, que comumente estão ocupadas por moléculas de água e cátions. A estrutura pode ser interrompida por grupos (OH, F) que ocupam os vértices dos tetraedros adjacentes. Estes canais são suficientemente largos para permitir a passagem de espécies hospedeiras. Sua desidratação ocorre geralmente em 400°C e é amplamente reversível (GIANNETTO, et al., 2000).

Este tipo de estruturas microporosas faz com que as zeólitas tenham uma superfície interna muito maior que a superfície externa. Os microporos destes sólidos são abertos e sua estrutura permite a transferência de material daquelas moléculas que tenham dimensões menores com certo valor crítico no qual pode variar de zeólita para zeólita. As Zeólitas podem ser classificadas por seu tamanho de poro θ (MEIER & OLSON, 1996):

Extragrande $\theta > 20 \text{ \AA}$

Grande $6 \text{ \AA} < \theta < 20 \text{ \AA}$

Médio $5 \text{ \AA} < \theta < 6 \text{ \AA}$

Pequeno $3 \text{ \AA} < \theta < 5 \text{ \AA}$

Para melhor compreensão das zeólitas como materiais, é necessário levar em conta dois aspectos importantes: conhecer sua composição química e entender sua estrutura cristalina. Recordando que uma estrutura cristalina se define como o arranjo espacial dos átomos numa célula unitária e sua relação entre eles, para mostrar as distâncias e os ângulos interatômicos. A forma mais simples de conhecer as zeólitas é por meio de sua unidade estrutural básica, que é a configuração tetraédrica de quatro átomos de oxigênio ao redor de um átomo central geralmente Si e Al (TO_4).

É complicado visualizar estruturas completas e densas com a simples combinação de tetraedros de SiO_4 e AlO_4 . É por isso que se recorrem as SBU que são Unidades Secundárias de Construção, que são originadas pela união de tetraedros que ao se combinarem conduzem a diferentes estruturas de zeólitas. Um

exemplo é a caixa sodalita que, quando unida de formas diferentes, origina diferentes estruturas, tais como a da zeólita Y e a Faujasita como na Figura 5 (IZA).

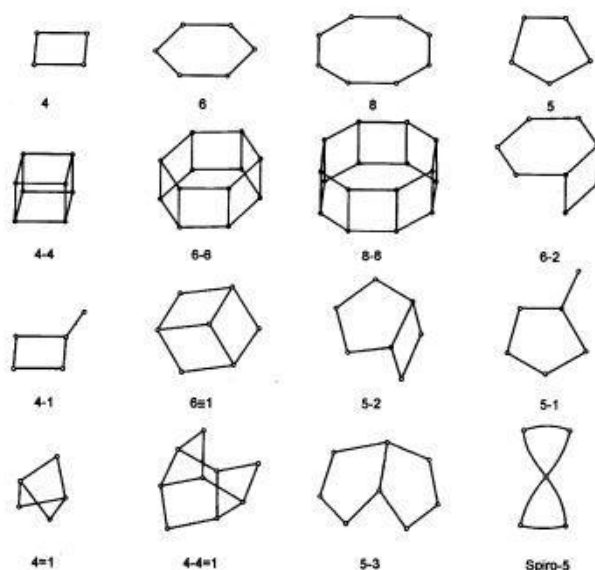


Figura 5 - Unidades secundárias de construção SBU (DYER, 1988)

Partindo destas SBU se faz uma classificação estrutural das zeólitas, onde cada grupo ou família está caracterizado por uma SBU particular. Mas em alguns casos as zeólitas podem ser visualizadas mais facilmente por meio de unidades poliédricas (Figura 6).

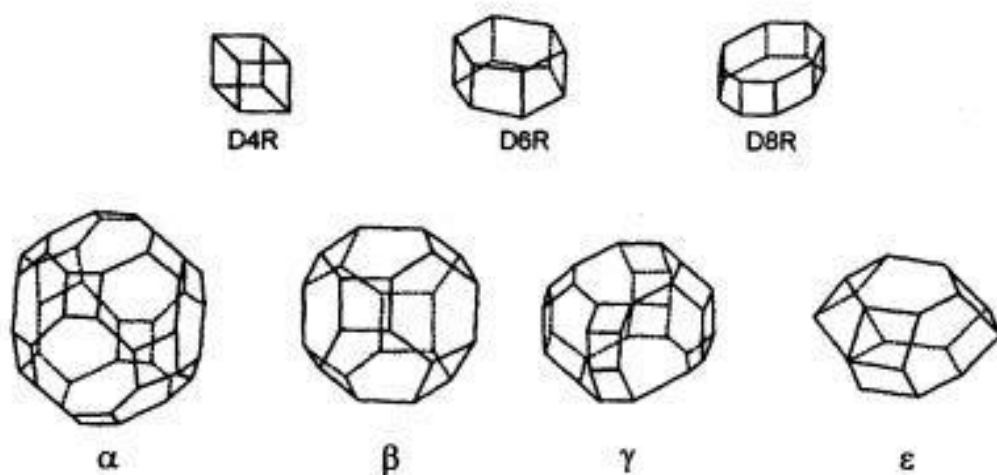


Figura 6 - Alguns poliedros presentes nas estruturas zeolíticas.

As zeólitas são tão interessantes, pois contam com um caráter microporoso, com poros de dimensões uniformes, exercendo uma seletividade geométrica ou de forma tanto nos estados reativos como nos estados de transição. Além disso, possuem propriedades de transição, troca catiônica, acidez interna e alta estabilidade térmica (ARENDS et al., 1997).

Sua capacidade de adsorção depende do volume e diâmetro de poros, permitindo ser utilizada em processos de purificação, separação, diminuir a dureza de águas domésticas e industriais, e ainda serem utilizadas como suportes de medicamentos e fertilizantes (MARQUEZ, 2000).

Processos de refinação, petroquímica e química fina utilizam zeólitas como base de catalisadores devido à melhora na atividade e seletividade. As zeólitas são os catalisadores mais utilizados nas transformações de hidrocarbonetos em refinação de petróleo e petroquímica, desempenhando também um papel importante na proteção do meio ambiente, permitindo produzir de forma ecológica, combustível e produtos de base para a indústria química (SHELDON, 1996; GIANNETTO, et al., 2000).

2.3.1 Zeólita Y

A zeólita Y possui a mesma estrutura de outra zeólita chamada de X, a diferença está na relação Si/Al. A zeólita X tem uma relação Si/Al compreendida entre 1 e 1,5; enquanto que a zeólita Y tem relação Si/Al maior que 1,5. A estrutura está esquematizada na Figura 7 e apresenta dois sistemas de canais interconectados entre si (IZA):

- um sistema formado pela união de supercaixas α (diâmetro interno de 12,4Å), a qual se ingressa por aberturas formadas por 12MR (anéis de 12 membros) de diâmetro igual a 7,8 Å.
- Um sistema de canais formado pela conexão alternada de caixas sodalitas (diâmetro interno igual a 6,6 Å) e supercaixa α , o qual se penetra por aberturas de 6MR de diâmetro igual a 2,2 Å.

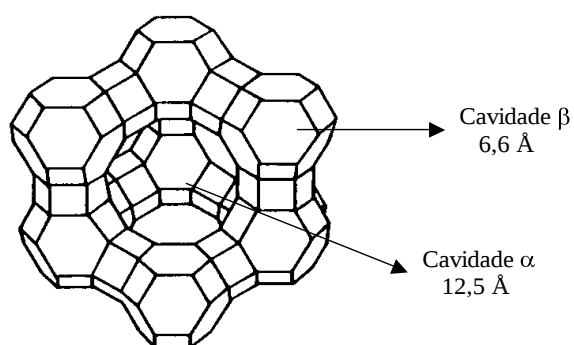


Figura 7 – Estrutura da zeólita Y.

Se este segundo sistema de canais, devido ao seu pequeno tamanho de poro, é inacessível para moléculas orgânicas e inorgânicas, o primeiro é o suficientemente grande para permitir o acesso da maioria das moléculas orgânicas normalmente utilizadas como reagentes.

Por isto, esta zeólita trocada por cátions multivalentes e/ou sob forma protônica, lhe confere a grande utilização industrial em numerosos processos de refino e petroquímica, especialmente no craqueamento catalítico (SHELDON, 1996).

2.4 Métodos de Avaliação da Atividade Antimicrobiana

O desenvolvimento de embalagens antimicrobianas depende de métodos de avaliação destas embalagens com relação à eficácia em reduzir a contagem microbiana de alimentos, ou avaliar a capacidade da embalagem ativa em limitar o crescimento do microrganismo. Existem várias técnicas para essa avaliação como experimentos microbiológicos, através da inoculação dos microrganismos alvos na superfície do alimento, em contato com o material antimicrobiano e com a estocagem. Entre os mais usados destaca-se o método de difusão em placas e a concentração inibitória mínima (CIM) (BRODY et al., 2001). No Japão o método padrão utilizado para avaliar a eficiência de produtos contendo agentes antimicrobianos é o SIAA-1998, com as zeólitas contendo prata (APPENDINI & HOTCHKISS, 2002).

2.4.1 Antibiograma em Meio Sólido

O método de difusão em placas fornece informações sobre a sensibilidade ou resistência de um microrganismo a um determinado agente antimicrobiano. Para o teste, um disco de papel filtro é impregnado com o agente antimicrobiano ou o filme antimicrobiano em concentrações apropriadas e aplicadas sobre o meio de cultura recém semeado com a bactéria a ser testada. O agente difunde-se pelo meio, formando um gradiente decrescente de concentração a partir do disco. Se a bactéria for sensível ao agente, seu crescimento será inibido, formando um halo de inibição em torno do disco, caso contrário, a bactéria crescerá normalmente (BARBOSA & TORRES, 1998; BLACK, 2002).

O diâmetro da zona de inibição de crescimento bacteriano dependerá da habilidade da substância em teste de se difundir uniformemente pelo meio de cultura. Este método é reconhecido e satisfatório para determinar a sensibilidade de muitos microrganismos a determinados fármacos e suficientes quando o mecanismo de resistência decorre da degradação enzimática do agente antimicrobiano pelo organismo, embora forneça resultados semi-quantitativos, e de acordo com alguns autores, qualitativos e nem sempre reproduzíveis (KATZUNG, 2003; KALEMBA & KUNICKA, 2003).

2.4.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Segundo BARBOSA & TORRES (1998), a determinação da concentração inibitória mínima é um teste adequado para conhecer a concentração de um antimicrobiano capaz de inibir o crescimento de um dado microrganismo. Esta concentração é um parâmetro orientador da conduta terapêutica, especialmente nos casos de pacientes imunodeprimidos. Também é útil em levantamentos epidemiológicos de resistência e para a avaliação de novos antimicrobianos.

A concentração inibitória mínima (CIM) é definida como a menor concentração de antimicrobiano que resulta na falta de crescimento de

microrganismos visíveis (TORTORA *et al.*, 2000). Pode ser determinada através de métodos de contagem direta, tais como, microscopia e câmaras eletrônicas ou por métodos de contagem indireta como plaqueamento e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) e também em princípios baseados na turbidez óptica, através das medidas de absorbância em meio líquido adequado ao crescimento do microrganismo selecionado, juntamente com o agente antimicrobiano em concentrações diferentes. Pesquisadores que utilizam o método de diluição estão normalmente interessados na determinação da CIM e somente em alguns casos utilizam concentração letal mínima (CLM) (PELCZAR *et al.*, 1996; KALEMBA & KUNICKA, 2003).

Métodos de diluição oferecem resultados quantitativos, podendo-se determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIM), ainda que dependentes de muitos fatores como temperatura, dispersão em meios aquosos, tempo de incubação e a quantidade do inóculo utilizado no teste (BAGAMBOULA *et al.*, 2004).

Após a inoculação das bactérias estudadas e das diferentes concentrações de antimicrobianos, as placas são incubadas em tempo e temperatura adequados. Transcorrido o tempo determinado, interpreta-se os resultados obtidos e, a menor concentração, que inibir o crescimento bacteriano corresponde à CIM. As medidas de densidade óptica ou absorbância são feitas em espectrofotômetros. Este método é considerado eficiente sendo bastante utilizado devido à sua rapidez e facilidade de execução. Porém, mede células vivas e mortas, sofrendo interferências de substâncias presentes que absorvem a luz (BARBOSA & TORRES, 1998; BLACK, 2002; KALEMBA & KUNICKA, 2003).

MAGANA *et al.* (2008) avaliaram a atividade antibacteriana das Montmorilonitas impregnadas com 30% (w/w) de prata (AgNO_3) para analisar o crescimento da bactéria *Escherichia coli* e obtiveram valores de CIM de $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Enquanto que KAWAHARA *et al.* (2000) avaliaram a atividade antibacteriana de uma zeolita comercial que é impregnada com prata (Zeomic) produzidas no Japão e obtiveram CIM entre 256 e 2048 $\mu\text{g/mL}$ para *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Tendo em vista os fatos apresentados relacionados com a contaminação antimicrobiana dos alimentos, e a importância de se amenizar tal ocorrência, este trabalho justamente busca formas para reparar este mal causado por microrganismos aumentando a segurança do alimento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Para realização deste trabalho foi utilizada uma Zeólita Y comercial (CBV 100) cedida pelo Instituto de Tecnologia Química de Valência – Espanha.

O microrganismo testado para atividade antimicrobiana foi a bactéria *Escherichia coli* (ATTC 25922) (Gram-negativa) da coleção do Laboratório de Microbiologia da Universidade Regional Integrada – URI – Campus de Erechim

Nas análises microbiológicas foram utilizados dois meios diferentes para inoculação da bactéria: Lúria Bentani (LB) para os testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) contendo triptona (Vetec 10 g/L), extrato de levedura (Vetec 5g/L) e cloreto de sódio (Reagen 5 g/L), e o meio de cultura Agar Muller-Hinton (Merck 34 g/L) para os testes de difusão em placas.

O material utilizado para a preparação dos filmes antimicrobianos foi o Polietileno de Baixa Densidade (LDPE) cedido pelo Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O agente antimicrobiano utilizado foi o Nitrato de Prata (Merck).

Para os testes de solubilização do polímero foram empregados os seguintes solventes: ciclohexano (Nuclear), tolueno (Nuclear), benzeno (Reagen), acetato de etila (Vetec), tetrahidrofurano (Nuclear), N,N-dimetilformamida (Nuclear), 1-metil, 2-pirrolidona (Merck) e 1,2-diclorobenzeno (Merck).

3.2 Métodos

3.2.1 Incorporação da prata na Zeólita Y

A incorporação da prata na Zeólita Y comercial foi realizada pelo método de troca iônica. Em um sistema de refluxo foram adicionados aproximadamente 3g da Zeólita e 50 mL de soluções de Nitrato de prata nas concentrações de 5, 1 e 0,5%. Estes sistemas foram mantidos a 80°C em agitação magnética por 16 horas. Posteriormente, a zeólita foi seca na estufa a 100°C e armazenada em recipientes herméticos.

3.3 Técnicas de caracterização dos materiais

A caracterização da Zeólita Y impregnada com prata foi realizada através de diversas técnicas complementares como: Difração de Raios – X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Emissão de Raios – X por Dispersão de Energia (EDX), Análise Textural por Adsorção de Nitrogênio, e Análise de Absorção Atômica (AAS).

Os polímeros obtidos foram caracterizados por Análise Termogravimétrica (TGA), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e cor instrumental.

3.3.1 Difração de raios – X (DRX)

A difração de raios – X baseia-se no efeito da difração de raios – X nos planos do retículo cristalino do sólido, segundo a Lei de Bragg:

$$\lambda = 2d_{(h,k,l)} \cdot \sin\theta$$

O difratômetro de raios – X utilizado foi um DIFFRAKTOMETER modelo D5000 (Siemens), com filtro de Ni utilizando radiação $Cu-K\alpha$ ($\lambda = 1,54\text{\AA}$). As análises foram

realizadas no Laboratório de Difratometria de raios - X - Instituto de Geociência da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Emissão de Raios – X por Dispersão de Energia (EDX)

As análises de MEV e EDX foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo SSZ 550 (Shimadzu) e JSM 5800, ambos operando em 20 kV, respectivamente. Cada amostra foi preparada pela deposição dos sólidos em fita dupla face colada em um porta-amostra de alumínio e posterior metalização com ouro, realizadas na UFRGS.

3.3.3 Análise Textural por Adsorção de Nitrogênio

A área superficial e o volume de poros foram calculados a partir das isotermas de adsorção de nitrogênio a 77K usando um aparelho Quantachrome modelo Autosorb 1MP de amostras degaseificadas a 300°C por 8 horas, realizadas no Laboratório de Catálise do Departamento de Engenharia Química, da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

3.3.4 Análise de Absorção Atômica por Plasma (AAP)

A análise química global foi realizada nas zeólitas utilizando um Espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Spectro Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments, Alemanha) equipado com nebulizador pneumático do tipo “cross-flow” (Spectro Analytical Instruments), câmara de nebulização de duplo passo (tipo Scott, Spectro Analytical Instruments) e tocha com injetor de quartzo (Glass Expansion, Austrália). O plasma foi gerado a partir de argônio (99,996% de pureza,

White Martins, Brasil). As condições e operação do ICP OES são: potência do gerador de radiofrequência 1400W, vazão de argônio principal 14,0 L min⁻¹, vazão de argônio auxiliar e do nebulizador 1,0 L min⁻¹.

Os metais analisados foram: Na, Al, Si e Ag, realizadas no Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

3.3.5 Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises Termogravimétricas (TGA) foram realizadas em um analisador TGA Q50 V6.4 Build 193 no Laboratório de Reatividade e Catálise da UFRGS. As amostras foram aquecidas no intervalo de 25 a 200°C com uma taxa de aquecimento de 10°C/min, sob atmosfera de N₂.

3.3.7 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

As análises de DSC foram realizadas no equipamento modelo DSC-2100 (TA Instruments) no Laboratório de Reatividade e Catálise da UFRGS. As amostras foram aquecidas de 40°C a 180°C, mantendo-as nessas temperaturas durante 5 minutos. E em seguida, resfriadas até -20°C, sendo novamente aquecidas até 180°C e, posteriormente resfriadas até 40°C, sob fluxo de nitrogênio (70 mL.min⁻¹).

3.3.7 Análise de cor instrumental

Os parâmetros da descoloração consistem em três medidas que são valores de **L**, **a** e **b**. **L** varia de 0 a 100, designando a transição de cor do preto (0) ao branco (100). Os valores de **a** e **b** são a transição do meio verde para vermelho e azul para amarelo, respectivamente (PEHLIVAN et al., 2005).

Como amostra de referência foi utilizada o filme de LDPE sem a incorporação de zeólita. Foram medidas também as intensidades dos filmes com diferentes quantidades de zeólita com e sem prata. As análises foram realizadas em um colorímetro Minolta modelo CR400.

3.4 Atividade antimicrobiana da zeólita Y impregnada com prata

A análise da atividade antimicrobiana da zeólita foi realizada pelo método da Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando cepas de *Escherichia coli*. Para determinar a CIM foi utilizado o método indireto de crescimento bacteriano através de densidade óptica em meio de cultura líquido. A bactéria selecionada foi cultivada em meio de cultura caldo Lúria Bertani (LB) à temperatura de 37°C durante 24 horas. Após o crescimento da bactéria, 40µL do pré-inóculo foi inoculado em 4 mL de caldo LB contendo diferentes quantidades de zeólitas impregnadas com prata. Após este procedimento de inoculação, os tubos foram incubados sob agitação recíproca por 24 horas em aproximadamente 32°C.

Nos períodos de 0 e 24 horas respectivamente, foram transferidas alíquotas de 120 µL da cultura bacteriana para microplacas de fundo chato, realizando-se três repetições de leitura para cada quantidade de zeólita utilizada no experimento. A avaliação do crescimento microbiano foi determinada através da leitura de densidade óptica pelo leitor automático de microplacas marca Bio-Tec Instruments Inc., modelo EL800, acoplado em um computador com programa KcJunior, com comprimento de onda de 490nm. As quantidades de zeólitas testadas foram de 0,025 a 25 mg de zeólita/mL.

3.5 Teste de lixiviação da prata no meio

Para avaliar o perfil da liberação de prata da zeólita e do polímero para o meio, foram realizados testes de lixiviação seguindo o mesmo procedimento para atividade antibacteriana descrito no item 3.2.3, entretanto não sendo utilizada a bactéria. Após

separar as zeólitas do meio por decantação, o sobrenadante foi analisado em relação ao teor de prata por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS, VARIAN modelo AA55) utilizando lâmpada de cátodo oco ($\lambda = 328\text{nm}$) e uma mistura de ar e acetileno.

3.6 Preparo dos filmes poliméricos

Os filmes de polietileno (LDPE) foram preparados por dois métodos diferentes: prensagem e solubilização.

As amostras foram prensadas de 80°C a 130°C, no equipamento Carver, modelo 3710-ASTM, sendo utilizada pressão de 5 a 10 toneladas, com a finalidade de se obter filmes com espessuras homogêneas (0,2 – 0,3 mm) e resfriadas a temperatura ambiente realizadas na UFRGS.

Na solubilização o polímero é dissolvido usando um solvente apropriado para cada tipo de polímero. A solubilização foi testada com vários solventes, a diferentes temperaturas (0 a 120°C) por um tempo de 1 a 48 horas. Para os testes de solubilização adicionou-se 30 mL de 1,2-diclorobenzeno a 1g de LDPE, mantendo-se a mistura sob refluxo a 120°C por 3 horas. Após a homogeneização do polímero, a mistura foi espalhada em placa de Petri seguida da evaporação do solvente, em temperatura ambiente, até completa solidificação do filme.

3.7 Incorporação da Zeólita impregnada com prata no polímero

Seguindo o mesmo procedimento de solubilização do LDPE descrito no item 3.6, incorpora-se 1, 2, 3, 4, 5 e 10% de zeólita na solução polimérica a 120°C sob agitação magnética. Após a homogeneização do antimicrobiano, polímero e solvente, a mistura é espalhada em placa de petri para dar formato ao filme e evaporação do solvente, em temperatura ambiente, até completa solidificação do filme.

3.8 Atividade antimicrobiana do polímero

Para realização dos testes antimicrobianos do polímero foi utilizado o método de difusão em placas. Após o procedimento de incorporação da zeólita impregnada com prata no polímero e retirada do solvente para formação do filme, este foi recortado em discos de 7 mm de diâmetro e realizada a difusão em placas no meio de cultura Agar Muller-Hinton (Merck).

Foram utilizados 100 µL da cultura bacteriana e espalhados em placas de petri com o meio sólido. Em cada placa de petri foram inseridos 4 discos-testes de polímero, e deixadas na estufa de 24 a 48 horas a 37°C. Foram realizados testes com o polímero puro e com o polímero incorporado com zeólitas. As análises foram realizadas em triplicata.

Após este período foram verificados os diâmetros de halo como indicação de atividade antimicrobiana.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados e discussões referentes ao preparo de filmes com propriedades antimicrobianas. Estes estão divididos em caracterização da Zeólita impregnada com prata, determinação da atividade antimicrobiana desta zeólita, caracterização do polímero contendo a Zeólita impregnada com prata bem como a análise da sua atividade antimicrobiana.

4.1 Caracteriação da Zeólita Y impregnada com prata

A Figura 8 apresenta os difratogramas da Zeólita Y CBV100 antes e depois da impregnação das concentrações de prata, que são típicos da estrutura Faujasita (IZA). Comparando-se os difratogramas, observa-se que a estrutura zeolítica é mantida com a incorporação de Ag, ocorrendo apenas uma pequena diminuição da cristalinidade evidenciada pelo pequeno decréscimo da intensidade dos picos.

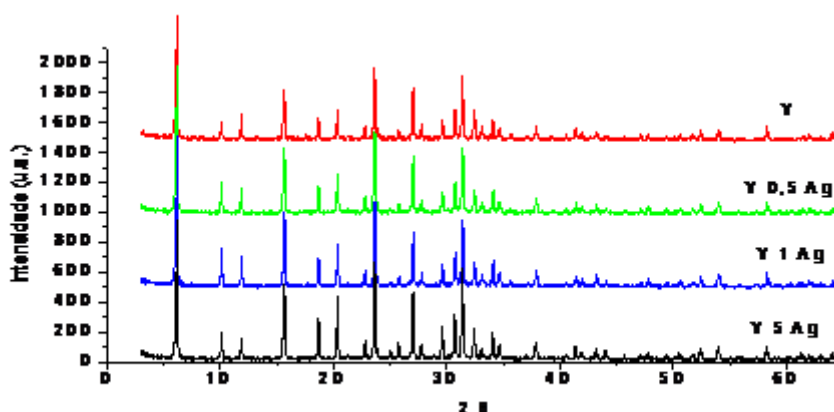


Figura 8 - Difratograma de Raios – X da Zeólita Y e das Zeólitas impregnadas com prata.

GARZA et al. (2000) impregnou até 10% de prata na zeólita clinoptilonita. Ele constatou que não houve alteração nos difratogramas das zeólitas após a

impregnação. Apenas em concentrações muito elevadas de prata a estrutura poderia ter alguma mudança significativa.

Conforme os resultados das análises de EDX (Figura 9 e Tabela 2) pode-se observar que o teor de Na, Al e Si se mantém aproximadamente constante com o processo de incorporação de Ag. A relação molar Si/Al dos materiais se mantém em aproximadamente 3,4 indicando que a incorporação de Ag não muda a composição química (superficial) dos materiais. Pode-se observar também a efetiva incorporação de prata na estrutura zeolítica. Este comportamento foi observado para todas as concentrações de prata impregnadas na zeólita. Os espectros de EDX das amostras com as outras concentrações de prata estão apresentados no anexo 1.

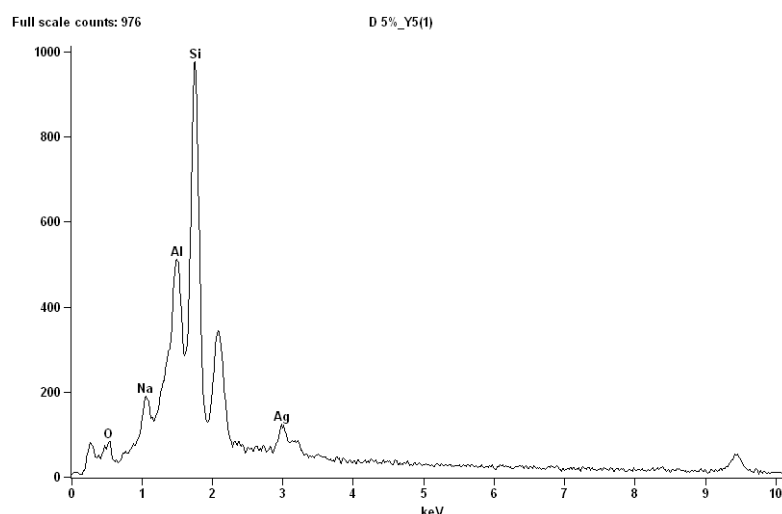


Figura 9 - Análise de EDX da zeólita Y impregnada com 5% de Ag.

A Tabela 2 apresenta também as cristalinidades dos materiais utilizando a Zeólita Y comercial como padrão (100%), bem como os valores de área específica BET. Comprova-se que o aumento da quantidade de Ag incorporada leva a uma perda de cristalinidade e área específica, provavelmente devido à uma pequena destruição da estrutura e ao bloqueamento dos poros com a Ag impregnada.

Tabela 2 - Valores de área específica BET e cristalinidade dos materiais zeolíticos.

	ÁreaBET (m ² /g)	Cristalinidade (%)
Zeólita Y pura	678	100
Zeólita Ag (0,5%)	668	90
Zeólita Ag (1%)	597	88
Zeólita Ag (5%)	474	81

Na Tabela 3 são apresentados os teores de Ag obtidos por EDX e Espectroscopia de Absorção Atômica por Plasma. Verifica-se que o teor de Ag global (por AAP) se aproxima do valor da solução de incorporação (0,5%, 1 e 5%). Os valores de Ag maiores são obtidos por EDX, provavelmente devido a uma maior concentração de Ag na superfície externa.

Tabela 3 - Composição química elementar (% em massa).

	EDX				AA
	Na	Al	Si	Ag	Ag
Zeólita Y 0,5% Ag	7,1	14,0	50,5	2,2	0,8
Zeólita Y 1% Ag	8,4	14,1	50,0	5,2	1,0
Zeólita Y 5% Ag	8,8	13,2	47,8	13,0	4,6

A avaliação da zeólita impregnada com as diferentes concentrações de prata através das micrografias permitiu observar a morfologia das estruturas zeolíticas. A Figura 10 mostra a morfologia da zeólita Y comercial pura (a); zeólita Y impregnada 0,5% de prata (b); com 1% de prata (c) e com 5% de prata (d). Observa-se nesta figura que o processo de incorporação de Ag nas estruturas não modifica a morfologia destas, estando de acordo com os resultados anteriores.

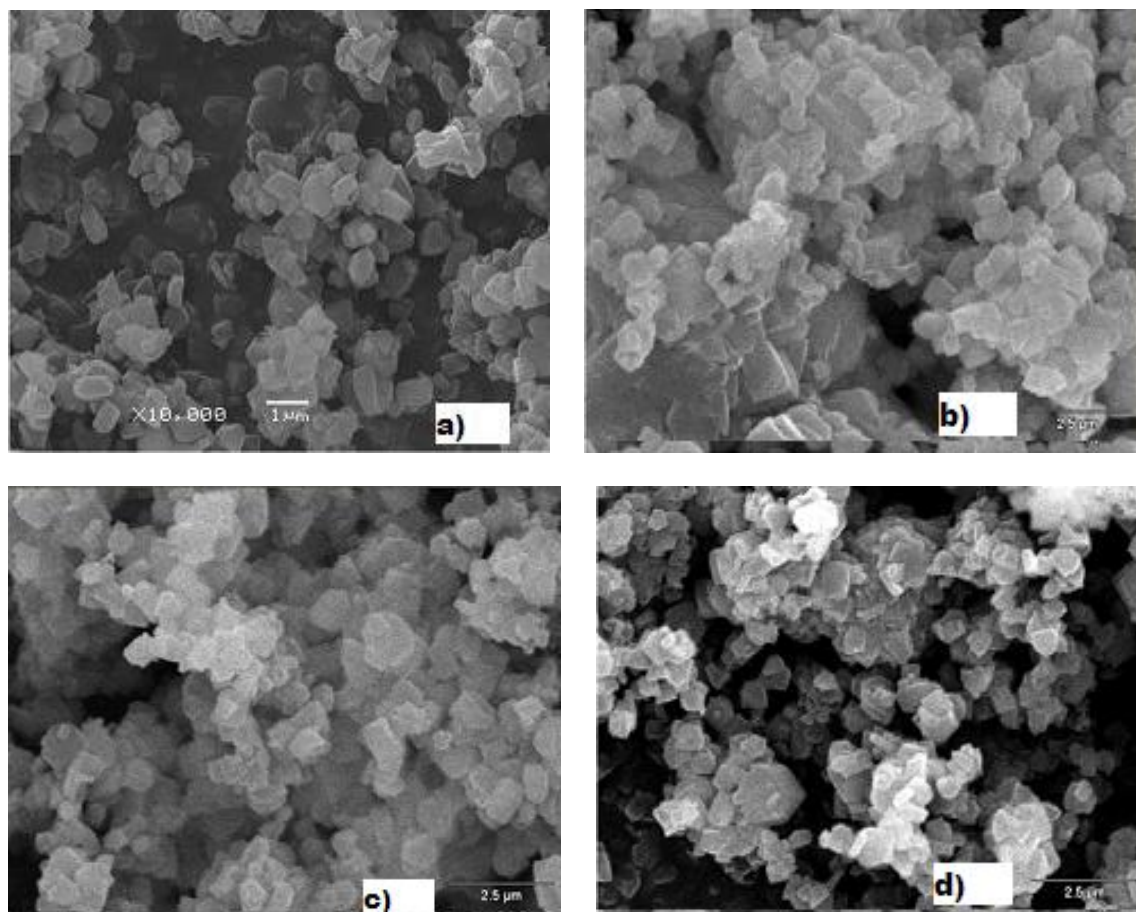


Figura 10 – Microscopia Eletrônica de Varredura, (a) da zeólita Y, (b) zeólita com 0,5% de Ag, (c) zeólita com 1% de Ag, (d) e zeólita com 5% de Ag.

BRIGHT et al. (2007) incorporou 5,8% de prata na zeólita X, que possui estrutura Faujasita como a zeólita Y, e estudou as possíveis mudanças nas estruturas zeolíticas devido à esta incorporação. Através de análises de MEV os autores constataram que as zeólitas com e sem prata possuíam o tamanho de partícula e aparência muito similares, confirmando que não houve alteração da estrutura zeolítica com a presença da prata, estando de acordo com os resultados obtidos neste trabalho.

4.2 Atividade antimicrobiana da zeólita Y impregnada com prata

A atividade antimicrobiana da zeólita Y impregnada com prata foi determinada pela concentração inibitória mínima (CIM) avaliada a partir da densidade óptica com comprimento de onda de 490 nm em microplacas. A CIM foi definida como a concentração de zeólita com prata mais baixa em que não houve nenhum crescimento visível detectável na leitura após 24 h de incubação. As análises foram realizadas através de testes com as zeólitas impregnadas com 5, 1 e 0,5% de prata em quantidades que variaram entre 0,025 a 25 mg de zeólita/mL. Além destes testes, foi realizado um teste com a zeólita Y comercial sem a impregnação da prata e outro apenas com a bactéria, sendo considerados brancos para posterior comparação da atividade antibacteriana (Tabela 4). Não foi possível realizar os testes com maior quantidade de zeólita, pois esta interfere na leitura espectrofotométrica, devido à grande quantidade de sólidos presentes no líquido.

Tabela 4 – Densidade óptica dos ensaios para análise da atividade antimicrobiana das zeólitas com e sem impregnação com prata. Valores obtidos pela diferença entre a leitura de 24 e 0 h de incubação.

Zeólita (mg/mL)	Teor de prata na Zeólita Y			
	0%	0,5%	1%	5%
0	1,15	1,05	1,08	1,23
0,025	1,53	0,89	0,64	0,47
0,05	1,73	0,88	0,61	0,45
0,075	1,87	0,85	0,52	0,33
0,1	1,88	0,82	0,51	0,29
0,25	1,87	0,81	0,49	0,16
0,5	1,90	0,79	0,47	0,07
0,75	1,89	0,78	0,46	0,08
1,0	1,87	0,80	0,58	0,08
2,5	1,85	0,76	0,51	0,08
5,0	1,89	0,75	0,48	0,06
7,5	1,85	0,76	0,46	0,06
10,0	1,98	0,78	0,47	0,06
25,0	2,34	0,77	0,49	0,05

A Tabela 4 mostra que houve uma pequena inibição do crescimento microbiano nas concentrações de 0,5% e 1%. No entanto, aumentando a quantidade de zeólita não houve maior inibição. Nota-se, portanto, que a concentração de 5% de prata houve a real inibição a partir de uma concentração de zeólita de 0,5 mg/mL.

Os testes realizados apenas com a zeólita Y sem a presença de prata não apresentaram nenhuma atividade antibacteriana, ocorrendo o crescimento acentuado da bactéria no meio, confirmando que a atividade antibacteriana exercida era devido à presença dos íons de prata na estrutura zeolítica que foi liberada gradualmente para o meio onde se encontrava o microrganismo.

Outros autores realizaram testes de atividade antimicrobiana de zeólita A e X impregnadas com 5,8% de prata mostrando que estas também apresentaram atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (AWUAH et al., 2007).

A Figura 11 exemplifica as atividades antimicrobianas para as três concentrações de prata na zeólita. Comparando-se as concentrações de prata incorporadas na zeólita pode-se observar mais uma vez que as concentrações de 0,5 e 1% não apresentaram atividade antimicrobiana satisfatória, ocorrendo o crescimento gradativo da bactéria. Entretanto, a concentração de 5% de prata inibiu o crescimento da bactéria dentro das 24 h do teste, mostrando ser um agente antimicrobiano eficiente. A concentração inibitória mínima encontrada para esta zeólita foi de 0,5 mg zeólita/mL correspondendo a 0,025 mg Ag/mL.

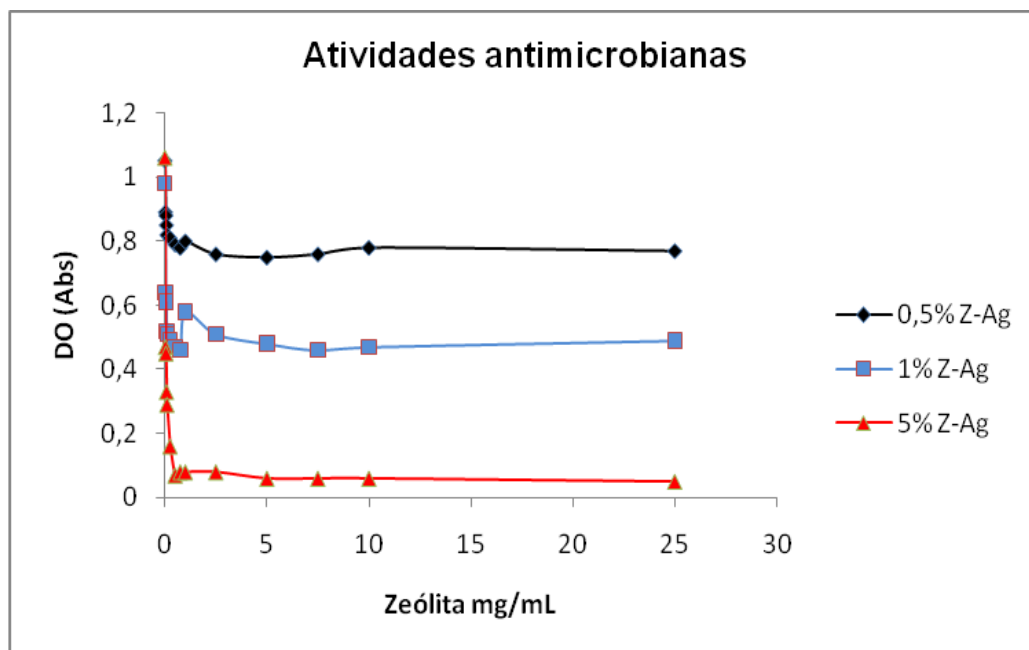


Figura 11 – Atividades antimicrobianas da zeólita Y impregnada com 0,5%, 1% e 5% de prata, contra *Escherichia coli* após 24 h de contato.

AWUAH et al. (2007) e KAWAHARA et al.(2007) afirmam que a zeólita é responsável pela liberação lenta e sustentada dos íons de prata da estrutura para o meio onde se encontram os microrganismos.

Segundo MATSUMURA (2003), FENG (2000) e YAMANAKA (2005), o mecanismo da ação bactericida ocorre primeriamente pelo contato da bactéria com a zeólita contendo prata. Os íons de prata são absorvidos pelo microrganismo, inibindo suas enzimas essenciais necessárias para produção de ATP. Essa ação igualmente inclui a plasmólise e o rompimento parcial da membrana citoplasmática e o rompimento da membrana exterior. YAMANAKA (2005) afirma ainda que a ação do íon de prata se deve principalmente pela interação com o citoplasma da célula.

4.3 Testes de lixiviação da prata no meio

Em embalagens antimicrobianas é necessário conhecer as condições e características de migração das substâncias adicionadas ao material de embalagem. É de interesse que estas substâncias migrem para a superfície do alimento, de forma a ter a ação antimicrobiana prevista, e ao mesmo tempo é necessário identificar a quantidade de substância que está presente no alimento no momento do consumo, de forma que seu teor esteja abaixo do limite máximo permitido para o alimento.

A taxa de lixiviação de prata (migração de prata para o meio aquoso) foi de 56% para as zeólitas que continham 5% de prata na estrutura. Quando estas zeólitas contendo prata são impregnadas ao polímero, a taxa de lixiviação cai consideravelmente para cerca de 5%. Isto mostra a dificuldade da liberação do agente antimicrobiano quando este está impregnado no polímero.

RADHESHKUMAR & MUNSTEDT (2006) impregnaram 8% de prata no polipropileno e avaliaram a quantidade de prata liberada do polímero por voltametria. Como a lixívia da prata está relacionada com seu contato em meio aquoso, este polímero ficou em contato com a água. Outro teste foi formar filmes compostos para analisar se a lixiviação da prata era apenas superficial. Foi observado que mesmo em filmes compostos havia liberação da prata para o meio, mas em menor quantidade, comprovando que a liberação não ocorre apenas com a prata superficial.

4.4 Caracterização do Polímero

Nas Figuras 12 e 13 se encontram as curvas de DSC mostrando o resfriamento e o segundo aquecimento respectivamente, para o filme puro e com diferentes quantidades de zeólitas incorporadas (1, 2, 3, 5 e 10%). Como se pode observar a impregnação da zeólita não apresentou efeito nas temperaturas de fusão e de cristalização.

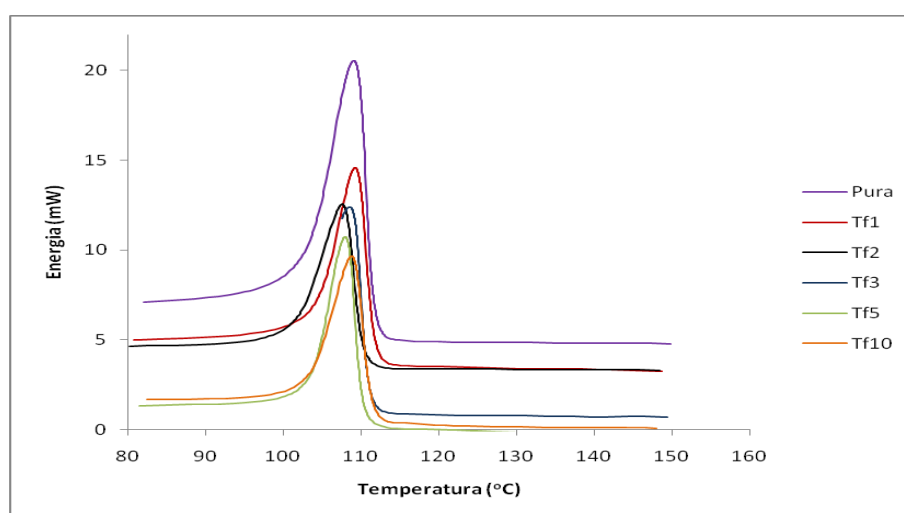


Figura 12 – Curva de DSC para temperatura de fusão do LDPE.

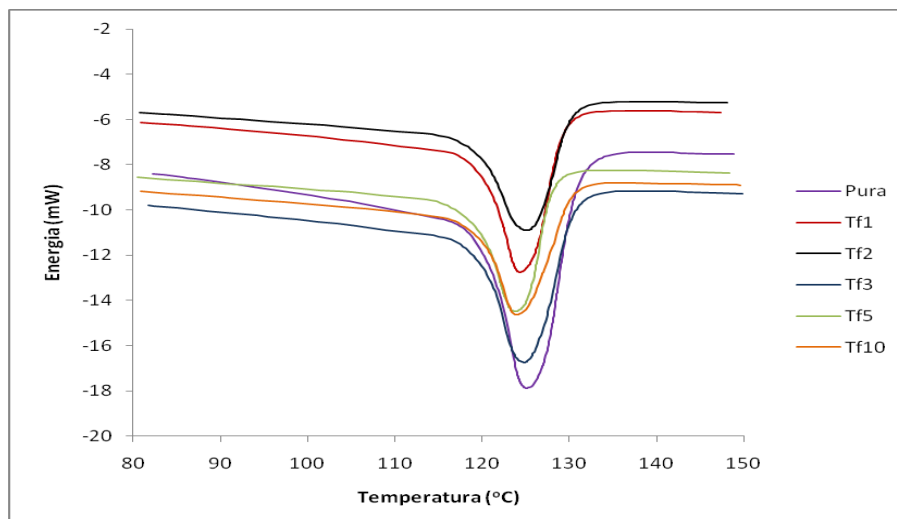


Figura 13 – Cruva de DSC para temperatura de cristalização do LDPE.

As temperaturas de cristalização (T_c) e fusão (T_f) calculadas para todas as condições são apresentadas na Tabela 5, bem como o grau de cristalinidade ($\% \chi_c$) dos polímeros impregnados com diferentes quantidades de zeólita.

Tabela 5. Temperaturas de fusão, cristalização e grau de cristalinidade do polietileno em função da quantidade de zeólita adicionada.

Amostra	T_f (°C)	T_c (°C)	$C_{(Tf)}$ (%)	$C_{(Tc)}$ (%)
LDPE puro	$124,5 \pm 0,7$	$109,0 \pm 0,7$	$23,0 \pm 1,4$	$25,5 \pm 3,5$
LDPE 1%	$124,0 \pm 0,7$	$111,0 \pm 2,8$	$24,5 \pm 0,7$	$24,5 \pm 0,7$
LDPE 2%	$125,5 \pm 0,7$	$107,5 \pm 0,7$	$26,5 \pm 3,5$	$27,0 \pm 2,8$
LDPE 3%	$124,5 \pm 0,7$	$108,0 \pm 0,7$	$23,0 \pm 0,7$	$25,0 \pm 0,7$
LDPE 5%	$125,0 \pm 0,7$	$107,5 \pm 0,7$	$25,0 \pm 0,7$	$24,5 \pm 0,7$
LDPE 10%	$123,5 \pm 0,7$	$108,5 \pm 0,7$	$25,0 \pm 1,4$	$24,0 \pm 1,4$

Os dados da Tabela 5 foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguida de teste de Tukey para verificação de diferenças entre as médias. Observou-se que não há diferença significativa entre as temperaturas e entre os valores de cristalinidade, indicando que não houve mudança no material polimérico com a adição da zeólita. As temperaturas de cristalização e fusão estão de acordo com as reportadas para o LDPE (T_c : 78 - 105, T_f : 101 - 126) (QUENTAL et al., 2005).

PEHLIVAN et al. (2005) incorporou zeólita no polipropileno, e também constatou nas análises de DSC que sua impregnação não alterou as temperaturas de fusão e cristalização do polímero.

A Figura 14 mostra a curva de TGA para o filme preparado através do método de solubilização. Nota-se que a massa se mantém constante até aproximadamente 400°C, onde se observa o início da degradação do polímero. Este comportamento está de acordo com o reportado para o polietileno de baixa densidade comercial (VALLE et al., 2004).

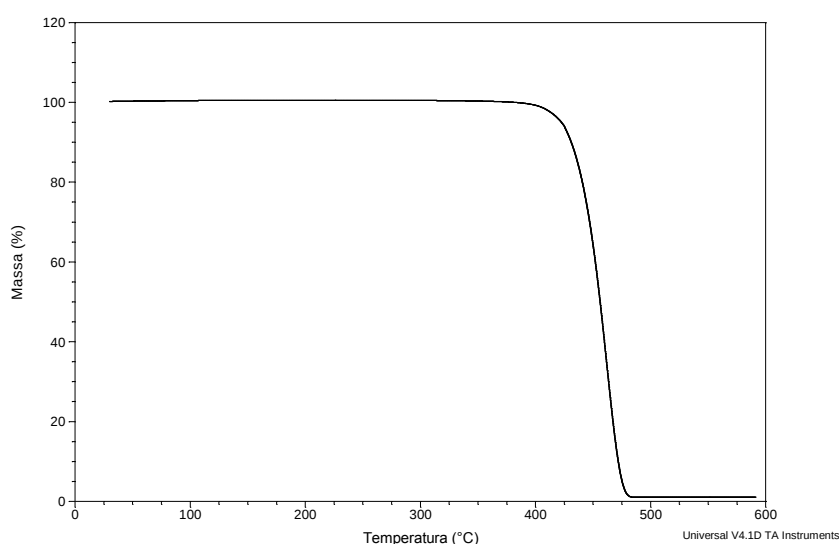


Figura 14 – Curva de TGA do filme de LDPE preparado através do método de solubilização com o solvente.

As análises da cor dos filmes obtidos são apresentadas na Tabela 6. Observa-se que os filmes preparados por prensagem apresentaram menores valores de L^* do que os filmes sem zeólita e sem prata e do que o filme preparado com zeólita e prata por solubilização. Esse resultado mostra que nos filmes solubilizados a estabilidade da prata no filme foi maior, havendo menor redução desta no filme. Possivelmente a alta temperatura e pressão durante o preparo dos filmes prensados pode ter contribuído para a redução da prata, promovendo o escurecimento do mesmo.

Os valores de a^* e b^* também foram distintos entre os filmes contendo zeólita e prata preparados por solubilização e por prensagem. Ambos os parâmetros foram maiores para os filmes preparados por prensagem, indicando uma maior saturação nas cores vermelha (a^*) e amarela (b^*). Essa tendência ao amarelamento também pode estar relacionada à redução da prata contida no interior do filme polimérico. Observa-se também que o aumento do teor de zeólita-Ag no filme obtido por prensagem levou a uma maior descoloração. Este comportamento foi observado também por Pehlivan et al. (2005), que analisou filmes de polipropileno contendo zeólita-Ag. Estes autores, no entanto, não discutem as causas da descoloração dos filmes.

Tabela 6 – Resultados de cor CIELab para os filmes de LDPE

Amostra	L*	a*	b*
LDPE puro Solubil.	95,98	0,50	2,69
1% LDPE-Z-Solubil.	95,82	-0,01	3,08
2% LDPE-Z-Solubil.	95,78	0,21	2,68
3% LDPE-Z-Solubil.	91,71	-0,05	2,20
4% LDPE-Z-Solubil.	95,80	-0,04	2,85
5% LDPE-Z-Solubil.	80,46	2,11	5,88
10% LDPE-Z-Solubil.	95,38	0,17	2,32
1% LDPE-Z-Ag-Prensag.	86,59	1,19	13,00
3% LDPE-Z-Ag-Prensag.	82,69	1,31	21,17
5% LDPE Z-Ag-Prensag.	77,10	2,56	16,91
10%LDPE-Z-Ag-Prensag.	73,65	2,20	20,44
10% LDPE-Z-Ag-Solubil.	76,84	4,87	9,69

4.5 Atividade Antimicrobiana do polímero contendo zeólita impregnada com prata

Os resultados obtidos nos testes de difusão em placas, mostraram efetividade antimicrobiana proporcional à concentração de prata no polímero e a forma como ele foi preparado. A Figura 15 mostra os halos de inibição do crescimento da bactéria *Escherichia coli* após 24 horas de incubação, onde se obteve para o filme preprado pelo método de prensagem um halo em torno de 3 mm, enquanto que para o filme preparado pelo método de solubilização ficou em torno de 7 mm.

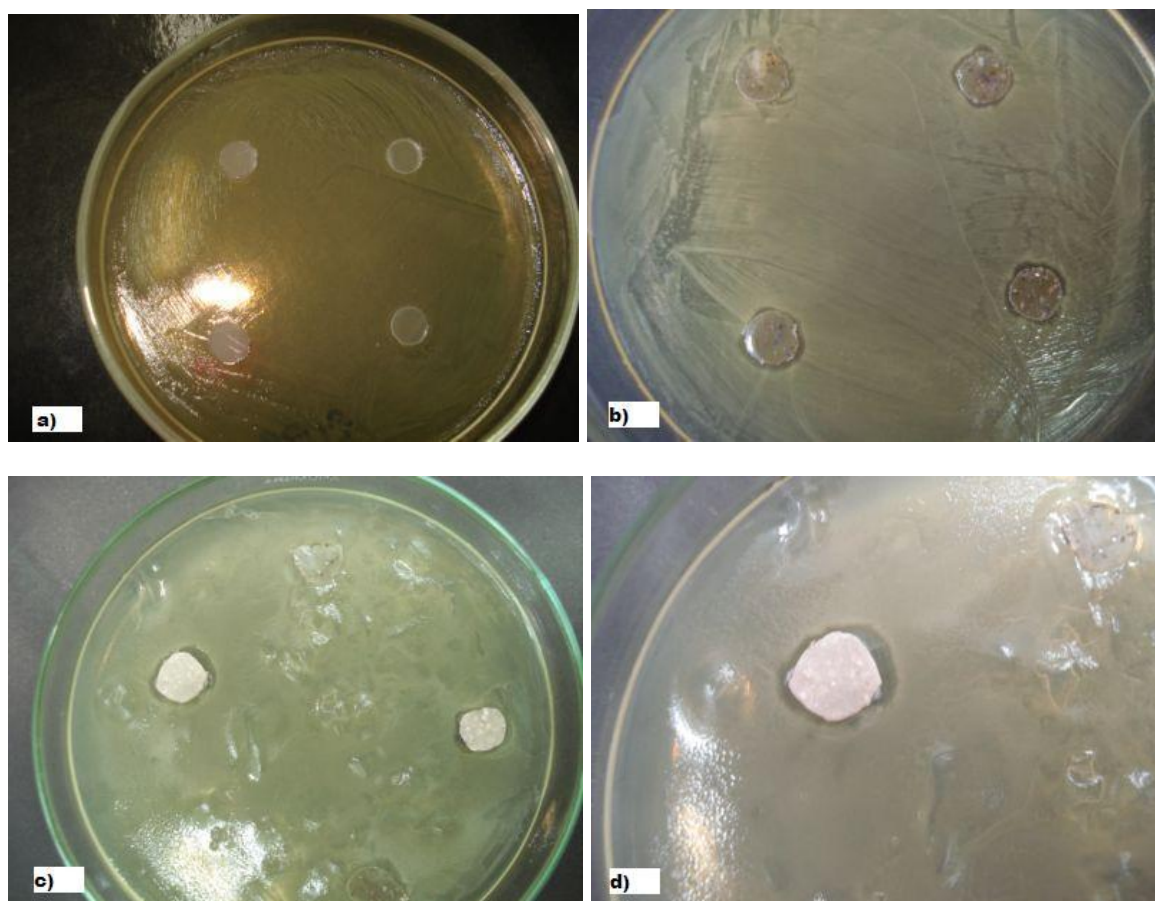


Figura 15 – Ensaio de determinação de atividades antimicrobianas (a) do filme puro preparado por solubilização, (b) filme prensado com 5% de zeólita-Ag, (c) filme obtido por solubilização com 5% de zeolita-Ag e (d) ampliação de c.

A menor atividade antimicrobiana do filme preparado por prensagem ocorre provavelmente devido as grandes temperaturas utilizadas para o processo onde

pode afetar a estabilidade da prata reduzindo-a, ou ainda porque o agente antimicrobiano perde sua eficácia por não estar homogeneamente distribuído no filme e assim não estar exposto totalmente na superfície do polímero (QUINTAVALLA & VICINI, 2002). Segundo Han (2000) uma alternativa para este caso seria projetar a embalagem em multicamadas e impregnar o antimicrobiano numa camada muito fina que fique em contato com o alimento e tenha uma liberação controlada.

Ao mesmo tempo se observa que o teste realizado apenas com o polímero preparado pelo método de solubilização sem a zeólita com prata não obteve atividade antibacteriana, comprovando que a atividade antibacteriana realmente é devido à liberação da prata presente no mesmo e que não há presença de solvente no filme que pode acarretar alguma mudança na atividade.

Se analisarmos o tamanho dos halos de inibição, nota-se que não apresentam grande tamanho. No entanto, sabe-se que a atividade antimicrobiana do agente depende da sua solubilidade, que neste meio não apresenta grande quantidade de água para uma maior difusão do agente, explicando um menor gradiente de concentração a partir do disco do filme.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir:

- A incorporação da prata na zeólita em concentrações de 0,5, 1 e 5% não alterou a estrutura zeolítica e nem sua composição química, ocorrendo apenas uma pequena perda de cristalinidade e área superficial, devido provavelmente, ao bloqueamento dos poros com a prata impregnada.

- A zeólita Y impregnada com prata inibiu o crescimento de *Escherichia coli* em a partir de 0,025 mg Ag/mL, comprovando o potencial antimicrobiano da prata e a liberação controlada da estrutura zeolítica.

- O filme antimicrobiano de LDPE contendo a zeólita incorporada com prata apresentou efeito inibitório contra *Escherichia coli*, apresentando assim um potencial para aplicação em embalagens visando a segurança e conservação dos alimentos, no que se refere à contaminação superficial.

5.2 SUGESTÕES

A partir do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa surgiram alguns questionamento que podem ser colocados como sugestões para trabalhos futuros.

- Estudo de outras variáveis que possam interferir no processo de formação do filme como: temperatura, pH, tempo, etc.

- Produção de filmes por prensagem e /ou extrusão para evitar o uso de solventes.

- Utilização de outras granulometrias de zeólitas, visando maior homogeneidade do filme.

- Investigar métodos para quantificar a atividade antimicrobiana dos filmes contendo zeólita-Ag.

- Avaliar a estabilidade da prata no seu estado oxidado nos filmes e métodos para estabilização desta.

- Estudo da lixiviação da prata em meios ricos em proteína e gordura, visando a aplicação final em embalagens alimentícias.

- Testar o filme obtido em alimentos, como por exemplo, produtos cárneos, derivados do leite, verificando o efeito e a quantidade desta no meio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, Y.; ISHII, M.; TAKEUCHI, M.; UESHIGE, S.; TANAKA, Y. AKAGAWA. Effect of saliva on an antimicrobial tissue conditioner containing silver-zeolite. *Journal of Oral Rehabilitation*. v. 31 (6), p. 568 – 573, 2004.

ALLARCON, B. & HOTCHKISS, J.H. The effect of Freshpax Oxygen absorbing packets on the shelf-life of foods. New York, Cornell University, Technical Report, p. 1 – 7, 1993.

APPENDINI, P. & HOTCHKISS, J.H. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 3, p. 113 – 126, 2002.

ARAUJO, M.A.J. Química dos Alimentos-Teoria e prática. 2.ed. – Viçosa: UFV. p. 416, 1999.

ARENDS, I. W. C. E.; SHELDON, R. A.; WALLAU, M.; SCHUCHARDT, U.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* V. 36, p. 1114, 1997.

AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F.; AZEREDO, A.M.C. Embalagens ativas para alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, 2000.

AWUAH, B.K.; WILLIAMS, C.; KENWARD, M.A.; KENWARD, I.R. Antimicrobial action and efficiency of silver-loaded zeolite X. *Journal of Applied Microbiology*, ISSN, p. 1364-5072, 2007.

BAGAMBOULA, C.F.; UYTENDAELE, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; UNLI, G.V.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *S. cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth) and *S. multicaulis* (Vahl). Food Chemistry, v. 84, p. 519-52, 2004.

BAGAMBOULA, C.F.; UYTENDAELE, M.; DEBEVERE, J. A. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology, v. 21, p.33-42, 2004.

BARBOSA, H.R.; TORRES, B.B. Microbiologia Básica. São Paulo: Editora Atheneu, 1998.

BEUCHAT, L.R. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. Journal of Food Science, v. 41, p.899-902, 1976.

BILLMEYER, F. W. J. – “Textbook of Polymer Science” – Wiley-Interscience, USA, 1984.

BLACK, J.G. Microbiologia Fundamentos e Perspectivas. 4ª ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p. 902, 2002.

BRODY, A. L.; STRUPINSKI, E. R.; KLINE, L. R. Active packaging for food applications. Lancaster: Technomic, p. 218, 2001.

BUONOCORE, A.G.G.; CONTE, A.; CORBE, M.R.; SINIGAGLIA, M.; DELNOBILE, M.A. Mono-and Multilayer active films containing lysozyme as antimicrobial agent. Innovative Food Science and Emerging Technologies. V. 6, p. 459 – 464. 2005.

CANEVAROLO, S. V. J. Ciencia dos polímeros – Um texto básico para tcnólogos e engenheiros. v. 16, p. 17-22, 2004.

CASTELLANO J.J.; SHAFII, S.M.; KO, F.; DONATE, G.; WRIGHT, T.E.; MANNARI, R.J. Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. Int Wound J. v. 4(2), p. 114–22, 2007.

Catálogo de Produtos da OPP. Catalogo de produtos OPP, 2000.

CHA, D.S. & CHINNAN, M.S. Biopolymer-Based Antimicrobial Packaging: A Review. Food Science and Nutrition, v. 44, p. 223–237, 2004.

CIOBANU, G.; CARJA, G.; CIOBANU, O. Preparation and characterization of polymer–zeolite nanocomposite membranes. Materials Science and Engineering, v. 27, p. 1138–1140, 2007.

CONNOR, D.E.; BEUCHAT, L.R. Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. Journal of Food Science, v.49, p.429-434,1984.

COUTINHO, F.M.B.; MELLO, I.L.; SANTA MARIA, L.C. Polietileno: Principais Tipos, Propriedades e Aplicações. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 13, nº 1, p. 1-13, 2003.

COWIE, J. M. G. Polymers: chemistry & physics of modern materials, 2. Ed. London, Chapman & Hall, 1991.

CRUZ, R. S.; SOARES N. F. F.; ANDRADE, N. J. Absorvedores de oxigênio na conservação de alimentos: uma revisão, 2005.

CUQ, B.; GONTARD, N.; GUILBERT, S. Edible films and coatings as active layers. In: ROONEY, M.L. Active food packaging. Glasgow: Chapman & Hall, p. 111-142, 1995.

DANTAS, E.S.K. Introdução à Absorção Atômica. Curso IPEN, São Paulo, 1995.

DAMM, C.; MUNSTEDT, H.; ROSCH, A. The antimicrobial efficacy of polyamide 6/silver-nano- and microcomposites. Materials Chemistry and Physics, v. 108, p. 61–66, 2008.

DAY, B.P.F. Active Packaging of Food, 2008.

DOAK, K. W. – “Ethylene Polymers”. Em: Mark, H. M.; Bikales, N. M.; Overberg, C. G.; Menges, G. – “Encyclopedia of Polymer Science and Engineering”, John-Wiley & Sons, New York , Volume 6, 1986.

FENG, Q.L., WU, J., CHEN, G.Q., CUI, F.Z., KIM, T.N. AND KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J Bio Mat Res v. 52, p. 662–668, 2000.

GARZA, R.M.; OLGUÍN, M.T.; SOSA, I.G.; ALCÁNTARA, D.; FUENTES, G.R. Silver supported on natural Mexican zeolite as an antibacterial material. Microporous and Mesoporous Materials, v. 39, p. 431- 444, 2000.

GIANNETTO, G.P.; RENDON, A.M.; FUETES, G.R. Zeolitas – Características, propiedades y aplicaciones industriales. Editora InnovacionTecnológica, 2000.

GOLDBERG, S., DOYLE, R., & ROSENBERG, M. (1990). Mechanism of enhancement of microbial cell hydrophobicity by cationic polymers. *Journal of Bacteriology*, 172(10), 5650-5654.

GONTARD, N. Active packaging. In: SOBRAL, P.J.A.; CHUZEL, G., eds. Workshop sobre biopolímeros, Pirassununga – SP. FZEA, p. 23-27, 1997.

GUILBERT, S. Use of superficial edible layer to protect intermediate moisture foods: application to the protection of tropical fruit dehydrated by osmosis. In: SEOW, C.C., ed. Food preservation by moisture control. New York: Elsevier Applied Science, p. 199-219, 1988.

HALEK, W., & GARG, A. Fungal inhibition by a fungicide coupled to an ionomeric film. *Journal of Food Safety*, v. 9, p. 215–222, 1989.

HAN J. H, FLOROS JD. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *J Plastic Film Sheeting*, v. 13(4), p. 287-98, 1997.

HAN, J. H. Antimicrobial Food Packaging. *Food Technology*, v. 54(3), p. 56–65, 2000.

HAN, J. H. Design of antimicrobial packaging systems. *Int. Rev. Food Sci. Technol.* v. 11, p. 106-109, 2003.

HAN, J.H. Antimicrobial packaging systems. *Innovations in Food Packaging*, 2005.

IZA - Portal web on-line da (International Zeolite Association) disponível em: <http://www.iza-online.org/>. Acessado em Setembro de 2009.

JAY, J.M. Modern Food Microbiology. 4° Ed. Chapman & Hall, New York, 1992.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. Current Medicinal Chemistry, v.10, p.813-829, 2003.

KATZUNG, B.G. Farmacologia Básica & Clínica. 8ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 2003. 1054 p.

KAWAHARA, K.; TSURUDA, K.; MORISHITA, M.; UCHIDA, M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. Dental Materials, v. 16, p. 452–455, 2000.

KAWASHITA, M.; TSUNEYAMAS, S.; MIYAJI, F.; KOKUBO, T.; KOZUKA, H.; YAMAMOTO, K. Biomaterials, v. 21, p. 393, 2000.

KOURAI H, MANABE Y, YAMADA Y. Mode of bactericidal action of zirconium phosphate ceramics containing silver ions in the crystal structure. J Antibact Antifungal Agents, v. 22, p. 595–601, 1994.

LANDSDOWN ABG. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. J. Wound Care, v. 11, p. 125–38, 2002.

MAGAÑA, S.M.; QUINTANA, P.; AGUILAR, D.H.; TOLEDO, J.A.; ANGELES, C.; CORTES, M.A.; LEON, L.; PELEGRIN, Y.F.; LOPEZ, T.; SANCHEZ, R.M.T. Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, v. 281, p. 192–199, 2008.

MARQUEZ, E. Características físico-químicas de las zeólitas Naturales como Medio Filtrante-XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental-Asociación Brasileira de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, 2000.

MARTÍNEZ J.G.; PARIENTE J.P.; Materiales Zeolíticos: Síntesis, Propriedades y Aplicaciones; Publicaciones Universidad de Alicante; p. 13, 2002.

MATSUMURA, Y., YOSHIKATA, K., KUNISAKI, S. AND TSUCHIDO, T. Mode of action of silver zeolite and its comparison with that of silver nitrate. Appl Environ Microbiol v. 69, p. 4278–4281, 2003.

MATSUURA, T.; ABE, Y.; SATO, Y.; OKAMOTO, K.; UESHIGE, M.; AKAGAWA, Y. Prolonged antimicrobial effect of tissue conditioners containing silver-zeolite. **Journal of Dentistry**, v. 25, No. 5, pp. 313-371, 1997.

MEIER, W.M. & OLSON, D.H. Atlas of Zeolite Structures Types, 4^a ed. Revisada, Elsevier, Londres, 1996.

MORAES, A.R.F.; GOUVEIA, L.E.R.; SOARES, N.F.F.; SANTOS, M.M.S.; GANÇALVES, M.P.J.C. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano na conservação de manteiga. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2007.

MOTHÉ, Cheila Gonçalves; AZEVEDO, Aline Damico de. Análise Térmica de Materiais. Escola de Química – UFRJ, Editora, São Paulo, 2002.

MOURA, R. A.; BANZATO, J.M. Embalagem: Acondicionamento, unitização e containerização. v. 2, 1990.

OLIVEIRA, L.M. & OLIVEIRA, P.A.P.L.V. Revisão: Principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. Brazilian Journal Food Technology, v.7, n.2, p.161-165, 2004.

PELCZAR, M.J.JR.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. Microbiologia conceitos e aplicações. 2ª ed. São Paulo: Editora Makron Books, p. 517, 1996.

PEHLIVAN, H.; BALCOSE. D.S.; TIHMINLIOGLU, U.F.; Characterization of pure and silver exchanged natural zeolite filled polypropylene composite films. Composites Science and Technology 65 (2005) 2049–2058.

PEREIRA, R. A.; MANO, E. B.; DIAS, M. L.; ACORDI, E. B.– Polymer Bulletin, v. 38, p. 707, 1997.

PICCOLI, R.; MEXIAS. A.; FIGUEIRA, R.; MONTEDO, O.; BERTAN, F. Características das principais técnicas analíticas aplicadas à caracterização de materiais, 2006.

QUENTAL, A.C.; HANAMOTO, L.S.; FELISBERTI, M.I. Caracterização de polietilenos lineares de baixa densidade II. Fracionamento por cristalização isotérmica a partir do estado fundido. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 15, p. 281-288, 2005.

QUINTAVALLA, S. & VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. Meat Science, v. 62, p. 373–380, 2002.

RADHESHUKUMAR, C. & MUNSTEDT, H. Antimicrobial polymers from polypropylene/silver composites - Ag⁺ release measured by anode stripping voltammetry. Reactive & Functional Polymers, v. 66, p. 780–788, 2006.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances 27 (2009) 76–83.

REED, S. J. B. Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology, New York, Cambridge University Press. p. 201, 1996.

ROONEY M.L., Introduction to active food packaging technologies. Innovations in Food Packaging. 2005.

SCHIERHOLZ, J.M.; BEUTH, J.; RUMP, A.F.E.; KONIG, D.P.; PULVERER, G. Mat.-Wiss. Werkstofftech. 30 (1999) 869.

SCHIERHOLZ, J.M.; LUCAS, L.J.; RUMP, A.F.E.; PULVERER, G.. Efficacy of silver-coated medical devices. Journal of Hospital Infection, V. 40, p. 257 -262, 1998.

SHELDON, R.A.; Current Opinion in Solid State and Materials Science. p. 1 – 101, 1996.

SHETTY, K., & DWELLE, R. (1990). Disease and sprout control in individual film wrapped potatoes. American Potato Journal, 67(10), 705-718.

SOARES, N.F.F., CRUZ, R.S., VILLADIEGO, A.M.D., MELO, N.R., SILVEIRA, M.F.A., BASTOS, M.S.R., GERALDINE, R.M., WURLITZER, N.J., RODRIGUES, P.P.C.F. Embalagem ativa na conservação de alimentos. In: Azeredo HMC. (eds) Fundamentos de estabilidade de alimentos. Fortaleza-CE, EMBRAPA Agroindústria Tropical, p. 167 – 195, 2004.

SONNEVELD K. What drives (food) packaging innovation? Packaging Technologies Science, v. 13, p. 29-35, 2000.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S.W. Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and its Applications. Journal of Food Science, v. 68, Nr. 2, 2003.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 6a ed. Porto Alegre: Artmed editora, p. 827, 2000.

VALLE, M.L.M.; GUIMARÃES, M.J.O.C. Degradação de Poliolefinas utilizando catalizadores zeolíticos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 14, p. 17-21, 2004.

VERMEIREN L, DEVLIEGHERE F, VAN BEEST M, DE KRUIJF N, DEBEVERE J. Developments in the active packaging of foods. *Trends Food Science Technologies*, v. 10(3), p. 77-86, 1999.

VERMEIREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. *Food Additives and Contaminants*, London, v.19, p.163-171, 2002.

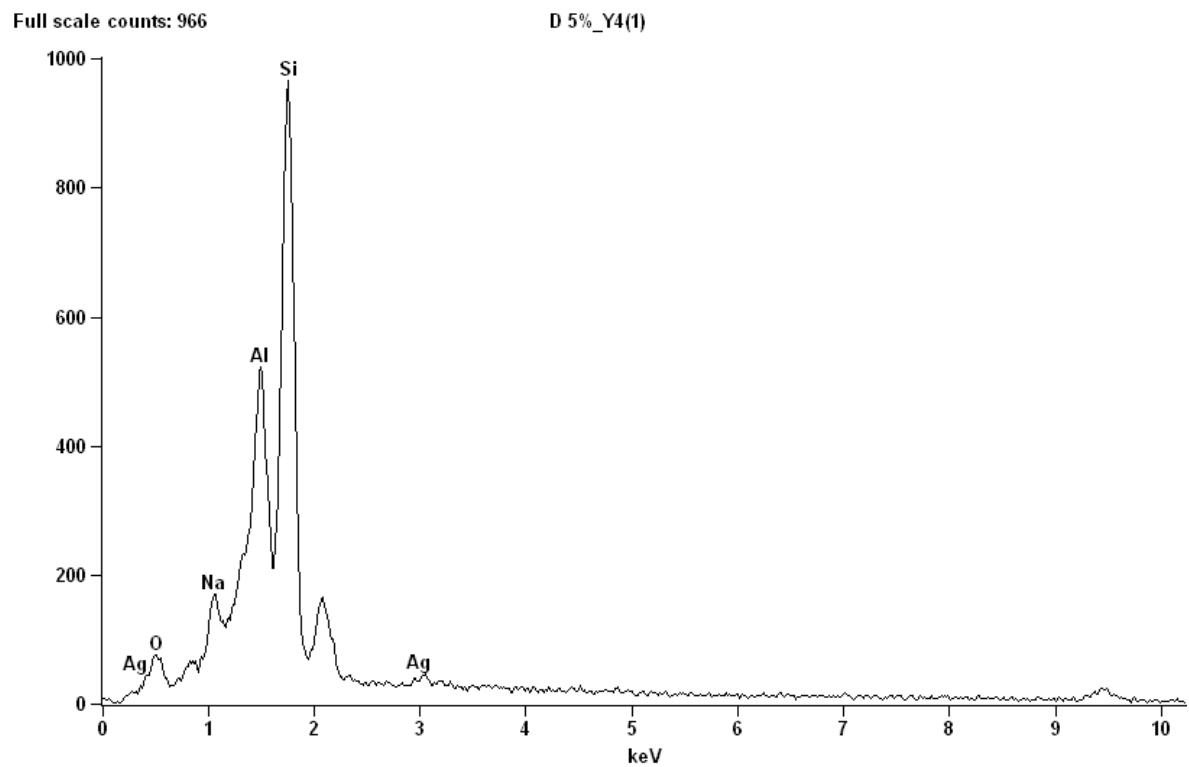
WENG, Y. M., & HOTCHKISS, J. H. Inhibition of surface moulds on cheese by polyethylene film containing the antimycotic imazalil. *Journal of Food Protection*, v. 55, p. 367–369, 1992.

YAMADA, E. Desenvolvimento de sistema de embalagem antimicrobiana. In: *Boletim CTC Tecnocarnes*, Vol XIV. Ital, Campinas – SP, 2004.

YAMANAKA, M., HARA, K. AND KUDO, J. Bactericidal actions of silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Appl Environ Microbiologic*, v. 71, p. 7589–7593, 2005.

ANEXO 1

Análises de EDX para a Zeólita Y impregnada com 0,5% e 1% de prata.



Full scale counts: 979

D 1%_Y3

