



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

GABRIELLE VIEIRA DA SILVA BRASIL

**PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS E COMESTÍVEIS A
PARTIR DE PÓLEN APÍCOLA PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE
ALIMENTOS**

São Luís

2023

GABRIELLE VIEIRA DA SILVA BRASIL

**PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS E COMESTÍVEIS A
PARTIR DE PÓLEN APÍCOLA PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE
ALIMENTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, ponto focal do Maranhão, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa.
Coorientadora: Profa. Dra. Audirene Amorim Santana.

São Luís
2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Brasil, Gabrielle Vieira da Silva.

PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS E
COMESTÍVEIS A PARTIR DE PÓLEN APÍCOLA PARA APLICAÇÃO NA
INDÚSTRIA DE ALIMENTOS / Gabrielle Vieira da Silva Brasil.
- 2023.

91 f.

Coorientador(a): Audirene Amorim Santana.

Orientador(a): Maria Célia Pires Costa.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do
Maranhão, São Luís-MA, 2023.

1. Biopolímeros. 2. Embalagem ativa. 3. Filmes. 4.
Pólen. I. Costa, Maria Célia Pires. II. Santana,
Audirene Amorim. III. Título.

GABRIELLE VIEIRA DA SILVA BRASIL

**PRODUÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS BIODEGRADÁVEIS E COMESTÍVEIS A
PARTIR DE PÓLEN APÍCOLA PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA DE
ALIMENTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, ponto focal do Maranhão, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Célia Pires Costa (Orientador)

Universidade Estadual do Maranhão/RENORBIO (Orientador)

Prof. Dra. Josilene Lima Serra

Instituto Federal do Maranhão - IFMA (1º Examinador)

Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo

Universidade Estadual do Maranhão - UEMASUL (2º Examinador)

Prof. Dr. Louryval Coelho Paixão

Universidade Federal do Maranhão – UFMA (3º Examinador)

Prof. Dr. Antonio Carlos Romão Borges

Universidade Federal do Maranhão – UFMA/ RENORBIO (4º Examinador)

Dedico esta tese a Deus por ter permitido chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças para superar todos os obstáculos e o desejo de jogar tudo para o alto.

Ao meu parceiro de vida, meu esposo Thiago, pelo companheirismo, amor, compreensão, paciência, incentivo quando eu dizia que o tempo era curto e não iria conseguir.

Ao meu filhote, Samuel que mesmo sem entender, me inspira a buscar mais.

Aos meus queridos pais, Mara e Jader, que sempre estiveram torcendo por mim.

Às minhas irmãs. Em especial, a minha caçula que foi levar amostra no laboratório, foi comprar reagente, passou a madrugada com meu filho para que eu pudesse me dedicar a escrita desta tese. Você foi demais!!!

A minha orientadora, professora Dra Maria Célia Pires Costa, por ter me acolhido de uma forma única desde o momento que enviei um e-mail perguntando se aceitaria me orientar. Durante todo o período do doutorado, ela sempre foi aquela voz calma, incentivadora, cheia de esperança e amor para mostrar que com educação que vamos conseguir mudar este país.

À Profa. Dra. Audirene Amorim Santana, que foi essencial para esta conquista, que aceitou me coorientar e topou com toda sua paciência e dedicação me ajudar nesta pesquisa, mesmo tendo uma rotina intensa, sempre preocupada com seus alunos. Não é à toa que lhe chamam de “mãe Dira”.

À Ana, uma menina de ouro que o LEPPBio/UFMA me apresentou, sempre disposta a me ajudar no desenvolvimento desse trabalho. Muito obrigada pela parceria!

À minha equipe da UNA-SUS/UFMA, Camilla, Mizraim, Fernanda e Ludmila, pelas ajudas na revisão, tradução e no apoio moral.

À Janaína Maiana, minha amiga desde a graduação que sempre me incentivou.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), pelo incentivo e apoio financeiro.

À banca examinadora, pela disponibilidade e contribuição para este trabalho.

Por fim, tudo se resume em GRATIDÃO a Deus e a cada de um de vocês que fizeram parte desse processo.

“A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

RESUMO

O desenvolvimento de novos conceitos de embalagens para a indústria alimentícia, como embalagens elaboradas de biopolímeros em substituição aos materiais sintéticos convencionais, vem crescendo atualmente para atender à demanda de conservação de alimentos com reduzido impacto ambiental, e com propriedades mecânicas e de barreira semelhantes às tradicionais. Diante desse contexto, este trabalho visa desenvolver filmes poliméricos incorporados com pólen apícola para o uso em embalagem de alimentos. Devido à escassez de informações sobre o produto incorporado ao filme, realizou-se a caracterização do pólen da abelha Tubi, no qual foi possível observar uma qualidade físico-química e nutricional aceitável com valor energético médio de 388,62 kcal/100g. Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) exibiram vibrações moleculares relacionadas às principais constituintes majoritárias, tais como carboidratos (açúcares), lipídios, proteínas. Neste estudo foi utilizado o planejamento experimental de misturas, com 14 ensaios, analisando as variáveis independentes (concentrações de alginato, pectina e amido) sobre os aspectos subjetivos e as características de umidade (ω), espessura (δ), solubilidade em água (S) e permeabilidade ao vapor de água (PVA). Foram fixadas concentrações de 10g de pólen, 3mL de glicerol e 30mL de cloreto de cálcio dihidratado a 1%, em todos os ensaios. Os filmes foram selecionados com base nos melhores resultados de homogeneidade, continuidade, transparência, flexibilidade, considerando também os menores valores de ω , δ , S e PVA. A partir desta avaliação, cinco filmes: G4 (1/3g de alginato + 2/3g de pectina), G6 (1/3g de pectina + 2/3g de amido), G7 (2/3g de alginato + 1/3g de pectina), G8 (2/3g de alginato + 1/3g de amido) e G10 (1/3g de alginato + 1/3g de pectina + 1/3g de amido) foram selecionados e caracterizados quanto às propriedades mecânicas, espectroscopia no FTIR, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia óptica. Os resultados mostraram que o filme G6 apresentou melhor resultado de tensão de ruptura (2,83 Mpa), porém, obteve o menor valor de alongamento de ruptura (4,05%) mostrando ser mais rígido; em contrapartida, o filme G8 alcançou melhor alongação (9,60%). O módulo de Young variou de 35,05 a 137,06 MPa. Analisando o MEV da seção transversal dos filmes, é possível visualizar a presença de grânulos do pólen que interferiu na homogeneidade dos filmes, formando matrizes desordenadas. Nas microscopias ópticas é notório a presença dos grânulos de pólen, corroborando com o obtido no MEV. A partir dos resultados de FTIR, observou-se que a combinação dos polímeros e pólen para a formação dos filmes não resultou em mudanças significativas nas bandas dos espectros. Com o difratograma de raios X, observou-se que os filmes selecionados possuem característica amorfa e índice de cristalinidade que varia entre 6,74% e 14,09%. Quanto à análise termogravimétrica, identificou-se três eventos de perda de massa, nos quais todos os filmes apresentaram perda de massa no evento I – referente a evaporação da água absorvida. Nos filmes com amido na composição (G6, G8 e G10), notou-se a presença de dois picos de temperatura máxima de perda de massa. Dessa forma, as características observadas nos filmes selecionados são promissoras para a sua utilização como embalagem de alimentos, porém, mais testes precisam ser realizados para se avaliar o potencial antioxidante e a atividade microbiológica.

Palavras-chave: Biopolímeros; Embalagem ativa; Filmes; Pólen.

ABSTRACT

The development of new packaging concepts for the food industry – such as packaging made of biopolymers to replace conventional synthetic materials – is currently growing to meet the demand for food conservation with reduced environmental impact and with mechanical and barrier properties similar to the usual ones. Given this scenario, our work aimed to develop and characterize polymer films spiked with bee pollen for use in food packaging. In our research, we realized a study of the Tubi bee pollen. Due to the lack of information regarding the subject, we performed the characterization of this product, which presented an acceptable physicochemical and nutritional quality, with an average energy value of 388.62 kcal/100g. The Fourier-transform Infrared Spectroscopy (FTIR) exhibited molecular vibrations related to the key major constituents such as carbohydrates (sugars), lipids, and proteins. In our work, we used an experimental design of mixtures with fourteen tests. In these tests, we analyzed the independent variables (alginate, pectin, and starch concentrations) based on subjective aspects, and the characteristics of moisture (ω), thickness (δ), water solubility (S), and water vapor permeability (WVP). Concentrations of 10g of pollen, 3 ml of glycerol, and 30 ml of 1m calcium chloride were established for all tests. We selected the optimized films based on the best results for homogeneity, continuity, transparency, and flexibility, along with the lowest value of ω , δ , S and WVP. After this assessment, we selected five tests: G4 (1/3g alginate + 2/3g pectin), G6 (1/3g pectin + 2/3g starch), G7 (2/3g alginate + 1/3g pectin), G8 (2/3g alginate + 1/3g starch) e G10 (1/3g alginate + 1/3g pectin + 1/3g starch), which were characterized in terms of mechanical properties, FTIR, scanning electron microscopy (SEM), and optical microscopy. The results show that the G6 film presented the best tensile strength (2.83 MPa) but also the lowest elongation at break value (4.05%), showing itself to be more rigid, while the G8 film achieved a better elongation (9.60%). Young's modulus of elasticity ranged from 35.05 to 137.06 MPa. By analyzing the SEM of the cross-section of the films, it was possible to visualize the presence of pollen granules that interfered with the homogeneity of the films, forming disordered matrices. In the optical microscopies, the presence of pollen granules is evident, corroborating what was obtained in the SEM. Based on the FTIR results, we could see that the combination of polymers and pollen to form the films did not result in significant changes in the spectrum bands. With the X-ray diffractogram, we could observe that the selected films have an amorphous characteristic and a crystallinity index ranging from 6.74% to 14.09%. As for the thermogravimetric analysis, three events of mass loss were identified. In the event I, all the films presented a loss of mass – due to the evaporation of the absorbed water. In films with starch in their composition (G6, G8, and G10), two peaks of maximum temperature of mass loss took place. Therefore, the characteristics observed in the selected films are promising for their use as food packaging, but more tests need to be performed to evaluate the antioxidant potential and microbiological activity.

Keywords: Biopolymers; Active Packaging; Films; Pollen.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS	2,2 AZINO BIS (3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid)
ANOVA	Análise da Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATM	alta esterificação
BTM	baixa esterificação
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazi
DRX	Difração de raio X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
e	Alongamento na ruptura
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
FTIR	Infravermelho com transformada de <i>Fourier</i>
G	taxa de permeabilidade de água (g/dia).
LEPEQ	Laboratório de Pesquisa e Ensino de Engenharia Química
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mf	perda da massa
mi	massa inicial
PEBD	polietileno de baixa densidade
PET	Policloreto Tereftalato
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVA	Permeabilidade ao Vapor de água
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
S	Solubilidade
TGA	Termogravimetria
TS	Resistência à Tração

UFMA Universidade Federal do Maranhão
UR Umidade Relativa
E Módulo de Young

LISTA DE SÍMBOLOS

δ	Espessura
ω	Conteúdo de umidade
NaCl	cloreto de sódio
Ae	Área exposta do filme
ΔPa	pressão parcial de água
R^2	coeficiente de determinação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO 1: Revisão de literatura	14
2.2 Filmes biodegradáveis e comestíveis	16
2.3 Biopolímeros de polissacarídeos	18
2.3.1 <i>Amido</i>	19
2.3.2 <i>Alginato</i>	20
2.3.3 <i>Pectina</i>	20
2.4 Plastificantes	21
2.5 Pólen	22
CAPÍTULO 2: Characterization of the pollen of Tubi bees (<i>Scaptotrigona sp</i>): physicochemical, spectroscopic and structural properties, and antioxidant activity	24
CAPÍTULO 3: Incorporação de pólen de abelha Tubi (<i>Scaptotrigona sp</i>) em filmes biodegradáveis de alginato, pectina e amido	42
CAPÍTULO 4: Propriedades morfológicas, estruturais, espectrais e térmicas de um filme polimérico ativado com pólen para aplicação em embalagens de alimentos	60
6 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	78
ANEXO	89
ANEXO A – Comprovante de submissão do artigo	90

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, as indústrias de alimentos estão enfrentando inúmeros desafios para garantir alimentos de qualidade com vida útil estendida e preservação a longo prazo (KHALID; ARIF, 2022). Tradicionalmente, as embalagens de alimentos são usadas para melhorar a qualidade dos alimentos e fornecer aos consumidores descrições dos produtos (CHENG *et al.*, 2022).

No entanto, a maioria das embalagens desenvolvidas e utilizadas são de materiais sintéticos ou semissintéticos, como o polietileno, comumente conhecido como plástico (SUNDQVIST-ANDBERG; ÅKERMAN, 2021; PHELAN *et al.*, 2022). A fim de amenizar o uso desses materiais, muitos pesquisadores tem buscado desenvolver embalagens alternativas a partir de polímeros naturais de base biológica. Segundo Gutpa *et al.* (2022), os polímeros são estruturas longas, compostas por uma ou mais unidades monoméricas que podem ser usados como filmes, revestimentos, embalagens ou barreiras protetoras e conservantes.

Dentre os polímeros, os polissacarídeos são abundantemente utilizados no desenvolvimento de filmes comestíveis, devido às suas funções potenciais de barreiras de dióxido de carbono e barreira contra as taxas de reações oxidativas (KURUKAVAK, 2022). A natureza comestível desses filmes pode garantir ainda mais a absorção de nutrientes, fazendo uso de filmes poliméricos compostos ou filmes bioativos que podem auxiliar na entrega de vitaminas ou medicamentos (ANSORENA *et al.*, 2018).

Para Khezerlou *et al.* (2021) as embalagens ativas ou biofilmes comestíveis são desenvolvidas pela inclusão de aditivos especiais (extratos naturais) que permitem que a embalagem preserve a qualidade dos alimentos, evitando reações de oxidação e suprimindo o crescimento microbiano.

Nesse contexto, o pólen apícola tem sido utilizado pela indústria de alimentos, como ingrediente funcional devido sua atividade antioxidante e antimicrobiana, com o intuito de melhorar as características nutricionais e funcionais dos produtos finais (KOSTIĆ *et al.*, 2020). Desta forma, a combinação de potencial nutritivo, características bioativas e propriedades funcionais específicas, sugere os pólenes de abelhas como um ingrediente biofuncional e multiuso nas indústrias alimentícia, nutracêutica ou farmacêutica (LAAROSSI *et al.*, 2023).

Assim, o objetivo principal deste estudo consiste em desenvolver filmes poliméricos à base de polissacarídeos, com incorporação de pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona sp.*).

Os objetivos específicos buscam caracterizar o pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona sp.*); elaborar filmes poliméricos à base de alginato, pectina e amido incorporados com pólen apícola,

utilizando planejamento experimental; selecionar as melhores composições e combinações de polímeros dadas as características físicas funcionais básicas (aparência, espessura, conteúdo de umidade, solubilidade e permeabilidade ao vapor de água – PVA); determinar as propriedades mecânicas; caracterizar e comparar as propriedades morfológicas, ópticas, espectral e térmicas dos filmes selecionados no planejamento experimental.

O trabalho foi organizado em quatro capítulos para facilitar a compreensão da temática abordada. O primeiro capítulo trata-se de uma revisão de literatura, organizada em tópicos para apresentar os assuntos relacionados a temática principal deste trabalho: embalagem de alimentos, filmes biodegradáveis e comestíveis, biopolímeros de polissacarídeos (amido, alginato e pectina), plastificantes e pólen.

No segundo capítulo, é apresentado o artigo “Characterization of the pollen of Tubi bees (*Scaptotrigona* sp): physicochemical, spectroscopic and structural properties, and antioxidant activity”. Este artigo aborda o estudo do pólen, o produto biológico regional escolhido para incorporar o filme polimérico. A caracterização do pólen foi realizada por meio de suas propriedades físico-químicas, de sua atividade antioxidante, da análise do perfil espectral (FTIR) e da difratometria de raios X.

No capítulo três é abordado o artigo intitulado “Incorporação de pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona* sp) em filmes biodegradáveis de alginato, pectina e amido”. Nesse trabalho, foram apresentados o planejamento experimental e as análises utilizadas para determinar os filmes ótimos: aspectos visuais, espessura, permeabilidade ao vapor de água, conteúdo de umidade e solubilidade em água. Os autores também dissertaram sobre as propriedades mecânicas e a microscopia óptica dos filmes selecionados.

No quarto e último capítulo, é apresentado o artigo “Propriedades morfológicas, estruturais, espectrais e térmicas de um filme polimérico ativado com pólen para aplicação em embalagens alimentícias”, que continua a caracterização dos filmes selecionados, trazendo as análises, considerando as características diante das análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV), infravermelho com transformada de *Fourier* (FTIR), difração de raios X (DRX) e termogravimétrica (TGA).

Por fim, a tese contém uma conclusão geral do trabalho, na qual foram dispostas as considerações de todas as análises realizadas na pesquisa.