

Incorporação de pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona sp*) em filmes biodegradáveis de alginato, pectina e amido

Incorporation of Tubi-bee (*Scaptotrigona sp*) pollen in biodegradable films of alginate, pectin and starch

Incorporación de polen de abeja Tubi (*Scaptotrigona sp*) en películas biodegradable de alginato, pectina y almidón

Recebido: 10/06/2022 | Revisado: 19/06/2022 | Aceito: 24/06/2022 | Publicado: 04/07/2022

Gabrielle Vieira da Silva Brasil

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3386-5679>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: gabivsilva40@gmail.com

Ana Karoliny da Silva Raposo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9057-8022>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: ana.raposo@discente.ufma.br

Geyse Adriana Corrêa Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7965-7341>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: geyse.correa@ufma.com

Denilson Moreira Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2247-5106>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: denilson.santos@ufma.br

Wellyson da Cunha Araújo Firmo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6979-1184>
Universidade Ceuma, Brasil
E-mail: well_firmo@hotmail.com

Ilmar Alves Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4120-2699>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: lopessustentavel@gmail.com

Djavana Azevedo da Luz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1436-6287>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: djavana.luz@ufma.br

Louryval Coelho Paixão

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7241-1800>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: louryval.paixao@ufma.br

Audirene Amorim Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3149-6822>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: audirene.santana@ufma.br

Maria Célia Pires Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0009-7960>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: celiacosta@prof.elointernet.com.br

Resumo

Embalagem produzidas de biopolímeros vêm crescendo atualmente para atender a demanda de conservação de alimentos com reduzido impacto ambiental. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e caracterizar filmes poliméricos incorporados com pólen apícola para uso em embalagem de alimentos. Nesta pesquisa foi utilizado planejamento experimental de misturas, com quatorze 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 à 1%, em todos os ensaios. Com base nos melhores resultados de homogeneidade, continuidade, transparência, flexibilidade, juntamente com menor valor de ω , δ , S e PVA, selecionou-se cinco ensaios (G4, G6, G7, G8 e G10) que foram caracterizados quanto as propriedades mecânicas e microscopia óptica. Os resultados

mostraram que o filme G6 (1/3g de pectina + 2/3g de amido) apresentou o melhor resultado de tensão de ruptura (2,83Mpa), porém obteve o menor valor de alongamento de ruptura (4,05%) mostrando ser mais rígido. Em contrapartida, o filme G8 (2/3g de alginato + 1/3g de amido) alcançou melhor alongação (9,60%). O módulo de Young variou de 35,05 a 137,06MPa. Quanto a microscopia óptica, foi possível observar nitidamente os grânulos de pólen em todas as formulações otimizadas. As características observadas nos filmes otimizadas são promissoras para utilização como embalagem comestível e biodegradáveis, porém, recomenda-se a realização de mais testes.

Palavras-chave: Filmes; Biopolímeros; Pólen; Planejamento Experimental.

Abstract

The demand for packaging made of biopolymers is currently increasing to meet the need for food conservation with lower environmental impact. The aim of this work was to develop and characterize polymer films spiked with bee pollen for use in food packaging. In this work, an experimental design of mixtures with fourteen tests was used, in which the independent variables (alginate, pectin and starch concentrations) were analyzed for the subjective aspects and the characteristics of moisture (ω), thickness (δ), water solubility (S) and water vapor permeability (WVP). Concentrations of 10g of pollen, 3ml of glycerol, and 30ml of 1m calcium chloride were established for all tests. Based on the best results for homogeneity, continuity, transparency, and flexibility, and the lowest values for ω , δ , S, and WVP, five tests were selected (G4, G6, G7, G8, and G10) that were characterized for their mechanical properties and optical microscopy. The results show that the G6 film (1/3g pectin + 2/3g starch) presented the best tensile strength (2.83MPa) but also the lowest elongation at break value (4.05%), showing itself to be more rigid, while the G8 film (2/3g alginate + 1/3g starch) achieved a better elongation (9.60%). Young's modulus of elasticity ranged from 35.05 to 137.06MPa. In optical microscopy, the pollen grains were clearly observed in all optimized formulations. The properties observed in the optimized films are promising for use as edible and biodegradable packaging, but further testing is recommended.

Keywords: Films; Biopolymers; Pollen; Experimental Design.

Resumen

La producción de embalajes fabricados con biopolímeros está aumentando para satisfacer la demanda de conservación de alimentos con menor impacto ambiental. Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar y caracterizar las películas poliméricas incorporadas con polen apícola para utilización en el envasado de alimentos. La investigación utilizó un diseño experimental de mezclas, con catorce pruebas, y analizó las variables independientes (concentraciones de alginato, pectina y almidón) frente a los aspectos subjetivos y características de humedad (ω), espesor (δ), hidrosolubilidad (S) y permeabilidad al vapor de agua (PVA). Todas las pruebas fijaron concentraciones de 10g de polen, 3mL de glicerol y 30mL de cloruro de calcio di-hidratado al 1%. Según los mejores resultados de homogeneidad, continuidad, transparencia y flexibilidad, y del menor valor de ω , δ , S y PVA, se seleccionaron cinco pruebas (G4, G6, G7, G8 y G10) caracterizadas por sus propiedades mecánicas y microscopía óptica. Los resultados mostraron que la película G6 (1/3g de pectina + 2/3g de almidón) logró el mejor resultado de tensión de ruptura (2,83Mpa), pero obtuvo el valor más bajo de elongación de rotura (4,05%), mostrándose más rígida. En cambio, la película G8 (2/3g de alginato + 1/3g de almidón) logró una mejor elongación (9,60%). El módulo de Young varió de 35,05 a 137,06MPa. En cuanto a la microscopía óptica, se pudo observar claramente los gránulos de polen en todas las formulaciones optimizadas. Las características observadas en las películas optimizadas son prometedoras para su uso como embalaje comestible y biodegradable, sin embargo, se recomiendan más pruebas.

Palabras clave: Películas; Biopolímeros; Polen; Diseño experimenta.

1. Introdução

A maioria dos materiais de embalagem de alimentos, utilizados pela indústria alimentícia são fabricados com polímeros sintéticos à base de petróleo, assim, o acúmulo de plásticos sintéticos a base de petroquímicos vem sendo uma grande preocupação para o bem-estar ambiental (Luchese et al., 2015). A fim de erradicar essa preocupação, muitos pesquisadores trabalham no desenvolvimento de diferentes polímeros naturais de base biológica. Para substituir os polímeros sintéticos existentes, polímeros biodegradáveis à base de polissacarídeos, como o amido e a celulose vem sendo amplamente estudados (Chandra Mohan et al., 2018).

Segundo Kurukavak (2022) os polissacarídeos são biopolímeros abundantemente utilizados no desenvolvimento de filmes comestíveis, por apresentarem em sua estrutura baixa permeabilidade a gases, contribuindo para a redução da taxa de escurecimento enzimático, propriedade de suma importância para materiais de embalagem, permitindo assim, o aumento do tempo de prateleira dos alimentos. As embalagens ativas ou biofilmes comestíveis são definidas como uma camada fina que

cobre a superfície do alimento, e se não for consumido, o filme comestível se degrada muito rapidamente e, dessa forma, reduz a demanda dos aterros sanitários, em comparação com os produtos plásticos de fonte petroquímica (Jeya Jeevahan et al., 2020).

Os filmes comestíveis produzidos por biopolímeros podem ser uma alternativa eficiente para o prolongamento da vida útil dos alimentos. A formação de biofilmes a partir da mistura de dois ou mais polímeros naturais estão ganhando destaque devido às crescentes aplicações práticas, tendo como finalidade a melhora das propriedades físicas, químicas e mecânicas, aumento da biodegradabilidade, além da redução de custo do material final (Fakhouri, Martelli, Caon, Velasco, & Mei, 2015; Lewandowska et al., 2015).

O desenvolvimento das embalagens ativas contendo compostos ativos que possam atuar como antioxidante e antimicrobiano natural é uma estratégia interessante para a indústria de alimentos. Desta forma, nesta pesquisa foi selecionado um produto regional detentor de tais características. O pólen apícola é composto por carboidratos, celulose, proteínas, lipídios, além de vitaminas, carotenoides e compostos fenólicos, esteróis e terpenos. Além disso, possui propriedades antibióticas, antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-hepatotóxica e pode contribuir para a desintoxicação (Bonamigo et al., 2017).

De acordo com Rzepecka-Stojko et al. (2017), o pólen apícola apresenta propriedades antimicrobianas (contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas) que resultam da presença de flavonoides e ácidos fenólicos. Os aditivos antimicrobianos e antioxidantes dos filmes, ao serem lançados na superfície do alimento, promovem a melhoria da segurança alimentar e aumento da vida de prateleira de produtos prontos para o consumo (Bodini et al., 2013). Características estas que evidenciam o potencial do pólen de abelha como um promissor composto do sistema de embalagem antimicrobiana.

Desta forma, este estudo tem como objetivo selecionar, com o auxílio de um planejamento experimental, filmes biodegradáveis de alginato, pectina e amido incorporado com o pólen apícola de abelha Tubi.

2. Metodologia

Preparação das soluções filmogênicas (preparo do pólen)

Pólen de abelha Tubi (*Scaptotrigona sp*) foi esfarelado e disposto em bandejas de vidro cobertas com papel alumínio. Em seguida, foi submetido ao processo de secagem, com o auxílio de uma estufa de circulação de ar (modelo SL-100/A, Solab, Brasil) a 40°C por \pm 72h. Após secagem, o pólen passou por um processo de pulverização com ajuda de um moinho de facas (Model 460*600, Yongsheng, China) e peneiradas em peneira vibratória a 120 Mesh (Tyler, EUA). Todo o procedimento foi baseado em testes preliminares.

Os filmes compósitos foram preparados de acordo com a metodologia usada por Lopes et al. (2020) com algumas adaptações. O pólen e o glicerol foram fixados em 10g e 3ml, respectivamente. Usando-se agitador mecânico tipo —Turrax (Quimis, Modelo Q250-2, Brasil) foi feita uma dissolução por 1 hora do alginato, pectina, amido, glicerol e pólen, seguindo os ensaios do planejamento experimental descrito na Tabela 1, em 400ml de água destilada, e em uma rotação de 5000rpm. Em seguida a solução foi aquecida a 40°C e foi adicionado 30ml de uma solução aquosa diluída de cloreto de cálcio dihidratado (concentração na solução formadora dos compósitos 1,0g/100ml) lentamente à solução de biopolímero a uma taxa de fluxo de 0,6ml/min com auxílio de uma bomba peristáltica (Masterflex, modelo 77120-70, EUA). Uma taxa de fluxo baixa e forte agitação foram necessárias para evitar a gelificação local (Paixão et al., 2019). Alíquotas da solução (50g) foram vertidas em placas de Petri de 0,15 cm. Em seguida, estes foram secos em estufa (Nova Técnica, modelo 400-1ND, Brasil) por 24 horas.

Após a secagem, os biofilmes foram removidos do suporte e armazenados em dessecadores com Unidade Relativa (UR) de aproximadamente 50% e temperatura de 25°C (\pm 2°C) para posteriores caracterizações. As etapas da produção das formulações podem ser observadas no fluxograma representado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma de produção das formulações filmogênicas incorporadas com pólen apícola.



Fonte: Autores (2022).

Planejamento experimental

Um delineamento experimental foi utilizado para avaliar as misturas considerando quatro variáveis de resposta, principalmente relacionadas a menor permeabilidade ao vapor de água e solubilidade dos biopolímeros. Um projeto de mistura experimental e superfície de resposta triangular, com “*three-factor simplex-lattice design*”, com pontos inferiores e centroide geral foi usado para obter modelos e superfícies de respostas. As variáveis independentes avaliadas foram as concentrações de alginato, pectina e amido. A Tabela 2 apresenta os quatorze ensaios do delineamento experimental. Como variáveis de resposta foram estudadas o teor de umidade, solubilidade em água, espessura e permeabilidade ao vapor de água.

Caracterização das formulações filmogênicas

Avaliação subjetiva

Foram realizadas análises subjetivas quanto a continuidade, homogeneidade e manuseabilidade que foram classificadas como excelente (++++), bom (+++), regular (++) e ruim (+) (Lopes et al., 2020).

Espessura (δ)

A espessura foi determinada em nove posições aleatórias de cada amostra de filme utilizando um micrômetro digital (modelo MDC-25S, Mitutoyo, Japão) com resolução de 0,01mm (Paixão et al., 2019).

Conteúdo de umidade (ω)

O conteúdo de umidade dos filmes foi avaliado através do método gravimétrico. No qual, foi recortado um molde de cada filme, em seguida foram aquecidas em uma estufa (modelo SL-100/A, Solab, Brasil) a 105°C por 24h, de acordo com a metodologia da AOAC 926.12 (AOAC, 2007). A umidade foi determinada em triplicata para cada formulação e expresso como fração de massa.

Solubilidade em água (S)

A análise da solubilidade em água foi realizada em triplicata adaptando o método proposto por Da Silva et al. (2019). As massas iniciais determinadas de cada filme (mi) foram imergidas em 50ml de água destilada a temperatura ambiente (25±1°C) e mantidos sob constante agitação (100rpm) por 24 h em uma mesa de agitação (modelo 3545-40-EA, Termo Fisher Sci Inc,

EUA). Após esse tempo, o material foi retirado e colocado para secagem em estufa (Nova Técnica, modelo 400-1ND, Brasil), durante 24h a 105°C, obtendo-se a massa final (seca) (mf). Os valores de solubilidade foram encontrados conforme a Equação 1, abaixo:

$$S = \frac{mi(1 - \omega) - mf}{mi(1 - \omega)} \times 100 \quad (1)$$

Permeabilidade a vapor de água (PVA)

A permeabilidade a vapor de água dos filmes foi determinada gravimetricamente com base no método ASTM (2016). As amostras dos filmes foram colocadas cuidadosamente sobre uma abertura retangular de uma célula de permeação Plexiglas® preenchida com cloreto de cálcio anidro (condição de 0% de UR). Posteriormente, a célula foi colocada em uma câmara hermeticamente fechada mantida a 75% de UR com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e para detectar a taxa de permeabilidade de água nos filmes, o aumento da massa foi medido periodicamente por 72h. Os valores de PVA foram obtidos usando a Equação 2, abaixo:

$$PVA = \left[\frac{G\delta}{Ae\Delta Pa} \right] \quad (2)$$

Onde: δ = espessura do filme (mm); Ae = área exposta do filme (m²); ΔPa = pressão parcial de água através do filme (kPa); e G = taxa de permeabilidade de água (g/dia).

Propriedades mecânicas

A resistência à tração (TS), alongamento na ruptura (E) e o módulo de Young (YM) dos filmes foram determinados diretamente para os cinco filmes ótimos (G4, G6, G7, G8 e G10) à temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e UR de 55% ($\pm 3^\circ\text{C}$) em uma máquina de teste universal (modelo BIOPDI, Brasil), seguindo o método padrão D-882 da ASTM International Methods (2012). Os ensaios foram realizados em 15 amostras, sendo 3 amostras feitas de forma aleatória de cada filme ótimo, no qual, todos apresentavam dimensões de 10x2,5cm. A velocidade de teste de tração usada foi de 10cm/s. As curvas de tensão-deformação e propriedades de tração foram calculadas a partir do *software* da máquina de teste universal.

Microscopia óptica

As fotomicrografias dos ensaios ótimos foram realizadas com auxílio de microscópio óptico (modelo MA 100 Eclipse, marca Nikon), na objetiva 40x, com um auxílio de uma lâmina, na qual foram inseridas as amostras de cada filme selecionado. As imagens obtidas, em 2D, foram avaliadas como método alternativo para avaliar a miscibilidade óptica das misturas.

Análise estatística

Os dados quantitativos serão expressos como valores médios \pm desvio padrão. O *software* Statistica 9.0 (StatSoft, Inc., USA) foi utilizado para o cálculo da análise de variância (ANOVA), falta de ajuste (Test F), correlação do coeficiente de regressão e geração de superfícies de respostas para avaliar as diferenças entre as médias com 95% de confiança.

3. Resultados e Discussão

Caracterização das formulações filmogênicas e seleção dos filmes otimizados

Após o delineamento experimental, foram obtidas 13 formulações diferentes dos biopolímeros que foram submetidos a uma análise subjetiva (Tabela 1). Esta análise foi o parâmetro inicial para o direcionamento das formulações selecionadas. Destacaram-se quanto à continuidade e homogeneidade, como excelentes, as formulações G2, G4, G6, G7, G8 e G10, no qual

destas, apenas a formulação G8 não possui na matriz polimérica a pectina. Segundo Zhang, Zhao, & Shi (2016), a presença de pectina promove reforço na formação do filme, devido a sua propriedade de reticulação.

Tabela 1. Resultados da avaliação subjetiva dos ensaios de formulações de biopolímeros incorporados com pólen Tupi.

Ensaio	Continuidade	Homogeneidade	Transparência	Flexibilidade
1	+++	+++	+	+++
2	++++	++++	++	++++
3	++	+++	++	+
4	++++	++++	+++	++++
5	+	+	+	+
6	++++	++++	++	++++
7	++++	++++	++	+++
8	++++	++++	++	++++
9	+++	+++	++	+
10*	++++	++++	++	++
11	++	++	+++	++
12	++	++	+	++++
13	+++	+++	+++	+++
14*	++	++	+	+

Legenda: ++++ excelente, +++ bom, ++ regular, + ruim; * Os ensaios 10 e 14 são iguais. Fonte: Autores (2022).

Em relação à transparência dos biopolímeros, todos se apresentaram com coloração muito próxima a coloração natural do pólen da abelha Tubi, (*Scaptotrigona sp*). No aspecto flexibilidade, foi possível observar que os filmes G3, G5, G9 e G14 foram classificados como ruim, devido à dificuldade de manusear sem provocar rupturas ao serem removidos da placa.

A Tabela 2 apresenta os resultados das caracterizações físicas-químicas dos biopolímeros, com 14 formulações (com uma repetição) para os filmes compostos de alginato, amido, pectina e pólen. De acordo com os resultados desta Tabela, observa-se que os teores de umidade apresentaram uma faixa de valores, variando de 15,11 a 27,67%, referindo-se às formulações G3 (mistura com amido) e G7 (com mistura binária de alginato e pectina), respectivamente. Esses valores foram próximos aos obtidos para filmes de amido de feijão (17 a 27%) (Costa, Santos, Silva, & Silva., 2017) e filmes compostos de pectina e alginato (15 a 30%) (Bierhalz et al., 2012). Bierhalz et al. (2012) estudando filmes de pectina de baixo teor de metoxilação (semelhante à utilizada nesta pesquisa) e alginato para aplicação de embalagens de alimento encontraram teor de umidade entre 15,20 e 23,15%. Para os filmes elaborados com pectina e alginato é esperado que a umidade seja alta, pois estes polímeros apresentam características hidrofílicas. Do Evangelho et al. (2019) ao avaliar as propriedades físicas de filme de amido de milho incorporado com óleo essencial de laranja, detectou o teor de umidade variando entre 18,81 e 21,93%.

Segundo Suderman et al., (2018) o teor de água do filme contribui para a apresentação de uma estrutura filmogênica flexível e esticável. Fato que podemos observar, na Tabela 2, no qual aqueles ensaios que apresentaram teor de umidade $\geq 21\%$ (G2, G4, G7 e G8), também apresentaram boa flexibilidade (Tabela 1).

A umidade é uma propriedade física muito importante na conservação de alimentos, pois muitos dos processos de deterioração dos alimentos podem ser associados ao ganho ou perda de umidade. Variações descontroladas do teor de umidade podem causar alterações físicas e químicas no produto, e isso conseqüentemente pode provocar perdas nutricionais, alterações das características sensoriais (cor, odor e sabor), além de promover o crescimento microbiano, a oxidação de gorduras, ação enzimática e escurecimento não enzimático (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2018).

O coeficiente de correlação (R^2) para o modelo foi de 80,99% (5% de significância) e a Fig. 2a mostra a superfície de resposta para umidade dos biopolímeros. Como se trata de uma proposta inicial de nova formulação, trabalhou-se com valores de R^2 menores ($R^2 > 70\%$) para obtenção de superfície de resposta. Uma análise da Fig. 2a mostra que os menores teores de umidade são obtidos para filmes com maiores concentrações de pectina e amido, em misturas binárias e ternárias, enquanto concentrações de alginato fez com que estes filmes apresentassem um maior teor de umidade. Isso pode ser atribuído a natureza do alginato, por ser um carboidrato coloidal hidrofílico (Costa et al., 2018). Wang et al. (2019) desenvolveram filme à base de alginato, poliuretano e óleo de mamona, e ao avaliarem os filmes com variação de poliuretano e alginato, identificaram que com a adição do conteúdo de polissacarídeos a natureza hidrofílica das membranas aumentavam, devido aos grupos carboxilato e hidroxila do alginato.

A solubilidade em água desempenha papel crítico em filmes biodegradáveis e na permeabilidade ao vapor de água, sendo atributos de suma importância a caracterização, para se compreender o comportamento do filme ao entrar em contato com água (Li, Hu & Li, 2021). De acordo com Do Evangelho et al. (2019) a solubilidade dos filmes depende do tipo e concentração dos compostos, bem como dos seus índices de hidrofiliicidade e hidrofobicidade. Assim, àqueles compostos hidrofílicos tendem a aumentar os valores de solubilidade, enquanto que, os compostos hidrofóbicos diminuem esses valores (Caetano et al., 2017).

Os dados de solubilidade em água apresentados na Tabela 2, variaram de 4,20 a 49,30% referentes ao ensaio de misturas binária (G9) e misturas ternária (G12), respectivamente. A presença do amido fez com este diminuísse a solubilidade dos biopolímeros, tornando-os menos higroscópicos/hidrofílicos, podendo ser promissor para utilização como embalagens alimentícias. De Evangelho et al. (2019), Barbapour et al., (2021) e Nogueira et al., (2022) obtiveram valores de solubilidade em água de 15,25 a 18,67%, 15,92 a 24,54% e 13,33% a 33,32%, próximos aos obtidos nesta pesquisa, utilizando amido de milho e óleo essencial, amido de batata e nanopartículas de óxido de zinco e óleo de erva-doce, amido de araruta incorporado com extrato de bagaço de uva, respectivamente, como matriz dos filmes. Em contrapartida, Yang et al. (2021) identificaram valores de solubilidade superiores aos encontrados neste estudo (48,57 a 59,58%) ao caracterizarem filmes base de pectina, alginato de sódio e goma xantana incorporados com extrato de bagaço de framboesa. Da mesma forma, Costa et al. (2018), utilizando filme à base de alginato obtiveram valores de solubilidade maiores ao encontrado neste estudo, variando entre 45,25 a 100%, de acordo com as diferentes proporções de ácido manurônico e gulurônico utilizado na solução filmogênica.

Song et al., (2018) afirmam que o aumento da solubilidade pode estar relacionado à ruptura dos filmes (facilitando a inserção de água na matriz polimérica) e ao aumento da espessura e estruturas superficiais irregulares dos filmes, aumentando a área de contato do filme com a água.

Em relação ao R^2 , foi obtido o valor de 81,83% ($R^2 > 70\%$) para o modelo ajustado com diferentes concentrações de alginato, pectina e amido ao nível de 95% de confiança. Portanto, superfície de resposta foi possível ser obtida (Figura 2b). Nesta Figura, pode-se observar que os maiores valores de solubilidade são obtidos para misturas binárias com uma maior concentração de alginato e misturas ternárias na qual contém maior concentração deste carboidrato. O alginato é uma matriz altamente higroscópica e segundo Paixão et al. (2019), esta higroscopicidade do alginato influencia nos filmes. Santana e Kieckbusch (2013) estudando filmes contendo alginato, encontraram valores de solubilidade próximo à 100%. Entretanto, as solubilidades obtidas em todas as formulações foram consideravelmente baixas, indicando que o pólen ajudou a melhorar esta propriedade.

De acordo com Paixão et al. (2019), a espessura dos filmes é uma das características mais importantes, pois influencia na permeabilidade ao vapor de água. O controle da espessura é difícil, sobretudo, nos processos de produção do tipo *casting*. Na Tabela 2 está mostrado os valores experimentais para a espessura dos biopolímeros com misturas de alginato, pectina e amido, apresentando variação de 0,22 a 0,94mm referente aos ensaios G6 e G7 (menor espessura) e G5 (maior espessura), respectivamente. Gouveia et al., (2019) obtiveram valores médios de espessura de 0,34mm para filmes à base de pectina cítrica. Este valor médio está dentro da variação de espessura encontrado neste estudo. Entretanto, Sood e Saini (2022) obteve valores

menores de espessura na faixa de 0,13 a 0,18mm utilizando a mesma matriz. Para filmes à base de amido também foi encontrado valores menores de espessura (0,12 a 0,15mm) (Barbapour et al., 2021).

Segundo Shankar et al., (2017), o aumento significativo na espessura na formação dos filmes poliméricos deve-se principalmente ao teor de sólidos incorporados, impedindo o empacotamento de cadeias moleculares de forma eficiente. Possivelmente, a incorporação do pólen produzido pela *Scaptotrigona sp* na matriz polimérica resultou em um biofilme mais espesso do que encontrado na literatura, pois mesmo passando por um processo de secagem e pulverização, as partículas apresentaram uma granulometria alta (mesh 35).

O coeficiente de correlação para o modelo ajustado foi de 71,59% ($R^2 > 70\%$) ao nível de 5% de significância. Apesar do R^2 um pouco baixo, foi possível obter superfície de resposta apresentada na Figura 2c. Pode-se observar que para todos os tratamentos, a espessura aumentou com o uso de maiores concentrações de alginato. Entretanto, menores espessuras foram encontradas em misturas binárias, com exceção da formulação G5 (1/3 g de alginato + 2/3 g de amido).

Em relação à PVA, pode-se observar através da Tabela 2 que ocorreu uma variação de valores de 8,85 a 64,65g.mm/m².dia.kPa, correspondentes aos ensaios G3 (10g de amido) e G5 (1/3g de alginato + 2/3g de amido), respectivamente. Entretanto, os ensaios G3, G6, G7 e G8 não diferiram estatisticamente ao nível de 95% de confiança. Resultados próximos foram obtidos por Yang et al. (2021) ao analisarem a incorporação de extrato de bagaço de framboesa em filme à base de pectina, alginato e goma xantana, encontraram valores de PVA na faixa de 14,53 a 18,12g.mm/m².dia.kPa. Por outro lado, valores inferiores de PVA foram obtidos por Mahuwala et al. (2020) estudando filmes de mistura binária (amido de mandioca/ágar) incorporado com nitrato de prata e nanopartículas de óxido de zinco (1,53 a 1,88g.mm/m².dia.kPa) e por Melo, Aouada, & Moura (2017) com filmes de pectina e polpa de cacau (2,47 e 2,69g.mm/m².dia.kPa).

Os valores de PVA encontrados neste estudo foram extremamente altos quando comparados aos filmes de polímeros convencionais utilizados como barreira para gases, como o polietileno de baixa densidade (PEBD), cujo PVA é aproximadamente 0,072g.mm/m².dia.kPa (Otoni et al., 2017). Entretanto, conforme apresentado por Santana e Kieckbusch (2013) e Sayanjali et al., (2011), esses valores obtidos para os biofilmes de polissacarídeos podem ser aceitáveis para aplicações em embalagens comestíveis.

No cálculo do PVA, a espessura tem grande influência, justificando o aumento da PVA com o aumento da espessura (ensaio G5). Segundo Paixão et al. (2019), Santana e Kieckbusch (2013) a permeabilidade ao vapor de água, ao oxigênio e ao gás carbônico aumenta conforme a espessura dos filmes aumentava. Em contrapartida, Sobral e Ocuno (2000) afirma que este processo ocorre de forma contrária, na qual a permeabilidade ao vapor de água aumenta com a diminuição da espessura.

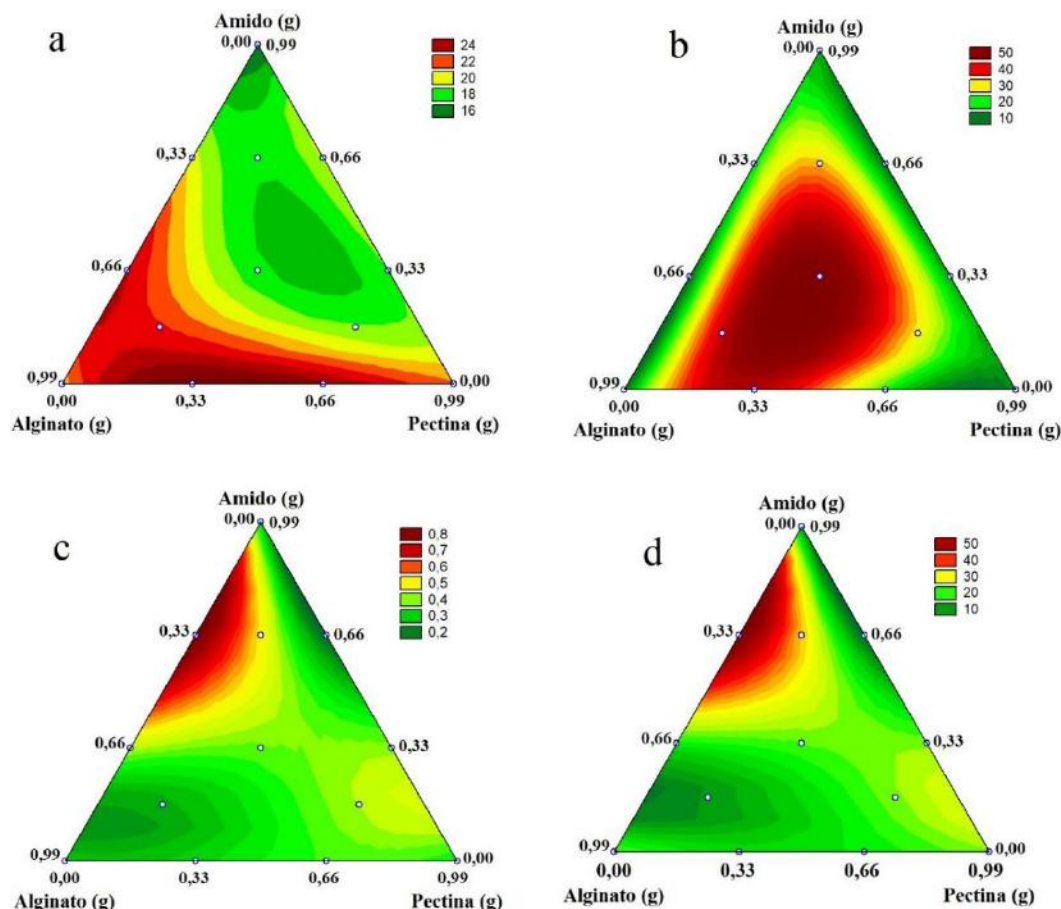
O R^2 para o modelo ajustado com diferentes concentrações de alginato, pectina e amido foi 78,70% ($R^2 > 70\%$) e, portanto, superfície de resposta foi possível ser obtida (Figura 2d). Analisando a Figura, pode-se verificar o mesmo comportamento ocorrido na Figura 2c para espessura, indicando que a PVA aumenta utilizando uma maior concentração de amido e alginato (G3, G6, G7 e G8). De acordo com Cherman et al., (2022) que estudaram a caracterização de um filme comestível a base de alginato e óleos essenciais (alecrim e orégano), ao avaliar os dados de PVA, observou que o maior valor (9,71g.mm/m².dia.kPa) foi do ensaio controle que continha apenas alginato em sua composição. Resultado este que se comporta diferente do encontrado nesta pesquisa. Já no estudo de Do Evangelho et al. (2019) o PVA dos filmes com apenas amido foi de 2,82g.mm/m².dia.kPa. Segundo estes autores, o aumento do PVA dos filmes está relacionado à formação de cavidades que causaram alterações na integridade estrutural dos filmes, aumentando a quantidade de espaços livres na rede polimérica e facilitando a passagem do vapor d'água.

Tabela 2. Respostas obtidas para o delineamento experimental de biopolímeros[#] adicionado de pólen Tupi.

Ensaio	CA (g)	CP (g)	CA (g)	ω (%)	S (%)	δ (mm)	PVA**
G1	1	0	0	20,52±0,02 ^f	7,30±0,01 ^b	0,26±0,03 ^{ab}	20,54±2,14 ^d
G2	0	1	0	21,43±0,01 ^{fg}	10,20±0,00 ^e	0,31±0,06 ^{ab}	21,10±2,30 ^d
G3	0	0	1	15,11±1,00 ^a	11,20±0,03 ^f	0,27±0,03 ^{ab}	8,85±0,86 ^a
G4	1/3	2/3	0	23,90±0,00 ^g	10,10±0,02 ^d	0,32±0,05 ^b	14,44±0,60 ^b
G5	1/3	0	2/3	18,38±0,00 ^{de}	17,50±0,06 ^h	0,94±0,12 ^d	64,65±2,79 ^g
G6	0	1/3	2/3	18,64±0,01 ^e	11,40±0,04 ^g	0,22±0,03 ^a	9,57±2,69 ^a
G7	2/3	1/3	0	27,67±0,01 ⁱ	46,70±0,42 ^k	0,22±0,04 ^a	10,41±1,26 ^a
G8	2/3	0	1/3	25,16±0,00 ^h	8,30±0,03 ^c	0,30±0,04 ^{ab}	8,99±0,23 ^a
G9	0	2/3	1/3	18,25±0,05 ^{de}	4,20±0,02 ^a	0,31±0,04 ^{ab}	15,81±0,05 ^c
G10*	1/3	1/3	1/3	18,67±0,00 ^e	40,00±0,01 ^j	0,25±0,08 ^{ab}	14,59±0,35 ^b
G11	2/3	1/6	1/6	18,07±0,07 ^d	47,00±0,14 ^k	0,46±0,10 ^{bc}	21,78±1,59 ^d
G12	1/6	2/3	1/6	16,96±0,19 ^b	49,30±0,07 ^l	0,58±0,05 ^c	32,31±2,47 ^f
G13	1/6	1/6	2/3	17,22±0,00 ^c	36,20±0,06 ⁱ	0,46±0,15 ^{bc}	27,61±1,82 ^e
G14*	1/3	1/3	1/3	18,48±0,01 ^{de}	49,40±0,05	0,30±0,06 ^{ab}	14,95±0,03 ^b

* Os ensaios 10 e 14 são iguais. [#] Média das triplicatas ± desvio padrão. As mesmas letras na mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os valores das médias ($p > 0,05$). ^{**} Permeabilidade ao Vapor de Água [(g.mm)/(m².dia.kPa)]. Fonte: Autores (2022)

Figura 2. Superfície de resposta para o conteúdo de umidade (a), solubilidade em água (b), espessura (c) e PVA (d) dos biopolímeros adicionado de pólen.



Fonte: Autores (2022).

Ensaios selecionados

As misturas binárias das formulações 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 a mistura ternária da formulação G10 (1/3g de alginato + 1/3g de pectina + 1/3g de amido), foram selecionadas por apresentarem um aspecto visual com boa maleabilidade, flexibilidade, de fácil desprendimento do suporte; além de apresentarem baixos valores de solubilidade e intermediários de umidade e PVA (de acordo com a otimização obtida pelas superfícies de respostas).

As formulações selecionadas foram submetidas as caracterizações de propriedades mecânicas (Tabela 3) e microscopia ótica (Figura 3).

A realização de estudos sobre as propriedades mecânicas, identificando a resistência do material ao alongamento e ao rompimento quando submetido à tração são essenciais para se caracterizar os filmes desenvolvidos para uso como embalagem ou revestimento de alimentos. Pois, para manter a integridade e apresentarem boas propriedades de barreira, os filmes precisam resistir ao manuseio durante sua aplicação e serem flexíveis o suficiente para se adaptar as possíveis deformações dos alimentos e transporte (Paixão et al., 2019; Wihodo & Moraru, 2013).

Segundo Paixão et al. (2019) e Araruna et al. (2021), os parâmetros mecânicos, químicos e estruturais e os parâmetros externos dos polímeros podem influenciar diretamente suas respostas mecânicas. Das diversas características químicas e estruturais dos polímeros, algumas que alteram seu comportamento mecânico são cristalinidade, a presença de grupos polares e ligações cruzadas. Os seguintes parâmetros externos também podem influenciar o comportamento mecânico dos polímeros: a

presença de um plastificante, elastômeros e o reforço com fibras ou outros compósitos, entre outros (Raposo et al., 2020). A espessura e o teor de umidade também podem influenciar a resistência mecânica (Basiak et al., 2017).

A Tabela 3 mostra que a tensão de ruptura variou de 1,35 a 2,83MPa, referentes as formulações G7 (2/3g de alginato + 1/3g de pectina) e G6 (1/3g de pectina + 2/3g de amido), respectivamente.

Entretanto, a maior tensão de ruptura pode estar relacionada ao número de grupos polares presentes no amido e a possível cristalização do pólen. Isso resultou em uma interação maior entre as cadeias por meio de ligações secundárias, consequentemente aumentando a resistência mecânica do filme, ou seja, o amido utilizado nesta pesquisa tem uma massa molar baixa e, portanto, tornam-se miscíveis com o polímero, que, quando incorporado, interagiu e ocupou fisicamente todo o espaço entre as cadeias poliméricas, tornando as interações entre elas difíceis e assim aumentando tensão de ruptura (Paixão et al., 2019). Além disto, a cristalização do pólen juntamente com o amido, pectina e glicerol contribuíram no fechamento destes espaços entre as cadeias, aumentando essa TR.

Mali et al., (2010) corroboram com os resultados encontrados nesta pesquisa, ao concluírem que filmes à base de resíduos vegetais com adição de amido, apresentam maior resistência por promover o aumento do grau de interação da matriz. Desta forma, Dash et al., (2019) ressaltam que os amidos podem proporcionar formação de filmes comestíveis razoável resistência mecânica, além de ser usado para revestir alimentos, proteger e prevenir a perda de água. No entanto, é preciso salientar que filmes com composto apenas de amido se mostram frágeis e com propriedades mecânicas insatisfatórias, logo, o ideal que seja parte da mistura polimérica ou incorporado como apresentado neste estudo (Li et al., 2020).

No entanto, os resultados obtidos nesta pesquisa, foram inferiores aos obtidos em outros estudos utilizando alginato 33,7 a 49,4MPa (Santana & Kieckbusch, 2013), pectina (Lopez et al., 2019; Ngo et al., 2020) (18,09 e 7,10MPa, respectivamente), amido (Babapour et al., 2021) (2,82 a 7,16MPa), mistura de alginato, pectina e goma xantana (Yang et al., 2021) (13,8 a 119,5MPa) e mistura de alginato e poliuretano (29,65 a 39,81MPa) (Wang et al., 2019).

Tabela 3. Resistência à tração (TR), alongamento na ruptura (e), módulo de Young (E) dos filmes selecionados.

Ensaio selecionado	TR (MPa)	e (%)	E (MPa)
G4	1,58±0,33 ^{ab}	4,64±0,86 ^{ab}	35,08±8,81 ^a
G6	2,83±0,31 ^c	4,05±0,01 ^a	137,06±20,84 ^c
G7	1,35±0,18 ^a	6,58±1,82 ^b	35,69±26,93 ^{ab}
G8	2,04±0,68 ^b	9,60±1,02 ^c	41,22±15,13 ^{ab}
G10	2,63±1,27 ^{bc}	5,22±2,65 ^b	55,58±6,06 ^b

Média das triplicatas ± desvio padrão. As mesmas letras na mesma coluna indicam não haver diferença significativa entre os valores das médias (p >0,05). Fonte: Autores (2022).

Em relação ao alongamento na ruptura (e), a formulação G6, com maior concentração de amido, apresentou menor valor (4,05%), mostrando ser mais rígido devido à presença deste componente. Outro fato que pode ter ocorrido, é que com a adição do amido pode ter ocasionado a desplastificação do polímero (neste caso glicerol) fazendo com que o alongamento diminuísse. Em contra partida, a mistura binária da formulação G8 (2/3g de alginato + 1/3g de amido) obteve uma melhor alongação (9,60%), mostrando que a maior concentração de alginato deixa a cadeia polimérica mais maleável e flexível. Segundo Paixão et al. (2019) e Araruna et al. (2021), o alongamento na ruptura é a porcentagem de mudança no comprimento do filme quando o filme é quebrado após um certo nível de força aplicada. Valores próximos de alongamento na ruptura foram obtidos por Santana et al. (2019) que desenvolveu e caracterizou filmes de amido de mandioca reforçados com celulose e nanopartículas de amido, e obtiveram percentual de alongamento de ruptura variando entre 3,70 e 7,20%.

O percentual de alongamento obtido neste estudo (4,05 a 9,60%) foi inferior ao encontrado na pesquisa de Babapour et al. (2021) que avaliou filme de amido de batata (18,45 a 27,64%). Yang et al. (2021) e Wang et al. (2019) também apresentaram valores acima do encontrado neste estudo, respectivamente, 13,11 a 19,02% e 9,65 a 256,4%, para filmes de mistura de alginato, pectina e goma xantana e mistura de alginato e poliuretano.

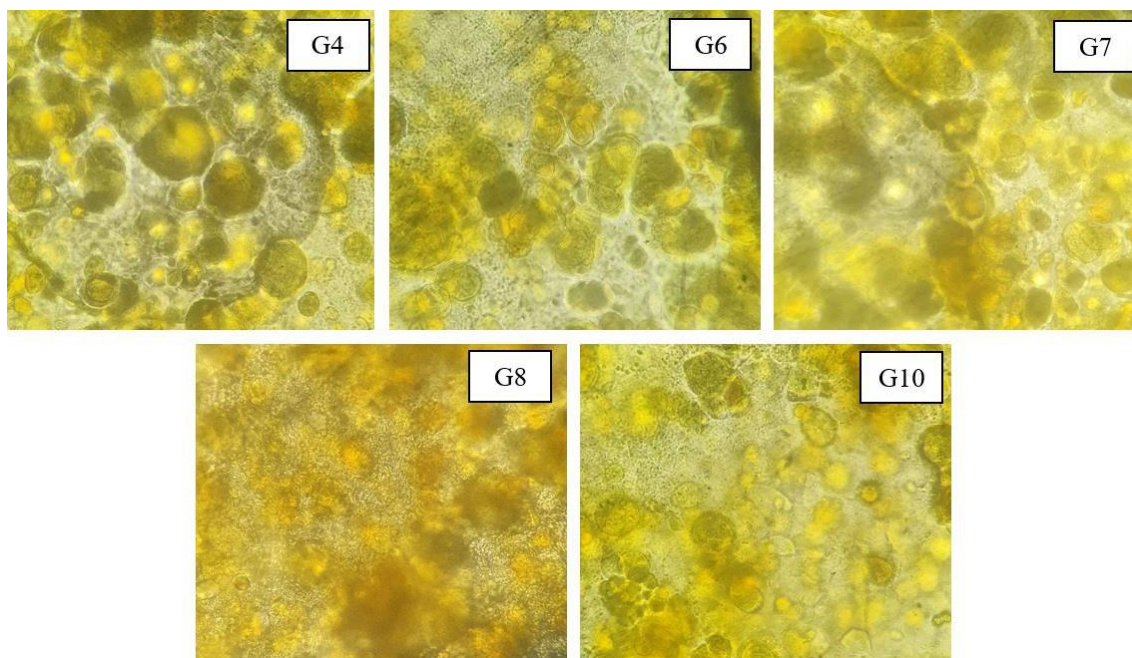
Em relação ao módulo de Young dos filmes, conforme mostrado na Tabela 3, os valores variaram de 35,05 a 137,06MPa, correspondentes aos ensaios G4 (1/3g de alginato + 2/3g de pectina) e G6 (1/3g de pectina + 2/3g de amido), respectivamente. Resultados com valores dentro da faixa encontrada neste estudo, foram obtidos por Lopez et al. (2019) estudando a avaliação mecânica de formulação otimizada de pectina e óleo mineral que indicou módulo de Young de 105,04MPa. Da mesma forma, Babapour et al. (2021) também apresentou resultados dentro da faixa, com variação entre 61,05 a 139,11MPa, sendo que o menor valor obtido foi do filme controle com composição de 100% de amido.

A presença do amido nos filmes tem influência significativa em suas propriedades mecânicas, causando aumento na rigidez, aumentando a tensão de ruptura e diminuindo o alongamento na ruptura. Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito desplastificante do amido, que diminui o volume livre entre as cadeias poliméricas, aumentando as interações polímero-polímero e diminuindo a mobilidade das cadeias poliméricas (Araruna et al., 2021; Pereira et al., 2013).

Na Figura 3 está apresentado as micrografias ópticas dos filmes selecionados, no qual é possível observar a presença dos grânulos de pólen (coloração amarelada) de forma evidente em todos os ensaios, apresentados em diferentes tamanhos. Nas misturas binárias G4, G6, G7 e ternária G10, os espaços de coloração cinza corresponde à presença de pectina nos compósitos.

Em relação a presença de cristais de cálcio ocorrida pelo processo de reticulação dos filmes de alginato com cálcio (ensaios G7 e G8) ficou mais evidente no ensaio G8.

Figura 3. Microscopia óptica dos filmes selecionados.



Fonte: Autores (2022).

3. Considerações Finais

As formulações filmogênicas selecionadas destacam-se por apresentarem flexibilidade satisfatória, excelentes continuidade e homogeneidade, com coloração muito próxima a coloração natural do pólen da abelha Tubi (*Scaptotrigona sp.*).

As propriedades mecânicas demonstram tensão de ruptura variando de 1,35 a 2,83 MPa, quanto a alongamento na ruptura, o filme que apresentou menor valor tinha maior concentração de amido, mostrando ser mais rígido e o filme que obteve melhor alongação, tinha maior concentração de alginato, evidenciando que este biopolímero deixa a cadeira polimérica mais maleável e flexível. A microscopia óptica destaca a nítida presença de pólen nos filmes em forma de grânulos e assim como a coloração amarelada.

Desta forma, as características observadas nos filmes são promissoras para utilização como embalagem comestível e biodegradáveis, porém, ainda necessita da realização de mais testes para se afirmar sua eficiência em relação àquelas sintéticas.

Agradecimentos

Agradecemos à CNPq, FAPEMA e RENORBIO (PROAP) pelo suporte financeiro, ao Sr. Wilson Melo pelo auxílio com a matéria-prima (pólen), ao Laboratório de Pesquisa e Ensino de Engenharia Química e a Central Analítica de Química da Universidade Federal do Maranhão por todo o apoio da realização da pesquisa, análise e discussão de dados.

Referências

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Alimentos. *Guia*. n. 16, versão 1, de 5 de outubro de 2018.

Araruna, F. O. S., Araruna, F. B., Pereira, L. P. L. A., Brito, M. C. A., Gomes, P. D. B., Santos, D. C. P., Firmo, W. da C. A., Rocha, A. A., Rodrigues, K. A. da F., Santana, A. A., Nunes, L. C. C., & Coutinho, D. F. (2021). Development and characterization of curative films based on *Attalea speciosa* Mart mesocarp. ex Spreng and glycolic extract of *Aloe vera* (L.) Burm. f. *Research, Society and Development*, 10(2), 1-15. 10.33448/rsd-v10i2.12520. <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12520>.

Astm International (2016). ASTM E96/E96M-16. In Standard, test methods of water vapor transmission of materials. West Conshohocken.

Astm International ASTM D-882 (2012). Standard test method for tensile properties in thin films sheeting. In ASTM D882–18. West Conshohocken.

Babapour, H., Jalali, H., Mohammadi Nafchi, A. (2021). The synergistic effects of zinc oxide nanoparticles and fennel essential oil on physicochemical, mechanical, and antibacterial properties of potato starch films. *Food Sci Nutr.*, 9, 3893-3905. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2371>

Basiak, E., Lenart, A. & Debeaufort, F. (2017). Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 348-356. 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.122

Bierhalz, A. C. K., Da Silva, M. A. & Kieckbusch, T. G. (2012). Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, 110(1), 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.016>

Bodini, R. B., Sobral, P. J. A., Favaro-Trindade C. S., Carvalho, R.A. (2013). Properties of gelatin-based films with added ethanol-propolis extract. *Food Science and Technology*, 51(1), 104-110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.013>

Bonamigo, T., Campos, J. F., Alfredo, T. M., Balestieri, B. P., Cardoso, C. A. L., Paredes-Gamero, E. J., de Picoli Souza, K., Dos Santos, E. L. (2017). Antioxidant, cytotoxic, and toxic activities of propolis from two native bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/1038153>

Caetano, K. dos S., Hessel, C.T., Tondo, E. C., Flôres, S. H. Cladera-Olivera, F. (2017). Application of active cassava starch films incorporated with oregano essential oil and pumpkin residue extract on ground beef. *Journal of Muscle Foods*, 37, e12355. <https://doi.org/10.1111/jfs.12355>

Chandra Mohan, C., Harini, K., Karthikeyan, S., Sudharsan, K., Sukumar, M. (2018). Effect of film constituents and different processing conditions on the properties of starch based thermoplastic films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120(Pt B), 2007–2016. 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.161

Cherman, K. A., Scapim, M. R. Da S., Silva, J. F., Madrona, G. S. (2022). Characterization Of An Edible Coating Based On Alginate And Essential Oils. *Research, Society And Development*, 11(2), E52911226145. doi.org/10.33448/rsd-v11i2.26145

Costa, D. M. A. da, Santos, A. F. dos, Silva, E. D. da, Silva, I. A. da. (2017). Desenvolvimento e caracterização de filmes à base de amido de feijão macáçar (*Vigna unguiculata*). *HOLOS*, 7, 2-16.

Costa, M. J., Marques, A. M., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., Sillankorva, S. M. Cerqueira, M. A. (2018). Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocolloids*, 81, 442-448. [doi:https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.014)

Da Silva, D. C., Lopes, I. A., Da Silva, L. J. S., Lima, M. F., Barros Filho, A. K. D., Villa-Vélez, H. A., Santana, A. A. (2019). Physical properties of films based on pectin and babassu coconut mesocarp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 419-428. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.151>

Dash, K. K., Ali, N. A., Dipannita, D., Mohanta, D. (2019). Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nanotania inclusions for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 449-458. 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.193

- Do Evangelho, J. A., Dannenberg, G. da S., Biduski, B., El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., Fiorentini, A. M. Zavareze, E. da R. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 222, 114981. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>
- Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., Mei, L. H. I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.015>
- Gouveia, T. I. A., Biernacki, K., Castro, M. C. R., Gonçalves, M. P., Souza, H. K. S. (2019) A new approach to develop biodegradable films based on thermoplastic pectin. *Food Hydrocolloids*, 97, 105175. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105175>
- Jeya Jeevahan J., Chandrasekaran M., Venkatesan S.P., Sriram V., Britto Joseph G., Mageshwaran G., Durairaj R.B. (2020). Scaling up difficulties and commercial aspects of edible films for food packaging: A review. *Trends Food Science & Technology*, 100, 210-222. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.014>
- Kurukavak, Ç. K. (2022). Nanomaterials in preparation of bionanocomposites for food packaging applications, In *Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering*, 43-68. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88528-7.00010-1>
- Lewandowska, K., Sionkowska, A. & Grabska, S. (2015). Chitosan blends containing hyaluronic acid and collagen. Compatibility behaviour. *Journal of Molecular Liquids*, 212, 879-884. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.10.047>
- Li, C., Hu, Y. & Li, E. (2021). Effects of amylose and amylopectin chain-length distribution on the kinetics of long-term rice starch retrogradation. *Food Hydrocolloids*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106239>
- Li, S., Ma, Y., Ji, T., Sameen, D. E., Ahmed, S., Qin, W., Dai, J., Li, S., Liu, Y. (2020). Cassava starch/carboxymethylcellulose edible films embedded with lactic acid bacteria to extend the shelf life of banana. *Carbohydrate Polymers*, 248, 116805. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116805>
- Lopes, I. A., Paixão, L. C., da Silva, L. J. S., Rocha, A. A., Barros Filho, A. K. D., Santana, A. A. (2020). Elaboration and characterization of biopolymer films with alginate and babassu coconut mesocarp. *Carbohydrate Polymers*, 234, 115747. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115747>
- Lopez, D. F., Osório, O. & Checa, O. E. (2019). *Propiedades mecánicas de un material de pectina para revestimiento de fibras naturales utilizadas en aplicaciones agrícolas*. Informaciones Tecnológicas. La Serena, 30(3), 189-198, jun. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642019000300189>
- Luchese, C. L., Frick, J. M., Patzer, V. L., Spada, J. C. Tessaro, I. C. (2015). Synthesis and characterization of biofilms using native and modified pinhão starch. *Food Hydrocolloids*, 45, 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.015>
- Mahuwala, A. A., Hemant, V., Meharwade, S. D., Deb, A., Chakravorty, A., Grace, A. N. Raghavan, V. (2020). Synthesis and characterisation of starch/agar nanocomposite films for food packaging application. *IET Nanobiotechnol.*, 14, 809-814. [10.1049/iet-nbt.2020.0100](https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2020.0100)
- Mali S., Grossman, M. V. E. & Yamashita, F. (2010). Starch films: production, properties and potential of utilization. *Semina: Ciências Agrárias*, 31(1), 137-156. ISSN: 1679-0359
- Melo, P. T. S., Aouada, F. A. & Moura, M. R. (2017). Fabricação de filmes bionanocompósitos à base de pectina e polpa de cacau com potencial uso como embalagem para alimentos. *Química Nova*, 40(3), 247-251. Disponível em: http://quimicanova.s bq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=6544
- Ngo, T. M. P., Nguyen, T. H., Dang, T. M.Q. D., Tran, T.X., Rachtanapun, P. (2020). Characteristics and antimicrobial properties of active edible films based on pectin and nanochitosan. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 2224. [10.3390/ijms21062224](https://doi.org/10.3390/ijms21062224)
- Nogueira, G. F., Soares, I. H. B. T., Soares, C. T., Fakhouri, F. M., de Oliveira, R. A. (2022). Development and characterization of arrowroot starch films incorporated with grape pomace extract. *Polysaccharides*, 3(1), 250-263. [10.3390/polysaccharides3010014](https://doi.org/10.3390/polysaccharides3010014)
- Otoni, C.G., Avena-Bustillos, R.J., Azeredo, H.M.C., Lorevice, M.V., Moura, M.R., Mattoso, L.H.C., McHugh, T.H. (2017). Recent advances on edible films based on fruits and vegetables: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (5), 1151-1169. [10.1111/1541-4337.12281](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281)
- Paixão, L. C., Lopes, I. A., Barros Filho, A. K. D., Santana, A. A. (2019). Alginate biofilms plasticized with hydrophilic and hydrophobic plasticizers for application in food packaging. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(48), 48263. [doi:10.1002/app.48263](https://doi.org/10.1002/app.48263)
- Raposo, A. K. da S., Paixão, L. C., Rocha, A. A., Lopes, I. A., Santos, G. A. S., Ribeiro, G. A. C., de Menezes, A. S., Barros Filho, A. K. D., Santana, A. A. (2020). Characterization of biodegradable films produced from mixtures of alginate, starch and babassu fibers. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-15. [10.1007/s10924-020-01952-z](https://doi.org/10.1007/s10924-020-01952-z)
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A. Buszman, E. (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity. *Molecules*, 20 (12), 21732-21749.
- Santana, A. A. & Kieckbusch, T. G. (2013). Physical evaluation of biodegradable films of calcium alginate plasticized with polyols. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 30(4), 835-845. [doi:10.1590/S0104-66322013000400015](https://doi.org/10.1590/S0104-66322013000400015)
- Santana, J. S., de Carvalho Costa, É. K., Rodrigues, P. R., Correia, P. R. C., Cruz, R. S., Druzian, J. I. (2019). Morphological, barrier, and mechanical properties of cassava starch films reinforced with cellulose and starch nanoparticles. *J. Applied Polymer Science*, 136, 47001. <https://doi.org/10.1002/app.47001>
- Sayanjali, S., Ghanbarzadeh, B. & Ghiassifar, S. (2011). Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic *Aspergillus* species in fresh pistachios. *Food Science and Technology*, 44 (4), 1133-1138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.017>
- Shankar, S., Wang, L.F. & Rhim, J.W. (2017). Preparation and properties of carbohydrate-based composite films incorporated with CuO nanoparticles. *Carbohydr Polymers*, 1(169), 264-271.
- Sobral, P. J. do A. & Ocuno, D. (2000). Permeabilidade ao vapor de água de biofilmes à base de proteínas miofibrilares de carne. *Brazilian Journal food Technology*, 3, 11-16.

- Song, K., Zuo, G., & Chen, F. (2018). Effect of essential oil and surfactant on the physical and antimicrobial properties of corn and wheat starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1302–1309. [10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.114)
- Sood, A. & Saini, C. S. (2022). Red pomelo peel pectin based edible composite films: effect of pectin incorporation on mechanical, structural, morphological and thermal properties of composite films. *Food Hydrocolloids*, 123, 107135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107135>
- Suderman, N., Isa, M. I. N. & Sarbon, N. M. (2018). The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: a review. *Food Bioscience*, 24, 111-119. [10.1016/j.fbio.2018.06.006](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.06.006)
- Wang, X., Zang, Y., Liang, H., Zhou, X., Fang, C., Zhang, C., Lou, Y. (2019). Synthesis and properties of castor oil-based waterborne polyurethane/sodium alginate composites with tunable properties. *Carbohydr. Polymers*, 208, 391-397. [10.1016/j.carbpol.2018.12.090](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.090).
- Wihodo, M. & Moraru, C.I. (2013). Physical and chemical methods used to enhance the structure and mechanical properties of protein films. *Journal of Food Engineering*, 114, 292–302. [10.5772/48167](https://doi.org/10.5772/48167)
- Yang, J., Fan, Y., Cui, J., Yang, L., Su, H., Yang, P., Pan, J. (2021). Colorimetric films based on pectin/sodium alginate/xanthan gum incorporated with raspberry pomace extract for monitoring protein-rich food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 185, 959-965. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.198>
- Zhang, P., Zhao, Y. & Shi, Q. (2016). Characterization of a novel edible film based on gum ghatti: effect of plasticizer type and concentration. *Carbohydrate Polymers*, 153, 345-355. [10.1016/j.carbpol.2016.07.082](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.082)