UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARIA EUGENIA VILLEGAS GOMEZ

**Desenvolvimento de aerogéis baseados em amidos para a
impregnação de óleo de café verde**

Pirassununga

2019

MARIA EUGENIA VILLEGAS GOMEZ

**Desenvolvimento de aerogéis baseados em amidos para a
impregnação de óleo de café verde**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof^a. Dr^a. Alessandra Lopes de Oliveira.

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

V732d Villegas-Gomez, Maria Eugenia
Desenvolvimento de aerogéis baseados em amidos
para a impregnação de óleo de café verde / Maria
Eugenia Villegas-Gomez ; orientadora Alessandra
Lopes de Oliveira. -- Pirassununga, 2019.
66 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia de Alimentos) -- Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade
de São Paulo.

1. Aerogéis . 2. Amido. 3. Dióxido de carbono. 4.
Secagem supercrítica . 5. Impregnação supercrítica .
I. Lopes de Oliveira, Alessandra, orient. II.
Título.

Dedico esta dissertação a minha família, aos meus queridos pais

Carmen e Cristo e aos meus irmãos Cristina e Nicolas.

Para vocês, sempre meu amor

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me cuidar, dar fortaleza e acompanhar sempre os meus passos;

A minha orientadora, Profa. Dra. Alessandra Lopes de Oliveira por ter me dado a imensa oportunidade de estudar na Universidade de São Paulo fazendo realidade o meu sonho de fazer mestrado, obrigada pela paciência, carinho, instrução e guia durante toda esta etapa da minha vida;

A minha família toda, em especial aos meus pais Cristo Villegas e Carmen Gomez, aos meus irmãos Cristina e Nicolas Villegas Gomez, obrigada por me apoiar desde sempre em cada um dos meus projetos, obrigada por ser a minha fortaleza mesmo desde longe de mim;

Ao técnico do LTAPPN Nilson Ferreira por toda ajuda prestada durante meu mestrado;

Ao Victor, Lía, Heber, Diana, Gilda, Luis Jaime, Hubert, Rosa, Cátia, Kyem e Nathiele. Amigos que fiz em Pirassununga e se converteram na minha segunda família. Obrigada por me dar tantas alegrias e sorrisos durante todo este tempo;

A meus colegas de laboratório Victor, Heber, Gabriela, Naila e Debora, e a meus companheiros de mestrado Gabi e Marcos pela colaboração e apoio durante o mestrado;

Ao Prof. Dr. Reinaldo Bazito e Prof. Dr. Pedro Vidinha por permitir-me utilizar o Laboratório do Grupo de pesquisa em Química Verde e Ambiental (GQVA) do IQ na USP de São Paulo, obrigada pela confiança, pela ajuda e apoio na química e engenharia dos meus experimentos;

A meus amigos no GQVA, Adolfo, Jennifer, Maitê, Beatriz, Adriana, Bruno, Diego e Ligia. Obrigada pelo apoio, ajuda, colaboração, carinho, alegrias e amizade durante minha estadia em São Paulo;

A Capes pela concessão da bolsa de mestrado.

*“Nossa maior fraqueza está em desistir.
O caminho mais certo de vencer é tentar
mais uma vez”*

Thomas Edison

RESUMO

VILLEGAS-GOMEZ, M. E. **Desenvolvimento de aerogéis baseados em amidos para a impregnação de óleo de café verde**. 2019. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

O objetivo deste trabalho consistiu-se no desenvolvimento de um método para a produção de aerogéis de amido para a impregnação de óleo de café verde. Para atingir este objetivo foram estabelecidas três etapas: (1) desenvolvimento de um método de secagem supercrítica usando misturas de dióxido carbono supercrítico (CO₂-sc) e etanol (EtOH); (2) fabricação de aerogéis na presença de CO₂ e (3) impregnação supercrítica de extrato de óleo de café verde nos aerogéis de amido produzidos. Os aerogéis produzidos na primeira e segunda etapa foram caracterizados por adsorção-dessorção de nitrogênio a baixa temperatura (BET e BJH), microscopia eletrônica de varredura (MEV), e por difração de Raio-X para conhecer seu padrão cristalino e cristalinidade. A metodologia de secagem desenvolvida durante o presente trabalho permitiu obter resultados bastante positivos dado que os materiais (monólitos) exibiram áreas superficiais de 95 m²/g que estão de acordo com os melhores materiais descritos na literatura. Por outro lado, esta metodologia (200 bar e 40°C utilizando 2 ml/min de CO₂ com 11% de etanol) permitiu uma redução significativa do tempo e secagem (de 24 h para 6 h). No que diz respeito à fabricação dos aerogéis na presença de CO₂ foram testadas diferentes condições para melhorar as características dos materiais anteriormente descritos. Neste caso, a estratégia passou pelo desenvolvimento de partículas de aerogel em vez de monólitos, avaliando o impacto da quantidade de amido no sol e da temperatura de gelatinização nas características físico-químicas dos materiais. Os resultados demonstraram que os melhores materiais exibiram áreas superficiais de 185 m²/g, sendo obtidos com 10% de amido a 40° C. Por outro lado, verificou-se igualmente que o aumento da temperatura era responsável pela diminuição do domínio cristalino. No entanto, na presença de CO₂ este efeito de diminuição não foi tão extenso como na sua ausência. O último ponto do presente trabalho consistiu na impregnação dos materiais obtidos de modo a avaliar a sua aplicabilidade como matriz de impregnação para moléculas de interesse alimentar. Neste estudo foram utilizados os monólitos obtidos na primeira etapa como matriz de impregnação de óleo de café verde em condições supercríticas (300 bar e 40°C). Os resultados obtidos demonstraram uma eficiência de impregnação de 39 mg de óleo /100 mg de monólito em 12h. O presente

trabalho demonstrou ser possível desenvolver uma nova metodologia de secagem de aerogéis sem etapa de troca de solvente e com uma redução apreciável do tempo de secagem. Por outro lado, foi possível obter partículas de aerogéis com características bastante interessante para a impregnação de moléculas de interesse alimentar. Por fim este trabalho apresenta ótimas perspectivas para o desenvolvimento de um processo integrado para a fabricação de aerogéis e impregnação dos mesmos em CO₂ supercrítico, demonstrando boas perspectivas para o desenvolvimento de materiais biocompatíveis para aplicações nas indústrias alimentar, dermatológica ou mesmo farmacêutica.

Palavras-chaves: aerogéis, amido, CO₂ supercrítico, secagem supercrítica

ABSTRACT

VILLEGAS-GOMEZ, M. E. **Development of aerogels based on starches for the impregnation of green coffee oil**. 2019. 66 f. M. Sc. Dissertation - Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2019.

The objective of this work was the development of a method for the production of starch aerogels for the impregnation of green coffee oil. To achieve this goal, three steps were established: (1) development of a supercritical drying method using mixtures of supercritical carbon dioxide (CO₂-sc) and ethanol (EtOH); (2) fabrication of aerogels in the presence of CO₂ and (3) supercritical impregnation of green coffee oil extract in the starch aerogels produced. The aerogels produced in the first and second stages were characterized by adsorption-desorption of nitrogen at low temperature (BET and BJH), scanning electron microscopy (SEM), and by X-ray diffraction to know its crystalline pattern and crystallinity. The drying methodology developed during the present work allowed to obtain very positive results since the materials (monoliths) exhibited superficial areas of 95 m²/g that are in agreement with the best materials described in the literature. This methodology (200 bar and 40°C using 2 ml/min of CO₂ with 11% of ethanol) allowed a significant reduction of the time and drying (from 24 h to 6 h). Regarding the manufacture of aerogels in the presence of CO₂, different conditions were tested to improve the characteristics of the previously described materials. In this case, the strategy involved the development of aerogel particles instead of monoliths, evaluating the impact of the amount of starch in sol and the gelatinization temperature on the physical-chemical characteristics of the materials. The results showed that the best materials exhibited surface areas of 185 m²/g and were obtained with 10% starch at 40°C. On the other hand, it was also verified that the increase in temperature was responsible for the decrease of the crystalline domain. However, in the presence of CO₂ this decrease effect was not as extensive as in its absence. The last point of the present work was the impregnation of the obtained materials in order to evaluate its applicability as impregnation matrix for molecules of alimentary interest. In this study, the monoliths obtained in the first stage were used as impregnation matrix of green coffee oil under supercritical conditions (300 bar and 40°C). The results showed an impregnation efficiency of 39 mg of oil/100 mg of monolith in 12 hours. The present work demonstrated that it is possible to develop a new drying methodology for aerogels without a solvent exchange step and with an appreciable reduction

of the drying time. Likewise, it was possible to obtain particles of aerogels with very interesting characteristics for the impregnation of molecules of alimentary interest. Finally, this work leaves great prospects for the development of an integrated process for the manufacture of aerogels and their impregnation in supercritical CO₂, demonstrating good prospects for the development of biocompatible materials for applications in the food, dermatological or even pharmaceutical industries.

Keywords: aerogels, starch, supercritical CO₂, supercritical drying

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Processo de obtenção genérica de aerogéis.	16
Figura 2 - Mecanismo de gelatinização e retrogradação do amido.	20
Figura 3 - Etapas da formação de aerogéis de amido.	21
Figura 4 - Organização das regiões cristalina e amorfas no grânulo de amido.	22
Figura 5 - Configuração das duplas hélices de acordo ao tipo de cristalinidade.	23
Figura 6 - Impregnação de compostos ativo ou fármacos no aerogel de amido.	27
Figura 7 - Digrama de fases do dióxido de carbono.	28
Figura 8 - Sistema secagem supercrítica.	35
Figura 9 - Sistema para produção de aerogéis.	36
Figura 10 - Sistema impregnação supercrítica.	40
Figura 11 - Imagem dos monólitos no teste de tempo de secagem.	41
Figura 12 - Área superficial específica e volume de poro dos monólitos.	42
Figura 13 - Imagens microscópicas (MEV) dos monólitos.	45
Figura 14 - Padrão difratométrico dos monólitos.	46
Figura 15 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas em CO ₂	49
Figura 16 - Área superficial e volume do poro de partículas em presença de CO ₂	50
Figura 17 - Cristalinidade e padrão cristalino das partículas em CO ₂	51
Figura 18 - Imagens microscópica (MEV) dos aerogéis em CO ₂	52
Figura 19 - Cristalinidade e padrão cristalino dos aerogéis em presença de CO ₂	53
Figura 20 - Análises de área superficial e volume de poro dos aerogéis em presença de CO ₂	54
Figura 21 - Eficiência de impregnação de óleo de café verde no monólito.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Matérias utilizados na produção de aerogéis.	18
Tabela 2 - Estado de arte da produção de aerogéis de amido.....	23
Tabela 3 - Valores das propriedades de uma substância nos estados: gás, líquido e supercrítico.	29
Tabela 4 - Estudos de gelatinização de amido na presença de CO ₂	31
Tabela 5 - Condições de secagem supercríticas dos monólitos.	35
Tabela 6 - Condições de T adotadas na gelatinização dos aerogéis.....	37

SUMARIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRAFICA	16
2.1	Matrizes estruturadas – Aerogéis.....	16
2.1.1	Aerogéis baseados em amidos.....	19
2.1.2	Estado de arte da produção de aerogéis de amido.	23
2.1.3	Aerogéis como sistemas transportadores de compostos ativos	26
2.2	Fluidos supercríticos	28
2.2.1	Dióxido de carbono supercrítico (CO ₂ -sc)	29
2.3	Estudos de gelatinização de amido e CO ₂ -sc	30
3	OBJETIVOS	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1	Materiais	34
4.2	Método	34
4.2.1	Desenvolvimento do método de secagem supercrítica	34
4.2.2	Estudo da produção de aerogéis em presença de CO ₂ com variação da temperatura de gelatinização	36
4.2.3	Caracterização dos aerogéis.	37
4.2.4	Impregnação supercrítica do extrato de óleo de café verde no aerogel .	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	41
5.1	Estudo de uma nova secagem supercrítica na fabricação de monólitos	41
5.2	Estudo da produção de aerogéis em presença de CO ₂	47
5.2.1	Impacto da concentração de amido nas características dos aerogéis	48
5.2.2	Avaliação do impacto da presença de CO ₂ e da temperatura de gelatinização na síntese dos aerogéis.....	51
5.3	Impregnação de óleo de café verde nos aerogéis produzidos	57

6	CONCLUSÕES.....	59
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1 INTRODUÇÃO

Atualmente existe um enorme interesse no desenvolvimento de materiais estruturados, possíveis de serem utilizados como sistemas de liberação controlada para compostos bioativos em alimentos nutracêuticos ou fármacos, por exemplo. Os polissacarídeos são um dos melhores materiais naturais para a fabricação destes materiais devido às suas características de biocompatibilidade e biodegradabilidade. Dentro deste grupo destaca-se o amido, não só devido à sua elevada disponibilidade, mas igualmente, devido às suas propriedades físico-químicas que permitem obter materiais com diferentes características estruturais e químicas (MEHLING et al., 2009). Os aerogéis de amido são um dos melhores exemplos da aplicação destas propriedades. Estes materiais têm atraído um grande interesse não só devido à sua elevada estrutura porosa como também devido a sua baixa densidade e elevada área superficial (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a). Além disso, estes materiais apresentam uma grande versatilidade pois podem ser produzidos com diferentes morfologias a saber, monólitos, partículas, microesferas ou nanopartículas, fazendo dos aerogéis uma excelente opção para a produção de sistemas de liberação controlada.

O estado-da-arte para a produção de aerogéis a partir de amido é fundamentado em 3 passos importantes. O primeiro passo consiste na formação de um gel a partir de uma solução de amido em água, o qual denomina-se hidrogel ou Sol-Gel. O segundo passo consiste na substituição da água constituinte deste gel por álcool e, portanto, denomina-se etapa formação do álcoolgel. O último passo consiste na secagem do álcoolgel (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a). A primeira etapa depende da capacidade de gelatinização e retrogradação do amido, ela consiste no aquecimento da mistura amido-água formando o sol-gel, seguido do seu envelhecimento quando o sol-gel é mantido a baixa temperatura (4°C) para que se estabeleça a formação de uma rede tridimensional. O segundo passo consiste na troca da água dentro do hidrogel por um álcool que apresente maior afinidade ao processo de secagem, assim o álcoolgel é feito por imersão do hidrogel numa solução alcoólica que é trocada de tempos em tempos até que a água seja removida. Este processo é longo e pode variar entre 24h (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a) e 5 dias (MEHLING et al., 2009). O último passo serve para remover o álcool de dentro do alcoolgel. A secagem do alcoolgel pode ser realizada pelo emprego de dióxido de carbono supercrítico (CO₂-Sc). O

método de secagem supercrítica permite manter a estrutura tridimensional da matriz durante a evacuação do solvente sem gerar colapso estrutural (MALEKI et al., 2016).

Os aerogéis podem ser utilizados como sistemas de liberação, onde o material pode ser impregnado com diferentes tipos de moléculas bioativas. A impregnação pode ser efetuada durante a formação do aerogel (na fase inicial antes da gelatinização) ou efetuada após a formação do aerogel.

Nesta última, a impregnação pode ser realizada através da solubilização da molécula bioativa em CO₂-sc na presença do aerogel. Durante este processo a molécula solubilizada difunde-se para dentro da estrutura porosa do aerogel e a afinidade desta com a matriz do aerogel conduz à sua impregnação (MALEKI et al., 2016). Este método é denominado impregnação supercrítica. O material impregnado é finalmente obtido através de um processo de despressurização suave. Vários autores já demonstraram a possibilidade de realizar a impregnação de diferentes compostos como cetoprofeno, ibuprofeno e ácido benzoico, paracetamol, fito esterol e vitamina E e K₃ em aerogel de amido utilizando um processo baseado em CO₂-sc. A literatura mostra claramente que a impregnação supercrítica é um processo eficiente para impregnar diferentes substâncias em matérias estruturados (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012b; GARCÍA-GONZÁLEZ; SMIRNOVA, 2013; DE MARCO; REVERCHON, 2017; UBAYITOGULLARI; CIFTCI, 2017).

Apesar do sucesso da produção de aerogéis, ainda existem algumas limitações que necessitam ser superadas para fazer da fabricação de aerogéis uma realidade eficiente e versátil. Uma destas limitações diz respeito à troca de solvente durante a secagem visto que esta é longa pois envolve a troca gradual de solvente (ex. água por etanol). Deste modo, surge a questão: “será possível modificar ou substituir a etapa de troca de solvente sem prejudicar ou diminuir drasticamente a área superficial do aerogel?”. Esta questão serviu de motivação para os trabalhos realizados durante o presente projeto de dissertação.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Matrizes estruturadas – Aerogéis

Os aerogéis são considerados um grupo de materiais geralmente mesoporosos (com poros entre 2 e 50 nm) e que apresentam características únicas, elevada área superficial, baixa densidade, flexibilidade e podem ser produzidos com diferentes morfologias. O termo aerogel poder ser utilizado para qualquer material de origem orgânico ou inorgânico, que tenha como propriedade particular a capacidade de formar uma rede ou estrutura tridimensional (MALEKI et al., 2016). O processo genérico da obtenção de aerogéis encontra-se resumido na Figura 3 e consiste principalmente em três etapas (GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011; MALEKI, 2016; MALEKI et al., 2016).

Figura 1 - Processo de obtenção genérica de aerogéis.

Fonte: MALEKI, H. et al. Synthesis and Biomedical Applications of Aerogels: Possibilities and Challenges. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 236, p. 1–27, 2016. (Adaptado).

A primeira etapa inclui a formação de um Sol-Gel partindo de uma solução dispersa de partículas coloides/monômero (Sol) formada a partir de uma mistura de precursores orgânicos (como os polissacarídeos) ou inorgânicos (como a sílica ou alumínio), água e

reticuladores, obtida através de uma reação de hidrólise. O Sol é submetido a reação de condensação induzida fisicamente (mudança de temperatura ou pH) ou quimicamente (adição de reticuladores químicos), que conduz a uma condensação das ligações físicas nas partículas formando uma rede tridimensional e interligada denominada gel (PIERRE; PAJONK, 2002; MALEKI, 2016). A condensação é influenciada por diferentes parâmetros, como por exemplo, classe e concentração dos reticuladores químicos, e concentração dos precursores que permitem originar a rede tridimensional do gel. A estrutura do gel define as características finais (densidade, área superficial e volume) do aerogel (PIERRE; PAJONK, 2002; MALEKI, 2016). No caso de ser utilizada como único solvente a água, o gel formado recebe o nome de hidrogel (MALEKI, 2016).

A segunda etapa é a maturação, onde o Gel é mantido imerso no sol com a finalidade de permitir reforçar as ligações internas da rede, permitindo formar uma estrutura sólida. Esta etapa é feita para reduzir o risco de colapso da rede durante a secagem e para reforçar as propriedades mecânicas e a estrutura porosa no aerogel (GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011; MALEKI et al., 2016).

A última etapa consiste na secagem do gel a qual é realizada em duas fases. Na primeira realiza-se uma desidratação, ou seja, é uma troca de solvente, onde a água contida nos poros da rede é substituída por outro solvente (álcool ou acetona). Quando se utiliza um álcool (etanol ou metanol), o gel recebe o nome de álcoolgel (MALEKI, 2016). O álcoolgel é obtido através da imersão do gel em uma solução alcoólica (e.g. etanol:água) por um determinado período de tempo. Esta solução é trocada até que a concentração de álcool atinja os 100%. Este processo é bastante demorado podendo variar entre 24 h (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a, 2012b) e 5 dias (MEHLING et al., 2009). Seguidamente, é realizada a extração do solvente no álcoolgel por secagem supercrítica.

A técnica de secagem é extremamente importante visto que nesta etapa podem ocorrer vários fenômenos de tensão superficial sólido-líquido que ocasiona ruptura das estruturas do aerogel. Na secagem supercrítica, o solvente é removido por meio de um fluxo contínuo de CO₂-sc (MALEKI, 2016; MALEKI et al., 2016). A técnica de secagem supercrítica é uma das formas mais eficientes de evitar desenvolvimento de tensão capilar na parede dos poros causada pela tensão superficial do líquido na interface sólido-líquido-vapor que ocasiona o encolhimento, a retração ou a ruptura no corpo do álcoolgel durante a secagem.

Diferentes materiais podem ser utilizados para a produção de aerogéis como sílica (SOLEIMANI DORCHEH; ABBASI, 2008), polissacarídeos (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a), poliamidas (LEVENTIS et al., 2011), entre outros.

A Tabela 1 mostra um resumo de revisão bibliográfica sobre os diferentes materiais empregados para formar aerogéis e as suas técnicas de fabricação (SMIRNOVA; SUTTIRUENGWONG; ARLT, 2005; DEZE et al., 2012; VERONOVSKI; KNEZ; NOVAK, 2013; VERONOVSKI et al., 2014; RAJANNA et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; PANTIC; KNEZ; NOVAK, 2016; NEŠIĆ et al., 2018).

A literatura encontrasse focada, principalmente nos diferentes processos de fabricação de aerogéis, como, PSGt (processo sol-gel tradicional) e G/R (gelatinização/retrogradação), os quais fazem referência aos métodos tradicionais para a obtenção dos aerogéis. O processo PSGt é o processo para aerogéis obtidos a partir de matérias inorgânicos e G/R para aerogéis obtidos a partir de polissacarídeos. Estes aerogéis geralmente são utilizados como sistemas de liberação ou para impregnação de compostos ativos de interesse na indústria.

Tabela 1 - Matérias utilizados na produção de aerogéis.

Material/Forma	Processo de fabricação	Aplicação	Referência
Sílica	PSGt	Sistema de liberação fármacos	Smirnova, Suttiruengwong e Arlt (2005)
Amido /monólito	G/R	Sistema transportador de fármacos	Mehling et al. (2009)
Alginato/monólito	CL		
Amido / monólito	G/R	Sistema transportador de óleo de linho	Comin, Temelli e Saldaño (2012a)
Alginato/esferas	CL	Sorção de metais pesado	Deze et al. (2012)
Alginato/esferas	CL	Sistema de liberação de fármacos	Veronovski, Knez e Novak (2013)

Tabela 1 - Matérias utilizados na produção de aerogéis (continuação).

Pectina/esferas	CL	Sistema de liberação fármacos	Veronovski et al. (2014)
Amido/microesferas	E/G	Impregnação de fármacos	Garcial-Gonzales et al. (2015)
Sílica/esferas	PSGt	Sistemas de entrega de fármacos	Lovskaya, Lebedev e Menshutina (2015)
Amido/esferas	E/G		
Alginato/esferas	CL		
Amido/monólito	G/R	Sistema transportador de timol	Milovanovic et al. (2015)
Sílica/micropartícula	PSGt -E/G	Sistema de entrega de fármacos	Rajanna et al. (2015)
Amido /monólitos	G/R	Redução de cristalinidade de fitoesterol	Ubeyitogullari e Ciftci (2016b)
Alginato	E/G	Sistema de entrega de fármacos	Gonçales et al. (2016)
Alginato/esferas	CL	Sistema transportador de vitaminas	Pantic, Knez e Novak (2016)
Amido/microesferas	E/G	Suporte para liberação de fármaco para regeneração óssea	Goimil et al. (2017)
Amido/ monólito	G/R	Impregnação vitaminas	De Marco e Reverchon (2017)
Pectina	--	Embalagem de alimentos	Nesic et al. (2018)

PSGt: processo sol-gel tradicional, G/R: gelatinização/retrogradação, E/G: processo emulsão-gelificação, CL: cross-linker.

Fonte: Própria autoria.

2.1.1 Aerogéis baseados em amidos

Estes tipos de aerogéis são classificados como bio-aerogéis devido a sua origem natural e caráter orgânico, sua síntese é baseada nas propriedades do amido para gelatinizar e retrogradar (Figura 2). Propriedades fundamentais para a formação do hidrogel.

Figura 2 - Mecanismo de gelatinização e retrogradação do amido.

Fonte: <http://kanalpengetahuan.tp.ugm.ac.id/wp-content/uploads/2017/09/2-.jpg> Ac.id

(Adaptado)

A gelatinização é o processo gerado pelo aumento da temperatura, caracterizado por inchaço dos grânulos de amido e dissociação dos mesmos, devido à introdução da água dentro do amido. Por sua parte a retrogradação é o processo gerado pela diminuição da temperatura do sistema (amido-água), onde ocorre uma reorganização da estrutura do amido destruída durante a gelatinização (COOKE; GIDLEY, 1992). Na figura 2, é mostrado o comportamento do grânulo de amido durante os processos de gelatinização e retrogradação onde as estruturas de amilose e amilopectinas tendem a ser dissociadas gerando mudanças na estrutura granular do amido. As mudanças que sofre o amido durante estes processos são aproveitadas para produzir os aerogéis.

O processo para sintetizar aerogéis de amidos é mostrado na Figura 3. O primeiro passo consiste na formação do hidrogel a partir do aquecimento de uma solução de amido em água (Sol). Este aumento de temperatura induz a gelatinização, fenômeno que consiste na introdução da água nos grânulos do amido gerando inchaço do grânulo de amido liberando amilose e gerando mudanças físicas irreversíveis como destruição da estrutura granular do amido (diminuição do domínio cristalino ou fusão dos cristais) (RING et al., 1987; DEBET; GIDLEY, 2007). Este processo acarreta ao aumento da viscosidade e solubilidade do amido (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010). Depois da gelatinização, a temperatura do Sol é reduzida a 4 °C induzindo a retrogradação, provocando uma reorganização da amilose livre no amido estruturando a rede tridimensional do aerogel, concluindo assim, a formação do hidrogel. A retrogradação pode durar entre 1 a 4 dias (MEHLING et al., 2009; UBEYITOGULLARI; CIFTCI,

2016a, 2016b). A formação tridimensional da estrutura final no material depende da concentração do amido na suspensão inicial (sol), da natureza do amido (proporção de amilose/amilopectina e fonte botânica), e das condições empregadas durante os processos de gelatinização e retrogradação (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011). A etapa final consiste na troca de solvente seguida da secagem com $\text{CO}_2\text{-Sc}$ (GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011).

Figura 3 - Etapas da formação de aerogéis de amido.

Fonte: UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. Formation of nanoporous aerogels from wheat starch. *Carbohydrate Polymers*, v. 147, p.125–132, 2016. Adaptado

Os aerogéis de amido possuem uma elevada estabilidade, baixa densidade e toxicidade e boa biodegradabilidade, sendo uma matriz porosa e de alta área superficial que permite criar redes sólidas de diferentes formas, monólitos (morfologia cilíndrica de aerogel), microesferas ou partículas para carregar diferentes compostos ativos. Estas características únicas têm despertado o interesse de vários segmentos de mercado nomeadamente da indústria farmacêutica.

2.1.1.1 Polissacarídeos – Amido

O Amido é um polissacarídeo ramificado de unidades de glicose com ligações lineares α (1-4) e ligações ramificadas α (1-6). É constituído por dois polímeros com diferentes distribuição de tamanho e peso, a amilose e amilopectina (SWEEDMAN et al., 2013). A amilose é um polímero linear formado por unidades de glicose unidas por ligações α (1-4) e poucas ligações α (1-6), e a amilopectina é um polímero ramificado formado por várias cadeias de unidades de glicose unidas por ligações α (1-4), as cadeias estão unidas a sua vez por ligações α (1-6) (HIZUKURI, 1985; KURACHI, 2006; SYAHARIZA; LI; HASJIM, 2010). Ambos polímeros

estão organizados num arranjo sequencial que dão ao amido sua estrutura semicristalina, consistindo em lamelas cristalinas e amorfas, também chamadas de região cristalina e região amorfa (ZOBEL, 1988; SINGH et al., 2003; KURACHI, 2006). A região cristalina é criada pela formação das duplas hélices a partir do entrelaçamento das cadeias de glicose (geralmente da amilopectina), e a região amorfa corresponde aos pontos de ramificação (OATES, 1997; LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010; RIZZI; BERTUCCO; GAMSE, 2010) como ilustrado na Figura 4.

Figura 4 - Organização das regiões cristalina e amorfas no grânulo de amido.

Fonte: DENARDI e Da SILVA. Starch granules structure and its regards with physicochemical properties. *Journal Ciencia Rural*, v. 39 n .3, p. 945-954, 2009. (Adaptado) (DENARDIN; SILVA, 2009)

O amido é a principal fonte de reserva energética das plantas e utilizado para o funcionamento biológico das mesmas. Na formulação de alimentos, tem sido utilizado como estabilizante e provedor de textura, no entanto apresenta alto grau de retrogradação em condições de baixa temperatura (SINGH; KAUR; MCCARTHY, 2007). Possui natureza hidrofílica que, no entanto, oferece baixa solubilidade em água fria e não oferece propriedades emulsificantes (BAI et al., 2011).

As propriedades físico-químicas dos amidos dependem da fonte botânica de origem, definindo assim, a sua proporção de amilose/amilopectina e, conseqüentemente, sua estrutura molecular, que determinam seu comportamento durante a gelatinização e retrogradação (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010; RIZZI; BERTUCCO; GAMSE, 2010). Amidos nativos contem entre 12 e 45 % de cristalinidade e são categorizados de acordo com seu padrão cristalino em três tipos: A (amidos de cereais), B (amidos de tubérculos) e C (amidos de leguminosas). Nas estruturas tipo-A, as duplas hélices são encontradas em arranjos fechados com moléculas de água entre cada dupla hélice, enquanto, a os tipo-B são mais abertos e as

moléculas de água são localizadas no centro da cavidade formado por seis duplas hélices de acordo com a Figura 5 (LE CORRE; BRAS; DUFRESNE, 2010; RIZZI; BERTUCCO; GAMSE, 2010).

Figura 5 - Configuração das duplas hélices de acordo ao tipo de cristalinidade.

Fonte: LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Starch Nanoparticles: A Review. **Journal Biomacromolecules**, v. 11, p. 1139-1153, 2010. (Adaptado)

2.1.2 Estado de arte da produção de aerogéis de amido.

Nos últimos anos, têm sido reportados diferentes aerogéis obtidos a partir de diferentes fontes botânicas de amido, estes aerogéis apresentam diferentes morfologias e características, que dependem da sua fonte botânica como das variações no seu processo de fabricação. Na tabela 2 se encontram resumidos as principais fontes botânicas, as diferentes condições de gelatinização e secagem supercrítica para a fabricação dos aerogéis.

Geralmente, como fonte botânica são utilizados amidos de batata e milho. Como condições do processo de gelatinização são utilizadas temperaturas entre 90 – 120 °C e as condições do processo de secagem supercrítica pressão entre 100 – 200 bar e temperaturas de 40 °C são empregadas.

Tabela 2 - Estado de arte da produção de aerogéis de amido.

Material	Fonte botânica	Gelatinização		Secagem supercrítica			Referência
		T (°C)	Amido (%)	P (bar)	T (°C)	t (hora)	
M	AB	60	12	100	40	24	Mehling et al. (2009)
M	AM	95	12	100	40	24	
M	AM	120	15	110	40	4	Garcia-Gonzales et al. (2012a)

Tabela 2 - Estado de arte da produção de aerogéis de amido (continuação).

ME	AM	120	15	110	40	4	Garcia-Gonzales et al. (2012b)
M	AC	75	5	150	40	5	Comin, Temelli e Saldaña (2012a)
F	AM	90	10	200	50	5	Milovanovic et al (2015)
ME	AM	120	15	110	40	4	Lovskaya, Lebedev e Menshutina (2015)
M	AT	120	10	100	40	4	Ubeyitogullari e Ciftci (2016a)
M	AM	110	15	200	45	5	De Marco et al. (2017)
M	AB	130	8	80	37	6	Druel et al. (2017)
ME	AM	121	15	120	40	3,5	Goimil et al. (2017)

M: monólitos, ME: microesferas, F: filmes AB: amido de batata, AM: amido de milho, AT: amido de trigo, AC: amido de cevada β glucano, P: Pressão, T: Temperatura, t: tempo

Fonte: Própria autoria.

Mehling et al. (2009), produziram monólitos de amido de batata e milho exibindo áreas superficiais de 72 e 90 m²/g, volume de poro de 0,47 e 0,37 cm³/g e tamanho de poro de 14,4 e 3,8 nm, respectivamente. Estes materiais foram obtidos através de um longo processo de desidratação (5 dias) em etanol seguido por secagem supercrítica a 100 bar, 40°C e fluxo CO₂ de 2,3 L/min por 24 horas (MEHLING et al., 2009).

Um dos melhores exemplos reportados na literatura foi o experimento de Garcia-Gonzales et al. (2012a) que estudaram a fabricação de monólitos de amido de milho. Estes autores efetuaram a troca de solvente (etanol) durante 24 h e secagem a 110 bar, 40 °C e fluxo CO₂ de 2nL/min por 4 horas, obtendo monólitos com área superficial de 234 m²/g, volume de poro 0,78 cm³/g e diâmetro de poro de 9,4 nm (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a).

No mesmo ano, Garcia-Gonzales et al. (2012b) estudaram a produção de microesferas de amido utilizando um processo de gelificação-emulsão (solução de amido em água misturada com óleo vegetal, 1:1) mantendo as condições de troca de solvente e secagem supercrítica mencionadas anteriormente. As microesferas obtidas exibiram áreas superficiais

entre 48 - 91 m²/g, volume de poro entre 0,12 - 0,34 cm³/g e diâmetro de partícula entre 434 e 1.159 µm (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012b).

Por outro lado, Milovanovic et al (2015) produziram filmes de amido de milho que exibiram baixa área superficial (0,019 m²/g). Estes materiais foram obtidos através de um longo processo de desidratação em acetona (5 dias) seguido por secagem supercrítica a 200 bar, 50 °C e fluxo CO₂ de 0,76 L/h durante 5 horas (MILOVANOVIC et al., 2015).

Em outro estudo Ubeyitogullari e Ciftci (2016a) produziram aerogéis nanoporosos de amido de trigo com área superficial de 59,7 m²/g, volume de poro de 0,27 cm³/g e diâmetro de poro de 19,6 nm fazendo troca de solvente por etanol por 27 horas e secagem a 100 bar, 40 °C e fluxo CO₂ de 0,5L/min por 4 horas (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

De Marco e Reverchon (2017), fabricaram monólitos de amido de milho com área superficial de 90 m²/g, troca de solvente (etanol) por 5 dias e condições de secagem a 200 bar, 45 °C e fluxo CO₂ de 1,23 L/min (DE MARCO; REVERCHON, 2017).

Outro estudo importante foi relatado por Druel et al. (2017), produzindo monólitos de amido de batata com áreas superficiais de 85 m²/g utilizando um processo de troca de solvente (etanol) com duração de 2 dias e secagem supercrítica a 80 bar, 37 °C e fluxo CO₂ de 0,205 L/min (DRUEL et al., 2017).

No mesmo ano, Goimil et al. (2017) fabricaram microesferas de amidos de milho baseados no processo de gelificação-emulsão (solução de amido em água misturada com óleo vegetal, 1:3), efetuado uma troca de solvente (etanol) durante 2 dias e a secagem 120 bar, 40°C e fluxo CO₂ de 1,45 L/min durante 3,5 horas. Obtendo microesferas de área superficial de 93 m²/g, diâmetro e volume de poro de 25 nm e 0,63 cm³/g respectivamente (GOIMIL et al., 2017).

As diferentes pesquisas, mostraram que a secagem supercrítica é um processo realizado num tempo aproximado de 5-6 horas, no qual é variado o fluxo de CO₂, no entanto a troca de solvente é uma etapa longa e pouco prática, no qual é necessário efetuar a manipulação do material durante a mudança das soluções. Esta etapa é bastante lenta podendo durar entre 24 horas e 5 dias. Apesar dos materiais obtidos na literatura apresentarem características bastante promissoras para uma aplicação de impregnação, todos eles são obtidos por processos de substituição de solvente e secagem que limitam a sua aplicação comercial. Deste modo, o presente trabalho visou a implementação de uma estratégia para a produção de aerogel, onde um dos objetivos consistiu no desenvolvimento de um processo de secagem

supercrítica utilizando misturas de CO₂-sc e etanol a diferentes pressões. Outro dos objetivos foi avaliar o impacto do CO₂ e da variação da temperatura de gelatinização nas características estruturais dos aerogéis obtidos. O desenvolvimento destas estratégias leva à produção de aerogéis de amido de uma forma mais eficientes, abrindo portas para o desenvolvimento de um processo integrado entre a formação de aerogéis e a impregnação de compostos bioativos em etapas subsequentes que incluem o emprego de CO₂-sc.

2.1.3 Aerogéis como sistemas transportadores de compostos ativos

Atualmente, os aerogéis de amido são estudados no sentido de desenvolver sistemas de transporte e de entrega de compostos bioativos nomeadamente fármacos e nutracêuticos. Este interesse deve-se essencialmente à combinação das suas características físicas e morfológicas com a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (GARCÍA-GONZÁLEZ; SMIRNOVA, 2013; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2015). A incorporação dos compostos no aerogel, é ilustrado na Figura 6, pode ser feito mediante duas metodologias cuja escolha depende da afinidade do composto com o aerogel e do CO₂-sc. Por exemplo, quando a solubilidade do composto é baixa no CO₂-sc e no etanol (etapa de troca de solvente) a impregnação deve ser realizada através da adição do composto na solução inicial (sol) (Figura 6a). Por outro lado, quando a solubilidade do composto no CO₂-sc é elevada a melhor opção é a impregnação supercrítica (ULKER; ERKEY, 2014). A impregnação supercrítica, é uma metodologia que consiste na incorporação de um composto ativo dentro de uma matriz, nesta metodologia o composto é solubilizado no CO₂-sc e introduzido nos poros do aerogel a partir da fase gasosa do CO₂-sc (GARCÍA-GONZÁLEZ; ALNAIEF; SMIRNOVA, 2011).

Figura 6 - Impregnação de compostos ativo ou fármacos no aerogel de amido.

(a) Impregnação a partir da solução inicial; (b) impregnação supercrítica do aerogel.

Fonte: UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. Formation of nanoporous aerogels from wheat starch.

Carbohydrate Polymers, v. 147, p.125–132, 2016. (Adaptado)

Diferentes estudos demonstraram o potencial dos aerogéis de amido como sistemas para a liberação de compostos bioativos. Por exemplo, Mehling et al. (2009) mostrou ser possível a impregnação supercrítica de ibuprofeno em monólitos de milho e batata. Estes autores demonstraram que o monólito de amido de milho era uma melhor matriz para a impregnação deste fármaco exibindo uma eficiência impregnação de 22%, enquanto que o monólito de amido de batata evidenciou uma eficiência de 10% para o mesmo fármaco (MEHLING et al., 2009). A eficiência de impregnação é definida nestes trabalhos como a capacidade que tem o aerogel para reter ou incorporar o composto ativo (mg de composto ativo / 100 mg de aerogel).

Um dos melhores exemplos reportados na literatura foi realizado por Comim, Temalli e Saldaña (2012a). Estes autores obtiveram uma eficiência de 40% para impregnação de óleo de linho em monólitos de amido de cevada β -glucano (COMIN; TEMELLI; SALDAÑA, 2012a).

Por outro lado, Garcia-Gonzales et al. (2015) mostraram eficiência de impregnação de 12,8% para cetoprofeno e 21,5% para ácido benzoico em microesferas de aerogel de amido de milho (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2015).

Outro bom exemplo foi publicado por Lovskaya, Lebedev e Menshutina (2015). Estes autores mostrara, para microesferas de amido de milho uma eficiência de 30% para a

impregnação de ibuprofeno e uma eficiência de 21,6% para Rifabutina (LOVSKAYA; LEBEDEV; MENSHUTINA, 2015).

Em outro exemplo com uma matriz diferente, Milovanovic et al. (2015) mostraram, para monólitos tipo filmes, uma eficiência de impregnação do 4% para Timol.

Em outro estudo, Ubeyitogullari e Ciftci (2017) evidenciaram a possibilidade para monólitos trigo de impregnar fitoesterol com uma eficiência de 9,9% (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2017). No mesmo ano, Marco e Reverchon (2017) mostraram uma eficiência de impregnação de 15% para vitamina E e de 10% para vitamina K₃ em monólitos de amido de milho.

As diferentes pesquisas comprovarem e conduzem a que o processo de impregnação supercrítica é uma boa alternativa para a incorporação de compostos bioativos em matrizes de aerogel de amido. Por tanto, baseados nestas pesquisas decidiu-se demonstrar o potencial dos aerogéis como Sistema transportador através da impregnação supercrítica de óleo de café verde.

2.2 Fluidos supercríticos

Um fluido supercrítico tem sido definido como aquele que se encontra em condições de pressão e temperatura acima do ponto crítico (Figura 7), no qual os estados líquido e gás são indistinguíveis. Nesta região, conhecida como região supercrítica, o fluido apresenta propriedades físico-químicas intermediárias entre as de um líquido e um gás (RUIZ, 1996) como se apresenta na tabela 3.

Figura 7 - Digrama de fases do dióxido de carbono.

Fonte: SPAN, R.; WAGNER, W. A New Equation of State for Carbon Dioxide Covering the Fluid Region from the Triple-Point Temperature to 1100 K at Pressures up to 800 MPa. **Journal of Physical and Chemical Reference Data**, v. 25, n. 6, p. 1509, 1996.

Como resultado o fluido supercrítico apresenta uma densidade semelhante e uma difusividade maior ao do líquido e uma viscosidade semelhante ao gás, ou seja, eles têm o poder de solvatação dos líquidos e as propriedades de transporte e penetração dos gases. Por ter viscosidade mais baixa e difusividade mais alta em relação aos líquidos, a transferência de massa dos solutos da matriz sólida para o solvente supercrítico nas extrações é significativamente mais alta que nas extrações com solventes líquidos (SCHNEIDER, 1983). Assim os fluidos supercríticos são considerados solventes especiais, e uma alternativa muito atrativa para os processos de extração de matrizes sólidas.

Tabela 3 - Valores das propriedades de uma substância nos estados: gás, líquido e supercrítico.

Estado	Densidade (g/cm ³)	Difusividade (cm ² /s)	Viscosidade (gs/cm)
Gás	0,6 - 2,0 x10 ⁻³	0,1 - 0,4	0,6 – 2,0 x10 ⁻⁴
Fluido Supercrítico	0,2 – 0,9	0,2 - 0,7x10 ⁻³	1,0 - 9 x10 ⁻⁴
Líquido	0,6 – 1,6	0,2 - 2,0 x10 ⁻⁵	0,2 – 3,0 x10 ⁻²

Fonte: BRUNNER, G, In gas extraction: An Introduction to Fundamentals of Supercritical Fluids and the Application to Separation Processes. BAUMGARTEL, H.; FRANCK, E. U.; GRUNBEIN, W. Ed. Springer: New York. P. 387, 1994

Os fluidos supercríticos devido às suas propriedades únicas, têm sido utilizados em diferentes processos de extração, modificadores ou sínteses de polímero, para o estudo de comportamento de fase, polimerização, de formação de partículas, formação de filmes e espuma, entre outros (KIRAN, 2016).

2.2.1 Dióxido de carbono supercrítico (CO₂-sc)

O dióxido de carbono tem atraído uma atenção particular como um fluido supercrítico devido às suas propriedades físicas atraentes no estado supercrítico. Ele é um solvente versátil, com baixa toxicidade, não inflamável, quimicamente inerte, de alto grau de pureza e relativamente barato (NALAWADE; PICCHIONI; JANSSEN, 2006), além disso, suas condições supercríticas podem ser facilmente atingidas (temperatura crítica 31,1 °C e pressão crítica 73,8 bar). O CO₂ é considerado um bom solvente para muitos compostos não polares de baixo peso

molecular, além de compostos levemente polares (RINDFLEISCH; DINOIA; MCHUGH, 1996). Para compostos polares, e de elevado peso molecular, o CO₂ pode ser considerado um solvente fraco (HYATT, 1984). A diversidade que apresenta como solvente é devido ao momento quadrupolo significativo, que lhe permite atuar como ácido ou base de Lewis e interagir em sistemas como aceitador ou doador de elétrones (O'SHEA et al., 1991; KAZARIAN et al., 1996). O CO₂ supercrítico tem sido usado como solvente para a extração e fracionamento de compostos de origem vegetal, na modificação de materiais como polímeros, na produção e formação de partículas, na polimerização de substâncias, entre outras (NALAWADE; PICCHIONI; JANSSEN, 2006).

Os processos de formação de partículas que utiliza CO₂ supercrítico têm sido amplamente utilizados na indústria farmacêutica, nutracêutica e química (JUNG; PERRUT, 2001). O emprego do CO₂ supercrítico vai depender do papel que vai cumprir no processo (como um soluto, solvente ou anti-solvente) (YEO; KIRAN, 2005), isto é, depende da solubilidade e/ou interações que possa apresentar com o polímero. No entanto, a solubilidade dos muitos polímeros em CO₂ supercrítico é substancial. A sua solubilidade depende da temperatura, da pressão e também das suas interações com os grupos da cadeia do polímero. Além disso, ele altera as propriedades físicas dos polímeros tendo a capacidade de inchá-lo ou derretê-lo e interferir na sua densidade e difusividade (NALAWADE; PICCHIONI; JANSSEN, 2006). Estas alterações podem ser aproveitadas para a formação de partículas de compostos ativos (como antioxidantes, óleos essenciais, vitaminas, entre outras), já que sob pressão e temperaturas específicas provocariam a transferência do composto para dentro da estrutura interna do polímero, permitindo a formação das partículas (JUNG; PERRUT, 2001; YEO; KIRAN, 2005) com substâncias impregnadas ou encapsuladas.

2.3 Estudos de gelatinização de amido e CO₂-sc

Como foi anteriormente referido existem vários estudos de produção de aerogéis utilizando metodologias tradicionais de gelatinização, retrogradação nos quais se explora o impacto do processo de secagem nas características finais do material. No entanto, existem poucos trabalhos que avaliam ou descrevem o impacto do CO₂ supercrítico durante o processo de gelatinização do amido no sistema (amido-água a temperaturas acima de 40 °C), onde na

tabela 4 se mostram três desses trabalhos. E no que diz respeito ao processo de retrogradação não foi reportado nenhum trabalho neste sentido.

Tabela 4 - Estudos de gelatinização de amido na presença de CO₂.

Material	Condição de estudo			Resultados	Referência
	P(bar)	T (°C)	t(min)		
Amido	80 e 300	50-80	20	Amido de batata: 100 % gelatinização a 67 °C/80 bar e a 70 °C/300 bar	Francisco e Sivik (2002)
				Amido de trigo: 100 % de gelatinização a 58 °C/80 bar e 61 °C/300 bar	
				Amido de mandioca: 100 % gelatinização a 65 °C/80 bar-300 bar	
Amido batata	80-250	50-90	-	Grau de gelatinização: 12,4 % em 90 °C/ 200bar 14,0 % em 90 °C/ 250bar	Muljana et al. (2009)
Misturas amido	200	60	60	Completa gelatinização	Zadiul et al. (2014)

P: Pressão, T: Temperatura, t: tempo.

Fonte: Própria autoria.

Francisco e Sivik 2002, Muljana et al., 2009, Zaidul et al., 2014 e Ivanovic et al., 2016 na tabela 4, relataram que, em condições de excesso de água e pressão compreendida entre 80 e 100 bar o CO₂ induz uma rápida gelatinização do amido quando a temperatura está acima dos 50 °C. Este resultado é explicado pelo fato de o CO₂ atuar como agente plastificante no amido. Neste caso, o CO₂ começa por inchar pelo efeito da presença da água as regiões amorfas do amido inchando os grânulos, e facilitando assim a difusão da água por sua estrutura. Subsequentemente, as regiões cristalinas são enfraquecidas durante o tempo de gelatinização do sistema amido-água, de modo que o CO₂ acelera e facilita a difusão da água levando a uma maior e mais rápida destruição do domínio cristalino. Além disso, os mesmos

autores também demonstram que o CO₂ reduz o pH da água para uma faixa ligeiramente ácida (pH 4), o que provavelmente facilita a ruptura das ligações do amido, facilitando possivelmente a formação de estruturas de menores dimensões (partículas) (FRANCISCO; SIVIK, 2002; MULJANA et al., 2009; ZAIDUL et al., 2014; IVANOVIC; MILOVANOVIC; ZIZOVIC, 2016).

Este efeito do CO₂ na gelatinização, constitui um excelente indicador para a sua utilização no processo de produção de aerogéis, neste caso o CO₂ poderia gerar um processo de gelatinização mais rápido a uma temperatura possivelmente mais baixa e com a obtenção de materiais com maiores porosidades e com diferentes morfologias. Com base nestes indicadores decidiu-se avaliar o impacto do CO₂ e o efeito da variação da temperatura (gelatinização) nos processos de gelatinização e retrogradação na obtenção de aerogéis.

3 OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi desenvolver um processo para a produção de matrizes (aerogéis) de amidos através de CO₂-sc. Os objetivos específicos foram:

- Desenvolver um novo método de secagem supercrítica usando misturas de dióxido carbono supercrítico (CO₂-sc) e etanol (EtOH);
- Produzir aerogéis em presença de CO₂-sc;
- Realizar a impregnação supercrítica de extrato de óleo de café verde nos aerogéis de amido produzidos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Amido nativo de batata (amido solúvel, Vetec, São Paulo BR), Dióxido de carbono líquido (Oxilumen, 99,98%) e etanol anidrido ($\geq 99,5\%$, Sigma-Aldrich, São Paulo BR) foram os principais materiais empregados nesta pesquisa.

Óleo de grãos de café verde ricos em diterpenos (cafestol e caveol) obtido via extração com $\text{CO}_2\text{-Sc}$ à 350 bar e 70 °C (DE OLIVEIRA et al., 2014) foi utilizado como composto ativo para impregnação nos monólitos.

4.2 Método

4.2.1 Desenvolvimento do método de secagem supercrítica

Monólitos foram produzidos a partir de uma mistura de 15 % de amido em água destilada, gelatinizada a 120 °C durante 20 min com agitação magnética de 600 rpm. Posteriormente, a suspensão é transferida a moldes cilíndricos (2 cm x 0,5 cm) de 2 mL e submetidas a retrogradação a 4 °C por 48 horas (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

A abordagem para a secagem dos monólitos é focada na avaliação da composição, fluxo e pressão da mistura de $\text{CO}_2\text{:EtOH}$ sobre as características dos monólitos obtidos. Na secagem dos hidrogéis incluiu-se um fluxo de etanol como co-solvente (cuja finalidade é aumentar a solubilidade da água no $\text{CO}_2\text{-sc}$ facilitando sua extração dos hidrogéis).

O tempo necessário para efetuar a secagem foi determinado após de testes preliminares. Os testes consistiam em observar se o material após seco apresentava aparência úmida ou não. Sendo utilizados: um tempo do fluxo de etanol (EtOH) mínimo de 3 horas seguido de 1 hora de fluxo de $\text{CO}_2\text{-sc}$, e um máximo de 4 horas de EtOH seguido de 2 horas de fluxo de $\text{CO}_2\text{-sc}$, o tempo máximo (6 horas) foi estipulado por Comin, Temelli e Saldaña (2012). A pressão utilizada nestes experimentos preliminares foi de 200 bar.

Após de determinar o tempo da secagem supercríticas, foram feitos os monólitos da pesquisa. As condições da secagem empregadas são mostradas na Tabela 5 e o sistema utilizado mostrado na Figura 8 que consiste em: um aquário de acrílico para controlar a temperatura do processo, transdutor de pressão, uma válvula de freio, e uma caixa controladora do sistema. Neste experimento o etanol foi bombeado para a linha de CO₂ antes de entrar no reator de alta pressão usando uma bomba de cromatografia liquida (LC-10AD Vp, Shimadzu, São Paulo, BR).

A temperatura da secagem foi de 40°C e a vazão de CO₂ de 2 mL/min e secagens em cada condição foram realizadas em duplicata.

Tabela 5 - Condições de secagem supercríticas dos monólitos.

Monólitos	Fluxo etanol (mL/min)	Concentração de etanol* (% v/v)	Pressão (bar)	Fluxo de CO ₂ (mL/min)	Temperatura (°C)
M-1	0,22	11	100	2	40
M-2	0,44	22	100	2	40
M-3	0,22	11	200	2	40
M-4	0,44	22	200	2	40

Fonte: Própria autoria. *Concentração referente ao fluxo de CO₂ (2 mL/min)

Figura 8 - Sistema secagem supercrítica.

Cilindro de CO₂(1), condensador (2), bomba de pressurização(3), válvulas de controle (4), cilindro de etanol(5), bomba LC (6), aquário (7), reator de alta pressão (8), controlador de temperatura (9), medidor de pressão (10), válvula de freio (brake pressure) (11).

Fonte: Própria autoria.

Para determinar a melhor condição de secagem (entre as apresentadas na tabela 4), análises de área superficial, volume e diâmetro do poro dos monólitos obtidos, foram realizados como descritos no item 4.2.4.

4.2.2 Estudo da produção de aerogéis em presença de CO₂ com variação da temperatura de gelatinização

O sistema utilizado nesta etapa da pesquisa é ilustrado na Figura 9, sistema básico que contém um reator de 10 mL, um controlador de temperatura e um transdutor de pressão e duas válvulas de controle. O sistema de reação é o reator de aço inoxidável de 10 mL. Durante a gelatinização e retrogradação, o sistema de reação é constituído pelo sol (amido-água) e o CO₂. Durante a secagem supercrítica do processo de obtenção dos aerogéis, o sistema de reação é constituído por: o sol retrogradação (amido-água após da retrogradação) e o solvente de extração (CO₂:EtOH).

Na formação de aerogéis, variáveis como temperatura de gelatinização e concentração de amido no sol (amido-água) influenciam consideravelmente as características finais dos materiais. Por isso, a abordagem da síntese dos aerogéis foi focada no estudo destes dois fatores, (1) concentração de amido na solução Sol (2) e na variação da temperatura de gelatinização. A influência destes fatores na área superficial, no volume e tamanho do poro e na cristalinidade dos aerogéis foi avaliada.

Figura 9 - Sistema para produção de aerogéis.

Cilindro de CO₂ (1), condensador (2), bomba de pressurização (3), válvulas de controle (4), aquário (5), reator de alta pressão (6), controlador de temperatura (7), medidor de pressão (8).

Fonte: Própria autoria.

Primeiramente, o estudo da concentração de amido foi realizado com três diferentes concentrações 5, 10 e 15 % (m/m) adicionados no Sol (o sol contém 2 mg de água e 0,100, 0,200 ou 0,300 mg de amido) e gelatinizadas a 40 °C e 100 bar. Após determinar a concentração de amido ideal, iniciou-se a avaliação da temperatura de gelatinização, onde as condições utilizadas são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Condições de T adotadas na gelatinização dos aerogéis.

Aerogel	Temperatura (°C)
PAT-1	40
PAT-2	60
PAT-3	90
PAT-4	120

Fonte: Própria autoria

Neste estudo, todas as gelatinizações foram realizadas no sistema anteriormente mostrado (Figura 9), com agitação 600 rpm durante 40 min, a retrogradação feita por 48 h a 4 °C e a secagem realizada na condição escolhida como descrito no item 4.2.1. Para todos os aerogéis obtidos neste estudo realizou-se as análises descritas no item 4.2.3.

4.2.3 Caracterização dos aerogéis.

A caracterização dos diferentes aerogéis produzidos durante toda esta pesquisa (com exceção dos aerogéis impregnados) foi feita por diferentes análises descritas a seguir.

4.2.3.1 Análises de área superficial específica e dimensões do poro

A caracterização estrutural de materiais é feita por processos de adsorção (fisisorção) de nitrogênio gasoso (adsorvato) sobre a superfície do material (adsorvente) (SING et al., 1985; HERNÁNDEZ et al., 2003; FULVIO, 2009; GBOLAHAN; MOJTABA; HALL, 2011). Este análise, é utilizado para obter informação do material como, a área superficial determinada mediante o método BET (BRUNAUER, EMMETT e TELLER), e para obter dados da sua estrutura porosa, volume e tamanho de poros mediante método BJH (técnica de análise desenvolvida

por Kelvin, Barrett, Joyner e Halenda). O BJH fornece informação sobre a mesoporosidade e permite calcular a distribuição de tamanho de poros (HERNÁNDEZ et al., 2003), sendo feita aplicando o método BJH nas isotermas de dessorção do análises BET.

As determinações da área superficial específica, do tamanho e do volume do poro foram obtidas usando a análises de adsorção-dessorção de nitrogênio a baixa temperatura num equipamento Nova 1220 (Quantachrome Instruments, São Paulo, BR). Amostras (0,01-0,04 g) de monólito, antes de serem submetidas à estas análises, foram cortadas em pequenas peças e desgaseificadas sob vácuo a 115 °C durante 4 horas. A área superficial específica foi determinada por adsorção característica multiponto BET a uma pressão relativa p/P_o entre 0,05-0,3 (p : pressão de equilíbrio do nitrogênio na superfície da amostra, P_o : pressão de saturação de nitrogênio). O tamanho e volume de poro foram determinados por adsorção acumulativa de volume a pressão relativa de $p/P_o > 0,35$ (COMIN; TEMELLI; SALDAÑA, 2012b; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

4.2.3.2 Análises de morfologia dos materiais

A morfologia dos materiais foi analisada por microscopia eletrônica de varredura num equipamento MEV FESEM (JEOL JSM-7401F, São Paulo, BR) a 5 kV e 15 mA sob baixo vácuo. Os monólitos foram cortados transversalmente com 1 mm de espessura colocados em filme de lado duplo de carbono e cobertos com uma camada de ouro (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

4.2.3.3 Análises de difração de Raio-X

A difração de Raio-X representa o fenômeno de interação entre o feixe de Raio-X incidente e os elétrons dos átomos componentes de uma matéria. A difração de Raio-X (método de pó) é um dos métodos apropriados para a caracterização de polímeros por ser uma técnica capaz de identificar os diversos estados de ordenamento da matéria. Neste método, é possível avaliar o grau de cristalinidade, bem como quantificar fases presentes. A quantificação das fases se apoia nas intensidades dos picos dos difratogramas, as quais, além de guardarem uma relação características da estrutura cristalina de cada fase componente,

refletem a proporção das fases na amostra (fase amorfa e cristalina) (CULLITY, B, 1959; GOBBO, 2003)g.

O grau de cristalinidade e o padrão difratométrico (padrão cristalino) dos aerogéis foram medidos por meio de análises de difração de Raio-X (método de pó) num equipamento Miniflex (Rigaku, São Paulo, BR). As amostras foram trituradas e espalhadas no suporte do equipamento. Os difratogramas coletados entre valores 2-40° (2θ) com um tamanho de passo de 0,05° e velocidade de varrimento de 1,267/min. A porcentagem ou grau de cristalinidade (D_c) foi calculada utilizando a seguinte relação, equação (1).

$$D_c = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad (1)$$

onde A_c é área da parte cristalina e A_a é a área da parte amorfa dos monólitos (MULJANA et al., 2009; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

4.2.4 Impregnação supercrítica do extrato de óleo de café verde no aerogel

Foi utilizado o extrato de óleo de café verde enriquecido em cafestol e caveol fornecido pelo Laboratório de Tecnologia de Alta Pressão e Produtos Naturais, extraído em condições de pressão e temperatura otimizadas por De Oliveira et al. 2014

No processo de impregnação, o princípio é baseado na solubilidade do composto ativo em CO₂ supercrítico para ser transportado até o interior da matriz do monólito. O óleo foi impregnado no aerogel em um reator de volume variável (10-25 mL) e adicionado ao sistema através de uma válvula loop ligada ao sistema e ao CO₂ ilustrado na Figura 10. Primeiramente, o reator contendo 100 mg de monólito foi aquecido a 40 °C e pressurizado a 250 bar. Posteriormente, o óleo de café verde foi injetado na válvula loop a qual foi pressurizada a 260 bar e mantida nesta condição por 20 min para permitir a parcial solubilização do óleo no CO₂. Logo em seguida, o óleo foi carregado ao reator (por giro da válvula loop), através do aumento da pressão no sistema para 300 ±5 bar, deixado estabilizar e mantido durante 6 a 24 horas. As condições da impregnação (300 bar e 40 °C) utilizadas foram a partir de estudos de extração do óleo de café apresentado na literatura (DE OLIVEIRA et al., 2014). No qual, o óleo de café com uma concentração considerável dos compostos de interesse (cafestol e caveol) foi extraído com CO₂ supercrítico (DE OLIVEIRA et al., 2014)

Figura 10 - Sistema impregnação supercrítica.

Cilindro de CO₂ (1), condensador (2), bomba de pressurização (3), válvulas de controle (4), válvula loop (5), injeção de óleo (6), medidor de pressão (7), reator de volume variável (8), controlador de temperatura (9).

Fonte: Própria autoria.

Após do tempo de impregnação, o sistema foi despressurizado numa taxa de 1 bar/min e, o material impregnado final (óleo + monólito) foi coletado.

O óleo impregnado foi extraído do monólito segundo Ubeyitogullari e Ciftci 2016b, no qual para cada 0,2 g do material impregnado foi usado 10 mL de clorofórmio, colocado num banho de água a 50 °C por 1 hora com agitação ocasional, filtrado e lavado novamente com 5 mL de clorofórmio (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016b). A quantidade de óleo verde impregnado foi calculada utilizando a seguinte relação, equação (2).

$$E_{Imp} = \frac{\dot{m}_{\text{óleo out}}}{\dot{m}_{\text{óleo in}}} \times 100 \quad (2)$$

onde *Óleo in* é a massa de óleo inicial e *Óleo out* é a massa de óleo extraído do monólito. A quantidade de óleo impregnado foi reportada como eficiência de impregnação (% , mg de óleo / 100 mg de monólito)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Estudo de uma nova secagem supercrítica na fabricação de monólitos

O estudo teve como foco a avaliação do impacto da composição do fluxo e pressão da mistura do solvente $\text{CO}_2\text{:EtOH}$ nas características físico-químicas dos materiais obtidos. Os hidrogéis cilíndricos obtidos através do procedimento descrito no item 4.2.1 foram secos em diferentes condições de pressão (100 e 200 bar) e vazão de etanol (0,22 mL/min e 0,44 mL/min).

O teste preliminar para determinar o tempo necessário para efetuar a secagem do material, os resultados estão ilustrados na Figura 11. Nesta imagem pode-se observar o impacto do tempo de secagem no monólito obtido. No monólito (1) o tempo foi de 4 horas de secagem (3 h EtOH + 1 h $\text{CO}_2\text{-sc}$), o material apresentou rachaduras e presença ainda de etanol, indicando que 4 horas não são suficientes para obter um monólito totalmente seco. No monólito (2) o tempo foi de 6 horas (4 h EtOH + 2 h $\text{CO}_2\text{-sc}$), neste caso o material obtido estava totalmente seco sem resíduos de etanol. Com base nestes resultados, o tempo de secagem foi definido em 6 horas (4 h EtOH + 2 h $\text{CO}_2\text{-sc}$).

Figura 11 - Imagem dos monólitos no teste de tempo de secagem.

Fonte: Própria autoria

Os resultados obtidos (Figura 12) demonstraram que é possível obter materiais com características bastante semelhantes aos reportados na literatura. Por exemplo, os materiais obtidos através da secagem dinâmica com mistura de $\text{CO}_2\text{:EtOH}$ evidenciaram áreas

superficiais (AS) entre 35,20 e 95,76 m²/g, volume de poro (Vp) entre 0,137 e 0,275 cm³/g e mesoporos de diâmetros (Dp) entre 3,10 e 3,78 nm.

Figura 12 - Área superficial específica e volume de poro dos monólitos.

Fonte: Própria autoria

Os resultados mostraram, que a 100 bar ocorre um aumento na área superficial e volume de poro quando a vazão de EtOH aumentou de 0,22 para 0,44 mL/min. Adicionalmente não se evidencia variação no diâmetro de poro com aumento do fluxo de etanol (dados não mostrados). Nesta condição de pressão (100 bar), o fluxo de etanol é a variável de maior influência nas características finais dos monólitos. Por outro lado, a 200 bar não se verificou variação relevante na área superficial, volume e diâmetro de poro ao incrementar a vazão de EtOH de 0,22 para 0,44 mL/min (Figura 12), evidenciando que a 200 bar a quantidade de etanol não altera a área superficial dos monólitos. Este resultado mostra que o processo de extração de água a 200 bar não foi afetado pelo aumento de concentração de 11 % para 22% de etanol.

Além disso, o processo de secagem tradicional de aerogéis mostra que a estrutura do material é menos afetada quando se promove a remoção gradual de água originando materiais com maiores áreas superficiais (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012a; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a).

O método apresentado neste trabalho permitiu efetuar igualmente uma remoção gradual da água presente no hidrogel. No entanto, o fato de utilizar uma mistura CO₂:etanol

permitiu melhorar a eficiência de extração pois o CO₂ favorece a difusão do etanol na matriz do material. Deste modo, quanto maior quantidade CO₂ na fase gasosa, maior é a solubilidade de CO₂:etanol na fase líquida (hidrogel), ou seja, quando se aumenta a pressão de 100 para 200 bar promove-se um aumento da dissolução do CO₂ no hidrogel para uma mesma quantidade de etanol. O que significa que a quantidade de etanol transportada para dentro da matriz do gel é maior, o que conduz ao aumento da eficiência do processo de secagem e consequentemente da área superficial dos materiais. Por outro lado, quanto maior quantidade de etanol na fase gasosa, maior é a quantidade de água que pode ser dissolvida nesta fase. Assim existe um compromisso entre quantidade de etanol e pressão que irá garantir a maior remoção de água.

Deste modo, através da utilização de pressões e composições de CO₂ e etanol mais elevadas obtém-se eficiências de extração maiores. Os resultados obtidos refletem esta tendência, por exemplo, a 100 bar a área superficial do material aumenta com o aumento da de etanol na composição, gerando maior eficiência do processo de secagem. A 200 bar o aumento da quantidade de etanol não reflete este efeito de uma forma tão evidente, demonstrando que a solubilidade do CO₂ no gel é um fator mais determinante do processo de extração, pois como foi dito anteriormente o aumento de pressão aumenta a quantidade de CO₂ que pode ser dissolvida na fase do hidrogel. Assim, concluiu-se que a baixas pressões é fundamental utilizar uma maior quantidade de etanol para atingir a mesma eficiência de secagem.

Os resultados demonstram ser possível obter materiais com áreas superficiais bastante equivalentes quando se utiliza 100 bar e 0,44 mL/mim de etanol ou 200 bar e 0,22 mL/mim de etanol. Estes resultados estão de acordo com o descrito em diferentes estudos de equilíbrio de sistemas ternários CO₂-C₂H₅OH-H₂O. Por exemplo, Lim, Lee e Chun (1994) mostraram que a 100 bar e 40°C o aumento da composição de etanol da fase líquida (de 17,6 para 29,4%) induz um aumento da composição de CO₂ na mesma fase (6,2 para 13,6) (LIM; LEE; CHUN, 1994). Outro bom exemplo foi reportado por Budich e Brunner (2003), no qual demonstraram que a 100 bar um aumento da porcentagem molar de etanol na fase líquida de 24,40 para 41,52% gerou um aumento da porcentagem molar de CO₂ de 5,914 para 11,345% (BUDICH; BRUNNER, 2003).

Por outro lado, os monólitos obtidos a 200 bar exibem uma área superficial compreendida entre 93 e 95 m²/g. Estes resultados são comparáveis com os melhores

resultados obtidos na literatura para monólitos de amido obtidos através do método de troca de solvente (entre 72 e 90 m²/g) (MEHLING et al., 2009; DE MARCO; REVERCHON, 2017; DRUEL et al., 2017).

Através das condições de secagem utilizadas neste trabalho foi possível obter monólitos com um diâmetro de poro entre 3,11 e 3,78 nm. Estes resultados são comparáveis com os de Melhing et al. (2009) (3,8 nm) e menores que os obtidos por Comin, Temalli e Saldaña (2012a), Garcia-Gonzales et al. (2012a), Ubeyitogullari e Ciftci (2016a), De Marco e Reverchon (2017), e Druel et al. (2017) (9,4 e 35 nm).

Por outro lado, Mehling et al. (2009) comparou a impregnação de fármacos em materiais com diferente diâmetro de poro, concluindo que um menor diâmetro do poro era responsável pelo aumento das forças capilares que conduzem a uma maior eficiência na incorporação de fármacos. Estas conclusões reforçam o fato de que a metodologia utilizada no presente trabalho permite obter materiais com propriedades adequadas para realizar uma impregnação mais eficientes de compostos de interesse.

A Figura 13 mostra que todos os monólitos de amido estudados apresentam uma morfologia bastante semelhantes em todas as condições. A sua morfologia pode ser descrita como uma “mistura” de fases contínuas e fibrosas com poros de diâmetro inferior a 1 µm formada pelos filamentos interconectados, evidenciando uma estrutura tridimensional e aberta. Estes resultados estão de acordo com as estruturas descritas na literatura para aerogéis de amido (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a; DRUEL et al., 2017).

Figura 13 - Imagens microscópicas (MEV) dos monólitos.

(a)

(a) 100 bar 0,22 ml/min; (b) 100 bar 0,22 ml/min; (c) 100 bar 0,44 ml/min e (d) 100 bar 0,44 ml/min.

Fonte: própria autoria

Deste modo, não é possível determinar visualmente uma diferença entre as diferentes condições de secagem. Este resultado deve-se possivelmente ao fato do processo de secagem não gerar uma modificação no desenho da matriz do aerogel dado que esta modificação depende exclusivamente das etapas de gelatinização e retrogradação (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012b). Além disso, é importante enfatizar que o processo de secagem supercrítica aplicado nesta pesquisa não gera colapso da estrutura do aerogel.

Estes resultados estão de acordo com os dados obtidos para áreas superficiais, dado que apenas os aerogéis a 100 bar 0,22 mL/min de EtOH exibiram uma área superficial inferior em relação aos demais. Desta forma, existe, obviamente, uma concordância entre os valores de área superficial e a morfologia dos materiais obtidos.

De outra forma, todos monólitos estudados exibiram um grau de cristalinidade inferior ($\pm 12\%$) em relação ao amido nativo (16,10%). Este fato pode ser explicado pelo processo de gelatinização que induz mudanças nas regiões cristalinas e amorfas do amido que conduzem

a uma redução do grau de cristalinidade nos materiais obtidos (DEBET; GIDLEY, 2007; RIZZI; BERTUCCO; GAMSE, 2010)

Os resultados obtidos mostram que o amido nativo apresenta um padrão cristalino com picos de difração intensos nas seguintes regiões de 2θ : 17,1, 19,6, 21,8 e 24,5. Este padrão está de acordo com os obtidos na literatura característicos para amidos tipo B (MULJANA et al., 2009). Além disso, os resultados mostram igualmente que não ocorreu uma variação significativa dos padrões cristalinos quando o fluxo de etanol aumentou (Figura 13) independentemente da pressão utilizada. Este fato mostra que a variação do padrão cristalino não afetou significativamente o grau de cristalinidade dos mesmos. Visto que o processo de gelatinização provoca uma diminuição do domínio cristalino e consequentemente do grau cristalinidade do amido (DEBET; GIDLEY, 2007).

Figura 14 - Padrão difratométrico dos monólitos.

Fonte: Própria autoria.

Os monólitos obtidos apresentaram características semelhantes aos descritos pela literatura, demonstrando que a modificação do método de secagem não interfere nas características estruturais dos materiais obtidos, aliás, este fato já tinha ficado evidente pelas análises de microscopia e determinação de área superficial. Portanto, com base nos resultados discutidos, as condições da secagem escolhidas foram 200 bar e fluxo de etanol de 0,22 mL/min. Todas as secagens supercríticas dos aerogéis realizadas a partir deste ponto foram realizadas nesta condição de processo.

A abordagem seguida neste trabalho já tinha sido referenciada na literatura para a obtenção de aerogéis de amido (COMIN; TEMELLI; SALDAÑA, 2012b). No entanto, os resultados destes autores ficaram bastante aquém das expectativas pois os materiais obtidos apresentaram uma deformação significativa, bem como rachaduras e baixa área superficial ($< 10\text{m}^2/\text{g}$). Aliás, este método foi descrita por Comin, Temalli e Saldaña (2012b) como um método pouco viável para a obtenção materiais para sistemas de liberação. A maior diferença entre a abordagem descrita por estes autores e a descrita no presente trabalho está relacionada com a composição e fluxo da mistura de Etanol:CO₂. Estes autores utilizaram uma vazão de etanol de 0,3 mL/min e uma vazão de CO₂ de 1 L/min, o que significa que a proporção do etanol (0,03%) utilizada em relação ao CO₂ é de aproximadamente 400 vezes menor à utilizada no presente trabalho (11 %). Este fato, faz com que a remoção da água seja feita essencialmente por arrastre, não só porque a quantidade de etanol na fase gasosa é demasiada baixa para solubilizar quantidades apreciáveis de água, mas também porque a vazão de CO₂ utilizada foi de 1000 mL/min. Estas condições induzem uma enorme tensão superficial na interfase gel-liquido-vapor, conduzindo a um colapso extenso da estrutura do aerogel originando uma redução bastante significativa da área superficial e tamanho de poro dos materiais.

5.2 Estudo da produção de aerogéis em presença de CO₂

Após terem sido definidas as condições da secagem, desenvolveu-se um método que introduz CO₂ durante todas as etapas da síntese de aerogéis, com intenção de produzir partículas devida a sua praticidade para serem aplicadas em produtos alimentícios. A introdução do CO₂ durante as diferentes etapas tem como objetivo melhorar as características estruturais do amido e consequentemente dos aerogéis obtidos a partir dele, isto porque o CO₂ melhora o processo de difusão de água para o interior da estrutura do amido, gerando inchaço de seus grânulos e consequentemente aumentando a distância entre as cadeias internas de glicose (DEBET; GIDLEY, 2007; MULJANA et al., 2009). Deste modo, o CO₂ ajuda a promover a gelatinização a uma temperatura mais baixa.

Para avaliar este fato, os processos de gelatinização e, consequentemente, a retrogradação foram realizados na presença de CO₂. Por exemplo, durante a gelatinização utilizou-se condições supercríticas (100 bar e 40 °C) enquanto que na retrogradação

utilizaram-se CO₂ líquido (40 bar e 4°C). Por outro lado, a temperatura de gelatinização e concentração de amido são variáveis que afetam diretamente as características dos aerogéis produzidos (MEHLING et al., 2009). Deste modo, diferentes testes preliminares foram realizados para avaliar o impacto da quantidade de amido na Sol nas características físico-químicas dos materiais obtidos na presença CO₂.

5.2.1 Impacto da concentração de amido nas características dos aerogéis

Os aerogéis obtidos nesta etapa estão representadas na Figura 15, indicando que foram obtidas partículas de aproximadamente 100 µm independentemente da quantidade de amido utilizada no sol. No entanto, os resultados mostram que ocorre aglomeração das partículas quando é aumentada a concentração de amido no sol, apresentando maior aglomeração quando se utiliza uma porcentagem de amido igual a 15%. Este resultado pode ser explicado pelo fato de uma maior quantidade de amido em solução, favorecer a extensão da retrogradação pois maior concentração de amido implica uma maior concentração de amilose em solução e com isso a promoção do efeito de agregação. Este fenômeno prejudica a formação de partículas “soltas”.

Figura 15 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas em CO₂

Fonte: Própria autoria.

Do mesmo modo, os resultados obtidos na Figura 16 demonstram que o aumento de amido na Sol de 5% para 10% promove não só um aumento da área superficial de 121 para 185 m²/g mas também aumento na cristalinidade das partículas (Figura 17a). Porém, a partir de 15% ocorre decréscimo drástico na área superficial (incluindo volume e tamanho de poro) das partículas. Este fenômeno, pode ser explicado pela eventual sobressaturação de amilose na Sol após a gelatinização que favorece a aglomeração, afetando negativamente a porosidade do material obtido. Adicionalmente, constatou-se que a variação do volume de poro reflete a mesma tendência do tamanho de poro (de 3,48 a 4,25 nm).

Figura 16 - Área superficial e volume do poro de partículas em presença de CO₂.

Fonte: Própria autoria.

Adicionalmente, o aumento da concentração de amido não promove alteração do padrão cristalino das partículas como evidenciado na Figura 17b. No entanto, mostra que ocorre uma variação na cristalinidade das partículas. Este fato deve-se ao incremento da quantidade de amilose e amilopectina. No entanto, quando é utilizado uma concentração de amido no sol acima do 10% ocorre uma diminuição da cristalinidade do material (Figura 17a).

Os resultados obtidos estão de acordo com o observado por Ubeyitogullari e Cifti (2016a), no qual um aumento da concentração de amido na Sol tem como consequência uma diminuição da área superficial de 48,4 m²/g em 10% para 20 m²/g quando se utiliza 15% de amido. O mesmo efeito foi reportado por Miao et al. (2008), onde um aumento da concentração de amido de 20 para 25% promoveu a diminuição da área superficial de 99 m²/g para 55 m²/g (MIAO et al., 2008).

Desde modo, os resultados demonstram que a concentração de amido é um parâmetro crucial para o desenvolvimento deste tipo de material dado que afeta a área superficial, no entanto não afetando o seu padrão cristalino. Por outro lado, os resultados sugerem que o CO₂ possa ter um papel importante nas características dos materiais obtidos na sua presença. Por exemplo, quando comparado com o amido nativo (11,27 m²/g) ou com os monólitos (95m²/g), o material obtido em CO₂-sc apresenta uma maior área superficial. Posto isto, com base aos resultados obtidos escolheu-se a porcentagem de amido na Sol de 10% para dar continuidade aos experimentos da avaliação da temperatura de gelatinização.

Figura 17 - Cristalinidade e padrão cristalino das partículas em CO₂.

Fonte: Própria autoria. (a) grau de cristalinidade das partículas e (b) padrão cristalino das partículas.

5.2.2 Avaliação do impacto da presença de CO₂ e da temperatura de gelatinização na síntese dos aerogéis

A avaliação foi feita através da variação de temperatura de gelatinização e do efeito da presença do CO₂ durante o processo para obter aerogéis. A Figura 18 mostra a formação de aerogéis de diferentes morfologias e demonstram que a temperatura produziu um impacto importante na morfologia dos materiais obtidos.

Neste caso, a penas foi possível obter partículas a 40 °C. Acima desta temperatura os materiais obtidos apresentam uma clara e extensa aglomeração. Aliás, acima de 90 °C formaram-se materiais rígidos e densos. Adicionalmente, na temperatura de 120 °C formou-se um material muito mais rígido com poros colapsados superficialmente (crateras) Este comportamento com o incremento da temperatura está de acordo com o descrito por Ubeyitogullari e Ciftci (2016a), no qual um aumento na temperatura de gelatinização promoveu a formação de materiais mais fibrosos e rígidos. Este fato, pode ser explicado por uma gelatinização mais extensa que leva a uma diminuição da densidade do aerogel.

Figura 18 - Imagens microscópica (MEV) dos aerogéis em CO₂.

Aerogéis sintetizados a: 40°C (PAT-1), 60°C (PAT-2), 90°C (PAT-3) e 120°C (PAT-4)

Fonte: Própria autoria.

Do mesmo modo, um comportamento similar foi observado nas análises de difração de Raio-X (Figura 19), no qual um aumento na temperatura evidenciou um incremento da região amorfa do material e uma consequente diminuição do grau de cristalinidade das matrizes, efeito que resulta da dissociação dos grânulos que conduz ao colapso da sua estrutura (UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a). No entanto, apesar de existir vários trabalhos na literatura para o amido de batata, estes descrevem que acima de 70°C ocorre a destruição total da estrutura cristalina (COOKE; GIDLEY, 1992; RATNAYAKE; JACKSON, 2007), os resultados obtidos mostram que mesmo a 120 °C existe presença de estruturas cristalinas. Este fato, resulta do efeito plastificante que o CO₂ exerce durante os processos de gelatinização e retrogradação.

Figura 19 - Cristalinidade e padrão cristalino dos aerogéis em presença de CO₂

Fonte: Própria autoria, (a) padrão cristalino das matrizes e (b) grau de cristalinidade das matrizes.

Os resultados obtidos (Figura 19) mostram que as áreas superficiais variaram entre 39 e 185 m²/g, o volume de poro entre 0,089- 0,217 cc/g e o diâmetro de poro entre 3,17 e 4,25 nm. A matriz que exibiu uma maior área superficial (185 m²/g) apresentou uma morfologia de partículas de diâmetro inferior a 100 µm. O valor da área superficial das partículas obtidas é substancialmente maior às reportada na literatura. Por exemplo, Ubeyutogullari e Ciftci (2016a) obteve uma área superficial de 58 m²/g, Garcia-Gonzales et al. (2012b) de 112 m²/g e Mehling et al. (2009) de 90,3 m²/g (MEHLING et al., 2009; GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012b; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a). A diferença destes resultados pode ser explicada não só pelos benefícios que o novo método de secagem introduziu, mas igualmente pelos benefícios do efeito plastificante do CO₂ que exerceu durante o processo de produção das partículas.

Os resultados obtidos para área superficial não seguiram a tendência esperada. Por exemplo, esperar-se-ia uma diminuição gradual da área superficial com aumento da temperatura. Esta tendência foi observada entre 40 °C e 60 °C onde a área superficial diminuiu consideravelmente (de 185 para 107 m²/g). Porém, de 60 °C para 90 °C ocorreu um ligeiro incremento (de 107 para 130 m²/g) sendo este seguido por um decréscimo acentuado a 120 °C (de 130 para 39 m²/g).

De forma a explicar estes resultados é fundamental entender os diferentes fenômenos que ocorrem durante as etapas de gelatinização e retrogradação em resultado do aumento da temperatura. Por exemplo, na gelatinização as ligações de hidrogênio entre as moléculas de glicose das cadeias de amilopectina e amilose são enfraquecidas pelo aumento da temperatura provocando a liberação de amilose a partir da estrutura granular e inchaço dos grânulos. Este fenômeno ocorre primeiramente na região amorfa sendo seguido pela destruição do estado ordenado (cristalino) conduzindo a um colapso da estrutura granular do amido (SINGH et al., 2003; RIZZI; BERTUCCO; GAMSE, 2010). Por outro lado, durante a retrogradação a amilose livre (solubilizada) tende a organizar-se formando estruturas em duplas hélices ou a estabelecerem ligações com outras moléculas de amilopectina que permanecem ainda no meio. Este processo promove a reorganização estruturado amido (DEBET; GIDLEY, 2007).

Figura 20 - Análises de área superficial e volume de poro dos aerogéis em presença de CO₂

Fonte: Própria autoria

No entanto, quando a temperatura excede um determinado limite (que para amido de batata situa-se a 75 °C de acordo com literatura (COOKE; GIDLEY, 1992; FRANCISCO; SIVIK, 2002; RATNAYAKE; JACKSON, 2007; MEHLING et al., 2009) o processo de reorganização é mais complexo devido à maior extensão do grau de dissociação de amilose e amilopectina durante a gelatinização. Com base neste conceito, seria esperado que a área superficial decrescesse

com aumento da temperatura visto não ser possível obter matérias com um elevado nível de estruturação.

Os resultados obtidos sugerem que a presença do CO₂ pode influenciar a reorganização estrutural do amido durante o processo de retrogradação, ou na forma como as ligações amilose-amilopectina acima mencionadas são realizadas. No fundo, é sugerido que o CO₂ possa mediar as ligações que se formam durante o processo de retrogradação, permitindo que a temperaturas mais elevadas seja ainda possível efetuar uma reorganização das estruturas hidrolisadas. Por exemplo, a 60 °C durante inchamento dos grânulos de amido ocorre a dissociação dos mesmos, no entanto esta dissociação é mais extensa na região amorfa do que na cristalina promovendo uma maior liberação de amilose e incrementando a extensão da gelatinização (evidenciado na mudança do padrão cristalino na Figura 19a) (DEBET; GIDLEY, 2007). Este fato, faz com que durante a retrogradação não seja possível formar o mesmo nível de organização gerada na temperatura de 40 °C, não se estabelecendo assim o mesmo grau de cristalinidade o que tem como consequência uma diminuição da área superficial de 185 para 107 m²/g.

Apesar disto, a 90 °C ocorre um comportamento inesperado, o que se justifica pela gelatinização total do material, isto é, a degradação irreversível da estrutura cristalina do amido que ocorre a uma temperatura de aproximadamente de 75 °C (COOKE; GIDLEY, 1992; FRANCISCO; SIVIK, 2002; RATNAYAKE; JACKSON, 2007; MEHLING et al., 2009). Este fato, pode estar associado à presença do CO₂ durante os processos de gelatinização e retrogradação. Os resultados obtidos sugerem que a presença do CO₂ ajuda ou atua como facilitador do processo de recristalização que ocorre durante a retrogradação. A interação do CO₂ e a gelatinização já foi parcialmente estudado para o impacto do CO₂ durante a gelificação. Por exemplo, Muljana et al. 2009 mostraram que o CO₂, bem como, o aumento da sua densidade tem um impacto positivo na gelatinização do material num dada temperatura, ou seja, o CO₂ ajuda no processo de rompimento das cadeias de amilopectina na região cristalina e da amilose, estes autores sugerem que o CO₂ ajuda a permear a água para dentro da estrutura cristalina (região cristalina) do material e consequentemente leva a liberação de uma maior quantidade de amilose garantindo uma maior extensão da gelatinização nas temperaturas mais baixas. No entanto, não sugerem qualquer explicação do tipo de interação do CO₂ com as cadeias de amilose durante a retrogradação. Por outro lado, estes autores reforçam a ideia que este efeito se deva ao CO₂ e não à pressão, pois testaram em presença de N₂ e não houve qualquer

variação no grau de gelatinização dos materiais. Este fato sugere que a densidade do CO₂ desempenha um papel crucial na extensão da hidrólise, onde o CO₂ pode funcionar como um agente permeador da água para estruturas mais internas do amido.

Por outro lado, a presença de CO₂ na retrogradação pode promover a reestruturação das ligações entre a amilose livre e as cadeias dissociadas de amilopectina, conduzindo não a uma reorganização da estrutura inicial do amido, mas sim conduzir à de uma formação de novas estruturas cristalina baseada na formação de pequenos cristais. No entanto, estes pequenos cristais não são detectados por esta técnica de difração de Raio-X convencional. Aliás, Karim, Norziah e Seow. (2000) e Wang et al. (2015) descrevem que, apesar da técnica servir para detectar estruturas ordenadas dispostas em estruturas regulares de duplas hélices que refletem uma ordem tridimensional da cristalinidade do amido, a técnica é pouco sensível para detectar estruturas irregulares, imperfeitos, pequenos agregados de cadeias ou hélices isoladas (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000; WANG et al., 2015). Deste modo, podem ocorrer alterações estruturais que não passíveis a ser detectadas. Com base nisto, sugere que de 60 para 90 °C possa ter ocorrido na presença de CO₂ a formações de pequenas estruturas cristalinas que conduziram à formação de um material mais estruturado é isso pode justificar o aumento da área superficial de 107 para 130 m²/g (MEHLING et al., 2009). Adicionalmente, de 60 par 90°C o grau de cristalinidade se mantém relativamente constante, significando que não houve alteração detectável da parte cristalina nos análises de difração de Raio-X.

Por fim, na temperatura de a 120 °C ocorre uma maior extensão da gelatinização sendo isto mostrado pelo baixo grau de cristalinidade (3%) apresentado por este material (Figura 19b). Este resultado pode ser explicado pelo extenso colapso da estrutura granular resultante da dissociação quase total das regiões cristalina e amorfa do amido (MEHLING et al., 2009; ZAIDUL et al., 2014; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016a). Este fato, está de acordo com o que se encontra descrito para o impacto da temperatura no processo de gelatinização e posterior retrogradação mencionada anteriormente, que dificulta a reorganização da estrutura, gerando uma redução apreciável da área superficial de 130 para 39 m²/g. As análises microscópicas deste material mostram que, o material gerado possui poros colapsados superficialmente, justificando a diminuição expressiva da área superficial.

Desta maneira, a presença de CO₂ durante a retrogradação pode ajudar a melhorar a estruturação das ligações entre os hidrolisados de amilose e amilopectina. Esta ideia, pode ser confirmada pelo fato de que a 90 °C e 120 °C não ocorre perda total da cristalinidade como

reportado na literatura (COOKE; GIDLEY, 1992; FRANCISCO; SIVIK, 2002; RATNAYAKE; JACKSON, 2007; MEHLING et al., 2009).

5.3 Impregnação de óleo de café verde nos aerogéis produzidos

Para a realização da impregnação foi escolhido o monólito obtido com gelatinização na ausência de CO₂ e seco nas condições de 200 bar e 11% de etanol. Esta escolha, deveu-se ao fato deste material apresentar um maior volume de poro e menor diâmetro de poro quando comparados com os outros materiais obtidos. Esta decisão foi igualmente reforçada pelos resultados obtidos por Mehling et al. (2009), os quais evidenciaram que um menor tamanho de poro induzia uma maior impregnação de compostos ativos (e.g ibuprofeno e paracetamol).

A eficiência de impregnação foi reportada na Figura 21. Os resultados obtidos mostram que a eficiência de impregnação variou entre 23,4 - 40,7%. Estes resultados mostraram que após 12 horas é atingido um equilíbrio no processo e que possivelmente a maior capacidade de impregnação do material para óleo de café verde seja próximo as 12h.

Figura 21 - Eficiência de impregnação de óleo de café verde no monólito

Fonte: Própria autoria.

Estes resultados mostram uma eficiência de impregnação superior aos melhores resultados reportados na literatura para impregnação de diferentes compostos em matrizes de amido. Por exemplo, Melhing et al. (2009) obteve 10% de eficiência de impregnação para

ibuprofeno e paracetamol em monólitos de batata num processo de 10 horas. De Marco et al. (2017) conseguiu impregnar em 24 horas, 15 mg de vitamina E e 10 mg de vitamina K₃ em cada 100 mg de monólitos de milho. Garcia et al. (2012b) reportou uma impregnação de 16% de cetoprofeno em esferas de amido de milho durante 24 horas, e Ubeyitogullari e Ciftci (2016b) reportou uma eficiência de impregnação de 9,9 % para fitoesterol em monólitos de milho em 3 horas de processo. Deste modo, estes resultados demonstraram que o material obtido no presente trabalho apresenta ótimas características para ser aplicados na impregnação supercrítica de óleo de café verde sugerindo um bom potencial para aplicação destes materiais na área alimentar e nutracêutica.

6 CONCLUSÕES

O estudo da secagem supercrítica determinou que é possível obter materiais com uma área superficial de aproximadamente $94 \text{ m}^2/\text{g}$, volume de poro $0,26 \text{ cm}^3/\text{g}$ e tamanho de poro de $3,41 \text{ nm}$, utilizando um fluxo de 2 mL/min de $\text{CO}_2\text{-Sc}$ e contendo 11% de etanol a 200 bar e 40°C durante 6 horas.

O estudo do impacto do CO_2 na síntese dos aerogéis revelou que a utilização de CO_2 durante a formação de partículas a 40°C permitiu gerar partículas. Por outro lado, os resultados mostraram igualmente que o CO_2 ajuda a promover a reorganização das cadeias da amilose e amilopectina durante a retrogradação. Este fato, ficou evidente pela ausência de perda total da cristalinidade dos materiais quando temperaturas elevadas, 90 e 120°C foram empregadas no processo. Adicionalmente, determinou-se que as melhores condições para obter partículas com área superficial de $185 \text{ m}^2/\text{g}$ foram: porcentagem de amido de 10% na Sol, e temperatura de gelatinização de 40°C .

Os resultados da impregnação supercrítica de extrato de óleo de café verde no monólito mostraram que a melhor eficiência de impregnação (39%) foi obtida para 12 horas de processo. Nas condições de 300 bar e 40°C

Contudo, o método de secagem melhorado no presente trabalho para a produção de aerogéis permitiu evitar a etapa de troca de solvente, fazendo dele um processo mais rápido e verde. Ainda, a introdução de CO_2 durante os processos de gelatinização e retrogradação permitiu obter partículas com elevada área superficial, demonstrando o enorme potencial que o CO_2 tem para melhorar as características dos materiais. Abrindo deste modo, excelentes perspectivas para o desenvolvimento de uma nova metodologia de um processo integrado (One-Pot) que permita a realização de síntese, secagem e impregnação dos materiais no mesmo processo utilizando CO_2 supercrítico. Para incorporação de moléculas de interesse comercial para criação de sistemas de liberação biocompatíveis na indústria farmacêutica e alimentar.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAI, Y.; SHI, Y.; HERRERA, A.; PRAKASH, O. Study of octenyl succinic anhydride-modified waxy maize starch by nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 407–413, 2011.
- BUDICH, M.; BRUNNER, G. Supercritical fluid extraction of ethanol from aqueous solutions. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 25, n. 1, p. 45–55, 2003.
- COMIN, L. M.; TEMELLI, F.; SALDAÑA, M. D. A. Barley β -glucan aerogels as a carrier for flax oil via supercritical CO₂. **Journal of Food Engineering**, v. 111, n. 4, p. 625–631, 2012a.
- COMIN, L. M.; TEMELLI, F.; SALDAÑA, M. D. A. Barley beta-glucan aerogels via supercritical CO₂ drying. **FRIN**, v. 48, n. 2, p. 442–448, 2012b.
- COOKE, D.; GIDLEY, M. J. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. **Carbohydrate Research**, v. 227, n. C, p. 103–112, 1992.
- CULLITY, B. D. **Elements of X-RAY DIFFRACTION**. 2. ed. [s.l: s.n.]
- DE MARCO, I.; REVERCHON, E. Starch aerogel loaded with poorly water-soluble vitamins through supercritical CO₂ adsorption. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 119, p. 221–230, 1 mar. 2017.
- DE OLIVEIRA, P. M. A.; DE ALMEIDA, R. H.; DE OLIVEIRA, N. A.; BOSTYN, S.; GONÇALVES, C. B.; DE OLIVEIRA, A. L. Enrichment of diterpenes in green coffee oil using supercritical fluid extraction – Characterization and comparison with green coffee oil from pressing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 137–145, nov. 2014..
- DEBET, M. R.; GIDLEY, M. J. Why do gelatinized starch granules not dissolve completely? Roles for amylose, protein, and lipid in granule “ghost” integrity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 12, p. 4752–4760, 2007.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. da. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 9 jan. 2009.
- DEZE, E. G.; PAPAGEORGIOU, S. K.; FAVVAS, E. P.; KATSAROS, F. K. Porous alginate aerogel beads for effective and rapid heavy metal sorption from aqueous solutions: Effect of porosity in Cu²⁺ and Cd²⁺ ion sorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 209, p. 537–546, 2012.
- DRUEL, L.; BARDL, R.; VORWERT, W.; BUDTOVA, T. Starch Aerogels: A Member of the Family

of Thermal Superinsulating Materials. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 12, p. 4232–4239, 11 dez. 2017.

FRANCISCO, J. D. C.; SIVIK, B. Gelatinization of cassava, potato and wheat starches in supercritical carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 22, n. 3, p. 247–254, 2002.

FULVIO, P. F. **Synthesis and Characterization of Ordered Mesoporous Inorganic Nanocomposite Materials**. Ohio, 2009.

GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; ALNAIEF, M.; SMIRNOVA, I. Polysaccharide-based aerogels - Promising biodegradable carriers for drug delivery systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 4, p. 1425–1438, 2011.

GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; CAMINO-REY, M. C.; ALNAIEF, M.; ZETZL, C.; SMIRNOVA, I. Supercritical drying of aerogels using CO₂: Effect of extraction time on the end material textural properties. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 66, p. 297–306, 2012a.

GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; JIN, M.; GERTH, J.; ALVAREZ-LORENZO, C.; SMIRNOVA, I. Polysaccharide-based aerogel microspheres for oral drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 797–806, 2015.

GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; SMIRNOVA, I. Use of supercritical fluid technology for the production of tailor-made aerogel particles for delivery systems. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 79, p. 152–158, 2013.

GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; UY, J. J.; ALNAIEF, M.; SMIRNOVA, I. Preparation of tailor-made starch-based aerogel microspheres by the emulsion-gelation method. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1378–1386, 2012b.

GBOLAHAN, O.; MOJTABA, M.; HALL, P. Effect of composition, solvent exchange liquid and drying method on the porous structure of phenol–formaldehyde gels. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 178–184, 14 fev. 2011.

GOBBO, L. de A. **Os compostos do clínquer Portland: sua caracterização por difração de raios-X e quantificação por refinamento de Rietveld**. 2003. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GOIMIL, L.; BRAGA, M. E. M.; DIAS, A. M. A.; GÓMEZ-AMOZA, J. L.; CONCEIRO, A.; ALVAREZ-LORENZO, C.; DE SOUSA, H. C.; GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A. Supercritical processing of starch

aerogels and aerogel-loaded poly(ϵ -caprolactone) scaffolds for sustained release of ketoprofen for bone regeneration. **Journal of CO₂ Utilization**, v. 18, p. 237–249, 2017.

GONÇALVES, V. S. S.; GURIKOV, P.; POEJO, J.; MATIAS, A. A.; HEINRICH, S.; DUARTE, C. M. M.; SMIRNOVA, I. Alginate-based hybrid aerogel microparticles for mucosal drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 107, p. 160–170, 2016.

HERNÁNDEZ, M. Á.; VELASCO, J. A.; ROJAS, F.; LARA, V. H.; SALGADO, M. A.; TAMARIZ, V. EVALUACIÓN DE MESOPOROS Y CARACTERIZACIÓN DE ARCILLAS DEL ESTADO DE PUEBLA, MÉXICO. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 19, n. 4, p. 183–190, 2003.

HIZUKURI, S. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. **Carbohydrate Research**, v. 141, n. 2, p. 295–306, 1985.

HYATT, J. A. Liquid and supercritical carbon dioxide as organic solvents. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 49, n. 26, p. 5097–5101, 1984.

IVANOVIC, J.; MILOVANOVIC, S.; ZIZOVIC, I. Utilization of supercritical CO₂ as a processing aid in setting functionality of starch-based materials. **Starch/Staerke**, v. 68, n. 9–10, p. 821–833, 2016.

JUNG, J.; PERRUT, M. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 20, n. 3, p. 179–219, 2001.

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 9–36, 2000.

KAZARIAN, S. G.; VINCENT, M. F.; BRIGHT, F. V.; LIOTTA, C. L.; ECKERT, C. A. Specific intermolecular interaction of carbon dioxide with polymers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 7, p. 1729–1736, 1996.

KURACHI, L. **Efeito Da Modificação Ácido- Metanólica Nas Químicas De Amidos De Milho E Mandioca** " " **Efeito Da Modificação Ácido- Metanólica Nas Características Estruturais E Físico- Químicas De Amidos De Milho E Mandioca**. 2006. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 2006.

LE CORRE, D.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Starch Nanoparticles: A Review. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 5, p. 1139–1153, 10 maio 2010.

LEVENTIS, N.; CHIDAMBARESWARAPATTAR, C.; MOHITE, D. P.; LARIMORE, Z. J.; LU, H.;

- SOTIRIOU-LEVENTIS, C. Multifunctional porous aramids (aerogels) by efficient reaction of carboxylic acids and isocyanates. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, n. 32, p. 11981, 2011.
- LIM, J. S.; LEE, Y. Y.; CHUN, H. S. Phase equilibria for carbon dioxide-ethanol-water system at elevated pressures. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 7, n. 4, p. 219–230, 1994.
- LOVSKAYA, D. D.; LEBEDEV, A. E.; MENSHTUTINA, N. V. Aerogels as drug delivery systems: In vitro and in vivo evaluations. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 106, p. 115–121, 2015.
- MALEKI, H. Recent advances in aerogels for environmental remediation applications: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 300, p. 98–118, 2016.
- MALEKI, H.; DURÃES, L.; GARCÍA-GONZÁLEZ, C. A.; DEL GAUDIO, P.; PORTUGAL, A.; MAHMOUDI, M. Synthesis and Biomedical Applications of Aerogels: Possibilities and Challenges. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 236, p. 1–27, 2016.
- MEHLING, T.; SMIRNOVA, I.; GUENTHER, U.; NEUBERT, R. H. H. Polysaccharide-based aerogels as drug carriers. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 355, n. 50–51, p. 2472–2479, 2009.
- MIAO, Z.; DING, K.; WU, T.; LIU, Z.; HAN, B.; AN, G.; MIAO, S.; YANG, G. Fabrication of 3D-networks of native starch and their application to produce porous inorganic oxide networks through a supercritical route. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 111, n. 1–3, p. 104–109, 2008.
- MILOVANOVIC, S.; JANKOVIC-CASTVAN, I.; IVANOVIC, J.; ZIZOVIC, I. Effect of starch xero- And aerogels preparation on the supercritical CO₂ impregnation of thymol. **Starch/Staerke**, v. 67, n. 1–2, p. 174–182, 2015.
- MULJANA, H.; PICCHIONI, F.; HEERES, H. J.; JANSSEN, L. P. B. M. Supercritical carbon dioxide (scCO₂) induced gelatinization of potato starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 3, p. 511–519, 2009.
- NALAWADE, S. P.; PICCHIONI, F.; JANSSEN, L. P. B. M. Supercritical carbon dioxide as a green solvent for processing polymer melts: Processing aspects and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, n. 1, p. 19–43, 2006.
- NEŠIĆ, A.; GORDIĆ, M.; DAVIDOVIĆ, S.; RADOVANOVIĆ, Ž.; NEDELJKOVIĆ, J.; SMIRNOVA, I.; GURIKOV, P. Pectin-based nanocomposite aerogels for potential insulated food packaging application. **Carbohydrate Polymers**, v. 195, p. 128–135, set. 2018.

O'SHEA, K. E.; KIRMSE, K. M.; FOX, M. A.; JOHNSTON, K. P. Polar and hydrogen-bonding interactions in supercritical fluids: effects on the tautomeric equilibrium of 4-(phenylazo)-1-naphthol. **Journal of Physical Chemistry**, v. 95, n. 20, p. 7863–7867, 1991.

OATES, C. G. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 8, n. 11, p. 375–382, 1 nov. 1997.

PANTIC, M.; KNEZ, Z.; NOVAK, Z. Supercritical impregnation as a feasible technique for entrapment of fat-soluble vitamins into alginate aerogels. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, p. 519–526, 2016.

PIERRE, A. C.; PAJONK, G. M. Chemistry of aerogels and their applications. **Chemical reviews**, v. 102, n. 11, p. 4243–65, nov. 2002.

RAJANNA, S. K.; KUMAR, D.; VINJAMUR, M.; MUKHOPADHYAY, M. Silica Aerogel Microparticles from Rice Husk Ash for Drug Delivery. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 54, n. 3, p. 949–956, 28 jan. 2015.

RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 4, p. 511–529, 2007.

RINDFLEISCH, F.; DINOIA, T. P.; MCHUGH, M. a. Solubility of polymers and copolymers in supercritical CO₂. **The journal of physical chemistry**, v. 100, n. 38, p. 15581–15587, 1996.

RING, S. G.; COLONNA, P.; I'ANSON, K. J.; KALICHEVSKY, M. T.; MILES, M. J.; MORRIS, V. J.; ORFORD, P. D. The gelation and crystallisation of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v. 162, n. 2, p. 277–293, 1987.

RIZZI, M.; BERTUCCO, A.; GAMSE, T. **SUPERCritical FLUID IMPREGNATION OF PHARMACEUTICALS INTO STARCH: EXPERIMENTS AND PARAMETERS OPTIMIZATION**. 2010. Università Degli studi Di Padova, 2010.

RUIZ, P. **Aplicacion Del Dioxido De Carbono Supercritico Al Procesado De Alimentos: Nata, Subproductos Del Refinado De Aceites Vegetales Y Zumo De Naranja**. 1996. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, 1996.

SCHNEIDER, G. M. FLUID MIXTURES AT HIGH PRESSURES. **Pure & Appl.Chern**, v. 55, n. 3, p. 479–492, 1983.

SING, K. S. W.; EVERETT, D. H.; HAUL, R. A. W.; MOSCOU, L.; PIEROTTI, R. S.; ROUQUEROL, J.;

SIEMIENIEWSKA, T. INTERNATIONAL UNION OF PURE COMMISSION ON COLLOID AND SURFACE CHEMISTRY INCLUDING CATALYSIS-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. **Pure & Appl. Chem.**, v. 57, n. 4, p. 603–619, 1985.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 1, p. 1–22, 2007.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SINGH SODHI, N.; SINGH GILL, B. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219–231, 2003.

SMIRNOVA, I.; SUTTIRUENGWONG, S.; ARLT, W. Aerogels: Tailor-made Carriers for Immediate and Prolonged Drug Release. **KONA Powder and Particle Journal**, v. 23, n. 0, p. 86–97, 2005.

SOLEIMANI DORCHEH, A.; ABBASI, M. H. Silica aerogel; synthesis, properties and characterization. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 199, n. 1, p. 10–26, 2008.

SWEEDMAN, M. C.; TIZZOTTI, M. J.; SCHÄFER, C.; GILBERT, R. G. Structure and physicochemical properties of octenyl succinic anhydride modified starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 905–920, 2013..

SYAHARIZA, Z. A.; LI, E.; HASJIM, J. Extraction and dissolution of starch from rice and sorghum grains for accurate structural analysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 1, p. 14–20, 2010.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Formation of nanoporous aerogels from wheat starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 125–132, 2016a.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Phytosterol nanoparticles with reduced crystallinity generated using nanoporous starch aerogels. **Royal Society of Chemistry Advances**, v. 6, n. 110, p. 108319–108327, 2016b.

UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Generating phytosterol nanoparticles in nanoporous bioaerogels via supercritical carbon dioxide impregnation: Effect of impregnation conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 99–107, 1 ago. 2017.

ULKER, Z.; ERKEY, C. An emerging platform for drug delivery: Aerogel based systems. **Journal of Controlled Release**, v. 177, n. 1, p. 51–63, 2014.

VERONOVSKI, A.; KNEZ, Ž.; NOVAK, Z. Comparison of ionic and non-ionic drug release from multi-membrane spherical aerogels. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, n. 1, p. 58–66, 2013.

VERONOVSKI, A.; TKALEC, G.; KNEZ, Z.; NOVAK, Z. Characterisation of biodegradable pectin aerogels and their potential use as drug carriers. **Carbohydrate Polymers**, v. 113, p. 272–278, 2014.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.

YEO, S. D.; KIRAN, E. Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 34, n. 3, p. 287–308, 2005.

ZAIDUL, I. S. M.; NODA, T.; SHARIF, K. M.; KARIM, A. A.; SMITH, R. L. Reduction of gelatinization temperatures of starch blend suspensions with supercritical CO₂ treatment. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 499–505, 2014.

ZOBEL, H. F. Starch Crystal Transformations and Their Industrial Importance. **Starch - Stärke**, v. 40, n. 1, p. 1–7, 1988.