

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Tese

**Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial
de alecrim**

Bárbara Biduski

Engenheira de Alimentos

Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Pelotas, 2018

Bárbara Biduski

Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial de alecrim

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação: Prof.^a Dr.^a Elessandra da Rosa Zavareze - UFPel
Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias - UFPel
Prof. Dr. Loong-Tak Lim – University of Guelph (Canadá)

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B584d Biduski, Bárbara

Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial de alecrim/Bárbara Biduski; Elessandra Rosa Zavareze, orientadora; Alvaro Renato Guerra Dias, Loong-Tak Lim, co-orientadores. — Pelotas, 2018.

116 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Hidrogel. 2. Amido. 3. Óleo essencial. 4. Emulsão. 5. Electro spraying. I. Zavareze, Elessandra Rosa, orient. II. Dias, Alvaro Renato Guerra, coorient. III. Lim, Loong-Tak, coorient. IV. Título.

CDD : 664

Bárbara Biduski

Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial de alecrim

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas

Data da Defesa: 04.06.2018

Banca examinadora:

.....
Prof^a. Dr^a. Elessandra da Rosa Zavareze (Orientador)

Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

.....
Prof. Dr. André Ricardo Fajardo

Doutor em Química pela Universidade Estadual de Maringá.

.....
Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias

Doutor em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

.....
Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Fiorentini

Doutora em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas

.....
Dra. Helen Cristina dos Santos Hackbart

Doutora em Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

Agradecimentos

À Deus, por se fazer presente em minha vida, guiando meu caminho e minhas escolhas.

Aos meus pais (Renato e Jones), aos meus avós (José e Ivone), aos meus irmãos (Guilherme e Sylvio), tios e primos, por estarem ao meu lado, me incentivando e apoiando minhas escolhas, mesmo que resulte na distância física. Por todo amor e cuidado, minha razão de seguir em frente. Não tenho palavras para descrever a importância de vocês na minha vida. Obrigada por tudo, amo vocês.

Ao meu marido Augusto, por compreender minhas escolhas, pela paciência, carinho, principalmente pelo companheirismo nesses últimos anos e me acompanhar no doutorado sanduíche, tornando tudo mais fácil. Obrigada pelo apoio, te amo.

A minha orientadora Elessandra Zavareze, pela orientação, incentivo, confiança e compreensão nos momentos difíceis. Por estar sempre disposta a ajudar e ensinar, mesmo na distância. Por ser uma pessoa alegre, feliz, transmitindo apenas coisas boas para as pessoas que estão ao seu redor. Ao meu co-orientador Alvaro Dias, pela oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa, pelas histórias, ensinamentos e a oportunidade de realizar o doutorado sanduíche.

A minha amiga Vania, por ter me auxiliado desde o mestrado, muito obrigada pelas palavras de carinho, cuidado, incentivo e por contribuir para o meu crescimento profissional e pessoal. Sua alegria e entusiasmo inspira todos ao teu redor. Obrigada por não ter me deixado desistir e por estar sempre junto, apesar da distância!

A minhas amigas Rosana e Shanise, que sempre me acompanharam nessa jornada, me apoiando mesmo na distância. Sou imensamente grata pela amizade, carinho, pela disposição em transmitir seus conhecimentos, pelos momentos de diversão, pelas palavras de carinho nos momentos difíceis.

Ao amigo Nathan pela amizade e incentivo.

A minha amiga Dianini, pela nossa amizade que surgiu durante o doutorado sanduíche, obrigada pela parceria tanto nas tarefas diárias quanto nas viagens e passeios “congelantes”, por me acalmar nos momentos de ansiedade e aguentar o Augusto diariamente no Canadá.

Ao amigo Wyller, pela amizade e parceria formada desde o início do mestrado, pela convivência diária, brigas, discussões (científicas ou não), ensinamentos linguísticos e momentos de diversão. Sempre perto, apoiando e compartilhando

momentos de felicidade, ansiedade, desespero e ajuda no desenvolvimento do projeto.

Ao Prof Loong-Tak Lim, da *University of Guelph*, por ter me recebido em seu laboratório, pelos conselhos e orientação neste projeto, e aos colegas do departamento de Ciência de Alimentos, que me auxiliaram nas atividades diárias e nos laboratórios da universidade.

Aos amigos do Canadá que levarei comigo para sempre, Isis, Gleydson, Juan, Flavia, Pedro, Miguel, Jonathan, Carla e Art, pessoas incríveis que nos ajudaram desde o primeiro dia no Canadá mesmo sem nos conhecer. Sem vocês essa experiência não teria sido tão maravilhosa e cheia de histórias. Obrigada por cada conselho, dica, viagem e momentos incríveis compartilhados.

Aos colegas da Universidade de Passo Fundo, ao Prof. Luiz Carlos Gutkoski, por incentivar a vida acadêmica, à Tania Soster Santetti pelo carinho, palavras de incentivo e auxílio nas análises.

Aos colegas e bolsista de iniciação científica do Laboratório de Grãos e aos colegas do Laboratório de Microbiologia, em especial a Kamila pela disposição em auxiliar nas análises realizadas e na continuação deste projeto.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelos ensinamentos durante a pós-graduação.

Aos funcionários do CEME-Sul, da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), por estarem sempre dispostos a ajudar, realizando nas análises de microscopia. A *Ingredions Incorporated (Ingredion Corporation, Canada)* pelo fornecimento da amostra de amido modificado (CAPSUL®).

À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado no país e sanduíche, à FAPERGS pelo financiamento do projeto, ao CNPq, à Secretaria da Ciência e Tecnologia do Estado do Rio Grande do Sul e ao Pólo de Inovação Tecnológica em Alimentos da Região Sul.

Resumo

Biduski, Bárbara. **Desenvolvimento de hidrogéis bioativos de amido de arroz com óleo essencial de alecrim**. 2018. 116f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

A busca pela minimização do impacto ambiental pelos materiais sintéticos e alternativas naturais para conservação de alimentos, direciona as pesquisas para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis e bioativas. O objetivo desse trabalho foi desenvolver hidrogéis bioativos a base de amido de arroz incorporados com óleo essencial de alecrim. Amidos de arroz com diferentes teores de amilose, nativos e modificados por intercruzamento, e poli(álcool vinílico) foram utilizados para elaboração de hidrogéis via gelatinização alcalina e por aquecimento. O óleo essencial de alecrim (OEA) foi avaliado pela composição química e contra a ação das bactérias: *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. O OEA foi encapsulado por *electrospraying* de uma emulsão de amido modificado pelo reagente anidrido octenil succínico (amido-OSA) com diferentes concentrações de etanol (20-40%, v/v) e OEA (20-50%, p/p). Para a elaboração dos hidrogéis bioativos uma emulsão de amido-OSA e OEA foi adicionada antes e após a gelatinização do amido. A absorção de água, perfil de análise em textura, morfologia e integridade estrutural dos hidrogéis foram avaliadas. A gelatinização alcalina permitiu obtenção de hidrogéis mais rígidos, insolúveis em água e com menor absorção de água em relação aos hidrogéis elaborados pelo método de gelatinização por aquecimento. Estas características também foram influenciadas pelo teor de amilose do amido de arroz. As emulsões foram estáveis e apresentaram baixa tendência a agregação quando utilizado 20% de etanol. O *electrospraying* das emulsões permitiu a obtenção de cápsulas esféricas e com alta eficiência de encapsulação (82% a 98%). Com base nas propriedades dos hidrogéis, como integridade estrutural e resistência mecânica o amido de arroz modificado de média amilose foi escolhido para elaboração dos hidrogéis bioativos via gelatinização alcalina. Os hidrogéis bioativos apresentaram diferentes características dependendo da etapa de adição da emulsão, com maior absorção de água e menor dureza quando a emulsão foi adicionada antes da gelatinização. O óleo essencial de alecrim apresentou atividade antibacteriana contra *S. Typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* O157:H7 NCTC 12900 e *P. aeruginosa* ATCC 15442. O. A ação dos hidrogéis com óleo essencial de alecrim contra proliferação dessas bactérias será foco de estudos futuros.

Palavras-chave: hidrogel; amido; óleo essencial; emulsão; *electrospraying*.

Abstract

Biduski, Bárbara. **Development of bioactive hidrogel based on rice starch filled by rosemary essential oil**. 2018. 116f. Thesis (PhD degree in Food Science and Technology) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

The aim of minimization of environmental impact by synthetic materials and natural alternatives for food preservation, leads the researches for the biodegradable and bioactive packaging development. The objective of this study was to develop bioactive hydrogels based on rice starch filled with rosemary essential oil. Native and cross-linked rice starches with different amylose contents, and poli(vinyl alcohol) were used to prepare hydrogels via alkaline- and heating-induced gelatinization. The rosemary essential oil (REO) had the chemical composition evaluated and antibacterial activities against *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. The REO was encapsulated by *electrospraying* the emulsion of OSA-starch with different ethanol (20-40%, v/v) and REO (20-50%, w/w) contents. For bioactive hydrogels the OSA-starch/REO emulsion was added before and after the starch gelatinization. The water absorption, texture profile analysis, morphology and structure of the hydrogels were evaluated. The alkaline-gelatinization produced a more rigid, insoluble in water and with less water absorption hydrogel than the heating-gelatinization hydrogels. These amylose content also influenced the hydrogels properties. The 20% ethanol content emulsions were more stable and showed low tendency to aggregate than the others ethanol content emulsions. The electrosprayed emulsions formed spherical capsules with high encapsulation efficiency (82% to 98%). Based on the hydrogels properties, such as mechanical strength, the medium amylose modified rice starch was chosen for the bioactive hydrogels preparation via alkaline-gelatinization. Bioactive hydrogels presented different characteristics depending on the time the emulsion was added. When the emulsion was added before the gelatinization a higher water absorption and lower hardness was obtained. Rosemary essential oil presented antibacterial activity against *S. Typhimurium*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. Rosemary essential oil presented antibacterial activity against *S. Typhimurium*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. The bioactive hydrogels filled with REO activities against these bacteria will be further studied.

Key words: hydrogel; starch; essential oil; emulsion; electrospraying.

Lista de Figuras

Figura 1. Ilustração do mero do poli(álcool vinílico).....	18
Figura 2. Reação de polimerização do acetato de vinila (a) e hidrólise básica do poli(acetato de vinila) (b) para obtenção do poli(álcool vinílico).	19
Figura 3. Interações físicas entre o amido e o PVA.....	21
Figura 4. Estrutura da amilose e respectiva conformação helicoidal (a) e estrutura da amilopectina e suas ramificações (b).	22
Figura 5. Esquema ilustrativo do inter cruzamento do amido modificado com trimetafosfato de sódio.	26
Figura 6. Estrutura da rede polimérica de hidrogéis reticulados via processo físico ou químico.....	27
Figura 7. Componentes majoritários do óleo essencial de alecrim.....	29
Figura 8. Esquema de liberação de compostos ativos por difusão, penetração de água ou degradação da matriz polimérica.	31
Figura 9. Modelo de uma estação de electrospun para produção de fibras/cápsulas	33
Figura 10. Representação do emaranhamento das cadeias do polímero em uma solução com baixa viscosidade e alta viscosidade.....	34
Figura 11. Representação da síntese do amido-OSA.	38
Figura 12. Fenômenos de instabilidade em emulsão.	40
Figura 13. Esquematização da cremeação e espalhamento da fase dispersa em emulsões instáveis.	41
Figura 14. Ilustração do gráfico de força vs tempo do perfil de análise em textura. .	50
Figura 15. Hidrogéis liofilizados elaborados com amidos nativos (a, c, e) e inter cruzados (b, d, f) com baixa (a, b), média (c, d) e alta (e, f) amilose, e intumescidos elaborados com amidos nativos (g, i, l) e inter cruzados (h, j, m) com baixa (g, h) média (i, j) e alta (l, m) amilose, gelatinizados via método alcalino.....	58
Figura 16. Hidrogéis liofilizados elaborados com amidos nativos (a, c, e) e inter cruzados (b, d, f) com baixa (a, b), média (c, d) e alta (e, f) amilose, e intumescidos elaborados com amidos nativos (g, i, l) e inter cruzados (h, j, m) com baixa (g, h) média (i, j) e alta (l, m) amilose, gelatinizados por aquecimento.....	58
Figura 17. Estrutura interna dos hidrogéis elaborados com amidos de alta amilose, nativo (a) e inter cruzado (b), gelatinizados via método alcalino.	60

Figura 18. Hidrogéis elaborados com amidos nativos (a, c, e, g, i, l) e intercruzados (b, d, f, h, j, m), com baixa (a, b, g, h), média (c, d, i, j) e alta (e, f, l, m) amilose, gelatinizados via método alcalino (a-f) e por aquecimento (g-m).	62
Figura 19. Distribuição do tamanho da partícula das emulsões de amido-OSA e óleo essencial de alecrim, em solução aquosa com 20% (a), 30% (b) e 40% (c) de etanol.	74
Figura 20. Potencial zeta das emulsões elaboradas com 20% (a), 30% (b) e 40% (c) de etanol e diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim, durante 7 dias.	77
Figura 21. Estabilidade das emulsões com diferentes concentrações de etanol (20, 30 e 40%) e óleo essencial de alecrim (0, 20, 30, 40 e 50%).....	79
Figura 22. Morfologia das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações (0, 20, 30, 40 e 50%) produzidas com diferentes teores de etanol (20 e 30%)	82
Figura 23. Espectros de FTIR das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim produzidas com diferentes teores óleo e solução aquosa com 20% (a) e 30% (b) de etanol.	84
Figura 24. Hidrogéis bioativos hidratados elaborados com amido de arroz modificado (a) com diluição da emulsão com solução tampão (b), em água (c), mistura via ultraturrax (c).....	93
Figura 25. Representação da porção inferior dos hidrogéis liofilizado elaborados com adição da emulsão diluída em água antes da gelatinização.	93
Figura 26. Morfologia interna dos hidrogéis bioativos: controle (a), emulsão diluída em solução tampão (b), e em água (c) e emulsão misturada com ultraturrax (d).	95

Lista de Tabelas

Tabela 1. Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.	51
Tabela 2. Propriedades térmicas dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.	52
Tabela 3. Propriedades de pasta dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.	54
Tabela 4. Capacidade de absorção de água dos hidrogéis elaborados com amidos de arroz com gelatinização alcalina ou por aquecimento.....	55
Tabela 5. Perfil de análise em textura dos hidrogéis elaborados com amidos de arroz com gelatinização alcalina ou por aquecimento.	64
Tabela 6. Compostos majoritários do óleo essencial de alecrim determinada por CG-MS.....	72
Tabela 7. Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim produzidas com diferentes teores de etanol.	80
Tabela 8. Absorção de água dos hidrogéis bioativos.....	92
Tabela 9. Perfil de análise de textura dos hidrogéis bioativos.	96
Tabela 10. Disco difusão, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do óleo essencial de alecrim.....	96

Sumário

Agradecimentos	iv
Resumo	vi
Abstract	vii
1 Introdução	14
2 Revisão Bibliográfica.....	16
2.1 Hidrogel.....	16
2.1.1 <i>Polímeros sintéticos</i>	18
2.1.2 <i>Polímeros naturais</i>	20
2.1.3 <i>Processos de reticulação para formação de hidrogel</i>	26
2.2 Óleo essencial de alecrim	28
2.3 Hidrogéis bioativos e suas aplicações	30
2.4 Nanoencapsulação	32
2.4.1 <i>Electrospun</i>	32
2.4.2 <i>Emulsão</i>	35
3 Capítulo 1 – Artigo publicado	13
Hidrogéis de amido: influência do teor de amilose e do método de gelatinização	13
3.1 Introdução	45
3.2 Material e métodos	46
3.2.1 <i>Material</i>	46
3.2.2 <i>Extração dos amidos</i>	47
3.2.3 <i>Modificação química dos amidos</i>	47
3.2.4 <i>Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos</i>	47
3.2.5 <i>Propriedades térmicas dos amidos</i>	48
3.2.6 <i>Propriedades de pasta dos amidos</i>	48
3.2.7 <i>Elaboração dos hidrogéis de amido</i>	48
3.2.8 <i>Absorção de água dos hidrogéis</i>	49
3.2.9 <i>Avaliação ótica dos hidrogéis</i>	49
3.2.10 <i>Avaliação morfológica de hidrogéis</i>	49
3.2.11 <i>Perfil de análise em textura (TPA)</i>	49
3.3 Resultados e discussão	51
3.3.1 <i>Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos</i>	51
3.3.2 <i>Propriedades térmicas dos amidos</i>	52
3.3.3 <i>Propriedades de pasta dos amidos</i>	53

3.3.4	<i>Capacidade de absorção de água dos hidrogéis</i>	54
3.3.5	<i>Avaliação ótica dos hidrogéis</i>	57
3.3.6	<i>Avaliação morfológica de hidrogéis</i>	60
3.3.7	<i>Perfil de análise em textura (TPA)</i>	63
3.4	Conclusão	65
4	Capítulo 2 – Artigo em processo de revisão.....	66
	<i>Electrospraying</i> de emulsão de amido anidrido octenil succínico para encapsulação de óleo essencial de alecrim	66
4.1	Introdução	68
4.2	Material e métodos	69
4.2.1	<i>Material</i>	69
4.2.2	<i>Composição do óleo essencial</i>	69
4.2.3	<i>Preparação das emulsões</i>	69
4.2.4	<i>Estabilidade das emulsões</i>	70
4.2.5	<i>Produção das cápsulas por electrospraying</i>	70
4.2.6	<i>Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento</i>	71
4.2.7	<i>Morfologia das cápsulas</i>	71
4.2.8	<i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	71
4.2.9	<i>Estatística</i>	72
4.3	Resultados e discussão	72
4.3.1	<i>Composição do óleo essencial de alecrim</i>	72
4.3.2	<i>Estabilidade das emulsões</i>	73
4.3.3	<i>Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento</i>	80
4.3.4	<i>Morfologia das cápsulas</i>	81
4.3.5	<i>Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	83
4.4	Conclusão	85
5	Capítulo 3 – Artigo a ser submetido	86
	Atividade antibacteriana de hidrogéis bioativos de amido de arroz inter cruzado e emulsão de amido-OSA com óleo essencial de alecrim	86
5.1	Introdução	87
5.2	Materiais e métodos.....	88
5.2.1	<i>Material</i>	88
5.2.2	<i>Extração e modificação do amido para elaboração do hidrogel</i>	88
5.2.3	<i>Preparação das emulsões</i>	88

5.2.4	<i>Elaboração dos hidrogéis bioativos</i>	89
5.2.5	<i>Absorção de água dos hidrogéis</i>	90
5.2.6	<i>Avaliação ótica dos hidrogéis</i>	90
5.2.7	<i>Avaliação morfológica de hidrogéis</i>	90
5.2.8	<i>Perfil de análise em textura (TPA)</i>	90
5.2.9	<i>Atividade antibacteriana do óleo essencial de alecrim</i>	90
5.3	Resultados e Discussão.....	92
5.3.1	<i>Absorção de água dos hidrogéis bioativos</i>	92
5.3.2	<i>Avaliação ótica dos hidrogéis bioativos</i>	92
5.3.3	<i>Avaliação morfológica dos hidrogéis ativos</i>	94
5.3.4	<i>Perfil de análise de textura (TPA) dos hidrogéis bioativos</i>	95
5.3.5	<i>Atividade antibacteriana do óleo essencial de alecrim</i>	96
5.4	Conclusão	98
5.5	Estudos futuros	98
6	Considerações finais	99
	APÊNDICE A.....	100
	APÊNDICE B.....	101
	APÊNDICE C	102
7	Referências	103

1 Introdução

As embalagens têm como função proteger os alimentos durante o transporte e armazenamento mesmo em condições inadequadas de temperatura, umidade e oxigênio, as quais fazem com que ocorra a liberação de água pelo produto, proliferação de micro-organismo e a ação de compostos oxidantes. Em sistemas de embalagens ativas, a função de proteção é reforçada por incorporação de compostos bioativos, tais como compostos antimicrobianos e antioxidantes (MIHINDUKULASURIYA; LIM, 2014). Estas funções são melhoradas através da encapsulação destes compostos, pois a encapsulação permite a ação prolongada e controlada do princípio ativo incorporado (AMORATI et al., 2013).

A utilização de hidrogéis em embalagens é uma alternativa promissora para estender a vida útil de produtos alimentícios que liberam de água durante o armazenamento. O hidrogel possui a capacidade de absorver e reter a água em sua estrutura tridimensional, evitando a contaminação microbiológica dos produtos. Os hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros naturais, sintéticos ou híbridos (sintéticos/naturais), e são capazes de aprisionar moléculas bioativas para liberação controlada do composto encapsulado (ZHU; MARCHANT, 2011).

A necessidade de desenvolver novos materiais para embalagens inteligentes e/ou ativas despertam o interesse por renovar conhecimentos de tecnologias já conhecidas, como a técnica de *electrospun*. Esta técnica permite a formação de nanofibras (*electrospinning*) ou nanocápsulas (*electrospraying*), as quais podem ser incorporadas de compostos ativos para aplicação em embalagens para alimentos. Estas técnicas têm como vantagem, a não utilização de elevadas temperaturas, sendo muito utilizadas para encapsulação de compostos sensíveis a altas temperaturas e compostos voláteis preservando as características do composto encapsulado, tais como óleos essenciais (JAWOREK, 2016).

A tendência em minimizar o impacto de produtos químicos no ambiente, bem como a procura por alternativas que substituam os recursos petroquímicos, gerou uma grande demanda por polímeros e conservantes naturais. Desta forma, o amido é uma alternativa e tem sido extensivamente estudado para elaboração de embalagens biodegradáveis (NOORBAKSH-SOLTANI et al., 2018; BIDUSKI et al., 2018; COLUSSI et al., 2017; HALAL et al., 2017; SADEGH-HASSANI et al., 2014). O amido é composto por macromoléculas de amilose e amilopectina, as quais são responsáveis pelas características de gelatinização e retrogradação do amido. Estas

são importantes propriedades para a elaboração de hidrogéis de amido. Além disso, o método utilizado para gelatinização acarreta em diferentes características de géis de amido. Desta forma, se faz necessários estudos que avaliem a influência do teor de amilose bem como do método de gelatinização sobre as propriedades dos hidrogéis de amido, a fim de obter-se um material com as propriedades desejadas, além de ampliar a gama de aplicação deste material. O amido pode ser misturado a outros polímeros solúveis em água, como o PVA, possibilitando a formação de hidrogéis superabsorventes e com elevada resistência mecânica (ZHU; MARCHANT, 2011).

Além disso, amido modificado pelo reagente anidrido octenil succínico (amido-OA) apresenta características anfifílica. Quando usado como emulsificante, o amido-OA apresenta alta eficiência de encapsulação e é eficaz na encapsulação de compostos voláteis, sendo uma alternativa promissora para encapsulação de óleos essenciais. Desta forma, os biopolímeros obtidos a partir de recursos renováveis ganharam atenção por razões econômicas e ambientais. A utilização de polímeros como a amido para a elaboração dos hidrogéis e como material de parede para a encapsulação de compostos ativos é promissor para o desenvolvimento de biomateriais, como os hidrogéis bioativos.

Neste contexto, os objetivos deste estudo foram avaliar a influência do teor de amilose e o método de gelatinização do amido nas propriedades de hidrogéis de amido; encapsular óleo essencial de alecrim por *electrospraying* a partir de emulsões de amido-OA, e; produzir hidrogéis bioativos de amido de arroz e emulsão de amido-OA e óleo essencial de alecrim com ação antibacteriana para aplicação em embalagens de alimentos.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Hidrogel

Os hidrogéis são formados por macromoléculas reticuladas física ou quimicamente, formando uma rede tridimensional capaz de reter água sem que ocorra a sua desintegração. Quando se encontram na forma seca, estes são chamados de xerogel, aerogel ou criogel, dependendo do método da remoção da água e sua característica final. Quando a remoção da água é realizada via evaporação, e o hidrogel apresenta uma taxa de encolhimento maior que 90% do volume inicial, são chamados de xerogel. Quando a remoção é realizada por secagem supercrítica e o material apresenta taxa de encolhimento menor que 5% estes são chamados de aerogel. Os criogéis, são obtidos quando a remoção da água do hidrogel é realizada por sublimação, permanecendo com volume similar ao inicial (FRANCIS; SAKTHI, 2013).

Os hidrogéis podem ser elaborados pela reação simples de um ou mais polímeros (AHMED, 2015), interligados através de ligações covalentes ou interações físicas (OVIEDO et al., 2008). Devido a sua alta hidrofiliabilidade, os hidrogéis têm sido amplamente estudados e aplicados em fraldas descartáveis, aditivos para solos na agricultura, além disso, são vastamente estudados na área biomédica com sistema de liberação controlada de medicamentos (PANPRUNG et al., 2011), antimicrobianos, engenharia de tecido e medicina regenerativa (ZHANG et al., 2011), biosensores (QIU; PARK, 2012), e adsorventes de metais pesados (ZHU; LI; 2015)

A capacidade de absorção de água dos hidrogéis é decorrente dos grupos funcionais hidrofílicos ligados a cadeia principal do polímero utilizado, enquanto a resistência à dissolução decorre de ligações inter cruzadas entre as cadeias da rede tridimensional (AHMED, 2015). Desta forma, as propriedades do polímero utilizado, bem como sua natureza (sintético ou natural) são fundamentais para estabelecer a capacidade do hidrogel para absorver e reter líquidos em sua estrutura. Além disso, o processo utilizado para a polimerização da rede do hidrogel é fundamental para a formação de estrutura estável após o intumescimento.

Com base nisso, vários fatores podem influenciar nas propriedades dos hidrogéis sintetizados, como o tipo, a concentração de agente de reticulação, o catalizador da polimerização, o monômero, as moléculas introduzidas (se houver),

bem como o método de polimerização, a temperatura de reação, a geometria do reator (agitador), e a velocidade de agitação (ISMAIL et al., 2012).

No processo de intumescimento, o hidrogel interage com o meio aquoso dependendo dos grupos funcionais disponíveis. Segundo Farris et al. (2009) e Hoffman (2002), à medida que os grupos hidrofílicos vão se hidratando, ocorre o aumento físico da estrutura polimérica. Assim, a força osmótica que conduz o solvente para o interior do hidrogel é contrabalanceada por uma força elástica retrativa, gerada pela mudança conformacional das cadeias poliméricas (FLORY; REHNER, 1943).

Durante este processo, as reticulações mantêm a estrutura do hidrogel e conferem ao material a capacidade elástica. O equilíbrio entre as forças de absorção, retenção de água, e estrutura do hidrogel permitem que este atinja o equilíbrio relativamente à quantidade máxima de água por ele absorvida (HENNINK; NOSTRUM, 2002).

A alta capacidade de hidratação dos hidrogéis, dependendo da aplicação, pode ser uma desvantagem, pois os grupos que estão interagindo com as moléculas polares do polímero que forma o hidrogel, também se hidratam absorvendo água adicional devido à força osmótica. Esta água adicional irá ocupar espaço na rede tridimensional dos hidrogéis e, à medida que a rede aumenta seu volume, a estrutura do hidrogel começará a desintegrar, a uma taxa que depende da sua composição (FARRIS et al., 2009).

Para controlar o intumescimento do hidrogel, a alteração da estrutura do polímero utilizado pode ser realizada, adicionando grupos funcionais ou formando ligações covalentes. Assim, a modificação da estrutura original do polímero, bem como a adição de diferentes tipos de polímeros podem ser utilizadas na síntese de hidrogéis para minimizar estas falhas. Além disso, um equilíbrio entre esses parâmetros deve ser estudado para o desenvolvimento de um hidrogel superabsorvente, biodegradável e com estrutura estável após seu intumescimento.

Em geral, os hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros sintéticos, naturais, ou a mistura de ambos. A definição do polímero a ser utilizada na síntese dos hidrogéis é dependente das características desejadas para o material, que por sua vez é dependente de sua aplicação.

2.1.1 Polímeros sintéticos

Os polímeros sintéticos são quimicamente mais fortes e estáveis em comparação aos polímeros naturais. Assim, hidrogéis elaborados com polímeros sintéticos apresentam estruturas bem definidas, e são estáveis em oscilações ou alterações bruscas de temperatura, além de apresentar alta resistência mecânica (ZHU; MARCHANT, 2011). A alta resistência mecânica resulta em taxa de degradação lenta, e conseqüentemente, proporciona uma alta durabilidade (TABATA, 2009). Quando um hidrogel com elevado grau de inchamento é desejado, é comum a utilização de polímeros sintéticos que são, quando em forma não-reticulada, solúveis em água.

O poli(álcool vinílico) (PVA) é um polímero sintético, hidrófilo, semicristalino e biodegradável, constituído pela repetição do mero $[\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OH})]$ (Figura 1). O PVA tem sido estudado na elaboração de hidrogéis para diversas aplicações, mas principalmente para área de biomateriais (SCHMEDLEN; MASTERS; WEST, 2002). Apresenta vantagens, como a não toxicidade, a resistência química, as propriedades bioadesivas, a biodegradabilidade e a biocompatibilidade (LIU et al., 2013). Além de propriedades físicas requeridas para este tipo de material, tais como boa resistência mecânica e uma boa capacidade de absorção de água (KAITY; GHOSH, 2015).

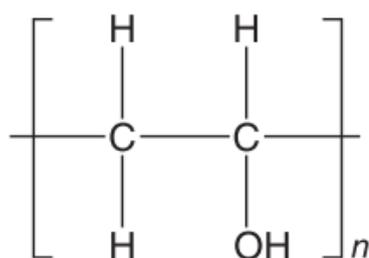


Figura 1. Ilustração do mero do poli(álcool vinílico).

Fonte: Francis; Kumar (2013)

A síntese do PVA ocorre a partir da reação de polimerização do vinil acetato, este por sua vez pode ser produzido a partir da condensação do acetileno com o ácido acético (NUYKEN; CRIVELLO, 1992). Em 1953, a "*Celanese Corporation of America*" introduziu um caminho para a produção do acetato de vinil a partir de gases leves de petróleo, através da reação de acetaldeído com anidrido acético e posterior

decomposição do diacetato de etileno, resultando em acetato de vinil e ácido acético (LINDEMANN, 1971).

Na primeira etapa de polimerização do vinil acetato para o poli(vinil acetato) (PVAc), a polimerização ocorre por adição (radicais livres) dos monômeros de acetato de vinila, seguida da hidrólise do PVAc para PVA (Figura 2). A reação de conversão do PVAc em PVA é uma importante reação de hidrólise polimérica, podendo ser completa ou parcial.

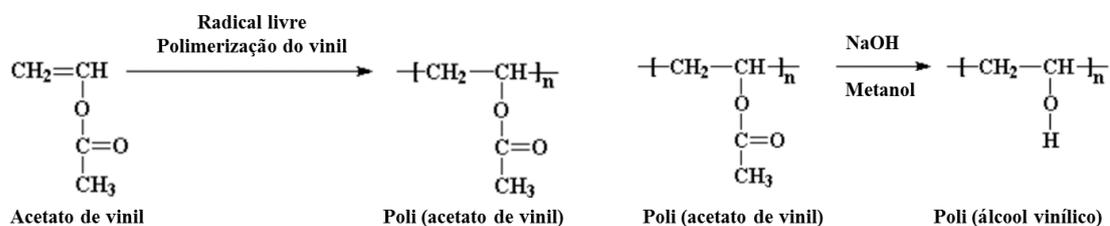


Figura 2. Reação de polimerização do acetato de vinila (a) e hidrólise básica do poli(acetato de vinila) (b) para obtenção do poli(álcool vinílico).

A solubilidade e a cristalinidade do PVA em água estão relacionadas com o seu grau de hidrólise, peso molecular e modificação (HASSAN et al., 2002). O elevado número de hidroxilas, geradas pela hidrólise do polímero, leva à formação de ligações de hidrogênio entre grupos hidroxilas intra e intermoleculares, ocasionando essa variabilidade. Estas hidroxilas podem também formar ligações de hidrogênios com outras moléculas que estão disponíveis no meio em que o polímero está disperso. O PVA é um polímero semicristalino, quando reticulado forma cristalitos, que ancoram as cadeias da parte amorfa e se tornam os pontos de reticulação, deixando o material insolúvel em água (HASSAN, 2000).

A elaboração de hidrogéis a partir de PVA pode ser realizada através de reticulação física (criogelificação), o qual consiste em ciclos de congelamento e descongelamento (*freezing/thawing*). Neste processo, a formação do hidrogel ocorrerá devido a interações físicas, derivadas das hidroxilas da cadeia do polímero (HASSAN, 2000). Porém, a reticulação física pode acarretar na dissolução das cadeias de PVA e cristalização secundária. Esses problemas podem alterar de forma significativa o comportamento do hidrogel, podendo afetar a utilização do material para aplicações de longo prazo (PEPPAS, 2000).

A reticulação química também pode ser utilizada para a elaboração de hidrogel. Os hidrogéis elaborados por este método possuem ligações intercruzadas covalentes, as quais podem ser geradas pela reação direta com agentes de reticulação, por conversão de polímeros hidrofóbicos para polímeros hidrofílicos, seguido da reticulação para formar uma rede (HOFFMAN, 2002).

Além disso, devido a sua hidrofiliidade, o PVA pode ser misturado a outros polímeros solúveis em água (ZHU; MARCHANT, 2011), possibilitando a formação de hidrogéis superabsorventes (quando a absorção de água é maior que 100% o peso inicial) e com elevada resistência mecânica (característica dos polímeros sintéticos).

2.1.2 *Polímeros naturais*

Os hidrogéis elaborados com polímeros naturais podem possuir biocompatibilidade, biodegradabilidade e podem ser biologicamente reconhecíveis, suportando atividades celulares. No entanto, eles podem não fornecer propriedades mecânicas elevadas, que dependendo de sua aplicação é indesejável (ZHU; MARCHANT, 2011).

A elaboração de hidrogéis a partir de polímeros naturais são promissores para o desenvolvimento de materiais a serem utilizados em diversas aplicações, principalmente na área de alimentos e biomédica, por serem atóxicos e biodegradáveis (AHMED, 2015). Além disso, a alta aplicação de hidrogéis como biomateriais faz com que haja a necessidade de estudar polímeros naturais para a substituição de polímeros oriundos de materiais sintéticos, devido a sua maior compatibilidade e menor toxicidade. Existem estudos referentes à elaboração de hidrogéis de celulose (OLIVEIRA et al., 2017), gelatina (TAIRA et al., 2018), e recentes estudos vêm relatando o uso de amido para elaboração de hidrogéis (BIDUSKI et al., 2018; PARK et al., 2018).

Devido à alta biodegradabilidade e baixo custo, amido de diferentes fontes vêm sendo estudado para a aplicação como polímero na elaboração de hidrogéis (LIMA-TENÓRIO et al., 2015; ZHU et al., 2015; XIÃO 2012; UBEYITOGULLARI; CIFTCI, 2016; AHMED 2015). Segundo Zhu e Marchant (2011), os hidrogéis elaborados a partir de polímeros naturais apresentam propriedades mecânicas inferior aos elaborados com polímeros sintéticos. No entanto, estas propriedades podem ser ajustadas através de variações na estrutura química, densidade da reticulação ou incorporação grupos funcionais na matriz polimérica ou pela adição de outro polímero.

A mistura de amido com polímeros sintéticos polares, como o PVA, melhora as propriedades físico-mecânicas dos produtos. A formação de ligações de hidrogênio dos grupos funcionais hidroxila (-OH) entre o amido e o PVA (Figura 3) tende a promover estabilidade localizada e, subsequentemente melhora a miscibilidade entre os dois componentes (DEAN et al., 2008).

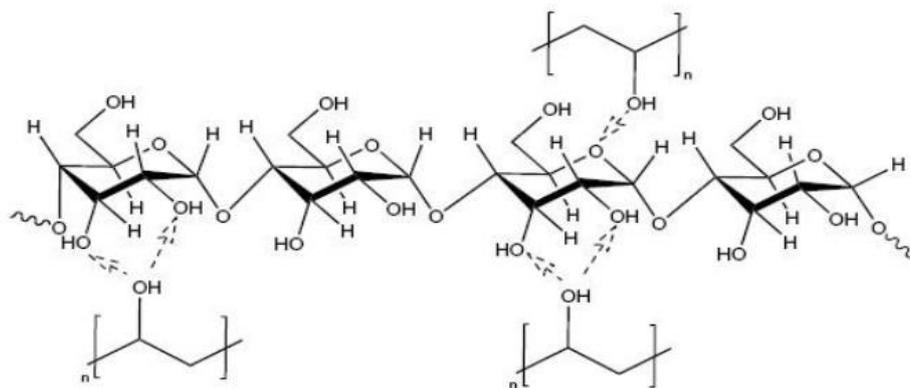


Figura 3. Interações físicas entre o amido e o PVA.

Fonte: Dean et al. (2008)

2.1.2.1 Amido

O amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose (Figura 4a) e amilopectina (Figura 4b). A funcionalidade do amido é atribuída a amilose e a amilopectina, assim como a organização física destas dentro da estrutura granular (BELLO-PEREZ; MONTEALVO; ACEVEDO, 2006). A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear. A amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, formando uma estrutura ramificada. A proporção destes dois polímeros e suas respectivas estruturas moleculares varia em função da origem botânica, das variedades de uma mesma espécie, do estado fisiológico da planta e do grau de maturação da semente (KITAHARA; COPELAND 2004; ELIASSON, 2004; TESTER et al., 2004).

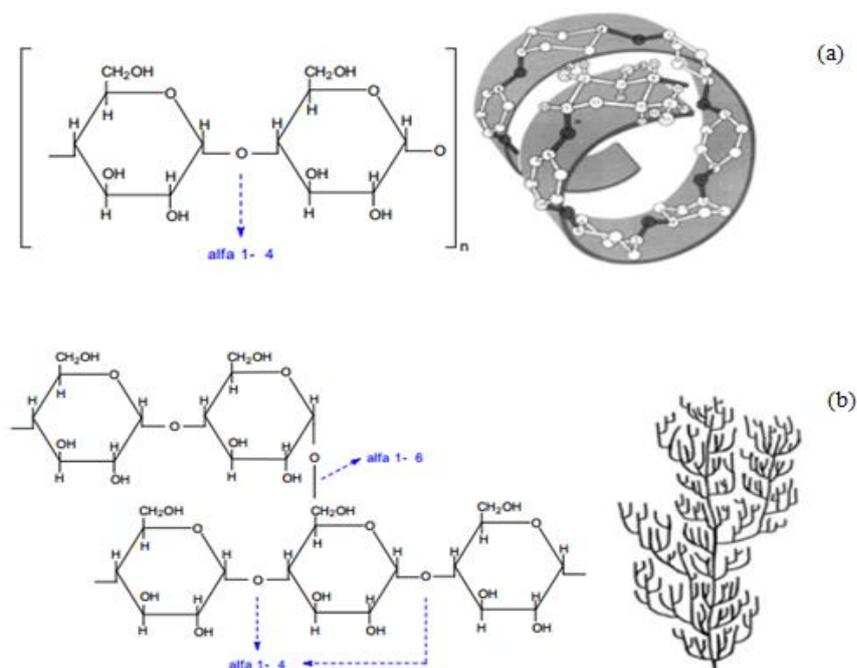


Figura 4. Estrutura da amilose e respectiva conformação helicoidal (a) e estrutura da amilopectina e suas ramificações (b).

Fonte: Horn (2012).

A amilose e a amilopectina estão arranjadas no grânulo formando uma estrutura de camadas que se superpõem ao redor de um ponto denominado hilo, podendo este, apresentar-se no centro do grânulo ou deslocado lateralmente. Estas macromoléculas formam ligações de hidrogênio por estarem associadas paralelamente, resultando em uma estrutura semicristalina. Segundo Billiaderis (1991), as áreas cristalinas do amido mantêm a estrutura do grânulo, controlam o seu comportamento na presença de água e os torna mais ou menos resistente aos ataques químicos e enzimáticos. O grau de organização molecular (cristalinidade) dos grânulos de amido pode ser observado em microscópio ótico sob luz polarizada através da presença de birrefringência.

As moléculas de amilose maiores estão concentradas no centro do grânulo e, provavelmente, participam das duplas hélices com a amilopectina, enquanto as moléculas menores, presentes na periferia, podem ser lixiviadas para fora do grânulo durante o intumescimento. Apesar de seu limitado papel na formação dos domínios cristalinos, a amilose pode influenciar na organização das duplas hélices, interferindo no empacotamento das cadeias de amilopectina (OATES, 1997; TESTER et al., 2004). A estrutura espiral possui a capacidade de interagir com compostos apolares como lipídeos e iodo, produzindo complexo de inclusão helicoidal com

aproximadamente seis moléculas de glicose por giro, no qual o iodo/ou lipídeo se encontra na cavidade central da hélice. Outros complexos de inclusão helicoidal que podem ser formados com a amilose incluem alguns álcoois e ácidos orgânicos (ELIASSON, 1996; ELIASSON, 2004).

O amido é o principal responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados, uma vez que contribui para diversas propriedades de textura em alimentos, possuindo aplicações industriais como espessante, estabilizador de coloides, agente gelificante e de volume, adesivo, na retenção de água, dentre outros (SINGH et al., 2003).

A formação de gel e pasta é um dos principais fatores que controla a textura e a qualidade dos alimentos que contém amido. Durante o aquecimento e com excesso de água, os grânulos de amido inicialmente incham-se até romper-se, com destruição da ordem molecular e mudanças irreversíveis nas suas propriedades, pois ocorre a perda da organização estrutural com a fusão dos cristais (HOSENEY, 1991). O conjunto de mudanças que envolvem a ruptura da estrutura granular, o inchamento, a hidratação e a solubilização das moléculas de amido é definido como gelatinização (THARANATHAN, 2002).

A gelatinização varia com a fonte de amido, fornecendo evidências da interação entre as cadeias de amido dentro dos domínios amorfos e cristalinos. A extensão destas interações é influenciada pela proporção amilose:amilopectina e pelas características dessas moléculas (distribuição e peso molecular, grau e comprimento de ramificações e conformação) (SINGH et al., 2003).

Quando resfriado e armazenado, o amido gelatinizado pode sofrer o fenômeno denominado de retrogradação. Com o passar do tempo, as moléculas do amido perdem energia e as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes, assim, as cadeias começam a reassociar-se num estado mais ordenado. Essa reassociação ocasiona a formação de simples e duplas hélices, resultando no enredamento ou na formação de zonas de junção entre as moléculas formando áreas cristalinas (DENARDIN; SILVA, 2008).

As características de retrogradação da amilose e amilopectina são cineticamente diferentes. A amilose retrograda mais rapidamente, tendo forte tendência a reassociar-se por meio da formação de ligações de hidrogênio com outras moléculas de amilose adjacentes, formando estruturas cristalinas de duplas hélices quando a solução esfria e se mantém por longo período de tempo (DENARDIN; SILVA, 2008).

A retrogradação é um fenômeno complexo e varia com diversos fatores, como: temperatura e tempo de armazenamento, pH, fonte de amido, presença de outros componentes (lipídios, eletrólitos e açúcares) e condições de processamento. Alguns processos, tais como a repetição de ciclos congelamento-descongelamento acelera drasticamente a retrogradação e a sinérese (liberação de água) (WANG et al., 2013).

Além da gelatinização realizada via método físico, utilizando aquecimento, os amidos podem ser gelatinizados a partir de métodos químicos, com a utilização de soluções alcalinas. Neste processo, a gelatinização ocorre através da absorção de parte do álcali da solução, pelas moléculas do amido. Além disso, a maioria dos grupos hidroxilas das unidades de glicose da estrutura do amido são ionizadas em pH elevado; desta forma a aglomeração das cadeias e a retrogradação de pasta podem ser evitadas, promovendo assim o aumento da afinidade do amido com a água sem a utilização de aquecimento (HAN; LIM, 2004).

2.1.2.2 Amido de arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos grãos mais produzidos e consumidos no mundo (KAMINSKI et al., 2013), sendo a maior parte consumida na forma de arroz cozido, e uma pequena quantidade é usada como ingredientes em alimentos processados e outras aplicações industriais. Durante o beneficiamento, secagem e armazenamento prolongado, os grãos de arroz podem ser afetados tanto quimicamente e fisicamente, quanto por mudanças biológicas (PARK et al., 2012; SINGH et al., 2006). Com isso, os grãos de arroz apresentam defeitos, que afetam suas características sensoriais e nutricionais e por conseguinte não são aceitos pelos consumidores. Desta forma, uma maneira de agregar valor aos grãos de arroz com defeito é a extração de amido, devido este componente ser menos afetado durante esses processos de transformação (PARAGINSKI et al., 2014).

O amido é o maior componente nos grãos de arroz (em torno de 90%), e apresenta importantes propriedades para sua aplicação em processos industriais. Isto ocorre devido as características, tais como pequeno tamanho dos grânulos, ampla faixa de teor de amilose, o que possibilita múltiplas aplicações industriais, podendo ser aumentada por modificação em sua estrutura (ZHONG et al., 2009). Segundo Singh et al. (2006), o gel do amido de arroz fornece uma percepção de textura semelhante a gordura.

O amido de arroz pode apresentar teores de amilose que variam de 1% a 37% e é classificado em: amido ceroso (0-12%), baixo teor de amilose (12-20%), conteúdo intermediário de amilose (20-25%) e alto teor de amilose (>25%) (TECHAWIPHARAT et al., 2008).

O amido de arroz é usado em diversos setores da indústria, como alimentícia, cosmética, têxtil, de plásticos, de colas, de adesivos, de papel e farmacêutica. Entretanto, na sua forma nativa, nem sempre possui as propriedades físico-químicas adequadas a determinados tipos de processamento, mas, quando modificado, aumenta seu espectro de utilização (ZAVAREZE; DIAS, 2012).

2.1.2.3 Amido modificado

2.1.2.3.1 Ligações intercruzadas

As ligações intercruzadas têm sido usadas para modificar amido nativo, utilizando vários agentes de reticulação, tais como o trimetafosfato de sódio, tripolifosfato de sódio, epícloridrina e cloreto de fosforilo (RATNAYAKE; JACKSON, 2008). Estas modificações químicas produzem ligações inter e intramoleculares (TATTIYAKUL; RAO, 2000), reforçando as ligações de hidrogênio naturalmente presente nos amidos, reduzindo a sensibilidade do grânulo intumescido à ruptura (NABESHIMA; GROSSMAN, 2001). Chung et al. (2004) relataram que a reticulação de amido é influenciada por fatores como fonte de amido, concentração e composição do reagente de reticulação, grau de substituição e também as condições de reação como pH, tempo e temperatura. Desta forma, o tipo de agente reticulante afeta as propriedades funcionais do amido, devido as diferentes estruturas moleculares que são produzidas durante a reação.

Assim, os amidos contendo ligações intercruzadas (Figura 5) possuem maior resistência a altas temperaturas, a baixo pH e altas taxas de cisalhamento, além de apresentarem pastas claras de alta consistência, alta solubilidade e poder de inchamento (WALISZEWSKI et al., 2003).

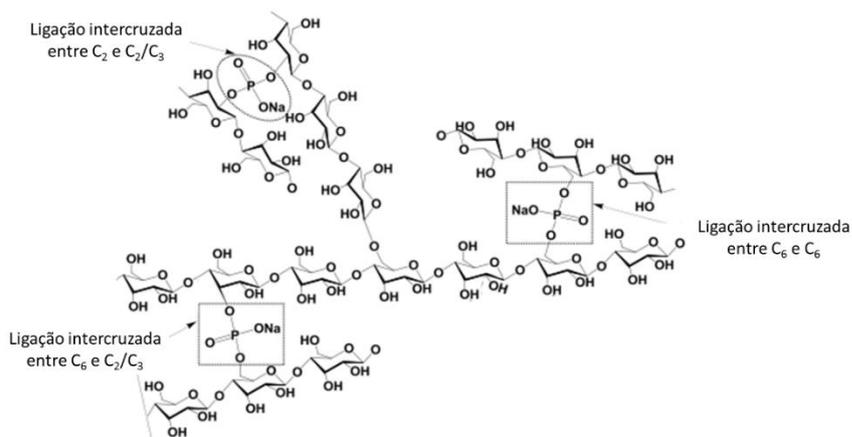


Figura 5. Esquema ilustrativo do intercruzamento do amido modificado com trimetafosfato de sódio.

Fonte: Adaptado de Liu, Wang e Lin (2014).

Em hidrogéis, quando utilizados amidos incorporados com grupos funcionais, o mesmo influencia no poder de inchamento, bem como no comportamento de libertação de agentes ativos dos hidrogéis (XIÃO, 2012). A inclusão de grupos funcionais nas moléculas de amido pode ser realizada antes da reticulação dos hidrogéis, a fim de tornar o amido mais adequado para o processamento. O intercruzamento de amido utilizando fosfatos produz uma rede superabsorvente e fortemente estável (PASSAUER et al., 2009).

2.1.3 Processos de reticulação para formação de hidrogel

A reticulação visa principalmente modificar as propriedades de estabilidade química e térmica, rigidez estrutural, permeabilidade, cor, eficiência em quelação e capacidade de imobilização proteica e celular (NETO et al., 2005). A reticulação constitui-se em um método de transformação de polímeros na produção de hidrogéis, que reduz a porosidade do material obtido e, assim, a permeabilidade à água e a difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas (ORÉFICE et al., 2006; CANEVAROLO, 2006). A reticulação une as cadeias poliméricas, ou ainda, liga suas cadeias às de outros polímeros gerando redes poliméricas híbridas, que ocorrem por meio da reação entre sítios reativos específicos presentes nas unidades estruturais do polímero e alguns reagentes reticulantes, que apresentam baixa massa molar e grupos funcionais reativos capazes de permitir a formação de ligações inter ou intracadeias poliméricas (GONSALVES et al., 2011).

Os hidrogéis podem ser obtidos por métodos físicos ou químicos. A reticulação física gera cadeias poliméricas emaranhadas, que são estabilizadas através de ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas e enovelamento das cadeias (ISMAIL et al., 2012). Embora essas ligações físicas sejam ligações permanentes, elas geralmente são suficientes para manter a estrutura dos hidrogéis, contribuindo para a insolubilidade. Por outro lado, a reticulação química gera ligações permanentes na estrutura principal do polímero através de ligações covalentes, fornecendo uma estrutura estável, pois estas ligações não são desfeitas pelo aquecimento ou pela adição de solventes (FRANCIS; SAKTHI, 2013).

A Figura 6 compara a formação de uma rede tridimensional a partir da reticulação física e química. Desta forma, pode-se observar que a formação da rede polimérica a partir do método químico, fornece uma estrutura mais organizada em relação ao método físico, o que pode formar hidrogéis mais resistentes ao esforço mecânico e ao intumescimento.

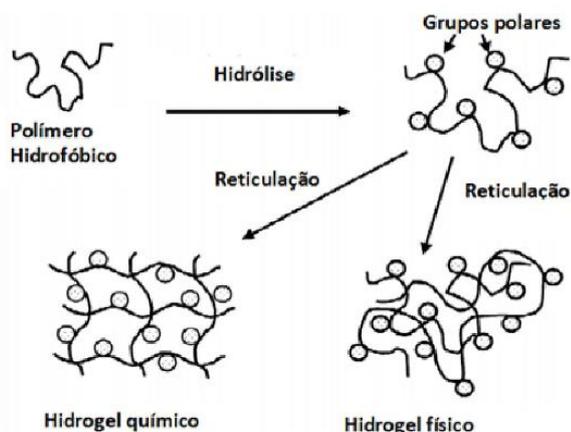


Figura 6. Estrutura da rede polimérica de hidrogéis reticulados via processo físico ou químico.

Fonte: Hoffman (2002).

Quando o hidrogel é elaborado por ciclos de congelamento e descongelamento, a organização das moléculas ocorre de maneira aleatória, isto faz com que haja a formação de zonas mais preenchidas com moléculas do polímero utilizado, as zonas com mais moléculas de água são responsáveis pela formação dos poros na estrutura do hidrogel. Com o congelamento das moléculas de água, as zonas onde estas estão

ao descongelar, formam poros de diferentes tamanhos. Isto explica o gel esponjoso formado por este processo (BAJPAI; SAINI, 2006).

2.2 Óleo essencial de alecrim

Os aspectos de segurança dos conservantes sintéticos, vem sendo questionados uma vez que, dependendo da concentração, podem ser considerados carcinogênicos e teratogênicos, bem como pela toxicidade residual. Assim, aumentou nos últimos anos, a busca por conservantes naturais como alternativa ao uso de conservantes químicos (SKANDAMIS et al., 2001). Os estudos de antimicrobianos naturais para a conservação de alimentos recebem maior atenção, devido à conscientização dos consumidores sobre produtos alimentícios naturais e uma crescente preocupação em relação resistência microbiana aos conservantes convencionais (SCHUENZEL; HARRISON, 2002).

Com base nisso, as plantas aromáticas e seus extratos são estudadas quanto à sua eficácia em aplicações para segurança e preservação de alimentos. A maioria de suas propriedades são provenientes dos óleos essenciais que são de grande interesse para a indústria, pois são provenientes de produtos naturais e apresentam propriedades biológicas, tais como, atividade antibacteriana, antioxidante e antifúngica. Estes são antimicrobianos de ocorrência natural encontrados em muitas plantas que se mostraram eficazes em diversas aplicações, diminuindo o crescimento e a sobrevivência de micro-organismos (CALLAWAY et al., 2011). Esses atributos potenciais e uma demanda crescente por opções naturais de aditivos alimentares, levaram a um interesse no uso de óleos essenciais como antimicrobianos alternativos (CALO et al., 2015).

As propriedades funcionais dos óleos essenciais dependem principalmente da sua composição química (VALGIMIGLI, 2012), composta por uma mistura aromática apresentando de 20-60 compostos, presentes em diferentes concentrações (BAKKALI et al., 2008). No entanto, os óleos essenciais apresentam compostos majoritários que são responsáveis por suas atividades antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (VALGIMIGLI, 2012).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é uma erva aromática já usada muito antes da refrigeração para a preservação de alimentos (TURASAN et al., 2015). O óleo essencial de alecrim compõe-se principalmente 1,8-cineol, α -pineno, cânfora, canfeno, limoneno, borneol, mirceno e cimeno (Figura 7) (FERNANDES et al., 2014,

CALO et al., 2015). As concentrações de seus compostos geralmente variam dependendo da localização e da época do ano em que são colhidas o alecrim e condições climáticas em que a planta foi cultivada (CELIK TAS et al., 2007).

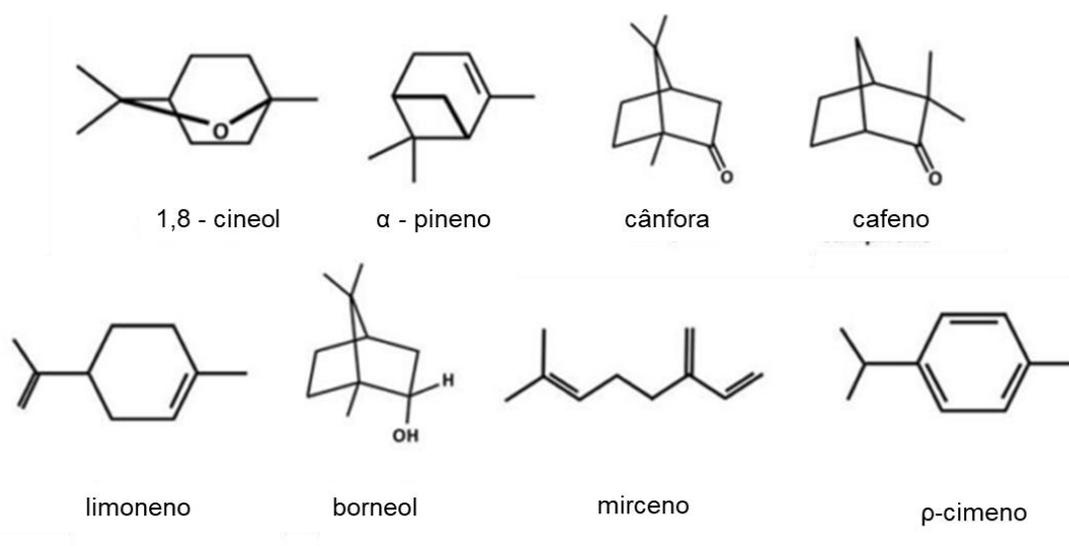


Figura 7. Componentes majoritários do óleo essencial de alecrim.

Fonte: Turasan (2014)

De maneira geral, os óleos essenciais apresentam uma vasta atividade antibacteriana, sendo mais eficiente em bactérias Gram positivas (G+) do que as Gram negativas (G-), devido a estrutura celular das Gram negativas conter lipoproteínas e lipopolissacarídeos (VALGIMIGLI, 2012). Além disso, apresenta atividade contra bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus* (G+), *Listeria innocua* (G+), *Escherichia coli* (G-) e *Salmonella spp* (G-) (ROMEIO et al., 2008).

A indústria tem investido na substituição dos conservantes sintéticos em produtos alimentícios, principalmente visando a segurança do consumidor e prolongar a vida útil dos alimentos, pelo uso de compostos bioativos (ZHANG et al., 2010). No entanto, a utilização destes compostos de maneira direta é limitada devido sua instabilidade durante o processamento e estocagem. Isto ocorre, pois, os óleos essenciais normalmente são voláteis e evaporam rapidamente da superfície. Assim, é desejável formulá-los de uma maneira que permita proteger o óleo da alta temperatura, oxidação e luz UV, minimizar a evaporação, permitir uma liberação controlada e aumentar o prazo de validade do óleo. Essas limitações podem ser

evitadas através da estabilização desses óleos essenciais pela encapsulação, sem que ocorra a perda de suas funcionalidades (VARONA et al., 2009).

A encapsulação é utilizada para assegurar que os compostos bioativos permaneçam intactos e ativos, prevenindo reações indesejadas e a sua degradação. Diferentes técnicas de encapsulação podem ser utilizadas para a encapsulação do óleo essencial de alecrim e outros compostos ativos, tais como emulsificação (KASIRI; FATHI, 2017; SHAMSARA et al., 2017), *spray-drying* (PREMI; SHARMA, 2017), e *electrospinning* (HEMAMALINI; DEV, 2017; WANG et al., 2013). Estas técnicas são frequentemente combinadas para otimizar a eficiência de encapsulação (HE et al., 2016; FIORAMONTI et al., 2017; MAREFATI et al., 2015; NIKMARAM et al., 2017, GARCÍA-MORENO et al., 2016).

2.3 Hidrogéis bioativos e suas aplicações

Os hidrogéis podem ser aplicados em diversas áreas como em produtos de higiene (PENG; SHEN, 2011), agricultura (HASHIM, AHMAD; FAHAD, 2008), sistemas de distribuição de drogas (PENG; SHEN, 2011; ZHANG et al., 2012), aditivos alimentares (EL-ARNAOUTY, 2010), produtos farmacêuticos (ÜZÜM et al., 2007), aplicações biomédicas (KATSOULOS et al., 2009) engenharia de tecidos e medicina regenerativa (YASUDA, 2006; LEE; BRAUM, 2003), curativo (WICHTERLE; LIM, 1960), purificação e remoção de metais de água (ZHENG; HUA; WANG, 2010), e biosensores (CHAN et al., 2009).

Além do vasto campo da biomedicina, os hidrogéis oferecem novas oportunidades para o desenvolvimento de materiais biodegradáveis, eficientes, com propriedades desejáveis para embalagens de alimentos.

A utilização de hidrogéis em embalagens para produtos alimentícios é promissor, especialmente devido à possibilidade de incorporar e imobilizar células e compostos bioativos (FARRIS et al., 2009). Além disso, dependendo das propriedades químicas dos grupos funcionais das moléculas dos polímeros, os hidrogéis podem ser capazes de responder à estímulos externos específicos ocasionados por alterações da estrutura do hidrogel (por exemplo, pH e temperatura) que atuam como gatilhos para a liberação controlada dos compostos nele inserido (QIU; PARK, 2001). Desta forma, ao desenvolver hidrogéis que são capazes de responder a estímulos do ambiente no qual estão inseridos (Hidrogéis responsivos).

Segundo Neto et al. (2005) e Gonsalves et al. (2011), o desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de compostos está diretamente ligado a utilização de sistemas matriciais permeáveis à água e capazes de reter ou adsorver, transportar e liberar as substâncias eficientemente.

A liberação controlada dos componentes ativos de dentro da estrutura do hidrogel pode ocorrer por difusão, pela penetração da água e por degradação da matriz polimérica (Figura 8). Na difusão, o composto está contido nos poros da matriz polimérica e a porosidade controlará a liberação do composto a medida que este absorve água ou solução, sendo a taxa de liberação dependente da solubilidade do composto (RATNER et al., 1996). Na liberação por penetração de água, o composto está disperso uniformemente na matriz polimérica hidrofílica reticulada, no estado sólido e quando esta entra em contato com um meio aquoso, ocorre sua expansão gradativa e assim a liberação do composto (GARCIA, 2002). Na degradação, pode ocorrer por ação agentes químicos ou biológicos que degradarão a rede tridimensional, liberando o composto (LANGER; PEPPAS, 2003).

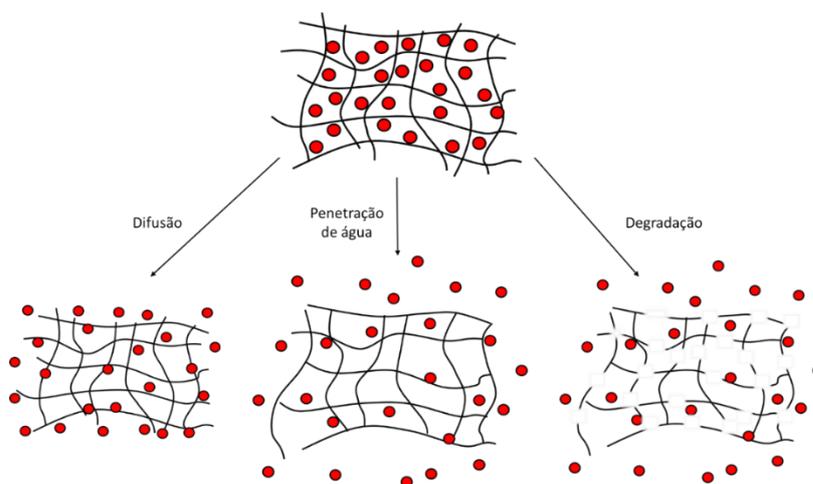


Figura 8. Esquema de liberação de compostos ativos por difusão, penetração de água ou degradação da matriz polimérica.

Fonte: Adaptado de Sylman e Neeves (2013)

A liberação controlada de compostos, como os fármacos, óleos essenciais, lipídeos e compostos bioativos, é a principal área de aplicação de hidrogéis. Elaborados com diferentes polímeros e reticulações, os hidrogéis são vastamente aplicados na área biomédica para cicatrização de feridas (STRACCIA et al., 2015) e regeneração de tecidos (ZHU; MARCHANT, 2011).

Na área de alimentos, os hidrogéis bioativos são utilizados em embalagens inteligentes ou ativas, com objetivo de prevenir a oxidação lipídica, controle microbiano, podendo ser liberados por estímulos externos, como alteração de pH, temperatura e absorção de solvente (MAHINROOSTA et al., 2018). Amido, celulose, alginato, carragena e quitosana, são alguns polissacarídeos utilizados na elaboração de hidrogéis para aplicação como biomaterial (PELLÁ et al., 2018). Dependendo da característica desejada, os hidrogéis podem ser elaborados pela mistura de polímeros, tais como quitosana/PVA (TANG et al., 2010), amido/PVA (SHAHROOIE et al., 2015; XIAO; YANG 2006) e PVA/polivinilpirrolidona (KANCA et al., 2018), são exemplos de hidrogéis utilizados para liberação controlada de fármacos e outros compostos.

A utilização de amido como polímero para elaboração de hidrogéis também é foco recente de estudos. O amido pode ser utilizado na forma nativa (TANGSRIANUGUL et al., 2015), modificada (LIMA-TENÓRIO et al., 2015) ou na forma de blendas poliméricas (SHAHROOIE et al., 2015). Estes hidrogéis são utilizados para aplicações como controle da digestibilidade lipídica (MUN et al., 2015) e controle microbiano (BURSALI et al., 2011).

2.4 Nanoencapsulação

2.4.1 *Electrospun*

O *electrospun* é um processo eletrohidrodinâmico, fácil, barato e flexível, que através de um jato de solução polimérica eletricamente carregado produz fibras (*electrospinning*) ou cápsulas (*electrospraying*) em nanoescala (BHUSHANI; ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014). Apesar de ser pouco estudada para aplicação alimentícia, o uso da técnica de *electrospun* é de grande interesse das indústrias de alimentos devido ao encapsulamento de enzimas e outros compostos ativos e principalmente promover a liberação controlada destes compostos, sem que haja necessidade da utilização de altas temperaturas (REZAEI; NASIRPOURE; FATHI, 2015; XU; HANNA, 2006).

As técnicas como liofilização e secagem por pulverização (*spray-drying*) são normalmente utilizadas para a secagem de nanossuspensões, sendo as condições de operação da secagem por esses processos importantes parâmetros na estabilização das nanocápsulas (ANANDHARAMAKRISHNAN, 2014). No entanto, a utilização da

secagem ocasiona um estresse adicional sobre as nanocápsulas durante o processamento, pela utilização de altas temperaturas ocasionando a degradação dos compostos. Desta forma, processos alternativos aos tradicionais e que não usem altas temperaturas para a secagem desses materiais vem sendo estudadas a fim de melhorar a biodisponibilidade de compostos ativos (WEN et al., 2017).

A técnica de *electrospun* visa preencher essa lacuna e têm sido amplamente aplicadas na área de alimentos, farmacêutica, e agroquímicos a fim de melhorar a estabilidade dos compostos bioativos. O sistema de *electrospun* é composto basicamente de três componentes (Figura 9): um fornecedor de alta tensão (bomba), uma seringa com um tubo capilar ou agulha de pequeno diâmetro, e uma tela de metal coletora do material (HUANG et al., 2003). Nesse sistema, uma alta tensão elétrica é aplicada a solução do polímero, gerando um jato carregado eletricamente o qual é coletado pelo alvo ligado ao outro eletrodo (ZAMANI; PRABHAKARAN; RAMAKRISHNA, 2013).

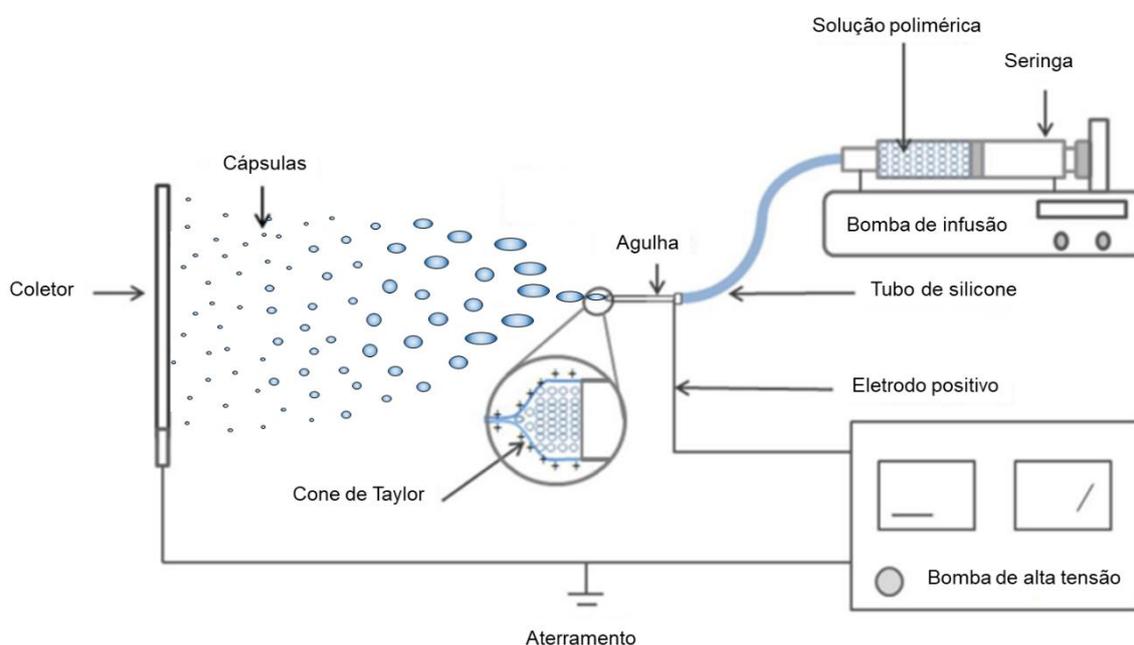


Figura 9. Modelo de uma estação de electrospun para produção de fibras/cápsulas
Fonte: Adaptado de Moomand (2014)

Quando um campo elétrico é aplicado na solução polimérica as cargas positivas se acumulam na superfície da gota, formada na ponta da agulha. Conforme ocorre o acúmulo das cargas, a gota vai se alongando em direção ao alvo metálico, formando o cone de Taylor (Figura 9). Quando a força de repulsão das cargas positivas supera

a tensão superficial da solução, um jato de solução é ejetado para fora do cone de Taylor. Na proximidade da agulha, o jato é estável, porém, à medida que o jato segue em direção ao alvo metálico, um movimento de chicoteamento da solução polimérica faz com que o solvente evapore e o material seco se encolha e se deposite no alvo que estará aterrado ou carregado negativamente. Dependendo das propriedades da solução polimérica, principalmente a viscosidade, o jato pode perder a continuidade, sendo quebrado em partículas, depositando-se no alvo em forma de partículas ou cápsulas, sendo esta técnica chamada de *electrospraying*. Quando a viscosidade da solução é elevada, ocorre um emaranhamento das cadeias do polímero, fazendo com que o jato do cone de Taylor seja estabilizado, ocorrendo o alongamento da gota que é liberada pela agulha, dando origem as fibras de *electrospinning*. Se a viscosidade da solução é baixa, não ocorre o emaranhamento do polímero e o jato é desestabilizado e gotas finas são formadas. Estas gotículas altamente carregadas são auto dispersante, impedindo assim, a aglomeração das gotículas e da coagulação (Figura 10) (BRANDENBERGER et al., 1999; JAWOREK; SOBCZYK, 2008).

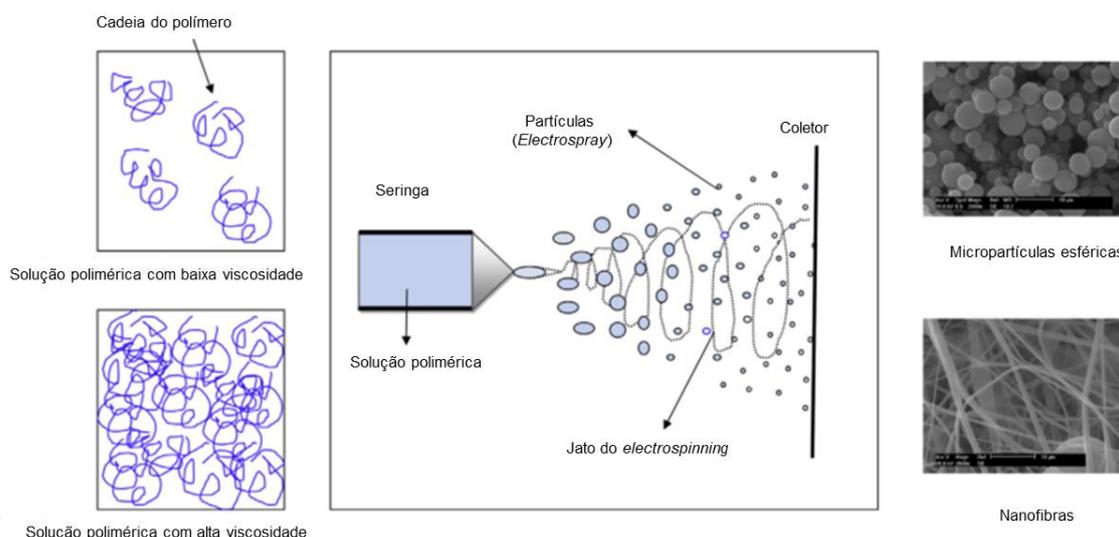


Figura 10. Representação do emaranhamento das cadeias do polímero em uma solução com baixa viscosidade e alta viscosidade

Fonte: Adaptado de Ghorani; Tucker (2015)

O *electrospun* é mais utilizada para a produção de nanofibras, devido à sua simplicidade, flexibilidade, potencial de aumento de escala e capacidade de utilizar uma variedade de polímeros. Esta técnica produz um material sólido a partir da

solução viscosa inicial, sem a utilização de temperaturas elevadas e processos químicos, tornando-se adequado para a encapsulação de compostos voláteis aromáticos, como os óleos essenciais (ZAMANI et al., 2013).

A maioria dos polímeros utilizados nesta técnica são solúveis em solventes orgânicos, no entanto, muitos compostos bioativos são solúveis em solventes diferentes do utilizado para diluir o polímero. A utilização de emulsão em *electrospun* é uma alternativa promissora, pois permite o encapsulamento de compostos hidrofóbicos em polímeros hidrofílicos de baixo custo, como os amidos modificados, evitando também o uso de solventes tóxicos, tornando-se adequados para uso alimentício (GARCÍA-MORENO et al., 2016). Em *electrospun* de emulsões, o composto é emulsionado na solução polimérica, assim, o composto encapsulado é distribuído igualmente ao longo das fibras ou cápsulas, podendo formar uma estrutura de núcleo-casca sem alteração na configuração do equipamento. A vantagem da utilização de emulsão em *electrospun*, é que a fase óleo é dissolvida na mesma solução que o polímero, sem a necessidade de mistura de solventes.

Electrospinning de emulsão tem sido utilizado quando deseja-se encapsular compostos altamente voláteis, sendo capaz de formar fibras homogêneas, com alta eficiência de encapsulação e liberação controlada. A utilização de emulsão em *electrospinning* tem sido frequentemente reportada (ARECCHI et al., 2010; CAMERLO et al., 2014; GORDON et al., 2015), no entanto a combinação de emulsão e *electrospraying* tem sido pouco estudada e quando reportada mostram uma eficiência de encapsulação superior a métodos convencionais como o *spray-drying* (GÓMEZ-MASCARENHAS et al., 2017; PÉREZ-MASIÁ et al., 2015). Além disso, os trabalhos reportam a utilização de proteínas como polímero com o auxílio de surfactantes. Hemamalini e Dev (2017) relataram a dificuldade na produção de fibras de amido modificado por *electrospinning* sem a mistura com outro polímero, não sendo possível obter fibras apenas de amido modificado. Além disso, o *electrospraying* de amido modificado ou de emulsão de amido não foram relatados na literatura.

2.4.2 Emulsão

Emulsão é um sistema de dispersão, contendo duas ou mais fases imiscíveis (fase aquosa, óleo ou gás), resultando na formação de gotas dispersas em um meio contínuo (TADINI et al., 2016). Para formar uma emulsão estável, a mistura dos

líquidos é feita de forma que um (a fase dispersa) é transformado em pequenas gotículas no interior do segundo (a fase contínua) (FELLOWS, 2006). As emulsões são geralmente classificadas em emulsões óleo em água (O/A) e emulsão água em óleo (A/O), sendo a emulsão O/A, a mais utilizada em produtos alimentícios. Estas são compostas por gotas de óleos dispersas em uma fase aquosa, como em leites, sopas, molhos entre outras. Em emulsões A/O são caracterizadas pela presença de gotas de água dispersas em uma fase oleosa como em margarinas e manteiga (MCCLEMENTS, 2004).

De maneira geral, uma emulsão é formada por água, óleo e um emulsificante, sendo as características desses componentes fundamentais para estabilidade da emulsão (MORRISON; ROSS, 2002). A formação de emulsões é um processo dinâmico que envolve a ruptura das gotas de óleo por meio da aplicação de forças mecânicas, o transporte do emulsificante para a região interfacial (óleo-água) e a coalescência das gotas (caso as gotas de óleo não estejam totalmente cobertas pelo emulsificante). Estes eventos ocorrem simultaneamente durante o processo de homogeneização (TADINI et al., 2016).

A energia necessária para a ruptura das gotas é fornecida por uma agitação intensa, podendo ser realizada por diferentes equipamentos, como os homogeneizadores de alta velocidade, os moinhos coloidais, homogeneizadores de alta pressão e homogeneizadores ultrassônicos. Os misturadores de alta velocidade são normalmente utilizados na indústria de alimentos para a formação de pré-emulsões em sistemas com baixa viscosidade. Os moinhos coloidais são amplamente utilizados na indústria de alimentos para sistemas de média e alta viscosidade. E assim como os homogeneizadores de alta pressão, o moinho coloidal é geralmente utilizados com as pré-emulsões, pois são eficientes para a redução do tamanho das gotas das pré-emulsões. Porém, esses processos podem ocasionar um aumento de temperatura da emulsão, principalmente quando estas são recirculadas no sistema, sendo necessário um sistema de resfriamento. Os homogeneizadores ultrassônicos utilizam ondas sonoras de alta frequência para a formação da emulsão, sendo geralmente utilizado em pequena escala e quando os líquidos possuem baixa viscosidade, porém são capazes de formar gotas menores que os demais sistemas de homogeneização (TADINI et al., 2016). As emulsões resultantes exibem polidispersibilidade, o que significa que os diâmetros das gotículas da fase dispersa estão em larga escala, de 0,1 a 100 μm , dependendo do processo utilizado.

Durante a homogeneização, os emulsificantes são capazes de diminuir a tensão interfacial, pois adsorvem-se na interface óleo-água e orientam sua estrutura para diminuir a energia livre do sistema, resultando em um sistema de emulsão estabilizado e facilitando a ruptura de gotículas (RODRIGUEZ-NINO et al., 2005). A eficiência do emulsificante em estabilizar a emulsão é dependente de sua estrutura química e características físico-químicas.

2.4.2.1 Amido modificado como emulsificante

Os emulsificantes são moléculas com superfície ativa que estabilizam gotículas dispersas pela formação de uma camada interfacial protetora, a qual minimiza a energia livre do sistema e previne a agregação das gotículas (MCCLEMENTS, 2004). Sua atividade emulsificante é devida à característica anfifílica, assim, cada molécula consiste em duas partes funcionais, uma porção hidrofílica solúvel em fase aquosa e uma porção hidrofóbica solúvel em fases oleosa ou gasosa (HUI, 2007). Desta forma, os emulsificantes diminuem a tensão interfacial pois, adsorvem-se na interface óleo-água e orientando sua estrutura para diminuir a energia livre do sistema, resultando em um sistema de emulsão estabilizado (RODRIGUEZ-NINO et al., 2005).

Diferentes emulsificantes podem ser utilizados nos sistemas emulsionados dependendo de sua aplicação, como as moléculas de baixo peso molecular, os surfactantes sintéticos e os polímeros naturais, como os polissacarídeos. A escolha do emulsificante utilizado para estabilizar a emulsão é crucial, pois além de estabilizar uma emulsão para aplicação em produtos alimentícios, o emulsificante deve ser biodegradável e não-tóxico (KRALOVA; SJÖBLOM, 2009). Por esta razão, em aplicações alimentícias, os polissacarídeos são amplamente utilizados como as gomas, celulosas modificadas, proteínas e amidos modificados. A atividade da superfície desses polímeros tem a estrutura molecular tanto caráter não polar, dos grupos sintéticos ramificados na estrutura hidrofílica principal (como os amidos modificados), ou a presença de uma proteína (DICKINSON, 2009).

As proteínas são normalmente utilizadas como emulsificantes, no entanto são limitadas para algumas aplicações alimentícias, principalmente devido as condições ácidas dos alimentos. Assim, os amidos modificados hidrofobicamente tem sido uma alternativa para substituição de polímeros proteicos pois podem ser mais estáveis a diferentes pH e altas temperaturas do que proteínas (LIANG et al., 2013).

O amido esterificado pelo reagente anidrido octenil succínico (amido-OSA) possui grupos hidrofóbicos, o que propicia as moléculas do amido um caráter anfifílico (LIN et al., 2017). O amido-OSA contém uma porção de ácido carboxílico carregada negativamente (Figura 11) e pode ser considerado como polieletrólito fracamente carregado, uma vez que o grau de substituição do amido-OSA para aplicação em alimentos é baixo (0,01 e 0,03), o que preserva sua biodegradabilidade (NILSSON; BERGENSTAHL, 2007). Apesar disso, o amido-OSA é um excelente emulsificante com propriedades para estabilizar emulsões (CHANAMAI; MCCLEMENTS, 2002; NILSSON; BERGENSTÅHL, 2007A; TAHERIAN; FUSTIER; RAMASWAMY, 2007), sendo o mais utilizado na indústria de alimentos em diversas aplicações e para a elaboração de emulsão. Estes amidos são aprovados para uso em alimentos pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA e pela União Europeia. Normalmente, elaborado a partir de amido com baixo teor de amilose, a modificação consiste na esterificação de um grupo não polar nos grupos hidroxilos das cadeias da amilopectina (SWEEDMAN et al., 2013).

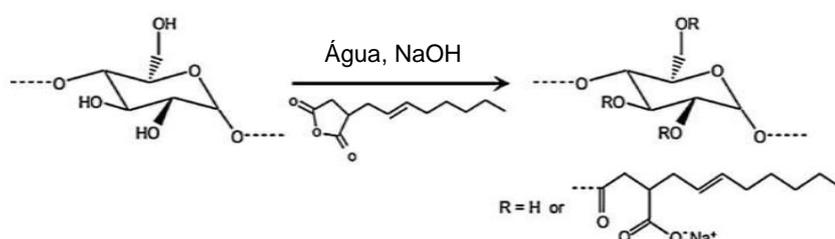


Figura 11. Representação da síntese do amido-OSA.

Fonte: Adaptado de Sweedman et al. (2013).

Os grupos OSA ancoram a molécula de amido na interface óleo-água, enquanto a porção hidrofílica das moléculas do amido (amilopectina) protegem as gotículas contra agregação através de repulsão estérica (CHANAMAI; MCCLEMENTS, 2002; MCCLEMENTS, 2004). A barreira protetora das gotículas da emulsão é mais eficaz quando as partículas do emulsificante são preferencialmente solúveis na fase contínua. Isso faz com que o amido-OSA apresente alta estabilidade, pois é solúvel em água fria e apresenta baixa viscosidade, mesmo em altas concentrações na solução polimérica (HEIZEN, 2000). Além disso, quanto maior a concentração de amido-OSA na emulsão, menor é o diâmetro das gotículas e maior a estabilidade da

emulsão (DOKIĆ et al., 2012). O amido-OSA também estabiliza as gotículas de emulsão por forças repulsivas eletrostáticas, que são atribuídas à presença de porções aniônicas (grupos carboxílicos) (SWEEDMAN et al., 2013).

2.4.2.2 Estabilidade de emulsão

A estabilidade de uma emulsão é determinada pela quantidade do agente emulsificante, o tamanho das gotículas da fase dispersa, as forças interfaciais atuando na superfície das gotículas, a viscosidade da fase contínua, e, pela diferença de densidade das fases dispersas e contínua (FELLOWS, 2006). A homogeneização da solução é o ponto chave do processo de emulsificação, pois reduz o tamanho das gotículas, e os agentes emulsificantes formam uma micela ao redor de cada gotícula. Isso reduz a tensão interfacial entre as fases e evita a coalescência das partículas. A estabilização de uma emulsão é realizada usando uma molécula anfifílica, como os agentes emulsificantes que são capazes de adsorver na superfície das gotículas e orientá-las para diminuir a tensão entre as duas fases imiscíveis (RODRIGUEZ-NINO et al., 2005). Agentes emulsificantes diminuem a energia necessária para formar uma emulsão. Os principais fenômenos de instabilidade de emulsão é a separação gravitacional (cremeação e sedimentação), a agregação das partículas (floculação e coalescência) e o fenômeno chamado *Ostwald ripening* (Figura 12) (LAWRENCE; REES, 2000).

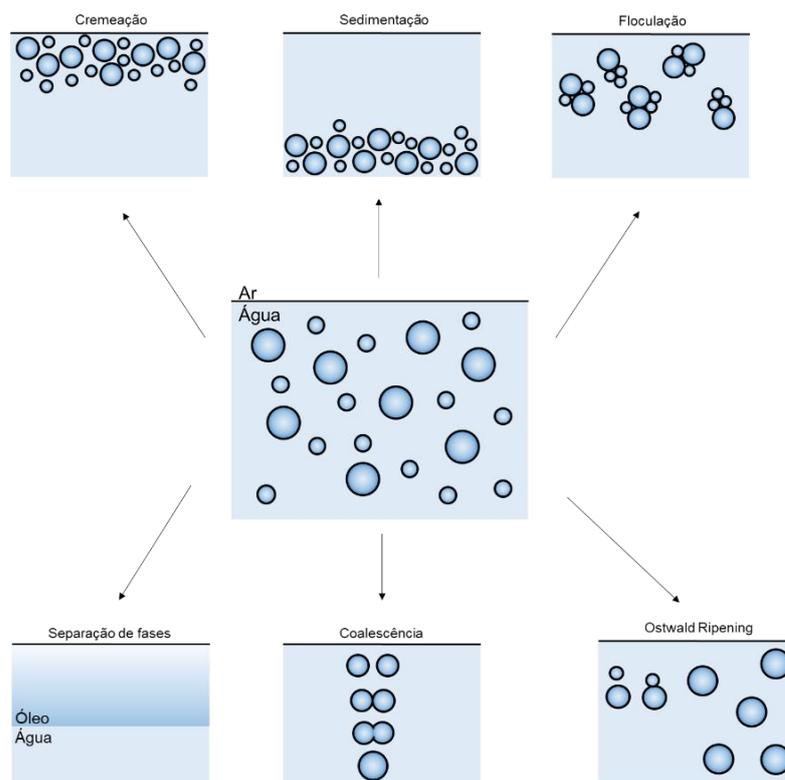


Figura 12. Fenômenos de instabilidade em emulsão.

Fonte: Autor (2018)

A floculação é a agregação reversível das gotículas da fase dispersante, sendo o primeiro fenômeno de alteração da estabilidade de uma emulsão. Ocorre quando não há repulsão suficiente para manter as gotículas distantes. A cremeação e a sedimentação são formas de separação gravitacional que consistem na agregação das gotículas, formando uma camada disposta à superfície ou no fundo da emulsão. É influenciada pelo diâmetro das gotículas, mas também pelas forças externas, como a força da gravidade, devido a diferença de densidade entre os líquidos. Desta forma, quando a densidade da fase dispersa é maior que a fase contínua, ocorre a cremeação, quando o oposto ocorre, chama-se sedimentação. Quando a cremeação ocorre próxima a interface ar-água e concentra-se no menisco chama-se “formação de anel” (no inglês *Ring Formation*), eventualmente as gotas de óleo vão se separar e se espalhar na interface ar-água, formando uma fina camada da fase dispersantes na superfície do recipiente, chamada de “espalhamento de óleo” (no inglês *Oil Spreading*), como exemplificado na Figura 13.

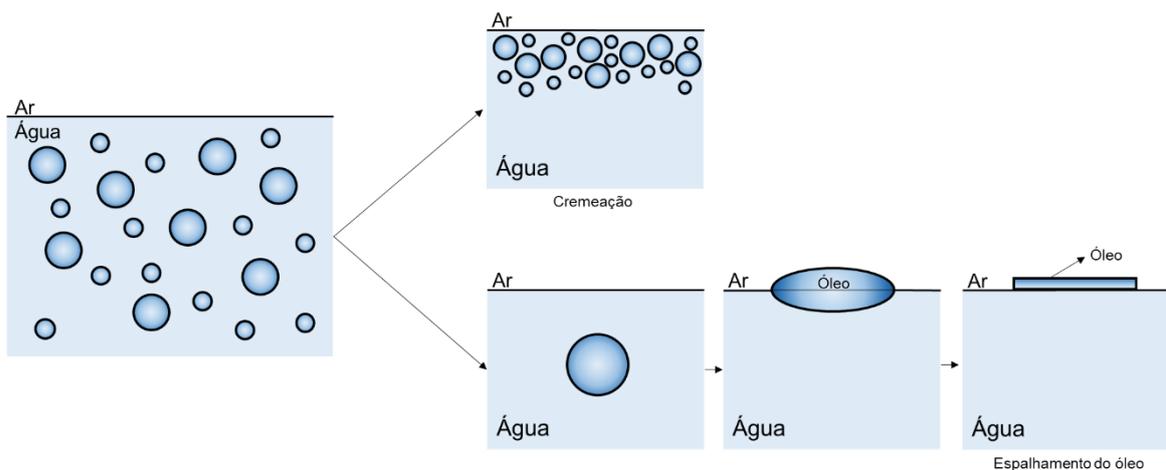


Figura 13. Esquematização da cremação e espalhamento da fase dispersa em emulsões instáveis.

Fonte: Autor (2018)

A coalescência é um processo de aproximação de gotículas, durante o qual estas se unem para formar gotículas maiores, sendo irreversível e acarretando na separação total de fases. A floculação e coalescência diferem entre si pelo fato de que na floculação, o filme interfacial das gotículas permanece intacto, ao passo que na coalescência, esse filme é rompido (LACHMAN et al., 2001), no entanto a floculação é precursora para a coalescência.

A estabilidade das emulsões pode ser controlada e monitorada por medidas diretas e indiretas de caracterização das propriedades físico-químicas da emulsão. O método mais simples para avaliar alterações de estabilidade das emulsões é através da observação da cremação e formação do anel (*ring formation*). Neste método, as emulsões são armazenadas em tubos de vidros e a separação de fases é monitorada fotograficamente num determinado intervalo de tempo (REINER et al., 2010). Para complementar essa avaliação, uma análise microscópica pode ser realizada para visualizar a distribuição do tamanho das partículas, e monitorar qualquer alteração. Além disso, quando acoplado a um filtro de fluorescência, o microscópio permite avaliar a distribuição da fase dispersa (óleo) e a interação com a fase contínua. Para isso, um corante é adicionado no meio para que interaja com o meio desejado e reflita sobre o filtro pré-determinado. Por exemplo, para avaliar a distribuição do óleo nos glóbulos da emulsão, um corante lipofílico é usado (*Nile Red*), que irá interagir com o óleo e refletir sobre incidência da luz fluorescente em 610-675 nm.

A estabilidade de sistemas dispersos pode ocorrer por meio de dois potenciais independentes: o potencial da camada elétrica, positivo (repulsivo), e o potencial de van der Waals, negativo (atrativo). Estes atuam quando dois glóbulos e/ou partículas dispersos em solução se aproximam. No entanto, o potencial de superfície não pode ser determinado diretamente e, assim, usualmente para o cálculo da interação eletrostática, este é substituído pelo potencial eletrocinético ou Zeta. O potencial Zeta é definido como a diferença de potencial entre a superfície de íons fortemente ligados à superfície da partícula e uma região neutra (não-carregada) da solução, onde há uma diferença relevante de viscoelasticidade quando comparada à solução adjacente aos glóbulos. Essa medida é uma maneira efetiva de controlar o comportamento dos glóbulos, pois indica a relação entre o potencial de superfície e as forças de repulsão entre os glóbulos (ROLAND et al., 2003).

Um valor elevado e negativo do potencial zeta é importante para a estabilidade físico-química da emulsão, pois as forças repulsivas entre as gotículas evitam a floculação (MEHNERT; MÄDER, 2011). Quando avaliada através do potencial Zeta pode ser classificado em altamente instável (± 0 a 10 mV), relativamente estável (± 10 a 20 mV) e moderadamente estável (± 20 a 30 mV) e altamente estável ($> \pm 30$ mV). Assim, a força repulsiva da camada elétrica é maior do que a força atrativa de van der Waals, evitando a agregação das partículas (PATEL; AGRAWAL, 2011).

O tamanho das partículas da emulsão é um dos principais fatores que irá determinar a estabilidade da emulsão. Pois, uma gota da emulsão com 1,0 mm de diâmetro irá deslocar para superfície 100 vezes mais rápido que uma gota com 0,1mm de diâmetro. Desta forma, uma distribuição homogênea do tamanho dos glóbulos da emulsão é fator determinante para a ocorrência dos fenômenos floculação, coalescência e *Ostwald ripening* (CHANAMAI; MCCLEMENTS, 2000). Diferentes métodos podem ser utilizados para a determinação do tamanho médio ou curva de distribuição do tamanho dos glóbulos da emulsão. A técnica de espalhamento de luz (*Laser light scattering*) é o método mais utilizado para avaliar o tamanho médio e a distribuição do tamanho da partícula em suspensão (CHAROEN et al., 2011). O método consiste em um feixe de luz que, quando incide sobre a amostra, é espalhado pelas partículas presentes na dispersão dependendo do seu tamanho, forma, índice de refração e comprimento de onda da luz, registrando a intensidade do espalhamento da luz (CHAROEN et al., 2011). Para isso, a amostra é diluída em uma concentração extremamente baixa ($< 0,01\%$) para evitar sobreposição dos feixes de luz.

3 Capítulo 1 – Artigo publicado

Hidrogéis de amido: influência do teor de amilose e do método de gelatinização

Artigo publicado no periódico *International Journal of Biological Macromolecules*

Qualis 2012-2016 em Ciência de Alimentos: A1-Fator de impacto: 3,671

v. 113, p. 443-449, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.144>

ISSN 0141-8130

Resumo

A gelatinização e a retrogradação, influenciadas pela proporção de amilose e amilopectina, são características importantes na elaboração de hidrogéis de amido. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do teor de amilose e do método de gelatinização nas características físico-químicas de hidrogéis de amido de arroz nativos e intercruzados. Os amidos nativos e intercruzados foram gelatinizados com aquecimento ou solução alcalina, adicionados de poli(álcool vinílico) (PVA), congelados e depois liofilizados. O amido intercruzados apresentou baixa viscosidade final (101,38 RVU), o que fez com que a amostra gelatinizada pelo aquecimento se desintegrasse rapidamente na água. No entanto, os hidrogéis de amido modificados obtidos por gelatinização induzida por alcalina resultaram em uma estrutura mais rígida do que os hidrogéis de amido nativo. Além disso, a amostra de amido com alto teor de amilose apresentou menor absorção de água (322,2%) devido à maior rigidez da estrutura do hidrogel que resistiu ao intumescimento. A gelatinização alcalina resultou em hidrogéis mais rígidos com menor absorção de água (322,2 a 534,8%), enquanto a gelatinização por aquecimento formou hidrogéis superabsorvente (658,7 a 1068,5%). A variabilidade das propriedades dos hidrogéis deste estudo pode permitir uma gama de aplicações devido a diferentes conteúdos de amilose e métodos de gelatinização.

Palavras-chave: amido de arroz, ligação cruzada, hidrogel, amilose, gelatinização

3.1 Introdução

Os hidrogéis são macromoléculas reticuladas física ou quimicamente formando uma rede tridimensional capaz de reter água sem desintegrar-se. Desta forma, são ideais para aplicação como transporte e liberação de compostos ativos (LIMA-TENÓRIO et al., 2015).

Os hidrogéis elaborados a partir de polímeros sintéticos como o PVA, são quimicamente mais estáveis contra a desintegração, porém a sua alta resistência mecânica resulta na taxa de degradação lenta. Por outro lado, os polímeros naturais, tais como o amido, possuem boa biocompatibilidade e biodegradabilidade, porém, suas propriedades mecânicas são limitadas, e na maioria das vezes tendem a se desintegrar quando em contato com água (AHMED, 2015). A mistura de PVA e amido é uma técnica promissora para formar hidrogéis, devido a interação através de ligações de hidrogênio entre as cadeias inter e intramolecular entre esses polímeros (SHAHROOIE et al., 2015). Além disso, o PVA é um polímero solúvel em água, biodegradável e não tóxico (ZHU et al., 2015). Além da mistura dos polímeros, o inter cruzamento nas cadeias do amido poderia aumentar ainda mais a estabilidade mecânica dos hidrogéis (BUCHHOLZ; GRAHAM, 1998). O trimetafosfato de sódio é um dos reagentes permitidos pela *Food and Drug Administration* (FDA), como grau alimentício para o inter cruzamento, desde que o conteúdo de fosfato residual no amido modificado não ultrapasse 0,04% (FDA, 2018).

Pesquisadores têm desenvolvido hidrogéis a base de amido de batata, milho, e amido solúvel (XIÃO, 2013; ISMAIL et al., 2012; XIÃO; YANG, 2006), e seu processamento envolve primeiro a gelatinização e então a retrogradação para formar a rede tridimensional. A primeira etapa é necessária para que a estrutura cristalina dos grânulos de amido seja rompida a fim de facilitar a interação entre as cadeias do polímero. Para isso, a metodologia mais utilizada é realizada através do aquecimento em água (YOSHIMURA et al., 2016). No entanto, a gelatinização do amido também pode ser realizada quimicamente através de uma solução alcalina.

O arroz (*Oryza sativa L.*) é o grão mais produzido e consumido no mundo (KAMINSKI et al., 2013). Porém, durante o processamento, secagem e em armazenamentos prolongados, os grãos de arroz podem desenvolver defeitos relacionados a fenômenos químicos, físicos e biológicos. (PARK et al., 2012; SINGH et al., 2006). Porém, o amido não é afetado por essas alterações sendo assim a extração de amido de arroz poderia agregar valor a estes grãos uma vez que o amido

é o principal componente em grãos de arroz (aproximadamente 90%), além de apresentar uma ampla variação no conteúdo de amilose (1 a 37%) (TECHAWIPHARAT et al., 2008). O teor de amilose influencia diretamente nas propriedades de gelatinização e retrogradação dos amidos, definindo sua aplicação final (ZHONG et al., 2009). Amidos com alto teor de amilose promove maior tendência a retrogradação, formando hidrogéis com uma rede tridimensional mais organizada e estrutura mais rígida, enquanto o amido de baixo teor de amilose resulta em hidrogéis com uma estrutura mais aberta a qual tende a se desintegrar em água.

Pesquisadores têm reportado a elaboração de hidrogéis a base de amido com foco em diferentes agentes de reticulação, tais como ácido acrílico (LIMA-TENÓRIO et al., 2015), cloreto de alumínio e glutaraldeído (CARDOSO et al., 2006) ou esterificação por anidrido succínico (YOSHIMURA et al., 2006). Hidrogéis produzidos de amido e PVA, têm sido estudados, porém, não foram encontrados na literatura relatos sobre a influência do teor de amilose na elaboração de hidrogéis de amido. Além disso, o método de gelatinização pode influenciar o processo de retrogradação dos amidos gelatinizados. Com base na importância das características de gelatinização e retrogradação no processamento de hidrogéis de amido, o conhecimento sobre como o teor de amilose e o método de gelatinização podem influenciar a elaboração do hidrogel permite criar um material com as propriedades desejadas dependendo da aplicação. Além de não ter sido encontradas informações sobre o assunto, este conhecimento poderia aumentar a gama de aplicações para produtos alimentícios ou não-alimentícios.

Com base nisso, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do teor de amilose e do método de gelatinização nas propriedades físicas e químicas de hidrogéis de amido de arroz, nativos e intercrossados.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Material

Os grãos de arroz das cultivares Motti, IRGA-406 e IRGA-417, contendo 8%, 20% e 32% de amilose, respectivamente, foram adquiridos no acervo de amostras do Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPel. Este experimento foi realizado nos

Laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas.

3.2.2 *Extração dos amidos*

As amostras de arroz livres de impurezas foram moídas para a obtenção da farinha de arroz. A extração de amido a partir da farinha de arroz foi realizada pelo método alcalino descrito por Wang e Wang (2004).

3.2.3 *Modificação química dos amidos*

A modificação dos amidos foi realizada por intercruzamento utilizando trimetafosfato de sódio (TMFS), de acordo com método descrito por Woo e Seib (1997), com algumas modificações. Uma amostra de amido (50 g) foi suspensa em água destilada (100 mL) e adicionado 4,5 g de TMFS (9 g reagente/ 100 g de amido) e 1 g do catalizador sulfato de sódio (2 g reagente/100 g de amido). A dispersão foi aquecida a 45 °C e o ajuste do pH 11 foi realizado pela adição lenta de NaOH 0,5 mol.L⁻¹, após 2 h de reação, o amido foi neutralizado, filtrado e lavado com água destilada. Os amidos modificados foram secos em estufa com circulação de ar a 40 °C por 16 h. Após a modificação, os amidos foram dialisados para a remoção dos sais de fósforo não ligados. Para a realização da diálise, uma suspensão de 15% de amido modificado foi colocada em sacos de diálise e submersa em água destilada. No início do processo de diálise (6 h iniciais), a água foi trocada a cada 2 h. Após 24 h, os amidos dialisados foram filtrados e secos em estufa com circulação de ar a 40 °C.

3.2.4 *Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos*

O teor de fósforo dos amidos nativos e intercruzados, antes e após o processo de diálise, foi quantificado conforme metodologia descrita por Smith e Caruso (1964). O grau de substituição (GS) foi determinado pela Equação 1, levando em consideração o teor de fósforo (P) dos amidos modificados, usando valores do peso molecular de anidroglicose (162 g.mol⁻¹); Peso atômico do fósforo multiplicado por 100 (3100) e a massa molar do fosfato em amidos reticulados (102 g.mol⁻¹).

$$GS = \frac{162P}{3100-102P} \quad (1)$$

3.2.5 *Propriedades térmicas dos amidos*

As propriedades térmicas dos amidos foram avaliadas em calorímetro diferencial de varredura (DSC, TA-60WS, Shimadzu, Kyoto, Japão). Aproximadamente 2,5 mg de amido foram pesados em cadinhos de alumínio e foi adicionada água destilada (1:3 m/m). Após, os cadinhos foram hermeticamente fechados e deixados estabilizar por 24 h antes do procedimento. Os cadinhos contendo as amostras foram aquecidos, juntamente com um cadinho vazio como referência, sob atmosfera de nitrogênio de 30 a 120 °C com uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. As temperaturas de início, pico e final de gelatinização foram obtidos automaticamente e a variação de temperatura calculada pela subtração das temperaturas final pelas temperaturas de início.

3.2.6 *Propriedades de pasta dos amidos*

As propriedades de pasta dos amidos nativos e inter cruzados foram avaliadas em Analisador Rápido de Viscosidade (RVA-4, Newport Scientific, Austrália), utilizando perfil Standard 1. Uma suspensão de amido (3,0 g de amido, corrigida para 14% de umidade, e 25 mL de água destilada) foi utilizada. As amostras foram aquecidas a 50 °C em 1 min e, posteriormente, a 95 °C em 3,5 min, sendo mantidas por 2,5 min. A seguir, foram resfriadas para 50 °C em 3,8 min. e mantidas por 2 min. A velocidade de rotação foi 960 rpm durante 10 s iniciais e 160 rpm durante o restante do processo. Foram avaliadas a temperatura de início de formação de pasta, a viscosidade máxima, a quebra da viscosidade, a viscosidade final e a tendência à retrogradação.

3.2.7 *Elaboração dos hidrogéis de amido*

Os hidrogéis elaborados com amido de arroz com diferentes teores de amilose nativo e inter cruzado foram elaborados de acordo com Zhu et al. (2015), com algumas modificações, conforme descrito a seguir.

3.2.7.1 *Elaboração dos hidrogéis utilizando gelatinização alcalina*

Uma suspensão de amido (3 g de amido e 20 mL de água destilada) foi aquecida a 55 °C e gelatinizada pela lenta adição de 0,5 mL de NaOH 50%. Em seguida uma solução de 10% de PVA (1 g de polímero/10 mL de água) foi adicionado ao amido gelatinizado. As condições da reação foram mantidas por 30 min. A dispersão

resultante foi colocada em moldes de 20 mm de diâmetro e 10 mm de altura, congeladas e liofilizadas.

3.2.7.2 *Elaboração dos hidrogéis utilizando gelatinização por aquecimento*

Uma suspensão de amido (3 g de amido e 20 mL de água destilada) foi gelatinizada pelo aquecimento a 90 °C por 20 min. Em seguida o amido gelatinizado foi resfriado a 55 °C e uma solução de 10% de PVA (1 g de polímero/10 mL de água). As condições da reação foram mantidas por 30. A dispersão resultante foi colocada em moldes de 20 mm de diâmetro e 10 mm de altura, congeladas e liofilizadas.

3.2.8 *Absorção de água dos hidrogéis*

A capacidade de absorção de água dos hidrogéis de amido foi realizada pela imersão em água destilada de acordo com o método D570 (ASTM, 2010). A medida foi realizada por pesagem das amostras liofilizadas e após 24h de imersão em água a temperatura ambiente. A capacidade de absorção foi medida gravimetricamente de acordo com a Equação 3.

$$\text{Capacidade de absorção (\%)} = \frac{\text{Peso}_{\text{intumescido}} - \text{Peso}_{\text{seco}}}{\text{Peso}_{\text{seco}}} * 100 \quad (3)$$

3.2.9 *Avaliação ótica dos hidrogéis*

Os hidrogéis liofilizados, bem como intumescidos foram fotografados e avaliados quanto a integridade estrutural após a imersão em água destilada por 24 h.

3.2.10 *Avaliação morfológica de hidrogéis*

A morfologia interna dos hidrogéis liofilizados foi avaliada utilizando microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6610LV, Japão). Os hidrogéis foram fraturadas com nitrogênio líquido e fixados na superfície do *stub* com uma fita de carbono dupla face. As amostras foram recobertas com uma camada de ouro utilizando um metalizador a vácuo (Denton Desk V, Denton Vacuum, EUA).

3.2.11 *Perfil de análise em textura (TPA)*

O TPA dos hidrogéis intumescidos foi realizado em texturômetro (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Reino Unido) utilizando dois ciclos de compressão. As

amostras tiveram 50% da sua altura inicial comprimida em uma velocidade de 5 mm.s^{-1} por uma sonda cilíndrica de 36 mm de diâmetro. Os parâmetros de perfil de textura foram calculados de acordo com as normas do software do equipamento com base no gráfico resultante da análise (Figura 14). A firmeza dos hidrogéis foi considerada como a força máxima do primeiro pico de compressão da curva de força x tempo. A flexibilidade foi determinada pela altura que as amostras recuperam durante o tempo entre as compressões (razão entre tempo 4:5/tempo 1:2). A coesividade foi medida da razão entre as áreas positivas durante o segundo e o primeiro pico (razão entre área 4:6/área 1:3). A gomosidade é medida como a energia requerida para desintegrar o material semissólido (dureza x coesividade). A resiliência é a medida de recuperação da amostra após compressão, em termos de força derivada e velocidade (razão entre área 2:3/área 1:2).

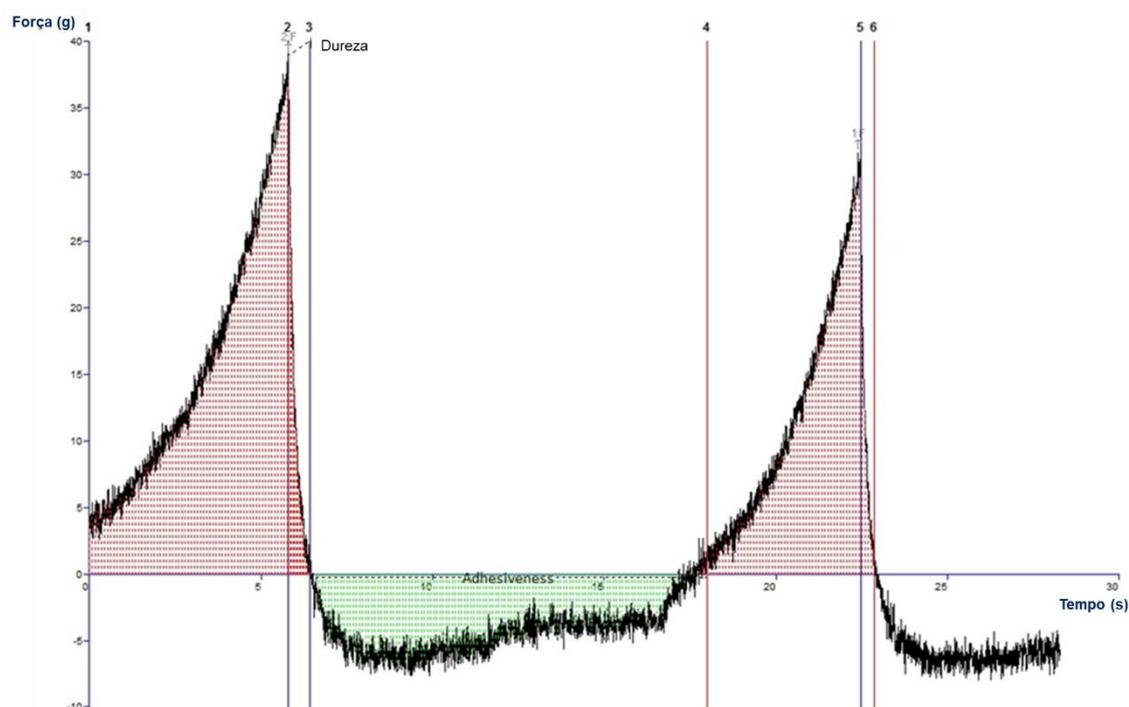


Figura 14. Ilustração do gráfico de força vs tempo do perfil de análise em textura.

Fonte: Autor (2018).

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos

O teor de fósforo e o grau de substituição dos amidos nativos e intercruzados estão apresentados na Tabela 1. Os amidos de arroz nativos apresentam teor de fósforo, devido ao conteúdo de cinza residual que permanece no amido após a extração, podendo ser oriundos dos fosfolípidos o qual é proporcional ao teor de amilose (MORRISON, 1995).

Tabela 1. Teor de fósforo e grau de substituição dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.

Parâmetro ¹	Amido	Teor de amilose		
		Baixo	Médio	Alto
Teor de fósforo (%)	Nativo	0,023 ± 0,002 ^{b*}	0,049 ± 0,002 ^{a ns}	0,046 ± 0,001 ^{a*}
	Intercruzado	0,064 ± 0,002 ^a	0,058 ± 0,000 ^b	0,054 ± 0,001 ^b
Grau de substituição	Nativo	0,002 ± 0,000 ^{a*}	0,002 ± 0,000 ^{a*}	0,002 ± 0,000 ^{a*}
	Intercruzado	0,003 ± 0,000 ^a	0,003 ± 0,000 ^a	0,003 ± 0,000 ^a

¹Letras distintas na mesma linha, difere estatisticamente ($p \leq 0.05$) pelo teste Tukey. * ou ^{ns} na mesma linha representam significância e não significância, entre os amidos nativos e modificados para cada parâmetro, pelo teste t com 5% de probabilidade de erro.

Os amidos de arroz apresentam maior teor de fósforo quando comparados com outras fontes de amidos (SINGH et al., 2003). O teor de amilose afeta o processo de modificação química, conforme relatado em vários estudos (TAVARES et al., 2010; SANDHU et al., 2008). Em geral, amidos com menor teor de amilose são mais suscetíveis a modificações químicas e/ou físicas do que os amidos com maior teor de amilose. Desta forma, assim como ocorre com os amidos modificados por outros métodos, como oxidação, a inclusão de grupos funcionais ocorre principalmente nas lamelas amorfas dos grânulos de amido (KUAKPETOON; WANG, 2008). Portanto, o mesmo comportamento pode ter ocorrido nos amidos intercruzados, devido a maior suscetibilidade das áreas amorfas para as modificações químicas.

3.3.2 Propriedades térmicas dos amidos

As propriedades térmicas dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados, estão apresentadas na Tabela 2. A análise térmica por calorimetria diferencial de varredura em amido fornece informações sobre a sua temperatura de gelatinização e também sobre a energia necessária para que haja o rompimento de sua estrutura cristalina e perda de sua birrefringência. Após a modificação, os amidos apresentaram um leve aumento na temperatura inicial de gelatinização, ocasionando a diminuição na faixa de temperatura necessária para gelatinização do amido, embora o pico de gelatinização dos amidos foi similar aos nativos. No entanto, a temperatura de pico de gelatinização não foi afetada após a modificação dos amidos. O mesmo comportamento foi observado por Wongsagonsup et al. (2014), que estudaram o efeito do intercruzamento nas propriedades físicas de amido mandioca. Esses autores relataram que alguns grânulos de amido intercruzados, após o aquecimento em altas temperatura e com excesso de água, apresentaram sua estrutura intacta após aquecimento a altas temperaturas (90°C). Esta afirmação foi possível através da visualização da cruz de malta desses amidos sobre luz polarizada, característica de birrefringência, indicando a gelatinização incompleta do amido.

Tabela 2. Propriedades térmicas dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.

Teor de amilose	Modificação	T ₀ (°C)	T _p (°C)	T _f (°C)	ΔT (°C)	ΔH (J.g ⁻¹)
Baixo	Nativo	60,49	67,45	74,41	13,92	6,73
	Intercruzado	62,02	67,78	73,01	10,99	4,64
Médio	Nativo	61,76	67,41	72,47	10,71	8,51
	Intercruzado	61,69	67,83	73,03	11,34	8,95
Alto	Nativo	59,77	66,55	70,95	11,18	5,32
	Intercruzado	62,54	65,97	70,92	8,38	2,05

T₀: temperatura inicial; T_p: temperatura de pico; T_f: temperatura final de gelatinização; ΔH: entalpia de gelatinização.

Segundo Liu et al. (2014), a introdução de ligações intercruzadas reforça as ligações de hidrogênio das moléculas de amido, desta forma, os amidos contendo ligações intercruzadas possuem maior resistência a altas temperaturas, e, portanto, a

gelatinização deve ser realizada a uma temperatura mais elevada. No entanto, a análise térmica do hidrogel intumescido não apresentou transição térmica na faixa de gelatinização, o que pode indicar que os amidos foram completamente gelatinizados (Apêndice A).

A entalpia de gelatinização (ΔH) reflete, principalmente, a perda da ordem molecular (COOKE; GIDLEY, 1992), referindo-se a energia necessária para romper a estrutura cristalina do grânulo de amido (LIU et al., 1999). Os valores de ΔH dos amidos modificados foram menores em relação ao nativo. A diminuição do ΔH em amidos intercruzados por trimetafosfato de sódio também foi reportado por Jyothi et al. (2006), Liu et al. (2014) e Carmona-Garcia et al. (2009).

3.3.3 *Propriedades de pasta dos amidos*

As características de viscosidade, temperatura de pasta, quebra e retrogradação são influenciadas pela proporção de amilose e amilopectina nos amidos, estes valores estão apresentados na Tabela 3. A viscosidade final e retrogradação dos amidos nativos mostraram uma tendência linear em relação ao teor de amilose. O amido com maior teor de amilose apresentou a maior viscosidade final e temperatura de pasta, provavelmente, devido a maiores interações de ligação de hidrogênio. O aumento na viscosidade final pode contribuir para a retrogradação da amilose lixiviada, e, além disso, moléculas de amilose tendem a se reassociar mais rapidamente do que a amilopectina devido sua estrutura linear o que promove a retrogradação (ZAVAREZE; DIAS, 2011).

Os amidos intercruzados apresentaram menor pico de viscosidade, viscosidade final, quebra e retrogradação do que os amidos não modificados. As propriedades de pasta dos amidos intercruzados de alta amilose não foi determinada devido sua baixa viscosidade. Wongsagonsup et al. (2014) reportaram que amidos de mandioca intercruzados tem maior estabilidade a altas temperaturas, sendo observado baixa viscosidade, quebra e retrogradação nas suas amostras. Os autores atribuíram esse fenômeno, a formação das ligações covalentes que fortalecem os grânulos contra a ruptura sobre altas temperaturas e cisalhamento. Da mesma forma, Hirsch e Kokini (2002) reportaram que a maior intensidade de intercruzamento nos amidos de milho diminuiu o pico de viscosidade devido a menor interação inter granular. Desta forma, a baixa viscosidade observada nesse trabalho para os amidos de arroz intercruzados pode ser devido a formação de ligações covalente entre as cadeias do amido.

Tabela 3. Propriedades de pasta dos amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e intercruzados.

Parâmetros ¹	Amido	Teor de amilose		
		Baixo	Médio	Alto
Temperatura de pasta (°C)	Nativo	62,35 ± 0,00c ns	69,23 ± 0,25b ns	77,73 ± 0,39 ^a
	Intercruzado	64,45 ± 0,49 *	68,75 ± 0,35	-
Viscosidade inicial (RVU)	Nativo	316,88 ± 3,47a *	284,54 ± 3,24b*	236,33 ± 1,06c
	Intercruzado	78,09 ± 0,94 *	10,13 ± 0,53	-
Viscosidade final (RVU)	Nativo	215,75 ± 0,24c*	349,59 ± 0,23a*	315,96 ± 2,65b
	Intercruzado	101,38 ± 2,06 *	10,96 ± 0,53	-
Quebra (RVU)	Nativo	123,54 ± 3,48a*	56,42 ± 6,13b*	14,59 ± 0,47c
	Intercruzado	3,75 ± 0,71 *	0,13 ± 0,18	-
Retrogradação (RVU)	Nativo	22,42 ± 7,19c ns	121,46 ± 3,13a*	94,21 ± 1,39b
	Intercruzado	27,04 ± 0,41 *	0,92 ± 0,23	-

¹Letras distintas na mesma linha, difere estatisticamente ($p \leq 0.05$) pelo teste Tukey. * ou ns na mesma linha representam significância e não significância, entre os amidos nativos e modificados para cada parâmetro, pelo teste t com 5% de probabilidade de erro.

3.3.4 Capacidade de absorção de água dos hidrogéis

A absorção de água e a integridade estrutural dos hidrogéis são importantes características para definir sua aplicação final. As amostras elaboradas com o amido nativo de baixa amilose, gelatinizado via solução alcalina, bem como as amostras elaboradas com os amidos intercruzados gelatinizados via aquecimento foram completamente solúveis em água (Figura 15 e Figura 16). Por este motivo, sua absorção de água não pode ser quantificada, os valores dos demais hidrogéis estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Capacidade de absorção de água dos hidrogéis elaborados com amidos de arroz com gelatinização alcalina ou por aquecimento

Teor de amilose ¹	Amido	Capacidade de absorção de água (%)	
		Método de gelatinização do amido	
		Alcalino	Aquecimento
Baixo	Nativo	N.D	658,7 ± 53,4 ^c
	Intercruzado	534,8 ± 19,5 ^a	N.D
Médio	Nativo	410,8 ± 4,1 ^{b*}	1068,5 ± 39,7 ^a
	Intercruzado	393,2 ± 18,2 ^b	N.D
Alto	Nativo	365,8 ± 9,1 ^{bc*}	851,0 ± 1,7 ^b
	Intercruzado	322,2 ± 13,2 ^c	N.D

¹ Letras minúsculas distintas na mesma coluna representam diferença entre si, pelo teste tukey com 5% de probabilidade de erro. * ou ^{ns} na mesma linha representam significância e não significância, entre o método de gelatinização do amido via método alcalino e por aquecimento, respectivamente, pelo teste t com 5% de probabilidade de erro. N.D= não determinada devido sua completa solubilização em água.

Quando um hidrogel com estrutura rígida é requerido, como para aplicação em embalagens alimentícias em sistemas de carnes refrigeradas, a absorção de água deste material pode ser levemente menor. Em outros casos, pode ser requerido um hidrogel superabsorvente, como por exemplo, em sistema de entrega controlada de fármacos (em sistemas *in vivo*), neste caso, hidrogéis altamente absorventes são requeridos, a fim de promover uma liberação controlada do medicamento e que seja lentamente degradado pelo organismo.

A solubilidade do amido é resultado da lixiviação de amilose, que se dissocia e se difunde para fora do grânulo de amido durante o intumescimento. Assim, a baixa lixiviação no amido de arroz de alto teor de amilose, pode ser devido a forte interação entre amilose-amilose e amilose-amilopectina, diminuindo a capacidade de lixiviação dos grânulos de amido (KLEIN et al., 2013). Além disso, outro fator que afeta a solubilidade dos amidos é a retrogradação, segundo Liu, Wang e Lin (2014), a tendência de retrogradação do amido está relacionada com o teor de amilose e com o comprimento da cadeia das moléculas de amido, as quais refletem na capacidade de associação entre os grânulos de amido e a água, devido a sua capacidade de reorganização após a gelatinização. Assim, o amido com alto teor de amilose

apresenta menor capacidade de absorção, pois a alta retrogradação ocasionada pelas moléculas de amilose lixiviadas, aumenta a interação das cadeias, diminuindo seu intumescimento. Os amidos com menores teores de amilose, apresentaram baixa tendência a retrogradação, podendo apresentar maior capacidade de intumescimento, porém em alguns casos, a alta absorção e baixa tendência de retrogradar ocasiona a fragmentação e solubilização dos grânulos de amido, como ocorreu com o hidrogel de amido de baixo teor de amilose gelatinizado via método alcalino.

A modificação por intercruzamento dos amidos de arroz de médio e alto teor de amilose, não afetaram a capacidade de absorção de água dos hidrogéis, porém o intercruzamento do amido de baixa amilose permitiu a formação de hidrogéis insolúveis em água quando gelatinizados via método alcalino. No entanto, o intercruzamento dos amidos de arroz, para todos os teores de amilose, ocasionou a solubilização dos hidrogéis após sua imersão em água, quando a gelatinização do amido foi realizada por aquecimento, não sendo possível quantificar a capacidade de absorção de água.

Como mencionado anteriormente, durante a gelatinização por aquecimento ocorre a lixiviação da amilose que durante o processo de retrogradação irá se reassoar promovendo a retrogradação. Desta forma, a fragmentação dos hidrogéis de amidos intercruzados gelatinizados por aquecimento pode estar relacionada com a diminuição da lixiviação da amilose durante o processo de gelatinização ocorrida devido à alta interação entre as cadeias de amilose e/ou amilopectina após a introdução das ligações intercruzadas. Wongsagonsup et al. (2014) relataram que, após a análise viscoamilográfica por RVA, os amidos intercruzados são estáveis a altas temperaturas e ao cisalhamento, apresentando baixa viscosidade, quebra e retrogradação. A redução na retrogradação do amido pode ser devido a formação de ligações intercruzadas covalentes entre cadeias de amido que fortalece os grânulos intumescidos, evitando a aproximação das moléculas.

A retrogradação é um importante parâmetro para a formação da pasta de amido após seu resfriamento, assim, na formação do hidrogel é essencial que haja a retrogradação do amido, que ocasionará a reassociação das moléculas ajudando na formação do material poroso proveniente da reticulação do PVA. Desta forma, é provável que os amidos de arroz intercruzados apresentem uma baixa viscosidade e tendência a retrogradação, ocasionando a solubilização dos hidrogéis.

Segundo Hirsch e Kokini (2002), quanto mais baixa for a viscosidade dos amidos modificados maior será a densidade de ligações inter cruzadas, o que ocasiona uma resistência do grânulo de amido ao intumescimento, acarretando em uma diminuição no poder de intumescimento do amido, devido a uma menor interação intergranular. Desta forma, o baixo intumescimento do amido durante a gelatinização por aquecimento prévia ao processo de reticulação do hidrogel pode ter tornado a estrutura do hidrogel frágil, sendo incapaz de absorver água em sua estrutura e desta forma fragmentando-se ao ser imerso em água.

3.3.5 Avaliação ótica dos hidrogéis

As fotografias dos hidrogéis elaborados a base de amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e inter cruzados, gelatinizados via solução alcalina ou por aquecimento, estão apresentadas nas Figuras 15 e 16.

Os hidrogéis elaborados com amido de baixa amilose nativo, gelatinizado via método alcalino, desintegraram-se, sendo totalmente solúvel após a sua imersão em água (Figura 15a). Quando a gelatinização dos amidos foi realizada por aquecimento, independente do teor de amilose, os hidrogéis de amido inter cruzado também foram solúveis após o intumescimento (Figuras 16b, 16d e 16f). Não foi observado a formação de gel ou pasta dos amidos de arroz inter cruzados quando gelatinizados por aquecimento (baixa viscosidade). Assim, o fenômeno de retrogradação, ao arrefecer o amido gelatinizado, pode não ter ocorrido, e uma estrutura tridimensional não pode ser formada, como observado na Tabela 3. A desintegração dos hidrogéis de amido nativo de baixa amilose (gelatinização alcalina) pode ter ocorrido devido à baixa tendência de reassociação das moléculas deste amido após a gelatinização, devido ao baixo teor de amilose, o qual é responsável por esse comportamento.

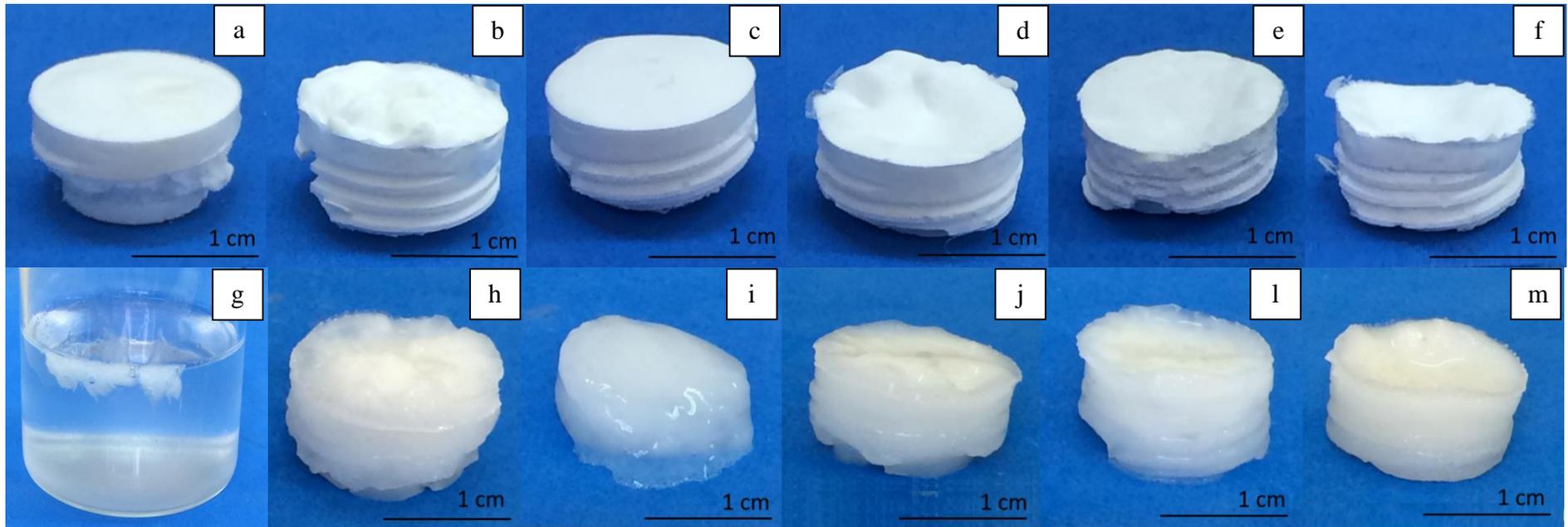


Figura 15. Hidrogéis liofilizados elaborados com amidos nativos (a, c, e) e inter cruzados (b, d, f) com baixa (a, b), média (c, d) e alta (e, f) amilose, e intumescidos elaborados com amidos nativos (g, i, l) e inter cruzados (h, j, m) com baixa (g, h) média (i, j) e alta (l, m) amilose, gelatinizados via método alcalino.

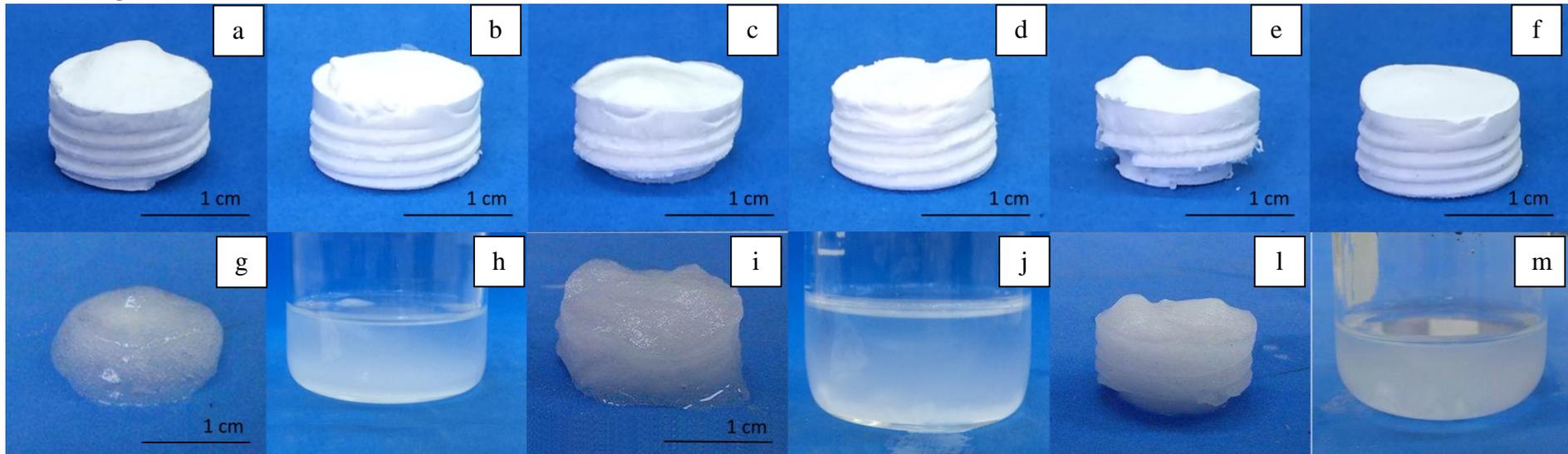


Figura 16. Hidrogéis liofilizados elaborados com amidos nativos (a, c, e) e inter cruzados (b, d, f) com baixa (a, b), média (c, d) e alta (e, f) amilose, e intumescidos elaborados com amidos nativos (g, i, l) e inter cruzados (h, j, m) com baixa (g, h) média (i, j) e alta (l, m) amilose, gelatinizados por aquecimento.

Uma solubilização parcial foi observada nos hidrogéis elaborados com amido nativo de média amilose gelatinizado via método alcalino (Figura 15c). A maior presença de amilose no amido, em relação ao amido de baixa amilose, não permitiu que a estrutura do hidrogel fosse totalmente desfeita após a sua imersão em água. Os hidrogéis elaborados com amido nativo de alto teor de amilose, gelatinizado via método alcalino, apresentaram estrutura estável e íntegra após a imersão em água (Figuras 15e e 15f). Desta forma, o conteúdo de amilose se mostrou essencial para a obtenção de hidrogéis capazes de absorver água, insolúveis e que mantenham sua integridade estrutural após o intumescimento. Com base nisso, pode-se implicar que as hidroxilas da amilose estariam mais disponíveis para que ocorresse a ionização durante o processo de gelatinização, e desta forma a gelatinização dos amidos de alta amilose foram mais intensas gerando géis mais firmes do que os amidos de baixa amilose.

A modificação nos amidos de arroz de baixa e média amilose, com a gelatinização alcalina, permitiu a obtenção de hidrogéis íntegros, que mantiveram sua estrutura após o intumescimento (Figuras 15b e 15d). Isso sugere que a inserção de grupos fosfatos na estrutura do amido, torna sua estrutura mais estável, devido à maior interação entre as moléculas do amido promovida pelo intercruzamento. Além disso, a reticulação dos hidrogéis pode ser intensificada na presença destes grupos funcionais, pois estes podem interagir entre as moléculas de amido e PVA (podendo gerar ligações amido-fosfato-PVA), tornando a estrutura do hidrogel mais estável (ZHU et al., 2015).

A modificação dos amidos com baixo teor de amilose torna-se importante, pois esses amidos quando nativo, originam géis mais frágeis (HIRSCH; KOKINI, 2002). Com isso, o intercruzamento das cadeias de amido visa o reforço da matriz polimérica, através da formação de ligações covalentes entre o amido e os grupos funcionais inseridos pelo agente de intercruzamento.

Como mencionado anteriormente, a ionização dos grupos hidroxilas podem ter acarretado em maior interação entre os polímeros do que os demais hidrogéis e desta forma foi possível obter hidrogéis dos amidos modificados com estrutura íntegra após o intumescimento.

Os hidrogéis dos amidos nativos e intercruzados gelatinizados via solução alcalina apresentaram alta integridade estrutural após o intumescimento. Por outro lado, ao serem fraturados uma estrutura interna amarelada foi observada

(Figure 17). Isto pode ter ocorrido devido ao alto teor de amilose do amido que promove a formação de um gel mais rígido. Além disso, o possível aumento das interações de hidrogênio entre as cadeias do amido pode ter sido responsável por retardar a liberação da água durante o processo de liofilização. Ao mesmo tempo, o alto teor de amilose pode aumentar a tendência a retrogradação formando poros apenas na estrutura externa dos hidrogéis.

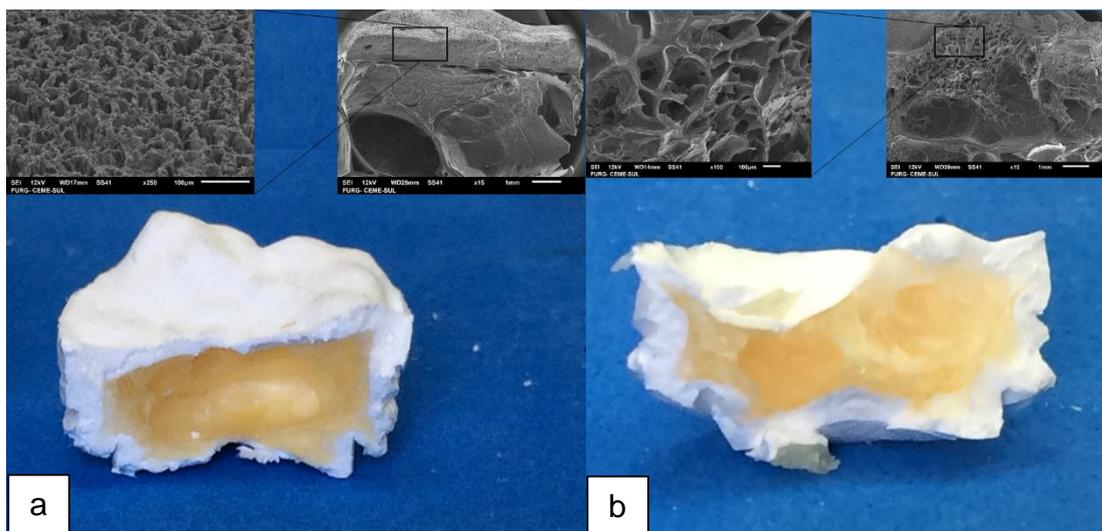


Figura 17. Estrutura interna dos hidrogéis elaborados com amidos de alta amilose, nativo (a) e inter cruzado (b), gelatinizados via método alcalino.

3.3.6 Avaliação morfológica de hidrogéis

A morfologia permite avaliar subjetivamente a formação de estruturas porosas ou não na rede tridimensional dos hidrogéis. A estrutura interna dos hidrogéis elaborados com amidos de arroz, com diferentes teores de amilose, nativos e inter cruzados, gelatinizados via método alcalino ou por aquecimento, estão apresentadas na Figura 18. Em geral, os hidrogéis apresentaram morfologia porosa, com exceção do elaborado com amido de alta amilose, gelatinizado via solução alcalina, que apresentou uma estrutura interna lisa e homogênea (Figuras 18e e 18f).

Os hidrogéis elaborados com amidos nativos de baixa e média amilose, inter cruzado e gelatinizado via método alcalino apresentaram microporos sobrepostos aos poros maiores (Figuras 18a e 18c). De acordo com Lima-Tenório et al. (2015), este tipo de morfologia em hidrogéis formam um caminho

ao logo de toda a estrutura, permitindo o transporte de água através do hidrogel, e possivelmente aumentando sua absorção, como observado na Tabela 4.

A presença de poros maiores facilita a penetração da água na estrutura dos hidrogéis, aumentando sua capacidade de intumescimento (CHANG et al., 2010). Os hidrogéis elaborados com amido de média amilose, inter cruzado e gelatinizado via alcalina, apresentaram poros homogêneos e pequenos em toda morfologia interna (Figura 18d). A elaboração de hidrogéis com alto teor de amilose não permitiu a formação de poros em sua estrutura interna (Figuras 18e e 18f), assim o intumescimento destes foram inferiores, não tendo a capacidade de absorver a água em sua estrutura.

Comparando o método de gelatinização, a gelatinização dos grânulos de amido com reagente alcalino favoreceu a formação de hidrogéis com poros arredondados e maiores quando comparado aos hidrogéis de amidos gelatinizados por aquecimento. A formação de maiores poros acarreta uma estrutura mais aberta, e conseqüentemente uma menor capacidade de absorção de água do hidrogel. Uma estrutura aparentemente mais fechada apresenta maior capacidade de reter a água, ou seja, ao ser aplicado uma força mecânica sobre o hidrogel (compressão) estes não liberarão facilmente a água retida em sua estrutura.

A gelatinização por aquecimento dos grânulos de amido resultou em hidrogéis com poros no formato tubular, distribuídos na matriz polimérica de maneira organizada. Isto pode formar canais de acesso ao interior do hidrogel, resultando em maior capacidade de absorção de água (Tabela 4). Porém, pode resultar em hidrogéis com menor estabilidade em relação à capacidade de reter água em sua estrutura, pois quando uma força de compressão é aplicada, os hidrogéis liberam a água de sua rede tridimensional, a qual é novamente absorvida quando ocorre a descompressão. Além disso, foi observada a presença de poros na parede celular dos hidrogéis, o que pode ter contribuído para uma maior absorção de água dos mesmos.

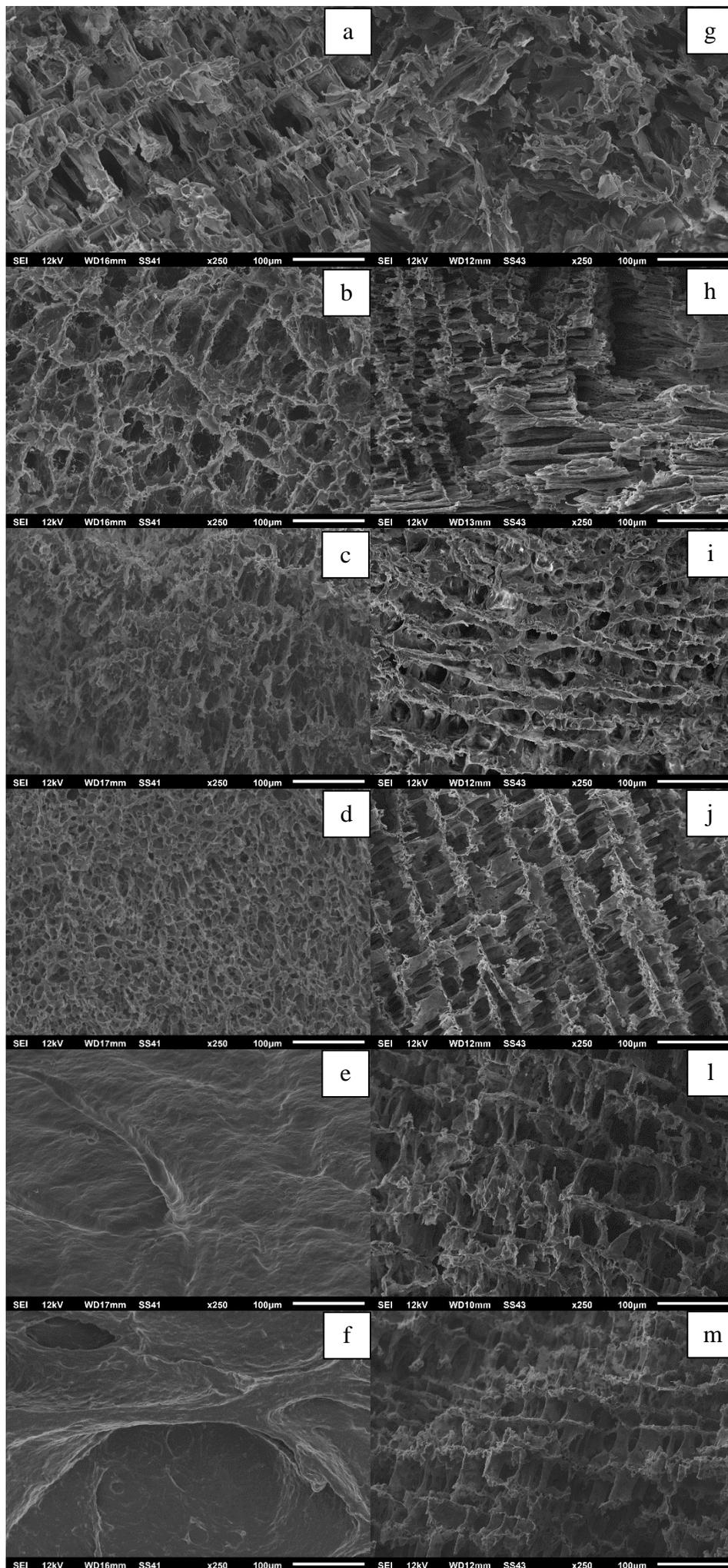


Figura 18. Hidrogéis elaborados com amidos nativos (a, c, e, g, i, l) e inter cruzados (b, d, f, h, j, m), com baixa (a, b, g, h), média (c, d, i, j) e alta (e, f, l, m) amilose, gelatinizados via método alcalino (a-f) e por aquecimento (g-m).

3.3.7 Perfil de análise em textura (TPA)

A gelatinização alcalina permitiu a formação de uma estrutura mais rígida nos amidos com alto teor de amilose (673,17 g) do que os hidrogéis elaborados pela gelatinização por aquecimento (82,46 g) (Tabela 5). Durante a gelatinização alcalina, o álcali da solução é parcialmente absorvido pelos grupos hidroxilas do amido, além disso, a maioria dos grupos hidroxilas das unidades de glicose da estrutura dos amidos são ionizadas em pH elevados, aumentando a afinidade do amido com a água (HAN; LIM, 2004). Assim, o alto teor de amilose permite uma maior ionização das hidroxilas resultando em géis mais firmes e fortes o que influencia a dureza dos hidrogéis. Não houve diferença significativa nos valores de dureza dos hidrogéis de amido de médio teor de amilose entre os métodos de gelatinização.

Em relação aos demais parâmetros de textura, a gelatinização promovida pelo aquecimento formou hidrogéis com menor gomosidade (23,33 a 61,95 g), quando comparados com os hidrogéis obtidos pela gelatinização alcalina (19,71 a 862,85 g). A coesividade é a medida da força das ligações internas que compõem a estrutura. Desta forma, a baixa coesividade dos hidrogéis do amido nativo de média amilose pode ser devido a fraca associação intermolecular. Os hidrogéis do amido de baixa amilose apresentou maior flexibilidade do que os demais hidrogéis gelatinizados por aquecimento, indicando menor rigidez e formação de um material não elástico. O teor de amilose não teve influência na flexibilidade dos hidrogéis quando estes foram elaborados via gelatinização alcalina.

O intercruzamento permitiu a formação de hidrogéis mais rígidos quando a gelatinização alcalina foi utilizada. Isto pode ter sido devido a formação de ligações covalentes no amido, o qual juntamente com a ionização das hidroxilas da solução alcalina resultou numa estrutura tridimensional mais estruturada e resistente.

Tabela 5. Perfil de análise em textura dos hidrogéis elaborados com amidos de arroz com gelatinização alcalina ou por aquecimento.

Parâmetro	Gelatinização	Teor de amilose					
		Baixo		Médio		Alto	
		Nativo	Intercruzado	Nativo	Intercruzado	Nativo	Intercruzado
Dureza (g)	Alcalina	N.A.	609,98 ± 71,55 ^b	41,29 ± 0,31 ^{c ns}	563,24 ± 211,65 ^b	673,17 ± 8,42 ^{b*}	1277,99 ± 62,98 ^a
	Aquecimento	50,67 ± 0,41 ^b	N.A.	41,94 ± 4,08 ^b	N.A.	82,46 ± 2,30 ^a	N.A.
Flexibilidade	Alcalina	N.A.	0,92 ± 0,01 ^a	0,71 ± 0,02 ^{a ns}	0,82 ± 0,17 ^a	0,85 ± 0,19 ^{a ns}	0,84 ± 0,04 ^a
	Aquecimento	0,99 ± 0,01 ^a	N.A.	0,77 ± 0,00 ^c	N.A.	0,87 ± 0,01 ^b	N.A.
Coesividade	Alcalina	N.A.	0,76 ± 0,02 ^a	0,47 ± 0,01 ^{b ns}	0,71 ± 0,04 ^a	0,65 ± 0,02 ^{a*}	0,68 ± 0,03 ^a
	Aquecimento	0,77 ± 0,02 ^a	N.A.	0,56 ± 0,04 ^b	N.A.	0,75 ± 0,02 ^a	N.A.
Gomosidade (g)	Alcalina	N.A.	485,71 ± 34,46 ^b	19,71 ± 0,17 ^{c ns}	401,52 ± 171,95 ^b	440,18 ± 17,70 ^{b*}	862,85 ± 3,68 ^a
	Aquecimento	38,78 ± 0,57 ^b	N.A.	23,33 ± 0,42 ^c	N.A.	61,95 ± 3,54 ^a	N.A.
Resiliência	Alcalina	N.A.	0,53 ± 0,03 ^a	0,10 ± 0,00 ^{b ns}	0,50 ± 0,02 ^a	0,43 ± 0,03 ^{a ns}	0,41 ± 0,08 ^a
	Aquecimento	0,47 ± 0,01 ^a	N.A.	0,11 ± 0,05 ^c	N.A.	0,29 ± 0,01 ^b	N.A.

¹Letras distintas na mesma linha, difere estatisticamente ($p \leq 0.05$) pelo teste Tukey. * ou ^{ns} na mesma linha representam significância e não significância, entre os amidos nativos e modificados para cada parâmetro, pelo teste t com 5% de probabilidade de erro. N.A.: Não analisado.

3.4 Conclusão

Os métodos de gelatinização dos amidos de arroz influenciaram nas características dos hidrogéis, acarretando na formação de géis mais firmes. Quando realizado via método alcalino, hidrogéis insolúveis em água e com alta resistência a compressão foi obtido. Além disso, o teor de amilose influenciou as propriedades dos hidrogéis, os amidos com baixo teor de amilose produziram hidrogéis parcialmente (gelatinização pelo calor) ou completamente solúveis em água (gelatinização alcalina). Os amidos com alto teor de amilose alteraram a estrutura das microestruturas dos hidrogéis pela gelatinização alcalina, com menor absorção de água e maior resistência mecânica. A modificação do amido apresentou mudanças nas características dos hidrogéis. Quando elaborados via aquecimento os amidos apresentaram viscosidade e retrogradação extremamente baixas, e, conseqüentemente, os hidrogéis foram completamente solúveis em água. A escolha do amido, assim como o método de gelatinização, dependerá de sua aplicação final.

4 Capítulo 2 – Artigo em processo de revisão

***Electrospraying* de emulsão de amido anidrido octenil succínico para
encapsulação de óleo essencial de alecrim**

Artigo em revisão no periódico *Journal of Microencapsulation*

Qualis 2012-2016 em Ciência de Alimentos: A2

Fator de impacto: 1,543

ISSN 1464-5246

Resumo

O amido anidrido octenil succínico (amido-OSA) é frequentemente utilizado como emulsificante para proteger compostos bioativos, tais como óleos essenciais. Desta forma, o objetivo deste estudo foi encapsular o óleo essencial de alecrim em emulsões de amido-OSA por *electrospraying*. A estabilidade das emulsões foi avaliada pela distribuição do tamanho das gotículas, potencial Zeta e formação de espuma. A morfologia, capacidade de carregamento e eficiência de encapsulação das cápsulas também foram avaliadas. As emulsões com 40% de etanol apresentaram formação de espuma 2h após preparação e separação de fases em 4 dias. No entanto, a emulsão com 20% de etanol, tiveram gotículas menores e menor potencial zeta, permaneceu estável por 7 dias. As cápsulas com 20 ou 30% de etanol apresentaram capsulas com uma forma esférica lisa e poucas cavidades, com baixa eficiência de encapsulação. A eficiência de encapsulação e a capacidade de carregamento foram maiores nas emulsões com 20% de etanol (82% a 98%) do que nas emulsões com 30% de etanol (89% a 96%). Em resumo, o amido-OSA produziu uma emulsão estável adequada para produção de capsulas por *electrospraying* com grande eficiência de encapsulação.

Palavras-chave: capsulas, amido-OSA, emulsão, óleo essencial, *electrospraying*

4.1 Introdução

O alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é uma erva aromática usada desde os tempos anteriores a refrigeração para a preservação de alimentos (TURASAN et al., 2015). Isto ocorre em virtude da composição do óleo essencial de alecrim compõe-se principalmente 1,8-cineole, α -pineno, cânfora, canfeno e limoneno (FERNANDES et al., 2014, CALO et al., 2015). No entanto, sua biodisponibilidade e bioatividade é diminuída devido sua instabilidade durante o processamento e estocagem.

No entanto, a encapsulação é utilizada para assegurar que os compostos ativos permaneçam intactos e ativos, desta forma, os processos de encapsulação são geralmente utilizados para prevenir reações indesejadas e a degradação. Diferentes técnicas de encapsulação são utilizadas para a encapsulação do óleo essencial de alecrim e outros compostos ativos, tais como emulsificação (KASIRI; FATHI, 2017; SHAMSARA et al., 2017), *spray-drying* (PREMI; SHARMA, 2017), e *electrospinning* (HEMAMALINI; DEV, 2017; WANG et al., 2013). Estas técnicas são frequentemente combinadas para otimizar a eficiência de encapsulação (HE et al., 2016; FIORAMONTI et al., 2017; MAREFATI et al., 2015; NIKMARAM et al., 2017, GARCÍA-MORENO et al., 2016).

Emulsão é um sistema versátil para sistemas de transporte de bioativos. Em emulsões de óleo-em-água (O/A), as gotas de óleo são dispersas na fase aquosa continua contendo o emulsificante. Diferentes polímeros emulsificantes podem ser usados para formar emulsões O/A, tal como o amido modificado com grupos polares e não polares (DAMODARAN et al., 2007). Estudos tem mostrado que sistemas a base de amido pode prover uma maior eficiência de encapsulação do que sistemas proteínas e gomas (TONON et al., 2012). Além disso, amidos modificados podem ser mais estáveis a diferentes pH e altas temperaturas do que proteínas (LIANG et al., 2013).

Amidos nativos são comumente modificados para atingir as propriedades desejadas para diferentes aplicações, incluindo encapsulação para transporte e liberação controlada. (ZHU, 2017). Os grupos hidrofóbicos, introduzidos por reação com grupos hidroxilo na molécula de amido, produz o amido esterificado com octenil anidrido succínico (amido-OSA) com propriedade de superfície ativa (BAO et al., 2003). Quando usado como emulsificante, o amido-OSA pode prover alta capacidade de carregamento, baixa viscosidade, e material com camadas interfaciais mais espessas (DOKIĆ et al., 2012).

Tem sido reportado que *electrospinning* e *electrospraying* de emulsões podem favorecer para melhorar a eficiência de encapsulação de bioativos (HU et al., 2015; GARCÍA-MORENO et al., 2016; NIKMARAM et al., 2017). O uso da técnica de *electrospinning* em emulsões é usado para produzir fibras com estrutura de núcleo-casca a fim de atrasar a liberação inicial, prolongar tempo de liberação, proteger a integridade estrutural e elevar a bioatividade (YANG et al., 2008). No entanto, Hemamalini e Dev (2017) reportaram que não foi possível produzir fibras de *electrospinning* de amido modificado, sem a mistura de outro polímero.

O objetivo deste estudo foi produzir cápsulas de emulsões de amido-OSA pela técnica de *electrospraying* e avaliar a influência do teor de etanol e óleo essencial na estabilidade das emulsões e na eficiência de encapsulação do óleo essencial de alecrim.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Material

O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*, Sigma, Brasil) foi encapsulado no amido modificado pelo reagente anidrido octenil succínico (Amido-OSA) fornecido pela empresa Ingredions Incorporated (CAPSUL®, Ingredion Canada Corporation, Canada). Este experimento foi realizado nos laboratórios do Departamento de Ciência de Alimentos da Universidade de Guelph, em Guelph, Canadá.

4.2.2 Composição do óleo essencial

O óleo essencial de alecrim foi analisado em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrofotômetro de massas (GC-MS, QP2010, Shimadzu Ultra, Japão). Uma coluna capilar (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm) revestida com 100% dimetil polissiloxano (Restek Corporation, EUA) foi usada. Uma alíquota da amostra foi diluída em hexano (1:10) e 10 µL foi injetado a 200 °C no modo split. Hélio foi usado como gás carregador, a temperatura do forno foi configurada para 60 °C por 5 min e aumentada para 180 °C com uma rampa de aquecimento de 5 °C.min⁻¹.

4.2.3 Preparação das emulsões

O amido-OSA (20%, p/v) foi dissolvido em solução aquosa contendo 20%, 30% ou 40% (v/v) de etanol. Então, o óleo essencial de alecrim foi adicionado lentamente,

nas concentrações pré-determinadas, sobre agitação de 1200 rpm por 10 min (Isotemp, Fisher Scientific, EUA). O óleo foi adicionado nas concentrações de 0, 20, 30, 40 e 50% (p/p) com base no peso do material de parede. A solução foi sonicada em ultrassom (VC 505, Sonics & Materials, Inc., EUA) à 20 kHz em ultrassom de sonda por 4 min para formar a emulsão.

4.2.4 Estabilidade das emulsões

A estabilidade das emulsões foi avaliada através das análises de distribuição do tamanho da partícula, potencial zeta e separação visual pela formação de espuma. A distribuição do tamanho das gotículas da emulsão foi medida por dispersão de luz em Mastersizer 2000S (Malvern Mastersizer 2000S, Malvern Instruments Inc, MA). As amostras foram diluídas em água destilada na célula de medição sobre agitação e temperatura ambiente. O índice de refração da fase dispersa, o óleo essencial, é 1,468 de acordo com Rodríguez-Rojo et al. (2012).

O potencial zeta das emulsões foi medido pelo método de dispersão de luz dinâmica (DLS) (Zetasizer Nano, Malvern Instruments, Worcestershire, RU). Antes da análise, as amostras foram diluídas 100 vezes em suas respectivas soluções aquosas como mencionado no item anterior.

A separação de fases da emulsão foi avaliada pela formação da espuma nas emulsões observada em temperatura ambiente. Tubos de vidro de 12 mm de diâmetro foram preenchidos com 66 mm de emulsão e a espuma formada na camada superior dos tubos foi visualmente observada (RODRÍGUEZ-ROJO et al., 2012).

4.2.5 Produção das cápsulas por *electrospraying*

O processo de *electrospraying* foi conduzido a 22 ± 2 °C e 30% de umidade relativa do ambiente, dentro de uma câmara com controle de umidade e temperatura (MLR-350; SANYO Electric Co., Japão). As emulsões do amido-OSA e óleo essencial de alecrim foram colocadas em seringas plásticas de 6 mL e bombeadas (modelo 780100; Kd Scientific Inc., Holliston, MA, USA) através de uma agulha de aço inoxidável de extremidade chata e calibre 16 (Fisher Scientific, Ottawa, ON, Canadá) com taxa de $0,6 \text{ mL.h}^{-1}$. A agulha estava conectada a um eletrodo positivo de uma fonte de alta tensão (ES30R-5W/DM; Gamma High Voltage Research, EUA) à 15 kV. O Sistema foi configurado verticalmente e a distância entre a agulha e o alvo coletor era de 20 cm.

4.2.6 Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento

A eficiência de encapsulação (EE) e capacidade de carregamento (CC) foram medidas de acordo com Moomand e Lim (2014) pela medição do óleo não aprisionado, com algumas modificações. O óleo da superfície das cápsulas foi removido pela lavagem com hexano. A absorvância do líquido contendo o óleo e hexano foi medida em espectrofotômetro. O conteúdo de óleo na fração hexano (B) foi determinada por uma curva padrão ($R^2=0,99$) preparada pela diluição do óleo essencial em hexano em diferentes concentrações. A quantidade teórica do óleo (A) foi considerada como a quantidade do óleo essencial inicialmente adicionada na solução de amido-OSA (20, 30, 40 e 50% p/p, óleo/amido-OSA). A CC e a EE foram calculadas de acordo com as equações 4 e 5, respectivamente:

$$CC = \frac{(A-B)}{C} \times 100 \quad (4)$$

$$EE = \frac{(A-B)}{A} \times 100 \quad (5)$$

Onde *A* é a quantidade teórica de óleo essencial (mg), *B* é a quantidade de óleo livre coletado na solução com hexano (mg) e *C* é o peso inicial das cápsulas (mg).

4.2.7 Morfologia das cápsulas

A morfologia das cápsulas foi avaliada utilizando microscópio eletrônico de varredura (S-570; Hitachi High Technologies Corp., Japão). Uma pequena fração das cápsulas foram coletadas do alvo metálico e fixadas na superfície do *stub* com uma fita dupla face. As amostras foram recobertas com uma camada de ouro utilizando um metalizador a vácuo (Denton Desk V, Denton Vacuum, EUA).

4.2.8 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros das cápsulas foram coletados usando um espectrômetro de FTIR (IRPrestige-21; Shimadzu Corp., Japão) equipado com acessório de refletância total atenuada (ATR) (Pike Technologies, Madison, WI, USA). As amostras foram escaneadas de 600 até 4000 cm^{-1} com 4 cm^{-1} de resolução. Uma média de 40 escaneamentos foi utilizada para cada espectro.

4.2.9 Estatística

As análises foram realizadas em triplicatas e o desvio padrão foi reportado. As medias foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância pela análise de variância (ANOVA). A comparação de dois grupos foi realizada pelo teste t à 5% de significância.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Composição do óleo essencial de alecrim

Os principais componentes do óleo essencial de alecrim estão apresentados na Tabela 6. Os monoterpenos cânfora, 1,8-cineol, α -pineno, canfeno e β -pineno foram os compostos majoritários detectados no óleo essencial. Alguns estudos reportam o 1,8-cineol como o principal constituinte do óleo essencial de alecrim (OZOGUL et al., 2017; RODRÍGUEZ-ROJO et al., 2012).

Tabela 6. Compostos majoritários do óleo essencial de alecrim determinada por CG-MS.

Composto	Área relativa (%)
Cânfora	24,3
1,8 cineol	18,7
α -pineno	15,0
Canfeno	10,2
β -pineno	4,5
Acetato de bornil	4,1
Borneol	3,9
D-limoneno	3,7
o-Cimeno	2,8
Isoborneol	2,3
α -terpineol	1,7
cariofileno	1,3

Porém, em estudos realizados por Celiktas et al. (2007), avaliaram a composição química de óleos essenciais de alecrim colhido em diferentes localizações da Turquia

e diferentes épocas do ano. Os autores relataram que o óleo essencial extraído do alecrim cultivado em *Çanakkale*, região mais fria, apresentou-se rico em cânfora, diferentemente do óleo essencial extraído da planta cultivada na região mais quente, Mersin. Além disso, testaram a atividade antimicrobiana contra diversos micro-organismos e relataram que os óleos provenientes das plantas cultivadas em *Çanakkale* apresentaram maior atividade antimicrobiana do que das plantas cultivadas nas demais regiões estudadas. Desta forma, eles concluíram que a cânfora é o composto responsável pela ação contra os micro-organismos avaliados.

O alecrim é considerado uma das fontes mais importantes para obtenção de compostos bioativos voláteis e não voláteis (OJEDA-SANA et al., 2013), sendo considerado o óleo essencial mais estudado devido suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (MEZZA et al., 2018; OZOGUL et al., 2017; TURASAN et al., 2015; FERNANDES et al., 2014). Ozogul et al. (2017) estudaram emulsões de diferentes óleos essenciais oriundos de ervas contra *Enterobacteria*, bactérias aeróbicas mesófilas e psicotrópicas. Os autores reportaram que a emulsão dos óleos essenciais de alecrim e timol (composto dos óleos essenciais de tomilho e orégano) foram os mais eficientes para a preservação de filé de peixe do que os óleos de sagu e louro. Ribeiro et al. (2013) aplicaram o óleo essencial puro em queijo coalho para o controle de *E. coli* multirresistente e reportaram uma redução na população bacteriana de 2,3 ciclos log no período de 24 h.

4.3.2 Estabilidade das emulsões

As emulsões foram preparadas em uma solução aquosa com etanol para facilitar a evaporação do solvente durante o processo de *electrospraying*. Além disso, o etanol pode reduzir a tensão interfacial e aumentar a estabilidade das emulsões (DICKINSON, 1998). Assim, a distribuição de tamanho e o potencial zeta (ZP) das emulsões foram medidos como um indicador de estabilidade contra coalescência e agregação.

A distribuição do tamanho das gotículas das emulsões logo após o preparo está ilustrada na Figura 19. A emulsão produzida com 20% de etanol apresentou o menor tamanho de partícula na suspensão, apresentando um pico principal na curva de distribuição, exceto quando a emulsão foi elaborada com 50% de óleo essencial, onde dois picos de distribuição foram observados. Um considerável aumento no tamanho de partícula é observado quando a concentração de etanol é maior.

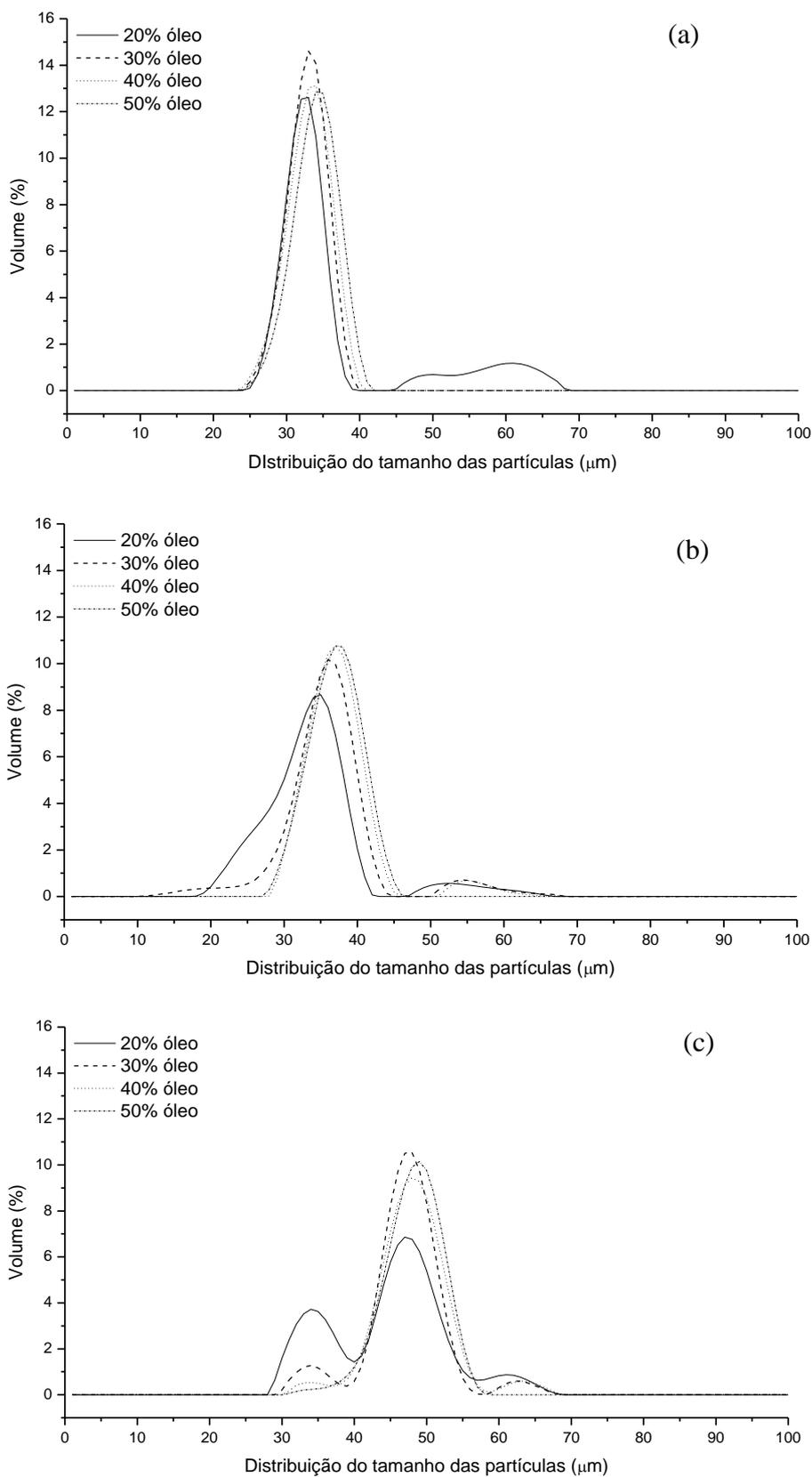


Figura 19. Distribuição do tamanho da partícula das emulsões de amido-OSA e óleo essencial de alecrim, em solução aquosa com 20% (a), 30% (b) e 40% (c) de etanol.

A solução produzida com 40% de etanol produziu uma emulsão instável, apresentando dois ou três picos de distribuição do tamanho de partícula. Isso pode ter ocorrido, devido a solubilidade do amido-OSA em água (DOKIĆ et al., 2012).

Agboola (1996) estudou emulsões preparadas com proteína de leite em diferentes concentrações de etanol e observou que nenhuma agregação ocorreu em concentrações de etanol menores que 40%. Além disso, houve um deslocamento da curva em direção ao tamanho maior de partículas ocasionando o aumento na distribuição do tamanho de partícula. Resultados similares foram encontrados neste estudo, segundo Dickinson (2009), a solubilidade do óleo em etanol favorece o processo de *Ostwald ripening*, no qual as gotículas menores se difundem nas gotículas maiores fazendo com que estas aumentem seu tamanho até que as gotículas menores desapareçam. Quando isso ocorre, o deslocamento da curva de distribuição em direção ao tamanho de partícula maior é observado, mesmo que não ocorra o aparecimento de um segundo pico.

As distribuições do tamanho de partícula ao longo de 7 dias estão mostradas no Apêndice B. Foi observado que as emulsões elaboradas com 20% de etanol apresentaram maior estabilidade em relação as demais concentrações de etanol. Apresentando ao longo dos 7 dias, um pico principal de distribuição com início de formação de um segundo pico. Porém, ocorreu um deslocamento da curva em todas as concentrações de óleo estudadas. Quando as emulsões foram elaboradas com 30 e 40% de etanol, as emulsões apresentaram dois picos de distribuição, sendo que o segundo pico foi intensificando-se ao longo dos 7 dias de estudo.

O ZP é o potencial no plano de cisalhamento de uma partícula coloidal que se move sob campo elétrico (KASZUBA et al., 2010). O potencial elétrico de uma superfície é a quantidade de trabalho que precisa ser feito para trazer uma carga positiva unitária do infinito para a superfície sem qualquer aceleração. O ZP reflete a diferença de potencial entre a camada dupla elétrica de partículas móveis eletroforicamente e a camada de dispersante ao redor deles no plano de cisalhamento (BHATTACHARJE, 2016). Desta forma, o ZP é um utilizado como indicador indireto da tendência a agregação das partículas (RIBEIRO et al., 2010). Valores negativos de ZP, variando de -17,73 a -3,14 mV (Figura 20), são atribuídos aos grupos carboxílicos do amido-OSA. Valores mais elevados de ZP (em módulo) indicam alta estabilidade das emulsões devido à alta repulsão entre as gotículas (DINDA et al., 2013; SHARIF et al., 2016). As emulsões preparadas com 20% e 30%

de etanol apresentaram maior estabilidade, com poucas alterações durante os 7 dias de armazenamento. Além disso, as emulsões com 30% e 40% de óleo essencial apresentaram maior estabilidade com valores de ZP entre -17,73 e -12,23 mV (Apêndice C).

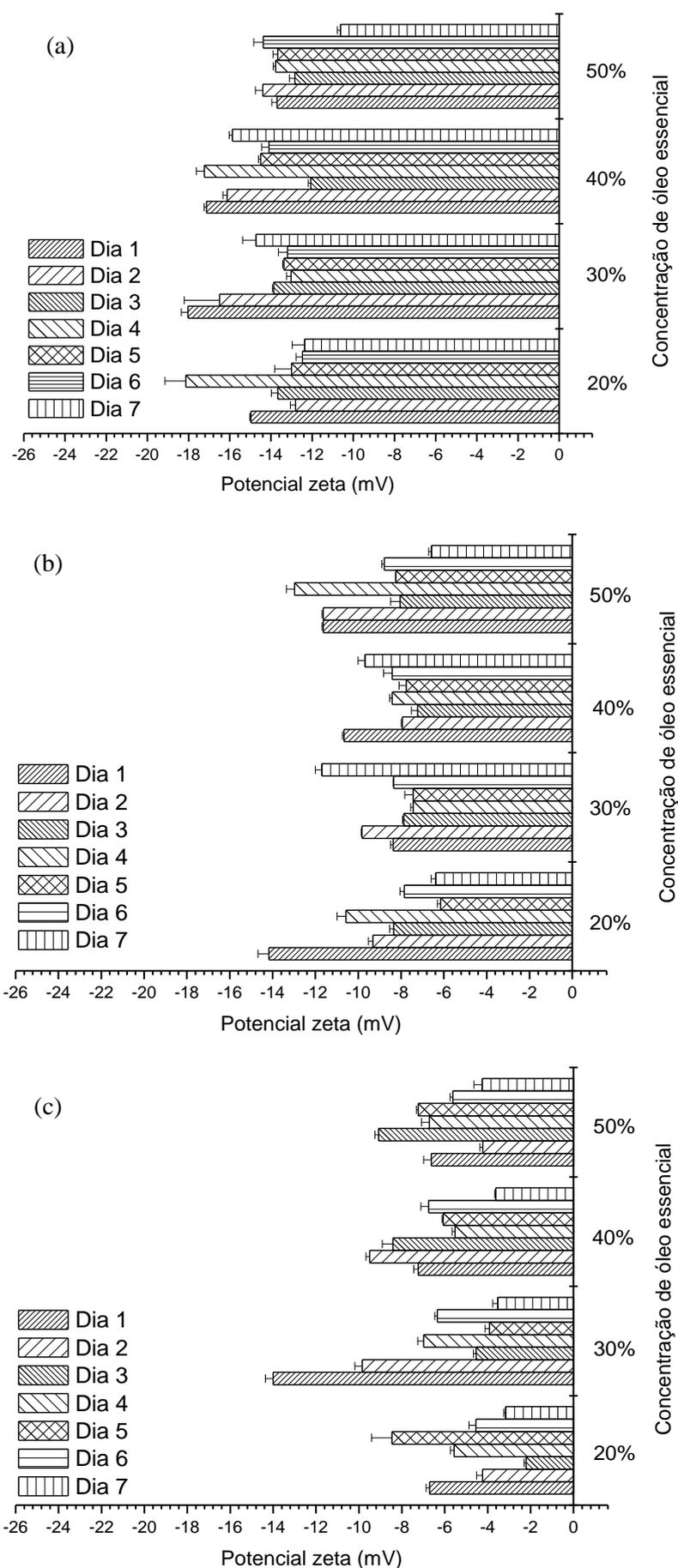


Figura 20. Potencial zeta das emulsões elaboradas com 20% (a), 30% (b) e 40% (c) de etanol e diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim, durante 7 dias

Uma redução nos valores de ZP foi observado com o aumento da concentração de etanol indicando a agregação das gotículas. Os valores de ZP na emulsão de 40% de etanol variou entre -14,33 e -3,14, indicando baixa estabilidade e alta tendência de agregação das gotículas da emulsão.

A formação de espuma nas emulsões preparadas com 40% de etanol foi observada em menos de 2 h (Figura 21). O aumento na concentração do óleo essencial na emulsão resultou numa separação de fases mais rápida. No entanto, quando as emulsões foram preparadas com 20 e 30% de óleo essencial as emulsões foram mais estáveis do que as maiores concentrações de óleo, com pouca formação de espuma em 7 dias. As emulsões com 30% de etanol não apresentaram a formação de espuma no topo do tubo, porém uma fina camada de óleo essencial foi observada. Segundo Kong et al. (2006), em uma emulsão instável as gotas de óleo se concentram na interface água/ar criando a espuma no topo da emulsão até que essas gotas se espalhem formando uma fina camada de óleo em cima da solução.

Essas observações implicam que uma emulsão etanólica estável de amido-OSA pode ser produzida, desde que a concentração de etanol não ultrapasse 30%. Com base nisso, o processo de *electrospraying* foi realizado com as emulsões produzidas com 20% e 30% de etanol com a concentração de óleo variando de 0 a 50%.

4.3.3 Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento

A EE e CC das cápsulas estão apresentadas na Tabela 7. A EE mede a eficiência da cápsula de reter o óleo essencial de alecrim e a CC mede a quantidade de óleo essencial por unidade de massa de amido-OSA (MOOMAND; LIM 2014). As cápsulas com 20% de etanol apresentaram maior EE e CC do que quando usado 30%. A EE e CC são influenciadas pelas propriedades da solução, emulsões com baixa estabilidade resultam em maior concentração de óleo na superfície das cápsulas (óleo não aprisionado) e menor retenção de voláteis (DRODOU et al., 2017). Assim, os maiores valores de EE e CC observados na emulsão elaborada com 20% de etanol podem ser atribuídos à maior estabilidade dessas emulsões, estando em concordância com os resultados de ZP, distribuição do tamanho de partícula e formação de espuma apresentados anteriormente.

Tabela 7. Eficiência de encapsulação e capacidade de carregamento das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim produzidas com diferentes teores de etanol.

Óleo essencial de alecrim (%) ¹	Eficiência de encapsulação (%)		Capacidade de carregamento (%)	
	Etanol (%)			
	20	30	20	30
20	96,36 ^{a ns} ± 2,56	92,78 ^a ± 0,67	19,27 ^{d ns} ± 0,51	18,56 ^d ± 0,13
30	82,55 ^{b *} ± 1,29	96,66 ^a ± 2,13	24,76 ^{c *} ± 0,39	29,00 ^c ± 0,64
40	98,08 ^{a *} ± 0,59	89,88 ^a ± 1,24	39,23 ^{b *} ± 0,24	35,95 ^b ± 0,50
50	98,50 ^{a ns} ± 1,58	96,12 ^a ± 2,98	49,94 ^{a ns} ± 0,95	48,06 ^a ± 1,49

¹Letras distintas na mesma coluna, difere estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo teste Tukey. * ou ^{ns} na mesma linha representam significância e não significância, entre 20 e 30% de para cada parâmetro, pelo teste t com 5% de probabilidade de erro.

He et al. (2016) e Domian et al. (2018) reportaram uma EE de aproximadamente 98% quando encapsularam ácido linoleico conjugado e óleo de linhaça, respectivamente, em emulsões de amido-OSA por *spray-drying*. Outros autores reportaram uma EE de 70-80% quando β -caroteno foi encapsulado em emulsão de amido-OSA por precipitação (PAZ et al., 2014). Esses estudos mostraram que o processo de *electrospraying* é uma técnica viável para a produção de cápsulas a partir de emulsões com alta eficiência de encapsulação, devido ao não uso de calor, diferente do que acontece em sistemas convencionais como *spray-drying*.

4.3.4 Morfologia das cápsulas

As cápsulas de emulsão de amido-OSA são normalmente produzidas por *spray-dry* e apresentam superfície dentadas que se assemelham a buracos (FERNANDES et al., 2014; HE et al., 2016; DOMIAN et al., 2018). As cápsulas produzidas nesse estudo (Figura 22) apresentaram forma esférica lisa sem fissuras na parede das cápsulas, característica importante para evitar a perda de compostos voláteis. O aumento da concentração do óleo essencial não alterou a morfologia das cápsulas. Algumas amostras apresentaram buracos na matriz das cápsulas. Segundo Gómez-Mascaraque et al. (2017), esses buracos sugerem que o óleo pode não ter sido bem aprisionado na estrutura encapsulada, sugerindo que as gotículas de óleo não foram atraídas com sucesso para a estruturas interna durante o encapsulamento. Assim os buracos observados nas cápsulas elaboradas com 30% de óleo essencial e 20% de etanol está relacionado com o menor EE relatado anteriormente.

Óleo (%)

Etanol (%)

20

30

0%

20%

30%

40%

50%

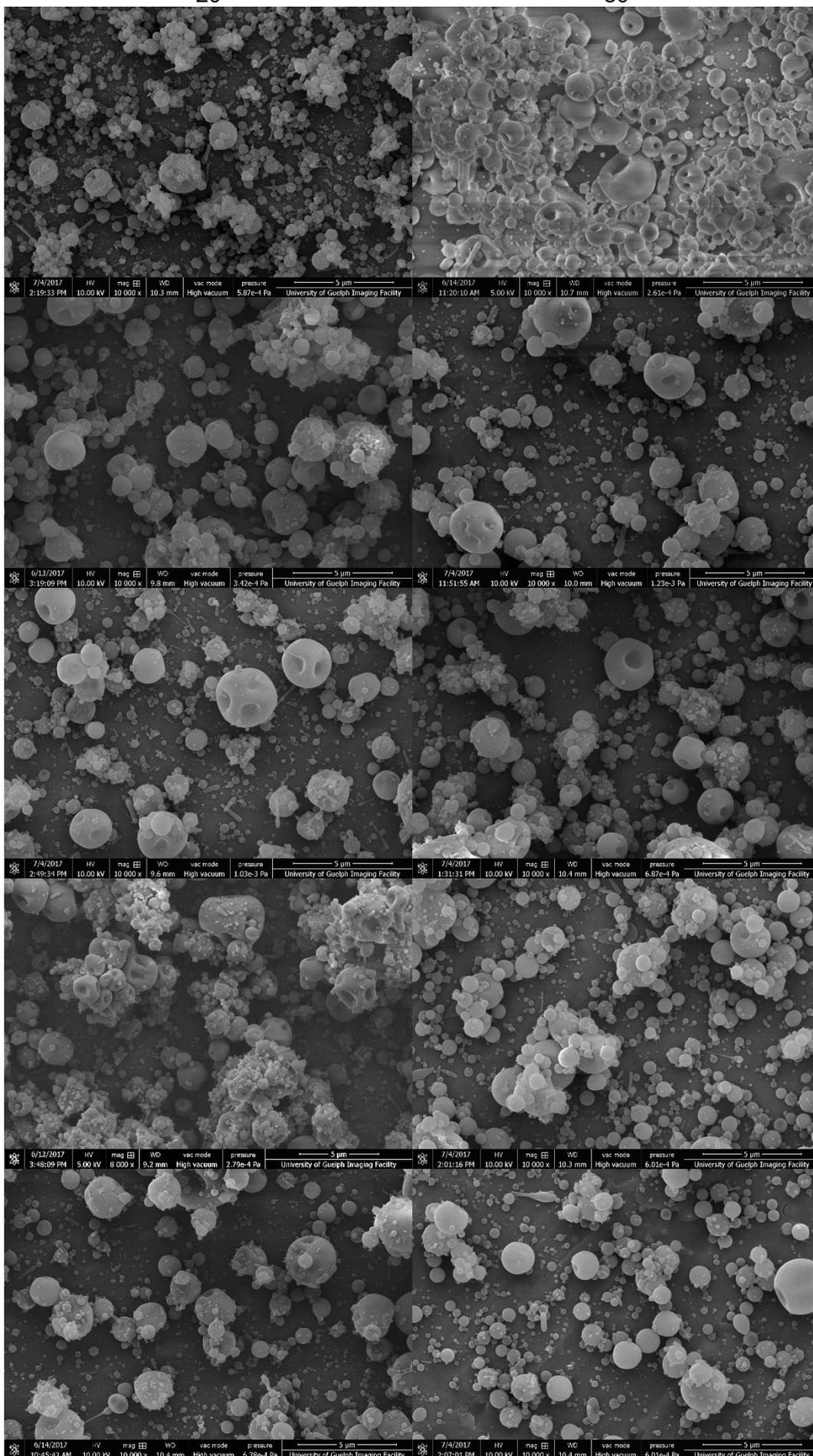


Figura 22. Morfologia das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações (0, 20, 30, 40 e 50%) produzidas com diferentes teores de etanol (20 e 30%)

4.3.5 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de ATR-FTIR do amido-OSA e óleo essencial puros e das cápsulas estão apresentados na Figura 23. Os espectros indicam que nenhuma banda nova apareceu nas cápsulas analisadas, desta forma, é possível afirmar que não foram formados novos grupos funcionais. A banda na extremidade em torno de 3330 cm^{-1} está associada aos grupos hidroxílicos e a banda em 2924 cm^{-1} é referente as vibrações de alongamento C-H do amido. A banda em 1746 cm^{-1} corresponde ao grupo da esterificação do amido-OSA, resultante das ligações C=O e C=C (LIN et al., 2017).

A banda em 2950 cm^{-1} , característica do óleo essencial de alecrim, mostrou um leve deslocamento na amostra com 30% de etanol quando o conteúdo do óleo era 30 e 50%. Segundo Kringel et al. (2017), mudanças nas características das bandas das moléculas hospedeiras, tais como o desaparecimento ampliação e variações na intensidade do pico, podem indicar uma interação do óleo essencial com a cavidade do material da parede. Essas descobertas sugerem que o óleo essencial foi incorporado com sucesso nas cápsulas, conforme confirmado pela análise EE.

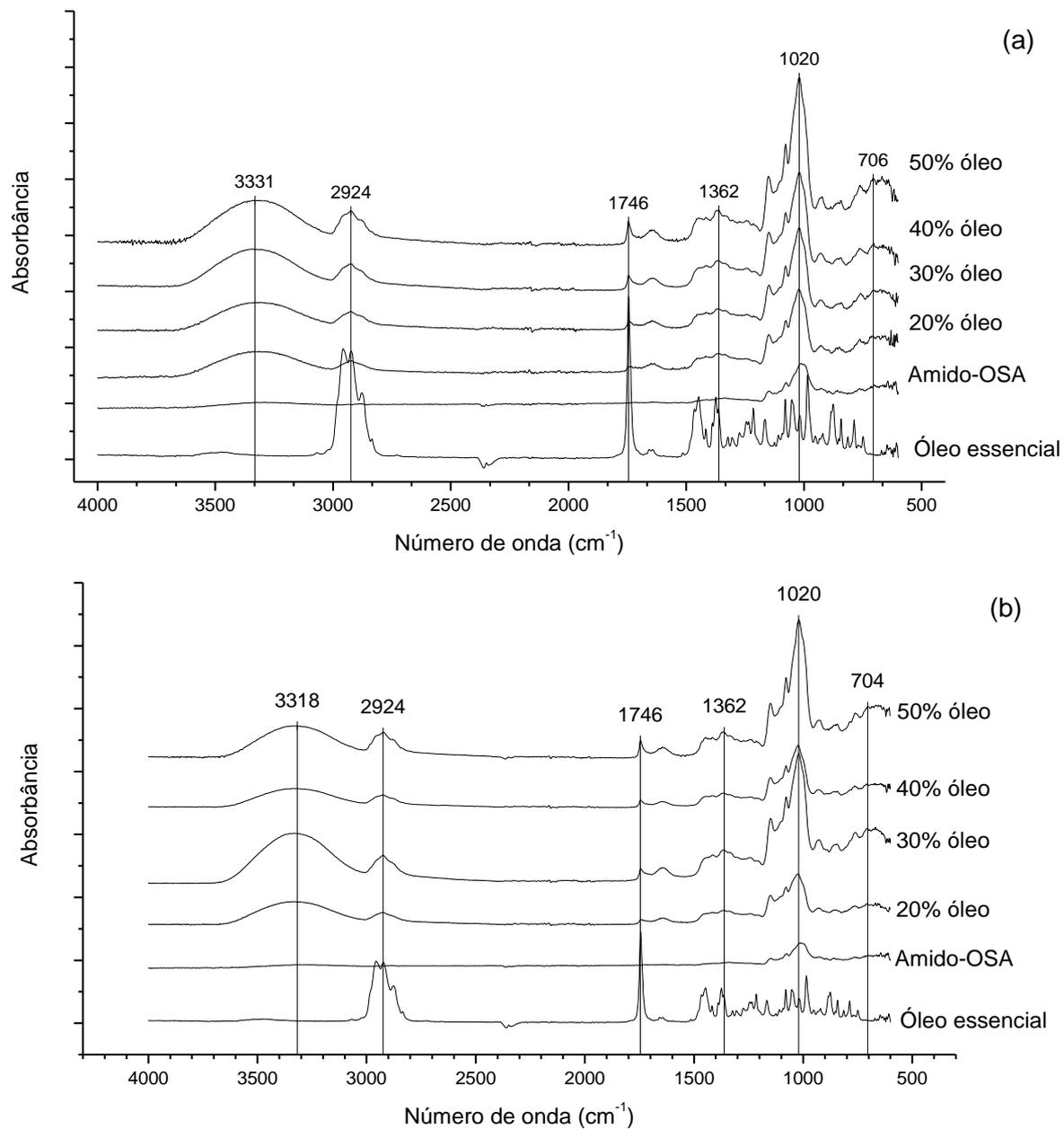


Figura 23. Espectros de FTIR das cápsulas de amido-OSA e óleo essencial de alecrim produzidas com diferentes teores óleo e solução aquosa com 20% (a) e 30% (b) de etanol.

4.4 Conclusão

As cápsulas elaboradas a partir da emulsão com amido modificado por OSA foram produzidas com sucesso pela técnica de *electrospraying*. A concentração de 40% de etanol na solução aquosa não permitiu a formação de uma emulsão estável. Porém, a utilização de 20% ou 30% de etanol proporcionou a obtenção de emulsões estáveis e de cápsulas com morfologia esféricas e lisas com alta eficiência de encapsulação (superior a 82%).

Emulsões mais estáveis e com menor tendência de agregação das gotículas e alta eficiência de encapsulação foi obtida quando utilizado 20% de etanol e concentrações de óleo essencial de 40% ou 50% (98% de EE). O aumento do teor de óleo alterou minimamente as propriedades das emulsões e das cápsulas, mostrando que o amido-OSA tem uma grande capacidade de carregamento. As cápsulas podem ser aplicadas na preservação de alimentos, como proporcionar atividades antimicrobianas em queijo, carne e embalagens ativas em geral.

5 Capítulo 3 – Artigo a ser submetido

Atividade antibacteriana de hidrogéis bioativos de amido de arroz inter cruzado e emulsão de amido-OSA com óleo essencial de alecrim

Artigo escrito para o periódico *International Journal of Biological Macromolecules*

Qualis 2012-2016 em Ciência de Alimentos: A1

Fator de impacto: 3,671

ISSN 0141-8130

5.1 Introdução

A área de embalagens de alimentos continua a evoluir, devido aos avanços da ciência e tecnologia de materiais, bem como a demanda em virtude de mudanças de hábitos dos consumidores. A embalagem não é essencial apenas para conter e proteger o alimento durante o transporte e armazenamento, mas também para facilitar a utilização do produto bem como informar o consumidor sobre a qualidade do alimento (MIHINDUKULASURIYA; LIM, 2014). Em sistemas de embalagens avançados, essas funções são aumentadas através de mecanismos interativos conduzidos por processos físicos, químicos e/ou biológicos. Embalagens ativas tem a função de fornecer proteção e preservar os alimentos através de algum mecanismo ativado por fatores intrínsecos e/ou extrínsecos. Com estas funções importantes, a área de embalagens tornou-se a terceira maior indústria do mundo e representa cerca de 2% do Produto Interno Bruto (PIB) em países desenvolvidos (HAN, 2005).

A utilização de hidrogéis em embalagens para produtos alimentícios é promissor, especialmente, devido à biodegradabilidade e a possibilidade de incorporar e imobilizar células e compostos bioativos (FARRIS et al., 2009). O desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de compostos está diretamente ligado a utilização de sistemas matriciais permeáveis à água e capazes de reter ou adsorver, transportar e liberar as substâncias eficientemente (NETO et al., 2005; GONSALVES et al., 2011).

Os hidrogéis também podem oferecer novas oportunidades para a elaboração de materiais de embalagem a partir de biopolímeros eficientes com propriedades desejáveis. Os biopolímeros obtidos a partir de recursos renováveis ganharam atenção por razões econômicas e ambientais. Desta forma, a utilização de polímeros como a amido para a elaboração dos hidrogéis e como material de parede para a encapsulação de compostos ativos é promissor para o desenvolvimento de biomateriais, como hidrogéis bioativos.

Nos últimos anos, as plantas aromáticas e seus extratos têm sido examinadas quanto à sua eficácia para aplicações na segurança alimentar e preservação de alimentos (FISHER; PHILLIPS, 2008; GYAWALI; IBRAHIM, 2014; PRAKASH et al., 2015). Estas propriedades são atribuídas aos óleos essenciais que são naturalmente antimicrobianos, além de possuírem atividades antioxidante (CALLAWAY et al., 2011). O controle de bactérias deteriorantes e patogênicas de origem alimentar é alcançada principalmente por controle químico, mas o uso de produtos químicos sintéticos é limitado devido a aspectos indesejáveis, incluindo carcinogenicidade, toxicidade

aguda, teratogenicidade e os períodos de degradação lenta, o que poderia levar a problemas ambientais, como a poluição. A percepção pública negativa de antimicrobianos sintéticos utilizados em produtos alimentícios tem gerado interesse no uso de compostos naturais de plantas (FALEIRO, 2011). As atividades biológicas ou antimicrobianas dos óleos essenciais estão diretamente correlacionadas com a presença de seus componentes voláteis bioativos, que são produzidos pelas plantas em resposta a estímulos externos, como estresse (MAHMOUD; CROTEAU, 2002).

Com base nisso, o objetivo deste trabalho foi elaborar hidrogéis a base de amido de arroz e poli(álcool vinílico) incorporados de emulsão de amido-OSA e óleo essencial de alecrim com ação antibacteriana.

5.2 Materiais e métodos

5.2.1 Material

Os grãos de arroz do cultivar IRGA-406, contendo 20% de amilose, foram escolhidos com base nos resultados do estudo feito por Biduski et al. (2018). O óleo essencial de alecrim (OEA) (*Rosmarinus officinalis* L., Sigma, Brasil) foi encapsulado no amido anidrido octenil succínico (Amido-OSA) fornecido pela empresa *Ingredions Incorporated* (CAPSUL®, *Ingredion Canada Corporation*, Canadá). Este experimento foi realizado nos Laboratórios do Departamento de Ciência e Tecnologia de Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas.

5.2.2 Extração e modificação do amido para elaboração do hidrogel

As amostras de arroz livres de impurezas foram moídas para a obtenção da farinha de arroz. A extração de amido a partir da farinha de arroz foi realizada pelo método alcalino descrito por Colussi et al. (2014). A modificação dos amidos foi realizada por intercruzamento utilizando trimetafosfato de sódio (TMFS) de acordo com método descrito por Woo e Seib (1997), com modificações sugeridas por Biduski et al. (2018). O amido intercruzado apresentou teor de fósforo de 0,058 como reportado em Biduski et al. (2018).

5.2.3 Preparação das emulsões

O amido-OSA (20%, p/v) foi dissolvido em solução tampão de fosfato de sódio 10 Mm (pH 7,0) ou em água, de acordo com o método de elaboração do hidrogel. O

óleo essencial de alecrim foi adicionado lentamente, sobre agitação de 1200 rpm por 10 min (Isotemp, Fisher Scientific, USA). O óleo foi adicionado na concentração de 30% (p/p) com base no peso do material de parede. A solução foi sonicada (VC 505, Sonics & Materials, Inc., USA) à 20 kHz por 4 min para formar a emulsão. A emulsão foi diluída em água ou solução tampão e a concentração de 1% de óleo essencial (p/v) da solução de hidrogel foi obtido.

5.2.4 *Elaboração dos hidrogéis bioativos*

Os hidrogéis foram elaborados pela adição da emulsão em diferentes etapas da elaboração dos hidrogéis como mencionado a seguir. Posteriormente os hidrogéis foram dispersos em moldes de 20 mm de diâmetro e 10 mm de altura e liofilizados.

Hidrogel controle: Uma suspensão de amido de arroz (3 g de amido em 20 mL de água destilada) foi aquecida a 55 °C e gelatinizada pela adição de 0,5 mL de NaOH 50%. Em seguida uma solução de 10% de PVA (1 g de reagente/10 mL de água) foi adicionado ao amido gelatinizado e mantido a 55°C por 30 min. A solução foi agitada em ultraturrax por 1 min.

Adição da emulsão após gelatinização: Uma suspensão de amido de arroz (3 g de amido em 20 mL de água destilada) foi aquecida a 55 °C e gelatinizada pela adição de 0,5 mL de NaOH 50%. Em seguida uma solução de 10% de PVA (1 g de reagente/10 mL de água) foi adicionado ao amido gelatinizado e mantido a 55°C por 30 min. Após, a emulsão de óleo essencial de alecrim e amido-OSA foi adicionada no hidrogel. A mistura foi agitada a 15 000 rpm por 1 min.

Diluição da emulsão em água antes da gelatinização: A emulsão de óleo essencial de alecrim e amido-OSA foi diluída em água para obter uma concentração final de OE de 1% (p/v). O amido de arroz foi adicionado à emulsão diluída e a suspensão foi aquecida a 55 °C e gelatinizada pela adição de 0,5 mL de NaOH 50%. Em seguida uma solução de 10% de PVA (1 g de reagente/10 mL de água) foi adicionado ao amido gelatinizado e mantido a 55°C por 30 min.

Diluição da emulsão em solução tampão antes da gelatinização: A emulsão de óleo essencial de alecrim e amido-OSA foi diluída em solução tampão para obter uma concentração final de OE de 1% (p/v). O amido de arroz foi adicionado a emulsão diluída e a suspensão foi aquecida a 55 °C e gelatinizada pela adição de 0,5 mL de NaOH 50%. Em seguida uma solução de 10% de PVA (1 g de reagente/10 mL de água) foi adicionado ao amido de arroz gelatinizado e mantido a 55°C por 30 min.

5.2.5 Absorção de água dos hidrogéis

A capacidade de absorção de água dos hidrogéis bioativos foi realizada pela imersão em água destilada de acordo com o método D570 (ASTM, 2010). A medida foi realizada por pesagem das amostras liofilizadas e após 24h de imersão em água destilada a temperatura ambiente. A capacidade de absorção foi medida gravimetricamente de acordo com a Equação 6.

$$\text{Capacidade de absorção (\%)} = \frac{\text{Peso}_{\text{intumescido}} - \text{Peso}_{\text{seco}}}{\text{Peso}_{\text{seco}}} * 100 \quad (6)$$

5.2.6 Avaliação ótica dos hidrogéis

Os hidrogéis liofilizados e intumescidos foram fotografados e avaliados quanto a integridade estrutural após a imersão em água destilada por 24 h.

5.2.7 Avaliação morfológica de hidrogéis

A morfologia interna dos hidrogéis liofilizados foi avaliada utilizando microscópio eletrônico de varredura (JEOL JSM-6610LV, Japão). Os hidrogéis foram quebrados com nitrogênio líquido e fixados na superfície do *stub* com uma fita de carbono dupla face. As amostras foram recobertas com uma camada de ouro utilizando um metalizador a vácuo (Denton Desk V, Denton Vacuum, EUA).

5.2.8 Perfil de análise em textura (TPA)

O TPA dos hidrogéis intumescidos foi realizado em texturômetro (TA.XTplus, Stable Micro Systems, Reino Unido) utilizando dois ciclos de compressão. As amostras tiveram 50% da sua altura inicial comprimida em uma velocidade de 5 mm.s⁻¹ por uma sonda cilíndrica de 36 mm de diâmetro.

5.2.9 Atividade antibacteriana do óleo essencial de alecrim

A atividade antibacteriana foi avaliada utilizando 3 bactérias Gram negativa: *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442.

5.2.9.1 *Difusão em ágar*

A análise de disco difusão em ágar é útil para uma verificação preliminar da atividade antibacteriana, identificando quais bactérias são sensíveis ao agente antibacteriano (BURT, 2004). Desta forma, a eficiência do óleo essencial contra os micro-organismos mencionados foi avaliada pela técnica de disco difusão (CLSI, 2017), onde uma suspensão celular bacteriana ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL – 0,5 McFarland) foi inoculada na superfície do ágar *Brain Heart Infusion* (BHI-Oxoid®) em placas de petri. Para análise do óleo essencial, discos de papel filtro estéreis (Laborclin®) foram dispostos sobre o ágar e adicionados de 10 µL de óleo essencial de alecrim. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C e a existência de halos de inibição ao redor dos discos caracteriza resultado positivo. O diâmetro, expresso em mm, foi medido com paquímetro digital. Um controle negativo foi realizado com a adição de água destilada ao invés do óleo essencial.

5.2.9.2 *Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima*

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial de alecrim foi avaliada pelo teste de microdiluição em placa (CLSI, 2017). O óleo essencial (50 µL) foi adicionado nos poços contendo ágar BHI e Tween 80 (1% v/v; 50 µL) e contendo a suspensão bacteriana (50 µL) para cada uma das bactérias testadas. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Foi considerado como CIM a maior diluição onde não houve alteração na cor, conseqüentemente não houve, crescimento celular (OJEDA-SANA et al., 2013).

Para detectar a Concentração Bactericida Mínima (CBM), foram inoculadas em ágar BHI alíquotas de 10 µL, de cada poço onde houve inibição no teste da CIM. Foi considerado como CBM a menor concentração onde não foi observado crescimento bacteriano nas placas de petri.

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Absorção de água dos hidrogéis bioativos

A absorção de água dos hidrogéis bioativos de amido de arroz inter cruzado e emulsão de óleo essencial de alecrim e amido-OSA está apresentada na Tabela 8. A adição da emulsão após a gelatinização por agitação em ultraturrax acarretou em hidrogel com menor absorção de água. Isso pode ter ocorrido, pois a agitação intensa influencia na viscosidade do gel formado e conseqüentemente na retrogradação do amido. O mesmo ocorreu com o hidrogel elaborado com solução tampão. Neste caso, a solução tampão pode ter diminuído a ionização das hidroxilas do amido, ocasionando menor viscosidade do material. O hidrogel elaborado pela diluição da emulsão em água e adição antes da gelatinização apresentou a maior absorção de água. Isto está relacionado com a formação dos poros pequenos observado na avaliação morfológica dos hidrogéis.

Tabela 8. Absorção de água dos hidrogéis bioativos.

Hidrogéis		Absorção água (%)
Adição da emulsão ¹	Diluição	
Controle	Água	551,8 ± 22,6 ^b
	Tampão	471,2 ± 7,6 ^c
Antes da gelatinização	Água	664,4 ± 28,3 ^a
	Água	421,9 ± 10,5 ^c

¹ Letras minúsculas distintas na mesma coluna difere estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo teste Tukey.

5.3.2 Avaliação ótica dos hidrogéis bioativos

Os hidrogéis fotografados após a imersão em água estão apresentados na Figura 24. Os hidrogéis liofilizados apresentaram estrutura semelhante, de coloração branca (hidrogel controle) ou levemente amarela (hidrogéis bioativos) e estrutura contínua, independentemente do método de adição da emulsão.

Os hidrogéis mantiveram sua integridade estrutural, bem como o tamanho e formato após o intumescimento, independentemente do método de adição da emulsão. A coloração homogênea dos hidrogéis elaborados é um indicativo de uma mistura eficiente da emulsão na solução do hidrogel. No entanto, os hidrogéis elaborados com a diluição da emulsão em água e sua utilização antes da gelatinização apresentaram coloração amarelada na parte inferior do hidrogel (Figura 25), indicando

uma separação de fases. Esse fenômeno pode ser um indicativo da desestabilização da emulsão pela adição da solução alcalina para o processo de gelatinização, o qual foi evitado pela utilização do tampão fosfato de sódio.

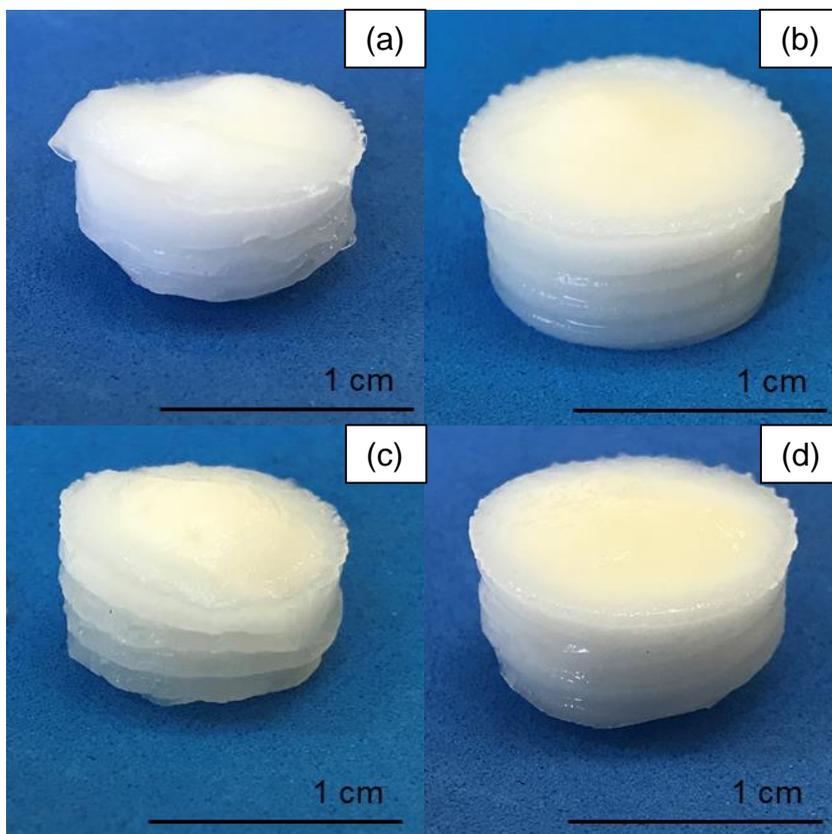


Figura 24. Hidrogéis bioativos hidratados elaborados com amido de arroz modificado (a) com diluição da emulsão com solução tampão (b), em água (c), mistura via ultraturrax (c).

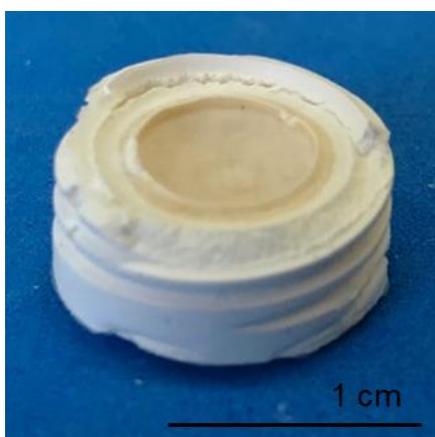


Figura 25. Representação da porção inferior dos hidrogéis liofilizado elaborados com adição da emulsão diluída em água antes da gelatinização.

5.3.3 Avaliação morfológica dos hidrogéis ativos

A morfologia interna dos hidrogéis estão apresentados na Figura 26. O hidrogel elaborado sem adição da emulsão apresentou poros maiores que os demais hidrogéis, justificando a menor absorção de água (Tabela 8). Isso pode ter ocorrido pela agitação intensa realizada pelo ultraturrax, o qual diminui a viscosidade do meio, reorganizando as moléculas do amido e afetando a sua retrogradação, ocasionado em poros maiores do que hidrogel elaborado sem agitação (Figura 18). A estrutura mais aberta dos hidrogéis controle acarreta em uma menor capacidade de absorção de água.

O hidrogel elaborado com solução tampão apresentou estrutura irregular, com poros não definidos (Figura 26c), quando comparados com os demais hidrogéis elaborados. Isso pode ter ocorrido, devido a solução tampão impedir ou retardar a ionização das hidroxilas das moléculas de amido. As hidroxilas das moléculas do amido são ionizadas em pH elevado (HAN; LIM, 2004), assim, a afinidade com a água pode ter sido reduzida pelo pH neutro da solução tampão.

Os hidrogéis elaborados sem a presença da solução tampão apresentaram poros de tamanhos variados e irregulares (Figuras 26d e 26e). Os hidrogéis elaborados com a adição da emulsão, diluída em água, antes a gelatinização apresentaram poros arredondados de diferentes tamanhos ao longo de sua estrutura, semelhante a amostra controle (Figura 26d). Pequenos poros são responsáveis por reter a água na estrutura dos hidrogéis, justificando sua maior absorção de água em relação as demais amostras. Quando a adição da emulsão foi feita após a gelatinização com a mistura feita pelo ultraturrax, os poros perderam sua estrutura mais organizada, com a presença de aglomerações ao longo da estrutura. A utilização do ultraturrax na amostra sem adição da emulsão (controle) (Figura 26a) acarretou em poros maiores, possivelmente pela diminuição da viscosidade, devido a agitação intensa afetando a estrutura do hidrogel após sua reticulação.

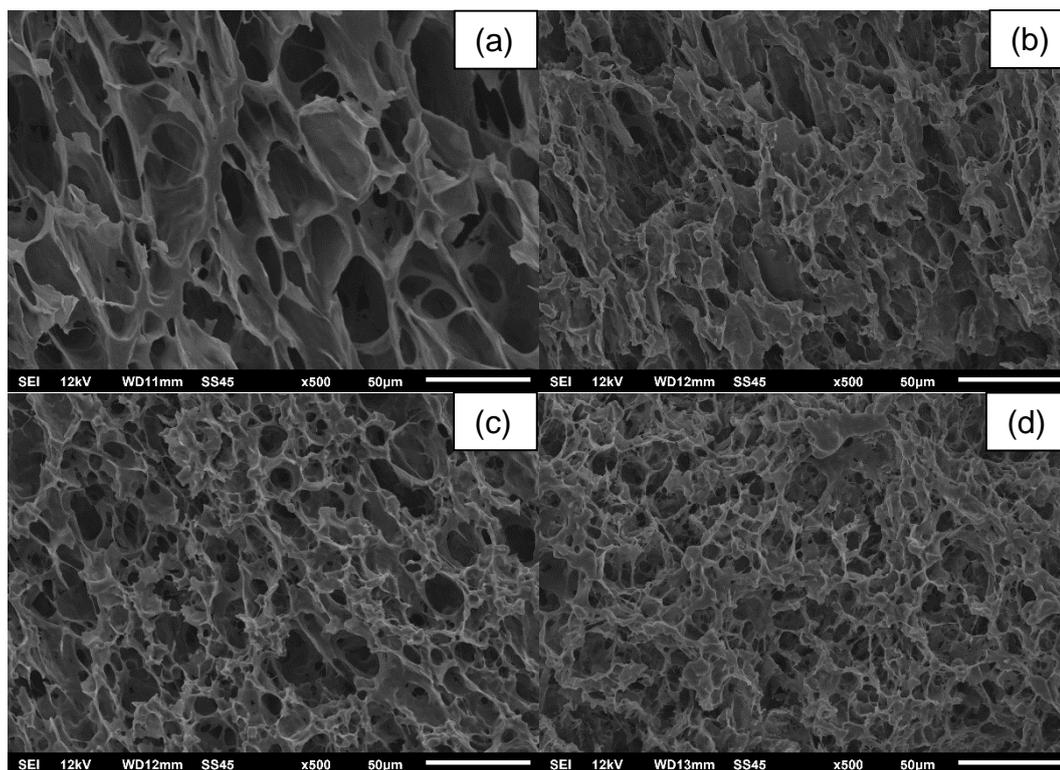


Figura 26. Morfologia interna dos hidrogéis bioativos: controle (a), emulsão diluída em solução tampão (b), e em água (c) e emulsão misturada com ultraturrax (d).

5.3.4 Perfil de análise de textura (TPA) dos hidrogéis bioativos

O perfil de análise de textura dos hidrogéis está apresentado na Tabela 9. O método de adição da emulsão no hidrogel influenciou na sua resistência, ocasionando uma redução da dureza, quando a diluição da emulsão foi feita em água. A mistura da emulsão pela agitação intensa do ultraturrax após o processo de gelatinização permitiu a obtenção de hidrogéis com as mesmas características de resistência mecânica dos hidrogéis elaborados sem adição da emulsão (controle). Da mesma forma, a utilização da solução tampão como diluente da emulsão para sua utilização antes do processo de gelatinização, permitiu obtenção de hidrogéis com características semelhantes a amostra controle, com uma leve diminuição no perfil de textura (TPA). Tem-se como hipótese de que a solução tampão possa ter estabilizado a emulsão de amido durante a etapa de gelatinização, desta forma os hidrogéis elaborados apenas com água, possivelmente apresentou maior efeito negativo na emulsão, afetando as propriedades dos hidrogéis. Além disso, esses hidrogéis apresentaram a menor absorção de água, o que pode ter contribuído para a maior

dureza do que a amostra elaborada com a diluição da emulsão em água, a qual apresentou a maior capacidade de absorção.

Tabela 9. Perfil de análise de textura dos hidrogéis bioativos.

Parâmetros ¹	Adição da emulsão/ solução diluente			
	Controle	Antes gelatinização		Após gelatinização
		Tampão	Água	Água
Dureza (g)	1636,47 ± 8,47 ^a	1414,17 ± 70,43 ^b	462,01 ± 64,00 ^c	1779,20 ± 8,11 ^a
Flexibilidade	0,96 ± 0,02 ^a	0,87 ± 0,02 ^b	0,91 ± 0,01 ^{ab}	0,93 ± 0,02 ^{ab}
Coabilidade	0,83 ± 0,00 ^a	0,74 ± 0,00 ^c	0,77 ± 0,02 ^{bc}	0,78 ± 0,00 ^b
Gomosidade (g)	1381,46 ± 18,36 ^a	1084,38 ± 5,71 ^b	349,06 ± 35,96 ^c	1393,60 ± 7,04 ^a
Resiliência	0,64 ± 0,06 ^a	0,54 ± 0,01 ^a	0,52 ± 0,01 ^a	0,62 ± 0,00 ^a

¹ Letras minúsculas distintas na mesma linha, para cada parâmetro, difere estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo teste Tukey.

5.3.5 Atividade antibacteriana do óleo essencial de alecrim

O óleo essencial de alecrim apresentou atividade antibacteriana para as três bactérias testadas (Tabela 10). O maior halo de inibição foi observado para *E. coli* (35,33 mm), no entanto a *P. aeruginosa*, apresentou a menor CIM (0,19 mg/mL), mostrando-se mais sensível do que as demais bactérias testadas.

Tabela 10. Disco difusão, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do óleo essencial de alecrim.

Bactérias	Halo de inibição (mm)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	21,33 ± 2,31	0,39	0,78
<i>E. coli</i> NCTC12900	35,33 ± 1,15	0,39	3,15
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	21,67 ± 1,53	0,19	6,13

A ação antibacteriana de óleos essenciais é devida a sua citotoxicidade para as bactérias, pois os óleos essenciais são moléculas lipofílicas que penetram no envelope celular e na membrana citoplasmática, destruindo a camada de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolípidios (SOLOMAKOS et al., 2008). Isto ocasiona uma lesão celular nas bactérias, pela alteração da permeabilidade, colapso na bomba de prótons, clivagem das macromoléculas e coagulação citoplasmática

(SOLOMAKOS et al., 2008). Além disso, os compostos fenólicos dos óleos essenciais se ligam na bicamada fosfolipídica da membrana celular, aumentando sua permeabilidade e extravasando os constituintes intracelulares ou danificando o sistema enzimático da célula (MOREIRA et al., 2005).

O direcionamento para uma utilização adequada do óleo essencial de alecrim é dependente da sua composição. Quando o componente majoritário do óleo é cânfora, como o caso deste estudo, o óleo pode constituir bom agente antimicrobiano em alimentos, no entanto, estudos relatam que quando há predominância de 1,8-cineol no óleo essencial de alecrim, este pode ser preferido para uso terapêutico.

5.4 Conclusão

O óleo essencial de alecrim apresentou atividade antibacteriana contra *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, apresentando concentração mínima bactericida de 0,78, 3,15 e 6,13 mg.ml⁻¹, respectivamente. O método de adição da emulsão do óleo essencial de alecrim na solução dos hidrogéis influenciou nas características finais dos hidrogéis. Uma menor absorção de água e dureza foi observada no hidrogel elaborado com solução tampão. Quando a emulsão foi diluída em água e adicionada antes da gelatinização os hidrogéis apresentaram a maior absorção de água. No entanto esses hidrogéis apresentaram cor amarelada na parte inferior, indicando separação da emulsão. A agitação intensa gerada pelo ultraturrax alterou a morfologia dos hidrogéis acarretando em poros maiores e menor absorção de água em comparação a amostra controle. O hidrogel elaborado pela diluição da emulsão em solução tampão adicionada antes da gelatinização permitiu obter um material semelhante a amostra controle.

5.5 Estudos futuros

Como continuação deste trabalho, os hidrogéis bioativos serão aplicados em embalagens de peito de frango refrigerado, a fim de avaliar a eficiência no controle antibacteriano. Para isso as seguintes análises serão realizadas.

Cinética de inibição bacteriana no hidrogel bioativo contra *S. Typhimurium*. Os hidrogéis serão intumescidos com a solução bacteriana e a cinética de desenvolvimento microbiano será monitorado durante 7 dias.

A aplicação dos hidrogéis se dará em embalagens de peito de frango refrigerado. Amostras de peito de frango sem pele será contaminada com *S. Typhimurium* e a contagem bacteriana, tanto no frango, quanto no hidrogel, será avaliada durante 7 dias.

As propriedades morfológicas, de textura e de absorção de água serão avaliadas para a maior concentração de emulsão na solução, a fim de avaliar possíveis alterações.

A distribuição do óleo essencial de alecrim na matriz polimérica dos hidrogéis de amido, deverá ser confirmada através da análise de microscopia confocal, a qual envolve a adição de um corante hidrofóbico (*Nile Red*), que irá se ligar com o óleo essencial e sobre a incidência de uma luz fluorescente emitirá coloração avermelhada, indicando os pontos onde há presença do óleo essencial no hidrogel.

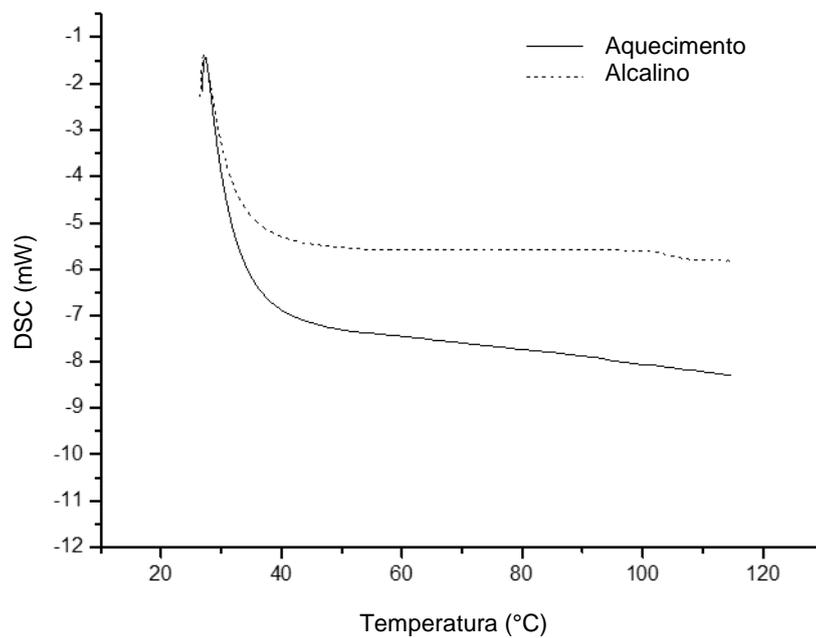
6 Considerações finais

Os diferentes teores de amilose dos amidos de arroz permitiu a formação de hidrogéis com diferentes morfologias, capacidade de absorção de água e características de textura. Além disso, o método de gelatinização dos amidos antes da reticulação dos hidrogéis influenciou na formação ou não de hidrogéis superabsorventes a base de amidos de arroz, nativos e inter cruzados. Desta forma, diferentes aplicações podem ser sugeridas como aplicação em embalagens de alimentos para absorver excesso de água liberada pelo alimento, como o hidrogel de amido modificado de médio teor de amilose, gelatinizado via solução alcalina. Os hidrogéis elaborados com amidos nativos pela gelatinização via aquecimento podem ser utilizados para liberação de compostos, pois sua solubilidade parcial forneceria um perfil de liberação controlada e gradual.

A encapsulação do óleo essencial de alecrim por *electrospraying* a partir da emulsão de amido-OSA é uma alternativa promissora para preservação do óleo essencial, evitando o uso de altas temperaturas no processo e perda dos compostos voláteis. A etapa de adição da emulsão durante a elaboração do hidrogel influenciou nas suas propriedades, devendo-se analisar a atividade antibacteriana dos hidrogéis, a fim de avaliar a viabilidade da adição da emulsão do óleo essencial de alecrim no hidrogel como agente antibacteriano, bem como sua aplicação em embalagens alimentícias.

APÊNDICE A

Curvas representativas dos hidrogéis de amidos gelatinizados via aquecimento e solução alcalina



APÊNDICE C

Potencial zera das emulsões com diferentes concentrações de etanol e óleo essencial de alecrim, durante 7 dias de armazenamento.

Etanol (%)	Dia	Concentração de óleo essencial (%)			
		20	30	40	50
20		-14,97 ± 0,06 ^{Ca}	-18,03 ± 0,32 ^{Aa}	-17,13 ± 0,12 ^{Ba}	-13,70 ± 0,26 ^{Da}
30	1	-14,17 ± 0,51 ^{Ab}	-8,37 ± 0,11 ^{Dc}	-10,67 ± 0,06 ^{Cb}	-11,63 ± 0,06 ^{Bb}
40		-6,71 ± 0,16 ^{Bc}	-14,00 ± 0,36 ^{Ab}	-7,24 ± 0,21 ^{Bc}	-6,63 ± 0,35 ^{Bc}
20		-12,80 ± 0,26 ^{Ba}	-16,50 ± 1,71 ^{Aa}	-16,13 ± 0,21 ^{Aa}	-14,40 ± 0,35 ^{ABa}
30	2	-9,31 ± 0,21 ^{Cb}	-9,82 ± 0,04 ^{Bb}	-7,94 ± 0,05 ^{Db}	-11,63 ± 0,06 ^{Ab}
40		-4,24 ± 0,28 ^{Bc}	-9,85 ± 0,34 ^{Ab}	-9,50 ± 0,17 ^{Ac}	-4,23 ± 0,13 ^{Bc}
20		-13,67 ± 0,31 ^{Aa}	-13,87 ± 0,06 ^{Aa}	-12,07 ± 0,12 ^{Ca}	-12,84 ± 0,27 ^{Ba}
30	3	-8,35 ± 0,18 ^{Ab}	-7,87 ± 0,06 ^{ABb}	-7,23 ± 0,28 ^{Bb}	-8,05 ± 0,44 ^{Ab}
40		-2,21 ± 0,09 ^{Cc}	-4,54 ± 0,12 ^{Bc}	-8,42 ± 0,49 ^{Ac}	-9,09 ± 0,17 ^{Ac}
20		-18,13 ± 1,02 ^{Aa}	-13,03 ± 0,21 ^{Ba}	-17,23 ± 0,40 ^{Aa}	-13,77 ± 0,12 ^{Ba}
30	4	-10,57 ± 0,42 ^{Bb}	-7,43 ± 0,12 ^{Db}	-8,42 ± 0,11 ^{Cb}	-12,97 ± 0,38 ^{Ab}
40		-5,57 ± 0,17 ^{Bc}	-6,98 ± 0,28 ^{Ab}	-5,52 ± 0,14 ^{Bc}	-6,72 ± 0,37 ^{Ac}
20		-13,00 ± 0,82 ^{Ba}	-13,37 ± 0,06 ^{Ba}	-14,50 ± 0,10 ^{Aa}	-13,67 ± 0,23 ^{ABa}
30	5	-6,15 ± 0,15 ^{Cc}	-7,44 ± 0,39 ^{Bb}	-7,76 ± 0,33 ^{ABb}	-8,24 ± 0,02 ^{Ab}
40		-8,46 ± 0,95 ^{Ab}	-3,91 ± 0,21 ^{Cc}	-6,07 ± 0,06 ^{Bc}	-7,24 ± 0,08 ^{ABc}
20		-12,47 ± 0,31 ^{Ca}	-13,20 ± 0,44 ^{BCa}	-14,10 ± 0,35 ^{ABa}	-14,37 ± 0,46 ^{Aa}
30	6	-7,85 ± 0,20 ^{Bb}	-8,35 ± 0,02 ^{ABb}	-8,42 ± 0,40 ^{ABb}	-8,78 ± 0,12 ^{Ab}
40		-4,55 ± 0,32 ^{Cc}	-6,35 ± 0,12 ^{Ac}	-6,75 ± 0,36 ^{Ac}	-5,62 ± 0,13 ^{Bc}
20		-12,37 ± 0,60 ^{Ba}	-14,73 ± 0,65 ^{Aa}	-15,87 ± 0,15 ^{Aa}	-10,63 ± 0,15 ^{Ca}
30	7	-6,38 ± 0,21 ^{Cb}	-11,70 ± 0,30 ^{Ab}	-9,68 ± 0,33 ^{Bb}	-6,58 ± 0,13 ^{Cb}
40		-3,17 ± 0,08 ^{Bc}	-3,54 ± 0,22 ^{Bc}	-3,63 ± 0,04 ^{Bc}	-4,26 ± 0,38 ^{Ac}

¹Letras maiúsculas distintas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna, para cada dia de avaliação, difere estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo teste Tukey

7 Referências

- AGBOOLA, S.; DALGLEISH, D. G. Effects of pH and ethanol on the kinetics of destabilization of oil-in-water emulsions containing milk proteins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 72, p. 448-454, 1996.
- AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, **Journal of Advanced Research**, v. 6, p. 105-121, 2015.
- ALKAN, D.; AYDEMIR, L. Y.; ARCAN, I.; YAVUZDURMAZ, H.; ATABAY, H. I.; CEYLAN, C. Development of flexible antimicrobial packaging materials against *Campylobacter jejuni* by incorporation of gallic acid into zein based films, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 11003-11010, 2011.
- AMORATI, R.; FOTI, M. C.; VALGIMIGLI, L. Antioxidant Activity of Essential Oils. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, p. 10835–10847, 2013.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Drying techniques for nanoencapsulation, **Techniques for Nanoencapsulation of Food Ingredients**, v. 1, p. 51–60, 2014.
- ANU BHUSHANI, J.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Electrospinning and electrospaying techniques: Potential food based applications, **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, p. 21–33, 2014.
- ARECCHI, A., MANNINO, S., WEISS, J., Electrospinning of poly(vinyl alcohol) nanofibers loaded with hexadecane nanodroplets. **Journal of Food Science**, v. 75, p. N80-N88, 2010.
- ASTM D570-98. **Standard Test Method for Water Absorption of Plastics**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2010, www.astm.org.
- BAJALAN, I., ROUZBAHANI, R., PIRBALOUTI, A. G., MAGGI, F. Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *rosmarinus officinalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 305–311, 2017.
- BAJPAI, A. K.; SAINI, R. Preparation and characterization of novel biocompatible cryogels of poly(vinyl alcohol) and egg-albumin and their water sorption study, **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, p. 49-61, 2006.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils e a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.
- BAO, J.; XING, J.; PHILLIPS D. L.; CORKE, H. Physical properties of octenyl succinic anhydride modified rice, wheat, and potato starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2283–2287, 2003.
- BELLO-PÉREZ, L. A.; MONTEALVO, M. G. M.; ACEVEDO, E. A. **Almidón: definición, estructura y propiedades**, In: LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Carbohidratos em alimentos regionales iberoamericano, São Paulo: Edusp, cap. 1, p. 17-46, 2006.
- BHATTACHARJE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not. **Journal of Controlled Release**, v.235, 337-351, 2016.
- BILLIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents, **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, p. 60–78, 1991.

- BRANDENBERGER, H.; NÜSSLI, D.; PIECH, V.; WIDMER, F. Monodisperse particle production: a method to prevent drop coalescence using electrostatic forces, **Journal of Electrostatics**, v. 45, p. 227-238, 1999.
- BUCHHOLZ, F. L.; GRAHAM, A. T. **Modern superabsorbent polymer technology**, New York: Wiley-VCH, 1998.
- BURSALI, E. A., COSKUN, S., KIZIL, M., YURDAKOC, M. Synthesis characterization and in vitro antimicrobial activities of boron/starch/polyvinyl alcohol hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1377–1383, 2011.
- CALLAWAY, T. R.; CARROLL, J. A.; ARTHINGTON, J. D.; EDRINGTON, T. S.; ANDERSON, R. C.; RICKE, S. C. **Chapter 17, Citrus products and their use against bacteria: potential health and cost benefits**, In R. Watson, J. L. Gerald, & V. R. Preedy (Eds), *Nutrients, dietary supplements, and nutraceuticals: Cost analysis versus clinical benefits*, New York, NY: Humana Press, p. 277-286, 2011.
- CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review, **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015.
- CAMERLO, A.; VEBERT-NARDIN, C.; ROSSI, R. M.; POPA, A. M. Fragrance encapsulation in polymeric matrices by emulsion electrospinning. **European Polymer Journal**, v. 49, p. 3806–3813, 2013.
- CANEVAROLO, S, V, J, **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**, 2 ed, São Paulo: Artliber, 280 p., 2006.
- CARMONA-GARCIA, R., SANCHEZ-RIVERA, M. M., MÉNDEZ-MONTEALVO, G., GARZA-MONTOYA, B., BELLO-PÉREZ, L. A., Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (*Musa paradisiaca*). **Carbohydrate Polymers**, v. 76, p. 117-122, 2009.
- CELIK TAS, O. Y.; KOCABAS, E. E. H.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V.; OZEK, T.; BASER, K. H. C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 100, p. 553–559, 2007.
- CHAN, A. W.; WHITNEY, R. A.; NEUFELD, R. J. Kinetic controlled synthesis of pH-responsive network alginate, **Biomacromolecules**, v. 9, p. 2536–2545, 2008.
- CHANAMAI, R., MCCLEMENTS, D. J. Comparison of Gum Arabic, Modified Starch, and Whey Protein Isolate as Emulsifiers: Influence of pH, CaCl₂ and Temperature. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 120–125, 2002.
- CHANAMAI, R., MCCLEMENTS, D. J. Impact of weighting agents and sucrose on gravitational separation of beverage emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5561–5565, 2000.
- CHANG, C.; DUAN, B.; CAI, J.; ZHANG, L. Superabsorbent hydrogels based on cellulose for smart swelling and controllable delivery, **European Polymer Journal**, v. 46, p. 92–100, 2010.
- CHAROEN, R., JANGCHUD, A., JANGCHUD, K., HARNSILAWAT, T., NAIVIKUL, O., MCCLEMENTS, D. J. Influence of Biopolymer Emulsifier Type on Formation and Stability of Rice Bran Oil-in-Water Emulsions: Whey Protein, Gum Arabic, and Modified Starch. **Journal of Food Science**, v. 76, p. 165–172, 2011.

- CHEN, X.; MARTIN, B. D.; NEUBAUER, T. K.; LINHARDT, R. J.; DORDICK, J. S.; RETHWISCH, D. G. Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar based polymer and hydrogels, **Carbohydrate Polymers**, v. 28, p. 15–21, 1995.
- CHUNG, H-J.; WOO, K-S.; LIM, S-T. Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches, **Carbohydrate Polymers**, v. 55, p. 9–15, 2004.
- CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 27th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- CUI, W., CHANG, J., DALTON, P. D., Electrospun Fibers for Drug Delivery. In *Comprehensive Biomaterials* (pp. 445–462).
- DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R. (Eds.). (2007). **Fennema's food chemistry**. CRC press. Retrieved from: <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=tEfMBQAAQBAJ&pgis=1>
- DEAN, K. M.; DO, M. D.; PETINAKIS, E.; YU, L. Key interactions in biodegradable thermoplastic starch/poly(vinyl alcohol)/montmorillonite micro- and nanocomposites, **Composite Science Technology**, v. 68, p. 1453–62, 2008.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas, **Ciência Rural**, v. 39, p. 945- 954, 2009.
- DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1473–1482, 2009.
- DICKINSON, E., GOLDING, M., Influence of alcohol on stability of oil-in-water emulsions containing sodium caseinate. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 197, p. 133–41, 1998.
- DINDA, A.; BISWAL, I.; CHOWDHURY, P.; MOHAPATRA, R. Formulation development and evaluation of paclitaxel loaded solid lipid nanoparticles using glyceryl monostearate. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, p. 133–138, 2013.
- DOKIĆ, L., KRSTONOŠIĆ, V., NIKOLIĆ, I., Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch. **Food Hydrocolloids**, v. 29, p. 185–192, 2012.
- DOMIAN, E., CENKIER, J., ORSKA, A. G., BRYNDA-KOPYTOWSKA, A., Effect of oil content and drying method on bulk properties and stability of powdered emulsions with OSA starch and linseed oil. **LWT - Food Science and Technology**. v. 88, p. 95-102, 2018.
- EL-ARNAOUTY, B. M.; EID, M. Synthesis of grafted hydrogels as mono-divalent cation exchange and drug delivery. **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 49, 182–190, 2010.
- ELIASSON, A. C. **Carbohydrates in food**, New York: Marcel Dekker, 561 p., 1996.
- ELIASSON, A. C. **Starch in food - Structure, function and applications**, New York: Boca Raton, CRC, 605 p., 2004,
- FALEIRO, M. L. The mode of antibacterial action of essential oils, *Science Against Microbial Pathogens*. **Communicating Current Research and Technological Advances**, v. 2, p. 1143-1156, 2011.
- FARRIS, S.; SCHAICH, K. M.; LIU, L.; PIERGIOVANNI, L.; YAM, K. L. Development of polyion-complex hydrogels as an alternative approach for the production of bio-

based polymers for food packaging applications: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, p. 316–332, 2009.

FDA. US Food And Drug Administration: **Food starch modified: code of federal regulation**

(2018). <<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.892>>. (accessed on 15.01.2018).

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos - Princípios e práticas**. Artmed. 2006

FERNANDES, R. V. D. B., MARQUES, G. R., BORGES, S. V., & BOTREL, D. A., 2014. Effect of solids content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. **Industrial Crops and Products**, 58, 173–181.

FIORAMONTI, S. A.; RUBIOLO, A. C.; SANTIAGO, L. G. Characterisation of freeze-dried flaxseed oil microcapsules obtained by multilayer emulsions. **Powder Technology**, v. 319, p. 238–244, 2017.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. A. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, p. 156-164, 2008.

FLORY, P. J.; REHNER, J. J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II: Swelling” **Journal Chemistry Physical**, v. 11, p. 521-526, 1943.

GARCIA, J. L. L. Nuevos sistemas orales de liberacion modificada. **Schironia**, v. 1, 63-71, 2002.

GARCÍA-MORENO, P. J.; STEPHANSEN, K.; VAN DER KRUIJS, J.; GUADIX, A.; GUADIX, E. M.; CHRONAKIS, I. S.; JACOBSEN, C., Encapsulation of fish oil in nanofibers by emulsion electrospinning: Physical characterization and oxidative stability. **Journal of Food Engineering**, v. 183, p. 39–49, 2016.

GHORANI, B.; TUCKER, N. Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle for bioactive compounds in food nanotechnology. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 227–240, 2015.

GILLES, M.; ZHAO, J.; AN, M.; AGBOOLA, S. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. **Food Chemistry**, v. 119, p. 731–737, 2010.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G.; PEREZ-MASIÁ, R.; GONZÁLEZ-BARRIO, R.; PERIAGO, M. J.; LÓPEZ-RUBIO, A. Potential of microencapsulation through emulsion-electrospraying to improve the bioaccessibility of β -carotene. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 1–12, 2017.

GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M; SOARES, N, A.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v, 34, p, 1215-1223, 2011.

GORDON, V., MAROM, G., MAGDASSI, S. Formation of hydrophilic nanofibers from nanoemulsions through electrospinning. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 478, p. 172-179, 2015.

GUILHERME, M. R.; REIS, A. V.; PAULINO, A. T.; FAJARDO, A. R.; MUNIZ, E. C.; TAMBOURGI, E. B.; Superabsorbent hydrogel based on modified polysaccharide for removal of Pb^{2+} and Cu^{2+} from water with excellent performance. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 105, p. 2903–2909, 2007.

- GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**. v. 46, p. 412-429, 2014.
- HAN, J. A.; LIM, S. T. Structural changes in corn starches during alkaline dissolution by vortexing. **Carbohydrate Polymers**, v. 55, n. 2, p. 193–199, 2004.
- HASHEM, A.; AHMAD, F.; FAHAD, R. Application of some starch hydrogels for the removal of mercury (II) ions from aqueous solutions, **Adsorption Science & Technology**, v. 26, p. 563-579, 2008.
- HASSAN C. M.; TRAKAMPAN P.; PEPPAS N. A. Water Solubility Characteristics of Poly(vinyl alcohol) and Gels Prepared by Freezing/Thawing Processes. In: Amjad Z. (eds) **Water Soluble Polymers**. Springer, Boston, MA, 2002.
- HASSAN, C. M.; PEPPAS. N. A. Structure and applications of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing / thawing methods. **Advances in Polymer Science**, v. 153. p. 37–65, 2000.
- HE, H., HONG, Y., GU, Z., LIU, G., CHENG, L., LI, Z., Improved stability and controlled release of CLA with spray-dried microcapsules of OSA-modified starch and xanthan gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 243–250. 2016.
- HEMAMALINI, T., GIRI DEV, V. R., Comprehensive review on electrospinning of starch polymer for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 106, p. 712-718. 2017.
- HENNINK, W. E.; NOSTRUM. C. F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, p. 13–36, 2002.
- HIRSCH, J. B.; KOKINI. J. L. Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behavior and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. **Cereal Chemistry**. v. 79, p. 102–107, 2002.
- HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications, **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 43, p. 3-12, 2002.
- HORN, M. M. **Blendas e filmes de quitosana/amido de milho: estudo da influência da adição de polióis, oxidação do amido e razão amilose/amilopectina nas suas propriedades**. 147p. Tese (Doutorado em Química, Universidade de São Paulo. São Carlos. 2012.
- HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnología de los cereales**. Zaragoza. Españã: Acribia, 321 p., 1991.
- HU, J., PRABHAKARAN, M. P., DING, X., RAMAKRISHNA, S., Emulsion electrospinning of polycaprolactone: influence of surfactant type towards the scaffold properties. **Journal of Biomaterials Science**, Polymer Edition, v. 26, p. 57–75, 2015.
- HUANG, Z. M.; ZHANG, Y. Z.; KOTAKI, M.; RAMAKRISHNA, S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 63, p. 2223–2253, 2003.
- HUI, Y. H. **Food Additives**. In Food Chemistry: Principles and Applications, 2ed. (pp. 17-3- 17-4). Science Technology System, West Sacramento, CA. Patino, J.M.R., Nino, 2007
- ISMAIL, H.; IRANI, M.; AHMAD, Z. Starch-based hydrogels: present status and applications. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**. v. 62, p. 411-420, 2012.

JACOBS, H.; MISCHENKO, N.; KOCH, M. H. J.; EERLINGEN, R. C.; DELCOUR, J. A.; REYNAERS, H. Evaluation of the impact of annealing on gelatinisation at intermediate water content of wheat and potato starches: A differential scanning calorimetry and small angle X-ray scattering study. *Carbohydrate Research*, v. 306, p. 1–10. 1998.

JAWOREK, A. T. S. A.; SOBCZYK, A, T, Electrospaying route to nanotechnology: an overview, *Journal of Electrostatics*, v. 66, p. 197-219, 2008.

KAITY, S.; GHOSH, A. Comparative bio-safety and in vivo evaluation of native or modified locust bean gum-PVA IPN microspheres, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 72, p. 883–893, 2015.

KAMINSKI, T. A.; BRACKMANN, A.; PICOLLI, L. S.; NICOLETTI, A. M.; ROBERTO, B. S. Changes in culinary. viscoamylographic and sensory characteristics during rice storage at different temperatures, *Journal of Stored Products Research*, v. 53, p. 37–42, 2013.

KANCA, Y.; MILNER, P.; DINI, D.; AMIS, A. A. Tribological properties of PVA/PVP blend hydrogels against articular cartilage. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 78, p. 36-45, 2018.

KASIRI, N.; FATHI, M. Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells and their application for stabilizing Pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*. v. 106, p. 1023-1031, 2017.

KASZUBA M.; CORBETT J.; WATSON F. M.; JONES A. High-concentration zeta potential measurements using light-scattering techniques. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, v. 368, p. 4439–4451, 2010.

KATSOULOS C.; KARAGEORGIADIS L.; VASILEIOU N.; MOUSAFEIROPOULOS T, ASIMELLIS G, Customized hydrogel contact lenses for keratoconus incorporating correction for vertical coma aberration, *Ophthalmic and Physiological Optics*, v. 29, p. 321-329, 2009.

KAYACI, F.; ERTAS, Y.; UYAR, T. Enhanced thermal stability of eugenol by cyclodextrin inclusion complex encapsulated in electrospun polymeric nanofibers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 61, p. 8156-8165, 2013.

KAYACI, F.; UYAR, T, Electrospun zein nanofibers incorporating cyclodextrins, *Carbohydrate polymers*, v. 90, p. 558–68, 2012b.

KAYACI, F.; UYAR, T. Encapsulation of vanillin/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polyvinyl alcohol (PVA) nanowebs: prolonged shelf-life and high temperature stability of vanillin, *Food Chemistry*, v. 133, p. 641-649, 2012a.

KITAHARA, K.; COPELAND, L. A simple method for fractionating debranched starch using a solid reversed-phase cartridge. *Journal of Cereal Science*, v. 39, p. 91- 98, 2004.

KRALOVA, I.; SJÖBLOM, J. Surfactants used in food industry: A review. *Journal of Dispersion Science and Technology*, v. 30, p. 1363–1383, 2009.

KRINGEL, D. H.; ANTUNES, M. D.; KLEIN, B.; CRIZEL, R. L.; WAGNER, R.; OLIVEIRA, R. P.; ZAVAREZE, E. R. Production, characterization, and stability of orange or eucalyptus essential oil/ β -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Food Science*, v. 82, p. 2598–2605. 2017.

- KUAKPETOON, D.; WANG, Y. J. Locations of hypochlorite oxidation in corn starches varying in amylose content, **Carbohydrate Research**, v. 343, p. 90-100, 2008.
- LACHMAN, L., LIEBERMAN, H. A., KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Fundação Galouste Goubenkian, Lisboa, 2001.
- LANGER, R.; PEPPAS, N. A. Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology, **AIChE Journal**, v. 49, p. 2990-3006, 2003.
- LAWAL, O. S., Succinyl and acetyl starch derivatives of a hybrid maize: Physicochemical characteristics and retrogradation properties monitored by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 2673–2682, 2004.
- LAWRENCE, M. J.; RESS, G. D. Microemulsion based medias as novel drug delivery systems, **Adv. Drug Delivery Reviews**, v. 45, p. 89-12, 2000.
- LEE, Y. J.; BRAUN, P. V. Tunable inverse opal hydrogel, **Advanced Materials**, v. 15, p. 563–566, 2013.
- LIANG, R., SHOEMAKER, C. F., YANG, X., ZHONG, F., & HUANG, Q., 2013. Stability and bioaccessibility of β -carotene in nanoemulsions stabilized by modified starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61, 1249–1257.
- LIMA-TENORIO, M. K.; TENORIO-NETO, E. T.; GUILHERME, M. R.; GARCIA, F. P.; NAKAMURA, C. V.; PINEDA, E. A. G.; RUBIRA, A. F. Water transport properties through starch-based hydrogel nanocomposites responding to both pH and a remote magnetic field. **Chemical Engineering Journal**, v. 259, p. 620–629, 2015.
- LIN, Q., LIANG, R., ZHONG, F., YE, A., SINGH, H. Physical properties and biological fate of OSA-modified-starch-stabilized emulsions containing β -carotene: Effect of calcium and pH. **Food Hydrocolloids**, v. 2, p. 1–8, 2017.
- LINDEMANN, M. K. **Vinyl acetate polymers**, In: MARK, H. F. (Ed.), Encyclopedia of polymer science and technology, New York, N.Y.: J. Wiley, v. 15, p. 577- 677, 1971.
- LIU, J.; LI, Q.; SU, Y.; YUE, Q. Y.; GAO, B. Y.; WANG, R. Synthesis of wheat straw cellulose-g-poly (potassium acrylate)/PVA semi-IPNs superabsorbent resin, **Carbohydrate Polymers**, v. 94, p. 539–546, 2013.
- LIU, J.; WANG, B.; LIN, L.; ZHANG, J.; LIU, W.; XIE, J.; DING, Y. Functional, physicochemical properties and structure of cross-linked oxidized maize starch, **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 45–52, 2014.
- LIU, P.; PENG, J.; LI, J.; WU, J. Radiation crosslinking of CMC–Na at low dose and its application as substitute for hydrogel. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 72, p. 635–8, 2005.
- MAHINROOSTA, M., FARSANGI, Z. J. ALLAHVERDI, A. SHAKOORI, Z. Hydrogels as Intelligent Materials: A Brief Review of Synthesis, Properties and Applications. **Materials Today Chemistry**, v. 8, p. 42–55, 2018.
- MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. **Trends in Plant Science**, v. 7, p. 366-373, 2002.
- MARCI, G.; MELE, G.; PALMISANO, L.; PULITO, P.; SANNINO, A. Environmentally sustainable production of cellulose-based superabsorbent hydrogels, **Green Chemistry**, v. 8, p. 439–44, 2008.

- MAREFATI, A., SJÖÖ, M., TIMGREN, A., DEJMEK, P., RAYNER, M. Fabrication of encapsulated oil powders from starch granule stabilized W/O/W Pickering emulsions by freeze-drying. **Food Hydrocolloids**, v. 51, p. 261–271. 2015.
- MCCLEMENTS, D. J. (2004). **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques**, Second Edition. CRC Press. Retrieved from <https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=eXvLBQAAQBAJ&pgis=1>
- MEHNERT, W.; MÄDER, K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications, **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 83–101, 2012
- MEZZA, G. N., BORGARELLO, A. V., GROSSO, N. R., FERNANDEZ, H., PRAMPARO, M. C., GAYOL, M. F., Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 242, p. 9–15. 2017.
- MIHINDUKULASURIYA, S. D. F.; LIM, L.-T. Nanotechnology development in food packaging: A review, **Trends in Food Science & Technology**, v. 40, p. 149–167, 2014.
- MOOMAND, K.; LIM, L. Oxidative stability of encapsulated fish oil in electrospun zein fibres. **Food Research International journal - FRIN**, v. 62, p. 523–532, 2014.
- MOOMAND, K. **Physicochemical aspects of ultrathin electrospun zein fibres for encapsulation of fish oil**. 2014. 153f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos). University of Guelph, Guelph, Canada, 2014.
- MORRISON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality, **Cereal Foods World**, v. 40, p. 437–446, 1995.
- MUN, S., KIM, Y. R., SHIN, M., MCCLEMENTS, D. J. Control of lipid digestion and nutraceutical bioaccessibility using starch-based filled hydrogels: Influence of starch and surfactant type. **Food Hydrocolloids**, v. 44, p. 380–389, 2015.
- NABESHIMA, E. H.; GROSSMAN, M. V. E. Functional properties of pregelatinized and crosslinked cassava starch obtained by extrusion with sodium trimetaphosphate, **Carbohydrate Polymers**, v. 45, p. 347–353, 2001.
- NETO, C. G. T.; GIACOMETTI, J. A.; JOBB, A. E.; FERREIRA, F. C.; FONSECA, J. L. C.; PEREIRA, M. R. Thermal Analysis of Chitosan Based Networks. **Carbohydrate Polymers**, v. 1, p. 62-97, 2005.
- NIKMARAM, N., ROOHINEJAD, S., HASHEMI, S., KOUBAA, M., BARBA, F. J., ABBASPOURRAD, A., XIE, E. Emulsion-based systems for fabrication of electrospun nanofibers: food, pharmaceutical and biomedical applications. **Royal Society of Chemistry Advance**, v. 7, p. 28951–28964, 2017.
- NILSSON, L., BERGENSTÅHL, B. Emulsification and adsorption properties of hydrophobically modified potato and barley starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1469–1474, 2007.
- NOORBAKSH-SOLTANI, S. M.; ZERAFAT, M. M.; SABBAGHI, S. A comparative study of gelatin and starch-based nano-composite films modified by nano-cellulose and chitosan for food packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 189, p. 48–55, 2018.

NUYKEN, O.; CRIVELLO, J. **Polyvinyl ethers, esters and halogenides**, In: KRICHELDORF, H. R. (Ed). Handbook of polymers syntheses - Part A, New York, N.Y.: M. Dekker, p. 164-172, 1992.

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

OREFICE, R. L. **Materiais poliméricos – ciência e aplicação como biomateriais**, In: Biomateriais: fundamentos e aplicações, Rio de Janeiro: Ed, Cultura Médica, 530 p., 2006.

OVIEDO, I. R.; MENDEZ, N. A. N.; GOMEZ, M. P. G.; RODRIGUEZ, H. C.; MARTINEZ, A. R. Design of a physical and nontoxic crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogel. **International Journal of Polymeric Materials**, v. 57, p. 1095, 2008.

OZOGUL, Y., YUVKA, İ., UCAR, Y., DURMUS, M., KÖSKER, A. R., ÖZ, M., OZOGUL, F. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 677–684, 2017.

PARAGINSKI, R. T.; EVANGELHO, J. A.; COLUSSI, R.; SILVA, R. M.; ZAVAREZE, E. R.; OLIVEIRA, M., ELIAS, M. C.; DIAS, A. R. G. Starch and flour from defective rice kernels and their physicochemical properties. **Starch/Stärke**, v. 66, p. 729–737, 2014.

PARK, C. E.; KIM, Y. S.; PARK, K. J.; KIM, B. K. Changes in physicochemical characteristics of rice during storage at different temperatures, **Journal Stored Products Research**, v. 48, p. 25–29, 2012.

PARK, S., MUN, S., KIM, Y. R. Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of β -carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels. **Food Research International**, v. 105, p. 440–445, 2018.

PARRIS, N.; COOKE, P. H.; HICKS, K. B. Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles as a delivery system for antimicrobials, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4788-4792, 2005.

PASSAUER, L.; LIEBNER, F.; FISCHER, K. Starch phosphates hydrogels Part I: synthesis by mono-phosphorylation and cross-linking of starch, **Starch/Stärke**, v. 61, p. 621–627, 2009.

PATEL, V. R.; AGRAWAL, Y. K. Nanosuspension: An approach to enhance solubility of drugs, **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, p. 81-87, 2011.

PAZ, E.; MARTÍN, Á., BARTOLOMÉ, A., LARGO, M., COCERO, M. J. Development of water-soluble β -carotene formulations by high-temperature, high-pressure emulsification and antisolvent precipitation. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 14-24, 2014.

PELLÁ, M. G., LIMA-TENÓRIO, M. K., TENÓRIO-NETO, E. T., GUILHERME, M. R., MUNIZ, E. C., RUBIRA, A. F. Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 196, p. 233–245, 2018.

PENG, Z.; SHEN, Y. Study on biological safety of polyvinyl alcohol/collagen hydrogel as tissue substitute (I), **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 50, p. 245-250, 2005.

PEPPAS, N. A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA H. Hydrogels in pharmaceutical formulations, **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 27-46, 2000.

PEREZ-MASIA, R., LAGARON, J. M., LOPEZ-RUBIO, A. Surfactant-aided electrospraying of low molecular weight carbohydrate polymers from aqueous solutions. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 249–255, 2014.

PRAKASH, B.; MEDIA, A.; MISHRA, P. K.; DUBEY, N. K. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e potentials and challenges, **Food Control**, v. 47, p. 381-391, 2015.

PREMI, M., SHARMA, H. K. Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1232–1240, 2017.

QI, H., HU, P., XU, J., WANG, A., Encapsulation of drug reservoirs in fibers by emulsion electrospinning: morphology characterization and preliminary release assessment. **Biomacromolecules**, v. 7, p. 2327–2330, 2006.

QIU, Y.; PARK, K. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 49–60, 2012.

QIU, Y.; PARK, K. Environment sensitive hydrogels for drug delivery systems, **Advance Drug Delivery Reviews**, v. 53, p. 321-339, 2001.

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

RATNER, B.; HOFFMAN, A.; SCHOEN, F.; LEMONS, J. **Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine**, Academic Press, 1 ed., 1996.

REINER, S. J., REINECCIUS, G. A., PEPPARD, T. L. A comparison of the stability of beverage cloud emulsions formulated with different gum acacia- and starch-based emulsifiers. **Journal of Food Science**, v. 75, 2010

REZAEI, A.; NASIRPOUR, A.; FATHI, M. Application of cellulosic nanofibers in food science using electrospinning and its potential risk, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 269-284, 2015.

RIBEIRO, D., SIQUEIRA, F. G., DA, E., VELOZO, S., GUIMARÃES, A. G., Evaluation rosemary essential oil in the control of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Coalho cheese. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 411, p. 1–9, 2013.

RIBEIRO, H. S., SCHUCHMANN, H. P., ENGEL, R., WALZ, E., & BRIVIBA, K. Encapsulation of Carotenoids. In: **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**. 2010.

RODRIGUEZNINO, M., SANCHEZ, C., RUIZHENESTROSA, V., PATINO, J. Milk and soy protein films at the air-water interface. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 417–428, 2005.

RODRÍGUEZ-ROJO, S., VARONA, S., NÚÑEZ, M., COCERO, M. J. Characterization of rosemary essential oil for biodegradable emulsions. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 137–140, 2012.

- ROMEO, F. V., DE LUCA, S., PISCOPO, A., POIANA, M. Antimicrobial effect of some essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, 373-379, 2018.
- SADEGH-HASSANI, F.; MOHAMMADI NAFCHI, A. Preparation and characterization of bionanocomposite films based on potato starch/halloysite nanoclay. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 67, p. 458-462, 2014.
- SANDHU, K. S., KAUR M.; SINGH, N.; LIM, S-T. A comparison of native and oxidized normal and waxy corn starches: physicochemical, thermal, morphological and pasting properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1000-1010, 2008.
- SCHMEDLEN, R. H.; MASTERS, K. S.; WEST, J. L. Photocrosslinked polyvinyl alcohol hydrogels that can be modified with cell adhesion peptides for use in tissue engineering. **Biomaterials** v. 23, n. 22, p. 4325–4332, 2002.
- SCHMIDT, D.; SHAH, D.; GIANNELIS, E, P, New advances in polymer/layered silicate nanocomposites, **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 6, p. 205-212, 2002.
- SCHUENZEL, K. M., HARRISON, M. A. Microbial antagonists of foodborne pathogens on fresh minimally processed vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1909–1915, 2002.
- SHAHROOIE, B.; RAJABI, L.; DERAKHSHAN, A. A.; KEYHANI, M. Fabrication, characterization and statistical investigation of a new starch-based hydrogel nanocomposite for ammonium adsorption, **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 00, p. 1–15, 2015.
- SHAMSARA, O., MAHDI, S., MUHIDINOV, Z. K., International Journal of Biological Macromolecules Fabrication, characterization and stability of oil in water nano-emulsions produced by apricot gum-pectin complexes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 1285–1293, 2017.
- SHARIF, H. R., WILLIAMS, P. A., SHARIF, M. K., KHAN, M. A., MAJEED, H., SAFDAR, W., ZHONG, F., Influence of OSA-starch on the physico chemical characteristics of flax seed oil-eugenol nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 66, p. 365–377, 2016.
- SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn, **Industrial Crops and Products**, v. 13, p. 171-192, 2001.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources, **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.
- SINGH, R. P.; HODSON, D. P.; JIN, Y.; HUERTA-ESPINO, J.; KINYUA, M. G.; WANYERA, R.; NJAU, P.; WARD, R. W. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. **CAB Reviews: perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 1, p. 1-13, 2006.
- SKANDAMIS, P., KOUTSOUMANIS, K., FASSEAS, K., NYCHAS, G. J. E. Inhibition of oregano essential oil and EDTA on *E. coli* O157:H7. **Italian Journal of Food Science**, v. 13, p. 55–65, 2001.
- SMITH, R. J.; CARUSO, J. **Determination of phosphorus**, In R. L. Whistler (Ed.), *Methods in carbohydrate chemistry*, Starch Orlando, FL: Academic Press, p. 42–46, 1964.

- STRACCIA, M. C., D'AYALA, G. G., ROMANO, I., OLIVA, A., LAURIENZO, P. Alginate hydrogels coated with chitosan for wound dressing. **Marine Drugs**, v. 13, p. 2890–2908, 2015.
- SYLMAN, J. L.; NEEVES, K. B. An Inquiry-based investigation of controlled-release drug delivery from hydrogels: an experiment for high school chemistry and biology. **Journal of Chemical Education**, v. 90, p. 918-921, 2013.
- 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, p. 905–920, 2013.
- TABATA, Y. Biomaterial technology for tissue engineering applications, **Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society**, v. 6, p. S311–S324, 2009.
- TAHERIAN, A. R., FUSTIER, P., RAMASWAMY, H. S. Effects of added weighting agent and xanthan gum on stability and rheological properties of beverage cloud emulsions formulated using modified starch. **Journal of Food Process Engineering**, v. 30, p. 204–224, 2007.
- TANG Y, DU Y, LI Y, WANG X, HU X. A thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) hydrogel containing hydroxyapatite for protein delivery. **Journal of Biomedical Materials Research** v. 91, p. 953-63, 2009.
- TANGSRIANUGUL, N., SUPHANTHARIKA, M., MCCLEMENTS, D. J. Simulated gastrointestinal fate of lipids encapsulated in starch hydrogels: Impact of normal and high amylose corn starch. **Food Research International**, v. 78, p. 79–87, 2015.
- TATTIYAKUL, J.; RAO, M. A. Rheological behavior of cross-linked waxy maize starch dispersions during and after heating, **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 215–222, 2000.
- TAVARES, A. C. K., ZANATTA, E., ZAVAREZE, E. R., HELBIG, E., DIAS, A. R. G. The effects of acid and oxidative modification on the expansion properties of rice flours with varying levels of amylose. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 1213–1219, 2010.
- TECHAWIPHARAT, J.; SUPHANTHARIKA, M.; BEMILLER, J. N. Effects of cellulose derivatives and carrageenans on the pasting, paste, and gel properties of rice starches, **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 417-426, 2008.
- TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch- composition, fine structure and architecture, **Journal Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.
- THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates – structural complexity and functional diversity, **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 22, p. 65-84, 2002.
- THOSTENSON, E. T.; LI, C.; CHOU, T-W. Nanocomposites in context, **Composites Science and Technology**, v. 65, p. 491-516, 2005.
- TONON, R. V., PEDRO, R. B., GROSSO, C. R. F., HUBINGER, M. D., Microencapsulation of flaxseed oil by spray drying: Effect of oil load and type of wall material. **Drying Technology**, v. 30, p. 1491–1501, 2012.
- TURASAN, H.; SAHIN, S.; SUMNU, G. Encapsulation of rosemary essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 112–119, 2015.

- UBEYITOGULLARI, A.; CIFTCI, O. N. Formation of nanoporous aerogels from wheat starch, **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 125–132, 2016.
- UÜZÜM, O. B.; KUNDAKCI, S.; KARADAG. Uranyl ion uptake from aqueous solutions by chemically cross-linked polyelectrolyte cama hydrogels, **Polymer-Plastics Technology and Engineering**, v. 46, p. 775-780, 2007.
- VALGIMIGLI, L. **Essential oils: an overview on origins, chemistry, properties and uses**. In: Essential oils as natural food additives. Valgimigli, L. (Ed) 2012, Nova Science Publishers, New York, pp. 1-24.
- VEGA-LUGO, A. C.; LIM, L-T. Controlled release of allyl isothiocyanate using soy protein and poly(lactic acid) electrospun fibers, **Food Research International**, v. 42, p. 933–940, 2009.
- VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components, **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292-302, 2010.
- WALISZEWSKI, K. N.; APARICIO, M. A.; BELLO, L. A.; MONROY, J. A. Changes of banana by chemical and physical modification, **Carbohydrate Polymers**, v. 52, p. 237-242, 2003.
- WANG, L., XIE, B., XIONG, G., WU, W., WANG, J., QIAO, Y., LIAO, L. The Effect of Freeze-Thaw Cycles on Microstructure and Physicochemical Properties of Four Starch Gels. **Food Hydrocolloids**, v. 31, p. 61–67, 2013.
- WANG, L.; WANG, Y, J, Rice starch isolation by neutral protease and high- intensity ultrasound, **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 291–296, 2004.
- WANG, Y., YANG, X., LIU, W., ZHANG, F., CAI, Q., DENG, X., Controlled release behaviour of protein-loaded microparticles prepared via coaxial or emulsion electrospray. *Journal of Microencapsulation*, v. 30, p. 490–497. 2013.
- WEN, P.; ZONG, M-H.; LINHARDT, R. J.; FENG, K.; WU H. Electrospinning: A novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds. **Trends in Food Science and Technology**, v. 70, p. 56–68, 2017.
- WICHTERLE, O.; LIM, D. Hydrophilic gels in biologic use, **Nature**, v. 185, p. 117-118, 1960.
- WONGSAGONSUP, R.; PUJCHAKARN, T.; JITRAKBUMRUNG, S.; CHAIWAT, W.; FUONGFUCHAT, A.; VARAVINIT, S.; SUPHANTHARIKA, M. Effect of cross-linking on physicochemical properties of tapioca starch and its application in soup product. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 656–665, 2014.
- WOO, K.; SEIB, P. A. Cross-linking of wheat starch and hydroxypropylated wheat starch in alkaline slurry with sodium trimetaphosphate, **Carbohydrate Polymers**, v. 33, p. 263–271, 1997.
- XIAO, C. Current advances of chemical and physical starch-based hydrogels, **Starch/Stärke**, v. 00, p. 1–7, 2012.
- XU, Y.; HANNA, M. A. Electrospay encapsulation of water-soluble protein with polylactide, Effects of formulations on morphology, encapsulation efficiency and release profile of particles, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 32, p. 30–36, 2006.

- YANG, Y.; LI, X.; QI, M.; ZHOU, S.; WENG, J., Release pattern and structural integrity of lysozyme encapsulated in core-sheath structured poly(dl-lactide) ultrafine fibers prepared by emulsion electrospinning. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 106–116, 2008.
- YASUDA, H, Biocompatibility of nanofilm-encapsulated silicone and silicone hydrogel contact lenses, **Macromolecular Bioscience**, v. 6, p. 121-138, 2006.
- YOSHIMURA, T.; YOSHIMURA, R.; SEKI, C.; FUJIOKA, R. Synthesis and characterization of biodegradable hydrogels based on starch and succinic anhydride. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, p. 345–349, 2006.
- ZAMANI, M.; PRABHAKARAN, M. P.; RAMAKRISHNA, S. Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. **International Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 2997–3017, 2013.
- ZAVAREZE, E. R.; DIAS, A. R. G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 317-328, 2011.
- ZHANG, L.; LI, K.; XIAO, W.; ZHENG, L.; XIAO, Y.; FAN, H.; Preparation of collagen–chondroitin sulfate–hyaluronic acid hybrid hydrogel scaffolds and cell compatibility in vitro. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 118–125, 2011.
- ZHANG, L.; HUANG, J.; SI, T.; XU, R. X. Coaxial electrospray of microparticles and nanoparticles for biomedical applications. **Expert review of medical devices**. v. 9, p. 595–612, 2012.
- ZHENG, Y.; HUA, S. B.; WANG. A. Q. Adsorption behavior of Cu₂p from aqueous solutions onto starch-g-poly(acrylic acid)/ sodium humate hydrogels. **Desalination**, v. 263, p. 170–175, 2010
- ZHONG, F.; LI, Y.; IBANZ, A. M.; OH, M. H.; MCKENZIE, K. S.; SHOEMAKER. C. The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 406-414, 2009.
- ZHU, B.; MA, D.; WANG, J.; ZHANG, S. Structure and properties of semi-interpenetrating network hydrogel based on starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 448–455, 2015.
- ZHU, F., Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. **Food Chemistry**, v. 229, p. 542–552, 2017.
- ZHU, J.; MARCHANT, R. E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. **Expert review of medical devices**. v. 8, p. 607–26, 2011.
- ZHU, Q.; LI, Z. Hydrogel-supported nanosized hydrous manganese dioxide: synthesis, characterization, and adsorption behavior study for Pb²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺ and Ni²⁺ removal from water. **Chemical Engineering Journal**, v. 281, p.69-80, 2015.