



THAMIRES TEIXEIRA VALENTIM

**CARACTERIZAÇÃO DE CRIOGÉIS SINTETIZADOS COM
POLIACRILAMIDA E MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS
(*Pereskia aculeata* Miller)**

LAVRAS - MG

2021

THAMIRES TEIXEIRA VALENTIM

**CARACTERIZAÇÃO DE CRIOGÉIS SINTETIZADOS COM POLIACRILAMIDA E
MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof.^a Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo

Orientadora

M.^a Ana Cristina Freitas de Oliveira Meira

Coorientadora

**LAVRAS - MG
2021**

THAMIRES TEIXEIRA VALENTIM

**CARACTERIZAÇÃO DE CRIOGÉIS SINTETIZADOS COM POLIACRILAMIDA E
MUCILAGEM DE ORA-PRO-NOBIS (*Pereskia aculeata* Miller)**

**CHARACTERIZATION OF CRYOGEL MADE WITH POLYACRYLAMIDE AND
ORA-PRO-NOBIS MUCILAGE (*Pereskia aculeata* Miller)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para a obtenção do título de Bacharel.

Aprovada em 20 de maio de 2021

Dr. Jaime Vilela de Resende UFLA

Dra. Isabelle Cristina Oliveira Neves

M.^a Ana Cristina Freitas de Oliveira Meira UFLA

Sra. Mariana Oliveira Mendes UFLA

Prof.^a Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo
Orientadora

**LAVRAS - MG
2021**

Primeiramente a Deus que sempre me deu força e coragem para superar todos os desafios.
Aos meus pais Ana Maria e Ricardo por todo suporte e apoio ilimitado.
A minha irmã e grande amiga Aline.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, que me conduziu e permitiu que meus objetivos fossem alcançados durante meus anos de estudo.

Aos meu pais Ricardo Luiz e Ana Maria, e à minha irmã Aline que sempre me deram suporte, força e incentivo nas horas difíceis e me dedicaram carinho e amor incondicional ao longo destes anos.

À minha querida orientadora Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo por toda a amizade, orientação, apoio e confiança e a minha querida coorientadora Ana Cristina Freitas de Oliveira Meira por toda a coorientação, paciência, auxílio e suporte que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos Camila Sales, Stéfanie Callegari, Kássia Viveiros, Marcus Oenning, Alexandre Costa, Giovanni Aleixo e Isabelle Neves por todo o companheirismo, incentivo e apoio incondicional.

Aos demais amigos do Laboratório de Separação e Purificação de Biomoléculas e do Laboratório de Refrigeração de Alimentos, em especial à Natália Leite e à Larissa Moraes por todo o auxílio na realização dos últimos testes.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos pela estrutura, suporte e materiais disponibilizados.

À Central de Análise e Prospecção Química (CAPQ) e ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) pela estrutura e pelas análises realizadas.

Ao CNPq pela oportunidade oferecida com os programas "Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica - PIVIC" e "Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica- PIBIC".

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Os criogéis são matrizes contínuas e porosas obtidas através da polimerização de precursores em temperatura de congelamento. Os criogéis têm se destacado devido às suas características como biocompatibilidade e alta porosidade. Muitos estudos têm sido desenvolvidos visando o aperfeiçoamento de sua composição, estrutura e capacidade de adsorção. Desta forma, o objetivo do trabalho foi desenvolver e caracterizar criogéis supermacroporosos de poli(acrilamida) adicionados de mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller). Inicialmente, a síntese dos criogéis foi realizada à -12 °C por meio da criopolimerização de acrilamida (Aam), N, N'-metileno-bis-acrilamida (MBAAm), mucilagem de ora-pro-nóbis (OPN) e ácido cítrico em diferentes concentrações. Observou-se que a estrutura característica de uma matriz porosa foi obtida quando se empregou na elaboração do criogel 1,185 g de AAm, 0,1588 g de MBAAm, 0,0794 g de mucilagem de OPN e 0 g de ácido cítrico. Em seguida, visando avaliar o efeito de diferentes temperaturas de polimerização na estrutura do criogel, este tratamento foi submetido à polimerização a -12 °C, -9 °C e -1,5 °C. O melhor resultado foi obtido realizando a polimerização à -12 °C. Os criogéis provenientes destas otimizações foram caracterizados morfologicamente visando quantificar sua porosidade ($0,9480 \pm 0,0020$), fração de macroporos ($0,5822 \pm 0,0151$), fração de micro e mesoporos ($0,3659 \pm 0,0145$), fração de água ligada ($0,0072 \pm 0,0008$), fração de polímero seco ($0,0447 \pm 0,0019$), capacidade de inchamento ($21,3979 \pm 0,9334 \text{ kg kg}^{-1}$), grau de expansão ($26,3602 \pm 0,9165 \text{ L kg}^{-1}$), tamanho dos poros (20 - 141 μm) e módulo de Young ($1,582 \pm 0,127 \text{ Mpa}$). Também foi realizada uma caracterização química dos criogéis através da espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Por meio desta análise foi possível confirmar a presença da mucilagem de OPN na estrutura do criogel, uma vez que picos nas regiões 1113 cm^{-1} e 1040 cm^{-1} referentes a ligações C-O-C presentes em polissacarídeos foram observados. Por fim, foi feita uma caracterização térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC) visando identificar eventos térmicos. Os adsorventes produzidos apresentaram características morfológicas semelhantes à de criogéis convencionais de poli(acrilamida) acrescidos de monômero alil glicidil éter (AGE). Desta forma, nota-se que a adição de mucilagem de ora-pro-nóbis possibilitou sintetizar criogéis isentos do monômero alil glicidil éter e reduzidos em monômero N, N'-metileno-bis-acrilamida.

Palavras-chave: Criogéis supermacroporosos. Mucilagem de ora-pro-nóbis. Caracterização. Polímeros naturais. Monômeros sintéticos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do processo de crio-copolimerização em criogéis supermacroporosos	16
Figura 2 - Representação das mudanças estruturais do criogel incubado a -12 °C ao longo do período de 12 horas	17
Figura 3 - Fluxograma do processo para obtenção de mucilagem das folhas de OPN	25
Figura 4 - Criogéis sintetizados a -12 °C a partir da polimerização de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN.....	33
Figura 5 - Criogéis secos sintetizados a -12°C a partir da polimerização de poliacrilamida e mucilagem de OPN.....	33
Figura 6 - Criogéis secos sintetizados a -12°C, -9°C e -1,5°C	34
Figura 7 - Microfotografia por MEV da seção transversal do criogel de poliacrilamida com mucilagem de OPN ampliada 800 vezes	37
Figura 8 - Microfotografia por MEV da seção transversal do criogel de poliacrilamida com mucilagem de OPN ampliada 100 vezes	37
Figura 9 - FTIR da mucilagem de OPN	39
Figura 10 - Comparação de FTIR do criogel puro e do criogel com adição de mucilagem de OPN	41
Figura 11 - DSC do criogel contendo mucilagem de OPN e criogel puro	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN testadas na síntese de criogéis supermacroporosos, com polimerização a -12°C	26
Tabela 2 - Concentrações de AAm, MBAAm, ácido cítrico e mucilagem de OPN testadas na síntese de criogéis supermacroporosos, com polimerização a -12°C.....	27
Tabela 3 - Teste de variação da temperatura de polimerização de criogéis supermacroporosos	28
Tabela 4 - Caracterização morfológica dos criogéis obtidos a partir da síntese de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN.....	35

LISTA DE SIGLAS

Aam	Acrilamida
AGE	Alil Glicidil Éter
APS	Persulfato de Amônio
ATR	Reflectância Total Atenuada
DCA	Departamento de Ciência dos Alimentos
DF	Departamento de Fitopatologia
DQI	Departamento de Química
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FTIR	Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier
MBAam	N,N'-metileno-bis-acrilamida
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OPN	Ora-pro-nóbis
pAAm	Poliacrilamida
PVA	Álcool Polivinil
TEMED	N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 Criogéis Supermacroporosos.....	15
3.2 Principais fatores que afetam as propriedades dos criogéis.....	17
3.3 Propriedades dos criogéis	18
3.3.1 Estrutura com macroporos interconectados.....	18
3.3.2 Elevada permeabilidade.....	19
3.3.3 Biocompatibilidade.....	19
3.3.4 Funcionalização de sua estrutura.....	20
3.4 Aplicações do Criogel.....	20
3.5 Ora-pro-nóbis	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Instalações	24
4.2 Materiais.....	24
4.3 Obtenção da Mucilagem de Ora-pro-nóbis.....	24
4.4 Preparo dos criogéis	25
4.4.1 Ensaio preliminares	26
4.4.2 Avaliação das concentrações de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN na síntese do criogel.....	27
4.4.3 Avaliação da temperatura de polimerização do criogel.....	27
4.5 Caracterização dos criogéis	28
4.5.1 Capacidade de inchamento	28

4.5.2	Grau de expansão	29
4.5.3	Porosidade	29
4.5.4	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	30
4.5.5	Propriedades Mecânicas	30
4.5.6	Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	31
4.5.7	Calorimetria diferencial de Varredura (DSC).....	31
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1	Síntese dos criogéis	32
5.2	Caracterização dos criogéis	35
5.3	Propriedades mecânicas.....	38
5.4	Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	38
5.5	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	41
6.	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a purificação e separação de biomoléculas tem sido alvo de muitos estudos, pois o emprego dessas moléculas purificadas é crescente em diversas áreas como a médica, farmacêutica, alimentícia e na engenharia de tecidos. As técnicas de separação e purificação são etapas críticas e muitas vezes apresentam o maior custo do bioprocessamento, representando até 80% do custo de todo o procedimento. Desta forma, os criogéis monolíticos macroporosos vem sendo considerados como promissoras matrizes de bioseparação, destacando-se pelo baixo custo de produção, alta permeabilidade ao escoamento e baixa perda de cargas na coluna (MARCUZ, 2019; MARQUES *et al.*, 2018).

Os primeiros relatos referentes à síntese de criogéis aconteceram na década de 70, entretanto, estas matrizes começaram a ganhar importância somente em 1980. No ano de 1982, Lozinsky e colaboradores realizaram estudos para verificar a possibilidade da obtenção de géis porosos a partir do congelamento de soluções de polímeros, procurando compreender os princípios da criopolimerização de sistemas poliméricos incluindo PVA (álcool polivinil) e pAAm (poliacrilamida) (LOZINSKY, 1982; KUMAR, 2016). A partir da década de 90, vários grupos de cientistas em todo o mundo começaram a utilizar esta matriz em diversas aplicações, como nos processos de bioseparação, e dedicaram-se a estudar e melhorar suas propriedades físico-químicas por meio de modificações químicas em sua estrutura (KUMAR, 2016).

Criogéis são matrizes contínuas, de estrutura sólida e porosa, sintetizadas a partir de precursores em condições criogênicas (MARCUZ, 2019). Estas matrizes são obtidas através da reticulação de precursores monoméricos ou poliméricos sob temperaturas abaixo de zero. Este processo forma uma rede de cadeias poliméricas lineares ou ramificadas interligadas e distribuídas ao longo da matriz, produzindo polímeros tridimensionais com baixa massa molecular. O solvente utilizado no processo, ao ser descongelado, revela uma estrutura altamente macroporosa e com alta interconectividade entre os poros, permitindo a fácil circulação de partículas pela matriz (KUMAR, 2016).

Entre os principais tipos de criogéis, destacam-se os que são compostos por poliacrilamida, sintetizados a partir da polimerização da acrilamida com a N,N'-metileno-bis-acrilamida como agente formador de ligações cruzadas. Além da poliacrilamida, os criogéis podem ser obtidos a partir de diversas outras combinações poliméricas, como da criopolimerização da carragena e da gelatina, utilizando glutaraldeído como agente reticulante, e a partir da polimerização de 2-hidroxietil metacrilato e n-vinil imidazol, utilizando

N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina (TEMED) e persulfato de amônio (APS) como agentes iniciadores da reação (MARQUES *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2013; PAIVA, 2019).

As mucilagens são hidrocoloides compostas por um grupo heterogêneo de polímeros de cadeia longa, alta massa molar e que apresentam capacidade de reter água em sua estrutura. A afinidade por moléculas de água é devida à grande quantidade de grupos hidroxilas presente na estrutura destas substâncias (OLIVEIRA, 2019).

Os hidrocoloides podem ser extraídos de fontes animais, vegetais ou microbiológicas, sendo que a extração de fontes vegetais é a mais utilizada. A *Pereskia aculeata* Miller, uma trepadeira cactácea amplamente distribuída por todo o Brasil, vem sendo considerada uma boa fonte para a obtenção de mucilagem vegetal. A mucilagem obtida a partir da ora-pro-nóbis apresenta elevada qualidade nutricional, com altos teores de aminoácidos essenciais, como o triptofano, além de proteínas, minerais e altas concentrações do biopolímero arabinogalactana, um polissacarídeo altamente ramificado, formado por arabinose e galactose que apresenta elevada capacidade de formar géis e soluções viscosas (MORAIS, 2019; OLIVEIRA, 2019).

As crescentes demandas por adsorventes para aplicações nas diversas áreas da tecnologia e da saúde exigem um constante aprimoramento desse material. Estudos em busca de matrizes macroporosas com composições variadas e novas formas de funcionalização vêm sendo amplamente realizados nos últimos anos. Neste contexto, o objetivo do trabalho foi produzir criogéis de poliacrilamida com substituição parcial de monômeros sintéticos por mucilagem de ora-pro-nóbis. Além disso, a matriz macroporosa foi e caracterizada morfológicamente, mecanicamente, quimicamente e termicamente.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Produzir e caracterizar criogéis constituídos de poliacrilamida com substituição parcial de monômeros sintéticos por mucilagem de ora-pro-nóbis.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de acrilamida, N,N-metil-bis-acrilamida, e mucilagem de ora-pro-nóbis na síntese dos criogéis;
- Avaliar o efeito de diferentes temperaturas de polimerização na obtenção dos criogéis;
- Quantificar a porosidade, a capacidade de inchamento, o grau de expansão e as frações de macroporos, micro e mesoporos, de água ligada e de polímeros secos dos criogéis produzidos;
- Caracterizar a estrutura morfológica dos criogéis produzidos por meio de microscopia eletrônica de varredura;
- Caracterizar as propriedades mecânicas dos criogéis produzidos por meio de teste de compressão;
- Caracterizar os grupos químicos presentes nos criogéis produzidos por meio de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier;
- Caracterizar termicamente os criogéis produzidos por calorimetria diferencial de varredura.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Criogéis Supermacroporosos

Os primeiros relatos sobre a síntese dos criogéis aconteceram há aproximadamente 50 anos, entretanto estes géis ganharam grande popularidade e começaram a ser utilizados como matriz de separação em processos de biosseparação apenas nos anos 90, década em que diferentes grupos de cientistas em todo o mundo dedicaram-se a estudar suas propriedades físico-químicas (KUMAR, 2016; PARIZZI, 2015).

Criogéis, também chamados de fases estacionárias contínuas, são géis poliméricos supermacroporosos formados por crio-copolimerização, ou seja, polimerização em temperaturas de congelamento, no qual o gelo formado atua como agente porogênico (BAKSHPOUR; IDIL; DENIZLI, 2019; KUMAR, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2015). O tamanho dos macroporos e sua estrutura porosa interconectadas faz com que o fluxo nestas matrizes seja puramente convectivo e que a resistência à transferência de massa seja baixa, permitindo a passagem de fluidos e amostras por estes géis, sem obstruir seus poros (KUMAR, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2015).

O processo de síntese dos criogéis supermacroporosos inicia-se com a dissolução dos precursores em um solvente adequado. O solvente mais utilizado para a produção destes géis é a água, uma vez que a maioria dos monômeros e dos polímeros são solúveis nela. No caso de precursores insolúveis, são adicionados aditivos para tornar a solução homogênea (KUMAR, 2016).

A natureza das ligações presentes nos criogéis está diretamente ligada à estrutura química de seus polímeros precursores. Os criogéis de poliacrilamida são constituídos de acrilamida (Aam) que é o monômero formador de estrutura, a N,N'-metileno-bis-acrilamida (MBAam) como o agente reticulante, o persulfato de amônio (APS) que atua como iniciador da reação de polimerização e o N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina (TEMED) que age como um agente acelerador da reação de polimerização. Juntas, essas substâncias são utilizadas com o propósito de obter uma matriz de gel estável. A adição do agente reticulante é a etapa responsável pela formação de uma malha forte de cadeias poliméricas lineares ou ramificadas formadas por ligações covalentes (GONÇALVES *et al.*, 2015; KUMAR, 2016).

Quando os solutos estiverem completamente dissolvidos, a solução contendo os precursores é congelada a uma temperatura entre -10 °C a -20 °C. Com a redução da temperatura há a formação de cristais de gelo e inicia-se a formação de uma fase líquida descongelada com

alta concentração de precursores e um volume mínimo de solvente. As condições desta fase líquida concentrada favorecem a reação entre os monômeros, o agente reticulante e os iniciadores, levando à formação de uma rede de polímeros interconectados com um grande número de ligações entre seus monômeros e, conseqüentemente, gerando géis de resistência elevada (ALCÂNTARA, 2013; KUMAR, 2016).

Além da poli(acrilamida), os criogéis podem ser obtidos a partir da combinação de diversos outros compostos poliméricos. Como exemplo, temos os criogéis dos biopolímeros carragena e gelatina, aplicados na regeneração de tecidos. Estes criogéis são obtidos da polimerização a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ de soluções precursoras contendo carragena, gelatina extraída dos ossos e da pele dos peixes, água deionizada a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ como o solvente e glutaraldeído como o agente reticulante (SHARMA *et al.*, 2013). Outro exemplo são os criogéis obtidos da polimerização de 2-hidroxietil metacrilato e n-vinil imidazol, utilizados na remoção dos íons Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} de soluções aquosas. Estes criogéis são obtidos a partir da polimerização a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ de uma solução contendo os monômeros 2-hidroxietil metacrilato e n-vinil imidazol, água deionizada como solvente e TEMED e APS como agentes iniciadores da reação de polimerização (TEKIN *et al.*, 2011).

A Figura 1 apresenta as etapas do processo de crio-copolimerização dos criogéis. A primeira fase representa o sistema inicial do processo, com uma solução de monômeros suspensos no solvente, submetidos a congelamento em temperatura de $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 horas. Na segunda fase o sistema é congelado e possui cristais de gelo e a fase líquida concentrada com precursores. Por fim, a terceira fase representa o criogel após secagem, com suas paredes polimerizadas e seus poros interconectados (KUMAR, 2016).

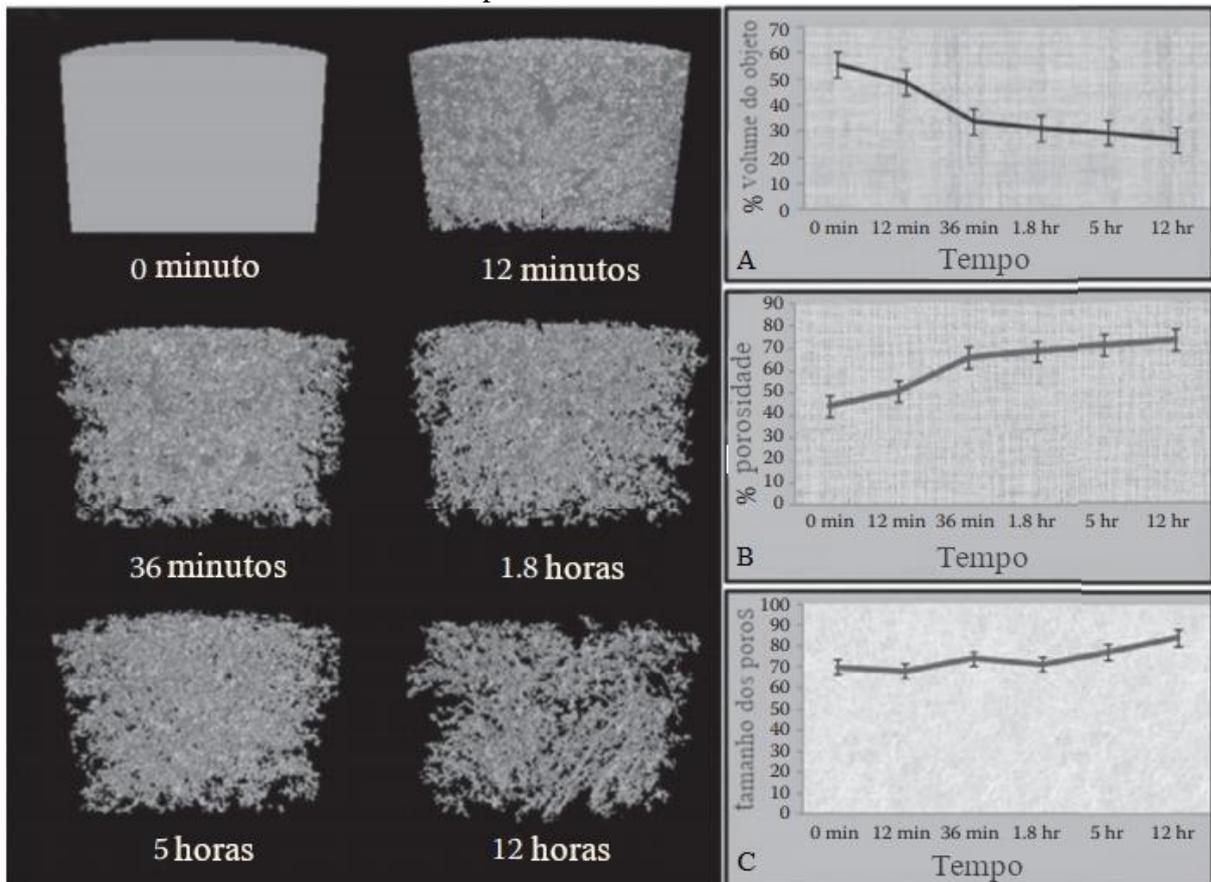
Figura 1 - Representação do processo de crio-copolimerização em criogéis supermacroporosos



Fonte: Adaptado de Kumar (2016).

Na Figura 2, pode-se observar as alterações estruturais nos criogéis durante o período de polimerização. Ao longo de 12 h de polimerização em banho termostático à $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ é possível perceber que há uma variação do volume do criogel (Figura 2 A), um aumento da porosidade (Figura 2 B) e um aumento do tamanho dos poros do criogel (Figura 2 C) (KUMAR, 2016).

Figura 2 - Representação das mudanças estruturais do criogel incubado a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ao longo do período de 12 horas



Fonte: Adaptado de Kumar (2016).

Com o descongelamento do sistema, os cristais de gelo derretem e surgem em seu lugar macroporos interconectados de tamanhos variados. Esta estrutura apresenta baixa resistência a transferência de massa, permitindo um elevado fluxo de gases, líquidos e materiais particulados pelo suporte (YAO *et al.*, 2006).

3.2 Principais fatores que afetam as propriedades dos criogéis

Os principais fatores que afetam as propriedades dos criogéis são a temperatura de criopolimerização, o tempo de polimerização, o tipo de reticulação, os monômeros utilizados, a

concentração dos monômeros e a taxa de congelamento (BAKSHPOUR; IDIL; DENIZLI, 2019).

A temperatura de polimerização e a taxa de congelamento estão diretamente ligadas à estrutura porosa das matrizes monolíticas. A taxa de congelamento está relacionada à velocidade de congelamento da solução e é calculada pela diferença entre a temperatura inicial e final da solução, dividida pelo tempo de congelamento. Para a produção de criogéis porosos, a velocidade de reticulação dos monômeros deve ser mais lenta do que a taxa de congelamento do solvente. Isso porque a cristalização do solvente é a responsável pela formação dos macroporos, e caso a reticulação ocorra antes desta cristalização, nenhum macroporo será formado na estrutura do criogel (BAKSHPOUR; IDIL; DENIZLI, 2019). Quando o processo de crio-polimerização ocorre em taxas de congelamento muito elevadas, o solvente cristaliza rapidamente, havendo a formação de um maior número de cristais de gelo. Estes cristais levam a formação de um grande número de poros, entretanto, estes poros apresentam tamanhos reduzidos quando comparados aos obtidos em taxas de congelamento um pouco mais lentas (BRITO, 2015).

Os monômeros utilizados para a síntese das matrizes porosas e suas concentrações afetam significativamente o processo de criopolimerização e o grau de reticulação dos criogéis. Monômeros de baixo peso molecular são responsáveis pela formação de criogéis com poros maiores quando comparados aos obtidos por monômeros de alto peso molecular. Isso ocorre porque polímeros de peso molecular elevado apresentam pequeno volume de água livre, reduzindo a cristalização do solvente durante a polimerização em temperatura de congelamento. A criopolimerização ocorre de forma mais eficiente quando a solução precursora contém uma maior concentração de conteúdo polimérico. A alta concentração de conteúdos poliméricos aumenta o grau de reticulação, proporcionando uma maior reação entre os monômeros e o agente reticulante da solução e levando a formação de uma rede polimérica com um maior número de ligações. O alto grau de reticulação gera cadeias fortemente ligadas umas às outras e proporciona a produção de criogéis mais rígidos e resistentes. O grau de reticulação também afeta a elasticidade, a capacidade de inchamento e as propriedades mecânicas das matrizes macroporosas (BAKSHPOUR; IDIL; DENIZLI, 2019).

3.3 Propriedades dos criogéis

3.3.1 Estrutura com macroporos interconectados

A propriedade mais marcante dos criogéis é sua estrutura de macroporos interconectados. Estas estruturas são formadas durante a criocopolimerização da solução de monômeros, no momento em que a água livre da solução forma cristais de gelo que crescem progressivamente até encontrar a outra face do cristal, fazendo com que estes se fundem. Na fase líquida descongelada ocorrem interações intermoleculares responsáveis pela formação da estrutura física da matriz. Após o degelo das amostras, o contato que ocorreu entre as facetas revela uma estrutura de poros interconectados que formam uma rede de canais cruzados (KUMAR, 2016; LOZINSKY, 2018). Estes canais apresentam uma grande quantidade de poros com tamanhos que variam de 10 μm a 100 μm , permitindo um elevado fluxo de matérias e transferência de massa convectiva. Nestas matrizes, a passagem de uma fase móvel ocorre de forma rápida, permitindo que até moléculas muito grandes sejam separadas rapidamente a partir de extratos brutos (BAKSHPOUR; IDIL; DENIZLI, 2019).

3.3.2 Elevada permeabilidade

A estrutura esponjosa dos criogéis, composta por tamanhos variados de poros interconectados, permite que os líquidos sejam bombeados pelas matrizes a taxas elevadas e com resistência ao fluxo mínima (BRITO, 2015; KUMAR, 2016).

Devido a elasticidade de suas paredes porosas, após seca, a matriz pode ser rapidamente reidratada sem causar estragos em sua estrutura. Esta capacidade do material de se reidratar quando colocado em solução aquosa é chamada de *Swelling degree* (BRITO, 2015).

3.3.3 Biocompatibilidade

Os criogéis são materiais de preparação simples e que podem utilizar em sua composição polímeros naturais ou monômeros solúveis em água, o que faz com que estas matrizes apresentem uma elevada biocompatibilidade (PARIZZI, 2015; KUMAR, 2016). A biocompatibilidade é a habilidade de um material em ser compatível com tecidos vivos, obedecendo um amplo espectro de parâmetros de qualidade e segurança, como a atoxidade. Esta propriedade permite que os criogéis sejam utilizados em algumas aplicações biotecnológicas, como em estudos que envolvem células e interações de materiais dos tecidos (KUMAR, 2016).

3.3.4 Funcionalização de sua estrutura

Devido a sua elevada porosidade, grande parte do volume dos criogéis é constituída de grandes poros interconectados, fazendo com que as matrizes apresentem uma área superficial disponível para adsorção de tamanho reduzido. Visando melhorar a eficiência dos processos adsorptivos, podem ser realizadas modificações físicas ou químicas nessas matrizes (FONTAN, 2013; KUMAR, 2016; OLIVEIRA, 2018).

A customização das matrizes pode ocorrer por meio de copolimerização de monômeros funcionais, modificação dos grupos funcionais da superfície ou pela imobilização de ligantes funcionais no adsorvente. As alterações da superfície são realizadas com intuito de inserir vários sítios de ligação ao criogel (KUMAR, 2016; OLIVEIRA, 2018). Além disso, os criogéis apresentam grande versatilidade, podendo ser fabricadas em diversos tamanhos e formatos, como discos, folhas e monólitos de dimensões variadas de acordo com a funcionalidade desejada (SHARMA *et al.*, 2013).

3.4 Aplicações do Criogel

Cada vez mais uma grande variedade de materiais poliméricos criogênicos tem sido alvo de pesquisas, isto porque eles vêm sendo aplicados em diversas áreas, como a médica, a biológica, na engenharia de células e tecidos, biotecnologia, ecologia, dentre outras (LOZINSKY, 2018).

Estudos sobre a utilização de matrizes macroporosas na engenharia de tecidos originaram-se devido à necessidade de novos materiais similares a matriz celular para a substituição e reparação de tecidos danificados. Desta forma, os pesquisadores vêm desenvolvendo diversos polímeros naturais que imitam a composição dos tecidos, recriando uma estrutura tridimensional biocompatível para que as células apresentem uma rejeição mínima (KUMAR, 2016). A aplicabilidade dos criogéis na reparação de tecidos é avaliada de acordo com sua porosidade, integridade e durabilidade mecânica, além da análise de sua interconectividade geral, visando desta forma garantir propriedades adequadas para um tecido específico (SAYLAN *et al.*, 2019).

Em um estudo realizado por Kumar (2016) desenvolveram uma matriz de criogel biocompósito com propriedades bifásicas contendo vidro bioativo e cálcio na fase inorgânica e PVA e alginato na fase orgânica. Esta matriz foi utilizada no processo regenerativo de defeitos

ósseos craneanos de tamanho crítico. Como resultado, o grupo tratado com a matriz de criogel teve uma recuperação óssea significativamente maior do que o grupo não tratado.

Em um outro estudo do mesmo autor, foi desenvolvido uma matriz biocompatível, elástica e macroporosa, composta por quitosana, agarose e gelatina. Esta matriz foi utilizada na regeneração de tecidos altamente elásticos e cartilagosos. Como resultado, a cartilagem do grupo tratado foi altamente regenerada, apresentando semelhança com a cartilagem nativa (KUMAR, 2016).

Outra aplicação das matrizes poliméricas é na purificação e separação de biomoléculas. O desenvolvimento de novas formas de purificação das moléculas de um meio complexo, como o sangue, é de extrema importância na biotecnologia, uma vez que os métodos tradicionais, como a ultracentrifugação e a filtração, são extremamente caros, demorados e muitas vezes apresentam baixa eficácia. Desta forma, o uso dos criogéis torna-se uma alternativa interessante para uma separação e purificação rápida e eficaz das biomoléculas (SAYLAN *et al.*, 2019).

Saylan *et al.* (2019) desenvolveram um criogel composto com ácido 4-vinil fenilborônico e metacrilato de 2-hidroxiel para reconhecimento e separação da imunoglobina G. A matriz foi caracterizada por testes, como a microscopia eletrônica de varredura, e seu desempenho de separação foi avaliado por cromatografia líquida de alta pressão. Os resultados demonstraram que o criogel composto se apresentava como uma boa alternativa na substituição de colunas comerciais.

Na área da engenharia de alimentos, os criogéis podem ser amplamente utilizados na purificação de algumas enzimas, como a lisozima. A lisozima é uma enzima natural amplamente distribuída na natureza, extraída comercialmente a partir da clara do ovo de galinha. A lisozima apresenta características bacteriolíticas devido a sua capacidade de hidrolisar os mucopolissacarídeos presentes na parede celular das bactérias. Graças a essa característica, a lisozima é amplamente utilizada na indústria de alimentos como conservante para queijos e vinhos (MÓL *et al.*, 2019).

Um método utilizado para purificação da lisozima é a cromatografia líquida por afinidade. Neste contexto, Mól (2016) produziu criogéis supermacroporosos de poliacrilamida modificados quimicamente pela incorporação de moléculas de tris hidroximetil aminometano e os utilizou como matriz cromatográfica para a purificação da lisozima presente na clara de ovo. A média do grau de pureza obtido a partir das amostras foi de 81%.

Na biotecnologia ambiental, as matrizes de criogel desempenham um papel importante, podendo ser utilizadas na captura seletiva e remoção de moléculas perigosas ao ambiente. Em pesquisas, Lozinsky *et al.* (2007) desenvolveram um criogel de PVA com microrganismos

imobilizados para realizar biorremediação de um solo contaminado com diesel. Os testes utilizando o criogel com microrganismos immobilizados apresentaram resultados melhores do que os que utilizaram o fluido de remediação comercial (KUMAR, 2016).

Devido a suas diversas propriedades, como a biocompatibilidade e a alta porosidade, o criogel apresenta uma grande importância em várias áreas de estudo, e o número de pesquisas realizadas para o aperfeiçoamento destas matrizes vem crescendo de forma acelerada (KUMAR, 2016).

3.5 Ora-pro-nóbis

A *Pereskia Aculeata* Miller, popularmente conhecida por *Pereskia* ou ora-pro-nóbis (OPN), é uma espécie vegetativa perene e de porte arbustivo, pertencente à família das cactáceas. Trata-se de uma planta bastante rústica que se desenvolve principalmente em regiões de solo árido e semiárido, podendo ser encontrada em alguns países da África, na Índia Oriental, região sul dos Estados Unidos e em toda a extensão do Brasil (STEFANELLI; SOUZA, 2019; CONCEIÇÃO, 2013).

Essa cactácea vem sendo amplamente utilizada na culinária regional brasileira uma vez que, além de ser uma espécie de fácil cultivo, apresentar alta capacidade de dispersão e adaptação, ela possui excelentes propriedades nutricionais para a alimentação humana (LUCCA, 2017; SILVA, 2019a). As folhas da ora-pro-nóbis apresentam altos teores de proteínas, fibras, minerais como cálcio, magnésio, zinco e ferro, e vitaminas como vitamina A, vitamina C e ácido fólico (SILVA, 2019a).

Pesquisas realizadas por Lucca (2017) indicam que as folhas da ora-pro-nóbis apresentam uma grande quantidade de mucilagem no interior de suas células. A mucilagem é um polissacarídeo complexo presente na parede celular das plantas, composto de um ou mais monossacarídeos. De modo geral, a mucilagem pode ser formada por um agrupamento de hidrocoloides, que são polímeros de cadeia longa, alta massa molecular e que apresentam alta afinidade de ligação com as moléculas de água. A presença de grande quantidade de grupamentos hidroxila e carboxila em sua composição conferem aos hidrocoloides essa característica hidrofílica (GOBETTI; BERGAMASCO; SCAPIM, 2017; LUCCA, 2017; OLIVEIRA, 2019).

Nos polissacarídeos presentes na mucilagem natural da *Pereskia Aculeata* Miller encontram-se altas concentrações do biopolímero arabinogalactana e dos monossacarídeos arabinose, galactose, ácido urônico e raminose. Esta mucilagem também possui proteínas,

minerais e aminoácidos essenciais, como o triptofano. A presença do complexo arabinogalactana-proteína confere à mucilagem alta propriedade emulsificante e de formar gel (CONCEIÇÃO, 2013; GOBETTI; BERGAMASCO; SCAPIM, 2017; SILVA, 2019a). Devido à estas propriedades, estudos têm sido realizados visando explorar a aplicação da mucilagem de OPN em diferentes sistemas, como emulsões, géis (JUNQUEIRA *et al.*, 2018), nanoemulsões (LAGO *et al.*, 2019), microencapsulados (NEVES *et al.*, 2020), filmes (OLIVEIRA *et al.*, 2019b) e bebidas lácteas (AMARAL *et al.*, 2018).

Oliveira *et al.* (2019b) demonstraram que a mucilagem de ora-pro-nóbis suplementada com glicerol pode ser considerada como uma alternativa para a produção de embalagens biodegradáveis. Por meio de testes foram obtidos filmes flexíveis, de superfícies lisas, sem rachaduras e de coloração escura. Observou-se que estes filmes podem ser utilizados como embalagem primária de alimentos sensíveis a luz e também como filmes comestíveis, uma vez que a composição do material apresenta características atóxicas.

No setor de laticínios, alguns hidrocoloides são utilizados como estabilizantes em leite fermentado para impedir a separação de fases e controlar a textura do produto. Amaral *et al.* (2018) realizaram testes para verificar se a mucilagem de *Pereskia aculeata* Miller atuaria como estabilizante em leite fermentado. A adição de uma mistura de hidrocoloides composta por 70% de mucilagem de OPN e 30% de goma guar no leite fermentado mostrou resultados positivos, com o aumento da viscosidade aparente, pH, teor de proteína, firmeza e adesividade do produto.

Lucyszyn *et al.* (2016) desenvolveram filmes curativos constituídos por celulose bacteriana e arabinogalactana extraída das folhas de *Pereskia Aculeata* Miller. A inclusão do hidrocoloide aumentou a microfibras da celulose, reduziu a região porosa e melhorou as propriedades mecânicas do filme. As membranas produzidas apresentaram viabilidade e perfil de adesão similar as comerciais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instalações

A síntese dos criogéis e os testes de capacidade de inchamento, porosidade e grau de expansão foram realizados no Laboratório de Separação de Biomoléculas e no Laboratório de Refrigeração de Alimentos (DCA). As análises de espectroscopia do infravermelho (FTIR) e de calorimetria diferencial de varredura (DSC), foram realizadas no Centro de Análise e Prospecção Química (DQI). A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (DF) e o teste de compressão foi realizado no Laboratório de Análise de Alimentos (DCA). Todas estas análises foram executadas na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

4.2 Materiais

Para a síntese dos criogéis foram utilizados água ultrapura, acrilamida (AAm, 99%), N,N-metileno-bis-acrilamida (MBAAm, 99%), alil glicidil éter (AGE), 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico (ácido cítrico), mucilagem de ora-pro-nóbis, persulfato de amônio (APS) e N,N,N,N-tetrametiletilenodiamina (TEMED, 99%). Todos os reagentes apresentavam grau analítico.

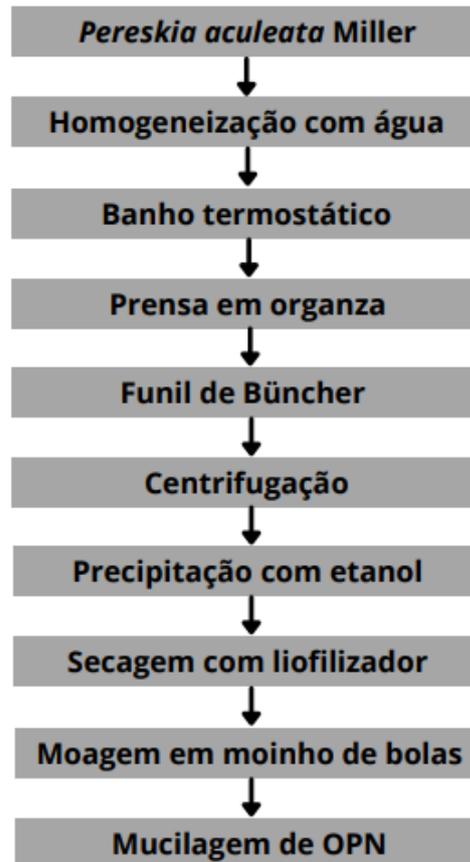
4.3 Obtenção da Mucilagem de Ora-pro-nóbis

A extração da mucilagem de ora-pro-nóbis foi realizada segundo processo otimizado de Lima Junior *et al.* (2013) com modificações, conforme ilustrado na Figura 3. Primeiramente as folhas de ora-pro-nóbis foram trituradas e homogeneizadas em água na proporção de 1 kg de folhas para 2,5 L de água, à temperatura de 100 °C por 10 minutos utilizando um liquidificador industrial (Metvisa LG10, Brasil).

Na sequência, as amostras foram acondicionadas em béqueres e permaneceram em banho termostático (Quimis, q-215-2) à 65 °C por 6 h. A mistura foi resfriada e filtrada manualmente com tecido organza e posteriormente foi submetida a filtração à vácuo em um funil de Buchner acoplado a uma bomba de vácuo (Primar MC 1284, Brasil), utilizando como meio filtrante três camadas de organza.

Após a filtração, o material foi centrifugado a 4680xg. O líquido remanescente foi adicionado de etanol na proporção de 3:1 (etanol: extrato bruto) e o precipitado foi retirado, congelado, seco em liofilizador (marca Edwards, modelo 4KR) e moído em moinho de bolas (marca P Labor, modelo SP-38) para obtenção da mucilagem de OPN em pó.

Figura 3 - Fluxograma do processo para obtenção de mucilagem das folhas de OPN



Fonte: Adaptado de Lima Junior *et al.* (2013)

4.4 Preparo dos criogéis

Os criogéis foram sintetizados segundo metodologia adaptada de Veríssimo *et al.* (2017). Primeiramente os monômeros acrilamida e N,N-metileno-bis-acrilamida e a mucilagem de ora-pro-nóbis em pó foram dissolvidos em aproximadamente 20 ml de água ultrapura sob condições de refrigeração (banho de gelo). Na sequência, a mistura foi agitada até ser completamente solubilizada e transferida para um balão volumétrico de 25 mL, tendo seu volume completado com água ultrapura. O volume foi transferido para um béquer e o início da polimerização ocorreu com a adição de 100 µL de solução de persulfato de amônio (APS, 27,5% m/v) e 23,8 µL de N,N,N,N-tetrametiletilenodiamina (TEMED, 99%), ambos

previamente resfriados. Em seguida, a solução foi vertida em seringas de 5 mL, e estas foram vedadas e colocadas em banho termostático com álcool a uma temperatura inferior a zero por um período de 24 horas. Passado o tempo de polimerização, os criogéis foram descongelados em temperatura de refrigeração, retirados das seringas, lavados com água deionizada e secos em estufa a 60 °C por um período de 48 horas.

As concentrações dos constituintes empregados na elaboração dos criogéis, bem como as diferentes temperaturas de polimerização avaliadas são apresentadas nos tópicos 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.3.

Adicionalmente foi sintetizado um criogel puro (isento de mucilagem de OPN), seguindo as etapas descritas anteriormente e constituído por 1,185 g de AAm, 0,3175 g de MBAAm e 1 mL de AGE em 25 mL de água ultrapura. Nesta solução, foram adicionados 100 µL de APS (27,5% m/v) e 23,8 µL de TEMED. A síntese do criogel puro ocorreu em banho termostático à -12 °C por 24 horas, seguido de descongelamento, lavagem com água e secagem em estufa a 60 °C por 48 horas.

4.4.1 Ensaios preliminares

Ensaios preliminares foram realizados sintetizando criogéis com diferentes concentrações de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN, de acordo com a Tabela 1. Nesta etapa, os tratamentos foram realizados em triplicata e a polimerização foi feita em banho termostático a -12 °C.

Tabela 1 - Concentrações de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN testadas na síntese de criogéis supermacroporosos, com polimerização a -12°C

Tratamento	AAm (g)	MBAAm (g)	Mucilagem de OPN (g)
I	1,185	0	0,3175
II	1,185	0,1588	0,1588
III	0	0,3175	1,185
IV	0,5925	0,3175	0,5925
V	0	0	1,5025

Fonte: Do autor (2021).

Após sintetizados, os criogéis foram descongelados e lavados com água deionizada. Em seguida, avaliou-se visualmente os tratamentos que apresentaram a formação de um gel com as características de um criogel convencional. Para aqueles tratamentos que apresentaram a morfologia esperada, foi empregado um delineamento inteiramente casualizado (DIC)

utilizando as concentrações dos monômeros e de mucilagem de OPN definidas pelo teste preliminar.

4.4.2 Avaliação das concentrações de AAm, MBAAm, ácido cítrico e mucilagem de OPN na síntese do criogel

Um delineamento inteiramente casualizado (DIC) foi empregado a fim de avaliar o efeito das diferentes concentrações de AAm, MBAAm, mucilagem de OPN e ácido cítrico na formação do criogel. Foram realizados 16 tratamentos conforme apresentado na Tabela 2. Os tratamentos foram realizados em triplicata e a polimerização foi feita em banho termostático a -12 °C.

Tabela 2 - Concentrações de AAm, MBAAm, ácido cítrico e mucilagem de OPN testadas na síntese de criogéis supermacroporosos, com polimerização a -12°C

Tratamento	AAm (g)	MBAAm (g)	Ácido cítrico (g)	Mucilagem de OPN (g)
1	1,185	0,1588	0	0,1588
2	0,5925	0,1588	0	0,1588
3	1,185	0,0794	0	0,1588
4	0,5925	0,0794	0	0,1588
5	1,185	0,1588	0,1	0,1588
6	0,5925	0,1588	0,1	0,1588
7	1,185	0,0794	0,1	0,1588
8	0,5925	0,0794	0,1	0,1588
9	1,185	0,1588	0	0,0794
10	0,5925	0,1588	0	0,0794
11	1,185	0,0794	0	0,0794
12	0,5925	0,0794	0	0,0794
13	1,185	0,1588	0,1	0,0794
14	0,5925	0,1588	0,1	0,0794
15	1,185	0,0794	0,1	0,0794
16	0,5925	0,0794	0,1	0,0794

Fonte: Do autor (2021).

Os criogéis sintetizados foram descongelados, lavados com água deionizada e secos em estufa a 60 °C por 48 horas. Verificou-se que alguns tratamentos não formaram gel e após secos apenas o tratamento 9 apresentou estrutura característica de criogel. O tratamento 9 foi posteriormente submetido a polimerização em diferentes temperaturas.

4.4.3 Avaliação da temperatura de polimerização do criogel

O tratamento 9, cuja formulação resultou em criogéis com melhor estrutura, foi submetido a diferentes temperaturas de polimerização visando verificar qual a melhor temperatura de polimerização para a formação do gel. Foram avaliadas três temperaturas de crio-polimerização (-1,5 °C, -9 °C e -12 °C), como descrito na Tabela 3. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata.

Tabela 3 - Teste de variação da temperatura de polimerização de criogéis supermacroporosos

Tratamento	Temperatura °C	AAM (g)	MBAAM (g)	Mucilagem de OPN (g)
A	-12	1,185	0,1588	0,0794
B	-9	1,185	0,1588	0,0794
C	-1,5	1,185	0,1588	0,0794

Fonte: Do autor (2021).

Os criogéis obtidos na temperatura de polimerização que deu origem a um gel com as características de um criogel tradicional, temperatura de -12 °C, foram submetidos à caracterização química, mecânica, morfológica e térmica.

4.5 Caracterização dos criogéis

4.5.1 Capacidade de inchamento

A capacidade de inchamento (S) das matrizes foi avaliada utilizando-se seis amostras de criogel secos em estufa a 60 °C por um período de 48 h. Depois de secos, as amostras de aproximadamente 0,15 g e 2 cm foram resfriadas em um dessecador e pesadas em balança analítica. Na sequência, as amostras foram reidratadas com água deionizada e mantidas em um béquer por um período de 24 h. Passado esse período, as massas das amostras de criogéis saturados com água foram pesadas e a capacidade de inchamento foi calculada a partir da equação 1 (SAVINA, MATTIASSOM, GALAEV, 2005).

$$S (Kg Kg^{-1}) = \frac{m_s - m_d}{m_d} \quad (1)$$

onde S é a capacidade de inchamento ($kg kg^{-1}$), m_s é a massa do criogel saturado (kg) e m_d é a massa do criogel desidratado (kg).

4.5.2 Grau de expansão

O grau de expansão é a medida utilizada para relacionar a massa do criogel desidratado com o seu volume quando hidratado. Para sua determinação, seis amostras de criogéis previamente desidratadas foram pesadas em balança analítica. Na sequência, estas amostras foram saturadas com água destilada à temperatura ambiente por um período de 24 h. Passado este período, as amostras saturadas foram inseridas em proveta graduada contendo um volume de água conhecido (V_1) e após a imersão dos criogéis foi obtido o novo volume (V_2). O grau de expansão é obtido a partir da equação 2 (FONTAN, 2013).

$$ED = \frac{V_2 - V_1}{m_d} \quad (2)$$

onde ED é o Grau de expansão ($L \text{ kg}^{-1}$), V_1 é o volume inicial de água na proveta (L), V_2 é o volume final lido após inserção do criogel (L) e m_d é a massa do criogel desidratado (kg).

4.5.3 Porosidade

A porosidade total (φ_T), fração de água ligada (φ_{wb}), fração de polímero seco (φ_d), fração de macroporos (φ_M), meso e microporos (φ_m) foram determinadas após os criogéis desidratados permanecerem 11 dias em um dessecador contendo solução saturada de sulfato de potássio a 25 °C. Após este período, as massas dos criogéis foram pesadas. Posteriormente, os criogéis foram imersos em 50 mL de água destilada por 24 h e pesados novamente. Seis criogéis contendo mucilagem de OPN foram usados nesta análise. Os parâmetros φ_T , φ_{wb} , φ_d , φ_M e φ_m foram determinados através das equações (3) a (7) (PAIVA, 2019).

$$\varphi_{wb} = \frac{m_{wb} - m_d}{m_s} \quad (3)$$

$$\varphi_d = \frac{m_d}{m_s} \quad (4)$$

$$\varphi_M = \frac{m_s - m_e}{m_s} \quad (5)$$

$$\varphi_m = \frac{m_e - m_{wb}}{m_s} \quad (6)$$

$$\varphi_T = \frac{m_s - m_{wb}}{m_s} = \varphi_M + \varphi_m \quad (7)$$

onde m_s é a massa de criogel hidratado (kg), m_d é a massa de criogel desidratado (kg), m_e é a massa do criogel espremido (kg) e m_{wb} é massa do criogel com água ligada (kg).

4.5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação da microestrutura superficial da matriz porosa foi analisada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para realizar a análise, três amostras de criogéis desidratados foram quebradas manualmente próximas a região central da matriz e, em seguida, foram fixadas em suporte adequado (stubs). As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro e analisadas em um microscópio eletrônico de varredura (Carl Zeiss LEO EVO 40 XVP, Oberkochen, Germany), com campo elétrico ajustado para 20,0 kV. Por meio das microfotografias determinou-se o tamanho médio dos poros na matriz.

4.5.5 Propriedades Mecânicas

O teste de compressão tem como objetivo avaliar a resistência de um corpo de prova em relação a uma força de compressão realizada sobre ele. Os ensaios foram realizados em um texturômetro TA.XTplus, da marca Stable Micro Systems com uma célula de carga de 5 kN e uma sonda cilíndrica de 20 mm de diâmetro. Para realização do teste, 5 corpos de prova (criogéis obtidos a partir de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN) de aproximadamente 2,5 cm de altura e 1 cm de diâmetro foram colocados verticalmente em uma placa de metal e as cargas foram aplicadas na mesma direção. A velocidade do teste foi definida para 0,5 mm s⁻¹ e a força aplicada foi registrada pelo software Exponent (v.5). O módulo de Young (E) foi calculado pela equação 8 (OLIVEIRA *et al.*, 2019a).

$$\frac{F}{\pi r^2} = E \frac{\Delta h_0}{h} \quad (8)$$

onde E é o Módulo de Young (MPa), F é a força máxima aplicada (N), πr^2 é a área transversal da amostra (m^2), h é a altura inicial da amostra e Δh_0 é a variação da altura da amostra após compressão (m).

4.5.6 Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de espectroscopia de infravermelho foi utilizada para identificar a presença de grupos funcionais na estrutura das amostras (SANTOS, 2016). O criogel proveniente do melhor tratamento contendo os monômeros AAm, MBAAm e mucilagem de ora-pro-nóbis, foi desidratado e transformado em pó. Em seguida, o material obtido foi submetido a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier utilizando a técnica de reflectância total atenuada (ATR) na região infravermelha de $4000-400\text{ cm}^{-1}$ em um espectrofotômetro Bruker (Vertex 70, EUA). A mucilagem de OPN pura e a amostra de criogel puro, ou seja, isento de mucilagem de OPN, também foram analisadas por esta técnica.

4.5.7 Calorimetria diferencial de Varredura (DSC)

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica utilizada para avaliar a variação do fluxo de calor entre uma amostra e um material de referência. A DSC permite avaliar a ocorrência de eventos endotérmicos ou exotérmicos que são desencadeados por mudanças de fase ou reações químicas (IONASHIRO, 2014).

Aproximadamente 3,5 mg de amostra triturada de criogel puro, criogel com mucilagem de OPN e mucilagem de OPN foram analisadas em um calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu, DSC-60) utilizando uma célula de alumínio vazia como referência. As amostras foram aquecidas de $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ sob fluxo de nitrogênio na taxa de 50 mL min^{-1} (OLIVEIRA *et al.*, 2019a).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Síntese dos criogéis

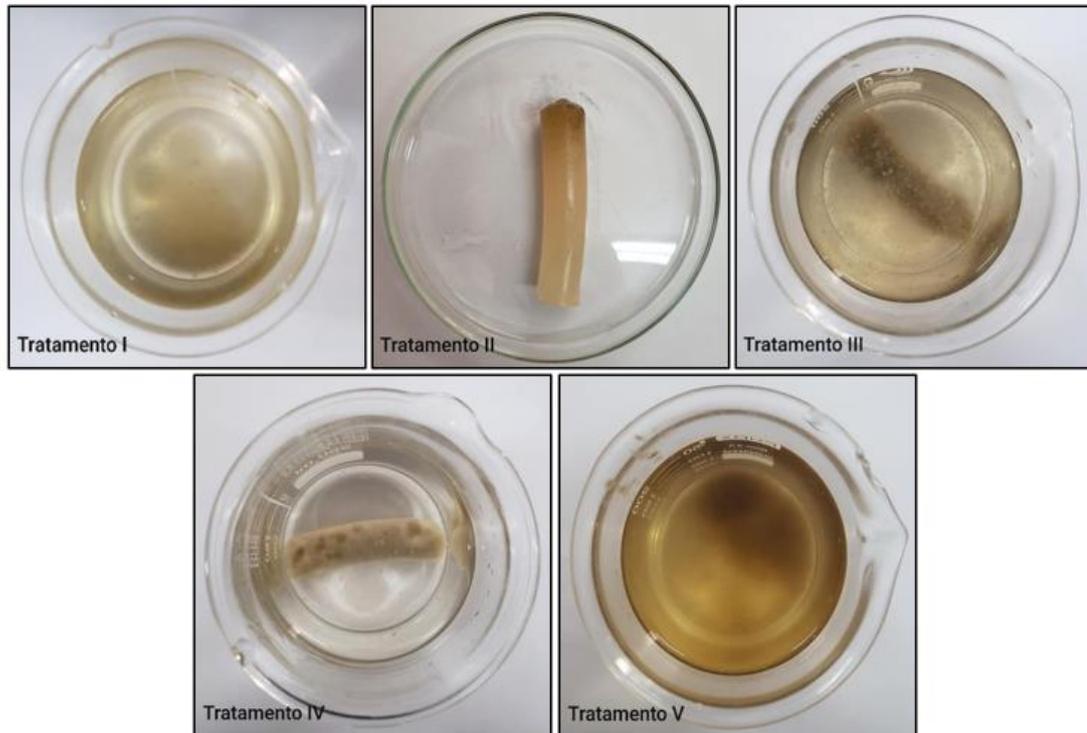
Objetivando produzir um criogel substituindo os monômeros sintéticos por mucilagem de ora-pro-nóbis (OPN) foi feito um estudo empregando diferentes concentrações de acrilamida, metileno-bis-acrilamida, mucilagem de ora-pro-nóbis e ácido cítrico.

Inicialmente, foram realizados ensaios preliminares sintetizando criogéis com diferentes concentrações de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN. Todos eram isentos de ácido cítrico. Dentre os cinco tratamentos produzidos, apenas os tratamentos denominados de II e IV (Tabela 1) formaram criogéis estáveis, como pode ser observado na Figura 4. Comparando ao criogel puro (isento de mucilagem de OPN e que apresenta 1,185 g de AAm, 0,3175 g de MBAAm e 1 mL de alil glicidil éter), ambos os tratamentos II e IV não possuíam adição do monômero AGE. O tratamento II continha uma concentração reduzida de MBAAm (0,1588 g) e menor concentração de mucilagem de OPN (0,1588 g), enquanto o tratamento IV apresentou redução da concentração de AAm (0,5925 g) e concentração intermediária de mucilagem de OPN (0,5925 g). Nos criogéis obtidos por estes dois tratamentos, a AAm e a mucilagem de ora-pro-nóbis atuaram como os principais formadores da cadeia principal e a MBAAm como o agente responsável pela reticulação das cadeias poliméricas.

Os tratamentos I e V não apresentaram formação de gel, o que pode ser atribuído à ausência do agente reticulante (MBAAm) na composição destes. A bis-acrilamida (MBAAm) é responsável pela formação de ligações cruzadas necessárias para gerar a rede polimérica. Conforme descrito por Costa Jr. e Mansur (2008), os agentes reticulantes são moléculas de peso molecular muito menor do que a massa molar da cadeia principal. Uma vez que a mucilagem OPN é constituída principalmente por hidrocoloides, que apresentam longas cadeias poliméricas e elevada massa molar, este composto não é capaz de substituir totalmente a MBAAm na reticulação das cadeias da acrilamida.

Já para o tratamento III pode-se observar uma formação modesta de gel, que pode ter sido afetada pela adição de uma quantidade elevada de mucilagem de OPN e ausência da AAm, o principal formador da estrutura do criogel. Segundo Morais (2019), o aumento da concentração de mucilagem de OPN na solução precursora pode gerar excesso de hidrocoloides, o que dificulta a solubilização da mucilagem e forma “grumos” que interferem na reticulação das cadeias poliméricas.

Figura 4 - Criogéis sintetizados a -12°C a partir da polimerização de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN



Fonte: Do autor (2021).

A partir das condições experimentais avaliadas no DIC (Tabela 2), observou-se que apenas os tratamentos 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11 e 12 resultaram em formação de gel, sendo que o tratamento 9 resultou em um criogel com melhor estrutura macroporosa, como pode ser visto na Figura 5.

Novamente, nota-se que o melhor tratamento foi o que apresentou as menores concentrações de mucilagem de OPN, ausência de ácido cítrico e as maiores concentrações de AAm e MBAAm, demonstrando a importância desses polímeros para formação do criogel.

Um ponto importante a se destacar é que em nenhum dos tratamentos nos quais foi adicionado ácido cítrico como agente reticulante foi observada formação de gel. De acordo com Shi *et al.* (2008) isso deve-se ao fato de que apesar do ácido cítrico apresentar grupos carboxila que fazem ligações covalentes com os grupos hidroxila dos polímeros, quando submetida à temperaturas de congelamento essa reticulação pode não acontecer ou, caso aconteça, a taxa de reticulação parece ser bastante reduzida a ponto de não formar a estrutura de gel.

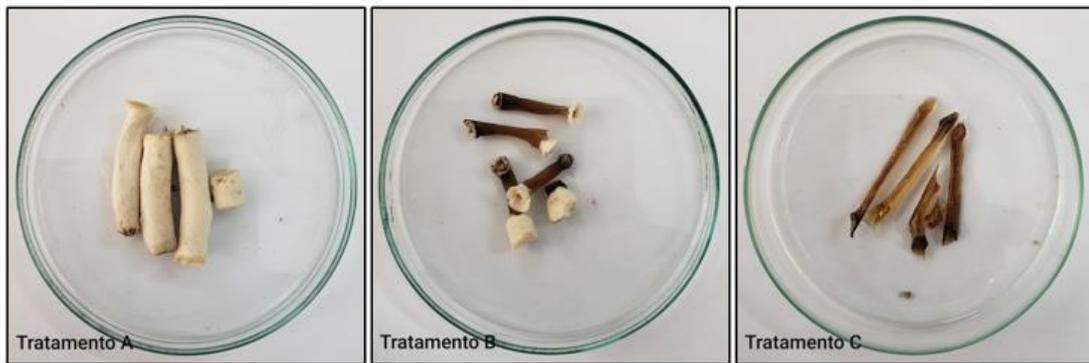
Figura 5 - Criogéis secos sintetizados a -12°C a partir da polimerização de AAm, MBAAm e mucilagem de OPN



Fonte: Do autor (2021).

Avaliando a temperatura de polimerização do tratamento 9, que continha as concentrações de AAm, MBAAm, mucilagem de OPN e ácido cítrico que resultaram em criogéis de melhor aparência, pode-se perceber que somente na temperatura de $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ obteve-se uma matriz macroporosa. Quando empregadas as temperaturas de $-1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$ não houve formação dos criogéis porosos, provavelmente pois a velocidade de congelamento do solvente e a formação de gelo ocorreu mais lentamente que a polimerização dos monômeros. Desta forma, a polimerização ocorre em uma fase mais diluída, gerando uma estrutura gelatinosa e com redução ou ausência de poros, como podemos observar na Figura 6.

Figura 6 - Criogéis secos sintetizados a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tratamento 9)



Fonte: Do autor (2021).

5.2 Caracterização dos criogéis

Foi realizada uma caracterização dos criogéis provenientes do tratamento A, uma vez que estes criogéis resultaram em matrizes de melhor aparência e com formação de gel. Os resultados da caracterização morfológica estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização morfológica dos criogéis obtidos a partir da síntese de AAm, MBAAM e mucilagem de OPN (tratamento A)

Análise	Média
Capacidade de inchamento (S)	$21,3979 \pm 0,9334 \text{ kg kg}^{-1}$
Grau de expansão (ED)	$26,3602 \pm 0,9165 \text{ L kg}^{-1}$
Fração de água ligada (φ_{wb})	$0,0072 \pm 0,0008$
Fração de polímero seco (φ_d)	$0,0447 \pm 0,0019$
Fração de macroporos (φ_M)	$0,5822 \pm 0,0151$
Fração de meso e microporos (φ_m)	$0,3659 \pm 0,0145$
Porosidade total (φ_T)	$0,9480 \pm 0,0020$

Fonte: Do autor (2021).

A capacidade de inchamento (S) indica a capacidade da matriz em absorver água. Criogéis que apresentam elevada intumescência, quando inchados, são mais maleáveis e apresentam menor resistência à deformação (SILVA, 2018; PEREIRA, 2018). Conforme demonstrado na Tabela 4, os criogéis produzidos apresentaram alta capacidade de retenção de água em sua estrutura, devido a característica hidrofílica dos hidrocoloides formadores da mucilagem de OPN presente na composição desta matriz. O valor médio da capacidade de inchamento do criogel produzido foi de $21,3979 \pm 0,9334 \text{ kg kg}^{-1}$, este valor foi próximo ao encontrado por Silva *et al.* (2019b) de $20,77 \pm 0,95 \text{ kg kg}^{-1}$ para criogéis de poliácridamida contendo 6% de monômeros e bem superior ao encontrado por Neves *et al.* (2020) $11,81 \pm 0,62 \text{ kg kg}^{-1}$ para criogéis de poliácridamida funcionalizados com L-triptofano, um aminoácido hidrofóbico.

Para o grau de expansão (ED) foi observado um valor médio de $26,3602 \pm 0,9165 \text{ L kg}^{-1}$. Este valor foi semelhante ao encontrado por Silva *et al.* (2019b) para criogéis de poliacrilamida sem grupos funcionais ligados ($25,55 \pm 2,10 \text{ L kg}^{-1}$) e superior ao encontrado por Neves *et al.* (2020) para criogéis de poliacrilamida funcionalizados com L-triptofano ($13,18 \pm 0,52 \text{ L kg}^{-1}$), provavelmente devido ao maior conteúdo de monômeros da matriz monolítica nos criogéis funcionalizados. O elevado grau de expansão obtido na caracterização dos criogéis produzidos indica que uma pequena massa do criogel ocupa um grande volume quando hidratado.

Os criogéis obtidos a partir do tratamento A apresentam valores de porosidade de $0,9480 \pm 0,0020$. De acordo com Gonçalves (2016), valores de porosidade acima de 80% indicam que a estrutura do criogel é quase inteiramente composta por poros. O criogéis produzidos apresentam valor de porosidade total semelhante ao encontrado por Silva *et al.* (2019b) para criogéis de poliacrilamida contendo 6% de monômeros ($0,941 \pm 0,003$) e maior que o obtido por Neves *et al.* (2020) em criogéis de poliacrilamida funcionalizados com L-triptofano ($0,9152 \pm 0,0041$). Esta diferença foi atribuída ao processo de funcionalização que pode diminuir a porosidade do criogel pela inserção de grupos funcionais em sua superfície.

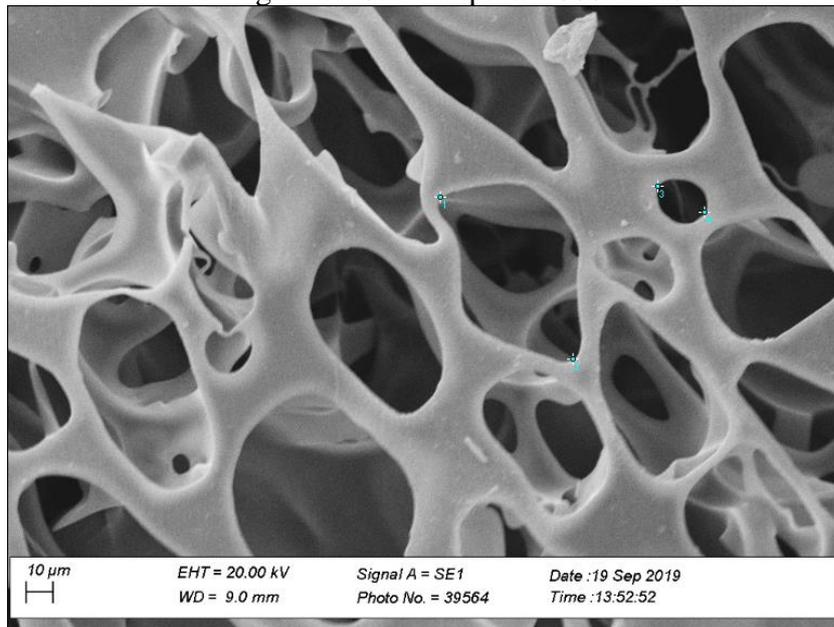
Os macroporos são os responsáveis pela menor resistência ao fluxo no interior da matriz criogênica. As frações de macroporos, meso e microporos foram parâmetros que sofreram grande influência da adição da mucilagem de OPN quando comparados com os valores obtidos por outros autores na polimerização de criogéis de poliacrilamida isentos de mucilagem de OPN. Os valores médios obtidos foram de $0,5822 \pm 0,0151$ para fração de macroporos e $0,3659 \pm 0,0145$ para meso e microporos. Silva *et al.* (2019b) obtiveram uma fração de macroporos superior ($0,828 \pm 0,019$) e Neves *et al.* (2020) obteve uma fração de macroporos inferior ($0,4374 \pm 0,0997$). Em relação à fração de meso e microporos Silva *et al.* (2019b) e Neves *et al.* (2020) observaram resultados inferiores, sendo $0,113 \pm 0,020$ e $0,2643 \pm 0,0497$, respectivamente.

A fração de água ligada é o parâmetro que indica quanto do criogel é constituído de água. O criogel produzido apresentou um valor médio de fração de água ligada de $0,0072 \pm 0,0008$, valor próximo a $0,0060 \pm 0,0019$ que foi observado por Neves *et al.* (2020). Já o valor médio obtido para a fração de polímeros secos foi de $0,0447 \pm 0,0019$, sendo este similar ao valor médio obtidos por Silva *et al.* (2019b) que obteve um resultado de $0,046 \pm 0,002$.

Como pode-se observar nas Figuras 7 e 8 obtidas por microscopia eletrônica de varredura com aumento da imagem em 800 e 100 vezes, respectivamente, os criogéis derivados de poliacrilamida e mucilagem de OPN apresentaram uma estrutura macroporosa, com grande quantidade de poros interconectados, de formatos diversos e tamanhos que variam entre 20 e

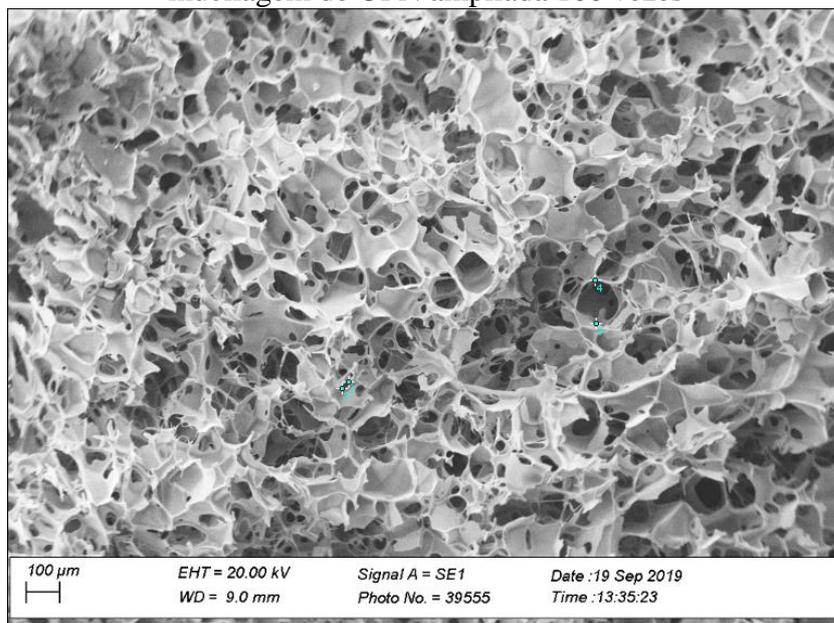
141 μm . O elevado tamanho destes poros permite que a matriz seja utilizada como adsorvente em soluções concentradas e particuladas, com extratos brutos. Os criogéis produzidos apresentaram tamanhos de poros superiores aos obtidos em outros trabalhos, como o de Gonçalves (2016), no qual foi observado poros de 15 a 70 μm em criogéis de poliacrilamida funcionalizados pelo método glutaraldeído e de Oliveira *et al.* (2019a) que percebeu poros variando de 5 a 70 μm em criogéis de poliacrilamida funcionalizados pelo método L-triptofano.

Figura 7 - Microfotografia por MEV da seção transversal do criogel de poliacrilamida com mucilagem de OPN ampliada 800 vezes



Fonte: Do autor (2021).

Figura 8 - Microfotografia por MEV da seção transversal do criogel de poliacrilamida com mucilagem de OPN ampliada 100 vezes



Fonte: Do autor (2021).

5.3 Propriedades mecânicas

A resistência dos criogéis de poliacrilamida acrescidos de mucilagem de OPN foi medida pelo teste de compressão uniaxial por meio do qual foi calculado o módulo de Young (E). O valor médio do módulo de Young foi de $1,582 \pm 0,127$ MPa, o que significa que o criogel apresentou uma estrutura rígida. O valor médio obtido para esse parâmetro foi superior ao encontrado por Neves *et al.* (2020) de $0,914 \pm 0,056$ MPa para criogéis de poliacrilamida puros. A adição de mucilagem de OPN na produção dos criogéis aumentou a resistência estrutural da matriz ao estresse mecânico.

5.4 Espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

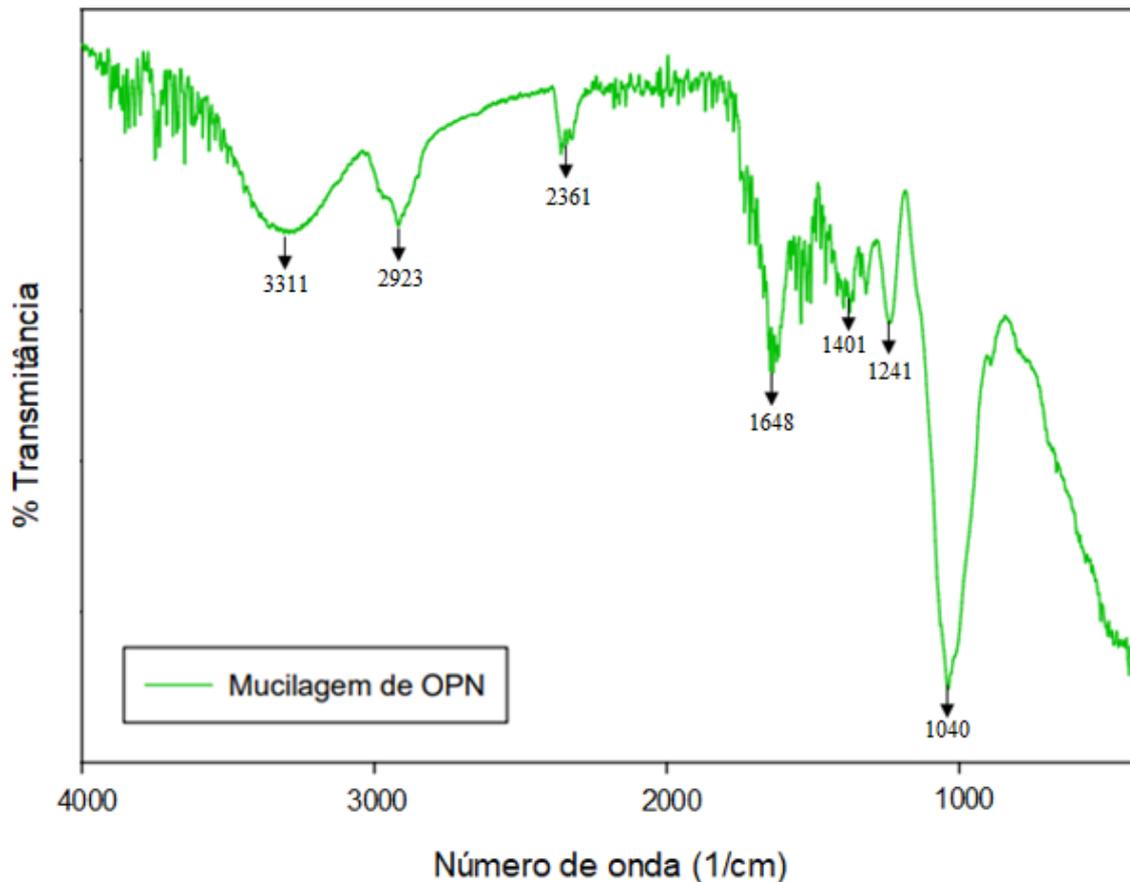
A análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para a identificação dos grupos funcionais da mucilagem de ora-pro-nóbis (Figura 9) e dos criogéis de poliacrilamida puro e acrescidos de mucilagem de OPN (Figura 10).

De acordo com a Figura 9, os dados obtidos pela análise de FTIR demonstram que a banda de maior intensidade está localizada na região 1040 cm^{-1} . Esta banda está associada a deformação simétrica C-O-C, correspondente aos carboidratos presentes nas paredes celulares e ao alongamento de grupos laterais C-OH (OLIVEIRA, 2019). De acordo com Conceição (2013), a absorção na região 1040 cm^{-1} é atribuída à presença da arabinogalactana, o polissacarídeo formado por arabinose e galactose, presente nas folhas da *Pereskia aculeata* Miller. Já a região 3311 cm^{-1} é atribuída a presença de água e de grupos hidroxila (OH), presente nas unidades monossacarídeas da arabinogalactana.

A absorção em 2923 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo CH_2 dos ácidos graxos, e o pico 2361 cm^{-1} corresponde ao alongamento CH (OLIVEIRA, 2019).

As mucilagens vegetais são compostos heterogêneos frequentemente formados por ácido urônico, que é um ácido formado pelo grupamento carboxila. A função carboxílica ($-\text{COO}$) é representada nas regiões 1648 cm^{-1} , com alongamento das ligações C=C e C=O, 1401 cm^{-1} , com vibrações de flexão C-OH e C-CH e 1241 cm^{-1} com estiramento do grupo C-O (CONCEIÇÃO, 2013; OLIVEIRA, 2019). A banda na região 1648 cm^{-1} também pode estar relacionada à presença de amidas primárias e secundárias presentes nas proteínas da mucilagem (SANTOS *et al.*, 2012).

Figura 9 - FTIR da mucilagem de OPN



Fonte: Do autor (2021).

A Figura 10 compara os espectros de adsorção obtidos pelo FTIR do criogel puro (linha indicada em vermelho) e do criogel de poliacrilamida acrescido de mucilagem de OPN (linha indicada em azul). Os espectros dos criogéis sintetizados são semelhantes, uma vez que são produzidos com polímeros afins, apresentando algumas diferenças nas intensidades das bandas e na formação de alguns picos pela presença da mucilagem de OPN na composição de um dos criogéis analisados.

As bandas de absorção entre 3317 cm^{-1} e 3182 cm^{-1} no criogel com mucilagem de OPN e entre 3311 cm^{-1} e 3182 cm^{-1} no criogel puro são referentes ao estiramento do grupo OH, associado à presença de água nas matrizes e ao alongamento do grupo NH, presente nas amidas primárias dos criogéis. Já o pico 2931 cm^{-1} presente nas duas matrizes é atribuído à presença de ligações de alongamento C-H alifático (ALCÂNTARA, 2013; MÓL *et al.*, 2019; NEVES *et al.*, 2020).

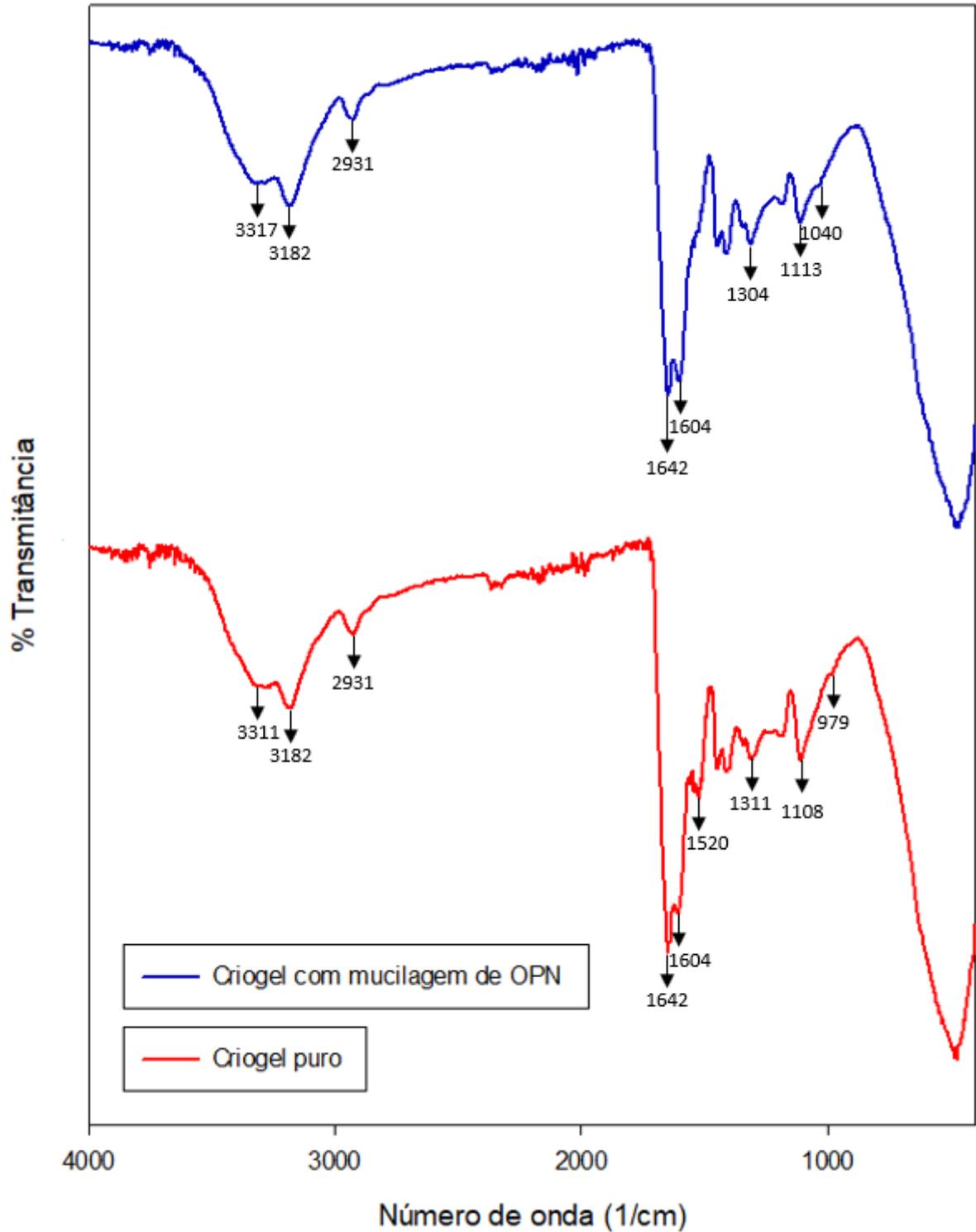
As bandas de transmitância acentuada nas regiões de 1642 cm^{-1} à 1604 cm^{-1} no criogel com mucilagem de OPN e no criogel puro são características do grupamento amida. Estas vibrações são provenientes da ligação entre os monômeros de AAm e MBAAm, e são

frequentemente observadas em criogéis constituídos de poliacrilamida (OLIVEIRA *et al.*, 2019a).

De acordo com Tao, Wang e Sun (2014), o pico em 1520 cm^{-1} presente no criogel puro está relacionado às vibrações de alongamento, presentes no grupo amino. Estes pesquisadores concluíram que o excesso dos grupos epóxi provenientes da adição de AGE reagem com os grupos amino das acrilamidas, diminuindo os picos nesta região. Entretanto, quando o grupo epóxi está em quantidades reduzidas há menor reação com as acrilamidas, resultando em um pico mais intenso. No criogel com mucilagem de OPN, provavelmente não houve formação de pico nesta região pois os compostos presentes na mucilagem reagiram com o excesso de grupamentos amino da acrilamida.

Os picos 1113 cm^{-1} e 1040 cm^{-1} presentes no criogel com mucilagem de OPN são referentes ao estiramento do grupo C-O-C, característico de polissacarídeos. A absorção nesta região é atribuída a polissacarídeos com manose, arabinose e ramnose. O principal biopolímero encontrado nesta faixa é a arabinogalactana, presente em altas concentrações na mucilagem de OPN (CONCEIÇÃO, 2013; MORAIS, 2019). Já o pico em 1304 cm^{-1} presente no criogel com mucilagem de OPN está relacionado ao grupamento carboxila, que é um grupo formador de gomas vegetais (CONCEIÇÃO, 2013). Os picos de 1311 cm^{-1} , 1108 cm^{-1} e 979 cm^{-1} presentes no criogel puro estão associados à presença dos radicais epóxi oriundos do monômero alil glicidil éter (AGE) (TAO; WANG; SUN, 2014; NEVES *et al.*, 2020).

Figura 10 - Comparação de FTIR do criogel puro (indicado pela linha vermelha) e do criogel com adição de mucilagem de OPN (indicado pela linha azul)



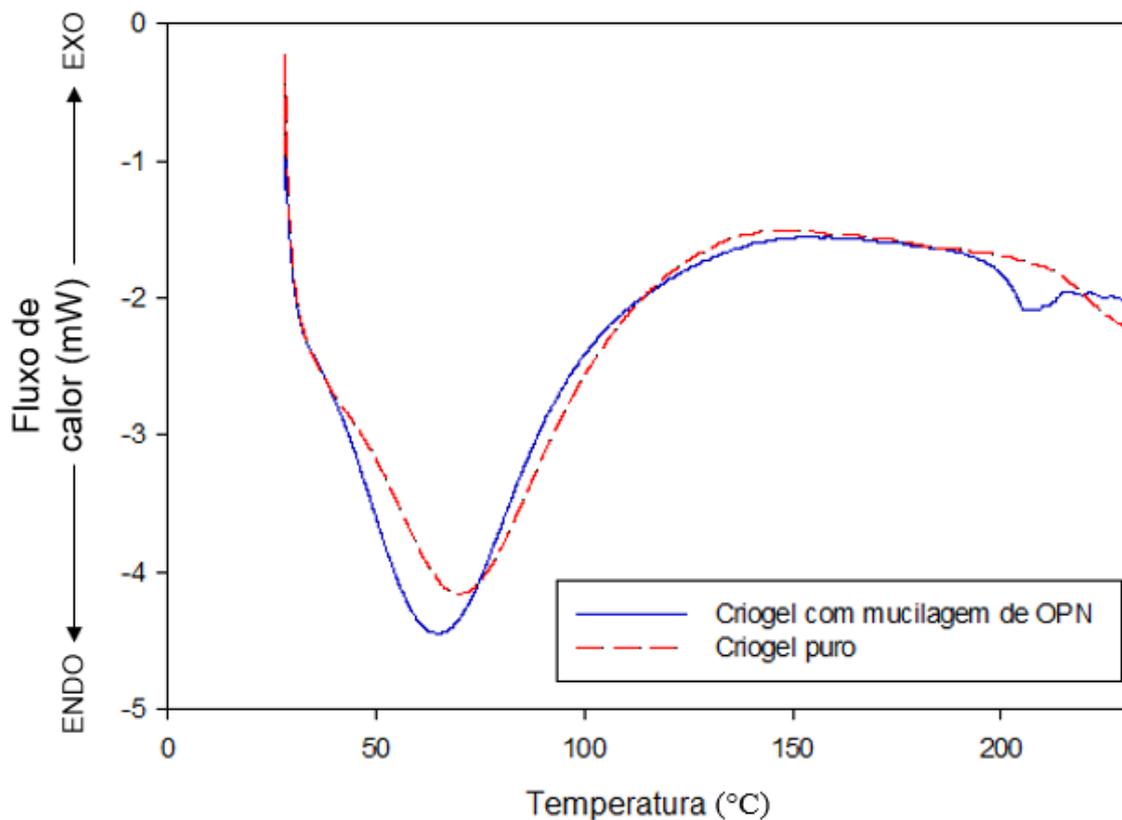
Fonte: Do autor (2021).

5.5 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) são utilizadas para avaliar as transições físicas e químicas nas matérias em função do tempo e da temperatura. Estas transições podem envolver a absorção ou a liberação de calor (SILVA *et al.*, 2019a). A Figura 11 apresenta o termograma DSC obtido para o criogel puro e para o criogel contendo mucilagem de OPN.

Na Figura 11, a curva em vermelho descreve os eventos térmicos do criogel puro. Pode-se observar a ocorrência de um evento endotérmico que se iniciou em 33°C, teve seu pico em 70 °C e terminou em 140 °C. Este evento térmico indica a evaporação da água residual presente na estrutura do criogel (SILVA *et al.*, 2019b). Já a curva indicada azul, que descreve os eventos térmicos do criogel preparado com mucilagem de OPN, pode-se observar a ocorrência de dois eventos endotérmicos. O primeiro evento endotérmico, que se iniciou a 33 °C, teve seu pico em 65 °C e terminou em aproximadamente 133 °C, semelhante ao observado na curva do criogel puro, indica a evaporação da água residual no criogel (SILVA *et al.*, 2019b). O segundo evento endotérmico iniciou-se em 195 °C e terminou em 214 °C, e segundo Conceição (2013), este evento pode ser relacionado à degradação da mucilagem de OPN que foi adicionada nos criogéis produzidos.

Figura 11 – Termogramas DSC do criogel contendo mucilagem de OPN (indicado pela linha azul) e criogel puro (indicado pela linha vermelha)



Fonte: Do autor (2021).

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi realizada a produção de criogéis de poliacrilamida com substituição parcial de monômeros sintéticos por mucilagem de ora-pro-nóbis. Por meio dos experimentos foi possível observar que criogéis contendo concentrações de 1,185 g de acrilamida, 0,158 g de MBAAm, 0 g de ácido cítrico e 0,0794 g de mucilagem de ora-pro-nóbis polimerizados a uma temperatura de -12 °C resultaram em criogéis com características satisfatórias em termos de formação de gel, morfologia, propriedades mecânicas, químicas e térmicas.

Pela análise de FTIR foi confirmado a presença da mucilagem de OPN na estrutura do criogel, pois foram observados picos nas regiões 1103 cm^{-1} e 1040 cm^{-1} referentes a polissacarídeos, como a arabinogalactana. Os criogéis contendo mucilagem de OPN apresentaram uma estrutura altamente porosa ($\varphi_T = 0,9480 \pm 0,0020$), composta por poros interconectados com tamanhos variando entre 20 e 141 μm . Além disso, os criogéis adicionados de mucilagem de OPN apresentaram um elevado módulo de Young ($1,582 \pm 0,127$ MPa) indicando que a adição de mucilagem promoveu um aumento de sua resistência ao estresse mecânico.

De modo geral, o criogel produzido apresentou características típicas de uma matriz macroporosa de adsorção. A adição de mucilagem de OPN na sintetização de criogéis de poliacrilamida possibilitou a substituição do alil glicidil éter (AGE) e redução na adição do agente reticulante N, N'-metileno-bis-acrilamida (MBAAm).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, L. A. P. **Imobilização da lipase em criogel supermacroporoso para síntese de lipídios estruturados**. 2013. 92 p. Tese (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- AMARAL, T. N *et al.* Blends of *Pereskia aculeata* Miller mucilage, guar gum, and gum Arabic added to fermented milk beverages. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 331-342, 2018.
- BAKSHPOUR, M.; IDIL, N.; DENIZLI A. Biomedical Applications of Polymeric Cryogels. **Applied Sciences**, v. 9, n. 3, p. 553, 2019.
- BRITO A. S. C. **Funcionalização de criogéis para purificação cromatográfica de DNA plasmídico**. 2015. 67 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade da Beira Interior, Covilhão, 2015.
- CONCEIÇÃO M. C. **Otimização do processo de extração e caracterização da mucilagem de Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata* Miller)**. 2013. 122 p. Tese (Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- COSTA JUNIOR, E. S.; MANSUR, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecidos. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1460 – 1466, 2008.
- FONTAN, R. C. I. **Desenvolvimento e caracterização de trocador catiônico supermacroporoso para a purificação de macromoléculas**. 2013. 148 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- GOBETTI, N. D.; BERGAMASCO, R. C.; SCAPIM, M. R. S. Avaliação da extração de hidrocoloides de Ora-pro-nobis (*Pereskia Aculeata* Miller) para utilização como polímero biodegradável. In: ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (EAIC) E ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JUNIOR (EAIC-JR), 26., out. 2017, Maringá. **Resumos...** Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2017. p. 14.
- GONÇALVES, G. R. F *et al.* Produção e caracterização de um Criogel supermacroporoso ativado com glutaraldeído para a purificação de lectinas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 55., nov. 2015, Goiânia. **Resumos...** Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Química, 2015. p. 9.
- GONÇALVES, G. R. F. **Desenvolvimento de adsorventes supermacroporosos para a purificação de lecitinas por afinidade com açúcares**. 2016. 91 p. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2016.
- IONASHIRO, M. **Fundamentos da Termogravimetria: Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória diferencial**. São Paulo: VÉSPER, 2014. p. 66-67.
- JUNQUEIRA, L. A *et al.* Rheological behavior and stability of emulsions obtained from *Pereskia aculeata* Miller via different drying methods. **International Journal of Food Properties**, v. 1, p. 1, 2018.

KUMAR A. **Supermacroporous cryogels: Biomedical and Biotechnological Applications**. 1. ed. Karaton: CRC Press, 2016. 496p.

LAGO, A. M. T *et al.* Ultrasound-assisted oil-in-water nanoemulsion produced from *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 50, p. 339-353, 2019.

LIMA JÚNIOR, F. A *et al.* Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from *Pereskia aculeata* Miller. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 1, p. 38–47, 2013.

LOZINSKY, V. I *et al.* Study of cryostructuring of polymer systems: 27. Physicochemical properties of poly (vinyl alcohol) cryogels and specific features of their macroporous morphology. **Colloid Journal**, v. 69, n. 6, p. 747–764, 2007.

LOZINSKY, V. I. Cryostructuring of Polymeric Systems: 50. Cryogels and Cryotropic Gel-Formation: Terms and Definitions, **Cryogelation and Cryogels**, v. 4, n. 3, p 77, 2018.

LOZINSKY, V.I.; VAINERMAN, E. S.; ROGOZHIN, S. V. Study of cryostructuring of polymer systems: The influence of freezing of a reacting mass on the properties of products in the preparation of covalently cross-linked gels. **Colloid & Polymer Sci**, v. 260, p.776–780, 1982.

LUCCA, A. **Extração, caracterização e aplicação do biopolímero da planta *Pereskia aculeata* Miller como auxiliar coagulante/floculante no processo de tratamento de água**. 2017. 71 p. Dissertação (Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2017.

LUCYSZYN, N *et al.* Physicochemical and in vitro biocompatibility of films combining reconstituted bacterial cellulose with arabinogalactan and xyloglucan. **Carbohydrate Polymers**, v. 151, p. 889–898, 2016.

MARCUZ, C. **Síntese e avaliação de criogel monolítico contendo grupo epóxi reativo com O-FOSFO-L-TIROSINA pra adsorção de IgG e seus fragmentos**. 2019. 97 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

MARQUES, M. A *et al.* Efeito da temperatura e proporção de monômeros na produção de criogéis poliméricos macroporosos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 22., set. 2018, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2018. p. 3458-3461.

MÓL, P. C. G *et al.* Production and capture of β -glucosidase from *Thermoascus aurantiacus* using a tailor made anionic cryogel. **Process Biochemistry**, v. 82, p 75-83, 2019.

MORAIS, L. C. **Síntese e caracterização de hidrogéis a partir de alginato e mucilagem de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller)**. 2019. 84 p. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.

NEVES, I. C. O *et al.* Amino acid-based hydrophobic affinity cryogel for protein purification from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves. **Journal of Chromatography B**, v. 1161, p. 122435, 2020.

NEVES, I. C. O *et al.* Effect of carrier oil on α -tocopherol encapsulation in ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) mucilage-whey protein isolate microparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 105, p. 105716, 2020.

OLIVEIRA, A. C. F. **Adsorção de lisozima por cromatografia de interação hidrofóbica em criogéis supermacroporosos**. 2018. 38p. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

OLIVEIRA, A. C. F *et al.* Capture of lysozyme on macroporous cryogels by hydrophobic affinity chromatography. **Separation Science and Technology**, v. 55, n. 11, p. 2012-2024, mai. 2019a

OLIVEIRA, N. L *et al.* Development and characterization of biodegradable films based on *Pereskia aculeata* Miller mucilage. **Industrial Crops & Products**, v. 130, n. August 2018, p. 499–510, 2019b.

OLIVEIRA, J. L. **Emprego da folha e de material extraído da folha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) na remoção de íons Cd^{2+} e Pb^{2+} de soluções aquosas**. 2019. 81 p. Dissertação (Pós-Graduação em Química) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

PAIVA, T. S. **Desenvolvimento e estudo termodinâmico de um adsorvente macroporoso hidrofóbico funcionalizado com radical butil**. 2019. 54 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2019.

PARIZZI, P. C. **Imobilização de β -galactosidade em criogel supermacroporoso para hidrólise da lactose**. 2015. 56 p. Dissertação (Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

PEREIRA T. B *et al.* Avaliação de criogéis de poliacrilamida e sua funcionalização com glicose modificada para uso em técnicas de afinidade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 22., 2018, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Química, 2018. p. 4582-4585.

SANTOS, C. M. S. **Desenvolvimento de adsorventes monolíticos macroporosos com Concanavalina A imobilizada para a purificação de lectinas**. 2016. 78 p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2016.

SANTOS, P. M *et al.* Utilização da microespectroscopia infravermelha (FT-IR) para teste de algoritmos estatísticos na diferenciação dos micro-organismos *Candida albicans*, *Candida dubliniensis* e *Candida parapsilosis*. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 28, n. 4, p. 398-409, 2012.

SAVINA, I. N.; MATTISSON, B.; GALEAEV, I. Y. Graft polymerization of acrylic acid onto macroporous polyacrylamide gel (cryogel) initiated by potassium doperiodatocuprate. **Polymer**, v. 46, n. 23, p. 9596 – 9603, 2005.

SAYLAN, Y.; DENIZLI A. Supermacroporous Composite Cryogels in Biomedical Applications. **Cryogelation and Cryogels**, v. 5, n. 2, p. 20, 2019.

SHARMA, A *et al.* Three-Dimensional Supermacroporous Carrageenan-Gelatin Cryogel Matrix for Tissue Engineering Applications. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 1-15, 2013.

SHI, R *et al.* The effect of citric on the structural properties and cytotoxicity of the polyvinyl alcohol/starch films when molding at high temperature. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 4, p. 763-770, 2008.

SILVA, J. F. **Otimização da imobilização de carboidratos em matrizes macroporosas para purificação de Lecitina por afinidade.** 2018, 43 p. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2018.

SILVA, L. W. **Potencial tecnológico da folha da Pereskia aculeata Miller (Ora-pro-Nobis): Uma Revisão.** 2019. 50p. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019a.

SILVA, J. F *et al.* Enhancements in sugar immobilization in polymeric macroporous matrices for affinity capture. **Applied Polymer Science**, v. 136, p. 47956, 2019b.

STEFANELLI, A.; SOUZA, P. S. Composição centesimal da ora pro nobis (*Pereskia aculeata miller*). In: 11^a JORNADA CIENTIFICA E TECNOLÓGICA E 8^o SIMPÓSIO DA PÓS-GRADUAÇÃO DO IF SUL DE MINAS, 11., 2019, Muzambinho. **Resumos...** Inconfidentes: Instituto Federal do Sul de Minal, 2019.

TAO, S.; WANG C.; SUN, Y. Coating of nanoparticles on cryogel surface and subsequent double-modification for enhanced ion-exchange capacity of protein. **Journal of Chromatography A**, v. 1359, p. 76-83, set. 2014.

TEKIN, K *et al.* Preparation and characterization of composite cryogels containing imidazole group and use in heavy metal removal. **Reactive and Functional Polymers**, v. 71, n. 10, p. 985-993, 2011.

VERÍSSIMO, L. A. A *et al.* Preparation of an affinity cryogel column for lysozyme purification. **Separation Science and Technology**, v. 52, n. 12, p. 1973-1982, 2017.

YAO, K *et al.* Preparation of polyacrylamide-based supermacroporous monolithic cryogel beds under freezing-temperature variation conditions. **Chemical Engineering Science**, v. 61, n. 20, p. 6701-6708, 2006.