
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Estudo das propriedades do amido de pinhão visando a sua utilização como
excipiente farmacêutico**

- Dissertação de Mestrado -

Renata Moschini Daudt

Porto Alegre

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Estudo das propriedades do amido de pinhão visando a sua utilização como
excipiente farmacêutico**

Renata Moschini Daudt

Dissertação de Mestrado apresentada como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre em
Engenharia.

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Ligia Damasceno Ferreira Marczak

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Irene Clemes Kulkamp-Guerreiro

Porto Alegre

2012

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadoras Ligia Damasceno Ferreira Marczak e Irene Clemes Külkamp-Guerreiro pela confiança, incentivo e amizade durante a realização desta dissertação.

Às colaboradoras sempre presentes e dispostas a ajudar Florencia Cladera-Olivera e Roberta Cruz Silveira Thys pelos conselhos, ideias e orientação.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos e ao grupo de Fenômenos de Transporte e Operações Unitárias pelo convívio e amizade nesses dois anos de mestrado.

À Professora Sílvia Stanisquaski Guterres da Faculdade de Farmácia da UFRGS por disponibilizar o equipamento Mastersizer para as análises e à Mariana Domingues Bianchin pela grande ajuda nas medidas. Ao Professor Aloir Antonio Merlo do Instituto de Química por disponibilizar o microscópio com luz polarizada e a todos os professores que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

Ao Departamento de Engenharia da Química, Faculdade de Farmácia e Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos pela estrutura física dos laboratórios disponibilizada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química e a Capes pelo suporte e financiamento.

À minha família e amigos que compreenderam minha ausência e sempre estiveram ao meu lado me apoiando e me incentivando.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Estudo das propriedades do amido de pinhão visando a sua utilização como excipiente farmacêutico*, elaborada por Renata Moschini Daudt, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Renata Platcheck Raffin

Prof. Dr. Adriano Brandelli

Dr. Maurício Kipper da Silva

Resumo

O amido é um dos polímeros naturais mais aplicados na indústria farmacêutica por sua versatilidade, disponibilidade e por ser um produto renovável. O pinhão é a semente da *Araucaria angustifolia*, a espécie de conífera nativa do Brasil mais importante economicamente, e é uma boa fonte de amido (aproximadamente 36 % em base úmida). A criação de novos usos para o amido de pinhão pode contribuir na preservação desta espécie pela utilização de um produto que geralmente sobra ao final da safra e, muitas vezes, é utilizado para alimentação animal. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar uma fonte de amido alternativa a partir do pinhão para uso como excipiente farmacêutico. Para isso, foi avaliada a metodologia de extração do amido de pinhão a partir do pinhão nativo (*in natura*) e do pinhão cozido em autoclave a 120 °C por 15 minutos. Os produtos obtidos foram caracterizados considerando as características de fluxo, através da determinação do ângulo de repouso, densidade bruta e de compactação, Índice de Carr e Fator de Hausner, conteúdo de umidade, pH, solubilidade em água fria, tamanho e distribuição de tamanho de partícula, morfologia através da microscopia ótica com luz normal e polarizada e microscopia eletrônica de varredura (MEV), presença de compostos fenólicos, avaliação colorimétrica, difração de raios-X e avaliação das propriedades térmicas através da temperatura de gelatinização e entalpia de gelatinização. Para fins de comparação, os mesmos parâmetros foram avaliados em uma amostra de amido de milho farmacêutico comercial. Os resultados mostraram que a extração do amido de pinhão nativo (APN) foi eficiente, uma vez que o percentual de amido em base seca (b.s.) encontrado foi de $94,53 \pm 0,13$ %. O amido de pinhão cozido (APC) apresentou rendimento de extração muito mais baixo que APN e menor conteúdo de amido, demonstrando menor eficiência de extração. Em relação à caracterização, os produtos obtidos apresentaram diferenças principalmente quanto ao tamanho de partícula, cor, presença de fenólicos, cristalinidade, morfologia e solubilidade. A amostra APC apresentou maior tamanho de partícula, com uma distribuição de tamanhos mais larga, deixando o pó menos homogêneo que APN e AMF, que se mostraram semelhantes. O formato do grânulo de APN é mais arredondado que AMF, enquanto que APC, com grânulos maiores, apresentou formato muito irregular. A temperatura de gelatinização e a entalpia de gelatinização de APN foram mais baixas que de AMF, provavelmente em função de seu menor conteúdo de amilose. APN e AMF apresentaram características de semicristalinidade através dos diagramas de difração de raios-X e APC demonstrou ser um produto amorfo, como se espera de amidos pré-gelatinizados, apresentando cor mais escura em função da presença de compostos fenólicos. As propriedades de fluxo dos pós apresentaram-se semelhantes, sendo que quando avaliada através do ângulo de repouso, as amostras APN e APC foram classificadas como fluxo aceitável enquanto que AMF foi classificada como fluxo pobre. Por outro lado, quando avaliado o fluxo de acordo com Índice de Carr e Fator de Hausner, APC e AMF foram classificadas como fluxo aceitável e APN como fluxo pobre. APC apresentou uma melhora significativa na solubilidade, onde foi classificado como ligeiramente solúvel enquanto que APN e AMF foram classificados como muito pouco solúveis. O pH de APN é mais próximo da neutralidade enquanto que APC e AMF são considerados como fracamente ácidos. O conteúdo de umidade dos amidos extraídos a partir do pinhão foi menor que do amido de milho comercial. Apesar das diferenças apresentadas, os amidos de pinhão nativo e de milho se assemelham, fazendo com que o amido de pinhão nativo possa ser utilizado como excipiente farmacêutico.

Palavras-chave: amido, pinhão, excipiente, caracterização.

Abstract

Starch is a natural polymer widely used in the pharmaceutical industry for its versatility and availability, and also because it is a renewable product. *Pinhão* is the seed of *Araucaria angustifolia*, the more economically important conifer species native in Brazil, and is a good source of starch (about 36 %). Some new uses of *pinhão* starch can contribute to preserve this specie by using a product that very often left at the end of season and, in general, is simply used as animal feed. The purpose of this study was characterizing an alternative source of starch from *pinhão* to use as pharmaceutical excipient. Starch extraction method was evaluated using native and cooked *pinhão* in autoclave at 120 °C for 15 minutes. The products obtained were characterized considering flow properties, by determining the angle of repose, bulk and tapped density, Carr index and Hausner ratio, moisture content, pH, solubility in cold water, particle size and size distribution, morphological characteristics by optical microscopy with and without polarized light and scanning electron microscopy (SEM), phenolic compounds, colorimetric evaluation, X-ray diffraction and thermal properties through gelatinization temperature and enthalpy. For comparison, the same parameters were evaluated in a sample of pharmacist commercial corn starch. Results showed that native *pinhão* starch (NPS) was effective, since the starch content found was $94,53 \pm 0.13$ % on dry basis (d.b.). Cooked *pinhão* starch (CPS) showed values of yield extraction and starch content much lower than NPS indicating lower extraction efficiency. The different starches differ of particle size, color, phenolic presence, crystallinity, morphology and solubility. CPS sample showed a higher particle size with a wider size distribution and, consequently, granules size less homogeneous than NPS and PCS, which were similar. NPS granule shape is more rounded than PCS, whereas CPS, with larger granules, showed very irregular shape. NPS gelatinization temperature and enthalpy are lower than PCS, probably due its lower amylose content. NPS and PCS showed a semicrystalline structure through X-ray diffraction patters and CPS had amorphous characteristics, as expected for a pre-gelatinized starch. In addition, CPS had a darker color due the presence of phenolics compounds which migrates from coat to seed during cooking. Flow properties of powders were similar, whereas when evaluated through angle of repose, NPS and CPS samples were classified as acceptable flow and PCS had a poor flow. Moreover, when evaluated according to Carr index and Hausner ratio PCS and CPS were classified as acceptable and NPS as poor flow. CPS showed an improvement in solubility, which was classified as slightly soluble while NPS and PCS were classified as very low soluble. NPS pH was close to neutrality while PCS and CPS were considered as weakly acid and the moisture content from *pinhão* starches (NPS and CPS) were smaller than commercial corn starch. Despite the differences observed, native *pinhão* starch is similar of corn starch and could be used as pharmaceutical excipient.

Keywords: starch, *pinhão*, excipient, characterization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Araucária (<i>Araucaria angustifolia</i>).....	7
Figura 2. Imagem da pinha com os pinhões (A), dos pinhões com casca (B) e sem casca (C).	8
Figura 3. Esquema para medida do ângulo de repouso.....	22
Figura 4. Estrutura da molécula linear de amilose (A), com ligações glicosídicas α - 1,4 e da molécula ramificada de amilopectina (B), em que a união das ramificações ocorre por ligações glicosídicas na posição α -1,6 e as demais, por ligações α -1,4.....	26
Figura 5. (A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo	27
Figura 6. Visualização dos grânulos de amido de pinhão nativo através da microscopia com luz polarizada (200 x) na temperatura de 40 °C.	29
Figura 7. Representação da estrutura lamelar de um grânulo de amido. (A) Aglomerados de lamelas microcristalinas separadas por anéis de crescimento amorfo. (B) Visualização ampliada das regiões amorfas e cristalinas (C) As estruturas de duplas hélices formadas por cadeias adjacentes de amilopectina dando origem a lamelas cristalinas. Os pontos de ramificação constituem as regiões amorfas.....	29
Figura 8. Diagramas de difração de raios-X dos amidos tipo A, B e V.....	30
Figura 9. Fluxograma da extração do amido de pinhão nativo	46
Figura 10. Fluxograma da extração do amido de pinhão cozido.....	47
Figura 11. Aparato utilizado para avaliação do ângulo de repouso e medidas do funil através do qual escoaram os pós.....	50
Figura 12. Representação de um sólido de cor no Espaço de Cor $L^*a^*b^*$	54
Figura 13. Diagrama de cromaticidade a^*b^*	54
Figura 14. Tamanho médio de partícula e distribuição de tamanhos nas diferentes amostras (vermelho: AMF; verde: APN; azul: APC).....	69
Figura 15. Micrografias com aumento de 400x de amido de pinhão nativo (A), amido de milho farmacêutico (B) e amido de pinhão cozido (C).....	70
Figura 16. Micrografias com luz polarizada com aumento de 400x de amido de pinhão nativo (A), amido de milho (B) e amido de pinhão cozido (C – D) a temperatura ambiente.....	71

Figura 17. Fotomicrografias obtidas por MEV (x1500) para o amido de pinhão nativo (A), amido de milho farmacêutico (B) e amido de pinhão cozido (C) (x150).	72
Figura 18. Localização das amostras APN (A), APC (B) e AMF (C) no diagrama do espaço de cor de acordo com os valores de a^* , b^* e h	74
Figura 19. Diagramas de raios-X dos amidos analisados (APN, AMF e APC).	75
Figura 20. Termograma do amido de pinhão nativo nos dias 0 (APN-0, azul), 7 (APN-7, verde) e 14 (APN-14, rosa) e do amido de milho farmacêutico (AMF, vermelho).	79
Figura A.1. Pilhas cônicas formadas pelo amido de pinhão nativo (A), amido de pinhão cozido (B) e amido de milho farmacêutico (C) para determinação do ângulo de repouso.	97
Figura C.1. Curva de calibração utilizada para a determinação da concentração de compostos fenólicos.	101
Figura D.1. Fotografias para verificação da cor dos pós: APN (A), AMF (B) e APC (C).	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores obtidos nas análises físico-químicas do pinhão cru e cozido (com casca)..	11
Tabela 2. Valores obtidos para as análises físico-químicas do amido de pinhão nativo.	12
Tabela 3. Características do excipiente tradicional	15
Tabela 4. Classificação dos excipientes de acordo como eles influenciam na estabilidade, forma de absorção do fármaco ou processo de fabricação, conforme a necessidade de forma de dosagem ou especificações técnicas requeridas.....	17
Tabela 5. Classificação química e funções dos excipientes farmacêuticos.....	18
Tabela 6. Percentual de amilose e temperatura de gelatinização nos amidos de diferentes fontes.....	32
Tabela 7. Padrões para os diferentes tipos de amidos utilizados como excipientes	33
Tabela 8. Características morfológicas, conteúdo de fosfatos, proteínas e lipídeos de amidos de diferentes fontes e mercado mundial.....	34
Tabela 9. Amidos geneticamente modificados e suas propriedades.....	35
Tabela 10. Utilizações do amido pré-gelatinizado.....	42
Tabela 11. Propriedades típicas dos amidos nativos de diferentes fontes utilizados como excipiente farmacêutico	44
Tabela 12. Termos descritivos de solubilidade e seus significados.....	49
Tabela 13. Conteúdo de amido das amostras.	58
Tabela 14. Valores de pH das amostras.	60
Tabela 15. Umidade das amostras (b.u.).....	61
Tabela 16. Solubilidade em água fria (25 °C) e classificação dos amidos	62
Tabela 17. Valores de ângulo de repouso das amostras.....	63
Tabela 18. Densidade bruta e de compactação dos pós	64
Tabela 19. Índice de Carr e Fator de Hausner das amostras	66
Tabela 20. Análise granulométrica dos amidos de pinhão (nativo e cozido) e amido de milho farmacêutico.	68

Tabela 21. Espaço de cor dos amidos analisados	73
Tabela 22. Faixa de temperaturas de gelatinização e entalpia de gelatinização do amido nativo de pinhão em diferentes tempos de estocagem e amido de milho.	77
Tabela B.1. Propriedades de fluxo e seus ângulos de repouso, índice de Carr e Fator de Hausner correspondentes.....	99

Lista de siglas, abreviaturas e símbolos

a^*	parâmetro de cor
AMF	amido de milho farmacêutico
APC	amido de pinhão cozido
APN	amido de pinhão nativo
b^*	parâmetro de cor
b.u.	base úmida
b.s.	base seca
C^*	cromaticidade (parâmetro de cor)
CE	catecol equivalente
DSC	<i>Differential Scanning Calorimetry</i> (calorimetria diferencial de varredura)
$d_{0,1}$	diâmetro da partícula em 10% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
$d_{0,5}$	diâmetro da partícula em 50% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
$d_{0,9}$	diâmetro da partícula em 90% da distribuição dos volumes acumulados (μm)
db	densidade bruta (g/mL)
dc	densidade de compactação (g/mL)
FH	fator de Hausner
GAE	ácido gálico equivalente
h	altura (cm)
h	ângulo de tonalidade
IC	índice de Carr (%)
L^*	parâmetro de cor (luminosidade)
m	massa (g)
m/m	massa por massa
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

m/v	massa por volume
r	raio (cm)
R^2	coeficiente de regressão
T	temperatura (°C)
tg	tangente do ângulo
T_f	temperatura final do pico endotérmico (°C)
T_g	temperatura de gelatinização (°C)
T_0	temperatura do início do intervalo do pico endotérmico (°C)
V_0	volume aparente lido antes do ensaio (mL)
V_{10}	volume lido após 10 quedas a uma altura de 3 mm (mL)
V_{500}	volume lido após 500 quedas a uma altura de 3 mm (mL)
V_{1250}	volume lido após 1250 quedas a uma altura de 3 mm (mL)
V_{2500}	volume lido após 2500 quedas a uma altura de 3 mm (mL)
V_b	volume bruto (mL)
V_c	volume de compactação (mL)

Símbolos gregos

α	ângulo de repouso (°)
ΔH_g	entalpia de gelatinização ($J \cdot g^{-1}$)
2θ	ângulo de difração (°)

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Introdução.....	1
Capítulo 2 - Objetivos.....	5
<i>2.1. Objetivo geral.....</i>	<i>5</i>
<i>2.2. Objetivos específicos.....</i>	<i>5</i>
Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica.....	7
3.1. Matéria-prima: Pinhão.....	7
3.1.1. Identificação e Localização.....	7
3.1.2. Produção e comercialização.....	9
3.1.3. Situação ambiental.....	9
3.1.4. O pinhão: características da semente e estudos realizados.....	10
3.2. Excipientes farmacêuticos.....	13
3.2.1. Definição e características dos excipientes.....	14
3.2.2. Funções dos excipientes.....	16
3.2.3. Formas de dosagem sólidas.....	18
3.2.4. Caracterização dos excipientes.....	20
<i>3.2.4.1. Caracterização de formas sólidas.....</i>	<i>21</i>
3.3. Amidos.....	25
3.3.1. O grânulo de amido.....	25
<i>3.3.1.1. Padrões de cristalinidade do grânulo.....</i>	<i>29</i>
3.3.2. Características e fontes de amidos.....	31
3.3.3. Amidos modificados.....	34
<i>3.3.3.1. Gelatinização.....</i>	<i>38</i>
3.3.4. Aplicações de amidos nativos e modificados na indústria farmacêutica.....	39
<i>3.3.4.1. Características do amido nativo e pré-gelatinizado para uso em fármacos.....</i>	<i>43</i>
Capítulo 4 - Materiais e Métodos.....	45
4.1. Matéria-Prima e reagentes.....	45
4.2. Extração do amido de pinhão nativo.....	46
4.3. Extração do amido de pinhão cozido.....	46
4.4. Rendimento dos métodos de extração.....	48
4.5. Teor de amido.....	48
4.6. Caracterização das amostras.....	48

4.6.1. Medida de pH.....	48
4.6.2. Conteúdo de umidade	49
4.6.3. Solubilidade	49
4.6.4. Determinação do ângulo de repouso	50
4.6.5. Determinação das densidades bruta e de compactação	50
4.6.6. Determinação do Índice de Carr e Fator de Hausner	51
4.6.7. Determinação de compostos fenólicos	51
4.6.8. Tamanho de partícula e distribuição de tamanhos	52
4.6.9. Microscopia Óptica	52
4.6.10. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	53
4.6.11. Análise colorimétrica.....	53
4.6.12. Difração de raios-X	55
4.6.13. Análise térmica.....	55
Capítulo 5 - Resultados e Discussão	57
5.1. Rendimento dos métodos de extração.....	57
5.2. Teor de amido.....	58
5.3. Caracterização das amostras	59
5.3.1. pH.....	59
5.3.2. Conteúdo de umidade	61
5.3.3. Solubilidade	62
5.3.4. Determinação do ângulo de repouso	63
5.3.5. Determinação da densidade bruta e de compactação	64
5.3.6. Determinação do Índice de Carr e Fator de Hausner	65
5.3.7. Determinação de compostos fenólicos	67
5.3.8. Tamanho de partícula e distribuição de tamanhos	68
5.3.9. Microscopia Óptica	70
5.3.10. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	72
5.3.11. Análise colorimétrica.....	73
5.3.12. Difração de raios-X	75
5.3.13. Análise térmica.....	77
Conclusões.....	81
Sugestões para Trabalhos Futuros	83
Referências Bibliográficas	85

Apêndice A	97
Apêndice B	99
Apêndice C	101
Apêndice D	103

Capítulo 1 - Introdução

O pinhão é um produto regional consumido nos estados do sul do Brasil. Este alimento é a semente do Pinheiro do Paraná (*Araucaria angustifolia* sin. *Araucaria angustifolia*) e é normalmente consumido cozido ou assado. O pinheiro cresce naturalmente no sul do Brasil e pode ser encontrado também na Argentina e Paraguai. O método de colheita é rudimentar, e, como a árvore é alta, muitas vezes, os pinhões não são colhidos diretamente, mas sim, recolhidos do chão. A safra anual ocorre no início do inverno e como não é consumida totalmente pode ser destinada à alimentação animal. Ainda assim, existe um excedente de pinhão ao final das safras.

Esta árvore foi muito explorada pela qualidade de sua madeira a ponto de ser incluída na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (Portaria nº 37 de 3 de abril 1992) do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente). Para garantir a preservação das espécies ameaçadas de extinção o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) criou uma resolução (Resolução nº 271 de 24 de maio de 2001) proibindo o corte e a exploração das espécies que constam nesta lista oficial. Assim, para auxiliar na preservação e uso sustentável dessa espécie, podem-se propor novas aplicações para o pinhão utilizando o excedente das safras.

O pinhão é conhecido por ser uma boa fonte de carboidrato, principalmente amido, que é o componente presente em maior proporção na semente (aproximadamente 36% em base úmida, 71,84% em base seca). Para isolar o amido de pinhão pode-se utilizar apenas água como solvente de extração, utilizando condições brandas e sem adição de qualquer substância química, o que poderia facilitar o seu uso como excipiente farmacêutico.

Para utilização em excipientes farmacêuticos, hoje em dia, utilizam-se amidos de várias fontes, como milho, batata, batata doce, arroz, mandioca, trigo, sorgo e ervilha. As principais diferenças entre os amidos utilizados são, geralmente, em relação à estrutura, morfologia e tamanho do grânulo. O mais utilizado em comprimidos e cápsulas é o amido de milho, não havendo, até o presente momento, o relato de uso de amido de pinhão bem como estudos descritos na literatura que avaliem a sua aplicabilidade como excipiente na indústria farmacêutica.

Os amidos nativos utilizados como excipiente são bons materiais de preenchimento, possuem propriedades desagregantes, aglutinantes e são quimicamente inertes, isto é, não interagem com os ativos ou outros excipientes. Os amidos podem ser usados com uma grande variedade de substâncias ativas e com outros excipientes e adjuvantes para auxiliar na preparação dos produtos farmacêuticos, sendo empregados principalmente nas formulações de comprimidos e cápsulas.

As características de compressibilidade, fluxo e solubilidade, assim como as propriedades diluentes, ligantes e desagregantes de amidos nativos podem ser melhoradas de acordo com o desempenho solicitado através de modificações físicas e/ou químicas, como, por exemplo, a gelatinização do amido. Os amidos parcialmente ou totalmente gelatinizados estão entre os derivados que adquiriram maior importância como excipientes ao longo dos últimos anos. A gelatinização é capaz de mudar a ordem molecular no interior do amido, tornando o produto amorfo e com a vantagem de dissolver ou dispersar em água de acordo com a concentração, mesmo em temperatura ambiente.

Além dos excipientes, muitas vezes as formulações necessitam de aditivos que agreguem alguma funcionalidade à formulação. Esse tipo de excipiente é mais conhecido como adjuvante e pode adquirir propriedades de proteção do fármaco ativo ou da formulação em geral contra a sua degradação. Um exemplo dessa categoria são os antioxidantes, que podem ser extraídos de diferentes fontes e são utilizados visando à proteção do produto farmacêutico de quaisquer processos oxidativos. A casca do pinhão possui compostos fenólicos naturais que poderiam ser aproveitados juntamente com o amido de pinhão para formação de um amido com compostos fenólicos e, se comprovada a ação antioxidante desses compostos, aliar a função de preenchimento do amido à antioxidativa dos compostos fenólicos da casca.

A proposta de uma nova aplicabilidade para o amido de pinhão, como excipiente farmacêutico, tem a vantagem de utilizar um produto regional, protegido por leis ambientais e que, muitas vezes, acaba sendo tratado como resíduo no final da safra, tanto devido à armazenagem inadequada, quanto pela colheita rudimentar, ou ainda pelo excedente de produção não consumido. As pesquisas com ênfase no uso sustentável dessa espécie auxiliam sua preservação, gerando um estímulo para o plantio, uma vez que seria necessária matéria-prima para a fabricação do novo excipiente.

Assim, o presente trabalho teve o objetivo de verificar a potencialidade da utilização do amido de pinhão como excipiente farmacêutico. Para isso, foram caracterizados o amido extraído da semente nativa e o amido extraído da semente cozida em água. Para fins de comparação, foram avaliadas também as características do amido de milho (grau farmacêutico). A caracterização envolveu a determinação do ângulo de repouso para avaliação de fluxo, solubilidade em água fria, densidade bruta e de compactação, índice de Carr, fator de Hausner, conteúdo de umidade, tamanho de partícula, características morfológicas, através da microscopia eletrônica e microscopia ótica, presença de compostos fenólicos, avaliação colorimétrica, pH e determinação de características térmicas por calorimetria diferencial de varredura (DSC - *Differential Scanning Calorimetry*).

Capítulo 2 - Objetivos

2.1. Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi verificar a potencialidade da utilização da semente da Araucária (pinhão) como fonte de amido para uso como excipiente farmacêutico.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar se o amido extraído a partir da semente nativa de pinhão possui características desejáveis para utilização como excipiente farmacêutico.
- Avaliar a metodologia de extração do amido de pinhão a partir do pinhão cozido, testando sua eficiência de extração.
- Avaliar a possibilidade de uso do amido extraído a partir do pinhão cozido, com o objetivo de facilitar o seu processamento, melhorar as propriedades de fluxo e aproveitar os compostos fenólicos que migram da casca para a semente durante o cozimento.
- Caracterizar os amidos extraídos a partir da semente de pinhão nativa e cozida, avaliando as características de fluxo, solubilidade, densidade aparente e compactada, umidade, tamanho da partícula, morfologia, cor, cristalinidade, temperatura e entalpia de gelatinização e pH.
- Comparar as características dos amidos extraídos com o amido de milho (grau farmacêutico), que é o amido mais comumente utilizado como excipiente.

Capítulo 3 - Fundamentos Teóricos e Revisão Bibliográfica

3.1. Matéria-prima: Pinhão

3.1.1. Identificação e Localização

A Araucária (Figura 1), também conhecida como Pinheiro do Paraná (Santos *et al.*, 2002) é uma árvore perenifólia com 10 a 35 m de altura e 50 a 120 cm de diâmetro a altura do peito (DAP), podendo atingir até 50 m de altura e 250 cm ou mais de DAP na idade adulta. Apresenta copa alta, estratificada e múltipla, caliciforme ou em forma de taça nas árvores mais velhas e cônicas nas mais jovens. A casca externa do tronco é marrom-arroxeadada, persistente, áspera e rugosa e casca interna resinosa. Suas folhas são coriáceas, simples, alternas, espiraladas e possuem forma de lança, com até 6 cm de comprimento por 10 mm de largura. As flores masculinas têm forma cilíndrica e alongada enquanto as femininas são arredondadas (Carvalho, 2002; Rachwal, Carvalho e Withers, 2006).

Figura 1. Araucária (*Araucaria angustifolia*).



Fonte: Camestrini (2011)

Esta árvore ocorre preferencialmente em altitudes entre 500 e 1.500 m em solos profundos, porosos e bem drenados. As pinhas são os pseudofrutos que contém de 700 a 1.200 escamas e 5 a 150 sementes, os pinhões, podendo pesar até 4,7 kg. Os pinhões possuem casca externa dura e sua amêndoa é branca ou róseo-clara rica em amido e aminoácidos (Wosiacki e Cereda, 1985; Rachwal, Carvalho e Withers, 2006; 2007). A Figura 2 apresenta a pinha, os pinhões com casca e os pinhões crus sem as cascas externa e interna.

Figura 2. Imagem da pinha com os pinhões (A), dos pinhões com casca (B) e sem casca (C).



Fontes: (A) Verdi (2010), (B) e (C) foto: autor.

A família das araucárias existe há aproximadamente 180 milhões de anos e seu uso já era conhecido há nove mil anos pelos índios que habitavam a região sul do Brasil (Rachwal, Carvalho e Withers, 2006). Sua semente, o pinhão, era um alimento muito importante para a alimentação dos índios que viviam na região da floresta. A colheita do pinhão era a atividade mais importante do outono, quando os homens subiam nas árvores e as mulheres colhiam as pinhas derrubadas. A semente colhida muitas vezes era consumida imediatamente, sapecando-a na fogueira ou sobre as brasas, porém, normalmente servia como reserva para os meses de inverno e início da primavera, quando outros recursos eram escassos (Schmitz, 2009).

A Floresta de Araucária, ou Floresta Ombrófila Mista de Araucária, onde cresce o Pinheiro do Paraná (Carvalho, 2002), distribui-se pelo Brasil principalmente nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, embora seja encontrada também, em proporções bem menores, no sul de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Além do Brasil, pode ainda ser encontrado na Argentina, Chile e Paraguai. No sul do Brasil, a Floresta com Araucária ocupa vastas áreas sobre o Planalto Meridional e nos pontos mais altos das Serras de Paranapiacaba, de Paranapanema, da Mantiqueira, dos Órgãos e do Caparão, em altitudes que variam desde 200 m no extremo sul (31°30' S) até mais de 1.500 m na Serra da Mantiqueira (22° S). Sua maior expansão territorial ocorre na porção média dessa distribuição, nos estados do Paraná, Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul.

Agrupamentos menores são encontrados em São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Espírito Santo (Wosiacki e Cereda, 1985; Santos *et al.*, 2002; Rachwal, Carvalho e Withers, 2006; Backes, 2009).

3.1.2. Produção e comercialização

A frutificação das pinhas começa em fevereiro e se estende até dezembro, conforme a variedade. A safra ocorre no Brasil de março a setembro no Paraná, sendo a época principal de abril a julho, em São Paulo e em Santa Catarina, e de abril a agosto no Rio Grande do Sul. O período que vai do início do desenvolvimento das pinhas até sua maturação é longo e depende de variedade e das condições climáticas do local onde é cultivado. A produção das sementes se inicia entre dez e quinze anos, quando plantados, mas quando em povoamento, a produção se dá a partir de vinte anos. A espécie tem ciclos de produção, com anos de contra safra, após dois ou três anos consecutivos de grande produção de sementes. A frutificação é anual e a abundância, em cada ano, varia entre os locais de produção. A árvore pode levar 200 anos em produção e, em média, o pinheiro produz 40 pinhas por árvore, chegando a atingir até 200 pinhas individuais. O grau de maturação em um mesmo pinheiro e um determinado momento é ligeiramente diferente de pinha para pinha (Mattos, 1972; Carvalho, 2002).

Segundo o Censo Agropecuário do IBGE (2006), no ano de 2006 foram colhidos no Brasil 5.126 toneladas de pinhão e comercializados 4.480 toneladas. Pode-se verificar uma diferença de 646.000 kg de pinhão colhidos e não comercializados, o que poderia render aproximadamente 232.560 kg de amido em base úmida (b.u.).

3.1.3. Situação ambiental

Apesar de ser um dos símbolos dos estados do sul do Brasil, principalmente do Paraná, esta árvore encontra-se ameaçada de extinção, pois vem sendo explorada há mais de cem anos, devido à qualidade de sua madeira utilizada pela indústria de móveis e construções em geral (Wosiacki e Cereda, 1985; Rachwal, Carvalho e Withers, 2006). Por essa razão, esta espécie foi incluída na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção, através da Portaria nº 37 de 1992 do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) (Brasil, 1992) e a Resolução nº 278 de 2001 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) (Brasil, 2001) proibiu o corte e exploração das espécies ameaçadas de extinção que constam

na lista oficial do IBAMA. A Instrução Normativa nº 6 de 2008 do Ministério do Meio Ambiente (Brasil, 2008) apresenta a lista atualizada das espécies ameaçadas de extinção, na qual a *Araucaria angustifolia* ainda se inclui.

As araucárias demoram de 10 a 15 anos para produzir pinhões quando plantadas isoladamente e 20 anos quando plantadas em florestas (Wosiacki e Cereda, 1985; Rachwal, Carvalho e Withers, 2006). Para preservar a produção, o IBAMA, através da Portaria Normativa RDC 20 (Brasil, 1976), autoriza a coleta, transporte e comercialização do pinhão somente a partir do dia 15 de abril, com o objetivo de proteger as sementes para a produção de mudas e a consequente preservação da espécie.

No Brasil, a floresta com araucária ocupava até o final da década de 1960 (Silva *et al.*, 2001) cerca de 200.000 km², principalmente no Paraná (40 %), Santa Catarina (31 %) e Rio Grande do Sul (25 %) e manchas esparsas no sul de São Paulo (3 %) e sul de Minas Gerais e Rio de Janeiro (1 %), em altitudes elevadas (Rachwal, Carvalho e Withers, 2007). Koch e Corrêa (2002) afirmaram que a extensão ocupada por essa espécie no ano de sua pesquisa era de aproximadamente 6.000 km². Segundo Rachwal, Carvalho e Withers (2007), hoje em dia os remanescentes nativos representam 1 % da floresta original, enquanto que para Ribeiro *et al.* (2009), esse número se aproxima de 13 %. Percebe-se que a extensão geográfica dessa espécie foi reduzida drasticamente, devido, principalmente, à exploração de sua valiosa madeira (Dillenburg *et al.*, 2009).

Hoje a araucária é protegida por lei e devem ser feitos esforços para que a lei seja cumprida e para auxiliar e promover sua regeneração natural e estimular seu uso em reflorestamentos, visando sua preservação e o uso sustentável de seus recursos econômicos (Dillenburg *et al.*, 2009).

3.1.4. O pinhão: características da semente e estudos realizados

O pinhão é uma boa fonte de carboidrato, principalmente amido, que é o componente presente em maior quantidade da semente (aproximadamente 36 % b.u.). O amido do pinhão pode ser facilmente isolado por tratamento com água em condições brandas, sem a necessidade de qualquer aditivo (Cordenunsi *et al.*, 2004), facilitando seu uso como excipiente farmacêutico.

Existe relativamente pouca bibliografia sobre pinhão e amido de pinhão. A respeito das características nutricionais e tecnológicas do pinhão, Cordenunsi *et al.* (2004) avaliaram as mudanças na composição química da semente crua e cozida, encontrando que os compostos fenólicos e a quercitina, presentes na envoltura interna (pele) da semente, migram para o endosperma após cozimento. A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos nas análises físico-químicas do pinhão cru e cozido por estes autores.

Tabela 1. Valores obtidos nas análises físico-químicas do pinhão cru e cozido (com casca).

Análise (%b.u.*)	Pinhão cru	Pinhão cozido
Umidade	49,50 ± 0,02	50,35 ± 0,71
Proteína	3,57 ± 0,05	2,31 ± 0,05
Lipídios	1,26 ± 0,07	1,26 ± 0,09
Resíduo mineral fixo	1,60 ± 0,01	1,41 ± 0,02
Amido	36,28 ± 0,11	34,48 ± 0,72
Fibra dietética solúvel	0,63 ± 0,13	0,55 ± 0,18
Fibra dietética insolúvel	4,26 ± 0,20	5,17 ± 0,25
Açúcares totais solúveis	2,43	0,64

Fonte: Cordenunsi *et al.*(2004) *b.u., base úmida

Datta, Figueroa e Lajolo (1993) avaliaram o efeito das modificações químicas das lectinas I e II presentes no pinhão a fim de detectar os resíduos de aminoácidos presentes nos sítios de ligação dos carboidratos. Lobato *et al.* (2002) avaliaram o efeito da fosfatação sobre a composição centesimal do amido de pinhão objetivando aprimorar as características reológicas e melhorar seu aproveitamento na área industrial.

Stahl *et al.* (2007) estudaram as modificações químicas de amido de pinhão com médio e alto grau de fosfatação, observando que este se comportou de modo bastante semelhante ao amido de milho quanto à incorporação de fósforo. Os resultados obtidos por Bochi *et al.* (2002) sugerem que a fosfatação induziu um aumento na capacidade de ligação à água fria e na transparência dos géis de amido, podendo ter importante aplicação no preparo de alimentos pré-prontos.

Bello-Pérez *et al.* (2006) estudaram a extração e isolamento do amido de pinhão, bem como suas características físico-químicas, demonstrando que sua composição, com 34 % (b.u.) de amido e frações de proteína, lipídios e compostos fenólicos muito baixas, favorecem a obtenção de um amido estável, de cor branca e sem odor, muito útil na indústria de

alimentos. Em comparação com o amido de milho, esses autores concluíram que o amido de pinhão contém menor teor de amilose, causando menor retrogradação, menor entalpia e temperatura de gelatinização.

Olivarez e Noreña (2006) estudaram o efeito da temperatura sobre a cinética de desidratação do pinhão com e sem casca em três temperaturas diferentes (55, 65 e 75 °C), verificando que nas temperaturas de 55 e 65 °C as perdas de água foram menores nas sementes com casca em consequência da alta resistência à transferência de massa oferecida pela superfície da casca. A avaliação da composição centesimal do pinhão realizada por esses autores concordaram com os valores relatados na literatura.

Cladera-Olivera (2008) estudou o armazenamento e processamento do pinhão e Thys (2009) caracterizou e avaliou o amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas. Na Tabela 2 observa-se os valores obtidos para as análises físico-químicas realizadas no amido de pinhão nativo por Thys (2009), Bello-Perez *et al.* (2006) e Stahl *et al.*(2007). As diferenças de valores podem ser atribuídas aos diferentes locais de cultivo, uma vez que as sementes analisadas por Thys (2009) foram adquiridas de mercados locais de Porto Alegre, Stahl *et al.* (2007) adquiriram as sementes de mercado local de Santa Maria, RS, e as sementes obtidas por Bello-Pérez *et al.* (2006) provinham de mercado local de São Paulo, SP. Além disso, as diferenças podem ocorrer também em função das safras.

Tabela 2. Valores obtidos para as análises físico-químicas do amido de pinhão nativo.

Análise	Composição (%) ^{1*}	Composição (%) ²	Composição (%) ^{3*}
Umidade (b.u.)	12,21 ± 1,24	12	-
Amido (b.s.)	69,13 ± 0,22	86	-
Amilose (b.s.)	26,3 ± 0,70	25 ± 0,6	23,54 ± 1,74
Carboidratos (b.s.)	-	-	97,47 ± 1,10
Cinzas (b.s.)	0,44 ± 0,00	0,04	0,32 ± 0,09
Fibra bruta (b.s.)	0,39 ± 0,00	-	0,86 ± 0,40
Proteína (b.s.)	-	Não detectado	0,17 ± 0,01

Fonte: ¹Thys (2009), ²Bello-Pérez *et al.* (2006), ³Stahl *et al.* (2007). *Média de três determinações (b.s.) ± desvio padrão. b.u., base úmida; b.s., base seca.

Capella, Penteado e Balbi (2009) estudaram os aspectos morfológicos e a composição química da farinha feita a partir de pinhão cru e cozido. As farinhas obtidas foram caracterizadas como boas fontes de fibras, proteínas e lipídios, sendo uma opção tecnológica

para o processamento do pinhão sob os aspectos químicos e nutricionais. Os resultados mostraram ainda que a farinha de pinhão cozido apresentou maiores alterações morfológicas decorrentes dos tratamentos de cocção, moagem e secagem.

Conto *et al.* (2011) estudaram as propriedades físico-químicas, morfológicas e propriedades de pasta do amido de pinhão oxidado com diferentes níveis de hipoclorito de sódio e concluíram que a oxidação é mais intensa quando o amido é tratado com 3,5 % de cloro ativo. Spada *et al.* (2012) utilizaram o amido de pinhão nativo e modificado como agente encapsulante de beta-caroteno obtendo sucesso na microencapsulação utilizando o método de liofilização.

Dentre todos esses estudos, não há referências na literatura que utilize o amido de pinhão como excipiente farmacêutico.

3.2. Excipientes farmacêuticos

Os produtos farmacêuticos são compostos por substâncias terapeuticamente ativas e adjuvantes, tornando cada produto com uma formulação específica. Os fármacos são utilizados em proporções variáveis, muitas vezes muito pequenas (especialmente no caso de substâncias muito potentes) sendo necessária a adição de excipientes para formar o medicamento ou formulação farmacêutica. A composição de cada formulação farmacêutica é que confere as características físicas do produto, onde se devem considerar três aspectos importantes: a substância ativa, a forma farmacêutica e os excipientes utilizados (Korolkovas, 1984; Aulton, 2005; Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

Os excipientes farmacêuticos por muito tempo foram considerados como as substâncias inativas presentes em uma fórmula, uma vez que a ação do medicamento é exercida pelo fármaco (Fabiano, Mameli e Zuccotti, 2011). Entretanto, cada excipiente tem sua função dentro de uma formulação e, por isso, são muitas vezes chamados de adjuvantes. Os adjuvantes, quando adicionados, permitem solubilizar, suspender, espessar, conservar, emulsionar, modificar a dissolução, favorecer a compressibilidade e corrigir características organolépticas do fármaco, possibilitando a aquisição de diversas preparações ou formas farmacêuticas (Korolkovas, 1984; Aulton, 2005; Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

3.2.1. Definição e características dos excipientes

As substâncias auxiliares em preparações farmacêuticas têm o objetivo de dar forma às preparações ou ser incorporadas nelas. Os termos mais utilizados para essas substâncias são excipiente, veículo e adjuvante. A origem do termo excipiente vem do latim, *excipere*, que significa receber, ou seja, o excipiente “recebe” o princípio ativo. O termo veículo se refere a uma das funções do excipiente, que é transportar o medicamento ao sítio de absorção do organismo. Adjuvante é um termo vindo do latim, *adjuvare*, e que se refere ao auxílio que essas substâncias dão ao princípio ativo para que ele possa desempenhar seu papel. Dessa forma, pode-se relacionar esses termos e significados com a propriedade dos excipientes de garantir que um medicamento tenha a massa, consistência e volume adequado, além de manter a estabilidade de suas características físicas e físico-químicas, a fim de administrar o fármaco corretamente ao paciente (Le Hir, 1997; Pifferi e Restani, 2003).

De modo geral, os excipientes podem ser definidos como toda substância de uma forma farmacêutica isenta de atividade farmacológica (Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007), sendo necessários para a forma de dosagem, como veículo do fármaco em diversas formas farmacêuticas, bem como para realizar funções tecnológicas importantes e específicas, especialmente no caso de formas farmacêuticas sólidas (Smolinkse, 1992; Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999). Apesar de serem considerados como inertes, os excipientes podem ter impacto sobre a disponibilidade final de um fármaco quando adicionados a uma formulação. A magnitude desse efeito depende das características do medicamento e das quantidades e propriedades dos excipientes utilizados (Jackson, Young e Pant, 2000).

Ao aplicarmos um ou mais excipientes em uma formulação, esperamos que os mesmos sejam fisicamente e quimicamente estáveis quando em contato com umidade, ar e calor, que sejam quimicamente inertes, isto é, não interajam com os ativos ou outros excipientes e que sejam compatíveis com componentes de embalagem (Jivraj, Martini e Thomson, 2000). Porém, nem sempre os componentes utilizados como excipientes não interagem entre si e com os ativos, podendo apresentar uma determinada função tecnológica, específica a sua necessidade de aplicação, ou ainda apresentar incompatibilidades não desejadas (Pifferi e Restani, 2003).

Ao longo dos anos a atenção principal da indústria farmacêutica esteve voltada apenas para a avaliação de princípios ativos, estimulando o desenvolvimento de novas drogas. No entanto, com o aperfeiçoamento da indústria percebeu-se que a qualidade de um produto

farmacêutico não depende apenas das características das substâncias ativas e do processo de produção, mas também, da qualidade dos excipientes. Em geral, esta última contribui no desempenho do fármaco e é fundamental para garantir a segurança e eficácia do produto farmacêutico final. Confirmação dessa subestimativa histórica do real papel desempenhado pelos excipientes já aparecia na definição do conceito tradicional, identificando-o como uma substância que facilita a administração e a preservação do princípio ativo (Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999). A Tabela 3 lista as características que por muito tempo foram atribuídas aos excipientes, ao chamado excipiente tradicional.

Tabela 3. Características do excipiente tradicional

Fonte	Produção	Qualidade	Mercado
Obtido de uma multiplicidade de fontes naturais, em geral como uma mistura complexa de compostos similares e polímeros sintéticos.	Para produtos químicos, alimentos, indústrias agrícolas e cosméticos, parcialmente e não particularmente para a indústria farmacêutica.	Muitas vezes não é adequado para uso farmacêutico; propriedades físicas não qualificadas como excipiente.	Matérias-primas para produção em escala comercial, com grau limitado oferecido, baixo preço e sem marca.

Fonte: Pifferi, Santoro e Pedrani (1999).

Do ponto de vista regulatório e de como os excipientes vêm evoluindo com o tempo, os mesmos podem ser divididos em três categorias. Os excipientes considerados como aprovados são aqueles que são provenientes da indústria de alimentos (geralmente reconhecidos como seguros: GRAS, *generally recognized as safe*) ou que já sejam utilizados há muito tempo em produtos farmacêuticos. A segunda categoria, que são essencialmente novos excipientes, engloba compostos obtidos através da modificação estrutural de excipientes já aprovados ou aqueles já utilizados na indústria de alimentos ou cosméticos. A terceira categoria compreende novos compostos, nunca usados anteriormente no campo farmacêutico e que cresce rapidamente devido ao interesse em formulações com liberação modificada e a necessidade de alta produtividade e modernidade no processo de fabricação (Baldrick, 2000; Pifferi e Restani, 2003).

Como mencionado anteriormente, sabe-se que os excipientes podem desempenhar diferentes funções tecnológicas e que por ser a maior proporção em um produto farmacêutico merecem atenção especial da indústria. Uma definição mais recente e adequada dos excipientes foi definida pelo IPEC (*International Pharmaceutical Excipients Councils*), que é uma associação da indústria que desenvolve, implementa e promove o uso dos excipientes farmacêuticos com qualidade adequada, segurança e padrões de funcionalidade. Pela

definição do IPEC excipiente é qualquer substância, diferente do fármaco, que tenha sua segurança avaliada podendo, assim, ser incluída na forma farmacêutica. Os excipientes podem assumir as finalidades de possibilitar a preparação de medicamentos, proteger, fornecer ou melhorar a estabilidade e a disponibilidade biológica do fármaco, além da aceitabilidade do paciente, favorecer a identificação do produto, melhorar ou promover qualquer característica relacionada à segurança e efetividade do produto durante o armazenamento e/ou o uso. De acordo com o IPEC, a característica de inércia deve ser desconsiderada, uma vez que, de algum modo, qualquer substância pode modificar a liberação, estabilidade e a biodisponibilidade do fármaco (IPEC, 2009).

3.2.2. Funções dos excipientes

Os excipientes, em função de normalmente estarem presentes em alta proporção nos produtos farmacêuticos (Kása *et al.*, 2009), adquirem importantes funções garantindo a dosagem, estabilidade e biodisponibilidade do princípio ativo (Pifferi e Restani, 2003). Estes são utilizados visando tornar a administração mais fácil ou mais adequada, melhorar a adesão do paciente, mascarar o sabor de um agente terapêutico, promover a liberação e biodisponibilidade do fármaco e protegê-lo da degradação (Mura *et al.*, 1998; Jones, 2008). Um aspecto importante a se verificar para assegurar a estabilidade do fármaco em uma formulação e manter a eficácia do medicamento durante sua vida de prateleira é que todos os componentes da formulação sejam compatíveis, incluindo materiais de embalagem (Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

Os excipientes são considerados componentes essenciais em formas de dosagem farmacêuticas e podem desempenhar diferentes funções que podem ser agrupadas em três categorias, de acordo como eles influenciam na estabilidade, na liberação e absorção do princípio ativo ou no processo de fabricação (Banker e Rhodes, 2002). Dessa forma, são capazes de facilitar a administração dos princípios ativos, melhorar a eficácia do fármaco e assegurar a estabilidade e conservação (Le Hir, 1997).

Os estabilizadores são os excipientes utilizados com a função de prevenir ou retardar a degradação. O potencial de uso dessas substâncias deve ser determinado pelos fatores que causam as transformações moleculares nos medicamentos. Para atuar como estabilizadores, os excipientes devem atenuar os efeitos causados por fatores ambientais, como água, vapor e luz, tensões durante a conversão para a forma de dosagem, como a redução de tamanho,

compactação ou processo de esterilização e interações entre moléculas adjacentes da substância ativa, ou entre grupos funcionais na mesma molécula (Crowley, 1999).

Os excipientes que influenciam na liberação e absorção do fármaco asseguram o funcionamento da forma farmacêutica como um sistema de liberação do fármaco. Estes, são capazes de retardar a liberação do fármaco e podem afetar, inclusive, sua biodisponibilidade. Normalmente são utilizados diluentes, tensoativos, lubrificantes, desagregantes e agentes espessantes. Para seu uso adequado, devem ser feitos testes para o correto delineamento da forma farmacêutica, podendo assim, garantir a velocidade e extensão da absorção (Aulton, 2005).

Os excipientes agrupados na categoria que influenciam o processo de fabricação podem ser subdivididos entre os que são componentes básicos de uma certa forma de dosagem farmacêutica, tais como bases de pomada ou em um segundo subgrupo de materiais que pode cumprir determinadas funções tecnológicas, tais como os lubrificantes (Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999).

A Tabela 4 identifica a classificação dos excipientes de acordo como eles influenciam na estabilidade, liberação e absorção do fármaco e forma de fabricação. Assim, variando o tipo, quantidade e qualidade do excipiente incorporada, a tecnologia farmacêutica pode corrigir e otimizar as características do produto final (Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999).

Tabela 4. Classificação dos excipientes de acordo como eles influenciam na estabilidade, forma de absorção do fármaco ou processo de fabricação, conforme a necessidade de forma de dosagem ou especificações técnicas requeridas.

Categoria influenciada pela aplicação do excipiente	Classificação
Estabilidade	Antioxidantes, agentes quelantes, conservantes, estabilizantes, tamponantes, modificadores de pH.
Absorção do fármaco	Desagregantes, plastificantes, modificadores de liberação da droga, agentes umectantes, solventes, formadores de filmes, bioadesivos, agentes encapsulantes, polímeros biodegradáveis
Fabricação/necessidade de formas de dosagem	Bases para pomadas, excipientes semi-sólidos, diluentes.
Fabricação/propriedades e especificações técnicas requeridas	Emulsificantes, agentes suspensores, gelificantes, melhoradores de lubrificação, melhoradores de fluxo e de compactação e agentes de preenchimento.

Fonte: Adaptado de Pifferi, Santoro e Pedrani (1999)

Atualmente se estima que mais de mil materiais diferentes seja usado na indústria farmacêutica para satisfazer suas diversas necessidades tais como diluentes, agentes de

preenchimento e de revestimento, desagregantes, adesivos, lubrificantes, aglutinantes, corantes, adoçantes, edulcorantes entre outros (Baldrick, 2000; Pifferi e Restani, 2003). Os excipientes desempenham um papel importante por conferir forma, volume e consistência para a preparação farmacêutica, garantindo uma administração mais fácil do medicamento, a entrega da substância ativa ao sítio ativo no organismo do paciente, permitindo sua biodisponibilidade, a estabilidade e preservação do fármaco e garantindo também o aperfeiçoamento do sabor e aroma do fármaco (Fabiano, Mameli e Zuccotti, 2011).

Existe a possibilidade de aparecimento de reações entre os componentes ativos e inativos de um medicamento. Os excipientes e adjuvantes devem aperfeiçoar a administração e atividade do fármaco, mas não devem interferir na sua dosagem e biodisponibilidade. Como os fármacos, os excipientes também têm sua própria atividade termodinâmica, que podem contribuir para reações de degradação ou interações entre fármaco e excipiente (Crowley e Martini, 2001). Na Tabela 5 os excipientes estão agrupados de acordo com sua classificação química e funções desempenhadas, que podem contribuir para sua reatividade.

Tabela 5. Classificação química e funções dos excipientes farmacêuticos

Classificação química	Funções desempenhadas
Água, álcoois	Conformidade
Ésteres, éteres, ácido carboxílico	Precisão e exatidão da dose
Glicerídeos e ceras	Estabilidade
Carboidratos (mono-, di- e polissacarídeos)	Fabricação
Hidrocarbonetos e derivados halogenados	Tolerância
Polímeros (naturais e sintéticos)	Desagregação
Minerais	Dissolução
Proteínas	Liberação controlada
Vários: conservantes, corantes, adoçantes, surfactantes...	Absorção

Fonte: Pifferi e Restani (2003)

3.2.3. Formas de dosagem sólidas

As formas de dosagem sólidas abrangem dois tipos principais de formulações, os comprimidos e as cápsulas. É estimado que as formas de dosagem sólidas compreendam cerca de 90 % do total de formas de dosagem utilizadas na administração terapêutica (Jones, 2008).

O sucesso da formulação de uma forma de dosagem sólida estável e efetiva depende da criteriosa seleção dos excipientes utilizados (Mura *et al.*, 1998; Jones, 2008). Os excipientes garantem que o processo seja executado de forma satisfatória e que o comprimido formado seja de boa qualidade. Nesse sentido, o excipiente se encarrega de preencher o volume e a massa necessários para que o comprimido tenha tamanho adequado para o manuseio (Kása *et al.*, 2009).

Os principais métodos utilizados na fabricação de comprimidos são granulação seca, granulação úmida e compressão direta. A escolha do método adequado de fabricação dependerá das propriedades de compressão dos fármacos, tamanho de partícula de fármacos e excipientes e da estabilidade dos fármacos durante o processo de fabricação (Jones, 2008).

A compressão direta é a forma mais comum de fabricação de comprimidos e, para esse tipo de processo, o conteúdo do princípio ativo é menos de 30 % da formulação, restando mais de 70 % para ser preenchido por excipientes (Jivraj, Martini e Thomson, 2000). Deseja-se que os excipientes aplicados em fabricações desse tipo sejam diretamente compressíveis e possam ser misturados em uma grande porcentagem sem deteriorar a qualidade do comprimido (Armstrong, 1998). Além disso, devem possuir bom fluxo, ter distribuição de tamanho de partícula semelhante para a maioria das substâncias ativas, evitando a segregação durante o processamento, alta densidade e ter a qualidade reprodutível de lote para lote (Jivraj, Martini e Thomson, 2000). Os excipientes são necessários para se conseguir fazer a compressão da maioria das substâncias e são responsáveis por diluir o produto, aglutinar suas partículas, facilitar a desagregação do comprimido, evitar a aderência do pó aos punções e à matriz, facilitar o escoamento do distribuidor, entre outros (Prista, Alves e Morgado, 1996).

A escolha do excipiente utilizado na formulação depende do processo de fabricação empregado. Normalmente, para a fabricação de comprimidos convencionais, são utilizados diluentes, aglutinantes, desagregantes, lubrificantes, melhoradores de fluxo, absorventes, aromatizantes, corantes e agentes surfactantes (Jones, 2008).

Os excipientes, em qualquer fórmula de comprimidos, podem ser divididos em dois grandes grupos. O primeiro, designado de excipientes tecnológicos, é formado por compostos que são adicionados à substância ativa com a intenção de conferir ao produto as características adequadas de compressibilidade ou facilitar a cedência do fármaco. Sua aplicação é praticamente obrigatória em quase todas as fórmulas, como é o caso dos diluentes,

aglutinantes, lubrificantes e desagregantes. O outro grupo de excipientes são adicionados facultativamente e têm uma função específica, seja devido à natureza do fármaco, como é o caso do uso de absorventes, molhantes ou tampões, seja para aumentar a adesão do paciente à terapêutica, como é o caso dos aromatizantes, edulcorantes e corantes (Prista, Alves e Morgado, 1996).

Muitas vezes, os excipientes não desempenham uma única função tecnológica, como é o caso dos diluentes, aglutinantes e desagregantes. O amido e a lactose são exemplos desse caso. Assim, a ação fundamental desempenhada por cada um dos excipientes é relacionada principalmente com as quantidades adicionadas ou com o modo como são adicionadas durante o processamento (Prista, Alves e Morgado, 1996).

Com o objetivo de melhorar as características dos excipientes para facilitar e acelerar sua compressibilidade, tornando-os diretamente compressíveis, surgiram modificações de compostos já existentes para uso em compressão direta (Prista, Alves e Morgado, 1996). Diversos autores têm estudado os fatores que influenciam a compressão direta e formação de comprimidos bem como possíveis modificações em excipientes utilizados para esse fim (Sánchez, Torrado e Lastres, 1995; Dumoulin, Cartilier e Mateescu, 1999; Demirgöz *et al.*, 2000; Wanczinski *et al.*, 2002; Atichokudomchai e Varavinit, 2003; Kása *et al.*, 2009; Marinich, Ferrero e Jiménez-Castellanos, 2009; Adedokun e Itiola, 2010; Ma *et al.*, 2010; Odeku e Picker-Freyer, 2010; Mehta *et al.*, 2011).

3.2.4. Caracterização dos excipientes

As melhorias recentes em técnicas de análise de alta resolução e na ciência dos materiais, permitem a determinação de pequenas diferenças em lotes de excipientes e princípios ativos, mesmo se eles forem equivalentes do ponto de vista químico. A caracterização do estado sólido e os parâmetros de superfície, portanto, são fundamentais para avaliar e, em seguida, garantir o comportamento do excipiente nas fases de elaboração e produção (Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999).

Hoje em dia, os testes de funcionalidade dos excipientes compreendem o controle de pureza e caracterização química, enfatizando a identidade, pureza, força e composição dos compostos. O controle do desempenho é realizado através da caracterização física, para saber os atributos funcionais desenvolvidos pelos excipientes, e os testes físico-químicos, para

determinar alguma aplicação específica. As especificações dos excipientes devem garantir as necessidades da forma de dosagem, incluindo a segurança, estabilidade, absorção e processamento (Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999).

3.2.4.1. Caracterização de formas sólidas

Antes de serem utilizadas na preparação de produtos farmacêuticos, as matérias-primas sólidas são caracterizadas com o intuito de determinar suas propriedades químicas e físicas, onde são avaliadas a morfologia, pureza, solubilidade, estabilidade, tamanho de partícula, uniformidade e compatibilidade com os outros componentes da formulação (Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

As formulações das formas sólidas são desenvolvidas a partir da caracterização das partículas, pós e compactos das substâncias ativas, excipientes e formulações em pequena escala (50 a 200 g). Essa caracterização, juntamente com outras ferramentas preditivas, permite aos cientistas entender importantes propriedades químicas, físicas e mecânicas dos materiais, habilitando-os a desenvolver formulações rapidamente, a um custo relativamente baixo e atingir resultados aceitáveis em estudos clínicos (Amidon, Secreast e Mudie, 2009).

A caracterização das partículas é um componente de análise importante para o desenvolvimento de formulações e pode ser feita utilizando pequena quantidade de material. Tamanho de partícula, distribuição de tamanhos, forma e textura podem ter um impacto no processo e desempenho farmacêutico, por isso devem ser feitas considerações do impacto desses parâmetros no processo como um todo (Amidon, Secreast e Mudie, 2009).

Os métodos utilizados para caracterizar as partículas englobam microscopia ótica, com luz normal e polarizada, microscopia eletrônica de varredura, tamanho de partículas e distribuição de tamanhos. A caracterização dos pós envolve as medidas de densidade real, densidade aparente e compactada e fluidez dos pós. A caracterização dos compactos é realizada através de testes de compactação, deformação e tensões e a caracterização dos comprimidos analisa as relações existentes entre a fração sólida, forças de tensão e força de esmagamento do comprimido (Amidon, Secreast e Mudie, 2009).

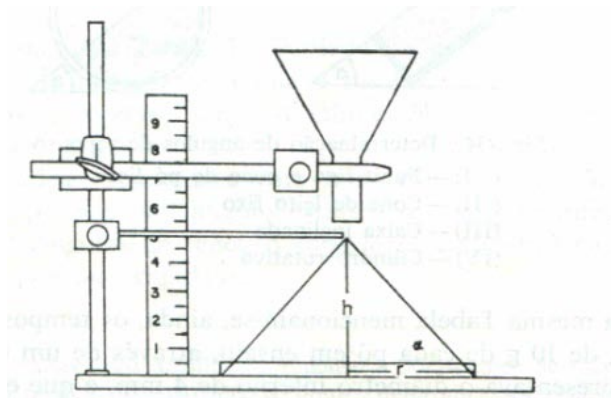
A análise granulométrica é um parâmetro importante na caracterização das partículas. Nas Ciências Farmacêuticas, essa análise tem o objetivo de demonstrar os dados quantitativos sobre o tamanho, a distribuição e a forma do fármaco e de outros componentes utilizados na

formulação. Os fatores mais importantes afetados pelo tamanho de partículas são a velocidade de dissolução das partículas, a suspensibilidade de partículas que necessitam permanecer dispersas uniformemente em um veículo líquido, a uniformidade de conteúdo através da distribuição uniforme das substâncias ativas em misturas de pó ou em formas farmacêuticas sólidas, grau de penetração de partículas que devem ser inaladas e depositadas no trato respiratório e o grau de aspereza das partículas sólidas nas pomadas e cremes dermatológicos e preparações oftálmicas (Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

Os pós, quando submetidos a forças externas, apresentam uma propriedade de resistência ao movimento relativo das suas partículas. O ângulo de repouso de um pó é uma das manifestações desta propriedade e o seu conhecimento contribui para avaliar a dificuldade apresentada pelos pós para fluírem livremente (Prista, Alves e Morgado, 1996). Normalmente, os pós com partículas maiores que 250 μm apresentam característica de fluxo livre, enquanto que à medida que o tamanho torna-se menor que 100 μm , os pós tendem a ser coesivos e ocorrem problemas de fluxo com maior frequência, em função das partículas mais finas terem uma razão superfície/massa muito elevada (Aulton, 2005).

As propriedades de fluxo, medidas através do ângulo de repouso, podem ser determinadas a partir do escoamento do pó através de um funil caindo livremente sobre uma superfície plana. A altura e o diâmetro do cone resultante são medidos e o ângulo de repouso é calculado de acordo com a equação 1 (Prista, Alves e Morgado, 1996; Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007). A Figura 3 ilustra a operação, onde o pó ou material granulado forma uma pilha cônica com a superfície plana.

Figura 3. Esquema para medida do ângulo de repouso.



Fonte: Prista, Alves e Morgado (1996)

$$\operatorname{tg} \alpha = \frac{h}{r} \quad (1)$$

O fluxo dos pós é um dos fatores dos quais dependem a estabilidade e efetividade das formas farmacêuticas, sendo importante para que haja uma alimentação padrão de encapsulação, assegurando homogeneidade no empacotamento das partículas e uma razão volume massa constante, garantindo, assim, a uniformidade de conteúdo das cápsulas (Aulton, 2005). O interesse dessa avaliação, bem como das características de compressibilidade, está ligada à facilidade de manuseio dos pós, como, por exemplo, em relação ao fluxo dos grânulos e à eficiência dos equipamentos de enchimento para a preparação de comprimidos e cápsulas (Prista, Alves e Morgado, 1996; Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007)

O ângulo limite de classificação do fluxo dos pós pode variar um pouco conforme o autor. De acordo com Prista, Alves e Morgado (1996), os pós com ângulo inferior ou igual a 30° são considerados com boas propriedades de escoamento, enquanto que os ângulos com valores superiores a 40° demonstram difícil fluxo dos pós ou granulados. Entretanto, segundo Aulton (2005), os ângulos maiores que 50° possuem propriedades de fluxo deficientes e ângulos inferiores ou próximos a 25° correspondem a propriedades de fluxo muito boas.

Outra característica importante para avaliação física das partículas é a determinação do chamado volume aparente ou volume real, que é a soma do volume ocupado pelas suas partículas com o volume de ar intersticial e é influenciado pela forma e dimensão das partículas constituintes do pó (Prista, Alves e Morgado, 1996; Allen Jr., Popovich e Ansel, 2007).

A densidade de um sólido é frequentemente muito difícil de ser medida, uma vez que qualquer alteração no seu leito pode resultar em uma densidade nova. Além disso, as propriedades do pó são dependentes da história do pó, de como ele foi manipulado, fazendo, assim, com que o mesmo possa ter uma faixa de densidades. Por isso, quando se faz a determinação das densidades, o método utilizado deve ser reportado corretamente (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008).

A determinação do volume e densidade aparente é um ensaio simples que tem como princípio a medida em um recipiente graduado do volume ocupado por uma quantidade de pó

(Prista, Alves e Morgado, 1996; *USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008).

Na Farmacopeia Portuguesa (*Farmacopeia Portuguesa VII*, 2002) para a medida de volume aparente, é descrito um equipamento automático para a realização do ensaio e que se baseia nas normas DIN (nº 53.194), onde a leitura do volume deve ser feita após deixar cair 1.250 vezes, de uma altura de 3 mm, um cilindro graduado onde se encontra o pó. Além de se fixar a altura da queda, pode-se indicar o ritmo das quedas (em aparelhos automáticos, normalmente 250 por minuto), a massa do suporte da proveta e ainda a massa da própria proveta utilizada no ensaio. A Farmacopeia dos Estados Unidos (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008) descreve o método de medida de densidade aparente e compactada da mesma forma, seguindo as normas DIN (nº 53.194).

As leituras dos volumes são realizadas antes do ensaio (V_0) e ao fim de 10 (V_{10}), 500 (V_{500}) e 1250 (V_{1250}) quedas. Se a diferença entre V_{500} a V_{1250} for superior a 2 mL, deve se efetuar mais uma série de 1250 quedas (V_{2500}) (Prista, Alves e Morgado, 1996; *Farmacopeia Portuguesa VII*, 2002; *USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008).

Com essa análise são obtidos os parâmetros: volume aparente antes da compactação ou volume bruto (V_0 , em mL), volume aparente após a compactação, ou volume compactado ou de compactação (V_{1250} ou V_{2500} , em mL), capacidade de compactação ($V_{10} - V_{500}$, em mL), densidade aparente antes da compactação (m/V_0 em g/mL) e densidade de compactação (m/V_{1250} ou V_{2500} em g/mL) (Prista, Alves e Morgado, 1996; *USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008). Além desses parâmetros, a partir da densidade bruta e de compactação pode-se calcular o Índice de Carr e o Fator de Hausner, que são importantes para a determinação de quanto um material pode ser compressível e na avaliação de fluxo (Carr, 1965; Hausner, 1967).

A determinação do volume aparente dos pós interessa para a escolha adequada do recipiente para o seu acondicionamento, sendo importante também quando o pó se destina à preparação de cápsulas medicamentosas, pois a escolha do tamanho adequado da cápsula dependerá do valor do volume aparente do pó a distribuir (Prista, Alves e Morgado, 1996).

Para caracterizar diferenças entre lotes, em alguns casos, os métodos físico-químicos simples não são suficientes. Isso acontece porque algumas dessas diferenças podem ser

originadas na superfície da partícula, representando atributos que compreendem uma parte grande da superfície, mas uma fração muito pequena do total se comparado ao material como um todo. Essas diferenças na superfície, mesmo que não possam ser distinguíveis no volume total, podem causar comportamento diferente sobre a estabilidade e forma de dosagem do fármaco. Para uma completa caracterização do excipiente deveriam, então, ser considerados os parâmetros de superfície, tais como acidez, energia livre, carga, rugosidade, grau de cristalinidade ou se o material é amorfo e, assim, garantir a homogeneidade entre os lotes e dentro do mesmo lote (Prakash, 2011).

3.3. Amidos

O amido é um polissacarídeo vegetal que se encontra armazenado em raízes e sementes de plantas no endosperma do centro do grão. Este polissacarídeo se apresenta como um pó branco, fino, sem sabor e odor, composto por grânulos muito pequenos, esféricos ou ovoides cujos tamanhos e formas são características dependentes de cada variedade botânica. Os grânulos individuais diferem quanto ao tamanho e forma, podendo diferir também em sua utilidade farmacêutica, de acordo com a origem do material e percentual utilizado (Hoepfner, 2002; Häusler, 2009).

Apesar do avanço de polímeros sintéticos biodegradáveis, os polímeros naturais continuam sendo preferíveis na área dos excipientes utilizados em medicamentos administrados oralmente. O amido é um dos polímeros mais disponíveis, renováveis, versáteis e é o componente de maior proporção nos cereais (Eliasson e Tatham, 2001; Assaad e Mateescu, 2010).

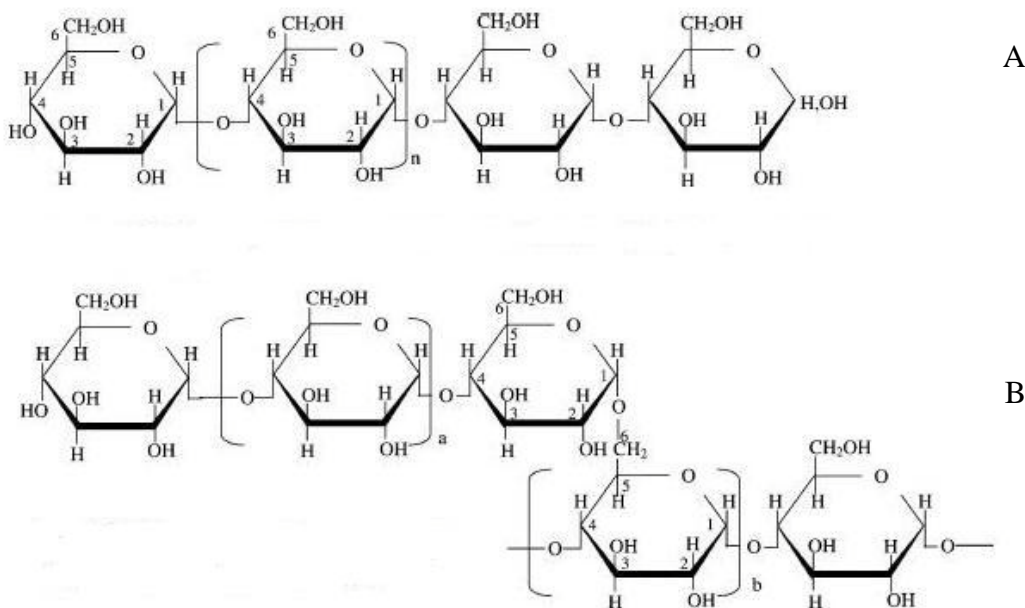
3.3.1. O grânulo de amido

A biossíntese do grânulo de amido inicia-se no hilo e o grânulo se desenvolve por aposição ao redor desse hilo. Os grânulos ocorrem em todas as formas e tamanhos: esferas, elipsoides, polígonos, plaquetas e tubos irregulares. Estes têm diâmetro que variam de aproximadamente 0,1 a 200 µm, dependendo de sua origem botânica (Tester, Karkalas e Qi, 2004; Pérez e Bertoft, 2010). Geralmente, a diferença na morfologia externa é suficiente para permitir a caracterização da origem botânica, podendo ser visualizada através da microscopia. Os grânulos de amido são densamente empacotados com estruturas semicristalinas, a

cristalinidade variando de 15 a 45 %, sendo a densidade em torno de $1,5 \text{ g/cm}^3$. Na forma granular o amido pode ser facilmente isolado por gravidade, sedimentação, centrifugação e filtração. Este pode ser submetido a várias modificações químicas, físicas e enzimáticas com subsequentes lavagens e processamento (Williams e Bowler, 1982; Eliasson e Tatham, 2001; Pérez e Bertoft, 2010).

O amido é um polímero relativamente simples composto de moléculas de D-glicose unidas entre si por dois tipos de ligações diferentes, independente da sua fonte botânica. Estruturalmente, o amido é formado por dois polissacarídeos amilose e amilopectina e a proporção de cada polissacarídeo presente na molécula de amido depende da origem botânica do mesmo. A amilose, presente em aproximadamente um quarto do polissacarídeo em amidos normais, é uma molécula essencialmente linear, na qual as ligações da glicose são unidas por ligações α -1,4. A amilopectina é o maior componente do amido, compreendendo de 70 a 80 %, e é uma molécula ramificada na qual aproximadamente 5 % das unidades de glicose são unidas por ligações α -1,6, ligações que ocorrem, aproximadamente, a cada 15 a 30 unidades de glicose da cadeia (Wong, 1995; Cereda, 1996; Hoepfner, 2002; Jobling, 2004; Vaclavik e Christian, 2008). A Figura 4 mostra a estrutura química da amilose (A) e da amilopectina (B).

Figura 4. Estrutura da molécula linear de amilose (A), com ligações glicosídicas α -1,4 e da molécula ramificada de amilopectina (B), em que a união das ramificações ocorre por ligações glicosídicas na posição α -1,6 e as demais, por ligações α -1,4.

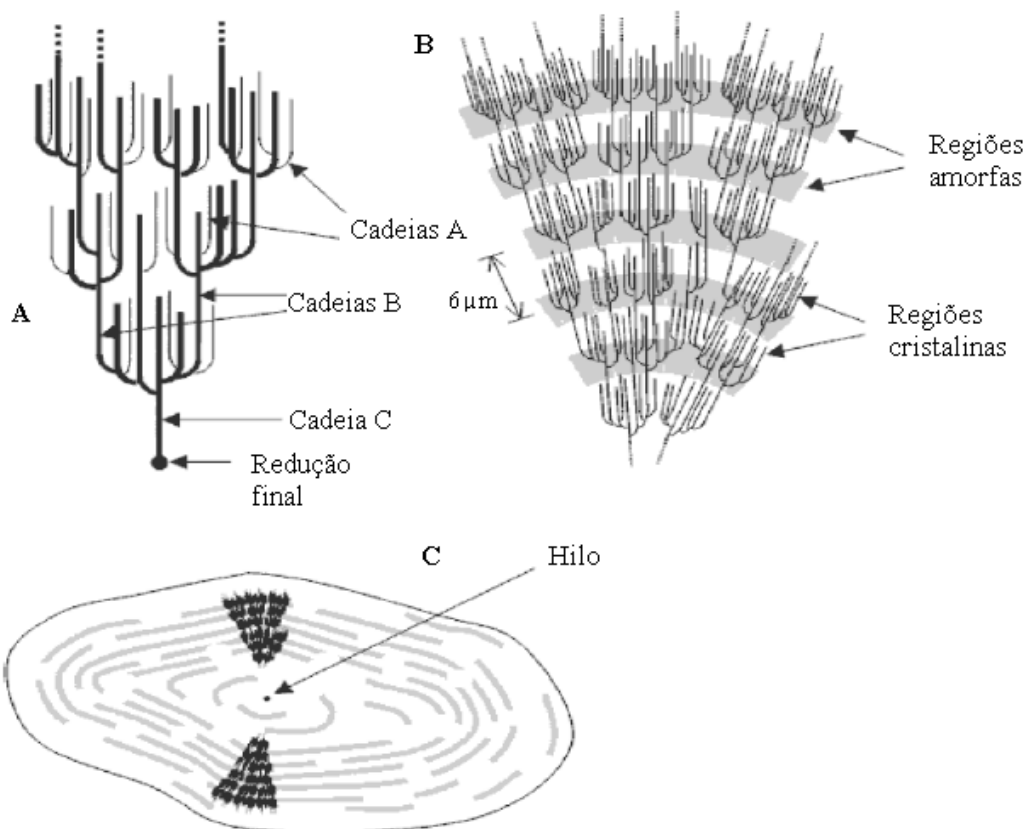


Fonte: Tester, Karkalas e Qi (2004)

Os amidos normais contêm cerca de 25 % de amilose. Variedades selecionadas de milho, ricas em amilose, chegam a conter até 85 %, sendo que as variedades habitualmente encontradas no comércio têm um máximo de 65 % de amilose. Outros amidos, no entanto, estão constituídos exclusivamente por amilopectina. Como exemplo desse tipo de amido pode-se citar o milho ceroso, a cevada cerosa e o arroz ceroso (Fennema, 2000).

As moléculas de amilose e amilopectina se associam por pontes de hidrogênio, formando zonas cristalinas radialmente orientadas. Entre essas zonas cristalinas existem zonas amorfas onde as moléculas não têm uma orientação particular. As áreas cristalinas têm a função de manter a estrutura do grânulo e controlar seu comportamento na água, sendo responsáveis pela limitação da absorção de água do grânulo de amido, mesmo sendo constituído de polímeros solúveis ou parcialmente solúveis em água (Ciacco e Cruz, 1986). A Figura 5 representa esquematicamente o grânulo de amido com suas regiões amorfas e cristalinas.

Figura 5. (A) Classificação das cadeias da amilopectina em tipo A, B e C. (B) Estrutura da amilopectina formando as regiões amorfas e cristalinas no grânulo de amido. (C) Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com a visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilo



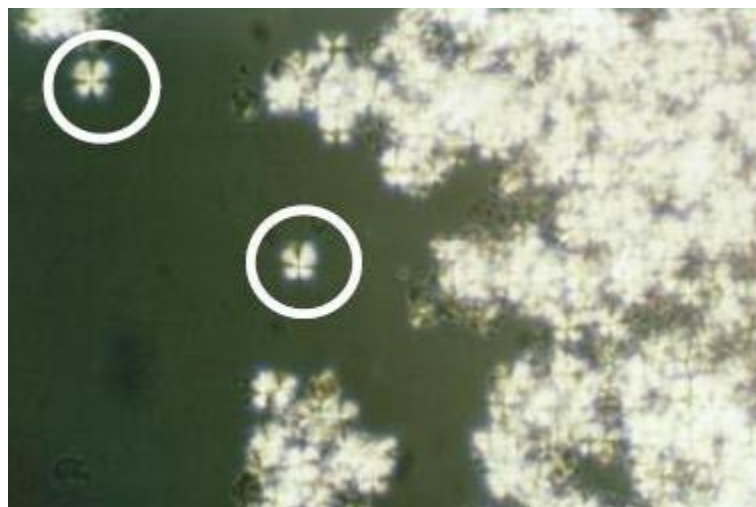
Fonte: Denardin e Silva (2008).

Os modelos estruturais propostos sugerem que a amilopectina tem duplas hélices organizadas em paralelo. Provavelmente a porção principal de cristalinidade de um grânulo de amido é derivada da amilopectina (Belitz e Grosh, 1986).

A amilose não é prontamente solúvel em água fria. Quando grânulos de amido intactos são aquecidos em água, eles incham e formam uma suspensão de amido pastosa e pegajosa que consiste em grânulos intactos altamente inchados dispersos em uma solução de moléculas de amido livres que lixiviaram a partir dos grânulos durante o inchaço. Géis de amilose tendem a retrogradar-se, o que indica uma transição irreversível do estado disperso ou solubilizado para um estado microcristalino insolúvel. Uma retrogradação similar ocorre quando a pasta de amido é resfriada lentamente. A tendência a retrogradação aumenta em baixas temperaturas, principalmente próximo a 0 °C, em pH neutro e em alta concentração de amido em ausência de agentes tensoativos (Belitz e Grosh, 1986).

Os grânulos de amido nativo quando observados em microscópio com luz polarizada apresentam uma cruz escura no centro que indica a birrefringência (chamada de Cruz de Malta), característica de substâncias cristalinas cuja variação do índice de refração depende da direção que o raio de luz atravessa a substância. A estrutura cristalina ordenada do grânulo indica uma orientação radial da origem do eixo de cristalinidade e fazendo com que a luz seja refratada em duas direções, demonstrando sua birrefringência. As cadeias lineares principais e muitas das ramificações de amilopectina se estruturam dessa forma. Além disso, a maior parte dos grânulos de amido mostra camadas mais ou menos nítidas, isto é, anéis de crescimento ao redor do hilo central. Entretanto, não é conhecida a disposição relativa das moléculas de amilose e amilopectina, mas percebe-se que os dois tipos de moléculas parecem estar distribuídos de maneira uniforme no grânulo (Fennema, 2000; Tester, Karkalas e Qi, 2004; Vaclavik e Christian, 2008; Pérez e Bertoft, 2010) A Figura 6 mostra um exemplo de como a birrefringência é visualizada através da microscopia ótica com luz polarizada, podendo visualizar a cruz de Malta.

Figura 6. Visualização dos grânulos de amido de pinhão nativo através da microscopia com luz polarizada (200 x) na temperatura de 40 °C.

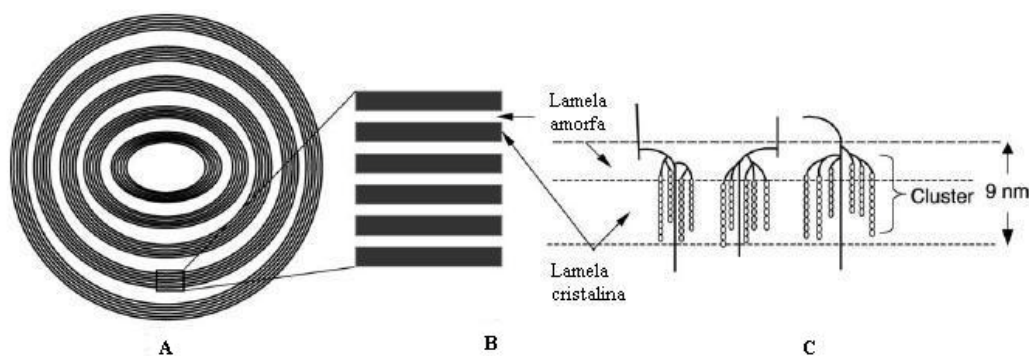


Fonte: Thys (2009).

3.3.1.1. Padrões de cristalinidade do grânulo

A molécula de amido apresenta um anel de crescimento semicristalino, com 120 a 400 nm de espessura, com aproximadamente 16 repetições alternando partes amorfas, com 2 a 5 nm de espessura e cristalinas, com 5 a 6 nm de espessura (Cameron e Donald, 1992; Vandeputte e Delcour, 2004). Independente da origem botânica do amido, as repetições de distâncias das lamelas amorfas e cristalinas são de aproximadamente 9 nm (Figura 7). A cristalinidade parcial dos grânulos de amido nativo se deve à organização de *clusters* da cadeia de amilopectina (Jenkins, Cameron e Donald, 1993).

Figura 7. Representação da estrutura lamelar de um grânulo de amido. (A) Aglomerados de lamelas microcristalinas separadas por anéis de crescimento amorfo. (B) Visualização ampliada das regiões amorfas e cristalinas (C) As estruturas de duplas hélices formadas por cadeias adjacentes de amilopectina dando origem a lamelas cristalinas. Os pontos de ramificação constituem as regiões amorfas.

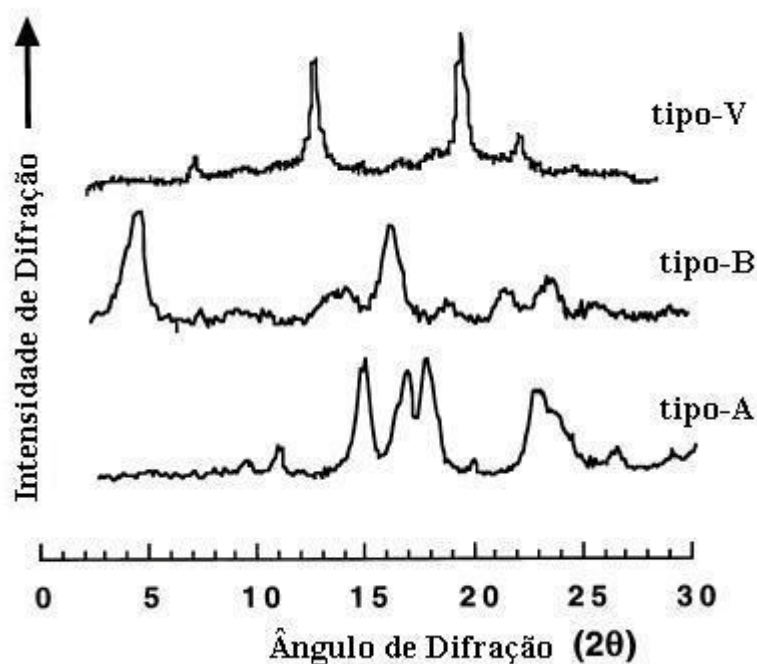


Fonte: Tester, Karkalas e Qi (2004).

A cristalinidade parcial do grânulo de amido nativo pode ser detectada por difração de raios-X, apesar do grau de cristalinidade ser baixo, estimado na faixa de 15 a 45 % (Zobel, 1988). Tanto as cadeias de amilose como as cadeias externas de amilopectina podem formar hélices duplas que podem, por sua vez, se associarem para formar domínios cristalinos. Na maioria dos amidos isso se limita a amilopectina (Tester, Karkalas e Qi, 2004).

Com o auxílio de análise de difração de raios-X, os grânulos de amido revelam três padrões cristalográficos, denominados como padrões A, B e C. Um padrão adicional ocorre em grânulos inchados e é designado como a forma V. Enquanto os padrões A e B são modificações cristalinas verdadeiras, o padrão C parece ser uma mistura das formas A e B. O padrão A está presente normalmente em amidos de cereais, enquanto que o padrão B está em amidos de raízes e tubérculos, amidos com alto teor de amilose e amido retrogradado. O padrão C é observado em misturas de amidos de milho e batata, em amidos de legumes e também em cereais que crescem em condições específicas de temperatura e hidratação. A forma cristalina V é característica do complexo formado por amilose e ácidos graxos e monoglicerídeos, que aparecem durante a gelatinização do amido, é raramente detectada em amidos nativos (Belitz e Grosh, 1986; Buléon *et al.*, 1998). A Figura 8 apresenta os difratogramas de raios-X dos amidos dos tipos A, B e V.

Figura 8. Diagramas de difração de raios-X dos amidos tipo A, B e V.



Fonte: Adaptado de Buléon *et al.* (1998).

As três principais conformações de amido (A, B e V) podem intercambiar-se em condições adequadas. Por exemplo, amido de batata umedecido, quando aquecido, troca do padrão B para o padrão A. quando amilose alcalina é mantida por muitos dias em atmosfera úmida (umidade relativa de 80 %), fornece padrão tipo A; e quando tratada com água fervente, padrão tipo B (Belitz e Grosh, 1986).

3.3.2. Características e fontes de amidos

O amido é extraído de fontes vegetais através de uma sequência de etapas de processamento incluindo moagem grossa, repetidas lavagens com água, peneiramento úmido e separação por centrífuga. O amido úmido obtido a partir desse processo é seco com ar quente antes de usar em formulações farmacêuticas. O processo de separação do amido pode utilizar dióxido sulfúrico ou peróxidos como um processo adicional, melhorando o processo de separação e qualidade microbiana do produto final (Häusler, 2009).

A descrição dos tipos de amidos oficiais difere um pouco conforme a farmacopeia consultada. A Farmacopeia dos Estados Unidos, USP32-NF27 (*United States Pharmacopeia* NF 27) descreve amido em monografias separadas conforme a origem, que pode ser milho, batata, mandioca ou trigo. Além dessas monografias, esta farmacopeia ainda inclui uma monografia para amido tópico. A Farmacopeia Europeia (PhEur 6.3) tem monografias individuais para cada tipo de amido, incluindo amido de milho, trigo, batata, arroz e ervilha. A Farmacopeia da Inglaterra (BP 2009) igualmente descreve amido de milho, batata, arroz, mandioca e trigo em monografias individuais. A Farmacopeia Japonesa (JP XV) descreve de maneira similar amido de milho, batata, arroz e trigo em monografias separadas (Häusler, 2009). No Brasil, a Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010), descreve o amido em uma única monografia, na qual os amidos podem ser obtidos a partir do milho, arroz, trigo, mandioca e batata.

A Legislação Brasileira (Brasil, 1978) e a francesa diferenciam amido de fécula. Ambos são polissacarídeos compostos de moléculas de glicose e a classificação em amido ou fécula depende da parte do vegetal do qual é extraído. O amido é obtido a partir de órgãos aéreos de vegetais, como frutos, sementes e caules, originando os amidos de milho, arroz, trigo, cevada, enquanto que a fécula é encontrada em órgãos subterrâneos, como as raízes, tubérculos e bulbos, originando as féculas de mandioca, batata. Ao amido e fécula extraídos das plantas, sem alteração, denomina-se nativo ou natural. Amidos e féculas modificados têm

suas propriedades naturais alteradas, originando novas e, muitas vezes, melhores aplicações (Cereda, 1996; Silva *et al.*, 2003).

Os grãos de amido nativos têm uma capacidade limitada de absorver água fria. Isso se deve à estrutura semicristalina do grânulo que, por sua vez, depende do grau de associação e arranjo molecular dos componentes do amido (Ciacco e Cruz, 1986).

Dependendo da origem, os amidos diferem na sua taxa amilose/amilopectina. Por exemplo, o amido de milho contém aproximadamente 18 a 27 % de amilose (Smolinkse, 1992), fécula de batata aproximadamente 22 % e a fécula de mandioca aproximadamente 17 %. Em contrapartida, o amido de milho ceroso contém praticamente apenas amilopectina, sem amilose. Existem também variedades de milho com alto teor de amilose, podendo conter até 80 % da mesma. Essas diferenças modificam as propriedades físicas dos amidos de tal forma que os vários tipos não podem ser intercambiáveis nas aplicações farmacêuticas (Cereda, 1996; Amidos: nativos, modificados e funcionais, 2000; Häusler, 2009). A Tabela 6 lista as diferentes fontes de amido e seus respectivos percentuais de amilose e temperatura de gelatinização.

Tabela 6. Percentual de amilose e temperatura de gelatinização nos amidos de diferentes fontes

Fonte de amido	Amilose (%)	Temperatura de gelatinização (°C)
Trigo	26	53 – 65
Cevada	22	56 – 62
Milho	28	62 – 70
Milho (alto teor de amilose)	51 – 65	67 – 87
Milho ceroso (alto teor de amilopectina)	1	63 – 72
Aveia	27	56 – 62
Arroz	18	61 – 78
Batata	23	58 – 66
Feijão	24	64 – 67
Ervilha	35	57 – 70
Mandioca	17 ^a	52 – 64

Fonte: Adaptado de Belitz e Grosh (1986). ^a Casas *et al.* (2009).

O percentual de amilose e amilopectina do grânulo irá influenciar no inchamento do mesmo e formação de gel. Amidos com alto percentual de amilopectina têm seus grânulos aumentados e inchados, mas não formam gel, mas sim, uma solução altamente viscosa e, ao

contrário da amilose, não têm tendência a retrogradação. Quanto maior o percentual de amilopectina, mais viscosa será a pasta de amido e quanto maior o teor de amilose, mais forte será o gel (Belitz e Grosh, 1986; Vaclavik e Christian, 2008).

Os tipos de amidos utilizados oficialmente como excipientes devem conter determinadas características. De acordo com Hoepfner (2002), os amidos, de diferentes fontes, devem seguir determinados padrões, como apresentado na Tabela 7, sendo que todos devem conter odor e sabor neutro.

Tabela 7. Padrões para os diferentes tipos de amidos utilizados como excipientes

Fonte	Cor	Umidade máx. (%)	Proteína máx. (%)	Gordura máx. (%)	Cinzas máx. (%)	SO ₂ máx. (mg)
Milho	Branco a amarelado	14	0,5	0,1	0,3	5
Trigo	Branco	14	0,5	0,1	0,3	5
Arroz	Branco a amarelado	14	0,5	0,1	1,0	50
Sorgo	Branco ou cinza	14	0,5	0,1	0,3	5
Batata	Branco	21	0,1	traços	0,5	5
Batata doce	Branco ou cinza	18	0,2	traços	0,3	5
Mandioca	Branco ou cinza	18	0,3	traços	0,5	5

Fonte: Hoepfner (2002)

As fontes botânicas que originam os amidos apresentam diferentes percentuais de amido. O milho mais comum (*Zea mays indentata*) é composto, em média, por 61,7 % de amido, 7,7 % de proteína e 3,3 % de lipídeos (Amidos: nativos, modificados e funcionais, 2000) enquanto que o pinhão é composto por aproximadamente 36 % de amido, 3,7 % de proteína e 1,26 % de lipídeos (b.u.) (Cordenunsi *et al.*, 2004).

Os grânulos de amido de várias fontes diferem quanto ao tamanho, variando de 2 a 150 µm. Sua forma pode ser circular ou poligonal (Vaclavik e Christian, 2008). A Tabela 8 mostra as características de forma e tamanho de grânulo de alguns amidos de diferentes fontes, bem como seu conteúdo de fosfatos, proteínas e lipídeos e tamanho de mercado mundial.

Tabela 8. Características morfológicas, conteúdo de fosfatos, proteínas e lipídeos de amidos de diferentes fontes e mercado mundial

	Milho	Trigo	Batata	Mandioca
Tipo	Cereal	Cereal	Tubérculo	Raiz
Forma do grânulo	Redondo, poligonal	Redondo, bimodal	Oval, esférico	Oval, trincado
Tamanho do grânulo (µm)	2-30	1-45	5-100	4-35
Fosfatos (% m/m)	0,02	0,06	0,08	0,01
Proteína (% m/m)	0,35	0,4	0,06	0,1
Lipídeo (% m/m)	0,7	0,8	0,05	0,1
Tamanho do mercado mundial (milhões de toneladas por ano)	39,4	4,1	2,6	2,5 ^a

^a Inclui outras fontes de amido minoritárias, como batata doce. Fonte: Joblin (2004)

Muitas vezes, para melhorar as características dos amidos nativos e sua aplicabilidade, a indústria farmacêutica faz modificações nos mesmos.

3.3.3. Amidos modificados

O amido é um polímero versátil e útil não apenas por ser um material natural e barato, mas também por sua facilidade em alterar suas propriedades físico-químicas através de modificações por tratamentos químicos ou físicos ou enzimáticos (Jobling, 2004).

As modificações feitas no amido podem ser de ordem física ou química e têm por finalidade originar novas propriedades ou corrigir características indesejáveis em relação às tecnologias já estabelecidas. Muitos desses amidos modificados podem ser, e em alguns casos são, preparados junto à própria unidade extratora (Cereda, 1996). Basicamente, existem quatro tipos gerais de modificação: química, física, enzimática e genética (Kaur *et al.*, 2012).

As modificações químicas das moléculas de amido geralmente são feitas através da derivação como, por exemplo, eterificação, esterificação e ligação cruzada, oxidação e adição de enxertos (*grafting*) ao amido. Podem ser feitas modificações químicas através de despolimerização com ácido, oxidação e hidrólise para maltodextrinas, xaropes de glicose entre outros (BeMiller, 1997). Recentemente foram estudadas novas formas de modificações químicas combinando diferentes tipos de tratamentos químicos para criar novos tipos de modificações. De modo similar também existem combinações com métodos físicos, como

micro-ondas, radiação e extrusão para produzir amidos modificados com propriedades funcionais específicas (Kaur *et al.*, 2012).

As modificações físicas podem ser usadas em processos que não permitam a presença de produtos químicos (Kaur *et al.*, 2012). As modificações físicas compreendem qualquer tratamento de amido sob ação do calor, pressão ou mecânica, no estado seco ou úmido (Cereda, Vilpoux e Demiate, 2003), sendo que a principal modificação física em amidos é a gelatinização (BeMiller, 1997). Entre os tratamentos físicos mais modernos pode-se citar o tratamento por pressão osmótica, ultra-congelamento, processo de queda de pressão instantaneamente controlada, micronização em moinhos de bolas a vácuo, tratamento por campo elétrico pulsado e amido superaquecido (Kaur *et al.*, 2012).

As modificações por meios enzimáticos englobam qualquer tratamento de amido utilizando pequenas quantidades de enzimas visando à obtenção de produtos solubilizados ou parcialmente hidrolisados (Cereda, Vilpoux e Demiate, 2003).

Além desses tipos de modificações ainda existem as modificações genéticas ou mutações, que utilizam as tecnologias de engenharia genética para fazer as modificações na planta de origem do amido, utilizando suas enzimas de biossíntese (Kaur *et al.*, 2012). As principais modificações genéticas ocorrem em relação ao teor de amilose/amilopectina no grânulo. A Tabela 9 ilustra os principais amidos modificados geneticamente e suas propriedades.

Tabela 9. Amidos geneticamente modificados e suas propriedades.

Modificação	Fonte do amido	Propriedades
Livre de amilose - ceroso	Milho comercial, cevada, sorgo, trigo, amaranto, batata doce, batata	- facilmente gelatinizável - pasta clara - estabilizante, espessante - emulsionante - melhora nos processos de congelamento e descongelamento
Amido com alto percentual de amilose	Milho comercial (50, 60 e 70% de amilose), cereais, batata	- alta força de gelificação - capacidade de formação de filme - amido resistente - adesivo
Alteração na estrutura da amilopectina	Batata, arroz	- baixas temperaturas de gelatinização (< 50 °C)

Fonte: Adaptado de Kaur *et al.* (2012).

Os amidos com alto teor de amilose, geneticamente modificados, podem conter em torno de 70 % desse componente. Esses amidos são similares morfológicamente, mas

apresentam propriedades que sugerem maior energia coesiva, como, por exemplo, sua temperatura de gelatinização em presença de água é aproximadamente 30 °C mais alta (Le Bail, Morin e Marchessault, 1999). Em contrapartida, amidos cerosos, isto é, que contém praticamente apenas amilopectina em sua estrutura, quando submetidos à retrogradação por ciclos de temperatura são capazes de fornecer uma estrutura matricial compacta que pode retardar efetivamente a liberação do fármaco (Yoon, Lee e Lim, 2009).

Existem vários estudos em relação a amidos modificados e derivados de amidos para utilização na indústria farmacêutica como, por exemplo, o carboximetil amido com alto teor de amilose (CMHAS, mais de 70 % amilose) que é capaz de controlar a liberação de moléculas ativas e agentes bioativos (Lemieux, Gosselin e Mateescu, 2009). Outro exemplo é o amido de milho ceroso enxertado com copolímeros de etil metacrilato, com caráter hidrofóbico, deixando o material mais amorfo, com tamanho de partícula maior, menor densidade aparente e menor conteúdo de água que os carboidratos. As propriedades desse derivado de amido sugerem que os comprimidos obtidos a partir desse excipiente podem ser usados na compressão direta com uso potencial para liberação controlada (Marinich, Ferrero e Jiménez-Castellanos, 2009). Outros autores também estudaram o desenvolvimento de excipientes a partir de amidos modificados (Mehta *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2011).

De acordo com De Kerf *et al.* (2001), tratamentos por irradiação podem fornecer uma maneira rápida e simples para modificar propriedades físicas, químicas e farmacêuticas de biopolímeros como o amido. Esses autores estudaram a exposição de amidos de milho, batata e milho pré-gelatinizado por *drum dryer* a tratamento por irradiação de raios-X e feixe de elétrons com doses de irradiação de 10, 50 e 100 kGy. Para a formação de comprimidos de α -lactose monoidratada contendo 5 % (m/m) de amido como desagregante, a solubilidade do amido aumentou, enquanto que a capacidade de inchamento diminuiu com o aumento da dose irradiada. O tratamento por irradiação causa a fragmentação da fração de amilopectina.

A pré-gelatinização do amido pode ser feita quimicamente e/ou mecanicamente processado com o objetivo de romper todos ou parte de seus grânulos. Tanto os amidos totalmente quanto os parcialmente pré-gelatinizados estão disponíveis comercialmente. A pré-gelatinização parcial torna o amido fluido e diretamente compressível enquanto que a pré-gelatinização completa produz um amido solúvel em água fria que pode ser usado como aglutinante em granulação seca. Geralmente, os amidos pré-gelatinizados contêm 5 % de amilose livre, 15 % de amilopectina livre e 80 % de amido não modificado (Kibbe, 2009). A

Farmacopeia dos Estados Unidos (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008) não especifica a origem botânica do amido nativo utilizado na pré-gelatinização, mas a Farmacopeia Europeia (*European Pharmacopoeia*, 2002) especifica que o amido pré-gelatinizado é obtido a partir dos amidos de milho, batata ou arroz. Normalmente, o amido pré-gelatinizado completamente contém de 20 a 30 % de amilose e o restante de amilopectina, que é aproximadamente a mesma proporção (1:3) que para a forma parcialmente pré-gelatinizada (Kibbe, 2009).

A preparação do amido pré-gelatinizado pode ser feita através da degradação enzimática, filtração e lavagem com etanol. Dessa forma, pode ser aplicado em sistemas de liberação controlada diretamente compressível com as vantagens de facilitar a preparação de comprimidos, manter a taxa de liberação constante (ordem zero) por um período extenso de tempo e ter a possibilidade de poder ser incorporado em altas percentagens de fármacos com diferentes propriedades físico-químicas (Te Wierik *et al.*, 1997). Outro método adequado de preparar o amido pré-gelatinizado para uso na fabricação de comprimidos é a partir da liofilização (Sánchez, Torrado e Lastres, 1995).

Dentre os amidos pré-gelatinizados comercialmente utilizados pode-se citar o Amido 1500, que é um amido de milho modificado fisicamente formando um pó que flui livremente com baixo conteúdo de água e que pode ser diretamente compressível para o uso em comprimidos (Hoepfner, 2002). Durante o processo de fabricação, algumas das ligações de hidrogênio entre amilose e amilopectina são parcialmente rompidas, fazendo com que o produto final tenha 5 % de amilose livre, 15 % de amilopectina livre e 80 % de amido não modificado. A amilose livre é responsável pelas propriedades de desintegração e a amilopectina livre fornece solubilidade em água fria e ajuda as propriedades de ligação (Bolhuis e Chowhan, 1996 *apud* Jivraj, Martini e Thomson, 2000). Esse amido pode ser misturado com ‘sílica pirogênica’ (Aerosil) e com celulose microcristalina objetivando uma melhora de fluxo. Para esse mesmo fim, adições de estearatos alcalinos devem ser menores que 0,25 % ou evitadas, sendo possível a adição de ácido esteárico (Hoepfner, 2002).

Apesar das diversas pesquisas realizadas e das diferentes modificações que os amidos podem sofrer, o amido pré-gelatinizado é ainda a modificação mais difundida para melhorar as características e aplicabilidade dos amidos na indústria farmacêutica. Por isso, será dada ênfase no processo de gelatinização.

3.3.3.1. Gelatinização

Os amidos pré-gelatinizados são aqueles que apresentam certa solubilidade em água fria. Os processos mais comumente utilizados para tal modificação são por rolos secadores, chamados *drum-dryers*, por extrusão e *spray-dryer* (Ciacco e Cruz, 1986; Vaclavik e Christian, 2008).

O processo de gelatinização ocorre em excesso de água com aquecimento. O aquecimento do amido em suspensão aquosa provoca a absorção de água pelo grânulo de amido. Essa absorção começa nas áreas menos densas e, posteriormente, nas regiões mais cristalinas. As pontes de hidrogênio são rompidas, desordenando o arranjo molecular dentro do grânulo. Os grupos hidroxila das unidades de glicose das áreas cristalinas são hidratados, inchando progressivamente o grânulo e a birrefringência é perdida. À medida que o grânulo continua expandindo, mais água é absorvida, a transparência aumenta, mais espaço é ocupado, o movimento passa a ser restrito e a viscosidade aumenta. O aquecimento maior com agitação permite a desintegração da estrutura do grânulo, a solubilização do amido e uma perda da viscosidade. Após resfriamento, as cadeias lineares se reassociam em agregados, precipitando e formando um gel. Fundamentalmente, a gelatinização do amido em vários meios é atribuída à afinidade química dos componentes do amido, particularmente os grupos hidroxilas, pelo solvente (Ciacco e Cruz, 1986; Amidos: nativos, modificados e funcionais, 2000; Jobling, 2004; Vaclavik e Christian, 2008).

A gelatinização ocorre em uma faixa de temperatura específica para cada tipo de amido e é influenciada pela quantidade de água presente e se há outros componentes presentes, como sal e açúcar (Eliasson e Tatham, 2001). No início dessa faixa de temperatura é que o grânulo começa a intumescer e a perder, simultaneamente, suas características de birrefringência, indicando alterações na estrutura cristalina. Devido às características individuais, nem todos os grânulos começam a inchar na mesma temperatura, sendo que, de acordo com Vaclavik e Christian (2008), os grânulos maiores incham antes que os menores. Este processo geralmente ocorre em uma faixa de temperatura de 10 °C e começa no início da perda da birrefringência até o ponto onde menos de 10 % da birrefringência ainda permanece. As forças de ligação dentro do grânulo e a espécie botânica de origem do amido influenciam na faixa de temperatura em que ocorre a gelatinização. O milho com alto teor de amilose, por exemplo, tem forças de ligação superiores às outras variedades de milho devido ao seu alto grau de linearidade dentro do grânulo. Por outro lado, a batata necessita de menos energia

para gelatinizar em função da presença dos grupos éster ortofosfatos que tendem a enfraquecer as ligações (Ciacco e Cruz, 1986; Amidos: nativos, modificados e funcionais, 2000).

Em resumo, as principais mudanças que ocorrem durante a gelatinização do amido são o aumento da superfície do grânulo devido à absorção de água, a perda da birrefringência, a diminuição da cristalinidade e a despolimerização das macromoléculas do amido e formação do gel. O inchamento do grânulo de amido e sua desintegração em aquecimento prolongado levam ao aumento da viscosidade e a mudanças em propriedades reológicas da pasta, que são características particulares a cada tipo de amido (Wurzburg, 1986 *apud* Silva *et al.*, 2003).

O comportamento do amido em água, quando aquecida, pode ser avaliado através de vários métodos. Entre os mais usados destacam-se a perda de birrefringência, o poder de inchamento e solubilidade e a viscosidade de pasta (Ciacco e Cruz, 1986). Para isso, pode-se observar a gelatinização por microscopia ótica com luz polarizada, microscopia eletrônica de varredura, técnicas de difração de raios-X, ressonância magnética nuclear, ressonância de elétrons spin e métodos reológicos (Eliasson e Tatham, 2001).

Atualmente, porém, o método mais utilizado para estudar a gelatinização do amido é por calorimetria diferencial de varredura, DSC (*Differential Scanning Calorimetry*). As características da endoterma gerada pela análise por DSC diferem de acordo com a origem botânica do amido, revelando valores diferentes para a faixa de temperatura de gelatinização, entalpia de gelatinização (ΔH) e aparência da endoterma (Eliasson e Tatham, 2001).

3.3.4. Aplicações de amidos nativos e modificados na indústria farmacêutica

O amido é um excipiente importante com uso potencial em vários sistemas de liberação de fármacos, onde o desejo do formulador pode ser atingido pelo destino ou proteção da liberação de agentes bioativos (Rodrigues e Emeje, 2012). O uso do amido tem as vantagens de possuir uma boa relação custo-benefício, são materiais renováveis e disponíveis em grandes quantidades, são relativamente puros, sem a necessidade de purificação intensa, como ocorre com outros polímeros naturais, como a celulose e as gomas, não são tóxicos e são biocompatíveis e biodegradáveis principalmente quando administrados por via oral (Dumoulin, Cartilier e Mateescu, 1999; Pifferi, Santoro e Pedrani, 1999; Demirgöz *et al.*, 2000; Rodrigues e Emeje, 2012).

Do ponto de vista farmacêutico, o amido é valorizado e largamente utilizado como excipiente para o uso em formas sólidas de dosagem oral, na preparação de comprimidos e cápsulas, onde tem sido utilizado como desagregante, diluente e aglutinante (Hoepfner, 2002; Jones, 2008; Häusler, 2009; Rodrigues e Emeje, 2012). A proporção de amido utilizada na fabricação dos comprimidos e cápsulas dependerá, normalmente, da função que o mesmo deverá desempenhar (Prista, Alves e Morgado, 1996).

O amido como um componente de comprimidos foi usado primeiramente como um material desagregante (Hoepfner, 2002), sendo um dos mais comumente utilizados para esse fim em concentrações de 3 a 25 % (m/m), tendo a maioria das aplicações em 15 % (Häusler, 2009). Segundo Prista, Alves e Morgado (1996), as recomendações para o uso do amido como desagregante ficam na faixa entre 5 e 15 %, apresentando bons resultados a 10 %. Entretanto, amidos nativos não têm boa compressão e tendem a aumentar a friabilidade se usados em altas concentrações (Häusler, 2009). Além disso, existe certa limitação para sua aplicação como desagregante em comprimidos de substâncias solúveis, uma vez que, na maioria das vezes, o tempo de desagregação aumenta proporcionalmente com a quantidade de amido adicionada. Uma alternativa a essa limitação é utilizar derivados de amido como desagregante em comprimidos (Prista, Alves e Morgado, 1996).

Os amidos aplicados em comprimidos com a função de diluente, classificados como diluente insolúvel, são responsáveis por originar comprimidos de peso adequado quando as substâncias ativas são empregadas em quantidades muito pequenas (Prista, Alves e Morgado, 1996), aumentando a massa do comprimido, tornando o processo de fabricação mais confiável e reprodutível (Jones, 2008). Pode ser usado também em preenchimento de cápsulas para ajustar o volume da matriz e para melhorar o fluxo dos pós, especialmente quando usados amidos secos. Quantidades de 3 a 10 % (m/m) de amido podem agir como antiaderente e lubrificante em preenchimento de cápsulas e comprimidos (Häusler, 2009).

Nas formulações de comprimidos, gomas de amido recentemente preparadas são usadas em concentrações de 3 a 20 % (m/m), mais usualmente de 5 a 10 %, dependendo do tipo de amido, em comprimidos granulados, como aglutinante (Häusler, 2009). De acordo com Prista, Alves e Morgado (1996), como aglutinantes, os amidos são utilizados na forma de cozimento na faixa de 10 a 30 %. Na realidade, a seleção da quantidade necessária deve ser determinada por estudos de otimização, usando parâmetros como friabilidade e dureza do comprimido, taxa de desagregação e taxa de dissolução do fármaco (Häusler, 2009).

Além do amido nativo, seus derivados também são considerados bons aglutinantes e aumentam a fluidez dos granulados para comprimidos mais do que os talcos, normalmente utilizados para esse fim. Por outro lado, não é considerado um lubrificante, e nesse aspecto o talco é superior. Os comprimidos fabricados com amido de batata são particularmente duros, mas também desagregam mais rapidamente. Amido de inhame (*Discorea rotundata*) ou mandioca (*Manihot utilissima*) podem ser usados sem dificuldade, por exemplo, em substituição ao amido de batata como material desagregante na fabricação de comprimidos. O inchamento do amido é decisivo para afetar e acelerar a desagregação de comprimidos. Entretanto, a diferença no tempo de desagregação é atribuída, principalmente, ao método de fabricação. Para que o amido seja um desagregante de comprimidos bem sucedido é necessário que esteja presente em forma de agregados em que apenas baixa pressão é utilizada e na presença de água (Hoepfner, 2002).

O amido, particularmente os pós finos dos amidos de arroz e trigo, pode ser aplicado em preparações tópicas por absorver líquidos. Pastas de amido são usadas em formulações de pomadas, normalmente na presença de grandes quantidades de glicerina. O amido de arroz pode ainda ser utilizado no tratamento de doenças diarreicas em crianças. Variedades específicas de amido com alto conteúdo de amilose (amido resistente) são utilizadas como fibras insolúveis em nutrição clínica e em aplicações na segmentação do cólon. Devido às suas temperaturas de gelatinização altas esses amidos podem ser utilizados em processos de extrusão. Amidos com alto teor de amilopectina (amido ceroso) são usados como matéria-prima para a síntese de hidroxietil amido, um expansor de volume plasmático (Häusler, 2009).

A partir dos amidos nativos são feitas modificações com intenção de melhorar sua aplicabilidade. O amido pré-gelatinizado, dentre as modificações existentes, é o mais utilizado. Esse amido tem as características de um pó moderadamente grosso para fino, de cor branca a quase branca utilizado como diluente em cápsulas, desagregante em cápsulas e comprimidos e aglutinante em comprimidos. É um pó sem odor e com características suaves de sabor. Em comparação com os amidos naturais, o amido parcialmente pré-gelatinizado pode ser produzido com fluxo aprimorado e características de compressão que permitem seu uso como aglutinante em comprimidos em processos de compressão seca ou compressão direta. Nesses processos, o amido pré-gelatinizado é auto-lubrificante. Entretanto, quando é usado com outros excipientes pode ser necessário adicionar algum lubrificante à formulação. Normalmente, 0,25 % (m/m) de estearato de magnésio é utilizado com essa finalidade;

concentrações maiores podem causar efeitos adversos na força e dissolução dos comprimidos. Assim, ácido esteárico é normalmente o lubrificante preferido para utilização com amido pré-gelatinizado (Kibbe, 2009). A Tabela 10 ilustra as aplicações e seus percentuais de uso do amido pré-gelatinizado.

Tabela 10. Utilizações do amido pré-gelatinizado.

Utilização	Concentração (%)
Diluyente (cápsulas de gelatina rígidas)	5 - 75
Aglutinante em comprimidos (compressão direta)	5 - 20
Aglutinante em comprimidos (granulação seca)	5 - 10
Desagregante em comprimidos	5 - 10

Fonte: Kibbe (2009).

Adedokun e Itiola (2010) estudaram as propriedades e características de compactação de quatro tipos de amidos nativos e pré-gelatinizados: mandioca branca e amarela, arroz e milho. Estes autores concluíram que os amidos pré-gelatinizados exibiram menor viscosidade, maior densificação durante a compressão e necessitaram de uma menor pressão. Além disso, os comprimidos formados a partir dos amidos pré-gelatinizados apresentaram valores menores de força de tensão e maior resistência.

Recentemente o uso do amido em nanotecnologia tem feito avanços significantes em aplicações biomédicas, incluindo novas técnicas de liberação de medicamentos. Nesse contexto, existe um esforço em desenvolver nanopartículas biodegradáveis como um sistema de liberação de drogas efetivo. O fato de o amido ser barato, não-tóxico, renovável, biodegradável e compatível com muitos outros materiais usados para aplicações industriais atrai o interesse de cientistas (Rodrigues e Emeje, 2012).

De modo geral os amidos são utilizados em todos os países e seu consumo aumenta conforme o grau de desenvolvimento. Pode-se caracterizar a situação do setor do amido em dois fatores principais: novos reagentes químicos ou derivados dificilmente serão aprovados para uso e, nos amidos existentes, os limites permitidos de tratamentos químicos para modificação permanecerão iguais. Essas restrições acontecem para proteger o consumidor, o meio ambiente, garantir a segurança do trabalho e manter a economia nos custos de produção (BeMiller, 1997). Por isso, as indústrias se interessam em identificar e desenvolver espécies

que produzam amidos nativos, com características especiais. Esses amidos poderiam substituir os amidos quimicamente modificados ou abrir novos mercados para amidos (Kim *et al.*, 1995). Dessa forma, o estudo da utilização do amido de pinhão como excipiente pode abrir novos mercados para amidos com a utilização de um produto regional pouco aproveitado.

A versatilidade dos amidos implica na necessidade de continuar a desenvolver novos excipientes a partir do amido, com propriedades adequadas para atender as necessidades especiais dos formuladores de medicamentos e as demandas de novas formulações (Adedokun e Itiola, 2010).

3.3.4.1. Características do amido nativo e pré-gelatinizado para uso em fármacos

Na caracterização das propriedades típicas dos amidos é importante avaliar o pH, compressibilidade, densidade, fluxo, temperatura de gelatinização, conteúdo de umidade, tamanho de partícula e distribuição de tamanhos, solubilidade, área superficial específica e viscosidade. A Tabela 11 apresenta essas características de amidos utilizados como excipientes, conforme a variedade botânica.

A identificação do amido pré-gelatinizado pode ser feita quando é analisado em solução com água fria em microscópio com luz polarizada. A visualização não revela a birrefringência característica dos grânulos nativos, isto é, não se consegue ver a cruz de Malta. Quando o amido é pré-gelatinizado parcialmente, pode-se ver alguns grânulos com características de birrefringência (Kibbe, 2009).

Os amidos pré-gelatinizados possuem pH que pode variar de 4,5 a 7,0 quando medidos em uma dispersão aquosa a 10 % (m/v). Seu fluxo pode ser avaliado através do ângulo de repouso, que é de aproximadamente 40,7 ° e pelo índice de Carr, que pode variar de 18 a 23 %. A densidade aparente se aproxima de 0,586 g/cm³ enquanto que a densidade compactada pode atingir valores de 0,879 g/cm³. A distribuição de tamanho de partícula varia de 30 a 150 µm, sendo o diâmetro médio por volta de 52 µm. Para os amidos parcialmente pré-gelatinizados, mais de 90 % dos grânulos passam pelas peneiras de 100 Mesh (149 µm) e menos de 0,5 % ficam retidas em peneiras de 40 Mesh (420 µm). Os amidos pré-gelatinizados são praticamente insolúveis em solventes orgânicos e ligeiramente solúvel a solúvel em água

fria, dependendo do grau de pré-gelatinização. A solubilidade em água fria de amidos parcialmente pré-gelatinizados é de 10 a 20 % (Kibbe, 2009).

Tabela 11. Propriedades típicas dos amidos nativos de diferentes fontes utilizados como excipiente farmacêutico

Característica	Milho	Batata	Trigo	Mandioca	Arroz
pH	5,5 a 6,5 em dispersão aquosa de 2 % (m/v) a 25 °C	NE	NE	NE	NE
Dispersões aquosas de amido normalmente têm pH entre 4,0 e 8,0					
Teor de amilose	24 – 28 %	20 – 23 %	24 – 28 %	17 – 20 %	NE
Densidade aparente	0,45-0,58 g/cm ³	0,56-0,82 g/cm ³	~0,50 g/cm ³	NE	NE
Densidade de compactação	0,69-0,77 g/cm ³	0,80-0,90 g/cm ³	~0,76 g/cm ³	NE	NE
Fluidez	10,8 a 11,7 g/s 30 % (índice de Carr) Pó coesivo e características pobres de fluxo	NE	NE	NE	NE
Amidos comerciais são normalmente coesivos e têm características pobres de fluxo. As propriedades de fluxo dependem exclusivamente do percentual de umidade, e a secagem pode resultar em um material de fluxo livre					
Temperatura de Gelatinização	71 °C	64 °C	59 °C	NE	68 °C
Umidade	12 %	18 %	13 %	NE	14 %
Distribuição de tamanho de partículas	2 a 32 µm Diâmetro médio: 13 µm	10 a 100 µm Diâmetro médio: 46 µm	2 a 45 µm Diâmetro médio: 23 µm	5 a 35 µm Diâmetro médio: 13 µm	2 a 20 µm Diâmetro médio: 5 µm
Solubilidade	Praticamente insolúvel em etanol frio (95 %) e água fria. Incha imediatamente em água em aproximadamente 5 a 10 % e 37 °C.				
Área superficial específica	0,40-0,54 m ² /g	0,12 m ² /g	0,27-0,31 m ² /g	NE	NE

Fonte: Adaptado de Rowley (2003) e Häusler (2009).

NE: não especificado

Capítulo 4 - Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) e no Laboratório de Tecnologia Química (LATEQ) do Departamento de Engenharia Química da UFRGS, no Laboratório de Microscopia do Departamento de Análises e no Laboratório do Grupo de Pesquisa de Sistemas Farmacêuticos Nanoestruturados da Faculdade de Farmácia da UFRGS, no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, na sala de equipamentos E-217 do Setor de Química Orgânica Experimental do Instituto de Química da UFRGS e no Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS.

4.1. Matéria-Prima e reagentes

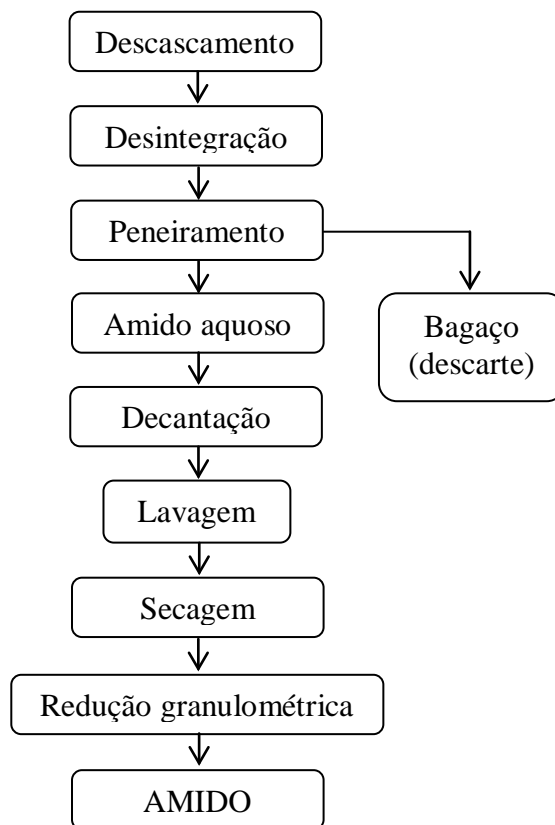
As sementes de pinhão (*Araucaria angustifolia*) foram obtidas em mercado local (Porto Alegre, RS), selecionadas, lavadas em água corrente, secas a temperatura ambiente por 24 h, colocadas em sacos de polietileno de 2 kg e armazenadas em freezer doméstico (aproximadamente -15 °C). Foram utilizados pinhões da safra de 2011, utilizando sementes *in natura* e cozidas.

O amido de milho grau farmacêutico utilizado para comparação com as amostras foi obtido da Importadora Química Delaware (Porto Alegre, RS, Brasil), de lote 100211, os reagentes químicos foram obtidos das empresas Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil) e Impex (Diadema, SP, Brasil).

4.2. Extração do amido de pinhão nativo

A extração do amido de pinhão nativo foi realizada utilizando água como solvente, de acordo com a metodologia proposta por Thys (2009), demonstrada na Figura 9. As sementes foram descascadas manualmente com o auxílio de uma faca, tendo o cuidado de retirar a casca interna e em seguida foram desintegradas em liquidificador doméstico com água fria (5 ± 1 °C), na proporção 1:2, por 1,5 min. Após a desintegração o material foi filtrado em peneira de aço (Mesh Tyler nº 100 – abertura de 0,152 mm), sendo o permeado lavado quatro vezes em água a 5 ± 1 °C. Após cada lavagem, uma etapa de decantação (por 50 min.), sob refrigeração (5 ± 1 °C) foi realizada. Finalmente, o amido extraído foi seco em estufa a 40 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) até obter umidade menor que 10 % (aproximadamente 48 h), medida de acordo com o método descrito no item 4.5. O amido seco foi triturado em liquidificador doméstico e peneirado (Mesh Tyler nº 100).

Figura 9. Fluxograma da extração do amido de pinhão nativo

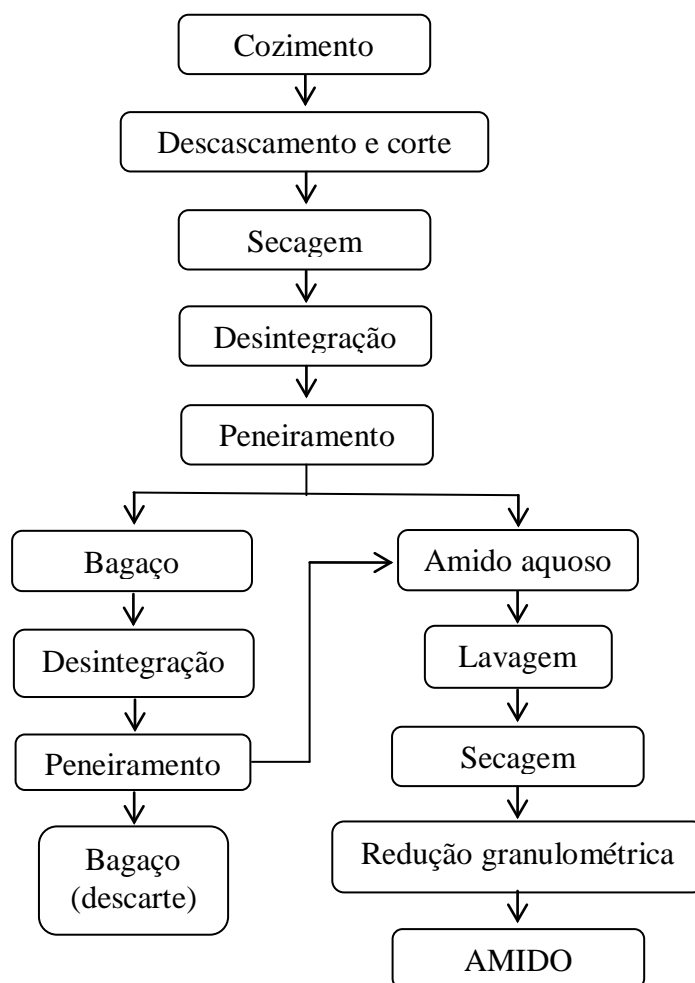


4.3. Extração do amido de pinhão cozido

A extração do amido de pinhão após cozimento foi feita com o intuito de obter um amido pré-gelatinizado, facilitar o descascamento e aproveitar os compostos fenólicos que

migram da casca para a semente durante o cozimento. Para isso, foi adaptado o protocolo de extração realizado para extração do amido de pinhão nativo, esquematizado na Figura 10. O pinhão com casca foi cozido em água na proporção 1:2 no interior de uma autoclave a 120 °C por 15 min. Após cozido, o pinhão foi descascado, cortado em pedaços e submetido à secagem em estufa a 40 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) por 24 h. O pinhão seco foi desintegrado em liquidificador doméstico com adição de água na proporção 1:2, por 1,5 min. e passado por peneira (Mesh Tyler nº 100), repetindo o processo de desintegração com o material retido. O permeado foi lavado duas vezes em água, a 5 ± 1 °C e após cada lavagem, uma etapa de decantação (por 1 h), sob refrigeração (5 ± 1 °C) foi realizada. Finalmente, o amido extraído foi seco em estufa a 40 °C até obter umidade menor que 10 % (aproximadamente 36 horas) e após resfriamento foi triturado em liquidificador doméstico (para a redução da granulometria) e peneirado utilizando uma peneira Mesh Tyler nº 60 (abertura de 0,251 mm).

Figura 10. Fluxograma da extração do amido de pinhão cozido



4.4. Rendimento dos métodos de extração

O rendimento da extração, para o amido de pinhão nativo e amido de pinhão cozido foi calculado de acordo com a Equação 2. Considerou-se como massa inicial a massa do pinhão descascado.

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{massa do amido seco (g)}}{\text{massa do pinhão sem casca (g)}} \right) \times 100 \quad (2)$$

4.5. Teor de amido

Após a extração do amido de pinhão nativo e amido de pinhão cozido, foi realizada análise do teor de amido para verificação da eficiência da extração e, conseqüentemente, sua pureza. Além dos amidos extraídos a partir do pinhão, a análise foi feita com o amido de milho farmacêutico para fins comparativos. A quantificação foi realizada através da metodologia para análise de amido do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolfo Lutz, 1985). A análise tem como princípio a detecção da glicose, pelo método de Lane-Eynon, produzida através de hidrólise da molécula de amido presente na amostra, em meio ácido a 120 °C (autoclave). Baseia-se na redução de um volume conhecido de um reagente de cobre alcalino (Fehling) a óxido cuproso. O ponto final é indicado pelo azul de metileno, que é reduzido a sua forma leuco por um pequeno excesso de açúcar redutor. O resultado foi expresso em percentual de amido em base seca (b.s.).

4.6. Caracterização das amostras

4.6.1. Medida de pH

O pH das amostras foi medido em pHmetro digital (Tec-3M, Tecnal, Brasil) utilizando dispersão aquosa de 2 % (m/v) em temperatura ambiente, conforme Rowley (2003). Após a preparação da solução aquosa, as mesmas foram agitadas com agitador magnético (ARE, Velp Scientifica, Itália) para evitar que o amido sedimentasse durante as medidas. O pHmetro foi calibrado utilizando soluções tampões de pH 7,0 e 4,0.

4.6.2. Conteúdo de umidade

O conteúdo de umidade foi calculado através da perda de massa após o aquecimento da amostra a 105 °C, de acordo com o método padrão de análise número 945.15 da AOAC (1990). Foram pesadas cerca de 5 g de amostra em cápsulas de alumínio, secas em estufa a 105 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) por 3 h, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente por 30 min. e finalmente pesadas. O procedimento foi repetido até a obtenção de peso constante e o percentual de umidade foi calculado pela diferença de massa da amostra.

4.6.3. Solubilidade

A solubilidade das amostras em água fria (25 ± 1 °C) foi avaliada utilizando o método descrito por Odeku, Schmid e Picker-Freyer (2008), com algumas modificações. As suspensões de amido (1 %, m/m) foram preparadas e colocadas em banho termostático (Q226M2, Quimis, Brasil) a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) por 30 min., com agitação a cada 5 min. e centrifugadas por 15 min. a 3000 g em centrífuga refrigerada (CT5000R, Cientec, Brasil) a 25 °C. Foi retirada uma alíquota de 10 mL do sobrenadante e a mesma foi seca em estufa a 105 °C (A3 DG Temp, De Leo, Brasil) até massa constante. A solubilidade foi calculada como massa (g) de amostra em base seca por 100 mL de água.

Os amidos estudados no presente trabalho foram classificados qualitativamente conforme a classificação da Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010). Essa classificação designa *partes* como sendo a dissolução de 1 g de um sólido no número de mililitros do solvente utilizado (água à 25 °C). A Tabela 12 apresenta as inter-relações entre esses termos e a solubilidade aproximada.

Tabela 12. Termos descritivos de solubilidade e seus significados.

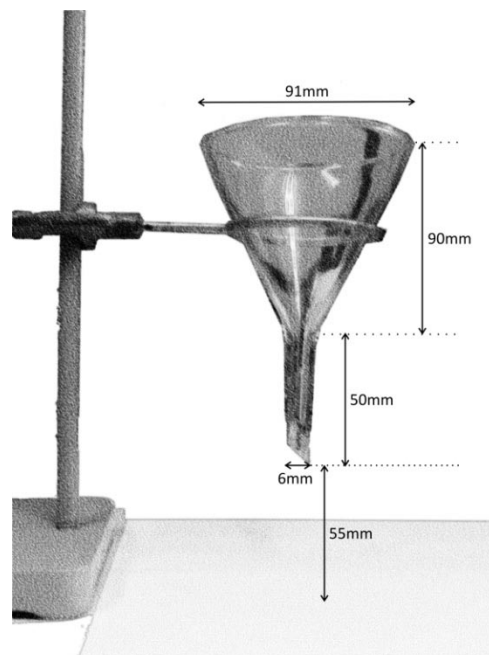
Solubilidade	Termo descritivo (em quantas partes de água dissolve 1 g do soluto)
Muito solúvel	menos de 1 parte
Facilmente solúvel	de 1 a 10 partes
Solúvel	de 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	de 30 a 100 partes
Pouco solúvel	de 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	de 1000 a 10000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	mais de 10000 partes

Fonte: Adaptado de Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010)

4.6.4. Determinação do ângulo de repouso

O ângulo de repouso foi determinado utilizando um aparato conforme a Figura 11. Os resultados dos testes do ângulo de repouso tendem a ser dependentes do método utilizado, gerando algumas dificuldades experimentais que podem surgir como resultado da segregação de materiais e de consolidação ou aeração do pó da forma como o cone é formado (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary, 2008*). Para minimizar essas dificuldades, padronizou-se o método, utilizando sempre o mesmo funil, com medidas conforme a Figura 11, distância da queda, fixada em 55 mm e a massa de amostra padronizada em 10 g. Após passar pelo funil, foram tiradas fotografias dos pós, tendo o cuidado de utilizar sempre a mesma distância entre a máquina e a pilha de pó formada, tirando-se quatro fotografias de cada análise, de quatro lados diferentes das pilhas. O cálculo do ângulo foi realizado utilizando a equação 1 do item 3.2.4.1., através das medidas feitas na fotografia no computador.

Figura 11. Aparato utilizado para avaliação do ângulo de repouso e medidas do funil através do qual escoaram os pós



4.6.5. Determinação das densidades bruta e de compactação

As densidades bruta e de compactação foram medidas pelo método USP <616> (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary, 2008*), com algumas modificações. Foram utilizadas provetas de 50 mL e a quantidade de pó inserido na mesma

foi tal que ocupasse aproximadamente 50 % da capacidade do volume total. Os pós foram então pesados e a leitura do volume aparente foi efetuada. Para determinar o volume de compactação submeteu-se o pó a 1.250 quedas, a uma altura de 3 mm, segundo norma DIN 53.194. As quedas foram feitas manualmente a uma velocidade de aproximadamente 150 quedas por minuto. As densidades bruta e de compactação foram calculadas pelas equações 3 e 4, respectivamente.

$$db = \frac{m}{Vb} \quad (3)$$

$$dc = \frac{m}{Vc} \quad (4)$$

onde db é a densidade bruta, dc é a densidade de compactação, m é a massa da amostra, Vb é o volume bruto e Vc é o volume de compactação.

4.6.6. Determinação do Índice de Carr e Fator de Hausner

Com as medidas de densidade bruta e de compactação foi possível calcular o Índice de Carr (Carr, 1965) e o Fator de Hausner (Hausner, 1967), conforme as equações 5 e 6, respectivamente, sendo interpretadas pelo método USP <1174> (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008). Esses parâmetros ajudam na determinação de quanto um material pode ser compressível e na avaliação de fluxo:

$$IC = \frac{dc - db}{dc} \times 100 \quad (5)$$

$$FH = \frac{dc}{db} \quad (6)$$

4.6.7. Determinação de compostos fenólicos

A extração dos compostos fenólicos das amostras foi realizada de acordo com Cladera-Olivera (2008), com algumas modificações. Foi usado metanol puro como solvente em banho-maria de água a 50 °C por 30 min., com agitação a 125 rpm em banho termostático

(Q226M2, Quimis, Brasil). O extrato foi centrifugado por 15 min., a 4 °C, a 5200 g em centrífuga refrigerada (CT5000R, Cientec, Brasil) e filtrado em seguida.

Os fenólicos totais no extrato foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por Singleton e Rossi (1965), com algumas modificações. Foram adicionados em tubo Falcon 40 µL do extrato (amostra), 3,2 mL de água destilada e 200 µL de reagente de Folin-Ciocalteu. A mistura foi agitada e deixada ao abrigo da luz por 5 min. Após, foi adicionado 600 µL de solução saturada de carbonato de sódio (17 %). A reação ocorreu em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 1,5 h. Catecol foi usado como padrão e os resultados foram expressos como massa de catecol equivalente (mg CE) por massa (g) de amostra. A absorvância foi determinada em comprimento de onda 750 nm (Cordenunsi *et al.*, 2004) em espectrofotômetro (UV-1600, Pró-Análise, Brasil).

4.6.8. Tamanho de partícula e distribuição de tamanhos

O tamanho de partículas foi analisado através da avaliação do diâmetro de partícula por difração de laser (Malvern 2000 Mastersizer, Malvern Instruments, Reino Unido) em meio seco. Foi selecionado o valor de 1,53 como o valor de índice de refração referência para amido. A distribuição de tamanho de partícula foi avaliada a partir do SPAN (equação 7), onde $d_{0,1}$, $d_{0,5}$ e $d_{0,9}$ são os diâmetros das partículas determinados em 10 %, 50 % e 90 % da distribuição dos volumes acumulados, respectivamente. Os cálculos para distribuição de tamanho de partículas foram baseados na teoria de Mie-Scattering e o diâmetro médio calculado foi baseado no volume (D[4,3]). Todas as medidas foram realizadas em triplicata e os resultados foram analisados pela distribuição volumétrica.

$$SPAN = \frac{d_{0,9} - d_{0,1}}{d_{0,5}} \quad (7)$$

4.6.9. Microscopia Óptica

A microscopia ótica dos pós foi realizada utilizando um microscópio ótico da marca Olympus CX 40 (Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japão). As amostras foram preparadas através da dispersão dos amidos em solução de glicerol a 10% conforme Stahl *et al.* (2007), e

colocadas sobre lâminas de microscópio. A seguir, foram cobertas com uma lamínula e após uma hora de repouso foram observadas ao microscópio.

Para verificação da birrefringência ou não dos grânulos, as lâminas foram visualizadas em um microscópio ótico binocular Olympus BX41 (Olimpus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japão) com luz polarizada. Para capturar a imagem foi utilizada uma câmera não digital acoplada ao microscópio, utilizando um filme comercial colorido (Kodak, Asa 400).

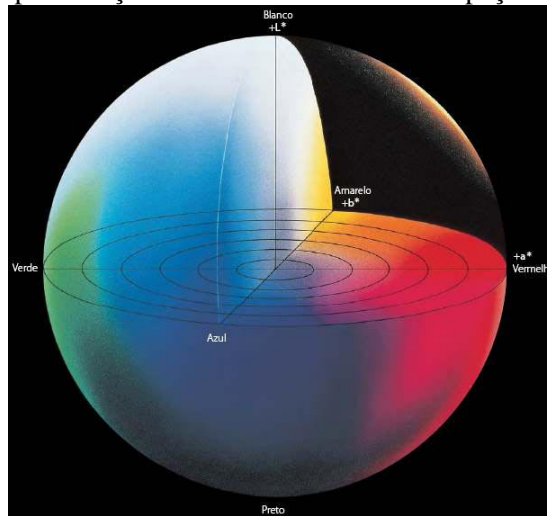
4.6.10. Microscopia Eletrônica de Varredura

Para visualizar as características e mudanças morfológicas do amido de pinhão nativo e cozido e amido de milho foi empregada a técnica da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um microscópio JEOL JSM-6060 (Jeol, Tóquio, Japão). Para tanto, as amostras foram anexadas em stubs de 2,54 cm de diâmetro usando uma fita dupla face de carbono e recobertas com ouro. As fotomicrografias foram feitas nas magnitudes de 1500 x para os amidos de milho farmacêutico e nativo de pinhão e 150 x para o amido de pinhão cozido, usando aceleração potencial de 10 kV. Foram utilizadas magnitudes diferentes em função da diferença de tamanho de partículas, para melhor visualização das diferenças e distribuição de tamanhos.

4.6.11. Análise colorimétrica

A cor dos pós foi medida em colorímetro (Chroma Meter CR-400, Konica Minolta®, Japão). Os parâmetros colorimétricos L^* , a^* e b^* da escala CIELAB, determinados pela *Comission International de l'Eclairage* (CIE) (Minolta, 1998) foram obtidos através do espectro de refletância da amostra. No espaço de cores $L^*a^*b^*$, o L^* indica a luminosidade, e o a^* e o b^* representam as coordenadas cromáticas. Os valores de L^* variam de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). A coordenada de cromaticidade a^* varia de -80 (verde) a +100 (vermelho) e a coordenada de cromaticidade b^* varia de -50 (azul) a +70 (amarelo). A Figura 12 representa um sólido de cor no espaço de cor $L^*a^*b^*$ (Minolta, 1998).

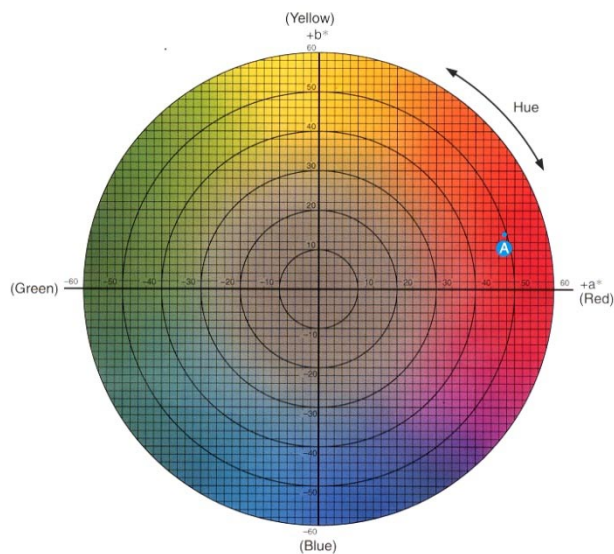
Figura 12. Representação de um sólido de cor no Espaço de Cor $L^*a^*b^*$.



Fonte: Minolta (1998).

A Figura 13 mostra o diagrama de cromaticidade a^*b^* . A partir desse diagrama, podem-se obter as direções das cores, sendo que $+a^*$ indica a direção vermelho enquanto que $-a^*$ indica a direção verde. Da mesma forma, $+b^*$ indica a direção do amarelo e $-b^*$, a direção do azul e o centro é acromático. A partir dos valores a^* e b^* , pode-se calcular a distância da coordenada (a,b) em relação a sua origem $(0,0)$, o que é conhecido por cromaticidade ou Chroma (C^*) e o ângulo de tonalidade h , que é medido em uma escala de 0 a 360°, determinando a localização correta da amostra em questão no espaço de cor (Minolta, 1998). Os valores de C^* e h foram calculados conforme as equações 8 e 9, respectivamente.

Figura 13. Diagrama de cromaticidade a^*b^* .



Fonte: Minolta (1998).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (8)$$

$$h = \operatorname{tg}^{-1}\left(\frac{a^*}{b^*}\right) \quad (9)$$

4.6.12. Difração de raios-X

A cristalinidade do grânulo foi determinada através do difratômetro de raios-X (D2 Phaser, Bruker, Alemanha), operando a 30 kV e 10 W. As amostras foram analisadas em pó, colocando-as diretamente no porta-amostra e a radiação monocromática de Cu/K (alpha) foi utilizada. A varredura foi feita conforme Thys et al. (2008), entre $2\theta = 4$ e 40° .

4.6.13. Análise térmica

A análise térmica dos amidos de pinhão nativo e de milho farmacêutico foi realizada através de calorimetria diferencial de varredura (DSC 6000, Perkin Elmer, Estados Unidos) para verificação da temperatura de gelatinização e entalpia de gelatinização, de acordo com Beninca (2008), com algumas modificações. Para isso, suspensões de amido em água destilada na proporção 1:4 (m/v) foram preparadas e deixadas duas horas em repouso para estabilizar. Após esse período, as amostras foram homogeneizadas manualmente, em função da precipitação natural que ocorre, e 6 a 10 mg de amostra foram dispostos em pequenos suportes metálicos e selados hermeticamente. As amostras ficaram em repouso de um dia para outro em dessecador antes do aquecimento no DSC. O equipamento foi calibrado com massa conhecida de Índio (In) em um suporte metálico idêntico aos utilizados para conter as amostras. As amostras foram aquecidas de 25 a 100 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹. Foi utilizado Argônio como gás de purga e um suporte vazio foi utilizado como referência. A entalpia de gelatinização (ΔH_g , expressa em J.g⁻¹) foi obtida através da integração da curva endotérmica obtida pelo equipamento baseado na massa de amido em base seca utilizada na análise. As temperaturas iniciais e finais, bem como a temperatura de gelatinização (T_0 , T_f e T_g , respectivamente) foram obtidas através do termograma gerado automaticamente pelo equipamento.

As medidas para o amido nativo de pinhão foram realizadas em três dias diferentes: no dia que terminou a extração, considerado como dia 0 e nos 7º e 14º dias depois da extração para verificar se há alteração conforme o tempo de estocagem. A fim de minimizar a interferência da umidade nas medidas, os pós foram secos a 105 °C por duas horas para retirada de umidade.

Capítulo 5 - Resultados e Discussão

5.1. Rendimento dos métodos de extração

A extração dos amidos de pinhão teve rendimento de $41,33 \pm 1,51$ % para o amido de pinhão nativo (APN) e de $1,46 \pm 0,15$ % para o amido de pinhão cozido (APC), sendo o cálculo realizado utilizando a equação 2. O cálculo não considerou a massa da casca do pinhão.

O rendimento de extração do amido de pinhão nativo foi semelhante ao encontrado por Thys (2009), $42,97 \pm 1,46$ %, em seu protocolo de extração com água. Outros autores, estudando a extração do amido de pinhão, encontraram valores diferentes. Wosiacki e Cereda (1985) reportaram um rendimento de extração de 21,89 % da massa inicial da semente com casca, utilizando solução de hidróxido de sódio (0,15 e 0,1 %) e etanol durante a extração para purificação. Henríquez *et al.* (2008) atingiram rendimento de extração do amido de pinhão (semente da variedade presente no Chile, *Araucaria araucana*) de 35,9 %. O maior rendimento relatado, no entanto, foi o do trabalho de Bello-Pérez *et al.* (2006), que atingiram um percentual de rendimento de extração de cerca de 70 %. Os autores desse último trabalho mencionado realizaram a trituração do amido com água duas vezes, realizando a filtração em peneira de nylon 100, com subsequente centrifugação, lavagem com água fria e secagem em estufa a 37 °C, por 24 h.

Em comparação com os rendimentos de extração dos amidos obtidos a partir da mandioca, de $20,64 \pm 1,76$ a $33,25 \pm 4,07$ %, conforme a variedade (Nunes, Santos e Cruz, 2009), milho, $24,83 \pm 4,44$ % (Cardoso, Jasco e Demiate, 2011), inhame, cerca de 17 % e batata doce, 13 % (Moorthy, 1991), pode-se confirmar o potencial da semente de pinhão como fonte de amido.

Na extração do amido de pinhão cozido, o rendimento alcançado foi muito baixo e pode ser explicado pela modificação que ocorre no grânulo. O cozimento em autoclave, na presença de água, gelatiniza parte ou todo o amido da semente, fazendo com que os grânulos fiquem intumescidos, absorvam maior conteúdo de água e se solubilizem mais facilmente. Como a extração foi feita utilizando apenas água fria como solvente, é possível que o amido tenha solubilizado parcialmente, sendo descartado com outros nutrientes, afetando também o percentual de amido final. Outra possibilidade para aumentar o rendimento seria utilizar esse amido solubilizado através de secagem e posterior purificação para retirada de outros compostos.

5.2. Teor de amido

A análise do teor de amido foi realizada para verificar a eficiência do método de extração do amido e, conseqüentemente, sua pureza. Os amidos nativos apresentaram valores acima de 90 % em base seca, sendo que o amido de milho (AMF) possui teor de amido de praticamente 100 %, o que já era esperado em função de se tratar de um amido grau farmacêutico. A Tabela 13 indica os valores de conteúdo de amido das amostras analisadas.

Tabela 13. Conteúdo de amido das amostras.

Amostra	Amido (g/100g) (b.s.)*
APN	94,53 ± 0,13 ^b
APC	73,84 ± 0,79 ^c
AMF	99,94 ± 0,19 ^a

*Média de duas repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c}Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

O resultado obtido para o amido de pinhão nativo (APN) demonstra que a extração foi eficiente e que o grau de pureza é considerado alto quando comparado com estudos anteriores realizados com amido de pinhão. Thys *et al.* (2010) encontraram percentual de amido de 69 % (b.s.) no amido de pinhão estudado enquanto que Bello Pérez *et al.* (2006) e Wosiacki e Cereda (1985) relataram valores de aproximadamente 86 % (b.u.) (aproximadamente 98 % em base seca). Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de os autores utilizarem diferentes protocolos e matérias-primas de diferentes regiões e safras.

O resultado encontrado para o teor de amido na extração a partir do pinhão cozido (APC) foi menor que o encontrado para os amidos nativos. Isso ocorre, provavelmente, porque o amido de pinhão após cozimento torna-se mais solúvel e pode ser carregado durante as lavagens para retirar outros compostos, fazendo com que a extração com água fria não seja tão adequada como é para o amido nativo.

Os amidos podem estar associados a três categorias diferentes de materiais, chamados componentes minoritários. Essas categorias englobam material particulado, composto principalmente por fragmentos de parede celular, componentes internos e de superfície, sendo esses últimos normalmente removíveis pelo processo de extração. Os componentes de superfície podem ser lipídeos (a fração mais importante associada aos grânulos de amido), proteínas, enzimas, aminoácidos e ácidos nucleicos (Buléon *et al.*, 1998).

Na caracterização físico-química do amido de pinhão (safras 2006 e 2007, comprado em mercado local de Porto Alegre, RS, Brasil), Thys (2009) encontrou 0,35 % de proteína e 0,47 % de lipídeos através de extração com água. Em relação ao teor protéico o amido de milho apresenta um percentual maior, de 0,43 % (Stahl *et al.*, 2007). Henríquez *et al.* (2008) encontraram como componentes minoritários 0,34 % de lipídeos, 0,94 % de proteínas e 1,19 % de fibra bruta no amido de pinhão (semente da variedade *Araucaria araucana*). Esse mesmo autor encontrou $77,17 \pm 1,01$ % de amido em base seca, fazendo a extração com água e posterior lavagem com solução de hidróxido de sódio (2 %, m/v) para solubilização das proteínas, semelhante ao encontrado neste trabalho.

De modo geral, o conteúdo de proteína nos amidos é da ordem de 0,1 a 0,7 % em massa e os lipídeos são encontrados em quantidades baixas, até 1,5 % em muitos amidos, principalmente em amidos de cereais, na forma de ácidos graxos livres e fosfolipídeos. Os amidos podem conter ainda fósforo na forma de fosfolipídeos e como monoésteres de fosfato (Pérez e Bertoft, 2010).

5.3. Caracterização das amostras

5.3.1. pH

Os amidos utilizados na indústria farmacêutica apresentam valores de pH, normalmente, na faixa de 4 a 8 (Häusler, 2009) e para o amido de milho, de 5,5 a 6,5 (Rowley, 2003). Para os amidos pré-gelatinizados, a faixa de pH, de acordo com Kibbe

(2009), está entre 4,5 e 7,0. Os valores de pH encontrados para os amidos extraídos e o amido de milho estão na Tabela 14. Todas as amostras foram medidas em solução 2 % (m/m) a 25 °C.

Tabela 14. Valores de pH das amostras.

Amostra	pH*
APN	6,85 ± 0,10 ^a
APC	6,33 ± 0,03 ^b
AMF	5,22 ± 0,02 ^c

*Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Como se pode perceber, os amidos de milho e de pinhão cozido apresentam pH ligeiramente ácido, enquanto que o amido de pinhão nativo pode ser considerado como pH neutro. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010) as amostras AMF e APC são classificadas como fracamente ácidas (faixa de pH entre 4,0 e 6,6), enquanto que a amostra APN, com pH 6,85 pode ser classificada como neutra.

A maioria dos alimentos apresenta valores de pH em uma faixa entre 4 e 7 (Fennema, 2000). Henríquez *et al.* (2008) em seu trabalho com amido de pinhão (semente da *Araucaria araucana*) encontraram pH de 5,9, menor que o encontrado no presente trabalho. Valores similares foram encontrados para os amidos de mandioca, 5,9, batata, 5,8 e batata doce, 5,7 (Takizawa *et al.*, 2004). Para o amido de milho, Pérez-Sira (1997) encontrou pH de 5,6, semelhante ao pH encontrado no presente trabalho.

O pH é uma característica importante a ser conhecida para determinar o grau de ionização do composto, o que pode influenciar na solubilidade e disponibilidade dos fármacos no organismo humano. O pH pode ser ainda um determinante importante na estabilidade de um fármaco propenso à decomposição hidrolítica. A hidrólise da maioria dos fármacos depende das concentrações relativas dos íons hidroxila e hidrônio, e cada fármaco apresenta sua estabilidade ideal em um determinado pH, normalmente entre 5 e 6 (para a maioria dos fármacos hidrolizáveis). Os excipientes devem ser compatíveis com a estabilidade do fármaco para não prejudicar a forma farmacêutica final (Ansel, Popovich e Allen Jr., 2000). Assim, o conhecimento do pH dos excipientes utilizados pode auxiliar na verificação da compatibilidade com o fármaco que será utilizado. Segundo Ansel, Popovich e Allen Jr.

(2000), a maioria dos fármacos atuais são ácidos ou bases orgânicos fracos. Caso seja necessário, pode-se fazer o uso de soluções tampões.

5.3.2. Conteúdo de umidade

O conhecimento do conteúdo de umidade do excipiente sólido a ser utilizado é de extrema importância na indústria farmacêutica, uma vez que este pode influenciar na estabilidade do produto final.

De acordo com Thomas e Atwell (1999), citado por Adedokun e Itiola (2010), a umidade normalmente se equilibra a aproximadamente 12 % ou menos em pós de amido. No presente trabalho foram encontrados valores próximos a 7 % para os amidos extraídos a partir do pinhão e cerca de 11 % para o amido de milho (Tabela 15). As análises de umidade foram feitas logo após a extração e, para o amido de milho, logo após o recebimento. Os pós foram mantidos armazenados em frascos hermeticamente fechados, sob refrigeração. Apesar do cuidado realizado na armazenagem, a umidade mais alta obtida para o amido de milho pode ter sido ocasionada por um maior tempo exposto à umidade devido ao maior tempo de armazenagem quando comparado com as demais amostras.

Tabela 15. Umidade das amostras (b.u.)

Amostra	Umidade (g/100g)*
APN	7,68 ± 0,09 ^b
APC	7,14 ± 0,07 ^c
AMF	11,29 ± 0,03 ^a

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

Os pós apresentam-se dentro das características exigidas pela Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010), que permite umidade máxima de 15 % para amidos utilizados em fármacos.

Henríquez *et al.* (2008) na sua caracterização do amido de pinhão (semente da *Araucaria araucana*) encontraram umidade de 10,84 ± 0,03 %. Adedokun e Itiola (2010) encontraram em seu estudo valores de 9,30 % de umidade para o amido de milho nativo e de 6,02 % para o amido de milho pré-gelatinizado. Para as outras três variedades de amidos estudadas (inhame branco, inhame amarelo e arroz) a umidade do amido pré-gelatinizado foi

menor quando comparada a umidade do amido nativo da mesma espécie analisada, assim como ocorreu para o amido de pinhão cozido em relação ao amido de pinhão nativo, apesar de a diferença ser pequena.

5.3.3. Solubilidade

De acordo com a classificação da Farmacopeia Brasileira (Tabela 12, item 4.6.13), os amidos de milho e de pinhão nativo são classificados na faixa de *muito pouco solúvel*. Os resultados em g/100 mL, juntamente com as partes que representam e a classificação estão expostos na Tabela 16.

Tabela 16. Solubilidade em água fria (25 °C) e classificação dos amidos

Amostra	Solubilidade (g/100 mL)*	Partes	Classificação
APN	0,03 ± 0,00 ^b	3333,33	muito pouco solúvel
APC	1,13 ± 0,02 ^a	88,50	ligeiramente solúvel
AMF	0,03 ± 0,00 ^b	3333,33	muito pouco solúvel

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Durante a formulação dos produtos farmacêuticos é importante conhecer qual o melhor ou pior solvente para um determinado soluto. O mais usual é utilizar termos qualitativos, uma vez que a predição teórica da solubilidade exata é uma operação complexa e muitas vezes incorreta. Para isso, são utilizados termos como muito pouco solúvel ou pouco solúvel, que indicam faixas de solubilidade (Aulton, 2005).

Analisando a solubilidade do amido de pinhão cozido, percebe-se um aumento quando comparado às outras amostras. Em relação à classificação da Farmacopeia Brasileira (*Farmacopeia Brasileira*, 2010), o amido de pinhão cozido passa para a faixa de *ligeiramente solúvel*. Amidos pré-gelatinizados podem ser classificados como *ligeiramente solúvel* ou *solúvel* em água fria, dependendo do grau de pré-gelatinização (Rowley, 2003). De uma maneira geral, os amidos pré-gelatinizados tendem a apresentar uma melhor solubilidade quando comparado com os amidos nativos da mesma espécie, como demonstram estudos de outros autores (Adedokun e Itiola, 2010).

Já foi reportado anteriormente que os amidos nativos não são solúveis em água fria (Ciacco e Cruz, 1986; Rowley, 2003; Vaclavik e Christian, 2008; Häusler, 2009), causando

um pequeno inchamento que é reversível se o amido for posteriormente submetido à secagem. Em algumas concentrações, os grânulos de amido em solução se tornam um fluido dilatante, onde o fluxo é inversamente proporcional à pressão que é exercida, ou seja, quanto maior a pressão, menor o fluxo. A insolubilidade dos grânulos de amido é devido às fortes pontes de hidrogênio que mantêm as cadeias de amido unidas. Entretanto, quando o amido é aquecido em excesso de água acima da temperatura de gelatinização, a estrutura cristalina é rompida devido ao relaxamento das ligações de hidrogênio, e as moléculas de água interagem com os grupos hidroxila da amilose e amilopectina causando um aumento no tamanho dos grânulos e a solubilização parcial do amido (Hoover, 2001). Por essa razão, o amido de pinhão cozido apresenta solubilidade mais alta que o amido de pinhão nativo.

5.3.4. Determinação do ângulo de repouso

Segundo Craik (1958), citado por Prista, Alves e Morgado (1996), o ângulo de repouso para o amido de milho é de 53°, semelhante ao encontrado nesse estudo. Em geral, ângulos de repouso maiores que 40° correspondem a baixo fluxo, o que pode prejudicar sua aplicação farmacêutica (Aulton, 2005). As fotos tiradas das pilhas cônicas resultantes da queda dos pós, onde foram feitas as medidas para o cálculo do ângulo de repouso, se encontram em anexo (Apêndice A). A Tabela 17 apresenta os valores encontrados para o ângulo de repouso dos pós. A relação entre as propriedades de fluxo de acordo com o ângulo de repouso foi feita seguindo faixas de valores encontrados na literatura (Apêndice B).

Tabela 17. Valores de ângulo de repouso das amostras

Amostra	Ângulo de repouso (°)*
APN	44,93 ± 0,65 ^b
APC	45,57 ± 1,28 ^b
AMF	49,19 ± 1,24 ^a

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

As amostras obtidas a partir da semente de pinhão demonstraram um ângulo correspondente ao classificado como aceitável, sem diferença significativa entre as mesmas. Por sua vez, o amido de milho farmacêutico apresentou ângulo de repouso superior, classificando-o como fluxo pobre, com necessidade de agitação. De acordo com Häusler (2009), os amidos comerciais são geralmente coesivos e têm características de fluxo pobres,

conforme o encontrado para AMF neste trabalho. As propriedades de fluxo são dependentes do conteúdo de umidade (Shimada, Yonezawa e Sunada, 2003) e, por isso, os amidos derivados do pinhão apresentaram uma melhora em seu fluxo, por ter percentual de umidade mais baixo.

Um dos parâmetros que se pretende melhorar com a pré-gelatinização do amido são as características de fluxo. Kibbe (2009) reporta como ângulo de repouso de amidos pré-gelatinizados 40,7°, menor que o encontrado neste trabalho. Assim, conforme o resultado encontrado para o ângulo de repouso da amostra APC, pode-se concluir que a modificação feita quando se testou extrair o amido a partir do pinhão cozido não melhorou suas características de fluxo, uma vez que não houve diferença significativa entre APN e APC.

5.3.5. Determinação da densidade bruta e de compactação

As densidades bruta e de compactação são parâmetros importantes para os cálculos posteriores do Índice de Carr e Fator de Hausner, que auxiliam na caracterização das propriedades de fluxo e compressibilidade. Não há valores na literatura para a densidade bruta e de compactação de amido de pinhão nativo e amido de pinhão cozido. Para o amido de milho registram-se valores de 0,45 a 0,58 g/mL para densidade bruta e 0,69 a 0,77 g/mL para densidade de compactação, sendo que estas podem ser dependentes do processo industrial e da umidade (Häusler, 2009) e para amidos pré-gelatinizados, 0,586 g/mL para densidade bruta e 0,879 g/mL para densidade de compactação (Kibbe, 2009), não sendo especificada a origem botânica do amido. A Tabela 18 apresenta os valores para densidade bruta e de compactação das amostras analisadas.

Tabela 18. Densidade bruta e de compactação dos pós

Amostra	Densidade bruta (g/mL)*	Densidade de compactação (g/mL)*
APN	0,60 ± 0,01 ^b	0,82 ± 0,02 ^b
APC	0,71 ± 0,01 ^a	0,92 ± 0,02 ^a
AMF	0,53 ± 0,02 ^c	0,69 ± 0,01 ^c

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

O amido de milho analisado apresentou densidade bruta e de compactação dentro da faixa descrita por Häusler (2009). Podem ocorrer variações nos valores de densidades das matérias-primas sólidas em função do método de análise, das condições de armazenamento e

até mesmo do local de produção do amido, de forma que estas variações não significam, necessariamente, um desvio da qualidade.

Modificações em amidos têm sido feitas para melhorar características de fluxo, afetando também a densidade bruta e de compactação dos pós. Como exemplo tem-se o estudo de Lemieux, Gosselin e Mateescu (2009) que acrescentaram grupos carboxílicos polares ao amido de milho com alto teor de amilose e encontraram valores de 0,5 a 0,7 g/mL para densidade aparente e de 0,75 a 1,0 g/mL para densidade de compactação. Esses autores atribuíram o aumento das densidades ao aumento da massa média molecular das cadeias. Nesse caso, a substituição de grupos carboxílicos altamente polares e a retenção de água provavelmente aumentaram a fluidez através da densidade.

Um exemplo contrário, sem melhora nas características de fluxo, foi reportado por Sánches, Torrado e Lastres (1995), que estudaram amido de trigo nativo e pré-gelatinizado por liofilização. O amido de trigo nativo e pré-gelatinizado apresentaram valores de densidade bruta de 0,10, 0,15 e 0,52 g/mL para o amido de trigo 15 % pré-gelatinizado, 5% pré-gelatinizado e nativo, respectivamente. Para os valores de densidade de compactação foram encontrados valores de 0,09, 0,20 e 0,71 g/mL para amido de trigo 15 % pré-gelatinizado, 5 % pré-gelatinizado e nativo, respectivamente. De acordo com esse estudo, a densidades decresceram conforme aumentou o grau de pré-gelatinização, ou seja, quanto maior o grau de pré-gelatinização, menores os valores de densidade bruta e de compactação, para o amido de mesma origem botânica, sem obter melhora nas características de fluxo.

No presente trabalho, em relação ao amido de pinhão, a amostra APC apresentou valores mais altos que a amostra APN, tanto para densidade bruta como para densidade de compactação. Comparando ambas as amostras com o amido de milho, pode-se dizer que para substituir uma aplicação do amido de milho pelos amidos de pinhão, nativo ou cozido, seria necessária uma massa maior para preencher o mesmo volume de um comprimido ou cápsula. Conforme o ângulo de repouso, não houve melhora nas características de fluxo, o que será confirmado a seguir com os cálculos do Índice de Carr e Fator de Hausner do item 5.3.6.

5.3.6. Determinação do Índice de Carr e Fator de Hausner

O índice de Carr e o Fator de Hausner estão associados às características de fluxo de pós. Além de indicar as propriedades de fluxo, o Índice de Carr, chamado muitas vezes de

índice de compressibilidade (mesma fórmula utilizada), avalia quão compressível pode ser um pó. A Tabela 19 apresenta os valores encontrados para o Índice de Carr e Fator de Hausner.

Tabela 19. Índice de Carr e Fator de Hausner das amostras

Amostra	Índice de Carr (%)*	Fator de Hausner*
APN	26,10 ± 0,15 ^a	1,35 ± 0,00 ^a
APC	22,64 ± 0,36 ^b	1,29 ± 0,01 ^a
AMF	22,92 ± 1,85 ^b	1,30 ± 0,03 ^a

* Média de três repetições ± desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

A relação entre as propriedades de fluxo de acordo com o ângulo de repouso foi feita seguindo faixas de valores encontrados na literatura (Apêndice B). Para o amido de pinhão nativo, o valor encontrado está na faixa entre 26 e 31 % que, de acordo com a farmacopeia dos Estados Unidos (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008), corresponde a um fluxo pobre. Os demais pós (APC e AMF) não apresentam diferença significativa em seus valores de Índice de Carr e têm seu fluxo classificado como aceitável, com valores entre 21 e 25 %, segundo classificação da mesma Farmacopeia. Em relação à compressibilidade, valores menores que 15 % indicam boas características de compressão, o que indica que todos os pós analisados não podem ser considerados diretamente compressíveis. Para melhorar o fluxo dos pós, pode ser empregado um deslizante como, por exemplo, o Aerosil 0,2 % (Aulton, 2005).

Todas as amostras analisadas apresentaram fator de Hausner acima de 1,25, o que de acordo com Aulton (2005), indica um mau fluxo. Considerando a classificação conforme a Farmacopeia dos Estados Unidos (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008), as amostras APC e AMF encontram-se na faixa de fluxo aceitável, enquanto que a amostra APN classifica-se como fluxo pobre, confirmando a classificação de acordo com o Índice de Carr calculado. Assim, percebe-se que a extração do amido a partir do pinhão cozido não conseguiu melhorar as características de fluxo como se esperava. Apesar das amostras apresentarem-se em faixas diferentes de classificação, não houve diferença significativa entre os amidos através do teste de Tukey.

Em seus estudos utilizando amido de trigo nativo e pré-gelatinizado, Sanches, Torrado e Lastres (1995) encontraram valores para Carr e Hausner mais altos nos amidos modificados (de 1,5 a 2,2 para Hausner e de 33,3 a 54,5 para Carr, variações conforme grau de pré-

gelatinização) que no amido nativo (1,35 para Hausner e 26,3 para Carr), indicando que, como o que ocorreu com o amido de pinhão nativo e cozido, APN e APC, não houve melhora nas propriedades de fluxo com a modificação.

5.3.7. Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são encontrados em plantas comestíveis e não comestíveis, sendo estudados em função de ter vários efeitos biológicos, incluindo a atividade antioxidante (Kähkönen *et al.*, 1999). Os antioxidantes têm grande utilidade na proteção de substâncias auto-oxidáveis e podem ser de dois tipos diferentes, de acordo com sua ação. Podem atuar interrompendo a cadeia de reações oxidativas removendo radicais alquilos e alquilo-peróxidos ou atuando através de um mecanismo preventivo, ou seja, evitando a introdução de radicais livres iniciadores da cadeia oxidativa (Prista, Alves e Morgado, 1996).

A determinação de compostos fenólicos foi realizada a fim de comprovar sua presença, principalmente, na amostra de amido de pinhão cozido. Nas amostras de amido nativo, como já era esperado, não foram encontrados compostos fenólicos. No amido de pinhão cozido, por sua vez, encontrou-se uma concentração de $0,21 \pm 0,01$ mg CE/g (b.s.) de amostra (média de três repetições \pm desvio padrão), que é interessante para o uso de um amido com propriedades antioxidantes. A dose efetiva de antioxidantes em medicamentos pode variar de 0,005 a 3 % da formulação do produto farmacêutico (Thompson, 1998), dependendo do composto utilizado como antioxidante e do fármaco passível de sofrer oxidação. A curva de calibração bem como a equação da reta utilizada para o cálculo encontram-se em anexo (Apêndice C).

Em trabalho similar, Henríquez *et al.* (2008) encontraram valores de fenólicos totais de 0.71 ± 0.02 mg GAE/g b.s. (ácido gálico equivalente por grama de amostra em base seca) e 66.34 ± 1.89 mg GAE/g b.s. em sementes de pinhão (da variedade *Araucaria araucana*) crua sem casca e na casca crua, respectivamente. As sementes de pinhão apresentam um conteúdo muito baixo de fenólicos totais em comparação com a casca. Geralmente a casca é a fração que contém a maior fonte de antioxidantes quantitativamente ou qualitativamente, como, por exemplo, as cascas de maçã, pera e pêssigo contêm aproximadamente o dobro de compostos fenólicos que a fruta sem casca (Gorinstein *et al.*, 2002).

Estudando a composição química do pinhão, Cordenunsi *et al.* (2004) analisaram os fenólicos totais do pinhão cru, cozido com casca e da casca do pinhão, chegando a valores de $0,23 \pm 0,01$ mg CE/g b.u. ($4,55$ mg CE/g b.s.) no pinhão cru, $0,54 \pm 0,01$ mg CE/g b.u. ($11,5$ mg CE/g b.s.) no pinhão cozido com casca e de 345 ± 7 mg CE/g b.u. na casca interna, utilizando metanol como solvente. Cladera-Olivera (2008) encontrou $13,0 \pm 0,6$ mg CE/g b.u. na casca de pinhão e na análise dos fenólicos totais do pinhão cru e cozido, atingiu valores de 48 ± 2 mg CE/100 g b.s. ($0,48$ mg CE/g b.s.) e de 119 ± 3 mg CE/100 g b.s. ($1,19$ mg CE/g b.s.). Percebe-se que a quantidade de compostos fenólicos na casca do pinhão é bem mais alta que a encontrada no amido de pinhão cozido deste trabalho. Assim, pode-se sugerir a utilização dos compostos fenólicos extraídos diretamente da casca como alternativa para agrega-los ao amido de pinhão.

5.3.8. Tamanho de partícula e distribuição de tamanhos

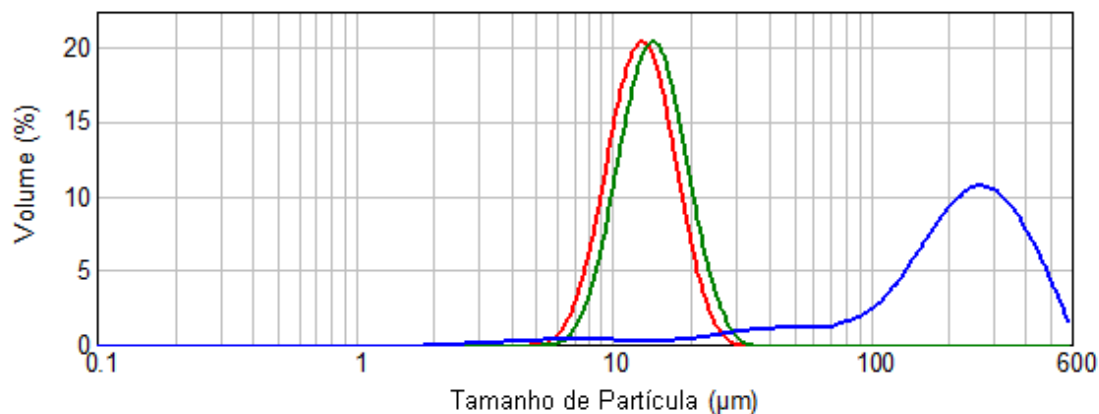
As amostras de amido de pinhão nativo e amido de milho farmacêutico apresentaram diâmetro médio semelhante (Tabela 20) e a distribuição de tamanho de partículas não teve diferença significativa (Figura 13). O amido de pinhão cozido, por sua vez, apresentou um tamanho médio de partícula maior, assim como uma distribuição de tamanhos mais ampla, o que se deve ao inchamento do grânulo durante o cozimento e ao aglomerado de partículas menores. Desta forma, os amidos nativos (APN e AMF) apresentam maior homogeneidade de distribuição de tamanho dos grânulos, o que poderá ser verificado também através da microscopia ótica e eletrônica de varredura a seguir. Os valores do diâmetro médio e distribuição de tamanhos dos pós (Span) estão listados na Tabela 20 e a Figura 14 apresenta o gráfico da distribuição do tamanho de partículas para as três amostras analisadas.

Tabela 20. Análise granulométrica dos amidos de pinhão (nativo e cozido) e amido de milho farmacêutico.

Amostra	D[4,3] (μm)*	$d_{0,1}$ (μm)*	$d_{0,5}$ (μm)*	$d_{0,9}$ (μm)*	Span*
APN	$14,79 \pm 0,06^b$	$9,77 \pm 0,16^b$	$14,21 \pm 0,01^b$	$20,60 \pm 0,39^b$	$0,76 \pm 0,04^b$
APC	$233,28 \pm 2,95^a$	$45,65 \pm 2,94^a$	$224,59 \pm 3,11^a$	$419,94 \pm 2,44^a$	$1,67 \pm 0,02^a$
AMF	$13,36 \pm 0,03^c$	$8,83 \pm 0,01^c$	$12,86 \pm 0,02^c$	$18,57 \pm 0,09^c$	$0,76 \pm 0,01^b$

* Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

Figura 14. Tamanho médio de partícula e distribuição de tamanhos nas diferentes amostras (vermelho: AMF; verde: APN; azul: APC).



O tamanho médio, ou diâmetro médio, dos grânulos de amido diferenciam-se em função de sua origem botânica. O amido de milho tem diâmetro médio de aproximadamente 13 µm, como o encontrado neste trabalho, o amido de ervilha, 30 µm, o amido de arroz, 5 µm, o amido de trigo, 20 µm (Häusler, 2009), o amido de araruta (*Maranta arundinacea*) entre 22,05 e 29,54 µm, o amido de batata-doce (*Ipomoea batatas*) entre 16,10 e 19,40 µm e o amido de mandioca-salsa (*Arracacia xanthorrhiza*) entre 16,63 e 20,68 µm (Leonel, 2007). Além das diferenças de tamanhos originadas pela origem botânica, pode haver diferenças também em relação a cultivares, local de produção, safra e forma de processamento. Exemplo disso pode ser demonstrado com a variedade de valores encontrados na literatura para o diâmetro médio do grânulo do amido de mandioca com tamanhos de 13 µm (Häusler, 2009), 5,4 µm (Hoover, 2001) e, conforme Leonel (2007), entre 14,39 e 17,1 µm. O diâmetro médio do amido de batata pode assumir valores de 46 µm (Häusler, 2009), variar de 15 a 110 µm (Hoover, 2001) ou ficar entre 30,51 a 39,50 µm (Leonel, 2007).

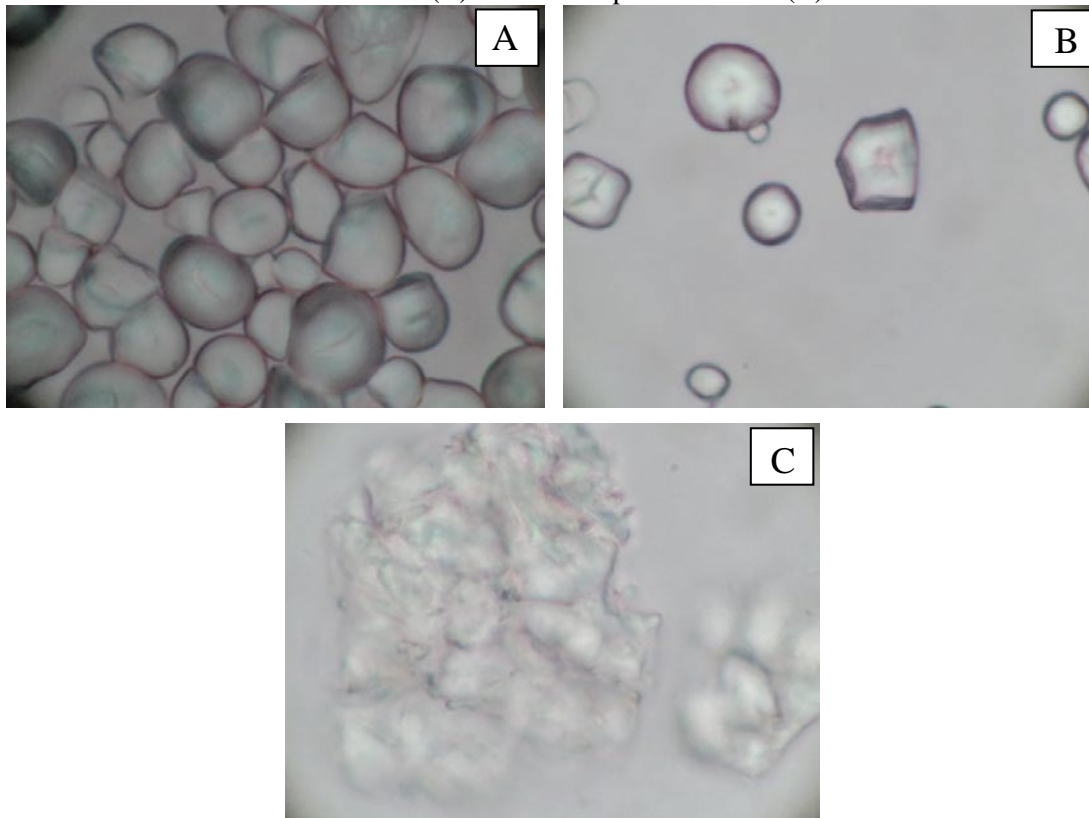
Para a utilização como excipiente farmacêutico é importante que o tamanho médio dos grânulos seja semelhante aos tamanhos dos demais componentes, incluindo fármacos e demais excipientes e adjuvantes e que a distribuição de tamanhos, o span, seja pequeno, indicando homogeneidade na distribuição de tamanhos das partículas (Jivraj, Martini e Thomson, 2000). É importante conhecer o tamanho das partículas dos pós e sua distribuição de tamanhos para a correta utilização dos excipientes em relação ao fármaco. Pós mais homogêneos, ou seja, com uma distribuição de tamanhos estreita, são preferíveis aos pós com muita diferença de tamanhos entre as partículas. A distribuição de tamanhos semelhante favorece a mistura homogênea dos pós e, conseqüentemente, sua aplicação.

5.3.9. Microscopia Ótica

A microscopia ótica permite a verificação da forma dos grânulos de amido e facilita sua identificação. A Figura 15 apresenta as imagens capturadas em microscópio ótico com luz normal em um aumento de 400 vezes.

Os grânulos do amido de pinhão e milho têm tamanho e forma similar (Figura 15 A-B), além de conter hilo central, conforme observado por Stahl *et al.* (2007) e Wosiacki e Cereda (1985) em relação aos grânulos de amido de pinhão. Os grânulos do amido de pinhão cozido apresentam-se mais inchados com a presença de água, com tamanho maior e sem uma forma predominante (Figura 15 C). A forma de grânulo do amido de pinhão cozido é melhor verificada com as imagens obtidas por MEV (item 5.3.10).

Figura 15. Micrografias com aumento de 400x de amido de pinhão nativo (A), amido de milho farmacêutico (B) e amido de pinhão cozido (C).

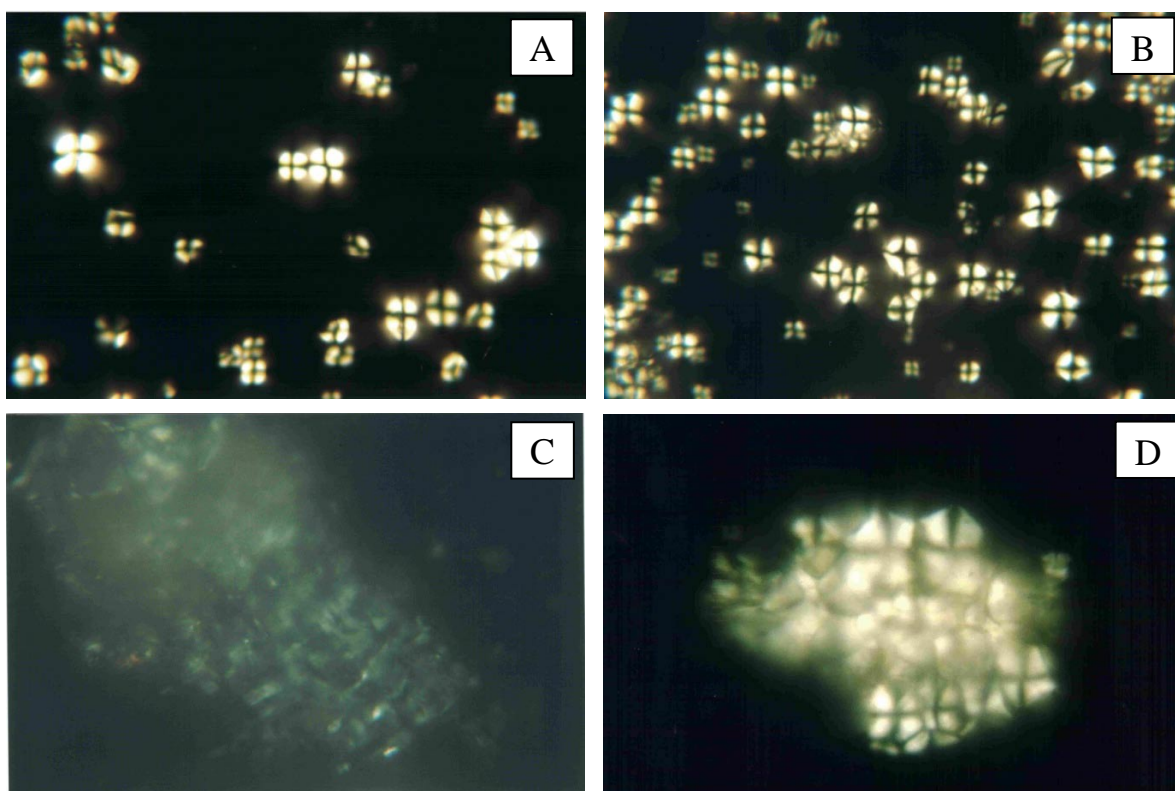


As formas dos grânulos de amido nativo variam conforme a espécie botânica, podendo assumir forma arredondada para o amido de mandioca (Hoover, 2001) e de manga (Romero-Bastida *et al.*, 2005), oval para o amido de batata (Hoover, 2001), banana (Romero-Bastida *et al.*, 2005) e araruta ou ainda circular poliédrica para o amido de batata-doce e mandioquinha-salsa (Leonel, 2007).

A Figura 16 indica as imagens capturadas através do microscópio ótico com luz polarizada com aumento de 400 vezes a temperatura ambiente.

Geralmente todos os grânulos de amido nativo são birrefringentes e mostram a característica Cruz de Malta (Stahl *et al.*, 2007), observada na Figura 16 A e B, para APN e AMF, respectivamente.

Figura 16. Micrografias com luz polarizada com aumento de 400x de amido de pinhão nativo (A), amido de milho (B) e amido de pinhão cozido (C – D) a temperatura ambiente.



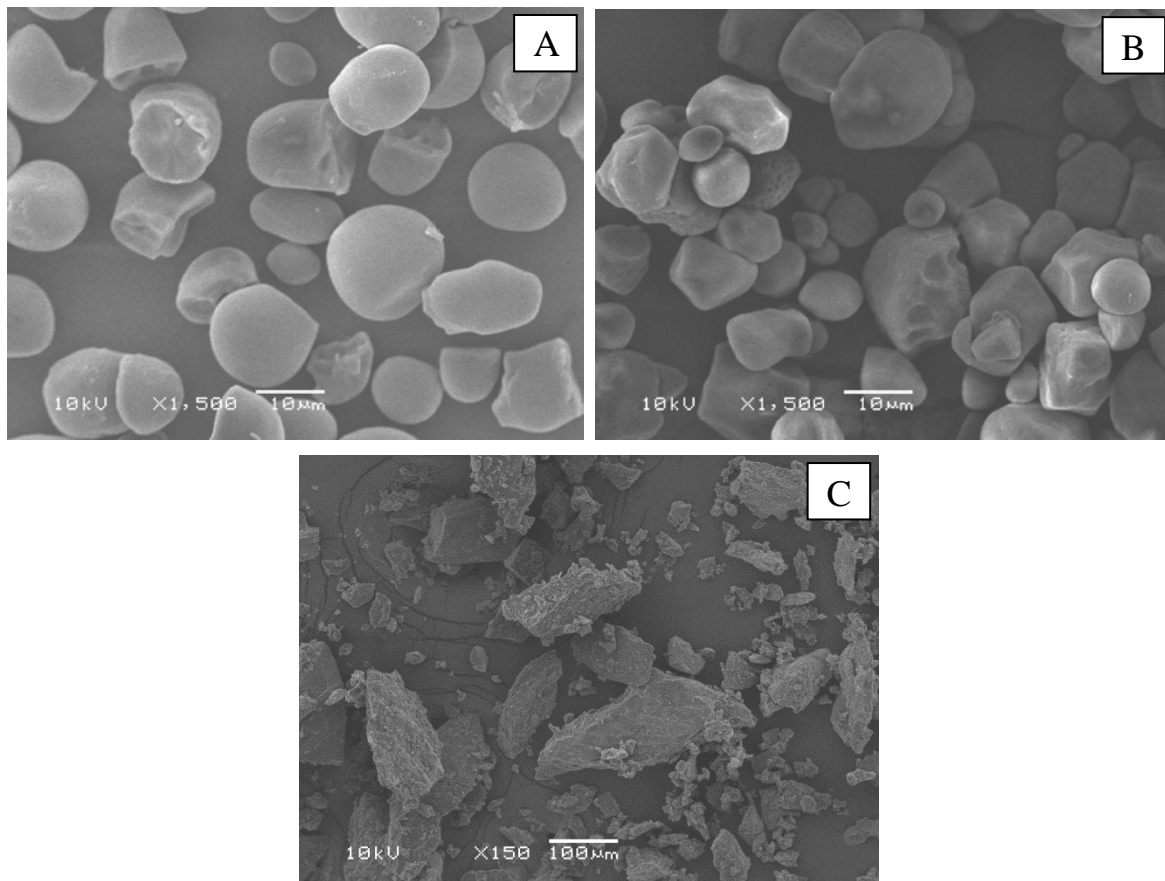
As fotomicrografias do amido de pinhão cozido (Figura 16 C e 16 D) indicam um grânulo maior e com ausência de birrefringência (C) indicando que o amido foi pré-gelatinizado, mas mostra também um aglomerado de grânulos menores (D) apresentando a cruz de Malta e indicando que os grânulos não foram totalmente pré-gelatinizados durante o processo. Provavelmente o tempo de cozimento não tenha sido suficiente para que ocorresse a total pré-gelatinização de APC. Beleia, Butarelo e Silva (2006) realizaram estudo semelhante, cozinhando duas cultivares diferentes de mandioca, sem extrair o amido, e avaliaram o grau de gelatinização do amido presente na raiz. Esses autores concluíram que o tempo de armazenamento das raízes influencia no tempo necessário para pré-gelatinização do amido,

sendo que as raízes colhidas há mais tempo demoram mais para pré-gelatinizar, existindo uma grande diferença de tempo entre as diferentes cultivares.

5.3.10. Microscopia Eletrônica de Varredura

As fotomicrografias referentes aos amidos nativos mostraram-se semelhantes quanto ao tamanho e forma do grânulo. Ambos apresentam superfície lisa e sem poros (Figura 17 A (APN) e B (AMF)), sendo que o amido de pinhão nativo apresentou forma mais arredondada que o amido de milho farmacêutico. A forma e tamanho do grânulo do amido de pinhão nativo são semelhantes aos encontrados em estudos anteriores (Bello-Pérez *et al.*, 2006; Thys, 2009; Conto *et al.*, 2011; Spada, 2011). Em contrapartida, a fotomicrografia do amido de pinhão cozido (Figura 17 C (APC)) revelou um grânulo maior em função da adsorção das moléculas de água durante o cozimento, sem uniformidade de tamanho, com aglomerados de grânulos menores, com poros e irregularidades na sua superfície, semelhante ao encontrada por Capella, Penteado e Balbi (2009).

Figura 17. Fotomicrografias obtidas por MEV (x1500) para o amido de pinhão nativo (A), amido de milho farmacêutico (B) e amido de pinhão cozido (C) (x150).



Para uso na indústria farmacêutica, o tamanho de partícula do excipiente deve ser compatível com o princípio ativo no qual será misturado (Armstrong, 1998; Jivraj, Martini e Thomson, 2000). A irregularidade de tamanhos pode dificultar sua aplicação, pois dificulta a obtenção de uma mistura homogênea e pode comprometer a qualidade do produto final. Assim, a amostra APC, apresenta desvantagem em relação à sua grande diferença de tamanhos entre os grânulos.

5.3.11. Análise colorimétrica

Através da colorimetria foi possível avaliar as diferenças de cor entre os pós analisados (Apêndice D), principalmente em relação ao amido de pinhão cozido. A Tabela 21 apresenta os valores encontrados para luminosidade (L^*), os parâmetros de cor a^* e b^* , cromaticidade (C^*) e ângulo de tonalidade (h).

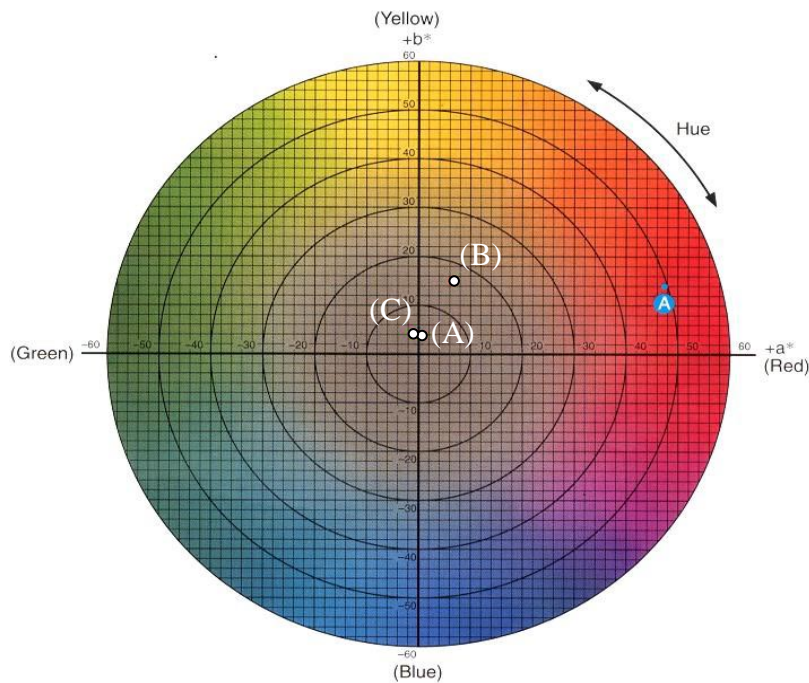
Tabela 21. Espaço de cor dos amidos analisados

Amostra	L^* (*)	a^* (*)	b^* (*)	C^* (*)	h (*)
APN	$93,22 \pm 0,01^b$	$0,40 \pm 0,01^b$	$3,62 \pm 0,01^c$	$3,64 \pm 0,01^c$	$83,66 \pm 0,06^b$
APC	$52,74 \pm 0,02^c$	$6,18 \pm 0,02^a$	$13,06 \pm 0,02^a$	$14,44 \pm 0,01^a$	$64,68 \pm 0,06^c$
AMF	$95,65 \pm 0,01^a$	$-0,77 \pm 0,01^c$	$4,08 \pm 0,01^b$	$4,15 \pm 0,01^b$	$100,77 \pm 0,08^a$

* Média de três repetições \pm desvio padrão. ^{a,b,c} Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

A partir dos valores de luminosidade pode-se concluir que as amostras dos amidos nativos, pinhão e milho, se aproximam da cor branca, diferentemente do amido de pinhão cozido. Os valores de cromaticidade e ângulo de tonalidade para essas mesmas amostras confirmam a cor branca, uma vez que esses valores indicam a proximidade da acromaticidade. Ao que diz respeito aos valores dos mesmos parâmetros para APC, percebe-se que a cor fica na faixa de tonalidade entre vermelho e amarelo e a combinação com o valor de luminosidade permite interpretação da cor do pó próxima ao marrom. A Figura 18 indica a localização das amostras no diagrama do espaço de cor de acordo com os valores de a^* , b^* e h .

Figura 18. Localização das amostras APN (A), APC (B) e AMF (C) no diagrama do espaço de cor de acordo com os valores de a^* , b^* e h .



Essa diferença na coloração pode ser atribuída à presença de compostos fenólicos no amido de pinhão cozido, que, migram da casca para a semente durante o cozimento. Cladera-Olivera (2008) analisou a diferença de cor entre farinhas produzidas com pinhão cru e cozido desidratadas em diferentes temperaturas. Em seu estudo, obteve valores de L^* , a^* e b^* nas faixas de 88,18 a 89,92, de 2,06 a 2,21 e de 10,69 a 14,17, respectivamente para a farinha de pinhão cru. Comparando com os valores obtidos no presente trabalho, o amido de pinhão cru é mais claro que a farinha obtida a partir do mesmo. Analisando a cor da farinha de pinhão cozido, a mesma autora obteve valores de L^* , a^* e b^* nas faixas de 74,89 a 77,24, 6,41 a 7,38 e 14,21 a 17,36, respectivamente, demonstrando que o amido de pinhão cozido apresenta coloração mais escura que a farinha obtida a partir do mesmo. Além da presença de compostos fenólicos, outro fator que pode alterar a cor é a reação de Maillard ocorrida durante o cozimento em autoclave, pois o pinhão contém proteínas e açúcares redutores. De acordo com Cordenunsi *et al.* (2004) o pinhão contém 2,25 % de glicose (b.u.) e 0,07 % de frutose (b.u.).

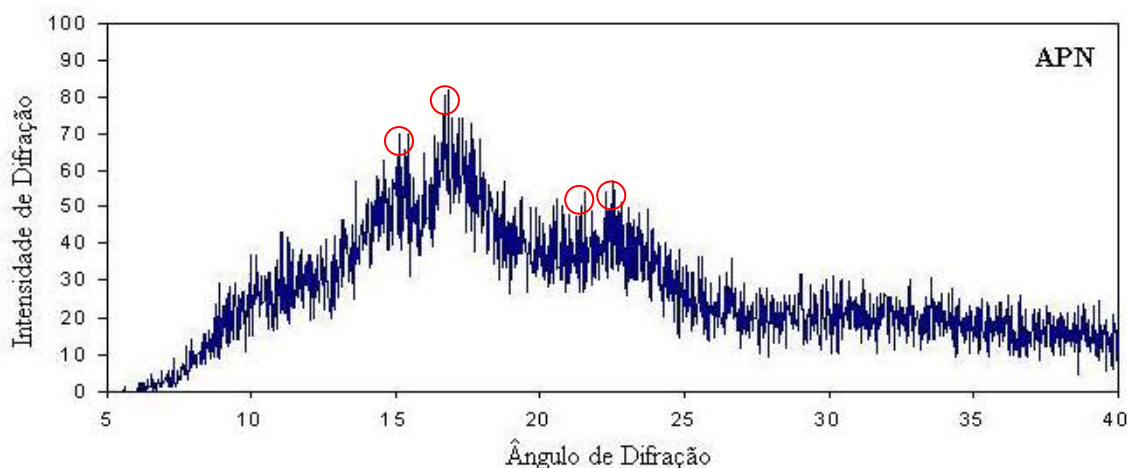
5.3.12. Difração de raios-X

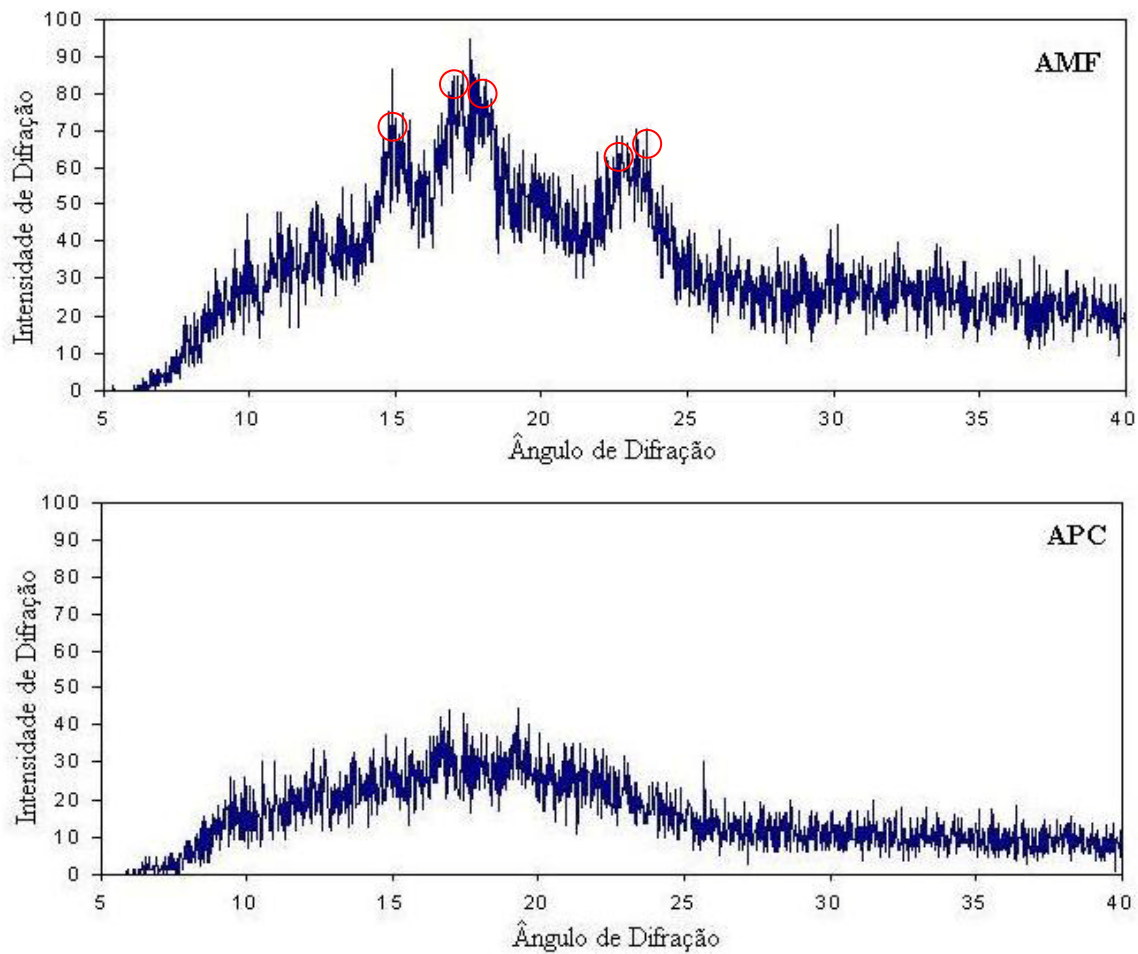
As análises por difração de raios-X permitiram visualizar que as amostras APN e AMF, dos amidos nativos, são sólidos semicristalinos enquanto que a amostra APC, amido de pinhão cozido, é um sólido amorfo, considerado como pré-gelatinizado (Figura 19).

De acordo com os diagramas percebe-se a semelhança entre as amostras APN e AMF, sendo que AMF apresentou maior intensidade de difração, indicando maior grau de cristalinidade. Segundo Mestres (1996) os amidos podem apresentar três padrões diferentes de cristalinidade. O primeiro é o tipo A, com maiores picos de intensidade de refração para os ângulos a 2θ a 15° , 17° , 18° e 23° e é típico dos amidos de cereais. O segundo é o tipo B, com maiores picos de intensidade de refração para os ângulos a 2θ a 5° , 6° , 15° , 17° , 22° e 23° e é mais comum em amidos de tuberosas. O terceiro é o tipo C que é uma mistura dos tipos A e B onde o exemplo típico é o amido de mandioca. São classificados como tipo C os amidos com características de A e de B, predominando as características de A.

A partir da análise realizada pode-se visualizar que o amido de pinhão nativo apresenta padrão de cristalinidade do tipo C, com os maiores picos em 2θ a 15° , 17° , 22° e 23° , tipo encontrado na maioria dos tubérculos, leguminosas e sementes (Annison e Topping, 1994). Thys *et al.* (2008) relataram que o amido de pinhão apresenta o mesmo padrão de cristalinidade do tipo C, porém com os maiores picos em 2θ a 5° , 15° , 17° e 23° . O amido de milho, por sua vez, apresenta padrão de cristalinidade do tipo A, conforme relatado por outros autores (Zobel, 1988; Vandeputte e Delcour, 2004).

Figura 19. Diagramas de raios-X dos amidos analisados (APN, AMF e APC).





A amostra APC obteve valores de intensidade de difração muito baixos, sem indicação de picos, que são considerados apenas como ruídos do equipamento, indicando que essa amostra não apresenta cristalinidade, sendo considerada totalmente amorfa. De uma maneira geral, os amidos submetidos a tratamento de pré-gelatinização perdem sua cristalinidade, fazendo com que a fase amorfa prevaleça (Ratnayake e Jackson, 2007). O fato de APC ser considerado amorfo explica também a sua melhor solubilidade em água fria do que os grânulos nativos (Mooter, 2011).

Airaksinen *et al.* (2005), a partir das análises de difração de raios-X, demonstraram que o amido de milho é considerado um sólido parcialmente cristalino, com um diagrama semelhante ao encontrado neste trabalho (Figura 17 – AMF) e os maiores picos em 2θ a 15°, 16,5°, 22,6° e 34,7°. Segundo este mesmo autor, os excipientes cristalinos utilizados em uma formulação podem acelerar as transformações polimórficas das substâncias ativas, enquanto

que os excipientes amorfos podem atrasar tais transformações. Além disso, os materiais amorfos têm uma alta capacidade de absorver vapor d'água.

Quando um pó está no estado amorfo, este pode alterar a biodisponibilidade de um fármaco ligeiramente hidrossolúvel devido a alterações na solubilidade e à absorção da droga dentro do trato gastrointestinal. Assim, é muito importante saber a cristalinidade de materiais e monitorá-la durante o desenvolvimento da formulação, processo de produção e estocagem. A determinação da cristalinidade é de grande importância para qualificar as matérias-primas, os produtos intermediários e os produtos finais, bem como para verificar a eficácia dos procedimentos tecnológicos durante o controle de processo (Gombás *et al.*, 2003).

5.3.13. Análise térmica

Para o estudo da temperatura de gelatinização, ou temperatura de transição vítrea, do amido de pinhão nativo e amido de milho foi utilizado o DSC. Seu princípio de funcionamento é medir, quando um material é aquecido, resfriado ou mantido isotermicamente, as transições ou eventos energéticos em função de um determinado tempo ou temperatura contra um padrão de referência (Ford e Mann, 2011). A Tabela 22 apresenta a temperatura inicial (T_0 – *onset*), temperatura de gelatinização (T_g) e temperatura final (T_f), bem como a entalpia de gelatinização (ΔH_g) dos amidos de pinhão nativo em diferentes tempos de estocagem e do amido de milho.

Tabela 22. Faixa de temperaturas de gelatinização e entalpia de gelatinização do amido nativo de pinhão em diferentes tempos de estocagem e amido de milho.

Dias de análise	T_0 (°C)*	T_g (°C)*	T_f (°C)*	ΔH_g (J/g) (b.s.)*
APN-0	$47,58 \pm 0,31^b$	$51,44 \pm 0,16^b$	$56,87 \pm 0,42^b$	$11,58 \pm 0,79^b$
APN-7	$46,33 \pm 0,24^c$	$50,84 \pm 0,30^b$	$57,13 \pm 0,15^b$	$12,78 \pm 0,69^b$
APN-14	$46,77 \pm 0,23^c$	$50,87 \pm 0,29^b$	$56,84 \pm 0,57^b$	$11,44 \pm 0,21^b$
AMF	$61,28 \pm 0,14^a$	$66,26 \pm 0,28^a$	$71,60 \pm 0,28^a$	$15,64 \pm 0,80^a$

* Média de três repetições \pm desvio padrão. Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

T_0 : temperatura inicial; T_g : temperatura de gelatinização; T_f : temperatura final.

APN-0, APN-7, APN-14: amido de pinhão nativo após extração, 7 e 14 dias após a extração, respectivamente.

ΔH_g : Entalpia de gelatinização.

O amido de pinhão apresentou menor temperatura de gelatinização, em todos os tempos de estocagem analisados, assim como sugere o estudo apresentado por Bello-Pérez *et al.* (2006). A entalpia de gelatinização do amido de pinhão foi menor que do amido de milho, indicando que o amido de pinhão necessita de menos energia para ocorrer a desorganização dos componentes do amido. Isto sugere que a distribuição do comprimento da cadeia em amido pinhão é diferente, pois apresentam padrão de difração de raios X diferente, o que pode ser atribuído ao comprimento da cadeia da molécula de amilopectina (Hizukuri, 1985).

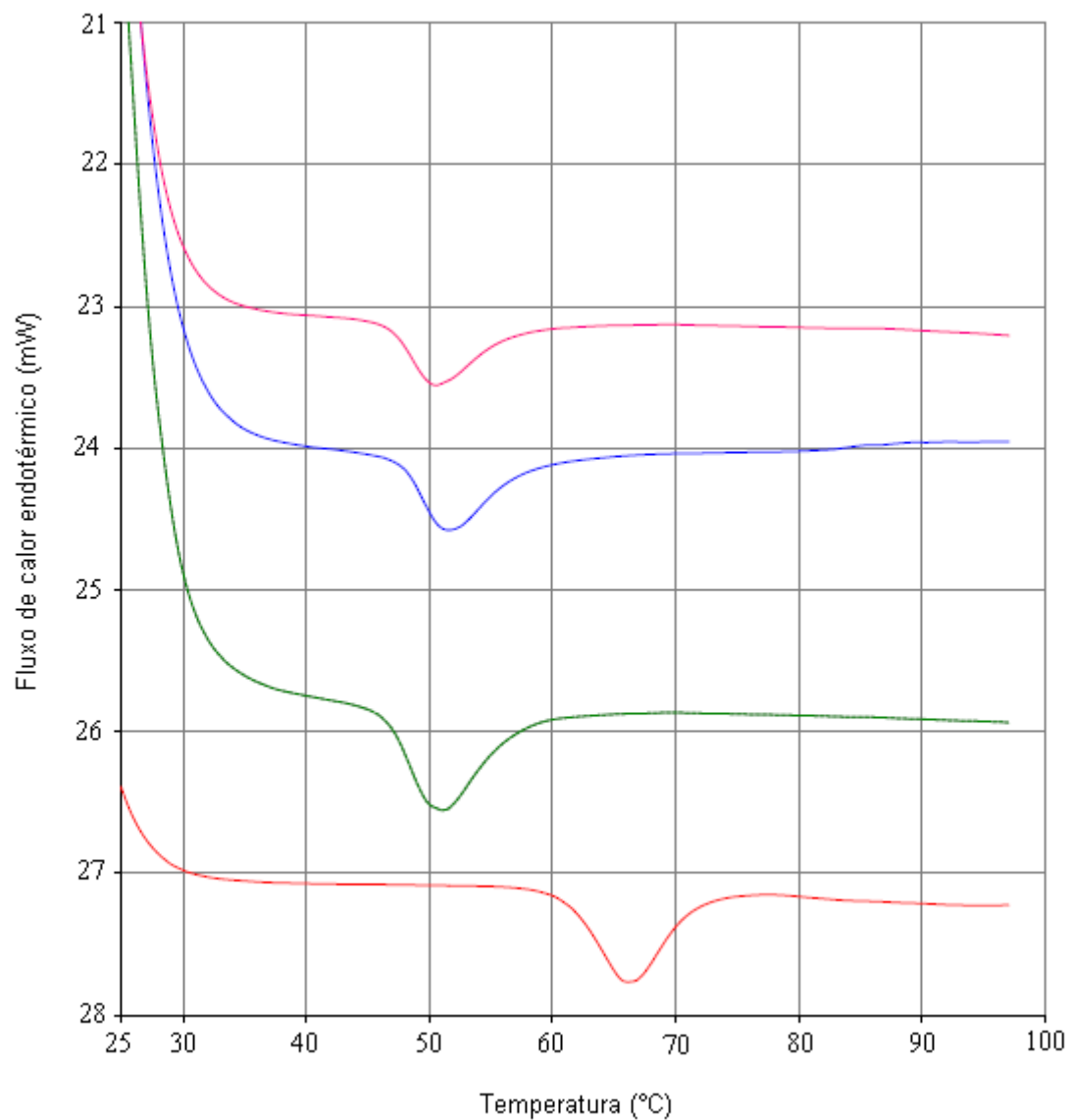
A temperatura de gelatinização encontrada para o amido de pinhão não apresentou diferença significativa entre os dias analisados, tendo seu valor variando de 50,84 a 51,44 °C, valor esse superior ao encontrado por Thys (2009), de 47,64 °C e inferior ao encontrado por Bello-Pérez *et al.* (2006), de $63,4 \pm 0,04$ °C e Spada (2011), de $65,34 \pm 0,52$ °C.

A maior entalpia de gelatinização do amido de milho, assim como a maior temperatura de gelatinização, sugere que este tenha um maior conteúdo de amilose que o amido de pinhão nativo (Weber, Collares-Queiroz e Chang, 2009). Essa relação existente entre o conteúdo de amilose e a entalpia e temperatura de gelatinização pode ser suportada por estudos anteriores, nos quais foi reportado o percentual de 23,6 % de amilose no amido de pinhão (Thys, 2009) e de aproximadamente 27 % de amilose no amido de milho (Smolinkse, 1992).

As condições do meio afetam o genótipo da planta, o que pode acarretar diferenças nas características térmicas e funcionais de plantas de mesma espécie (Ellis *et al.*, 1998). Diferenças entre entalpias de gelatinização de amidos de outras variedades botânicas já foram reportadas, como o ΔH_g de amido de banana com valores de 5,2 J/g (Waliszewski *et al.*, 2003) e 15,0 J/g (Romero-Bastida *et al.*, 2005).

Os termogramas do amido de APN-0, APN-7, APN-14 e AMF podem ser visualizados na Figura 20.

Figura 20. Termograma do amido de pinhão nativo nos dias 0 (APN-0, azul), 7 (APN-7, verde) e 14 (APN-14, rosa) e do amido de milho farmacêutico (AMF, vermelho).



Conclusões

As análises realizadas no amido de pinhão nativo, APN, demonstraram extração eficiente e alto teor de amido, caracterizando o pinhão como uma importante fonte de amido. Essa amostra foi caracterizada como insolúvel, pH neutro, baixo fluxo, tamanho de partícula semelhante ao tamanho do grânulo de amido de milho e distribuição de tamanhos homogênea. Além disso, o formato do grânulo do amido de pinhão nativo é arredondado e com superfície lisa, apresenta cristalinidade parcial tipo C e sua temperatura de gelatinização bem como a entalpia de gelatinização são menores que as do amido de milho. A semelhança das características do amido de pinhão nativo com o amido de milho indica que o amido de pinhão nativo poderia ser usado para as mesmas funções que hoje é usado o amido de milho, dando uma nova aplicabilidade ao amido de pinhão e evitando as sobras das safras anuais.

A caracterização do amido de pinhão cozido, APC, permitiu a verificação de um amido ligeiramente solúvel, com compostos fenólicos, cor mais escura que as demais amostras, com grânulos maiores e uma distribuição de tamanhos mais larga que a dos amidos nativos estudados. Foi considerado como baixo fluxo, com uma baixa eficiência de extração e menor conteúdo de amido que o encontrado nas amostras APN e AMF, descaracterizando-o como fonte de amido para uso na indústria farmacêutica.

Sugestões para Trabalhos Futuros

- Estudar maneiras de facilitar o descascamento do pinhão, uma vez que a retirada da casca e da película interna foram feitas manualmente neste trabalho.
- Aperfeiçoar as características do amido de pinhão através de modificações visando à melhoria de suas propriedades para aplicação na indústria farmacêutica.
- Estudar a compatibilidade do amido de pinhão nativo e modificado com fármacos de diferentes classes farmacêuticas.
- Analisar a aplicabilidade do amido de pinhão nativo e modificado em pré-formulações através de produção de comprimidos em escala piloto e avaliação das propriedades do comprimido formado.
- Estudar a extração de compostos fenólicos da casca do pinhão, verificando sua atividade antioxidante e ausência de toxicidade para uso como adjuvante farmacêutico.
- Avaliar a possibilidade de adição dos compostos fenólicos extraídos da casca durante o processo de modificação do amido para formar um amido funcional com antioxidantes e avaliar suas propriedades.
- Estudar a compatibilidade do amido de pinhão com adição de extrato fenólico com fármacos que necessitem da adição de antioxidantes. Testar a aplicabilidade desse amido em comprimidos e analisar sua estabilidade.

Referências Bibliográficas

- ADEDOKUN, M. O. e ITIOLA, O. A. Material properties and compaction characteristics of natural and pregelatinized forms of four starches. *Carbohydrate Polymers*, v.79, n.4, p.818-824. 2010.
- AIRAKSINEN, S., KARJALAINEN, M., SHEVCHENKO, A., WESTERMARCK, S., LEPPÄNEN, E., RANTANEN, J. e YLIRUUSI, J. Role of water in the physical stability of solid dosage formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.94, n.10, p.2147-2165. 2005.
- ALLEN JR., L. V., POPOVICH, N. G. e ANSEL, H. C. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 8.ed. Porto Alegre: Artmed. 776 p. 2007.
- AMIDON, G. E., SECREAST, P. J. e MUDIE, D. Particle, Powder, and Compact Characterization. In: Qiu, Y., Chen, Y. e Zhang, G. G. Z. *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice*. Burlington: Academic Press. p.163-186. 2009.
- Amidos: nativos, modificados e funcionais*. In: Aditivos & Ingredientes, n.11, p.54-66. 2000.
- ANNISON, G. e TOPPING, D. L. Nutritional Role of Resistant Starch: Chemical Structure vs Physiological Function. *Annual Review of Nutrition*, v.14, n.1, p.297-320. 1994.
- ANSEL, H. C., POPOVICH, N. G. e ALLEN JR., L. V. *Farmacotécnica: Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 6.ed. São Paulo: Premier. 568 p. 2000.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- ARMSTRONG, A. N. Selection of excipients for direct compression tablet formulations. *Pharmaceutical Technology Europe*, v.39, p.24-30. 1998.
- ASSAAD, E. e MATEESCU, M. A. The influence of protonation ratio on properties of carboxymethyl starch excipient at various substitution degrees: Structural insights and drug release kinetics. *International Journal of Pharmaceutics*, v.394, n.1-2, p.75-84. 2010.

- ATICHOKUDOMCHAI, N. e VARAVINIT, S. Characterization and utilization of acid-modified cross-linked Tapioca starch in pharmaceutical tablets. *Carbohydrate Polymers*, v.53, n.3, p.263-270. 2003.
- AULTON, M. E. *Delineamento de formas farmacêuticas*. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BACKES, A. Distribuição geográfica atual da Floresta com Araucária: condicionamento climático. In: Fonseca, C. R., Souza, A. F., Leal-Zanchet, A. M., Dutra, T. L., Backes, A. e Ganade, G. *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Ribeirão Preto: Holos. p.39-44. 2009.
- BALDRICK, P. Pharmaceutical Excipient Development: The Need for Preclinical Guidance. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.32, n.2, p.210-218. 2000.
- BANKER, G. S. e RHODES, C. T. *Modern pharmaceuticals*. 4th.ed. New York: Marcel Dekker. 838 p. 2002.
- BELEIA, A., BUTARELO, S. S. e SILVA, R. S. F. Modeling of starch gelatinization during cooking of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *LWT - Food Science and Technology*, v.39, n.4, p.400-405. 2006.
- BELITZ, H.-D. e GROSH, W. *Food chemistry*. New York: Springer-Verlag. 774 p. 1986.
- BELLO-PÉREZ, L. A., GARCÍA-SUÁREZ, F. J., MÉNDEZ-MONTEALVO, G., NASCIMENTO, J. R. O., LAJOLO, F. M. e CORDENUNSI, B. R. Isolation and characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: a novel starch for application in food industry. *Starch - Stärke*, v.58, n.6, p.283-291. 2006.
- BEMILLER, J. N. Starch modification: challenges and prospects. *Starch/Stärke*, v.49, n.4, p.127-131. 1997.
- BENINCA, C. Emprego de técnicas termoanalíticas na análise de amidos nativos e quimicamente modificados de diferentes fontes botânicas. Mestrado (Dissertação). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 74 p., 2008.
- BOCHI, V. C., LOBATO, L. P., STAHL, J. A., EMANUELLI, T., COSTABEBER, I. e KUBOTA, E. Avaliação da capacidade de ligação à água e cor do gel do amido de pinhão modificado por fosfatação. Anais do XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, SBCTA, Porto Alegre, 2582-2585. 2002.
- BOLHUIS, G. K. e CHOWHAN, Z. T. Materials for direct compaction. In: Alderborn, G. e Nystrom, C. *Pharmaceutical Powder Compaction Technology*. New York, USA: Marcel Decker. p.419-500. 1996.
- BRASIL. Portaria Normativa RDC 20, de 27 de setembro de 1976. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. 1976.
- BRASIL. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. *Código Nacional de Alimentação*. São Paulo: ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1978.

-
- BRASIL. Portaria nº 37, de 3 de abril de 1992. IBAMA: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. 1992.
- BRASIL. Resolução nº 278, de 24 de maio de 2001. CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2001.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 6, de 23 de setembro de 2008. Ministério do Meio Ambiente. 2008.
- BULÉON, A., COLONNA, P., PLANCHOT, V. e BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.23, n.2, p.85-112. 1998.
- CAMERON, R. E. e DONALD, A. M. A small-angle X-ray scattering study of the annealing and gelatinization of starch. *Polymer*, v.33, n.12, p.2628-2635. 1992.
- CAMPESTRINI, S. Flora Digital do Rio Grande do Sul: *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Disponível em: http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=5284. Acesso em: 16 de novembro de 2011. 2011.
- CAPELLA, A. C. V., PENTEADO, P. T. P. S. e BALBI, M. E. Semente de *Araucaria angustifolia*: aspectos morfológicos e composição química da farinha. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v.27, n.1, p.135-142. 2009.
- CARDOSO, M. A. P., JASCO, A. P. e DEMIATE, I. M. Obtenção, purificação e caracterização de amidos de milhos de variedades crioulas da safra 2007/2008. Anais do XX Encontro Anual de Iniciação Científica, Ponta Grossa, PR: UEPG. 2011.
- CARR, R. L. Classifying flow properties of solids. *Chemical Engineering*, v.72, p.69-72. 1965.
- CARVALHO, P. E. R. Pinheiro-do-Paraná. Circular Técnica 60, Colombo, PR: Embrapa. 2002.
- CASAS, M., FERRERO, C., DE PAZ, M. V. e JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M. R. Synthesis and characterization of new copolymers of ethyl methacrylate grafted on tapioca starch as novel excipients for direct compression matrix tablets. *European Polymer Journal*, v.45, n.6, p.1765-1776. 2009.
- CEREDA, M. P. Amidos modificados. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, n.1, p.31-36. 1996.
- CEREDA, M. P., VILPOUX, O. e DEMIATE, I. M. Amidos modificados. In: Cereda, M. P., Vilpoux, O. *Processamento de amiláceas Latino Americanas*. São Paulo: Fundação Cargil. p.246-332. 2003.
- CIACCO, C. F. e CRUZ, R. *Fabricação de Amido e sua Utilização*. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. 152 p. 1986.

- CLADERA-OLIVERA, F. Estudos tecnológicos e de engenharia para o armazenamento e processamento do pinhão. Doutorado (Tese). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 197 p., 2008.
- CONTO, L. C., PLATA-OVIEDO, M. S. V., STEEL, C. J. e CHANG, Y. K. Physico-chemical, morphological, and pasting properties of Pine nut (*Araucaria angustifolia*) starch oxidized with different levels of sodium hypochlorite. *Starch - Stärke*, v.63, n.4, p.198-208. 2011.
- CORDENUNSI, B. R., MENEZES, E. W., GENOVESE, M. I., COLLI, C., SOUZA, A. G. e LAJOLO, F. M. Chemical composition and glycemic index of brazilian pine (*Araucaria angustifolia*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.52, n.11, p.3412-3416. 2004.
- CRAIK, D. J. The flow properties of starch powders and mixtures. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.10, n.1, p.73-79. 1958.
- CROWLEY, P. J. Excipients as stabilizers. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v.2, n.6, p.237-243. 1999.
- CROWLEY, P. J. e MARTINI, L. G. *Drug-excipient interactions*. In: *Pharmaceutical Technology*. Europe: March, p.26-34. 2001.
- DATTA, P. K., FIGUEROA, M. O. R. e LAJOLO, F. M. Chemical modification and sugar binding properties of two major lectins from Pinhao (*Araucaria brasiliensis*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.41, n.11, p.1851-1855. 1993.
- DE KERF, M., MONDELAERS, W., LAHORTE, P., VERVAET, C. e REMON, J. P. Characterisation and disintegration properties of irradiated starch. *International Journal of Pharmaceutics*, v.221, n.1-2, p.69-76. 2001.
- DEMIRGÖZ, D., ELVIRA, C., MANO, J. F., CUNHA, A. M., PISKIN, E. e REIS, R. L. Chemical modification of starch based biodegradable polymeric blends: effects on water uptake, degradation behavior and mechanical properties. *Polymer Degradation and Stability*, v.70, n.2, p.161-170. 2000.
- DENARDIN, C. C. e SILVA, L. P. D. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. Santa Maria: Ciência Rural. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/2009nahead/a109cr517.pdf>. Acesso em: 24 de dezembro de 2011. 2008.
- DILLENBURG, L. R., FRANCO, A. M. S., COUTINHO, A. L., KÖRNDORFER, C. L., CLEBSCH, C. C., DUARTE, L. S., FERLA, L., ROSA, L. M. G., SILVA, L. G. R., GARBIN, M. L., MÓSENA, M., ZANDAVALLI, R. B. e YAMASAKI, S. Aspectos ecofisiológicos da regeneração de *Araucaria angustifolia*. In: Fonseca, C. R., Souza, A. F., Leal-Zanchet, A. M., Dutra, T. L., Backes, A. e Ganade, G. *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Ribeirão Preto: Holos. p.57-65. 2009.

DUMOULIN, Y., CARTILIER, L. H. e MATEESCU, M. A. Cross-linked amylose tablets containing α -amylase: an enzymatically-controlled drug release system. *Journal of Controlled Release*, v.60, n.2-3, p.161-167. 1999.

ELIASSON, A.-C. e TATHAM, A. Cereal Starches and Proteins. In: Dendy, D. A. V. e Dobraszczyk, B. J. *Cereals and Cereals Products: Chemistry and Technology*. Gaithersburg: Aspen Publishers. p.68-89. 2001.

ELLIS, R. P., COCHRANE, M. P., DALE, M. F. B., DUFFUS, C. M., LYNN, A., MORRISON, I. M., PRENTICE, R. D. M., SWANSTON, J. S. e TILLER, S. A. Starch production and industrial use. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.77, n.3, p.289-311. 1998.

European Pharmacopoeia. 4th.ed. Strasbourg: Council of Europe, 2002.

FABIANO, V., MAMELI, C. e ZUCCOTTI, G. V. Paediatric pharmacology: Remember the excipients. *Pharmacological Research*, v.63, n.5, p.362-365. 2011.

Farmacopeia Brasileira. 5.ed. Brasília: Anvisa, 2v. 2010.

Farmacopeia Portuguesa VII. Lisboa: Imprensa Nacional de Lisboa, 2002.

FENNEMA, O. R. *Química de los alimentos*. 2.ed. Zaragoza: Acribia. 1258 p. 2000.

FORD, J. L. e MANN, T. E. Fast-Scan DSC and its role in pharmaceutical physical form characterisation and selection. *Advanced Drug Delivery Reviews*. doi: 10.1016/j.addr.2011.12.001. 2011.

GOMBÁS, Á., ANTAL, I., SZABÓ-RÉVÉSZ, P., MARTON, S. e ERŐS, I. Quantitative determination of crystallinity of alpha-lactose monohydrate by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). *International Journal of Pharmaceutics*, v.256, n.1-2, p.25-32. 2003.

GORINSTEIN, S., MARTIN-BELLOSO, O., LOJEK, A., ČÍŽ, M., SOLIVA-FORTUNY, R., PARK, Y.-S., CASPI, A., LIBMAN, I. e TRAKHTENBERG, S. Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.82, n.10, p.1166-1170. 2002.

HÄUSLER, O. Starch. In: Rowe, R. C., Sheskey, P. J. e Quinn, M. E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London: Pharmaceutical Press. p.685-691. 2009.

HAUSNER, H. H. Friction conditions in a mass of metal powders. *International Journal of Powder Metallurgy*, v.3, p.7-13. 1967.

HENRÍQUEZ, C., ESCOBAR, B., FIGUEROLA, F., CHIFFELLE, I., SPEISKY, H. e ESTÉVEZ, A. M. Characterization of piñon seed (*Araucaria araucana* (Mol) K. Koch) and the isolated starch from the seed. *Food Chemistry*, v.107, n.2, p.592-601. 2008.

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

HOEPFNER, E. M. *Fiedler encyclopedia of excipients for pharmaceuticals, cosmetics and related areas*. 5th.ed. Aulendorf: Editio Cantor, 2v. 2002.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: a review. *Carbohydrate Polymers*, v.45, n.3, p.253-267. 2001.

IBGE. *Censo Agropecuário*. Rio de Janeiro: p.1-777. 2006.

Instituto Adolfo Lutz. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3ª.ed. São Paulo. 1 - Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 1985.

IPEC. The IPEC Excipient Composition Guide. The International Pharmaceutical Excipients Council. Disponível em: <http://www.ipec-europe.org/UPLOADS/IPECCCompositionGuidefinal.pdf>. Acesso em: 21 de dezembro de 2011. 2009.

JACKSON, K., YOUNG, D. e PANT, S. Drug-excipient interactions and their affect on absorption. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v.3, n.10, p.336-345. 2000.

JENKINS, P. J., CAMERON, R. E. e DONALD, A. M. A Universal Feature in the Structure of Starch Granules from Different Botanical Sources. *Starch - Stärke*, v.45, n.12, p.417-420. 1993.

JIVRAJ, M., MARTINI, L. G. e THOMSON, C. M. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v.3, n.2, p.58-63. 2000.

JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. *Current Opinion in Plant Biology*, v.7, n.2, p.210-218. 2004.

JONES, D. *Pharmaceutics: dosage forms and design*. London: Pharmaceutical Press. 286 p. 2008.

KÄKÖNEN, M. P., HOPIA, A. I., VUORELA, H. J., RAUHA, J.-P., PIHLAJA, K., KUJALA, T. S. e HEINONEN, M. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, n.10, 2012/01/11, p.3954-3962. 1999.

KÁSA, P., BAJDIK, J., ZSIGMOND, Z. e PINTYE-HÓDI, K. Study of the compaction behaviour and compressibility of binary mixtures of some pharmaceutical excipients during direct compression. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, v.48, n.4, p.859-863. 2009.

KAUR, B., ARIFFIN, F., BHAT, R. e KARIM, A. A. Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocolloids*, v.26, n.2, p.398-404. 2012.

KIBBE, A. H. Starch, Pregelatinized. In: Rowe, R. C., Sheskey, P. J. e Quinn, M. E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London: Pharmaceutical Press. p.691-694. 2009.

-
- KIM, Y. S., WIESENBERN, D. P., ORR, P. H. e GRANT, L. A. Screening potato starch for novel properties using differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, v.60, n.5, p.1060-1065. 1995.
- KOCH, Z. e CORRÊA, M. C. *Araucária. A floresta do Brasil meridional*. Curitiba: Olhar Brasileiro. 148 p. 2002.
- KOROLKOVAS, A. *Análise Farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1984.
- LE BAIL, P., MORIN, F. G. e MARCHESSAULT, R. H. Characterization of a crosslinked high amylose starch excipient. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.26, n.2-3, p.193-200. 1999.
- LE HIR, A. *Noções de farmácia galênica*. 6.ed. São Paulo: Organização Andrei. 444 p. 1997.
- LEMIEUX, M., GOSSELIN, P. e MATEESCU, M. A. Carboxymethyl high amylose starch as excipient for controlled drug release: Mechanistic study and the influence of degree of substitution. *International Journal of Pharmaceutics*, v.382, n.1-2, p.172-182. 2009.
- LEONEL, M. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, p.579-588. 2007.
- LOBATO, L. P., STAHL, J. A., BOCHI, V. C., KUBOTA, E., MONTAGNER, S. T., KRIESE, P. R., COSTABEBER, I. e EMANUELLI, T. Composição centesimal do amido de pinhão: nativo e modificado por fosfatação. Anais XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, 2586-2590. 2002.
- MA, H., ANDREWS, G. P., JONES, D. S. e WALKER, G. M. Low shear granulation of pharmaceutical powders: Effect of formulation on granulation and tablet properties. *Chemical Engineering Journal*, v.164, n.2-3, p.442-448. 2010.
- MARINICH, J. A., FERRERO, C. e JIMÉNEZ-CASTELLANOS, M. R. Graft copolymers of ethyl methacrylate on waxy maize starch derivatives as novel excipients for matrix tablets: Physicochemical and technological characterisation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.72, n.1, p.138-147. 2009.
- MATTOS, J. R. *O pinheiro brasileiro*. São Paulo: Grêmio Politécnico. 620 p. 1972.
- MEHTA, S., DE BEER, T., REMON, J. P. e VERVAET, C. Effect of disintegrants on the properties of multiparticulate tablets comprising starch pellets and excipient granules. *International Journal of Pharmaceutics*. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.11.017. 2011.
- MESTRES, C. Los estados físicos del almidón. Conferencia Internacional del almidón, Quito: Anais, 2. 1996.
- MINOLTA. *Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação*. Japão: Minolta Corporation. 59 p. 1998.
- MOORTHY, S. N. Extraction of starches from tuber crops using ammonia. *Carbohydrate Polymers*, v.16, n.4, p.391-398. 1991.

- MOOTER, G. V. D. The use of amorphous solid dispersions: A formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate. *Drug Discovery Today: Technologies*. doi: 10.1016/j.ddtec.2011.10.002. 2011.
- MURA, P., FAUCCI, M. T., MANDERIOLI, A., BRAMANTI, G. e CECCARELLI, L. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.18, n.1-2, p.151-163. 1998.
- NUNES, L. B., SANTOS, W. J. e CRUZ, R. S. Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da região do semi-árido baiano. *Alimentos e Nutrição*, v.20, n.1, p.129-134. 2009.
- ODEKU, O. A. e PICKER-FREYER, K. M. Freeze-dried pregelatinized *Dioscorea* starches as tablet matrix for sustained release. *Journal of Excipients and Food Chemistry*, v.1, n.2, p.21-32. 2010.
- ODEKU, O. A., SCHMID, W. e PICKER-FREYER, K. M. Material and tablet properties of pregelatinized (thermally modified) *Dioscorea* starches. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.70, n.1, p.357-371. 2008.
- OLIVAREZ, S. A. e NOREÑA, C. P. Z. Estudio da secagem das sementes de pinhão a diferentes temperaturas de ar. X Congresso Argentino de Ciencia y Tecnologia de Alimentos, Mar del Plata, Argentina: Ciencia Actual, Porto Alegre. 2006.
- PÉREZ-SIRA, E. Characterization of Starch Isolated from Plantain (*Musa paradisiaca normalis*). *Starch - Stärke*, v.49, n.2, p.45-49. 1997.
- PÉREZ, S. e BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch - Stärke*, v.62, n.8, p.389-420. 2010.
- PIFFERI, G. e RESTANI, P. The safety of pharmaceutical excipients. *Il Farmaco*, v.58, n.8, p.541-550. 2003.
- PIFFERI, G., SANTORO, P. e PEDRANI, M. Quality and functionality of excipients. *Il Farmaco*, v.54, n.1-2, p.1-14. 1999.
- PRAKASH, A. S. Characterization of solid excipients: delving deeper by probing the surface. *Journal of Excipients and Food Chemistry*, v.2, n.1, p.1-2. 2011.
- PRISTA, L. N., ALVES, A. C. e MORGADO, R. *Tecnologia Farmacêutica*. 4^a.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.
- RACHWAL, M. F. G., CARVALHO, P. E. R. e WITHERS, L. H. O. Roteiro de educação ambiental no arboreto da Embrapa Florestas. Colombo: Embrapa Florestas. Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc137.pdf>. Acesso em: 15 de novembro de 2011. 2006.

RACHWAL, M. F. G., CARVALHO, P. E. R. e WITHERS, L. H. O. Educação Ambiental na Trilha Ecológica da Embrapa Florestas. Colombo: Embrapa Florestas. Disponível em: <http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/Doc147.pdf>. Acesso em: 15 de novembro de 2011. 2007.

RASHID, I., AL-REMAWI, M., LEHARNE, S. A., CHOWDHRY, B. Z. e BADWAN, A. A novel multifunctional pharmaceutical excipient: Modification of the permeability of starch by processing with magnesium silicate. *International Journal of Pharmaceutics*, v.411, n.1-2, p.18-26. 2011.

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

RIBEIRO, M. C., METZGER, J. P., MARTENSEN, A. C., PONZONI, F. V. J. e HIROTA, M. R. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation*, v.142, n.6, p.1141-1153. 2009.

RODRIGUES, A. e EMEJE, M. Recent applications of starch derivatives in nanodrug delivery. *Carbohydrate Polymers*, v.87, n.2, p.987-994. 2012.

ROMERO-BASTIDA, C. A., BELLO-PÉREZ, L. A., GARCÍA, M. A., MARTINO, M. N., SOLORZA-FERIA, J. e ZARITZKY, N. E. Physicochemical and microstructural characterization of films prepared by thermal and cold gelatinization from non-conventional sources of starches. *Carbohydrate Polymers*, v.60, n.2, p.235-244. 2005.

ROWLEY, G. Starch. In. *Handbook of pharmaceutical excipients*. Washington: American Pharmaceutical Association. p.603-608. 2003.

SÁNCHEZ, L., TORRADO, S. e LASTRES, J. L. Gelatinized/freeze-dried starch as excipient in sustained release tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, v.115, n.2, p.201-208. 1995.

SANTOS, A. J., CORSO, N. M., MARTINS, G. e BITTENCOURT, E. Aspectos Produtivos e Comerciais do Pinhão no Estado do Paraná. *Floresta*, v.32, n.2, p.163-169. 2002.

SCHMITZ, P. I. Povos indígenas associados à Floresta com Araucária. In: Fonseca, C. R., Souza, A. F., Leal-Zanchet, A. M., Dutra, T. L., Backes, A. e Ganade, G. *Floresta com Araucária: Ecologia, Conservação e Desenvolvimento Sustentável*. Ribeirão Preto: Holos. p.45-54. 2009.

SHIMADA, Y., YONEZAWA, Y. e SUNADA, H. Measurement and evaluation of the adhesive force between particles by the direct separation method. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.92, n.3, p.560-568. 2003.

SILVA, G. D. O., KONKEL, F. E., OLIVEIRA, S. M. R., TAKIZAWA, F. F. e DEMIATE, I. M. Amidos nativos e modificados: propriedades e aplicações em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.37, p.101-106. 2003.

- SILVA, H. D., BELLOTE, A. F. J., FERREIRA, C. A. e BOGNOLA, I. A. Recomendação de solos para *Araucaria angustifolia* com base nas suas propriedades físicas e químicas. *Boletim de Pesquisa Florestal*, n.43, p.61-74. 2001.
- SINGLETON, V. L. e ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, v.16, p.144-158. 1965.
- SMOLINKSE, S. C. *Handbook of Food, Drug, and Cosmetic Excipient*. Boca Raton: CRC Press, 1992.
- SPADA, J. C. Uso do amido de pinhão como agente encapsulante. Mestrado (Dissertação). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 147 p., 2011.
- SPADA, J. C., MARCZAK, L. D. F., TESSARO, I. C. e NOREÑA, C. P. Z. Microencapsulation of β -carotene using native pinhão starch, modified pinhão starch and gelatin by freeze-drying. *International Journal of Food Science & Technology*, v.47, n.1, p.186-194. 2012.
- STAHL, J. A., LOBATO, L. P., BOCHI, V. C., KUBOTA, E. H., GUTKOSKI, L. C. e EMANUELLI, T. Physicochemical properties of pinhão (*Araucaria angustifolia*, Bert, O. Ktze) starch phosphates. *LWT - Food Science and Technology*, v.40, n.7, p.1206-1214. 2007.
- TAKIZAWA, F. F., SILVA, G. D. O. D., KONKEL, F. E. e DEMIATE, I. M. Characterization of tropical starches modified with potassium permanganate and lactic acid. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.47, p.921-931. 2004.
- TE WIERIK, G. H. P., EISSENS, A. C., BERGSMA, J., ARENDS-SCHOLTE, A. W. e BOLHUIS, G. K. A new generation starch product as excipient in pharmaceutical tablets: III. Parameters affecting controlled drug release from tablets based on high surface area retrograded pregelatinized potato starch. *International Journal of Pharmaceutics*, v.157, n.2, p.181-187. 1997.
- TESTER, R. F., KARKALAS, J. e QI, X. Starch - composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, v.39, n.2, p.151-165. 2004.
- THOMAS, D. J. e ATWELL, W. A. *Practical Guide for Food Industry. Starches*. Minnessota: Eagan Press, 1999.
- THOMPSON, J. E. *A practical guide to contemporary pharmacy practice*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998.
- THYS, R. C. S. Caracterização e avaliação de amido nativo e modificado de pinhão mediante provas funcionais e térmicas. Doutorado (Tese). Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 156 p., 2009.
- THYS, R. C. S., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., AIRES, A. G. e CLADERA-OLIVERA, F. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. *Journal of Food Engineering*, v.100, n.3, p.468-473. 2010.

THYS, R. C. S., WESTFAHL, H., NOREÑA, C. P. Z., MARCZAK, L. D. F., SILVEIRA, N. D. P. e CARDOSO, M. B. Effect of the Alkaline Treatment on the Ultrastructure of C-Type Starch Granules. *Biomacromolecules*, v.9, n.7, 2012/01/17, p.1894-1901. 2008.

USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2008.

VACLAVIK, V. A. e CHRISTIAN, E. W. *Essentials of Food Science*. 3rd.ed. New York: Springer. 571 p. 2008.

VANDEPUTTE, G. E. e DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. *Carbohydrate Polymers*, v.58, n.3, p.245-266. 2004.

VERDI, M. Flora Digital do Rio Grande do Sul: *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Disponível em: http://www6.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=3712. Acesso em: 02 de dezembro de 2011. 2010.

WALISZEWSKI, K. N., APARICIO, M. A., BELLO, L. A. e MONROY, J. A. Changes of banana starch by chemical and physical modification. *Carbohydrate Polymers*, v.52, n.3, p.237-242. 2003.

WANCZINSKI, B. J., FELIPE, D. F., CARDOSO, M. L. C. e CAVALCANTI, O. A. Desenvolvimento de comprimidos de AAS 500 mg: influência do Amido 1500® na compressão direta. *Acta Scientiarum*, v.24, n.3, p.649-655. 2002.

WEBER, F. H., COLLARES-QUEIROZ, F. P. e CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.29, p.748-753. 2009.

WILLIAMS, M. R. e BOWLER, P. Starch Gelatinization: A Morphological Study of Triticeae and Other Starches. *Starch - Stärke*, v.34, n.7, p.221-223. 1982.

WONG, D. W. S. *Química de los alimentos: Mecanismos y teoría*. Zaragoza: Acribia. 476 p. 1995.

WOSIACKI, G. e CEREDA, M. P. Characterization of Pinhão Starch. Part I. Extraction and Properties of the Starch Granules. *Starch - Stärke*, v.37, n.7, p.224-227. 1985.

WURZBURG, O. B. *Modified starches: properties and uses*. Boca Raton: CRC Press. 277 p. 1986.

YOON, H. S., LEE, J. H. e LIM, S. T. Utilization of retrograded waxy maize starch gels as tablet matrix for controlled release of theophylline. *Carbohydrate Polymers*, v.76, n.3, p.449-453. 2009.

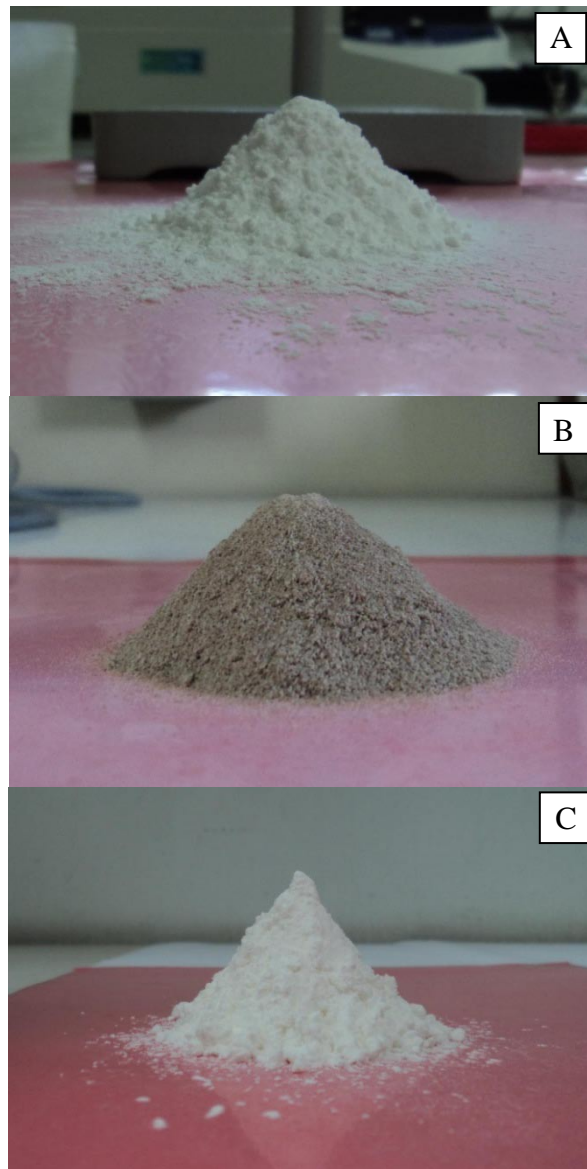
ZOBEL, H. F. Molecules to Granules: A Comprehensive Starch Review. *Starch - Stärke*, v.40, n.2, p.44-50. 1988.

Apêndice A

Fotografias das pilhas cônicas formadas pelos pós ao passarem pelo funil para a medida do ângulo de repouso.

A Figura A.1 apresenta as pilhas cônicas formadas pelas amostras após passarem pelo funil para determinar o ângulo de repouso.

Figura A.1. Pilhas cônicas formadas pelo amido de pinhão nativo (A), amido de pinhão cozido (B) e amido de milho farmacêutico (C) para determinação do ângulo de repouso.



Apêndice B

Relações entre propriedades e características de fluxo com ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner.

A tabela B.1 apresenta as propriedades de fluxo relacionadas com ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner.

Tabela B.1. Propriedades de fluxo e seus ângulos de repouso, índice de Carr e Fator de Hausner correspondentes.

Características de fluxo	Ângulo de repouso (°)	Índice de Carr (%)	Fator de Hausner
Excelente	25 – 30	≤ 10	1,00 – 1,11
Bom	31 – 35	11 – 15	1,12 – 1,18
Razoável	36 – 40	16 – 20	1,19 – 1,25
Aceitável	41 – 45	21 – 25	1,26 – 1,34
Pobre	46 – 55	26 – 31	1,35 – 1,45
Muito pobre	56 – 65	32 – 37	1,46 – 1,59
Muito, muito pobre	> 66	> 38	> 1,60

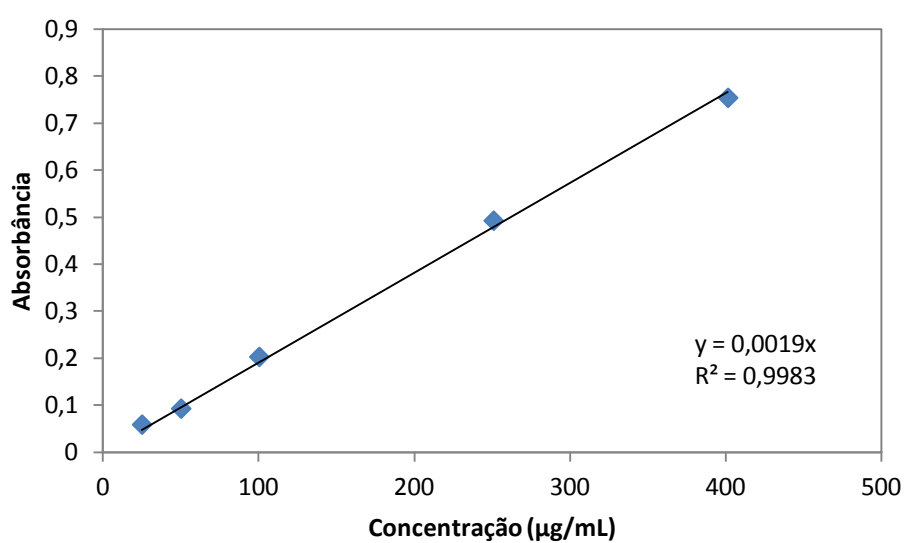
Fonte: Farmacopeia dos Estados Unidos (*USP 31: the United States pharmacopeia; NF 26: the national formulary*, 2008).

Apêndice C

Curva de calibração utilizada para determinação de compostos fenólicos.

A figura C.1 apresenta a curva de calibração utilizada na determinação da concentração de compostos fenólicos, bem como a equação da reta.

Figura C.1. Curva de calibração utilizada para a determinação da concentração de compostos fenólicos.



Apêndice D

Fotografias dos amidos analisados

A Figura D.1 apresenta as fotografias dos amidos analisados.

Figura D.1. Fotografias para verificação da cor dos pós: APN (A), AMF (B) e APC (C).

