

LUCIENE PATRÍCIA VIEIRA

**ESTUDO DE PROPRIEDADES DO SISTEMA MACROMOLECULAR
AMIDO POR ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL
NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
JUNHO - 1998

LUCIENE PATRÍCIA VIEIRA

**ESTUDO DE PROPRIEDADES DO SISTEMA MACROMOLECULAR
AMIDO POR ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL
NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

Aprovada: 27 de fevereiro de 1998.

Prof. Efraim Lázaro Reis
(Conselheiro)

Prof. Per Christian Braathen
(Conselheiro)

Prof. César Reis

Prof^a Maria Eliana Ribeiro de Queiroz

Prof. German Enrique Cares Cuevas
(Orientador)

A Deus.

Aos meus pais, Gabriel e Maria da Conceição.

Ao querido Roberto.

AGRADECIMENTO

A Deus, pela oportunidade de vida e realização deste trabalho.

Aos meus pais, em especial, pelo constante apoio, pela força, pelo amor e pela dedicação.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade oferecida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

Aos Departamentos de Tecnologia de Alimentos, Física e Solos da Universidade Federal de Viçosa.

Um especial agradecimento ao professor Luís Henrique Mendes da Silva, pela grande participação na realização deste trabalho, por sua valiosa colaboração no desenvolvimento e aperfeiçoamento da dissertação, pelo constante empenho, apoio e aconselhamento, pela dedicação, pela confiança e pela amizade.

Ao professor German Enrique Cares Cuevas, pela confiança, pelos conselhos e pela oportunidade.

Aos professores Efraim Lázaro Reis, Per Christian Braathen, Maria Eliana Ribeiro de Queiroz e César Reis, pelas sugestões, pela disponibilidade e pelo aconselhamento.

Ao professor Paulo Gontijo e a todos os professores e funcionários do Departamento de Química da UFV, que contribuíram para realização deste trabalho.

Aos professores Valdir Mano, Mônica Piroli, Marcos da Silva Couto e Roberto Santos Barbieri.

Em especial ao Roberto, pela constante presença, pelo carinho e pela compreensão.

Aos amigos Rodrigo e Márcio, pela valiosa colaboração na realização deste trabalho.

À Carminha, pela amizade e pela compreensão.

Aos amigos Malu, Márcia, Cristina, Lucinha, Zé Luis, Adriana, Gislene e Luzia.

Aos meus tios, Alda e Francisco, pelo apoio e pela amizade.

A toda minha família, que sempre me apoiou e esteve à disposição para ajudar em qualquer eventualidade.

A todos que, de uma maneira ou de outra, contribuíram para realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

LUCIENE PATRÍCIA VIEIRA, filha de Gabriel Gonçalves Vieira e Maria da Conceição Vieira, nasceu em 20 de março de 1971, em Vermelho Novo, Minas Gerais.

Em julho de 1995, concluiu o Curso de Bacharelado em Química, pela Universidade Federal de Viçosa. Realizou estágios, a fim de complementar seu curso, em indústrias e na Universidade Federal de Viçosa, na área de Química Analítica, tendo participado diretamente da realização de trabalhos científicos, que foram posteriormente publicados. Foi aluna de iniciação científica por um período de dois anos.

Em agosto de 1995, ingressou no Curso de Mestrado em Agroquímica, defendendo sua dissertação de “Magister Scientiae” em fevereiro de 1998.

Durante sua vida acadêmica, participou de Encontros da Sociedade Brasileira de Química e de um Simpósio de Iniciação Científica, com apresentação de trabalhos.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Grão de amido	2
1.1.1. Amilose	4
1.1.2. Amilopectina	5
1.2. Filme de amido	6
1.2.1. Gelatinização.....	6
1.2.2. Retrogradação.....	7
1.2.3. Modificação do amido.....	9
1.3. Aspectos da espectroscopia vibracional na região do infravermelho	10
1.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho como uma ferramenta de identificação	11
1.3.2. Regra de seleção	13
1.3.3. Intensidade	15
1.3.4. Dicroísmo no infravermelho em sólidos	15

	Página
1.3.5. Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier	18
1.3.6. Espectroscopia de transmissão	21
1.3.7. Objetivo.....	22
2. MATERIAL E MÉTODOS	23
2.1. Preparo das amostras	23
2.2. Obtenção de espectros por transmissão, na região do infravermelho	24
2.2.1. Amostra do grão de amido em pó	24
2.2.1.1. Amostra preparada em pastilha de KBr	24
2.2.1.2. Amostra preparada em Nujol	25
2.2.2. Amostra do filme polimérico de amido	25
2.3. Estudo da difusão de moléculas de água no grão de amido	25
2.4. Estudo da difusão de moléculas de água no filme de amido	26
2.5. Análise termogravimétrica (TGA)	27
2.6. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho da interação do filme de amido com sulfeto de hidrogênio (H ₂ S)	27
2.6.1. Preparo do gás sulfeto de hidrogênio (H ₂ S)	27
2.6.2. Introdução de H ₂ S no filme de amido	28
2.7. Estudo espectroscópico vibracional e eletrônico da interação do filme de amido com moléculas de iodo (I ₂)	29
2.7.1. Filme pré-exposto	29
2.7.2. Filme pós-exposto	30
2.8. Aquisição de dados	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.1. Apresentação de espectros vibracionais FT-IR do grão de amido em pó	33
3.2. Atribuições das bandas em termos de modos normais vibracionais de grupos funcionais pertencentes às moléculas presentes no grão de amido	33
3.2.1. Atribuição de grupos funcionais na região de 4.000-3.000 cm ⁻¹	35
3.2.2. Atribuição de grupos funcionais na região de 3.000 - 2.840 cm ⁻¹	38
3.2.3. Atribuição de grupos funcionais na região de 1.780 - 1.565 cm ⁻¹	40

	Página
3.2.4. Atribuição de grupos funcionais na região de 1.565 - 270 cm^{-1}	41
3.3. Retrogradação do amido	42
3.4. Apresentação dos espectros FT-IR do filme de amido, por transmissão	44
3.5. Análise comparativa dos espectros na região do infravermelho do grão de amido em pó e do filme de amido	44
3.5.1. Região de 4.000 - 3.000 cm^{-1}	45
3.5.2. Região de 3.000 - 2.840 cm^{-1}	46
3.5.3. Região de 1.780 - 1.565 cm^{-1}	46
3.5.4. Região de 1.565 - 242 cm^{-1}	48
3.6. Difusão de moléculas de água no grão de amido em pó	49
3.6.1. Resultados obtidos a partir dos espectros do grão de amido em pó, após exposição a diferentes temperaturas	49
3.7. Difusão de moléculas de água no filme de amido	57
3.7.1. Resultados obtidos a partir dos espectros do filme de amido, após exposição a diferentes temperaturas	57
3.8. Análise termogravimétrica (TGA)	66
3.9. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho da interação do filme de amido com sulfeto de hidrogênio - (H_2S)	67
3.10. Interação do filme de amido com moléculas de iodo (I_2)	71
3.10.1. Estudo espectroscópico eletrônico no UV-visível	71
3.10.2. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho	76
4. RESUMO E CONCLUSÕES	78
5. SUGESTÕES	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

EXTRATO

VIEIRA, Luciene Patrícia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, junho de 1998. **Estudo de propriedades do sistema macromolecular amido por espec-troscopia vibracional na região do infravermelho.** Orientador: German Enrique Cares Cuevas. Conselheiros: Efraim Lázaro Reis e Professor Per Christian Braathen.

Este trabalho constituiu de um estudo do amido, que é um sistema físico-químico e multicomponente. Para sua realização, utilizou-se um amido extraído da mandioca. Como ferramentas de estudo, foram utilizadas as técnicas de espectroscopia eletrônica na região do UV-visível, análise termogravimétrica (TGA) e, principalmente, espectroscopia vibracional na região do infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR). Verificou-se que essas técnicas permitem estudar potencialmente os fenômenos físicos e químicos do sistema amido, como a adsorção e a difusão de moléculas. Fez-se um estudo com amostras do amido em pó e do amido na forma de filme polimérico, obtido por meio da gelatinização e posterior retrogradação do grão de amido. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos, com o objetivo de estudar algumas propriedades estruturais do amido. Fez-se um estudo da difusão de moléculas de água no amido em pó e no filme de amido, por meio do aquecimento das amostras a diferentes temperaturas, e avaliaram-se os parâmetros intensidade e posição das bandas de absorção

dos espectros no infravermelho. Os resultados evidenciaram que o estudo da difusão pode ser acompanhado com mais clareza no filme de amido que no amido em pó, principalmente pelo fato de que a densidade de moléculas no caminho óptico da radiação infravermelha deve ser constante. Em relação aos estudos com moléculas de água, realizou-se, também, uma análise termogravimétrica (TGA) do grão e do filme de amido, avaliando-se os termogramas obtidos, tendo sido verificados os mesmos eventos térmicos nas duas amostras. Um evento térmico foi atribuído à evaporação de moléculas de água, o outro se deu em função de quebra de ligações com formação de compostos voláteis. Outro estudo realizado foi a capacidade do filme de amido em adsorver gás sulfeto de hidrogênio (H_2S) e vapores de iodo. Para tanto, utilizaram-se as técnicas espectroscópicas vibracional no infravermelho e eletrônica no UV-visível. Pelos espectros obtidos, pôde-se concluir que o filme de amido possui uma boa capacidade de adsorção e dessorção de gases; já na análise dos espectros obtidos após a introdução de vapores de iodo no filme, constatou-se que pode haver formação de dois tipos de complexos entre o amido e as moléculas de iodo: complexos de poliodeto e complexos de transferência de carga.

ABSTRACT

VIEIRA, Luciene Patricia, M.S., Universidade Federal de Viçosa, June 1998.
Study of the properties of the starch macro molecular system by vibrational spectroscopy in the infrared region. Adviser: German Enrique Cares Cuevas. Committee Members: Efraim Lázaro Reis and Per Christian Braathen.

This investigation consisted of a study of starch, which is a multicomponent physical-chemical system. To undertake the investigation starch extracted from cassava was used. As tools for the investigation, techniques of electronic spectroscopy in the region UV-Visible, thermogravimetric analysis (TGA) and, foremost, the technique of vibrational spectroscopy in the infrared region with Fourier transformer (FT-IR) was employed. It was verified that these techniques allow for the potential study of physical and chemical phenomena of the starch system; such as adsorption and diffusion of molecules. The investigation was carried out both with powdered starch as well as with thin polymeric films, obtained through gelatinization followed by retrogradation of the starch grain. Spectra in the infrared region was obtained with the purpose of studying some structural properties of the starch. A study of the diffusion of water molecules in the powder and in the film was carried out, through heating of the samples to different temperatures and evaluating the parameters intensity and position of the absorption bands in the infrared spectra. The results shows that the

diffusion can be followed more clearly in the starch film than in the powdered starch, mainly due to the fact that the molecular density in the optical path of the infrared radiation should be constant. Also regarding the study with water molecules, a thermogravimetric analysis (TGA) was also carried out with the grain and the film. Evaluating the obtained thermograms identical thermal events was observed for both samples. One thermal event was attributed to the evaporation of water molecules, and the other thermal event occurred as a consequence of the breakup of bonds and formation of volatile compounds. Also carried out was a study of the capacity of the starch film to absorb hydrogen sulfide gas (H_2S) and iodine vapors. For this purpose vibrational spectroscopy in the infrared and electronic spectroscopy in the UV-Visible was used. From the obtained spectra it can be concluded that the starch film exhibits good capacity for absorption and desorption of gases; as for the spectra obtained after the introductions of iodine vapors in the film, the formation of two kinds of complexes was observed for the starch and iodine molecules: polyiodide complexes (blue) and charge transference complexes (yellow).

1. INTRODUÇÃO

O amido é uma fonte expressiva de matéria-prima. A sua utilização tanto na indústria alimentícia quanto em outras indústrias é indiscutivelmente ampla, sendo maior do que os métodos normais de projeção econômica indicam (WHISTLER et al., 1984). Em um pequeno espaço de tempo, mostrou uma rápida e constante taxa de crescimento.

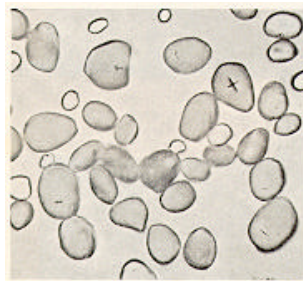
Novos eventos, como a produção de polímeros biodegradáveis, mais transparentes e de baixo custo, estão aumentando a demanda de amido, de forma sempre crescente, e tornando ainda mais necessário um entendimento das mudanças que ocorrem com este tipo de grão, em nível estrutural. Porém, a maioria dos estudos relacionados com o amido é realizada por técnicas que não fornecem informações sobre as mudanças estruturais, como a microscopia eletrônica, os métodos calorimétricos etc. Iniciou-se, então, a utilização de outras técnicas para estudo estrutural do amido: RMN, espectroscopia Raman e espectroscopia no infravermelho.

O maior grupo de pesquisa se encontra nos Estados Unidos, estudando principalmente o amido extraído do milho. Porém, nos países ainda em desenvolvimento, uma das principais fontes de alimento é o amido proveniente da mandioca. Este trabalho está totalmente voltado para esse sistema, que tem sido física e quimicamente pouco pesquisado, principalmente no que se refere ao estudo estrutural em nível molecular. Realizou-se, então,

um estudo da estrutura do grão de amido, por espectroscopia vibracional na região do infravermelho.

1.1. Grão de amido

O grão de amido está presente no cloroplasto dos vegetais superiores, especificamente em cereais, tubérculos e raízes. Ele aparece em várias formas e tamanhos, mais freqüentemente com a superfície arredondada ou esférica, variando entre 2×10^{-6} e 150×10^{-6} m (2 e 150 μ m) (Figura 1).



Fonte: RADLEY (1976).

Figura 1 - Grãos de amido.

Na estrutura do grão de amido, existem áreas cristalinas com macromoléculas radialmente orientadas e regiões amorfas com espaços vazios, formando uma extensa rede micelar (BADENHUIZEN, 1987). Existem também evidências da presença de fendas submicroscópicas e cavidades no grão de amido, observadas por microscópio eletrônico.

Porém, quando uma suspensão de amido é submetida ao calor, a rede micelar, que controla a ação do amido em água, enfraquece por ruptura de ligações de hidrogênio, facilitando o intumescimento do grão, pois com a diminuição de ligações de hidrogênio há uma maior facilidade de penetração de moléculas de água para o interior do grão (WHISTLER et al., 1984).

O grão de amido é considerado, sob o ponto de vista físico-químico, um sistema multicomponente, composto, em sua maioria, de macromoléculas,

principalmente amilose e amilopectina, que estão associadas entre si por ligações de hidrogênio (GIDLEY e BULPIN, 1989). Além destes polissacarídeos, o grão de amido contém compostos nitrogenados (proteínas, nucleotídeos e aminoácidos), lipídeos e espécies inorgânicas (K^+ , Na^+ , PO_4^{3-}), que apesar de estarem presentes em baixa concentração podem influenciar bastante as propriedades do amido e são, geralmente, considerados como impurezas, por não estarem covalentemente ligados aos polissacarídeos que compõem o grão de amido (WHISTLER et al., 1984).

As proporções de amilose e amilopectina variam entre os amidos procedentes de diferentes espécies vegetais, e mesmo entre amidos provenientes da mesma espécie, as proporções de amilose e de amilopectina variam de acordo com o grau de maturação das plantas (CIACCO e CRUZ, 1982). No amido de mandioca, por exemplo, existe cerca de 18% de amilose, já o amido de milho apresenta 80% de amilose (GARRETT e GRISHAM, 1995).

O arranjo conformacional e configuracional das macromoléculas que compõem o amido permite a formação de ligações de hidrogênio intermolecular e torna o grão de amido insolúvel em água fria, apesar de essas macromoléculas serem altamente hidroxiladas e, portanto, hidrofílicas. Sob o ponto de vista molecular, tal comportamento pode ser atribuído ao fato de as interações entre as macromoléculas e entre as moléculas de água serem mais intensas que as interações entre as moléculas de água e as macromoléculas.

Termodinamicamente, pode-se também afirmar que a energia livre de Gibbs do processo de não-solubilização é positiva, isto é, a energia livre de Gibbs do sistema amido-água (não-solubilizado) é menor que a energia livre de Gibbs do sistema macromoléculas-água (solubilizadas).

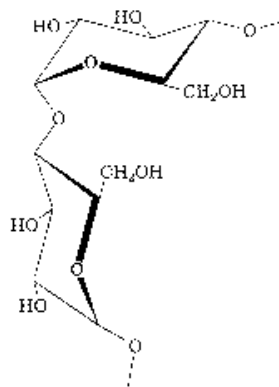
Analisando esses dois sistemas por processos entrópicos e entálpicos, percebe-se que o sistema amido-água (não-solubilizado) possui menor entropia que o sistema macromoléculas-água (solubilizadas).

Termodinamicamente, o processo é favorecido por levar a variação de entropia a um valor maior que zero ($\Delta S > 0$), possibilitando, assim, a solubilização do amido em água fria. Porém, o processo de não-solubilização, neste caso, possui ($\Delta H > 0$) e tem prioridade sobre a entropia.

Com isso, pode-se reafirmar que o sistema amido-água não-solubilizado é mais estável que o sistema amido-água solubilizadas, já que este último possui maior energia livre.

1.1.1. Amilose

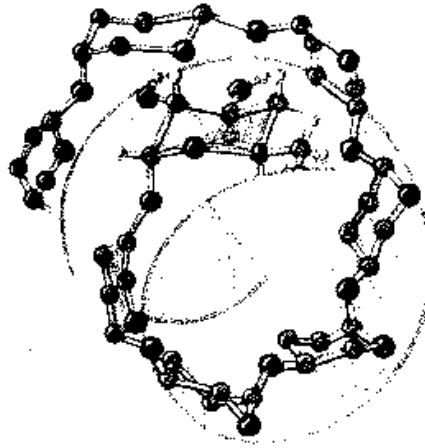
A amilose é um polissacarídeo composto por unidades de D-glicose, ligadas entre si por ligações α 1 \rightarrow 4 (Figura 2), em número que varia de 200 a 10.000 (GARRETT e GRISHAM, 1995).



Fonte: GARRETT e GRISHAM (1995).

Figura 2 - Moléculas de glicose unidas por ligação α 1 \rightarrow 4.

Na forma cristalina possui uma conformação helicoidal, tendo esta hélice um interior hidrofóbico, em virtude das ligações glicosídicas na configuração α , dentro da qual podem se acomodar moléculas de iodo, formando um composto de inclusão de cor azul intensa. Em soluções muito diluídas, a macromolécula de amilose existe como segmento distendido, com os turnos da hélice muito separados uns dos outros, para permitir a formação de ligações de hidrogênio entre ciclos subseqüentes da hélice (Figura 3) (LEHNINGER et al., 1995).



Fonte: LEHNINGER et al. (1995).

Figura 3 - Estrutura helicoidal da macromolécula de amilose.

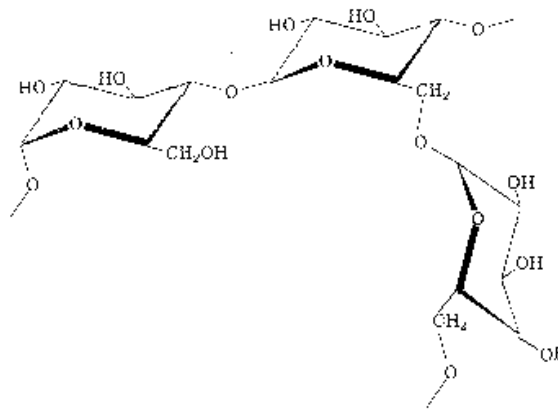
Os grãos de amido possuem polissacarídeos empacotados densamente e incluem também regiões ordenadas (cristalinidade), nas quais estão envolvidas a cristalização das ramificações da amilopectina. Considera-se que, nos grãos de amido, a amilose está mais presente nas fases amorfas (GIDLEY, 1989).

1.1.2. Amilopectina

A amilopectina é um polissacarídeo composto por pequenas cadeias de amilose (20 a 25 unidades de D-glicose), ligadas entre si por ligações α 1 \rightarrow 6, formando uma estrutura ramificada, que constitui 4 a 5% do total das ligações glicosídicas (Figura 4).

Tal estrutura, embora não perfeitamente estabelecida, confere à amilopectina uma forma esférica, diferenciada por três tipos de cadeias:

- cadeias de amilose sem grupos OH comprometidos no carbono 6;
- cadeias de amilose com um ou mais grupos OH no carbono 6; e
- cadeias com grupos redutores comprometidos.



Fonte: GARRETT e GRISHAM (1995).

Figura 4 - Moléculas de glicose unidas por ligações α 1 \rightarrow 4 e α 1 \rightarrow 6.

1.2. Filme de amido

1.2.1. Gelatinização

A gelatinização baseia-se na difusão de água para o interior do grão de amido, causando sua hidratação e seu posterior intumescimento. O intumescimento dos grãos se dá numa determinada faixa de temperatura, chamada de temperatura de gelatinização (MILES et al., 1985). Nessa faixa de temperatura, específica para amidos de diferentes origens (para o amido de mandioca a faixa varia entre 58 e 70°C), são rompidas as ligações de hidrogênio entre cadeias de amilose e amilopectina. A quantidade e a distribuição de água no interior do grão são criticamente importantes no que diz respeito às reações químicas e propriedades físicas do amido, bem como o entendimento do papel da água no processamento industrial de amido ou em materiais que contêm amido (WHISTLER et al., 1984).

Estudos sobre a gelatinização da amilose, da amilopectina e do grão de amido como um todo têm sido feitos. MILES et al. (1985) realizaram um trabalho de gelatinização da amilose, com formação de uma rede polimérica tri-dimensional, e observaram, por difração de raio X, uma baixa cristalinidade do polímero.

Outros estudos demonstram que a amilose precipita a partir de soluções aquosas diluídas, formando géis em sistemas mais concentrados. Duas das principais variáveis na gelatinização da amilose são o tamanho da cadeia e a concentração do polímero (CLARK et al., 1989). O tamanho da cadeia (grau de polimerização) também tem uma forte influência na velocidade de agregação da amilose, em soluções altamente concentradas.

1.2.2. Retrogradação

A retrogradação envolve mudanças no estado físico-químico de soluções aquosas, pasta ou gel de amido; mais especificamente, refere-se à agregação e cristalização parcial de moléculas de amido. A velocidade da retrogradação é afetada pela concentração de amilose e amilopectina, pelo tamanho molecular, pela temperatura, pelo pH e por outros componentes que podem estar presentes no meio.

Segundo Holló et al. (1960), citados por ROSARIO e POTIVEROS (1983), a retrogradação é realizada em três estágios:

- estiramento da cadeia, em virtude da quebra de ligações intermoleculares que mantêm a conformação helicoidal;
- perda de água ligada, seguida por uma adequada reordenação das moléculas; e
- formação de ligação de hidrogênio entre moléculas adjacentes, formando uma estrutura cristalina.

Por meio de uma revisão bibliográfica, pôde-se constatar que a habilidade da amilose retrogradar a partir de soluções aquosas há muito já era conhecida (Meyer, 1952, citado por RING et al., 1987).

Segundo Langlois e Wagoner (1967), citados por ROSARIO e POTIVEROS (1983), o fenômeno de retrogradação resulta de ligações de hidrogênio entre moléculas de amido que possuem grupos hidroxilas e sítios receptores de hidrogênio. Pelo fato de as macromoléculas de amilose serem lineares e extendidas, são mais livres para se orientarem que as macromoléculas de amilopectina, que são moléculas ramificadas, mais largas e

compactas. A estrutura da amilose permite a formação de muitas ligações de hidrogênio entre sítios subseqüentes de moléculas, por isto a retrogradação está quase que exclusivamente associada com a fração amilose.

Porém, RING et al. (1987) relataram que mais tarde foi descoberta a possibilidade de retrogradação da amilopectina. Evidências experimentais relacionaram as mudanças ocorridas no comportamento mecânico da cristalização da amilopectina a partir do grão de amido gelatinizado, surgindo a primeira proposta de a amilopectina participar da retrogradação. SCHOCH (1965) mostrou que, em contraste ao resfriamento e à subseqüente cristalização da amilose, a cristalização da amilopectina pode ser convertida por aquecimento, a 100°C.

A retrogradação do amido é de grande importância industrial, particularmente em indústrias alimentícias, por atuar diretamente na textura e digestibilidade de alimentos (RING et al., 1987). É também importante em indústrias têxteis, de papel e de adesivos, nas quais há necessidade de manter um padrão em cada "fornada". Há também um grande interesse por parte das indústrias de polímeros, principalmente por causa do seu baixo custo e de sua biodegradabilidade.

A maioria dos estudos com filmes de amido retrogradados é realizada por técnicas que não fornecem informações diretas a respeito das mudanças estruturais em nível molecular; dentre as mais utilizadas podem ser citadas: difração de raio X (BHATNAGAR e HANNA, 1996), calorimetria diferencial de varredura (WARD et al., 1994), microscopia eletrônica (HIBI et al., 1993), análise térmica (YUAN et al., 1993) e métodos reológicos (MILES et al., 1985). Atualmente, outras técnicas espectroscópicas têm sido utilizadas para estudo da retrogradação do amido: Raman (BULKIN e KWAK, 1987), RMN (WU e EADS, 1993; TEO e SEOW, 1992) e FT-IR (SOEST et al., 1994; VASKO et al., 1971).

SOEST et al. (1994) acompanharam, por espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier, a cinética de retrogradação para o sistema água-amido (amido de batata) e compararam com amido de milho ceroso. Os espectros evidenciaram que os estiramentos C-C e C-O, na região de 1.300 - 800 cm^{-1} , são sensíveis ao processo de retrogradação, em virtude das mudanças conformacionais.

ROSARIO e PONTIVEROS (1983) analisaram a tendência de retrogradação de algumas misturas de amidos, em duas temperaturas de armazenagem: 10 e 30°C. Eles estudaram a cinética do processo de cristalização e concluíram que esta difere bastante para as duas temperaturas e para os vários amidos.

A maioria dos trabalhos tem sido direcionada para estudos de amidos modificados, pois, com a modificação, a gama de utilização do amido aumenta consideravelmente, nas mais variadas áreas: na mineração, na metalúrgica, na construção civil, na fabricação de papel e na indústria têxtil.

1.2.3. Modificação do amido

Achou-se conveniente descrever alguns exemplos de modificações de amido mais comumente realizadas.

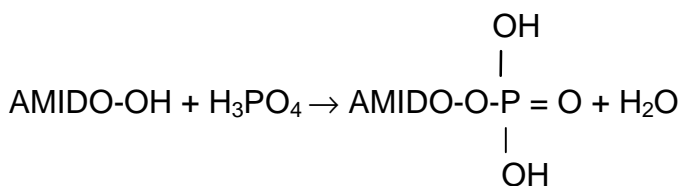
A modificação do amido pode ser química ou física, desde que sua estrutura seja transformada e moldada, e suas propriedades diferenciadas.

Existem vários tipos de amidos modificados:

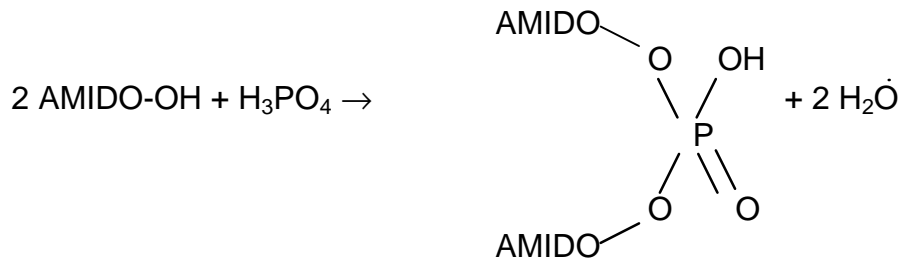
O amido modificado por ácido, que é obtido pelo tratamento do amido granular com uma solução ácida, a uma temperatura ligeiramente inferior à temperatura de gelatinização. O produto obtido possui a aparência do amido normal, mas a viscosidade da pasta quente é menor. É usado em indústria têxtil, para aumentar a resistência das linhas de tecelagem; também é muito usado em indústrias alimentícias.

O amido fosfatado, que pode ser dividido em dois grupos:

- Amido mono-éster-fosfato, em que o grupo hidroxila do amido é esterificado por um dos três hidrogênios ácidos do ácido fosfórico.



- Amido di-éster-fosfato, em que dois dos três hidrogênios ácidos do ácido fosfórico esterificam o amido.



O amido fosfatado é solúvel ou parcialmente solúvel em água fria. Possui maior claridade da pasta, maior viscosidade e grande resistência à retrogradação. Além do uso em alimentos, é também utilizado em indústrias siderúrgicas, de papel e outras (CIACCO e CRUZ, 1982).

Dentre os trabalhos com amido modificado, pode-se citar o de BHATNAGAR e HANNA (1996), no qual os amidos de mandioca, trigo, arroz e batata foram extrusados com 30% de polietileno e 5% de silicato de magnésio, ou 1% de policarbonato ou 0,5% de azodicarbonamida, a uma temperatura de 140°C, e centrifugado a 140 rpm. Posteriormente, foi realizado um estudo de difração de raio X, densidade, solubilidade em água e compressibilidade.

Existem atualmente várias patentes de filmes de amido modificados, dentre elas podem ser citadas a fabricação de filmes à base de amido e a fabricação de plásticos biodegradáveis com boa transparência (KOBAYASHI et al., 1996); e a composição de amido biodegradável modificado (NOAKI, 1995).

Como pode ser observado, o filme de amido já é muito importante nas indústrias de polímeros, o que torna ainda mais necessário o seu estudo em nível molecular; uma técnica apropriada é a espectroscopia vibracional na região do infravermelho por transformada de Fourier.

1.3. Aspectos da espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro do infravermelho de um composto é provavelmente sua propriedade física mais singular. Exceto para os isômeros óticos, não existem

dois compostos, com diferentes estruturas, que possuem o mesmo espectro no infravermelho. Em alguns casos, como os polímeros que diferem pouco na massa molar, esta diferença no espectro pode ser até mesmo indistinguível, porém sabe-se que ela está lá. Em muitos momentos, o espectro no infravermelho é a única “impressão digital molecular” que pode ser contada para distinguir entre dois compostos (SMITH, 1987).

A espectroscopia no infravermelho tem sido pouco citada na literatura como método de estudo do amido, apesar de ser uma das ferramentas espectroscópicas mais usadas na pesquisa de polímeros (KOENIG, 1992).

Potencialmente, essa técnica permite estudar a estrutura do grão de amido, quando este é modificado quimicamente, ou simplesmente quando sofre processos físicos, como a difusão de moléculas para o interior do grão.

Dentre as vantagens de utilizar a espectroscopia no infravermelho, podem ser citadas: rapidez, sensibilidade e fácil amostragem.

Experimentalmente, essa técnica fornece um gráfico (espectro), no qual no eixo das ordenadas se encontram os valores da intensidade da radiação transmitida e no eixo das abcissas, os valores dos números de onda (ν).

As características dos parâmetros das bandas que são medidos nesse espectro são: número de onda (associado à constante de força de uma dada ligação química ou de um conjunto de ligações químicas), intensidade (associada com a taxa de variação do momento de dipolo da molécula que está vibrando), forma da banda (associada com o ambiente ao redor da molécula ou do grupamento da molécula) e polarização dos diferentes modos, isto é, a direção do momento de transição na estrutura da molécula.

A espectroscopia no infravermelho permite calcular o nível de energia vibracional das moléculas.

1.3.1. Espectroscopia na região do infravermelho como uma ferramenta de identificação

As moléculas são constituídas de átomos, que são mantidos juntos por ligações covalentes. Estes átomos vibram por energia térmica, dando a cada molécula um conjunto de vibrações de ressonância, que é análogo ao modo de ressonância de estruturas mecânicas. Por isto, quando uma radiação incidente

passa através do material, ela é absorvida somente na frequência correspondente ao modo de vibração da molécula, e a intensidade da radiação transmitida é, então, colocada em um gráfico, em função da frequência, produzindo as bandas de absorção (absorção do espectro).

A espectroscopia na região do infravermelho baseia-se na interação da radiação eletromagnética com a matéria (Quadro 1), possibilitando, assim, que as moléculas formadoras do sistema possam sofrer transições em seus níveis rotovibracionais.

Quadro 1 - Regiões espectrais do infravermelho

Região	Comprimento de Onda (λ) Faixa (μ)	Número de Onda (ν) Faixa (cm^{-1})	Frequência (ν) Faixa (Hz)
Infravermelho Distante	0,78 a 2,5	12.800 a 4.000	$3,8 \times 10^{14}$ a $1,2 \times 10^{14}$
Infravermelho Médio	2,5 a 50	4.000 a 200	$1,2 \times 10^{14}$ a $6,0 \times 10^{12}$
Infravermelho Próximo	50 a 1000	200 a 10	$6,0 \times 10^{12}$ a $3,0 \times 10^{11}$
Mais usada	2,5 a 15	4.000 a 670	$1,2 \times 10^{14}$ a $2,0 \times 10^{13}$

Fonte: SKOOG e LEARY (1992).

É sabido que uma molécula formada de N átomos possui $3N - 6$ modos vibracionais fundamentais ($3N - 5$ para moléculas lineares) e que a cada modo normal vibracional estão associados diferentes autovalores e autofunções. Um modo normal de vibração é definido como o modo no qual o centro de massa da molécula não se move, e os átomos se movem com a mesma frequência e em fase.

1.3.2. Regra de seleção

Algumas frequências vibracionais são propícias a aparecer no espectro do infravermelho e são previstas pela regra de seleção. A primeira condição para que haja absorção no infravermelho é que a frequência da radiação incidente deve corresponder à frequência de vibração da molécula (KOENIG, 1992).

Para que um modo vibracional apareça no espectro do infravermelho e, portanto, para que haja absorção de energia da radiação incidente, é essencial que ocorra assimetria na distribuição das cargas elétricas durante a vibração da molécula, ou seja, modificação periódica no momento do dipolo (μ) molecular.

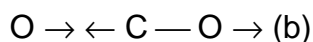
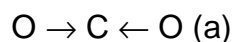
A intensidade da absorção ou emissão é proporcional ao quadrado da mudança do momento de dipolo. Para n modos, a intensidade I é dada por:

$$I_n = C [\delta\mu / \delta Q]^2 \quad \text{equação 1}$$

em que C é a constante de proporcionalidade; μ é o momento de dipolo; e Q é a coordenada de deslocamento do movimento.

O estiramento da ligação de grupo de átomos com eletronegatividade diferente causa grande variação do momento de dipolo, e a intensidade de absorção no infravermelho também deverá ser alta. Se o momento de dipolo é pequeno, ou seja, átomos com eletronegatividade similar, a intensidade de absorção deverá ser baixa. Se não existe variação no momento de dipolo, não ocorre absorção no infravermelho, porém há possibilidade de a vibração da própria molécula ocorrer na mesma frequência de vibração do infravermelho, mas ser totalmente invisível ao feixe de radiação. Por exemplo, quando se consideram os dois modos de vibração do CO_2 no plano (Figura 5). O momento de dipolo médio é zero, quando o deslocamento das cargas de ambas as ligações se somam, não perturbando a simetria da molécula (KOENIG, 1992).

Na vibração totalmente simétrica (Figura 5(a)), os dois átomos de oxigênio se movem sucessivamente em fase (se afastando e se aproximando



Fonte: KOENIG (1992).

Figura 5 - As duas vibrações de estiramento no plano, simétrica (a) e assimétrica (b), do CO₂.

do átomo de carbono). A mudança no momento de dipolo de uma ligação C-O é balanceada pela mudança da ligação C-O oposta. A simetria da molécula é mantida nesta vibração e não existe mudança no dipolo total da molécula. Não existe, também, absorção no infravermelho, mas haverá absorção no Raman. No entanto, no modo normal assimétrico (Figura 5(b)), a simetria da molécula é perturbada, existindo mudança no momento de dipolo médio e ocorrendo, assim, absorção no infravermelho.

Para a molécula de CO₂, a regra de seleção pode ser obtida simplesmente pelas vibrações que estão ocorrendo. Para as moléculas mais complicadas, a regra de seleção pode ser determinada a partir de considerações simétricas, pois a simetria é útil na determinação do tipo de movimento das cargas nas moléculas.

Uma regra simples é: ligações polares proporcionam forte absorção no infravermelho e ligações apolares, não (KOENIG, 1992).

No estudo de espectros do infravermelho, pode ser que apareçam algumas bandas a mais que $(3N - 6)$. Essas bandas são chamadas de "overtone". Elas resultam a partir de termos anarmônicos na energia potencial. A banda "overtone" aparece aproximadamente a $2\nu_i$, em que ν_i é a frequência de vibração da molécula no estado fundamental. Normalmente, elas possuem menor intensidade que as bandas fundamentais.

1.3.3. Intensidade

Quando a radiação infravermelha é absorvida pela molécula, a intensidade da absorção depende do movimento das cargas eletrônicas durante a vibração da molécula.

O momento de dipolo elétrico da molécula é dado por:

$$\mu_0 = \sum_n e_n X_n \quad \text{equação 3}$$

em que e_n é a carga da n ésima partícula; e X_n é a posição da n ésima partícula num espaço fixo no sistema de coordenadas. O momento de dipolo elétrico μ , para uma molécula que está sofrendo vibração, pode ser expandido numa série, em função das coordenadas normais (Q_s):

$$\mu = \mu_0 + \sum [\delta\mu / \delta Q_s]_0 Q_s + \dots \quad \text{equação 4}$$

em que o subscrito 0 denota o valor na posição de equilíbrio; e μ_0 é o momento de dipolo molecular na posição de equilíbrio. Na prática, somente os dois primeiros termos da série são necessários (KOENIG, 1992).

A intensidade A_s é relacionada com os seguintes parâmetros:

$$A_s = [8\pi^2 N_A / 3hc_s] v_s |\delta\mu / \delta Q_s|^2 \quad \text{equação 5}$$

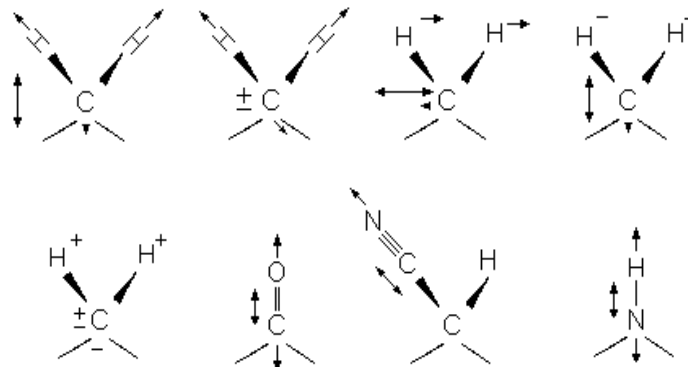
em que N_A é o número de Avogadro; h é a constante de Planck; c_s é a velocidade da luz; e v_s é a frequência da banda em (cm^{-1}).

1.3.4. Dicroísmo no infravermelho em sólidos

É a propriedade que têm certos cristais anisotrópicos de absorver a radiação num plano, deixando passar as vibrações perpendiculares ao plano absorvido. O conhecimento do dicroísmo é importante para a atribuição das bandas de absorção, uma vez que as vibrações, para serem ativas no infravermelho, têm de ter uma transição do momento dipolar numa determinada

direção, que está relacionada com a geometria da molécula. Caso haja uma orientação aleatória dos vetores momento de transição, aparecerá no espectro do infravermelho algumas bandas inerentes a essa orientação aleatória, ou seja, em virtude do dicroísmo dos cristais. Além das bandas atribuídas aos modos normais de vibração das moléculas, o espectro de absorção também irá conter bandas em função da orientação aleatória dos cristais.

Para cada modo vibracional da molécula, existe um vetor momento de transição M , pois ele é um vetor quantitativo e possui magnitude e direção. Cada modo vibracional no infravermelho deverá ter um vetor momento de transição para alguns ângulos (α_v), no maior eixo da molécula. A Figura 6 ilustra a direção do momento de transição de alguns modos vibracionais (os sinais + e - mostram o movimento dos átomos perpendicularmente ao plano do papel) (KOENIG, 1992).



Fonte: KOENIG (1992).

Figura 6 - Direção do momento de transição de alguns modos vibracionais.

A intensidade da banda de absorção no infravermelho depende do ângulo que o vetor elétrico da radiação incidente faz com o momento de transição.

Para gases e líquidos, o movimento das moléculas é suficiente para formar uma orientação aleatória desses vetores momento de transição. Para sólidos, porém, existe uma orientação preferencial das moléculas.

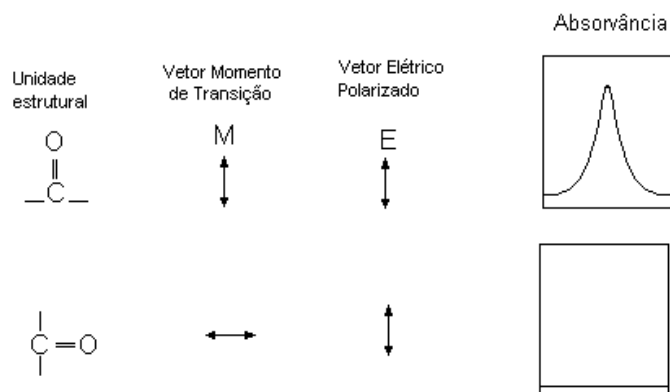
Quando a radiação infravermelha é plano-polarizada, de maneira tal que o vetor elétrico E é paralelo ao vetor momento de transição M, ocorre uma forte absorção; e quando E é perpendicular a M, não ocorre absorção. Para sólidos, poderá ser a própria orientação da regra de seleção.

A absorção de cada modo (I) é proporcional ao quadrado do produto do vetor elétrico (E) e do vetor momento de transição (M):

$$I = C (E.M)^2 = C (EM \cos \theta)^2 \quad \text{equação 6}$$

em que C é a constante de proporcionalidade; E é a magnitude do campo elétrico; e M é o momento de transição. O ângulo θ é o ângulo entre os dois vetores.

Para que a luz seja absorvida quando passa por uma amostra sólida orientada, o vetor componente do campo elétrico oscilante da luz incidente deve estar orientado paralelo ao plano do momento de transição dipolo elétrico (Figura 7). Quando a luz polarizada está perpendicular ao vetor momento de transição do dipolo, ela não é absorvida (KOENIG, 1992).



Fonte: KOENIG (1992).

Figura 7 - Absorvância de unidades estruturais polarizada linearmente no infravermelho.

Usando a radiação infravermelha polarizada linearmente, a orientação dos grupos funcionais de sistemas poliméricos pode ser medida. Porém, quando o sistema é muito complexo, como o amido, por exemplo, as moléculas estão orientadas aleatoriamente em todas as direções, o que não permite o aparecimento de bandas no espectro de absorção, em virtude do dicroísmo, pois os vetores momento de transição se anulam quando se encontram localizados em direções opostas.

As medidas de dicroísmo no infravermelho requerem luz polarizada paralela e perpendicularmente ao eixo da direção da amostra. Para a luz polarizada paralelamente, a absorvância é designada $A_{||}$, e a absorvância com a luz polarizada perpendicularmente é designada com A_{\perp} . A razão dicroísmo R é definida como:

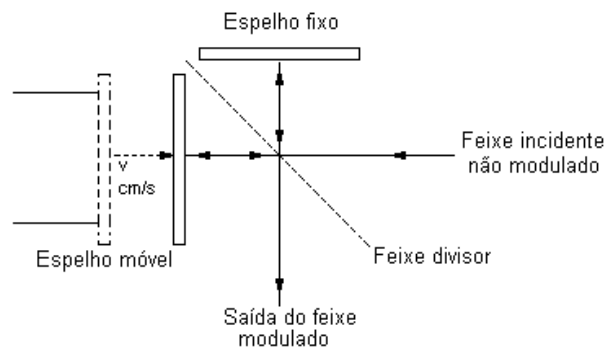
$$R = (A_{||}) / (A_{\perp}) \quad \text{equação 7}$$

1.3.5. Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier

Antigamente, os espectros do infravermelho eram medidos com instrumentos equipados com um elemento ótico de prisma ou grades, para dispersar geometricamente a radiação infravermelha. Um mecanismo de varredura passava a radiação dispersa através de um sistema de fendas, que isolava a faixa de freqüência, levando até o detector, obtendo-se o espectro. Este método possui uma sensibilidade muito limitada, pois a maioria da radiação não passa através da fenda e, portanto, não chega ao detector. A sensibilidade da espectroscopia no infravermelho pode ser melhorada com um artifício que permite a detecção contínua de todas as energias transmitidas simultaneamente (KOENIG, 1992).

Com o surgimento do interferômetro de Michelson, que foi considerado um artifício ótico, a instrumentação do infravermelho passou a ser denominada de espectroscopia na região infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).

O interferômetro é o instrumento utilizado para obter o fenômeno da interferência das ondas da radiação e determinar o seu resultado. Ele foi construído em 1887, por A. Michelson. O interferômetro de Michelson é constituído, fundamentalmente, de dois espelhos (um fixo e um móvel) e de um divisor de feixe da radiação (Figura 8).



Fonte: KOENIG (1992).

Figura 8 - Diagrama óptico do interferômetro de Michelson.

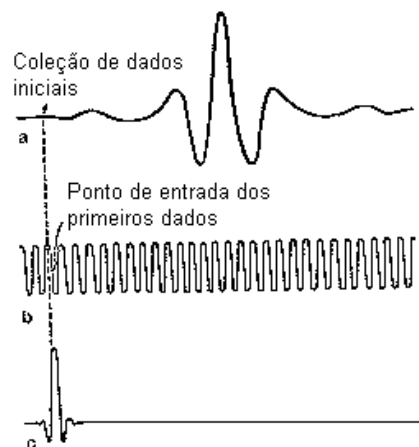
O divisor de feixe transmite 50% da radiação incidente da fonte para o espelho móvel e reflete os outros 50% para o espelho fixo. Os espelhos refletem os feixes de volta para o divisor, no qual ocorre a combinação das amplitudes das ondas. Quando os dois espelhos estão em iguais distâncias a partir do feixe divisor ($x = 0$, em que x é a diferença do caminho óptico), os caminhos dos feixes de luz são idênticos e as amplitudes combinam-se construtivamente. Sobre essas condições, todo comprimento de onda da radiação atinge o feixe divisor após a reflexão combinada, pois, assim, produz um fluxo máximo até o detector. Como o espelho móvel é deslocado a partir deste ponto equidistante, o comprimento do caminho óptico no braço do interferômetro é variado e as ondas se recombinam destrutivamente.

Assim, uma radiação monocromática incidente sai do sistema como um sinal cosseno, cuja amplitude é função da posição do espelho móvel. Se a radiação é policromática (no caso do infravermelho), o resultado é a soma de

todas as interações construtivas e destrutivas para cada componente. O sinal resultante é um complexo conjunto de amplitudes de radiação, ocorridas em função da distância do espelho móvel.

O feixe da radiação é, então, enviado pelo conjunto de espelhos à amostra, e a partir daí atinge o detector. No caso do espectrômetro no infravermelho, simultaneamente, a radiação de laser HeNe atinge o separador de feixe, divide-se e recombina-se da mesma maneira que a radiação infravermelha. Em seguida, é detectada num segundo detector (detector de laser). Os resultados obtidos são utilizados como referência ou curva de calibração (KOENIG, 1992).

A energia que atinge o detector é medida e registrada em função dos movimentos do espelho móvel. Sucessivas varreduras (movimento do espelho do ponto zero ao ponto de máximo deslocamento) e medidas da energia da radiação permitem obter o interferograma (Figura 9).



Fonte: KOENIG (1992).

Figura 9 - Interferograma experimental (a), saída do laser (b) e interferograma de luz branca (c).

O interferograma é um gráfico que ilustra a potência da radiação *versus* uma função dos diferentes comprimentos dos caminhos percorridos pelos dois feixes da radiação, que passaram pelo interferômetro. Matematicamente, é

definido como a soma das ondas cosseno de todas as frequências presentes na fonte da radiação, dada por:

$$I(x) = 2 \int I \cos 2 \pi \nu x \, d\nu$$

em que I é o fluxo total de luz; ν é a frequência; e x é a diferença do caminho ótico.

O interferograma tem todas as características das bandas de absorção de um espectro obtido num sistema de feixe simples, em que a intensidade é dada em função do tempo. No entanto, para apresentar os dados na forma mais familiar de espectros de absorção, isto é, intensidade dada em função do número de onda, precisa-se, primeiro, transformar uma série de variáveis, por meio de uma técnica matemática denominada transformada de Fourier.

Dentre as vantagens da técnica de espectroscopia por transformada de Fourier (FT) e a técnica de dispersão, podem ser citadas: todos os elementos do espectro são simultaneamente registrados; toda a radiação chega até a amostra; e existe elevada razão sinal/ruído, sensível, acurada e rápida.

1.3.6. Espectroscopia de transmissão

A amostragem da espectroscopia na região do infravermelho de transmissão tem algumas vantagens: a razão sinal/ruído é mais alta quando a amostra tem espessura apropriada e a distinção de espectros de moléculas em uma mesma amostragem é uma técnica de fácil quantificação.

A espectroscopia de transmissão é principalmente usada em amostras uniformes, em que não há variação da espessura. No caso de filmes poliméricos, por exemplo, é necessário que eles sejam suficientemente finos. As amostras de filmes devem ser orientadas aleatoriamente, pois a orientação da cadeia de forma não-aleatória influencia o valor da absorvância medida.

A principal desvantagem da transmissão é que a amostra não pode ser opaca e deve ser fina o suficiente para ocorrer a transmissão da luz.

O polímero em pó ou película pode ser estudado com a técnica de transmissão, formando uma pastilha com a amostra sob alta pressão. A

amostra pode ser compactada com dispersantes que não absorvam no infravermelho; normalmente sais inorgânicos como KBr, NaCl, CsI. Outra maneira de estudar uma amostra pela técnica de transmissão é formar uma suspensão da amostra com um óleo inerte. Um óleo muito usado é o mineral, como o Nujol, o polímero de cloreto de trifluorovinil (fluorolube[®]) ou o hexaclorobutadieno.

A técnica de transmissão por pastilhas é a mais usada, porém pastilhas imperfeitas (não-homogêneas e opacas) podem causar o espalhamento da radiação infravermelha e problemas na linha-base do espectro (KOENIG, 1992).

1.3.7. Objetivo

O interesse em pesquisar o amido surgiu com o intuito de contribuir para o estudo das macromoléculas formadoras do sistema amido. Realizou-se um trabalho com o amido extraído da mandioca, *in natura*, que ainda é pouco pesquisado, principalmente por ser matéria-prima nos países mais pobres.

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo físico-químico do amido de mandioca na forma de pó e filme, observando, através da espectroscopia vibracional na região do infravermelho por transformada de Fourier, principalmente, e da espectroscopia eletrônica UV-visível, os fenômenos que podem estar ocorrendo em nível molecular e sua interpretação em termos estruturais. A partir disto, pretendeu-se, fazer uma caracterização dos sistemas e verificar possíveis modificações estruturais no filme polimérico, com algumas moléculas, como H₂S e I₂.

Pretendeu-se, também, realizar um estudo da difusão de moléculas de água por análise termogravimétrica (TGA).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A amostra utilizada como objeto de estudo foi um amido extraído da mandioca, que foi gentilmente cedido pela professora Mônica Ribeiro Pirozi, do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

A amostra encontrava-se na forma de um pó branco e seco, finamente dividido.

2.1. Preparo das amostras

Para realização dos estudos propostos neste trabalho, foram utilizados dois tipos de amostras: o amido em pó (como citado anteriormente) e o amido em forma de filme.

O amido em pó já se encontrava preparado para estudo. Já o filme polimérico de amido foi preparado da seguinte maneira:

- pesou-se, em balança analítica, 1 g do amido em pó e transferiu-o para um béquer. Adicionaram-se, aproximadamente, 70 mL de água destilada, levando, em seguida, para aquecimento a 90°C, em banho-maria, durante 30 minutos.

Nesse período de 30 minutos, o pó de amido estava se transformando em um gel. Este processo é denominado de gelatinização e baseia-se no intumescimento do grão de amido por moléculas de água.

Após 30 minutos, retirou-se o béquer do banho-maria, para que o gel formado fosse resfriado. Logo em seguida, foram medidos, com a ajuda de uma proveta, 2,5 mL de gel de amido, que foram transferidos para uma placa de Petri de polietileno. Colocou-se a placa de Petri, contendo o gel, dentro de um dessecador e fez-se vácuo. Após 24 horas, aproximadamente, retirou-se a placa de Petri de dentro do dessecador e observou-se que o gel havia secado, dando lugar a uma película bem fina. Este processo de secagem do gel de amido é denominado de retrogradação e durou, em média, 72 horas.

A película formada é o filme polimérico de amido.

2.2. Obtenção de espectros por transmissão, na região do infravermelho

De posse das amostras, foram adquiridos os espectros de absorção na região do infravermelho, por meio da técnica de transmissão.

Na espectroscopia vibracional no infravermelho, os espectros podem ser adquiridos pela técnica de transmissão, principalmente de duas maneiras:

- A amostra é prensada numa pastilha, juntamente com KBr.
- A amostra é macerada juntamente com um óleo mineral inerte e colocada em “janelas”.

Para conhecer o espectro no infravermelho das amostras que seriam utilizadas para estudo, realizou-se o seguinte procedimento:

2.2.1. Amostra do grão de amido em pó

2.2.1.1. amostra preparada em pastilha de KBr

Triturou-se, em um almofariz de ágata, uma pequena quantidade do grão de amido em pó, juntamente com o dispersante KBr (brometo de potássio). O KBr foi previamente seco a, aproximadamente, 100°C, por 72 horas.

Logo após, o dispersante e a amostra foram colocados no pastilhador e levados à prensa, onde foi aplicada uma pressão de aproximadamente 740 MPa, para obtenção da pastilha.

Em seguida, a pastilha foi colocada em suporte de amostra e levada para leitura, em um espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, numa faixa de região espectral de $4400 - 230 \text{ cm}^{-1}$.

Vale aqui ressaltar que, antes de cada espectro das amostras, fez-se uma varredura de dentro da câmara do aparelho, a fim de eliminar o efeito do vapor d'água e o CO_2 existente no ambiente (ar). Foi então feita uma razão entre o espectro da amostra + ar e o espectro obtido do ar, adquirindo-se, portanto, somente o espectro referente à amostra.

2.2.1.2. Amostra preparada em Nujol

Uma pequena quantidade de amido em pó foi colocada em um almofariz, juntamente com uma gota de óleo Nujol (óleo mineral de pureza espectroscópica). Essa suspensão de amido em Nujol foi macerada e transferida para janelas de Csl (iodeto de cério). A faixa de trabalho de região espectral da janela de Csl é de $10.000 - 200 \text{ cm}^{-1}$.

O conjunto de janelas foi acoplado a um porta-amostras e levado para análise, no espectrofotômetro da PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1.000, numa faixa de região espectral de $4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$.

2.2.2. Amostra do filme polimérico de amido

O filme de amido, após preparado, foi adaptado a um porta-amostras e acoplado ao espectrofotômetro da PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, para ser analisado numa faixa de região espectral de $4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$.

O porta-amostras foi produzido no Laboratório de Físico-Química do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa.

2.3. Estudo da difusão de moléculas de água no grão de amido

Pesou-se $0,0056 \text{ g}$ de amido em pó e triturou-se em almofariz. Dividiu-se essa porção do pó de amido em oito partes iguais, tendo cada uma a aproximadamente $0,0007 \text{ g}$. Cada parte do pó de amido foi levada para estufa,

FANEM mod. 320-SE, a diferentes temperaturas, por 24 horas. O procedimento foi realizado, separadamente, a 30, 40, 70, 90, 120, 140, 160 e 180°C.

Tomou-se uma porção equivalente a 0,0007 g, colocou-se em vidro de relógio e levou-se à estufa a 30°C, para evaporação de água. Após este período, colocou-se o vidro de relógio que continha a amostra em dessecador, para que o amido em pó fosse resfriado a 22°C, sob pressão reduzida.

Logo em seguida, o grão de amido em pó foi transferido, quantitativamente, para um almofariz e foi rapidamente triturado com 0,175 g de KBr. Juntos, foram colocados no pastilhador. Levou-se à prensa e aplicou-se uma pressão de aproximadamente 740 MPa, em seguida, fez-se vácuo e obteve-se a pastilha.

A pastilha foi colocada em um suporte de amostra e levada ao espectrofotômetro da PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, para leitura.

Teoricamente, a quantidade de dispersante deve ser aproximadamente 200 vezes maior que a quantidade de amostra. Seguindo esta indicação, variaram-se as proporções amostra/dispersante, até encontrar uma proporção apropriada.

Vale ressaltar que as quantidades de amostras de amido e KBr foram escolhidas após vários testes, e de tal forma que proporcionassem a produção de pastilhas consideradas satisfatórias para realização da análise. As proporções de amostras escolhidas foram o equivalente a 0,0007 g de amido e 0,175 g de KBr. As pastilhas produzidas com as quantidades de amostras citadas anteriormente ficaram transparentes e com espessura mediana (não muito fina e nem muito grossa).

Deve também ser destacado que o KBr utilizado para análise é de grau espectroscópico da Perkin Elmer e foi previamente seco, em estufa, a 100°C, por 72 horas.

2.4. Estudo da difusão de moléculas de água no filme de amido

A difusão de moléculas de água foi estudada mediante a realização de um experimento com o filme, em diferentes temperaturas.

O filme de amido foi fixado no porta-amostras (já citado no item 2.2.2.) e levado em estufa a 30°C, por 24 horas.

Após esse período, o suporte foi retirado da estufa e colocado em dessecador, para que o filme fosse resfriado a 22°C, sob pressão reduzida.

O suporte foi, então, acoplado ao espectrofotômetro da PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, para análise vibracional na região do infravermelho, numa faixa de região espectral de 4.400 - 230 cm^{-1} .

O filme foi preso no suporte, para que o feixe de radiação eletromagnética infravermelha incidisse e percorresse a amostra sempre no mesmo ponto, visto que o filme polimérico de amido produzido possui uma superfície irregular.

Repetiu-se este procedimento com o mesmo filme para 40, 70, 90, 120, 140, 160 e 180°C.

2.5. Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi feita com o amido em pó e com o filme de amido. Utilizou-se um analisador termogravimétrico Dupont 951, com fluxo de argônio a 100 mL min^{-1} e uma faixa de temperatura de 0 - 600°C

2.6. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho da interação do filme de amido com sulfeto de hidrogênio (H_2S)

Para realizar o estudo da interação do sulfeto de hidrogênio com o filme de amido, foi necessário fazer uma montagem para produção do gás e para que o gás produzido pudesse chegar até o filme de amido.

2.6.1. Preparo do gás sulfeto de hidrogênio (H_2S)

Com ajuda de um funil de separação, adicionaram-se pequenas quantidades de HCl 1:1 (v/v) em sulfeto de amônio, $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, contido em um Kitasato.

O gás H_2S produzido foi levado, através de mangueiras de borracha, até um balão de destilação, contendo o filme de amido. A Figura 10 ilustra como o gás sulfeto de hidrogênio foi produzido.

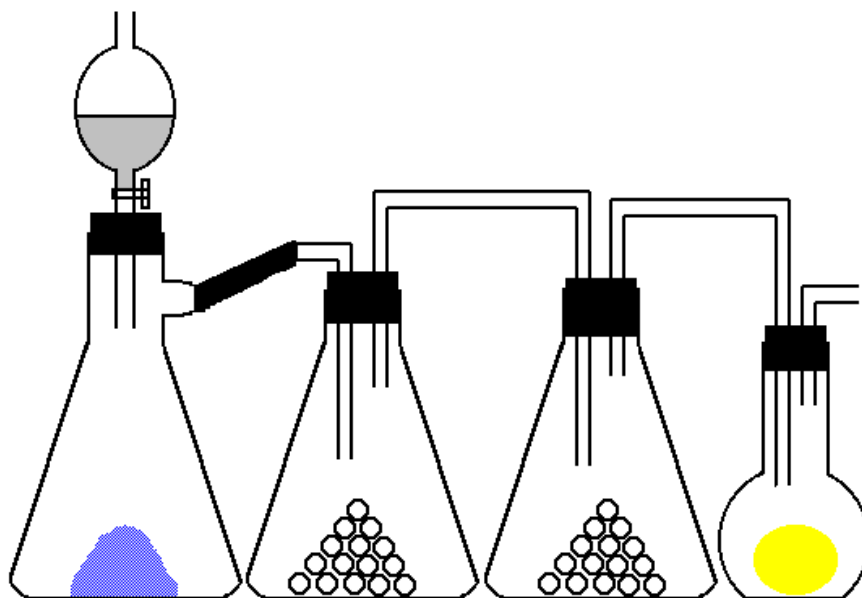


Figura 10 - Montagem específica para produção do gás sulfeto de hidrogênio.

2.6.2. Introdução de H_2S no filme de amido

Como ilustra a montagem da Figura 10, o gás H_2S chega até o filme de amido após passar por vários dessecantes. Isso foi feito com o objetivo de diminuir ao máximo a quantidade de vapor d'água presente no gás H_2S .

Após o H_2S ser introduzido no filme, durante um período de 24 horas, este adquiriu uma coloração amarela.

O filme amarelo foi levado para análise espectroscópica na região do infravermelho, por transmissão no espectrofotômetro da PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000, numa faixa de região espectral de $4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$.

Com o passar do tempo, observou-se que a cor amarela do filme diminuía, até o seu total desaparecimento. Os espectros na região do infravermelho do filme de amido foram adquiridos após o aparecimento da coloração amarela, ou seja, após a introdução do gás H₂S, e durante o desaparecimento da cor amarela (sete dias, aproximadamente).

2.7. Estudo espectroscópico vibracional e eletrônico da interação do filme de amido com moléculas de iodo (I₂)

Para estudo da interação do filme de amido com moléculas de iodo, foram preparadas duas amostras: uma amostra de filme foi preparada ao introduzir vapores de iodo no gel de amido (filme pré-exposto) e a outra foi preparada ao introduzir vapores de iodo no filme de amido já formado (filme pós-exposto).

Para avaliação do comportamento dos filmes de amido diante os vapores de iodo, foram realizadas uma análise espectroscópica vibracional na região do infravermelho e uma análise espectroscópica eletrônica na região do UV-visível.

2.7.1. Filme pré-exposto

Preparou-se um gel de amido da mesma forma que o procedimento descrito no item 2.1. Tomou-se uma porção do gel de amido, equivalente a 2,5 mL, que foi colocada em placa de Petri de polietileno e levada para dentro de um dessecador. Em outra placa de Petri de polietileno, colocaram-se cristais de iodo, levando-os, também, para dentro de dessecador.

Manteve-se o sistema fechado e com vácuo durante 72 horas. Durante esse período, os vapores de iodo liberados a partir dos cristais de iodo chegavam até o gel de amido, e este já adquiria coloração azul.

Com a secagem do gel (processo denominado de retrogradação), houve formação de um filme de cor azul-escura, em virtude da adsorção de moléculas de iodo no grão de amido.

O filme foi colocado em um suporte de amostragem apropriado (citado no item 2.2.2.) e submetido a uma análise espectroscópica vibracional na

região do infravermelho, na faixa de região espectral de $4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$. Utilizou-se um espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000. Fez-se, também, uma análise espectroscópica eletrônica na região do UV-visível, na faixa de região espectral de $90 - 1100 \text{ nm}$. Utilizou-se um espectrofotômetro HITACHI, modelo U-2000.

2.7.2. Filme pós-exposto

Tomou-se um filme de amido já formado, fixou-o em um fio metálico e fixou-se o fio metálico em uma rolha de borracha (ver Figura 11). Foram colocados cristais de iodo dentro de um frasco de erlenmeyer, vedando-o, a seguir, com a rolha. Manteve-se o sistema fechado para que vapores de I_2 pudessem chegar até o filme de amido. À medida que os vapores de iodo eram introduzidos no filme polimérico de amido, este adquiria uma coloração amarela. Deixou-se o sistema em funcionamento por um período de 24 horas.

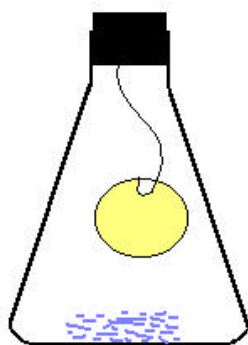


Figura 11 - Montagem para introdução de vapores de iodo no filme de amido.

O filme amarelo foi então colocado em um suporte de amostragem apropriado (citado no item 2.2.2.) e submetido a uma análise espectroscópica vibracional na região do infravermelho, na faixa de região espectral de $4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$, utilizando-se um espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000. Fez-se, também, uma análise espectroscópica eletrônica na

região do UV-visível, na faixa de região espectral de 190 - 1.100 nm, utilizando-se um espectrofotômetro HITACHI, modelo U-2000.

2.8. Aquisição de dados

Os espectros foram adquiridos no espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR ESPECTRUM 1000, com resolução de 4 cm^{-1} , tendo sido feitas oito “scans” (varreduras espectrais). Apesar de o aparelho possuir uma faixa de trabalho de região espectral de $7.800 - 230\text{ cm}^{-1}$, utilizou-se, para o estudo do amido, a faixa de $4.400 - 230\text{ cm}^{-1}$. O detector do aparelho foi o DTGS (alanina dopada com sulfato de triglicina deuterada em janelas de iodeto de cézio), utilizado em espectrofotômetros por transformada de Fourier.

Os espectros das amostras estudadas foram obtidos com extensão “spc”. Os espectros foram convertidos no próprio espectrofotômetro PERKIN ELMER, modelo FT-IR ESPECTRUM 1000, para o formato J-CAMP, com uma extensão “dx”. Para confecção dos gráficos expostos na dissertação, lançou-se mão do “software” Origin 3.5 da Microsoft; os espectros foram importados em formato ASCII e convertidos para porcentagem de transmitância, por meio de um fator de correção fornecido pelo “software” Origin 3.5.

O espectro foi, então, obtido como um gráfico, em que a porcentagem de radiação transmitida é colocada em função do número de onda, produzindo as bandas de absorção.

Outro aparelho utilizado foi o espectrofotômetro HITACHI U-2000, com faixa de trabalho 1.100 - 190 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O amido, por ter sido um sistema estudado por espectroscopia no infravermelho, apresentou algumas dificuldades para obtenção de espectros reprodutíveis.

Uma das principais dificuldades foi a minimização da radiação espalhada por partículas de dimensão igual ou superior ao comprimento de onda da radiação. Essas partículas foram muitas vezes encontradas, mesmo após a amostra ter sido triturada em almofariz. As partículas, provavelmente, tiveram como mecanismo de formação a coalescência de partículas menores, em função das forças atrativas entre elas.

Para superar essas dificuldades, foram realizados estudos sistemáticos, modificando parâmetros como: tempo de trituração, dispersantes e quantidade de amostra. Ficou evidente, a partir deste estudo, que o fator determinante na obtenção de espectros confiáveis foi principalmente a proporção dispersante/amostra, tendo os demais fatores menor influência.

Como foi descrito em 2. Material e Métodos, item 2.3., a quantidade de dispersante, teoricamente, deve ser 200 vezes maior que a quantidade de amostra.

Seguindo-se essa relação de dispersante para amostra, encontrou-se uma proporção equivalente a 0,0007 g de amido e 0,175 g de KBr. As quantidades de amostra e dispersante foram escolhidas de maneira que as

pastilhas produzidas ficassem transparentes e com espessura mediana (não muito fina e nem muito grossa), pois nessas condições os espectros adquiridos possuem melhor linha de base e são mais apresentáveis.

3.1. Apresentação de espectros vibracionais FT-IR do grão de amido em pó

Foram obtidos espectros na região do infravermelho da amostra de amido em pó, por transmissão, utilizando o método da pastilha de KBr e o método da janela de iodeto de cério (CsI) em Nujol. As Figuras 12 e 13 são exemplos de espectros característicos de amostras de amido, em que o gráfico mostra a porcentagem de radiação transmitida em função do número de onda (ν).

3.2. Atribuições das bandas em termos de modos normais vibracionais de grupos funcionais pertencentes às moléculas presentes no grão de amido

O grão de amido é um sistema físico-químico macromolecular e multicomponente bastante complexo. Sendo assim, as atribuições das bandas dos espectros se restringiram a seus componentes presentes em maior quantidade: amilose, amilopectina e água. Para endossar esta aproximação, pode-se também enfatizar a grande semelhança entre os espectros da amilose e do amido, o que evidencia que a aproximação é bastante coerente (Figura 14).

A técnica de análise utilizada para fazer as atribuições das bandas foi a comparação do espectro do grão de amido em pó com os espectros da D-glicose e da amilose (Figura 14).

Vale ressaltar, também, que as atribuições foram feitas em termos de regiões do espectro.

Sabe-se que para uma molécula composta de N átomos, têm-se $3N - 6$ modos normais vibracionais ($3N - 5$ para moléculas lineares), sendo, assim, espera-se obter aproximadamente 14.000 bandas no espectro do infravermelho do grão de amido.

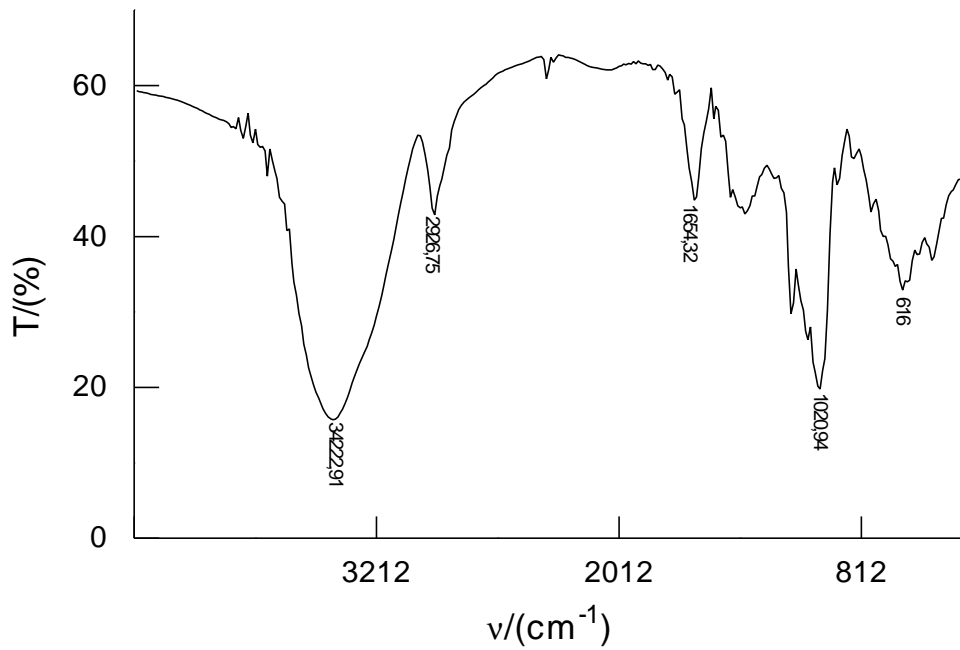


Figura 12 - Espectro na região do infravermelho do grão de amido em pó, obtido por transmissão em pastilha de KBr.

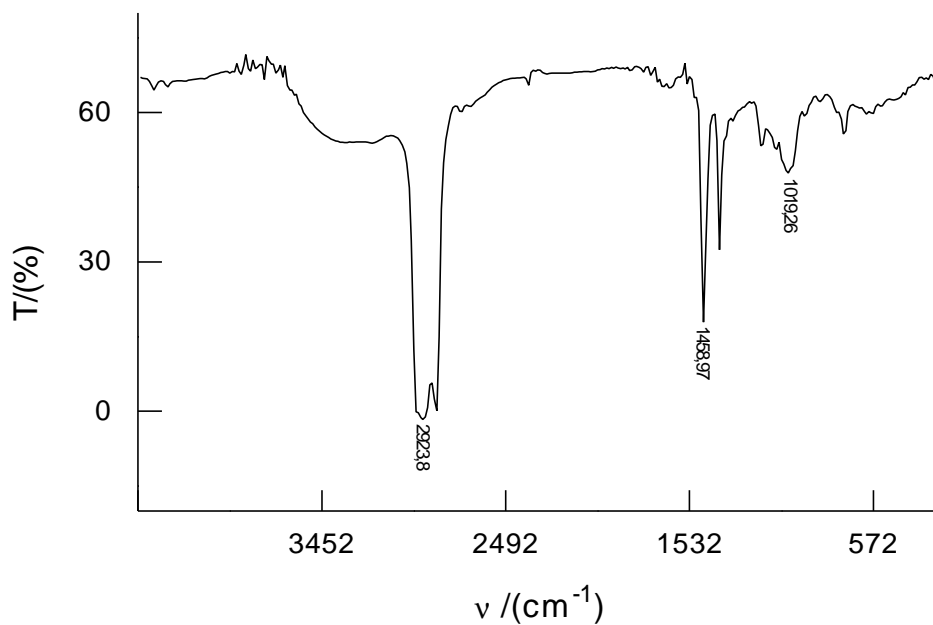


Figura 13 - Espectro na região do infravermelho do grão de amido em pó, obtido por transmissão, em janela de iodeto de cézio (CsI), utilizando Nujol como dispersante.

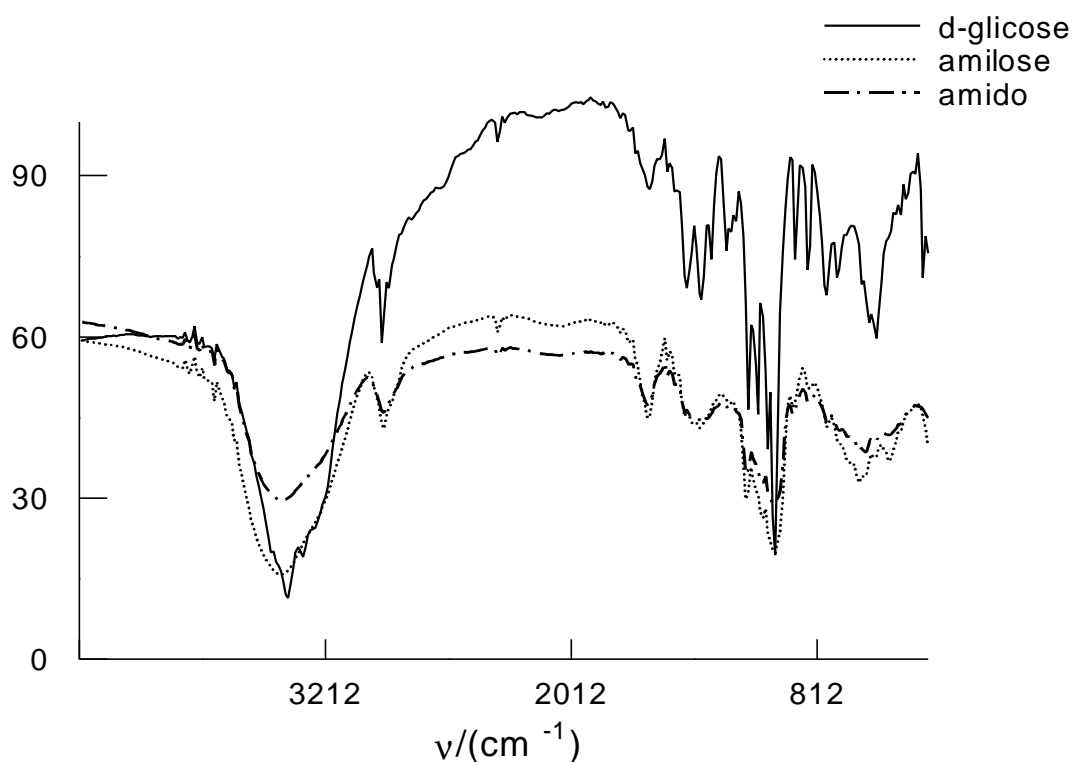


Figura 14 - Espectro na região do infravermelho da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó.

Ao analisar o espectro da Figura 14, não se observou a presença de um número tão grande de bandas, o que evidencia a sua grande superposição, ou um grande número dos modos normais inativos no infravermelho, que são, porém, ativos no Raman.

3.2.1. Atribuição de grupos funcionais na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1}

A Figura 15 ilustra os espectros da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó. Os espectros estão restringidos apenas à região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} . Será feita uma comparação entre eles, como também uma discussão em termos de atribuições das bandas que aparecem nos espectros.

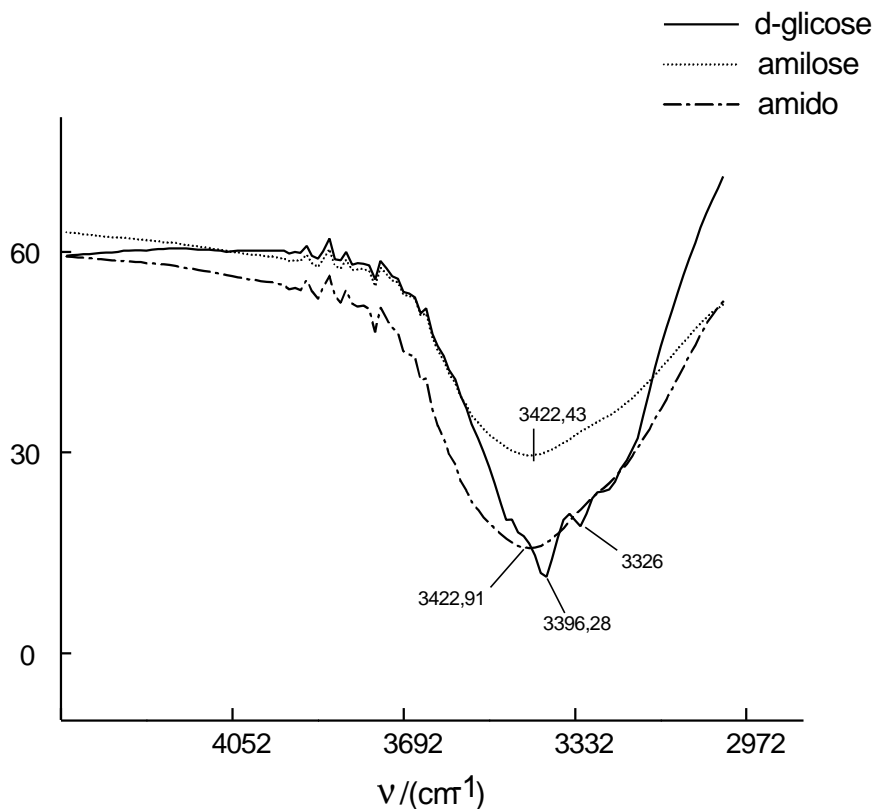


Figura 15 - Espectro do infravermelho da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó, na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} .

No espectro do grão de amido, na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} , ocorreu a presença de uma banda larga (largura à meia altura de 827 cm^{-1}) e com valor de número de onda de máxima absorção em 3.422,91 cm^{-1} . A forma da banda era relativamente assimétrica, com pequeno ombro na direção de menores valores de número de onda.

A presença do ombro se deve a um maior acoplamento dos grupos funcionais presentes no grão de amido em pó, do que na molécula de D-glicose e na macromolécula de amilose (Figura 15).

A banda dessa região (4.000 - 3.000 cm^{-1}) pode ser atribuída aos modos normais vibracionais de estiramentos assimétricos e simétricos dos grupos hidroxilas (O-H), presentes nas macromoléculas de amilose e amilopectina e nas moléculas de água.

Como citado anteriormente, as atribuições seriam feitas em função dos principais componentes do grão de amido. As macromoléculas de amilose e amilopectina, juntamente com as moléculas de água, são os principais componentes do grão de amido.

A molécula de água faz parte da composição do grão e pode ser encontrada em três diferentes maneiras no grão de amido: água de constituição, água de adsorção e água que está presente em fendas próprias do grão. As macromoléculas de amilose e amilopectina são formadas a partir da união de moléculas de D-glicose, por meio de ligações glicosídicas α 1 \rightarrow 4 e α 1 \rightarrow 6. Pode-se presumir, portanto, que a molécula de D-glicose é o principal monômero do grão de amido.

Em moléculas livres, os estiramentos associados aos modos normais em que predomina o movimento dos grupos OH apresentam-se, muitas vezes, como bandas estreitas e intensas. A banda que se apresenta na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} é uma bem larga. A largura à meia altura apresentada pela banda do espectro do amido (827 cm^{-1}) se deve à formação de ligações de hidrogênio intermolecular e intramolecular de grupos OH, pertencentes às macromoléculas de amilose e amilopectina, como também à formação de ligações de hidrogênio intermolecular entre moléculas de água e entre água-macromoléculas. Essa largura da banda não pode ser atribuída ao grande número de modos normais vibracionais, previstos pela teoria, para a amilose e a amilopectina, pois observou-se uma largura de banda também intensa no espectro do infravermelho de monômeros de D-glicose pura (Figura 15).

Além do aumento da largura das bandas, um outro efeito bem característico na formação de ligação de hidrogênio é o deslocamento da frequência do estiramento para regiões de menor número de onda, em relação à molécula livre. Este efeito é causado pelo fato de as ligações de hidrogênio terem uma influência acentuada na diferença de níveis de energias vibracionais dos modos normais de estiramento.

Observando o espectro de D-glicose e comparando-o com o espectro do amido, percebeu-se que, em termos de número de onda máximo, na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} , os dois espectros são muito parecidos. Porém, o espectro da D-glicose apresentou melhor resolução, pois nesta região foram observados

cinco picos distintos. Pode-se atribuir essa melhor resolução ao menor acoplamento mecânico ou elétrico entre os sítios de simetria de moléculas de D-glicose.

O espectro do infravermelho de amilose (98% de pureza) possui características mais próximas ao espectro do amido, tanto do ponto de vista de largura à meia altura quanto ao número de onda de máxima absorção. Este fato reforça o tratamento aproximado do amido como sendo um sistema composto, principalmente, de amilose, amilopectina e água.

3.2.2. Atribuição de grupos funcionais na região de 3.000 - 2.840 cm^{-1}

A Figura 16 ilustra os espectros da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó. Os espectros estão restringidos apenas à região de 3.000 - 2.840 cm^{-1} . Será feita uma comparação entre eles, como também uma discussão em termos de atribuições das bandas que aparecem nos espectros.

A região de 3.000 - 2.840 cm^{-1} do espectro pode ser atribuída aos valores de número de onda relativos aos modos vibracionais de estiramento assimétrico e simétrico do grupo C-H, com absorção máxima em 2.926 cm^{-1} (espectro do amido).

Quando essa região foi comparada com a região do espectro da amostra de D-glicose, observaram-se dois comportamentos. A banda referente ao espectro do amido é mais larga e desloca para valores de número de onda menores (Figura 16). Pode-se, então, atribuir o fato do deslocamento para menores valores de número de onda, no espectro do amido, ao efeito cinético da massa do sistema. É sabido que o valor de número de onda no espectro do infravermelho se deve ao valor da diferença entre os níveis de energia total vibracionais. A energia total possui uma contribuição da energia cinética e energia potencial de uma molécula que está vibrando:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} (k/\mu)^{1/2} \quad \text{equação 9}$$

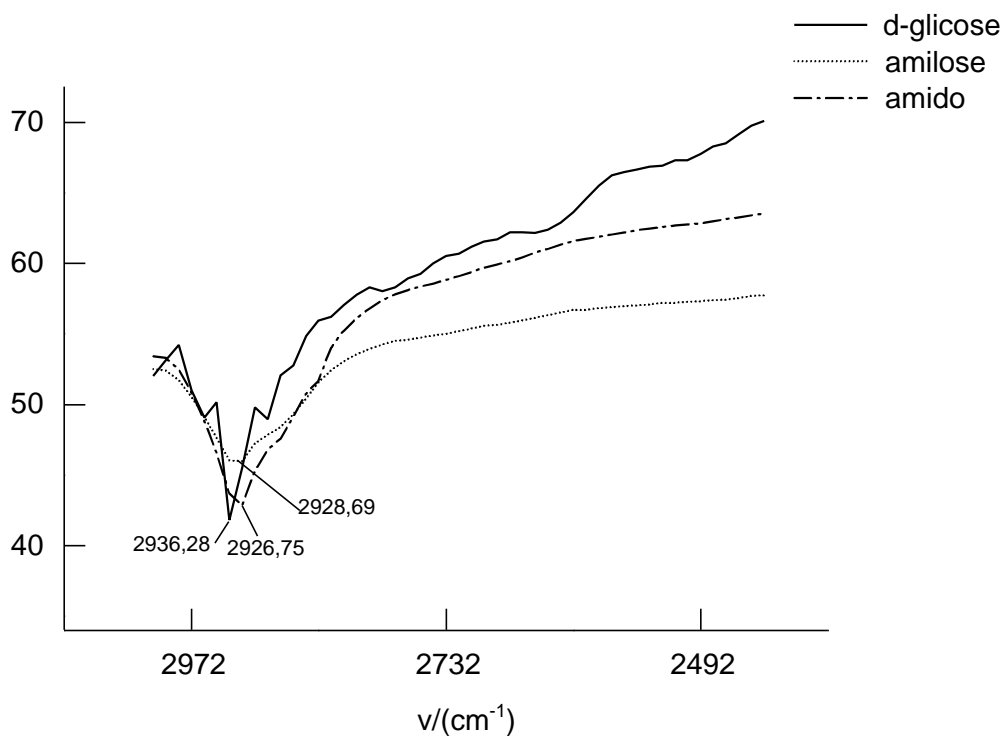


Figura 16 - Espectro do infravermelho da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó, na região de 3.000 - 2.840 cm^{-1} .

em que ν é a frequência de vibração da molécula; k é a constante de força; e μ é a massa reduzida da molécula.

A constante de força da ligação do grupo C-H, em termos de energia potencial, contribui muito pouco, já que a constante de força da ligação do grupo C-H nos espectros da D-glicose e do amido é muito próxima. É conveniente, portanto, atribuir o deslocamento do valor do número de onda de máxima absorção para valores maiores à massa do sistema. A massa de todas as macromoléculas que compõem o grão de amido, que estão vibrando, é muito maior que a massa da molécula de D-glicose que está vibrando. Como pode ser observado na equação 9, maiores valores de massa levam a um menor valor de frequência de vibração.

O efeito cinético se apresenta, também, nos modos normais dos estiramentos simétricos e assimétricos do OH, sendo, entretanto, compensado pela formação de ligação de hidrogênio.

O espectro da amilose (Figura 16) é análogo ao do amido, o que demonstra ser o efeito cinético o principal fator na diferença dessa região entre a molécula de D-glicose e o amido.

3.2.3. Atribuição de grupos funcionais na região de 1.780 - 1.565 cm⁻¹

A Figura 17 ilustra os espectros da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó. Os espectros estão restringidos apenas à região de 1.780 - 1.565 cm⁻¹. Será feita uma comparação entre eles, como também uma discussão em termos de atribuições das bandas que aparecem nos espectros.

A região de 1.780 - 1.565 cm⁻¹, no espectro do infravermelho, é devido ao modo normal de vibrações de deformação angular dos grupos O-H, presentes nas macromoléculas e na molécula de água.

É patente a semelhança entre os espectros da D-glicose, da amilose e do amido (Figura 17), o que se deve, principalmente, ao fato de os efeitos cinéticos e de ligação de hidrogênio serem menos pronunciados nas deformações angulares (KOENIG, 1992).

A menor intensidade dessas bandas, quando comparadas à região de estiramento da ligação OH, é devido à menor taxa de variação instantânea do momento de dipolo, com a coordenada interna do movimento associada ao modo normal de vibração de deformação angular. Essa mesma taxa de variação para o modo normal de estiramento é maior, o que pode ser confirmado por meio da equação a seguir:

$$I \propto (\partial\mu / \partial q)^2 \quad \text{equação 10}$$

em que $\partial\mu$ é a variação do momento de dipolo da molécula que está vibrando; e ∂q é a variação da posição da molécula.



Figura 17 - Espectro do infravermelho da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó, na região de 1.780 - 1.565 cm^{-1} .

3.2.4. Atribuição de grupos funcionais na região de 1.565 - 270 cm^{-1}

A Figura 18 ilustra os espectros da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó. Os espectros estão restringidos apenas à região de 1.565 - 270 cm^{-1} . Será feita uma comparação entre eles, como também uma discussão em termos de atribuições das bandas que aparecem nos espectros.

A região de 1.565 - 270 cm^{-1} foi dividida em duas sub-regiões. Uma compreendida entre 1.565 e 1.285 cm^{-1} , correspondente aos modos normais de deformação angular de grupos C-H, e outra entre 1.285 e 242 cm^{-1} , correspondente aos modos normais de estiramento C-O e C-C, pertencentes a um anel de D-glicose; são vibrações de rede em que todos os átomos da cadeia da macromolécula vibram em fase e também os modos normais resultantes do acoplamento dos estiramentos C-C e C-O.

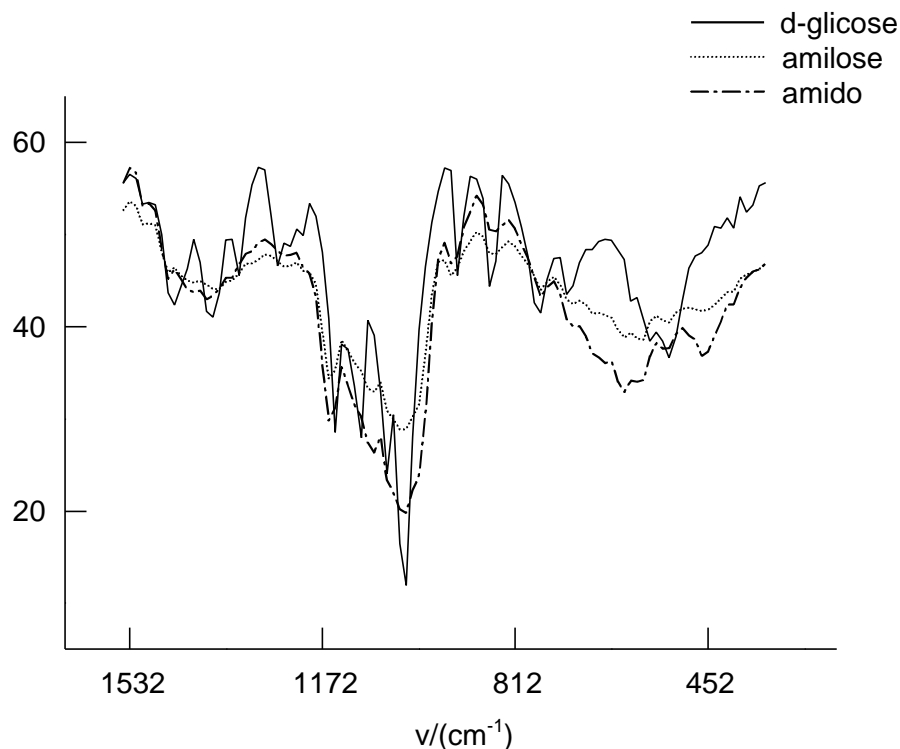


Figura 18 - Espectro do infravermelho da molécula de D-glicose, da macromolécula de amilose e do grão de amido em pó, na região de 1.565 - 270 cm^{-1} .

3.3. Retrogradação do amido

A retrogradação do amido baseou-se na obtenção de filmes poliméricos a partir de grãos de amido em pó, pelo processo de gelatinização e posterior evaporação do solvente (água).

Os filmes produzidos foram levados até o Laboratório de Microscopia Ótica do Departamento de Física, da Universidade Federal de Viçosa, para observação da sua superfície. Utilizou-se, para este fim, um microscópio ótico com aumento de dez vezes.

Fotografias foram tiradas da imagem da superfície dos filmes, projetada em um monitor de vídeo. A Figura 19 ilustra a imagem da superfície de dois filmes poliméricos de amido, produzidos a partir de gel de amido.

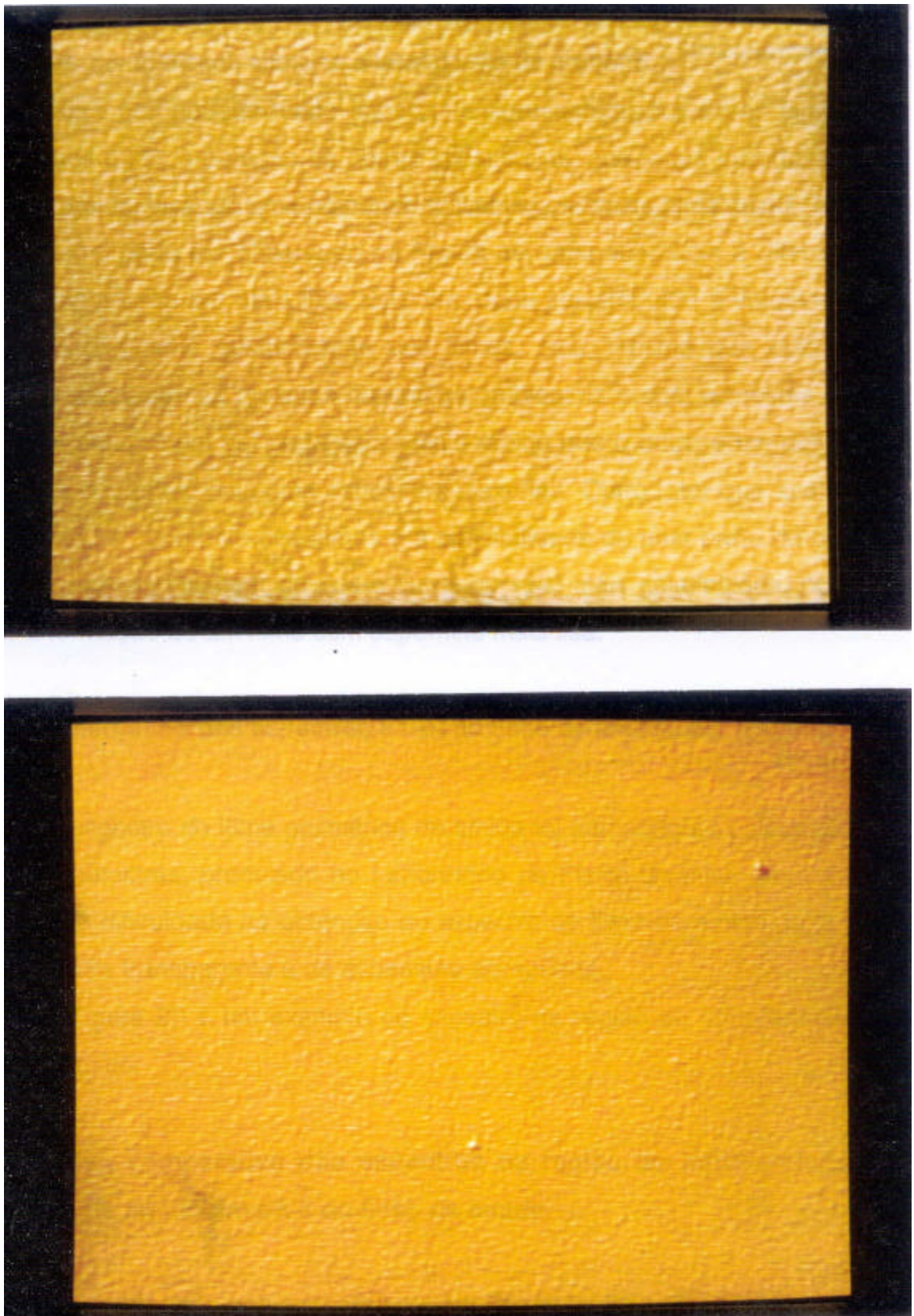


Figura 19 - Imagens da superfície de dois filmes poliméricos de amido.

As características físicas desses filmes foram: transparência ótica na região do visível, capacidade de adsorção de gases, resistência mecânica tênua, solubilidade em água e soluções aquosas e insolubilidade em solventes orgânicos, como álcool, acetona e tetracloreto de carbono.

Outra propriedade muito importante apresentada por esses filmes é a capacidade de incorporação de outras substâncias, que foram introduzidas no filme de amido, visando uma posterior aplicabilidade deste filme misto.

Como pode ser observado na Figura 19, uma superfície é diferente da outra, pois parece ser mais lisa. Este fato pode ser atribuído à velocidade de retrogradação ou à gelatinização dos filmes, pois, mesmo que dois filmes sejam produzidos nas mesmas condições ambientais e com a mesma massa de pó de amido, um gel pode secar mais rápido que o outro e um dos filmes formados pode ficar com uma espessura mais fina. Outro fator que acarretaria diferenças na superfície dos filmes é a possibilidade de uma parte do grão de amido ficar mais intumescida que a outra, ou seja, mais gelatinizada, podendo levar à formação de um filme com superfície mais lisa.

3.4. Apresentação dos espectros FT-IR do filme de amido, por transmissão

O espectro do filme polimérico de amido foi adquirido ao colocar o filme no porta-amostras, produzido no Laboratório de Físico-Química (item 2.2.2.). Não houve dificuldade na obtenção do espectro do filme de amido, pois ele é uma amostra transparente e de espessura apropriada.

A Figura 20 é um exemplo de espectro na região do infravermelho do filme de amido.

3.5. Análise comparativa dos espectros na região do infravermelho do grão de amido em pó e do filme de amido

Após obtenção dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó e do filme polimérico de amido, optou-se por realizar uma análise comparativa entre os espectros. A análise foi feita por regiões e objetivou avaliar o

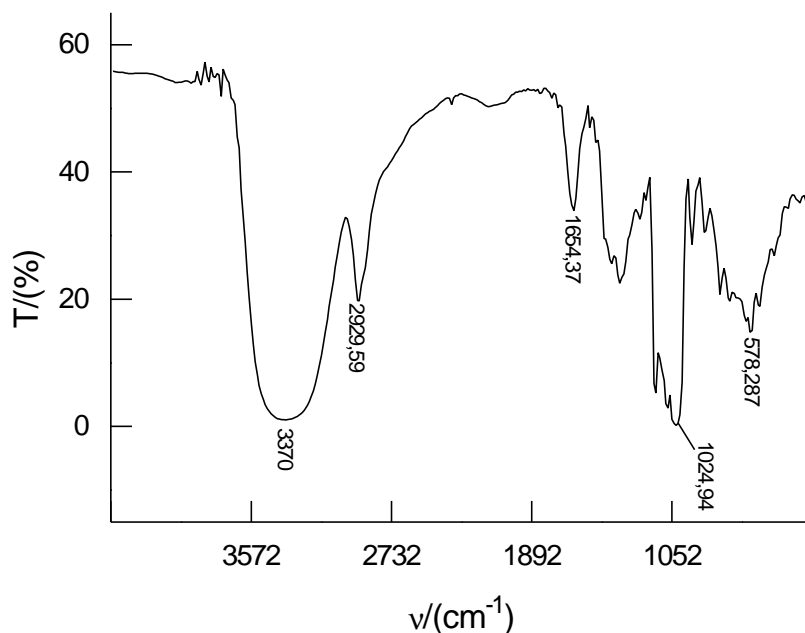


Figura 20 - Espectro na região do infravermelho do filme de amido obtido por transmissão.

comportamento do grão e do filme de amido mediante mudanças conformacionais.

As regiões foram escolhidas de maneira que os espectros fossem divididos em bandas.

3.5.1. Região de 4.000 - 3.000 cm^{-1}

Observando a Figura 21, pode-se perceber que, em termos de resolução, isto é, número de picos, os dois espectros apresentaram o mesmo resultado. Entretanto, no que se refere à forma da banda, destacou-se uma diferença pronunciada, pois a banda referente ao modo normal de estiramento do grupo O-H, do espectro do filme, é mais simétrica que a banda do espectro do grão de amido em pó.

Essas diferenças nos espectros do grão e do filme de amido demonstram que os ambientes que cercam as macromoléculas de amilose e amilopectina, presentes no grão e no filme de amido, podem variar. Possivelmente, as macromoléculas presentes no filme de amido possuem maior grau de liberdade e maior possibilidade de mudanças conformacionais.

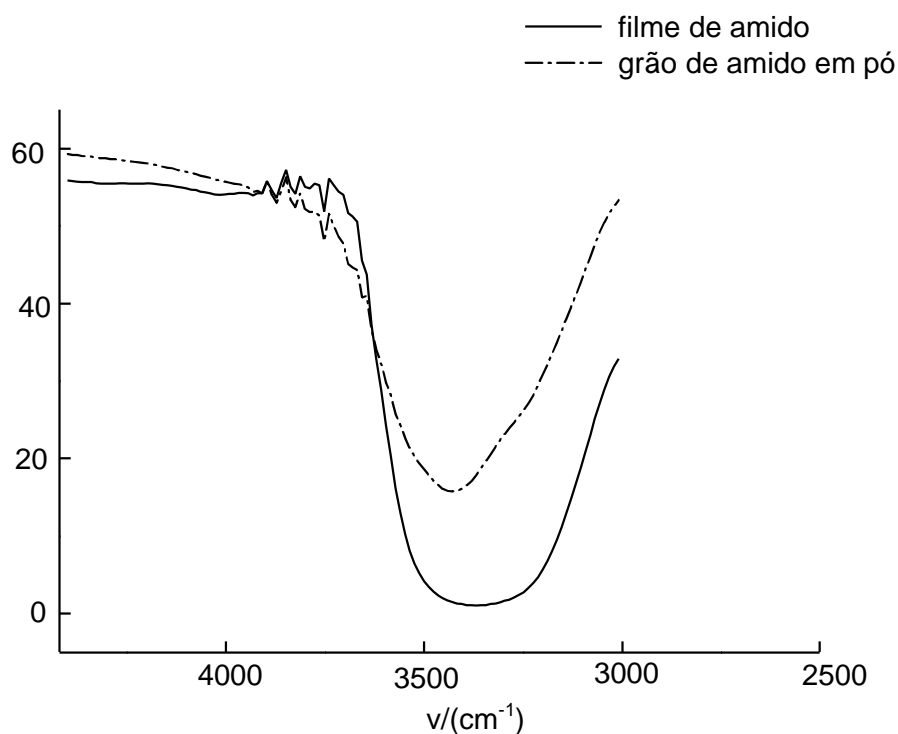


Figura 21 - Espectros do infravermelho do filme de amido e do grão de amido em pó na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} .

3.5.2. Região de 3.000 - 2.840 cm^{-1}

Nessa região, novamente se observou maior assimetria da banda associada ao modo normal de estiramento do grupo C-H, presente no espectro do grão de amido em pó. Percebeu-se, também, uma presença mais acentuada de dois ombros no espectro do grão, em virtude da maior aglomeração de moléculas e do maior acoplamento de grupos pertencentes às macromoléculas de amilose e amilopectina (Figura 22).

3.5.3. Região de 1.780 – 1.565 cm^{-1}

Analisando a Figura 23, pode-se observar que as duas bandas, atribuídas ao modo normal de deformação angular do grupo O-H, são muito semelhantes.

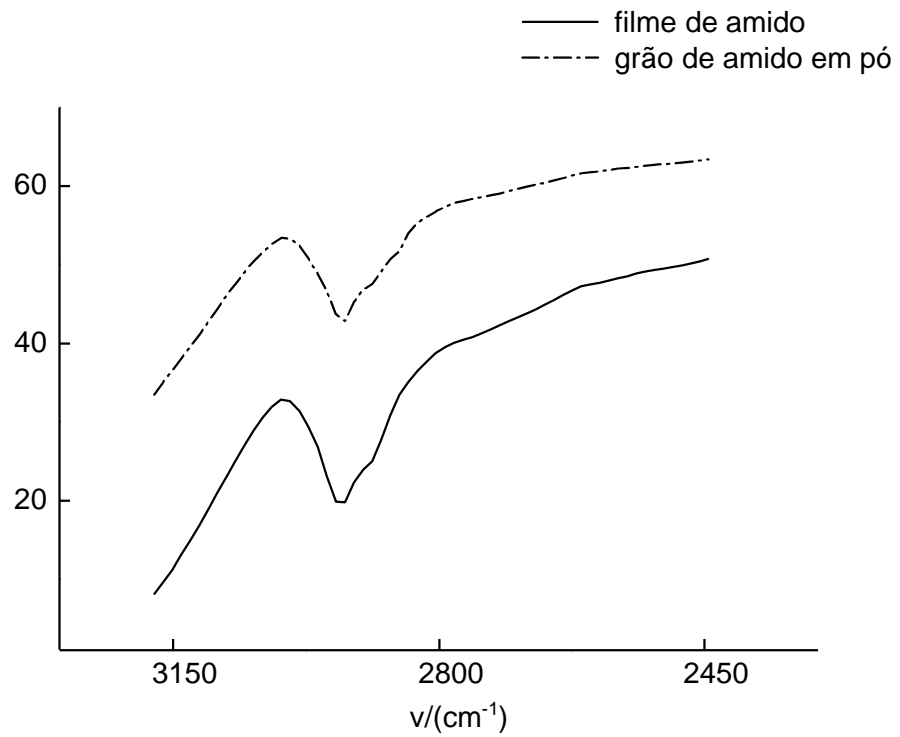


Figura 22 - Espectros do infravermelho do filme de amido e do grão de amido em pó na região de 3.000 - 2.840 cm^{-1} .

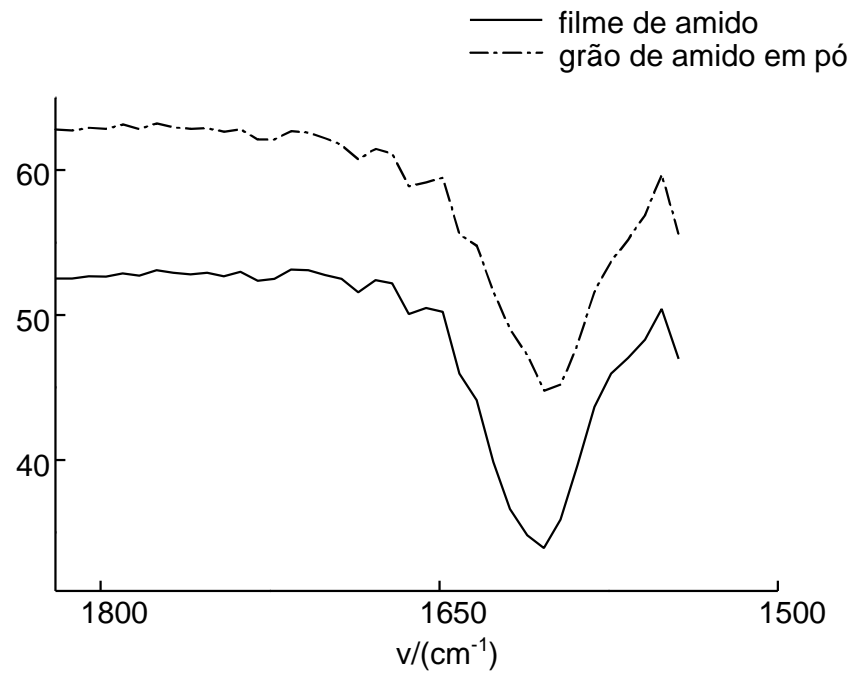


Figura 23 - Espectros do infravermelho do filme de amido e do grão de amido em pó na região de 1.780 - 1.565 cm^{-1} .

Esse fato é perfeitamente plausível, já que os modos normais de deformação angular não são tão afetados pelo ambiente das macromoléculas quanto os modos normais de estiramento (BUENO, 1990).

3.5.4. Região de 1.565- 242 cm^{-1}

A região de 1.565 - 242 cm^{-1} foi caracterizada pelos modos normais de estiramento e deformação angular das ligações C-C e C-O, pelas vibrações de rede e pelos acoplamentos entre modos normais de estiramento.

Observou-se que, no geral, existe melhor resolução do espectro do filme do que do grão de amido. Percebeu-se, também, que todos os picos mais intensos dessa região estão deslocados para valores de menor número de onda, nos dois espectros (Figura 23).

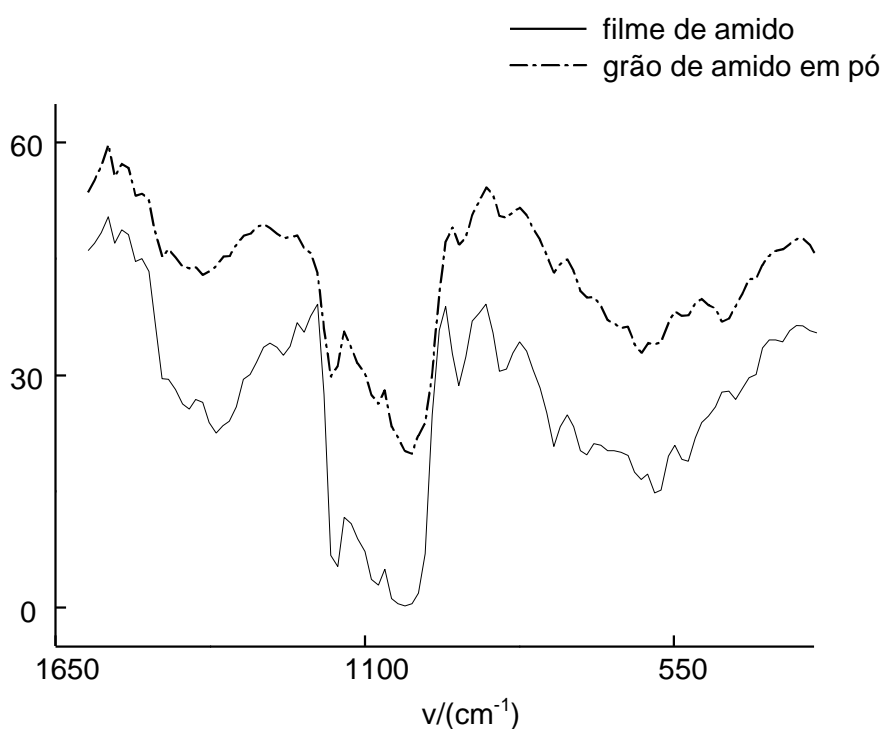


Figura 24 - Espectros do infravermelho do filme de amido e do grão de amido em pó na região de 1.565 – 242 cm^{-1} .

Esses fatos mostrados pelos espectros corroboram com o ponto de vista de que as moléculas presentes no filme estão menos empacotadas que no grão, podendo, portanto, adquirir um maior número de confômeros.

3.6. Difusão de moléculas de água no grão de amido em pó

É sabido que o grão de amido possui em sua composição, além de outros componentes, macromoléculas de amilose e amilopectina.

Esses polímeros estão ligados entre si por ligações de hidrogênio (EL-HINNAWY, 1982; ROSARIO e PONTIVEROS, 1983; WILSON et al., 1988), mas podem também participar de ligação de hidrogênio com moléculas de água, dispostas em todo o grão de amido (CAEL et al., 1973). Como já foi citado, essas moléculas de água encontram-se no grão de amido, de três diferentes maneiras: água de constituição, água de adsorção e água intersticial (CIACCO e CRUZ, 1982).

Quando o potencial químico da água no interior do grão de amido torna-se diferente do potencial químico da água externa ao grão de amido, ocorrem processos espontâneos de difusão do interior do grão em direção ao seu exterior ou vice-versa. A direção da difusão será sempre no sentido da fase de maior potencial químico para a de menor.

Visando, então, acompanhar esse processo de difusão, realizaram-se estudos da variação nos espectros na região do infravermelho do grão de amido em pó durante o processo de evaporação da água, mediante aquecimento (Figura 25).

Essa figura mostra apenas alguns espectros do grão de amido em pó, após aquecimento a diferentes temperaturas, para sua melhor visualização.

3.6.1. Resultados obtidos a partir dos espectros do grão de amido em pó, após exposição a diferentes temperaturas

As mudanças nos espectros do infravermelho foram acompanhadas em termos das modificações dos parâmetros, da posição da banda e da intensidade.

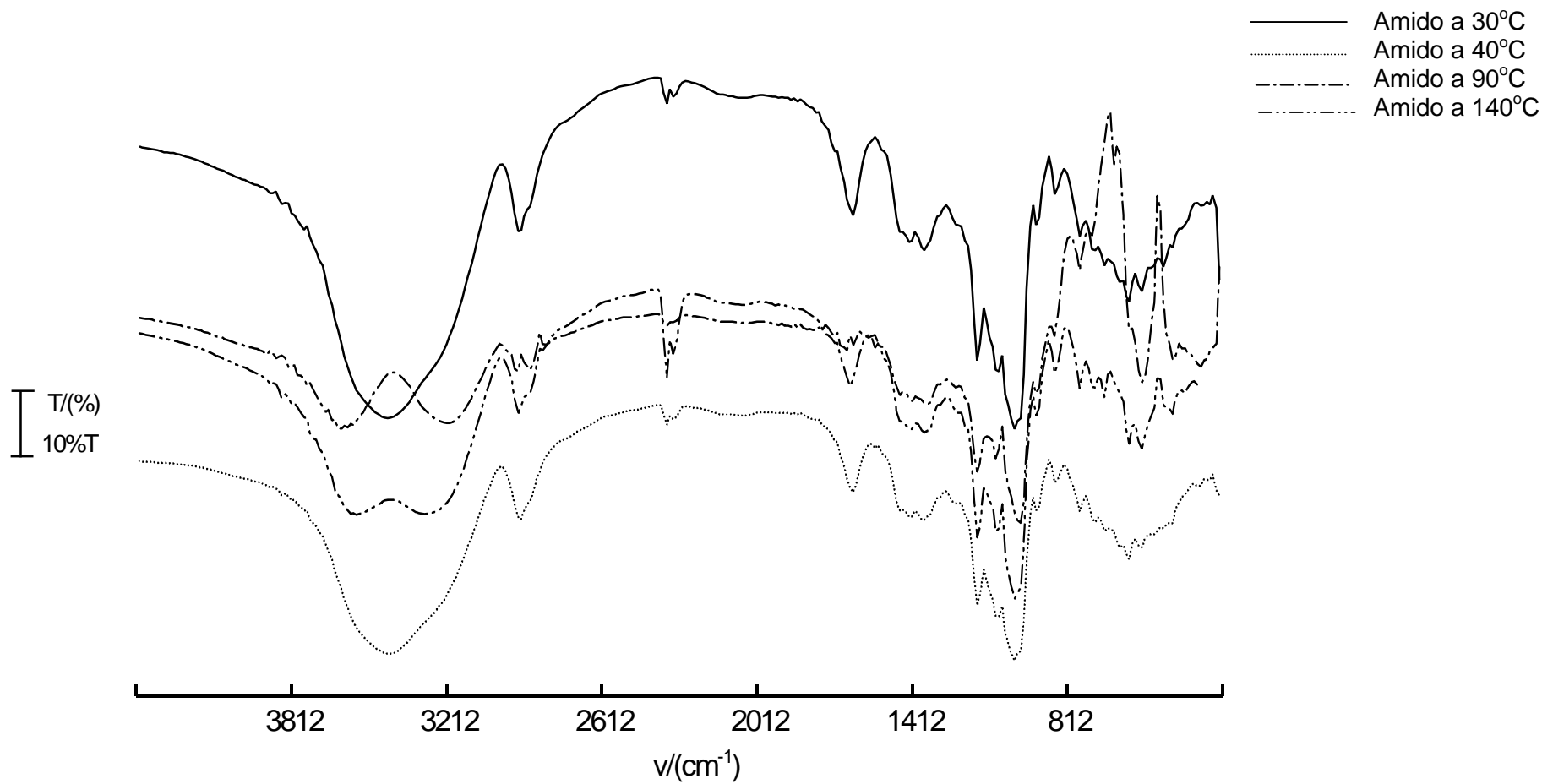


Figura 25 - Espectros na região do infravermelho obtidos do grão de amido em pó, a diferentes temperaturas.

A posição da banda está relacionada com o valor do número de onda correspondente à máxima absorção e a intensidade da banda, com o valor de toda a área sob a curva de cada banda do espectro.

A partir dos espectros, fez-se o cálculo de toda a área das bandas, separadas por regiões, e observou-se o número de onda de máxima intensidade.

Os valores obtidos são apresentados nos Quadros 2 e 3. No Quadro 2, estão os valores das intensidades das bandas presentes nos espectros do grão de amido, a diferentes temperaturas, as bandas estão representadas por regiões.

Quadro 2 - Valores de intensidades das bandas dos espectros na região do infravermelho do grão de amido em pó, em suas respectivas regiões, a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Intensidades das Bandas nas Regiões dos Espectros do Infravermelho						
	4.000 - 3.000	3.000 - 2.840	1.780 - 1.565	1.565 - 1.285	1.285 - 945	945 - 885	885 - 280
30	25.444	1.099	1.518	2.104	7.686	197	9.304
40	18.882	928	1.044	1.587	5.757	162	4.972
70	22.442	1219	1.012	2.106	6.825	207	5.922
90	12.550	620	453	1.576	3.535	194	9.731
120	24.649	1055	1.141	1.699	6.399	152	8.029
140	21.255	1064	1.054	2.092	7.044	213	4.533
160	15.769	867	465	1.682	6.025	185	4.223
180	19.649	972	914	1.775	6.303	186	7.660

Um dos objetivos deste trabalho foi elucidar as possíveis modificações na estrutura do amido, quando ele sofresse transformações físicas ou químicas, utilizando para isto, a espectroscopia vibracional e a eletrônica.

Como o amido é um sistema macromolecular multicomponente, não se pode esperar uma determinação exata da posição espacial dos átomos, como muitas vezes é possível para moléculas pequenas. As mudanças estruturais ocorridas com o amido durante os experimentos serão discutidas em termos de quebra ou formação de ligações de hidrogênio, aparecimento ou desaparecimento

de novas bandas nos espectros do grão e do filme de amido (em relação aos espectros já apresentados nas Figuras 12 e 20), enfim, mudanças ocorridas nas bandas de absorção dos espectros do infravermelho.

No Quadro 3, estão os valores referentes ao número de onda de máxima intensidade de cada banda, que corresponde a regiões, presentes nos espectros do grão de amido em pó (Figura 25), submetido a diferentes temperaturas.

Quadro 3 - Valores da posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, em suas respectivas regiões, a diferentes temperaturas

Tempe- ratura (°C)	Posição das Bandas nas Regiões dos Espectros Infravermelho (cm ⁻¹)						
	4.000 -3.000	3.000 - 2.840	1.780 - 1.565	1.565 - 1.285	1.285 - 945	945 - 885	885 - 280
30	3.440	2.931	1.642	1.367	1.158, 1.081, 1.018	929	577
40	3.437	2.929	1.644	1.371	1.158, 1.081, 1.018	928	576
70	3.389	2.930	1.650	1.371	1.158, 1.081, 1.017	929	575
90	3.600, 3.284	2.933	1.654	1.364	1.158, 1.082, 1.013	929	575, 527
120	3.420	2.931	1.654	1.370	1.156, 1.080, 1.020	929	576
140	3.562, 3.294	2.933	1.650	1.361	1.157, 1.081, 1.014	929	575, 527
160	3.584, 3.280	2.933	1.668	1.364	1.157, 1.082, 1.013	928	575, 527
180	3.417	2.930	1.644	1.368	1.1527, 1.081, 1.017	928	577

Observando os resultados dos Quadros 3 e 4, verificou-se que nenhum dos parâmetros estudados (intensidade e posição da banda) comportou-se de forma monótona, seja na forma de um crescimento ou não. O que realmente ocorreu foi o comportamento dos resultados, caracterizado como aleatório e com baixa reprodutibilidade.

Os gráficos das Figuras 26 e 27 ilustram esse comportamento de forma mais clara, pois, por meio deles, pode-se notar que os resultados não expressam um comportamento do sistema, pelo contrário, demonstram a dificuldade de obter amostras homogêneas de amido, quando dispersas na pastilha de KBr.

Quando as pastilhas são preparadas, inevitavelmente ocorre a concentração do material em pontos específicos das mesmas, fazendo com que a densidade de moléculas no caminho ótico mude a cada amostra.

Este estudo mostrou que, para avaliar o processo de difusão de água por infravermelho, é necessário manter o número de moléculas constante no caminho da radiação e que isto não é possível quando se trata de análise realizada pela técnica de transmissão em pastilha de KBr. As pastilhas preparadas sempre serão diferentes umas das outras. Não é conveniente, portanto, fazer comparações entre espectros na região do infravermelho, obtidos a partir de pastilhas diferentes.

As figuras que se seguem (Figuras 28 a 32), ilustram os valores de intensidade (Quadro 3) e posição (Quadro 4) das bandas dos espectros do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas.

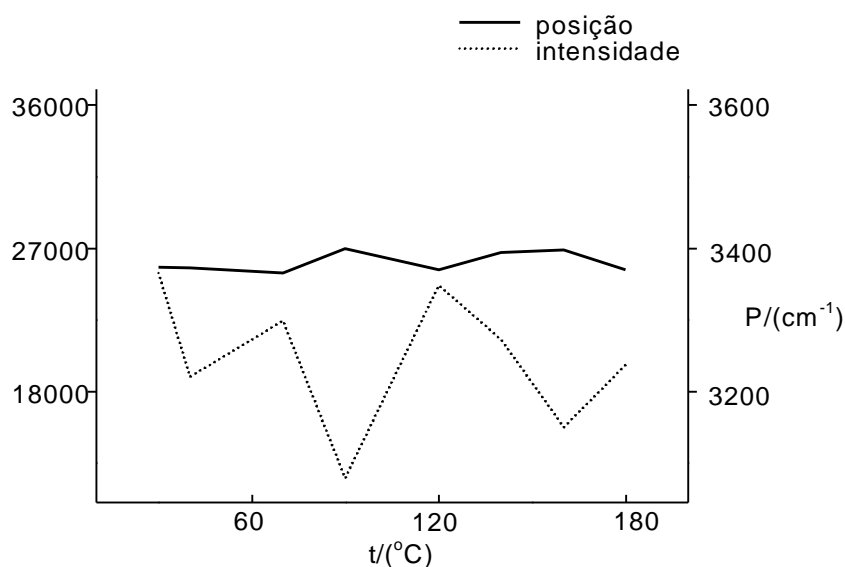


Figura 26 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 4.000 - 3.000 cm^{-1} .

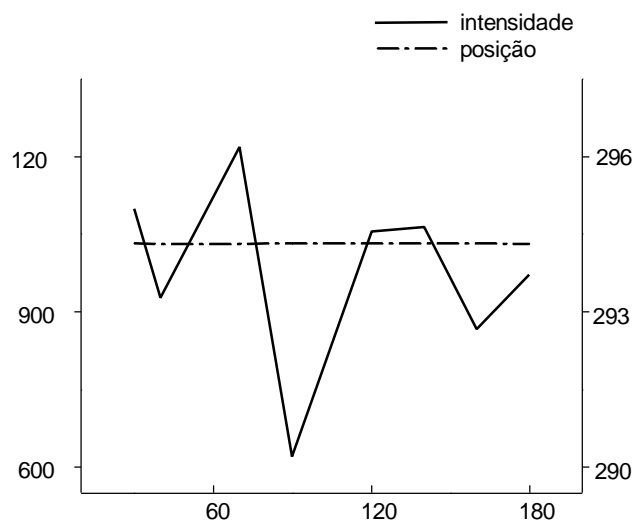


Figura 27 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 3.000 - 2.840 cm^{-1} .

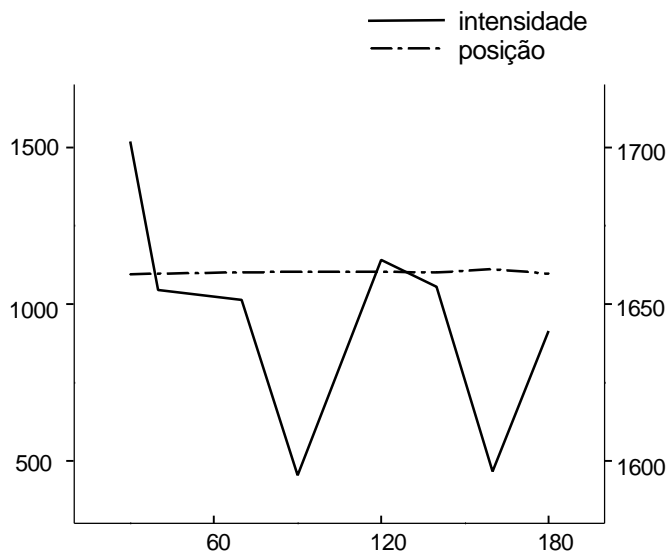


Figura 28 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 1.780 - 1.565 cm^{-1} .

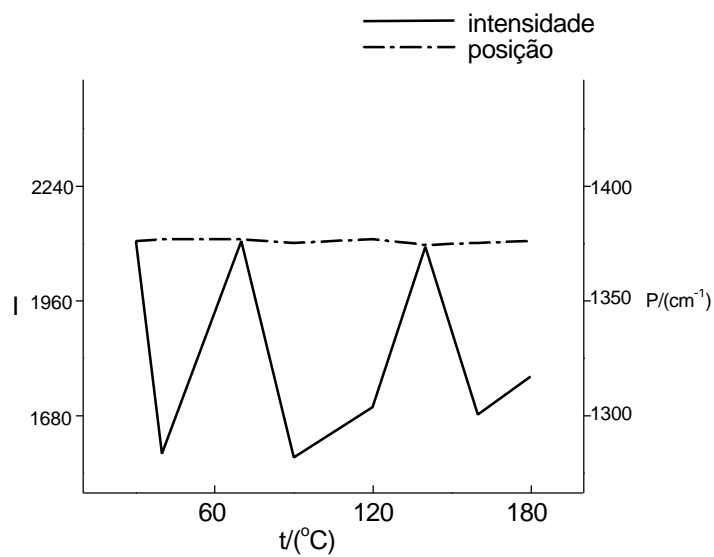


Figura 29 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 1.565 - 1.285 cm^{-1} .

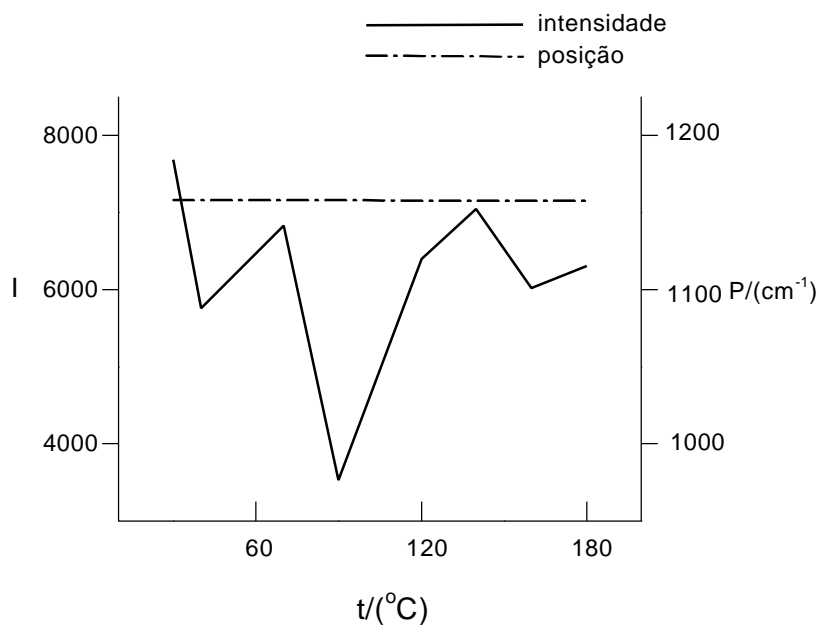


Figura 30 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 1.285 - 945 cm^{-1} .

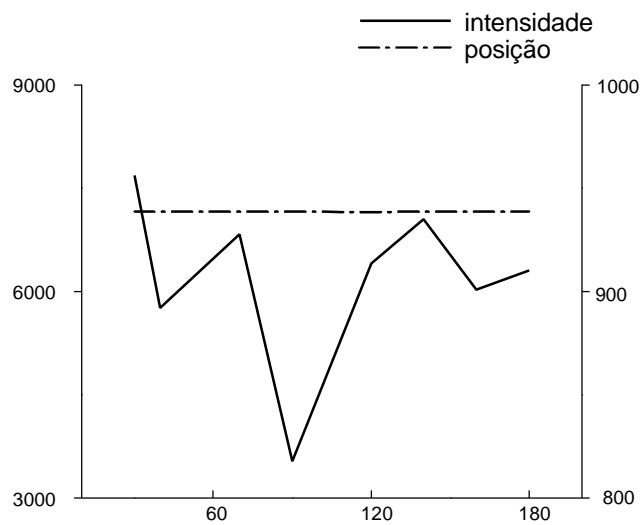


Figura 31 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 945 - 885 cm^{-1} .

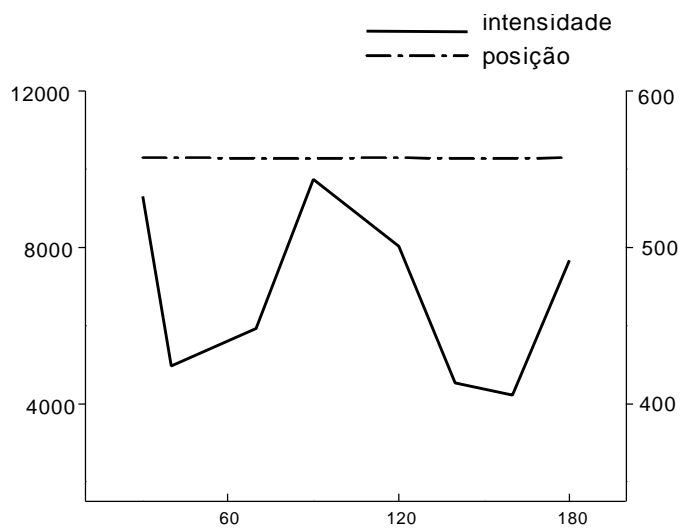


Figura 32 - Valores de intensidade e posição das bandas dos espectros do infravermelho do grão de amido em pó, submetido a diferentes temperaturas, na região de 885 - 280 cm^{-1} .

3.7. Difusão de moléculas de água no filme de amido

O filme de amido possui os mesmos componentes que o grão, inclusive no que diz respeito a moléculas de água. No entanto, existem grandes evidências de que as moléculas de água funcionam como plastificante no filme de amido (WHISTLER,1984). Quando ocorre a retrogradação, o arranjo conformacional das moléculas e macromoléculas que constituem o filme pode variar.

Como foi verificado na Figura 19, as superfícies dos filmes de amido são bastante irregulares e distintas, principalmente pelo fato de as próprias condições experimentais, como pH, temperatura, superfície em que o filme está sendo formado, pressão, origem botânica do amido e concentração de amilose e amilopectina (ROSARIO e PONTIVEROS, 1983), influenciarem a velocidade de retrogradação e, conseqüentemente, a cristalização e estrutura conformacional do filme.

Visando avaliar as prováveis mudanças ocorridas na estrutura do filme e elucidar o fato de a molécula de água estar atuando como plastificante, submeteu-se o filme polimérico de amido a diferentes temperaturas, para evaporação de água, com o intuito de perceber as variações no rearranjo das macromoléculas formadoras do filme, da amilose e da amilopectina.

3.7.1. Resultados obtidos a partir dos espectros do filme de amido, após exposição a diferentes temperaturas

Tendo conhecimento da irregularidade da superfície do filme polimérico de amido, preparou-se o experimento de forma que os espectros obtidos fossem sempre de uma mesma região do filme. A Figura 33 ilustra apenas alguns espectros, para melhor visualização do seu comportamento.

O fato de terem sido apresentados apenas alguns espectros não interferiu no acompanhamento das modificações ocorridas, pois eles demonstram muito bem o comportamento sistemático dos resultados.

A análise dos resultados para o filme de amido submetido a diferentes temperaturas foi feita da mesma forma que foram analisados os resultados para o grão de amido em pó submetido a diferentes temperaturas. Foi tirado espectro no infravermelho do filme de amido para cada temperatura que foi

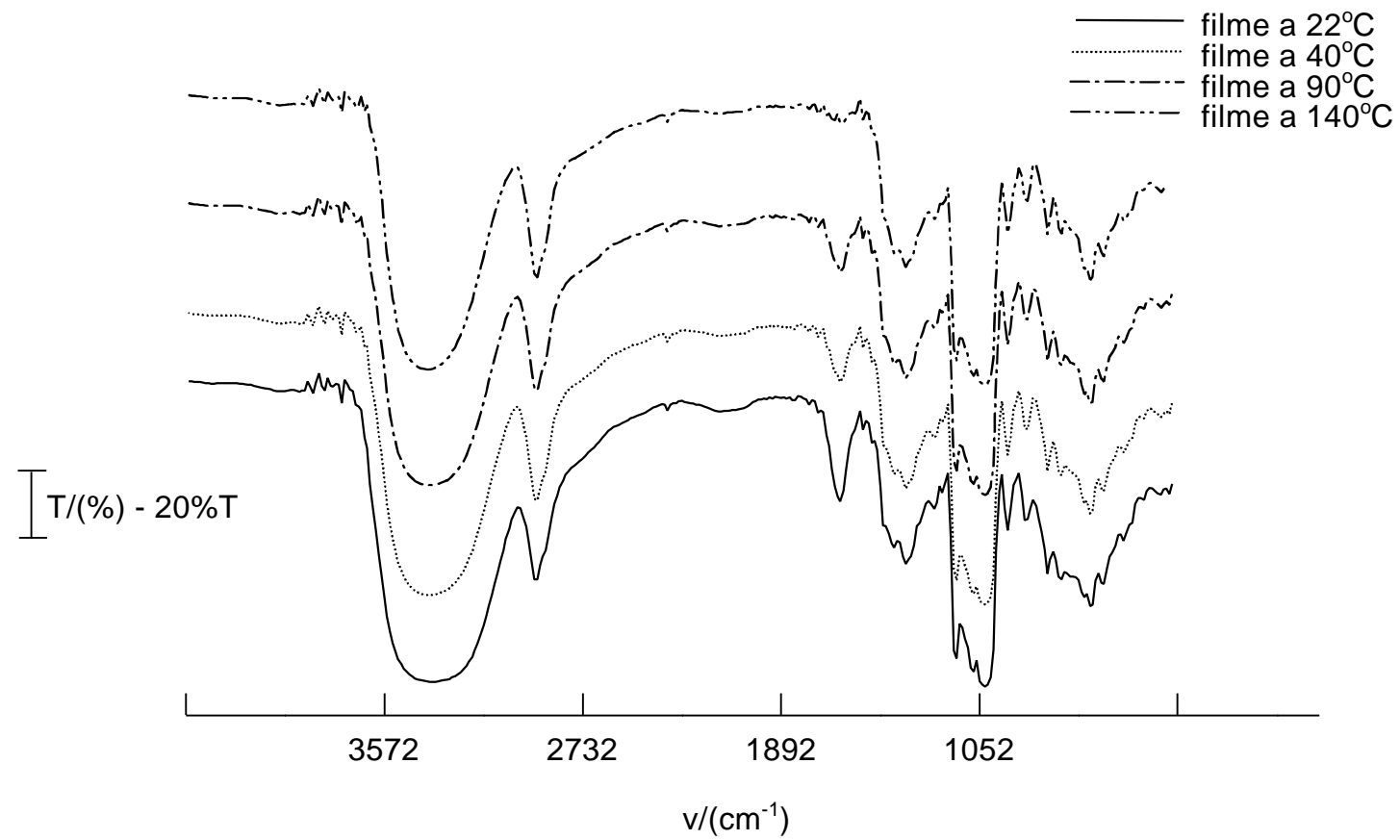


Figura 33 - Espectros na região do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas.

submetido, e em função dos espectros avaliou-se os parâmetros intensidade e posição das bandas. Os valores referentes aos parâmetros, estão contidos nos Quadros 4 e 5.

Quadro 4 - Valores de intensidade das bandas dos espectros do infravermelho de transmissão do filme de amido, em suas respectivas regiões, a diferentes temperaturas

Tempe- ratura (°C)	Intensidade das Bandas dos Espectros Infravermelho e Suas Respectivas Regiões						
	3.686-3.000	3.000-2.855	1.732-1.574	1.493-1.185	1.185-955	955-882	882-242
22	20.461	997	1.298	3.476	6.542	305	7.145
30	19.649	1.050	1.083	3.512	6.487	319	6.664
40	20.224	1.112	1.044	3.525	6.816	335	6.377
70	18.691	1.243	695	3.536	6.450	338	5.675
90	18.756	1.194	781	3.515	6.378	333	5.915
120	18.390	1.266	609	3.552	6.406	337	5.499
140	17.541	1.363	360	3.555	6.372	341	4.258
160	18.000	1.279	491	3.473	6.246	328	4.997
180	17.089	1.311	236	3.269	5.807	290	4.401

Observando a Figura 33 e os Quadros 4 e 5, pode-se notar que, com o aumento da temperatura, a banda de absorção na região de $3.686 - 3.000 \text{ cm}^{-1}$, teve sua intensidade diminuída, enquanto o número de onda correspondente à máxima absorção deslocou-se para valores maiores.

Com o aquecimento do filme, houve um aumento da energia cinética térmica de moléculas de água, ocasionando quebra de ligações de hidrogênio entre água-água e água-macromoléculas. Conseqüentemente, grande parte das moléculas de água foi evaporada do sistema.

Pode-se atribuir o deslocamento do número de onda máximo da banda de $3.686 - 3.000 \text{ cm}^{-1}$ para valores maiores à diminuição do número de ligações de hidrogênio. A menor intensidade da banda, do modo de estiramento da ligação O-H, se deu em função da perda de moléculas de água.

Quando se observou o espectro do filme de amido exposto a diferentes temperaturas (Figura 33), verificou-se que a região de $3.000-2.855 \text{ cm}^{-1}$, não foi

Quadro 5 - Valores de posição das bandas dos espectros do infravermelho de transmissão do filme de amido, em suas respectivas regiões, a diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Posição das Bandas dos Espectros no Infravermelho, em Suas Respectivas Regiões (cm ⁻¹)						
	3.686-3.000	3.000-2.855	1.732-1.574	1.493-1.185	1.185-955	955-882	882-242
22	3370	2929	1654	1364	1153, 1081, 1025	933	578
30	3372	2929	1654	1364	1153, 1081, 1026	933	578
40	3377	2929	1654	1364	1153, 1081, 1025	932	578
70	3382	2928	1654	1364	1152, 1080, 1026	932	578
90	3381	2929	1654	1364	1152, 1080, 1026	932	578
120	3383	2928	1654	1364	1152, 1080, 1026	932	579
140	3386	2927	1654	1364	1151, 1080, 1027	932	579
160	3385	2928	1654	1364	1151, 1080, 1027	931	579
180	3395	2927	1654	1364	1151, 1079, 1028	931	579

modificada durante o processo de desidratação. Pode-se concluir, então, que nessa região não houve processo de degradação das macromoléculas formadoras do filme, pois o valor da intensidade das bandas permanece praticamente constante. Outra evidência é que o modo normal de estiramento da ligação C-H não está acoplado com os modos normais de estiramento da ligação O-H.

Na região de 1.732 - 1.574 cm⁻¹, observou-se diminuição acentuada da intensidade das bandas com o aumento da temperatura do filme, banda esta referente ao modo de deformação angular da ligação O-H. Este parâmetro seguiu um comportamento semelhante ao parâmetro da região de 3.680 - 3.000 cm⁻¹, no que se refere à intensidade das bandas. Porém, ao analisar a posição das bandas nessa região, notou-se que com o aumento da temperatura o valor do número de onda de máxima absorção permanece constante (Quadro 5). Não houve variação, pelo fato de a diminuição do

número de ligações de hidrogênio perturbar bem menos a variação da diferença dos níveis de energia vibracional do modo de deformação angular, do que a variação da diferença dos níveis de energia no modo de estiramento da ligação O-H.

Pela Figura 34, percebe-se que a região de $1.493 - 242 \text{ cm}^{-1}$ é sensível a mudanças conformacionais das macromoléculas e, também, a mudanças no ambiente que a cerca. Nesta região, estão presentes bandas muito intensas, associadas a estiramentos muito polares, como a ligação C-O.

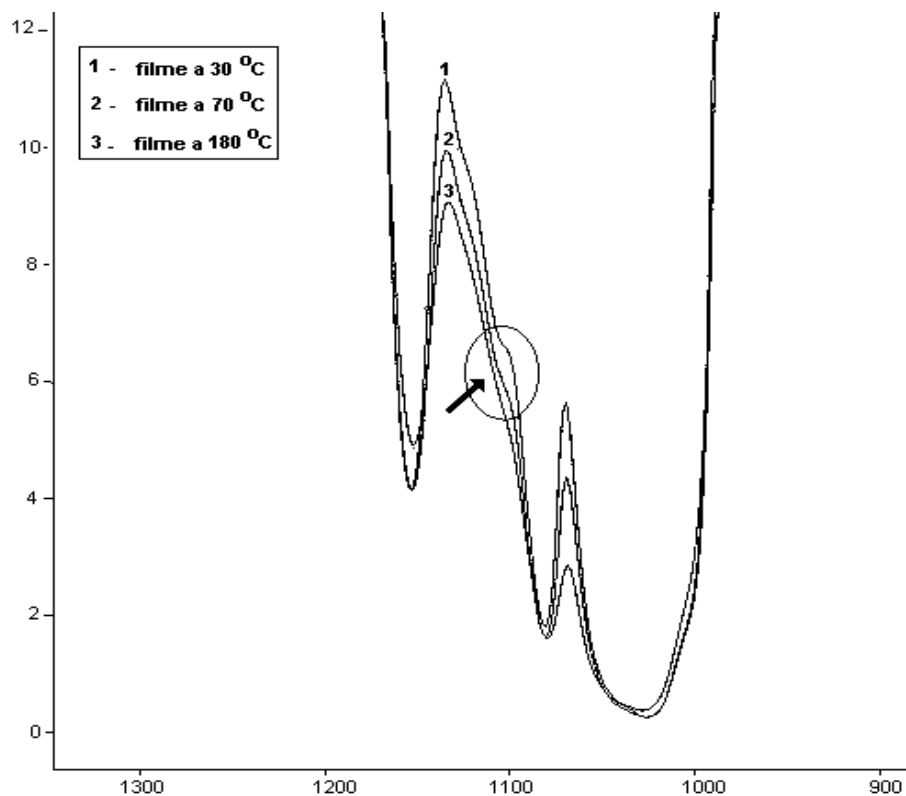


Figura 34 - Espectro do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 1.185 - 955.

As modificações em termos de posição e intensidade das bandas são muito poucas, com o aquecimento. Porém, quando se observa detalhadamente o espectro da Figura 34, percebe-se um ombro existente entre os picos com máxima absorção em 1.153 e 1.081 cm^{-1} , que diminui sua resolução (nitidez), com o aquecimento.

WILSON et al. (1987) perceberam o aparecimento de um ombro nessa mesma região, quando estudavam a gelatinização e a retrogradação de amido de milho ceroso. Eles associaram o ombro à conformação dos polímeros de amilose e amilopectina.

Segundo aqueles autores, o polímero no estado gel possui uma grande distribuição dos estados conformacionais, porém quando ocorre a retrogradação há formação de estados mais cristalinos e formação de uma hélice mais estendida. Com isso, os estados conformacionais diminuem, causando um estreitamento das bandas.

Neste trabalho, quando o filme estava à temperatura ambiente (22°C), as macromoléculas possuíam maior grau de liberdade de movimento. O aquecimento provocou a desidratação do filme, causando uma diminuição do grau de liberdade de movimento das macromoléculas e, conseqüente, diminuição dos estados conformacionais.

As Figuras 35 a 41, a seguir, ilustram os valores de intensidade (Quadro 4) e a posição (Quadro 5) das bandas dos espectros filme de amido, submetido a diferentes temperaturas.

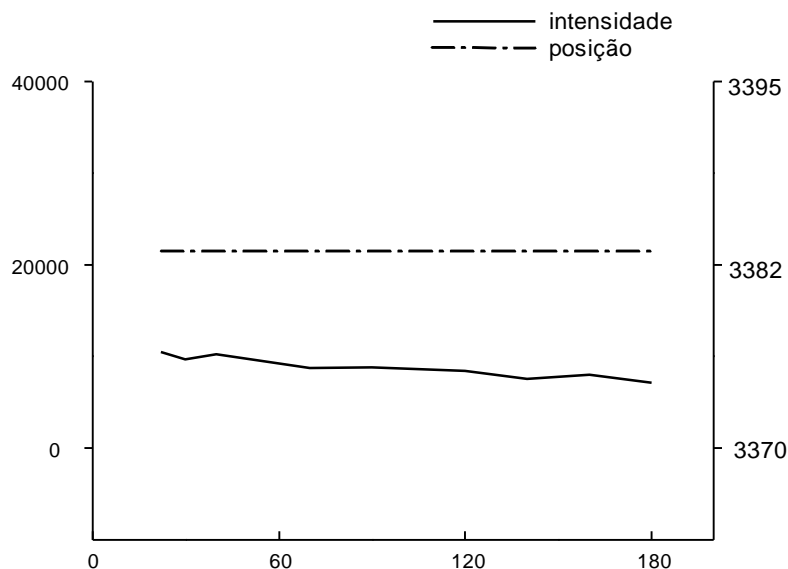


Figura 35 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 3.686 - 3.000 cm^{-1} .

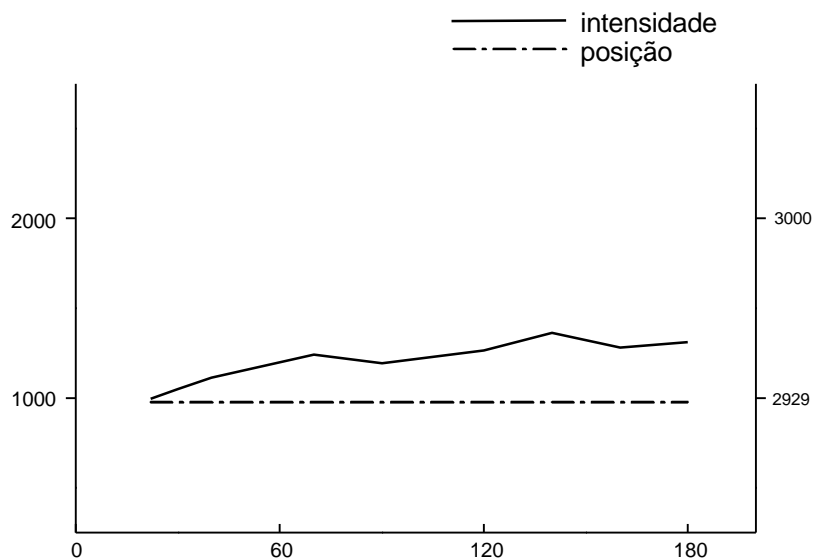


Figura 36 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 3.000-2.855 cm^{-1} .

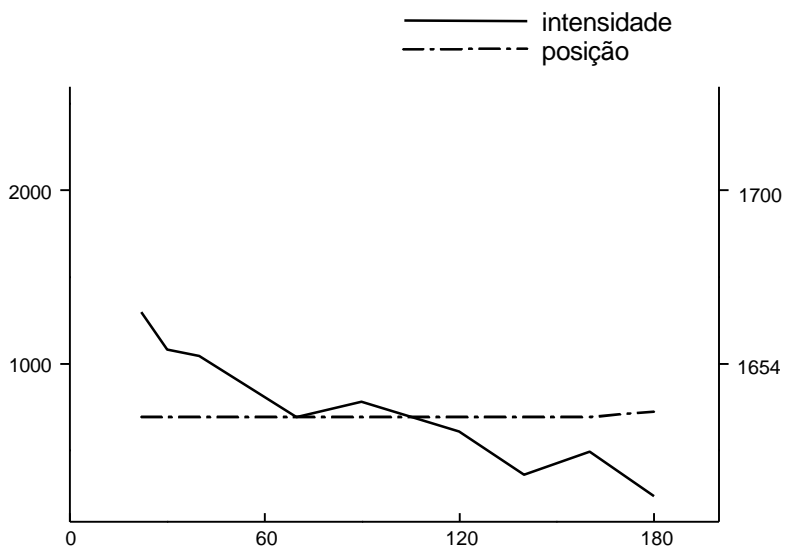


Figura 37 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 1.732-157 cm^{-1} .

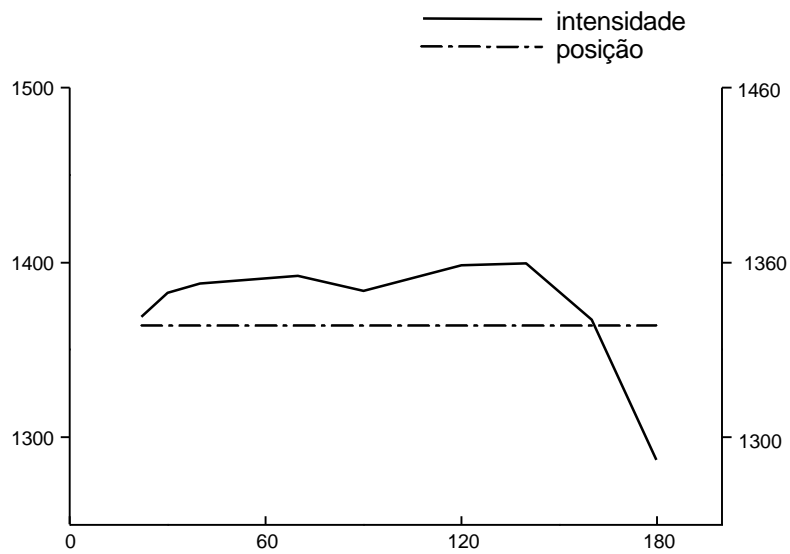


Figura 38 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de $1.493 - 1.185 \text{ cm}^{-1}$.

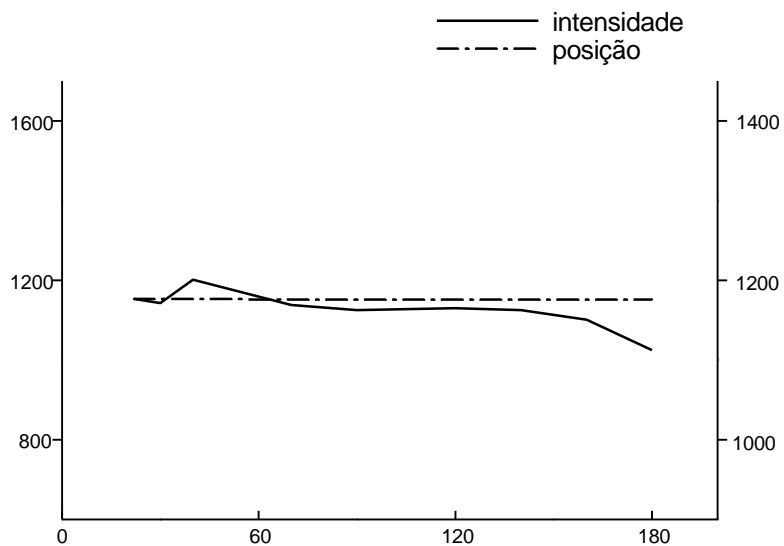


Figura 39 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de $1.185 - 955 \text{ cm}^{-1}$.

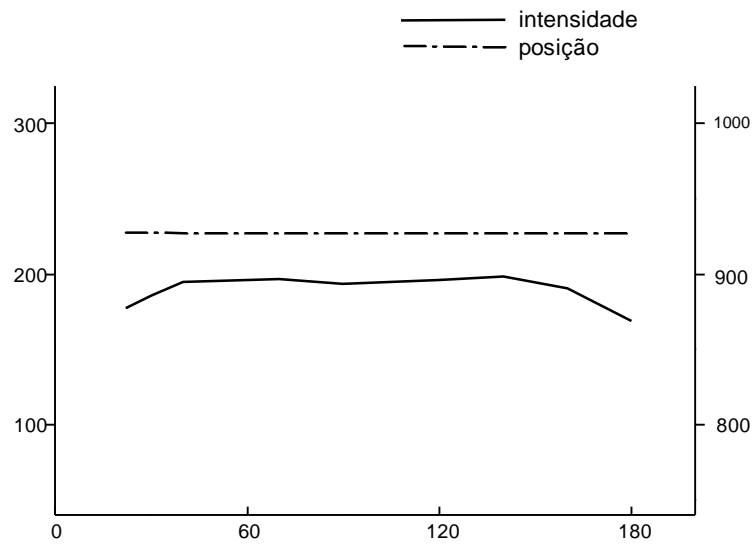


Figura 40 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 955 - 882 cm^{-1} .

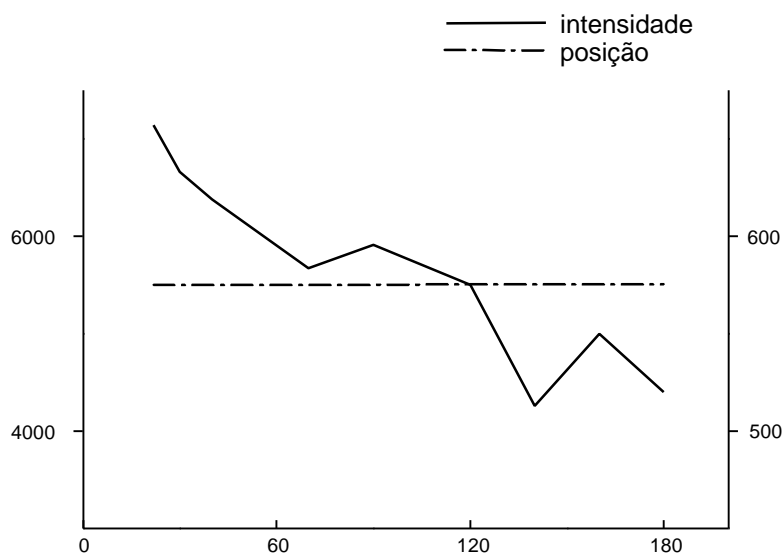


Figura 41 - Gráficos referentes aos valores de intensidade e à posição das bandas dos espectros do infravermelho do filme de amido, submetido a diferentes temperaturas, na região de 882 - 230 cm^{-1} .

3.8. Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada com o objetivo de avaliar a estabilidade térmica da amostra de amido em pó e do filme de amido.

Pelo termograma do grão de amido em pó (Figura 42), observam-se dois eventos térmicos: o primeiro ocorreu na faixa de temperatura de 30-110°C e foi atribuído à perda de cerca de 10% de água da amostra, e o segundo se deu na faixa de temperatura de 260 - 430°C, aproximadamente, sendo inerente à quebra de ligações com formação de fragmentos voláteis. A perda de massa envolvida neste evento foi em torno de 78%, tendo atingido uma velocidade máxima em 320,66°C. No intervalo de temperatura entre os dois eventos (110 - 260°C), a amostra demonstrou ser termicamente estável.

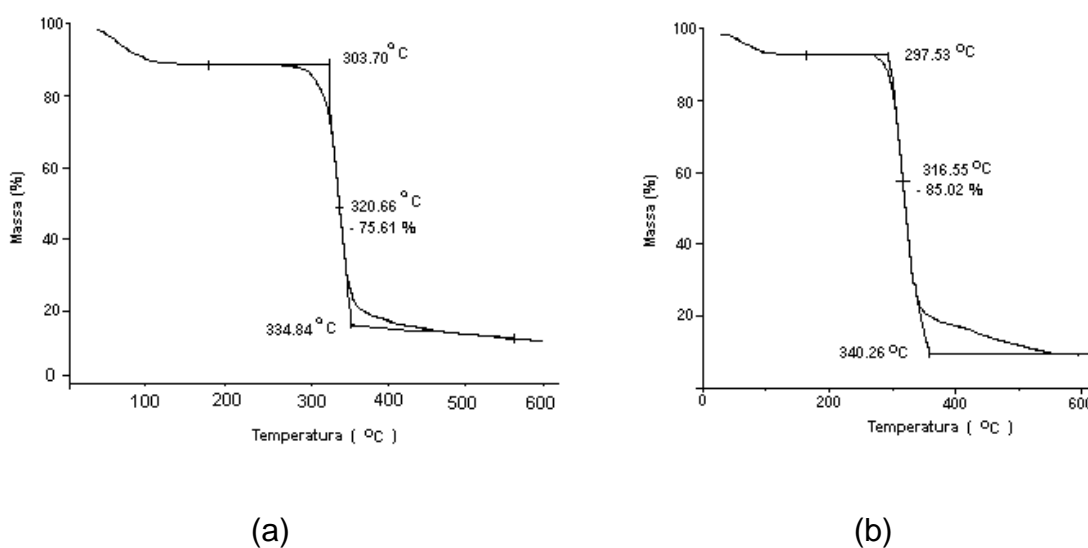


Figura 42 - Termogramas do grão de amido em pó (a) e do filme de amido (b).

Os 12% de resíduos restantes foram material carbonizado.

Estudando o termograma obtido com o filme de amido (Figura 42(b)), verificou-se que os eventos térmicos foram os mesmos ocorridos com o grão de amido em pó, o que indica que a formação do filme não alterou o comportamento térmico do amido. Houve perda de massa entre 30 e 110°C de, aproximadamente, 8% de água, e entre 260 e 440°C, houve formação de

fragmentos voláteis. Porém, ocorreu diminuição na velocidade máxima de perda de massa em 316,55°C. Este fato sugere uma diminuição da energia necessária na formação de fragmentos, o que reflete na possibilidade de as macromoléculas de amilose e amilopectina estarem mais empacotadas no grão de amido em pó do que no filme de amido.

3.9. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho da interação do filme de amido com sulfeto de hidrogênio - (H₂S)

A introdução de moléculas de H₂S no filme de amido se deu por dois motivos. Em primeiro lugar, por sua semelhança estrutural com a molécula de água; a molécula de H₂S possui o mesmo tamanho que a molécula de água e, também, pode formar ligações de hidrogênio.

A frequência de absorção no infravermelho do modo normal de estiramento da ligação S-H aparece em torno de 2.500 cm⁻¹, e esta região, no espectro do filme de amido (Figura 20), é livre de bandas. Sendo assim, a difusão da molécula de H₂S no filme pode ser acompanhada com bastante nitidez.

O segundo motivo foi avaliar a possibilidade de o filme de amido funcionar como adsorvente de gases tóxicos; por isto foi escolhido o H₂S para realização desta experiência.

Esse último comportamento foi verificado, mas surpreendentemente nenhuma banda por volta de 2.500 cm⁻¹ foi verificada. A única banda diferente foi observada na região de 1.605 - 1.525 cm⁻¹, com um máximo de absorção em 1.560 cm⁻¹ (Figura 43).

Segundo KOENIG (1992), essa banda pode estar relacionada com modos normais de estiramento de grupos funcionais que possuem ligação S-O, o que sugere que ao introduzir moléculas de H₂S no filme ocorre uma reação química, com possível formação de ligação S-O. Porém, os dados obtidos apenas com o estudo do infravermelho não são suficientes para afirmar que tipo de reação ocorreu e nem qual composto foi formado. O que se pode afirmar é que o possível composto é volátil e de coloração amarela, pois o filme adquiriu tal coloração após a introdução de moléculas de H₂S; com o passar do tempo essa coloração desapareceu. Tal fato pode ser

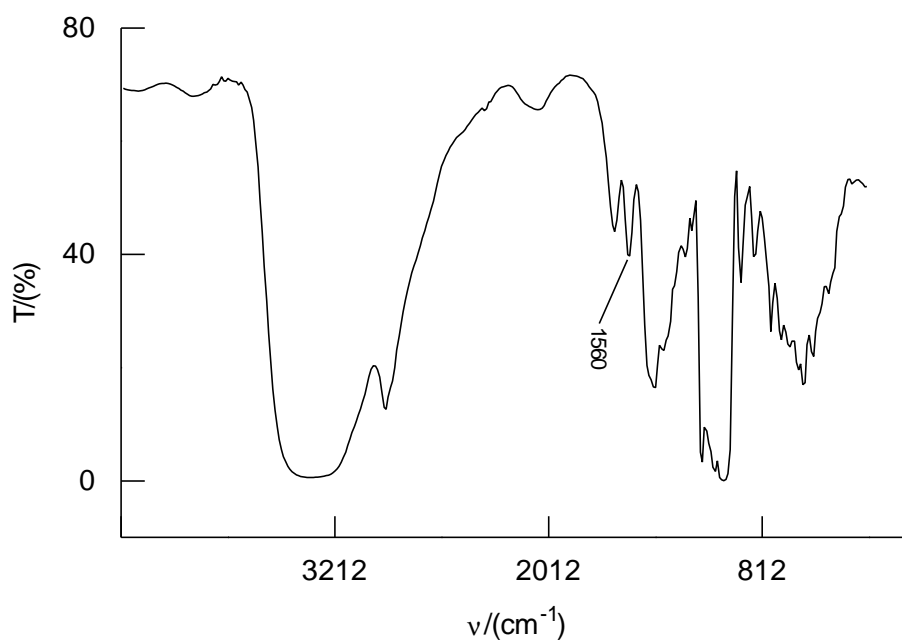


Figura 43 - Espectro vibracional na região do infravermelho do filme de amido, após exposição em atmosfera de H₂S.

comprovado pela diminuição do valor da intensidade da banda entre 1.605 e 1.525 cm⁻¹ (Quadro 6 e Figura 44).

A diminuição da intensidade da banda na região de 1.605 - 1.525 cm⁻¹ pode ser verificada também no gráfico da Figura 43.

Após avaliar a capacidade de adsorção do filme de amido, pôde-se constatar que uma das aplicabilidades do filme pode ser na sua utilização como adsorvente de gases tóxicos, como o H₂S, e que pelo fato de o filme não reter o gás ele pode inclusive ser reutilizado. A Figura 45 pode ser vista como uma cinética de dessorção do gás H₂S, apesar de o acompanhamento da cinética de dessorção do gás H₂S não ter sido um dos objetivos deste estudo.

Quadro 6 - Valores de intensidade das bandas dos espectros na região do infravermelho do filme de amido após exposição na atmosfera de H₂S, à temperatura de 22°C

Tempo (min.)	Valores de Intensidade das Bandas dos Espectros do Infravermelho								
	3.745- 3.000	3.000- 2.870	1.675- 1.605	1.605- 1.525	1.525- 1.185	1.185- 955	955-885	885-825	825-230
0	20.681	496	342	511	5.884	9.113	573	349	8.942
22	21.074	519	355	465	5.924	9.316	576	344	9.186
51	20.960	516	371	473	6.067	9.240	579	364	9.074
84	21.121	537	361	392	5.795	9.149	562	343	9.325
130	20.461	531	370	390	5.993	9.213	574	345	9.274
170	21.139	549	364	379	6.081	9.250	580	347	9.187
1.095	21.149	535	398	347	6.132	9.204	563	351	9.000
1.132	22.300	573	427	301	6.332	9.516	593	359	9.577
1.157	21.738	565	407	280	6.256	9.420	583	347	9.113
1.194	21.791	575	407	253	6.083	9.262	573	343	9.425
1.248	21.601	579	411	257	6.358	9.362	574	351	9.149
1.285	21.490	574	412	224	6.146	9.175	569	342	9.236
1.540	22.228	587	430	205	6.203	9.123	570	350	9.297
1.621	21.298	563	403	179	5.838	8.702	538	337	9.136
2.517	21.084	572	413	181	6.172	9.072	564	342	9.316
2.567	21.715	593	435	171	6.390	9.056	577	358	9.193
2.698	20.984	584	413	129	6.022	8.904	551	335	9.193
2.989	21.435	610	416	123	6.416	9.187	575	348	9.368
3.966	22.277	618	444	107	6.398	9.152	577	350	9.303
4.055	19.879	558	389	85	5.610	8.095	506	312	8.302
4.291	22.221	642	446	70	6.325	9.293	580	352	9.386
4.530	21.731	627	457	68	6.397	9.147	569	342	9.361
5.398	17.661	506	353	63	4.966	7.012	441	282	7.436
5.744	2.014	668	464	85	6.656	9.254	588	353	9.456
12.611	23.554	678	465	104	6.601	9.214	580	347	9.394

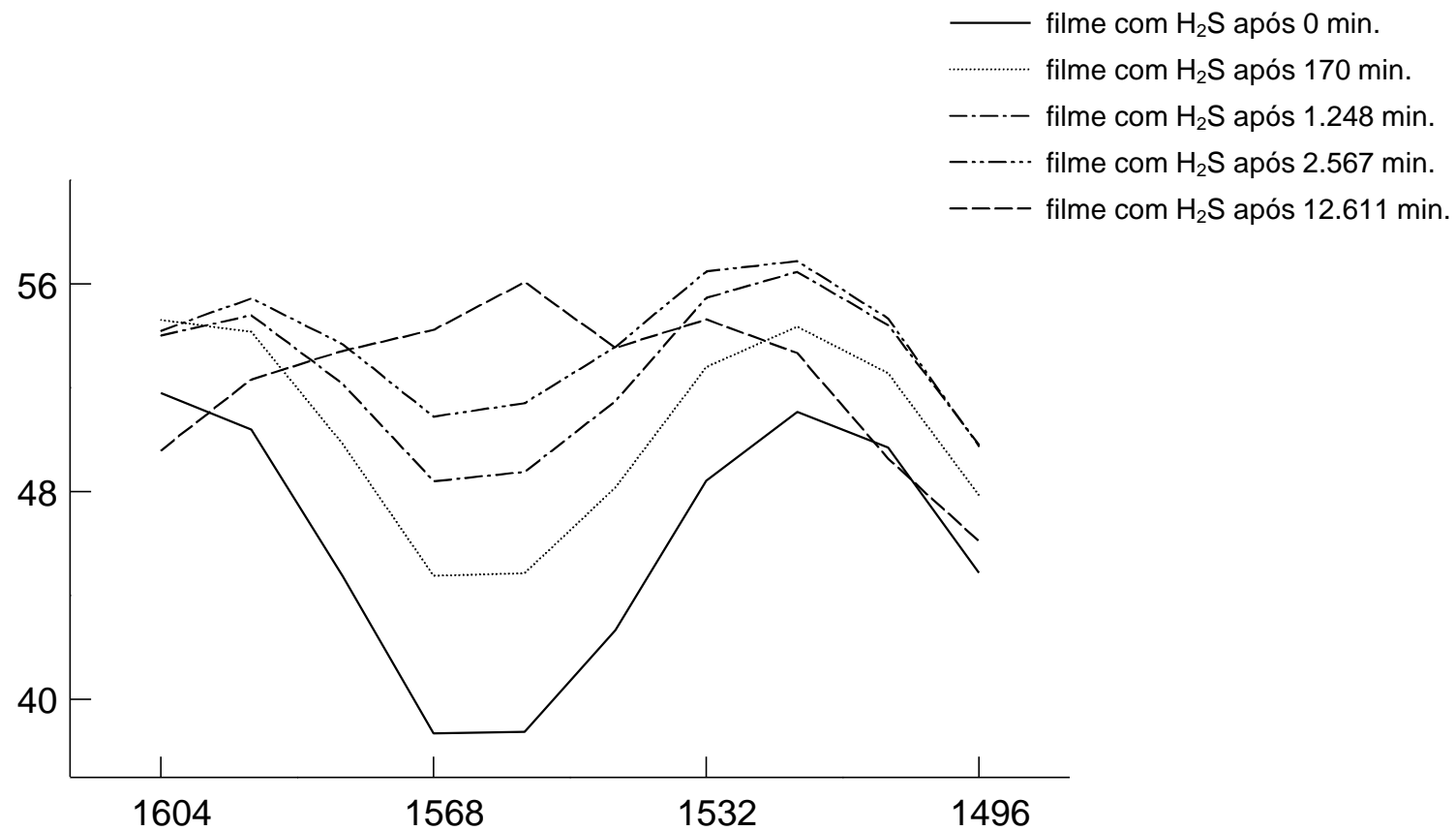


Figura 44 - Espectros vibracionais do infravermelho do filme de amido após exposição em atmosfera de H₂S, na região de 1.605 - 1.525 cm⁻¹.

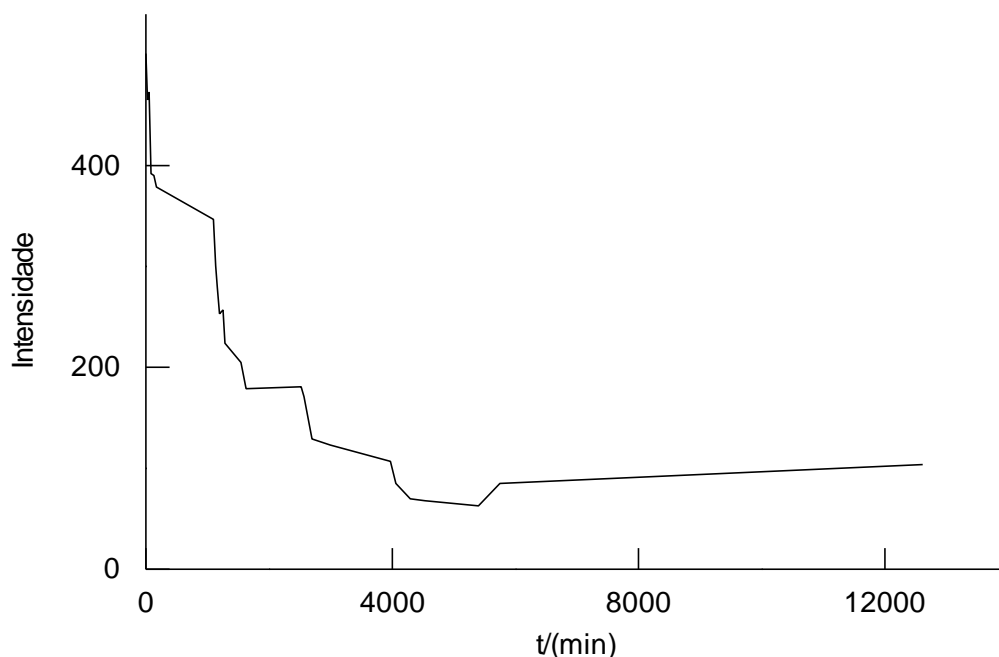


Figura 45 - Valores de intensidade da banda na região de $1605 - 1525 \text{ cm}^{-1}$, em função do tempo.

3.10. Interação do filme de amido com moléculas de iodo (I_2)

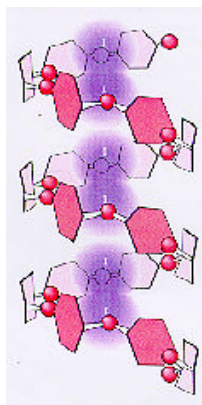
3.10.1. Estudo espectroscópico eletrônico no UV-visível

Há muitas décadas, as soluções de iodo e iodeto têm sido utilizadas como corantes, para facilitar a identificação de fibras celulósicas; a “Graff C”, por exemplo, fornece uma coloração que, dependendo da origem da fibra, varia de vermelho a amarelo, chegando até azul. A origem destas diferentes cores ainda não é compreendida.

Objetivando entender as origens moleculares dessas mudanças de absorção no espectro UV-visível, resolveu-se estudar as interações do iodo com o amido no estado sólido, visto ser o amido um polissacarídeo formado de monômeros de D-glucose, à semelhança da celulose.

Em solução, a estrutura do complexo formado entre o iodo e a amilose está aproximadamente estabelecida. A cor azul intensa do complexo de amido e iodo, em solução, foi sistematicamente estudada por RUNDLE (1974), que utilizando técnicas de raio X concluiu que a amilose está estruturada na forma

de hélice, estando os complexos de poliiodetos arranjados linearmente em uma cavidade interna da hélice com dimensão de aproximadamente 5Å, sendo a ligação I-I de aproximadamente 3,1Å (Figura 46).



Fonte: GARRETT e GRISHAM (1995).

Figura 46 - Complexos de poliiodeto na estrutura da amilose.

As moléculas de I_2 formam complexos de transferência de carga com inúmeras substâncias (GUR'YANOVA et al., 1987), como benzeno, tolueno, álcool e acetona. Uma das características desses complexos é o aparecimento de novas bandas na região do UV-visível, bandas estas que não apareciam quando se obtinha o espectro eletrônico das moléculas formadoras do complexo, separadamente. Além destas características, sabe-se que quanto mais estável for o complexo, maior será o deslocamento da banda na direção da região do ultravioleta.

A molécula de iodo é uma boa receptora de elétrons, enquanto os oxigênios pertencentes às macromoléculas de amido poderiam atuar como doadores de elétrons. Sendo assim, estaria sendo proposta a possibilidade da formação de complexos de transferência de carga entre o iodo e as macromoléculas do amido, à semelhança do que ocorre quando o iodo é dissolvido em água, álcool e acetona (SHRIVER et al., 1989).

Apesar de ser aceito que esse o complexo é responsável pela coloração azul, algumas questões pertinentes a esse sistema não foram ainda resolvidas:

- Qual seria o tamanho destes complexos de poliodeto?
- Qual seria a subestrutura dentro destes complexos?
- Quais seriam as cargas associadas a estas estruturas?
- Quais seriam os precursores destes complexos, quando preparados em diferentes condições experimentais?

Trabalhos anteriores, utilizando Raman (TEITELBAUM et al., 1980) e UV-visível, têm evidenciado a necessidade da presença de espécies I^- para a formação do complexo azulado. Posteriormente, foi reconhecido que o íon iodeto tem um importante papel na formação do complexo iodo-amido. Este fato está em discordância com os dados experimentais deste trabalho, pois a mesma coloração e, possivelmente, os mesmos complexos foram obtidos a partir de vapores de iodo, portanto moléculas I_2 livres de íons iodeto.

Entretanto, já se reconhece que moléculas de iodo podem formar aglomerados, quando presentes em sistemas macromoleculares (CHANDRA, 1996).

Desta forma, as moléculas de iodo presentes no gel de amido poderiam, por meio de difusão, agregar-se, formando complexos polimoleculares $((I_2)_n)$, $n = 2, 3, 4, \dots$

Uma forma de distinguir entre as duas hipóteses é verificar se ocorreu um deslocamento das bandas de absorção do iodo ou se surgiram novas bandas.

Após a introdução de vapores de iodo nos filmes de amido, observou-se que o filme pré-exposto (o vapor de iodo foi introduzido no gel) adquiriu uma coloração azul-escura. O filme pós-exposto, porém, adquiriu uma coloração amarela (o vapor de iodo foi introduzido no filme já formado). Fez-se uma análise espectroscópica eletrônica no UV-visível dos filmes, cujos espectros se encontram na Figura 47.

Observam-se, na Figura 47, os espectros UV-visível dos filmes poliméricos de amido, nessa figura:

Verificaram-se que os picos do filme pré-exposto (2.7.1.) são bem mais largos e assimétricos, com o máximo de absorção por meio de 607 e 339 nm.

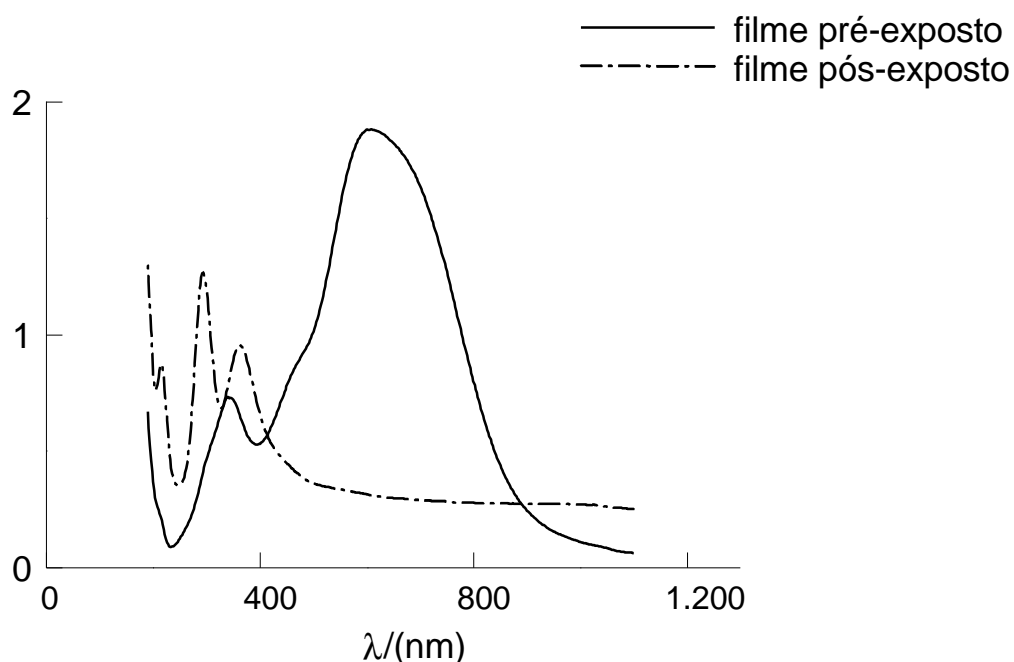


Figura 47 - Espectro no UV-visível dos filmes de amido pré e pós-expostos, submetidos a vapores de iodo.

Em virtude da grande largura da banda, não foi possível distinguir entre as bandas novas e as bandas que se deslocaram.

Quanto ao espectro UV-visível do filme pós-exposto (2.7.2.), podem ser percebidos um estreitamento das bandas e um deslocamento para regiões de menor valor de comprimento de onda 362 e 293 nm, o que demonstra que este complexo de transferência de carga seria mais energético que aquele formado no filme pré-exposto.

O complexo de transferência de carga se formou no filme amarelo, e como pode ser observado na Figura 47, o espectro correspondente ao filme pós-exposto (amarelo) aparece em regiões de menores valores de comprimento de onda, o que implica que o complexo de transferência de carga possui maior energia que o complexo de poliodeto (filme pré-exposto). Pela Figura 47, verifica-se que o espectro correspondente ao filme pré-exposto (azul) se encontra deslocado para maiores valores de comprimento de onda, o que indica, portanto, que uma menor quantidade de energia está envolvida na formação do complexo de poliodeto.

À medida que o filme era exposto a vapores de iodo após períodos mais longos de retrogradação, verificava-se que este máximo se deslocava na direção de menores comprimentos de onda, comprovando que à medida que a retrogradação ocorria, menos possibilidades havia de formação de complexos entre o iodo e a amilose ou entre as moléculas de iodo. Este fato está intimamente relacionado com a diminuição da mobilidade das moléculas de amilose e às mudanças conformacionais que ocorrem durante a retrogradação.

Como os espectros de absorção parecem ser compostos de muitas bandas que se sobrepõem e que não podem ser resolvidas, optou-se, também, por obter a derivada segunda desses espectros, como ilustra a Figura 48.

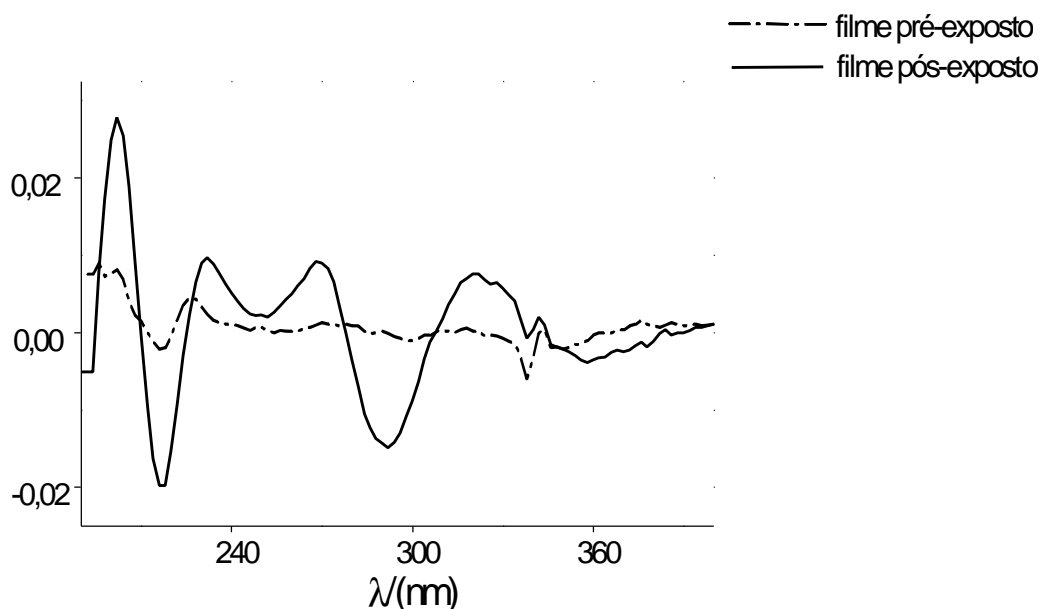


Figura 48 - Derivada segunda dos espectros no UV-visível dos filmes de amido pré e pós-expostos, submetidos a vapores de iodo.

Analisando essas funções, pode-se perceber que o número de espécies presentes no filme pré-exposto é maior que o do filme pós-exposto, pois observa-se maior número de bandas no espectro do filme pré-exposto que no espectro do filme pós-exposto (Figura 48), o que demonstra que o número de moléculas de I_2 , que podem se agregar tanto no complexo de transferência de carga quanto no complexo de poliiodeto, varia.

3.10.2. Estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho

Após a introdução de vapores de iodo nos filmes de amido, fez-se uma análise espectroscópica vibracional na região do infravermelho. Os espectros dos filmes pré e pós-expostos encontram-se nas Figuras 49 e 50.

Ao analisar os espectros dos filmes de amido expostos a vapores de iodo (Figuras 49 e 50), não se percebe nenhuma modificação em relação ao espectro do filme de amido puro, apesar do conhecimento de que as moléculas de iodo podem se acomodar dentro da estrutura helicoidal da amilose e formar um complexo de inclusão de cor azul intensa (RUNDLE, 1974).

Porém, é também sabido que o modo de vibração do complexo de poliiodeto $((I - I)_n)$ não permite a variação do momento de dipolo, impedindo sua absorção na região de infravermelho. Tal fato explica a não-modificação do espectro do filme com iodo (Figura 50).

Há também a possibilidade de formação de complexos de transferência de carga, que absorvem no infravermelho. Deveria, então, aparecer uma nova banda no espectro do filme de amido com iodo. Isto não foi observado, provavelmente, pelo fato de o complexo formado absorver em uma região do infravermelho menor que 230 cm^{-1} . A faixa de número de onda estudada neste trabalho, na região do infravermelho, foi de $4.400 - 230\text{ cm}^{-1}$.

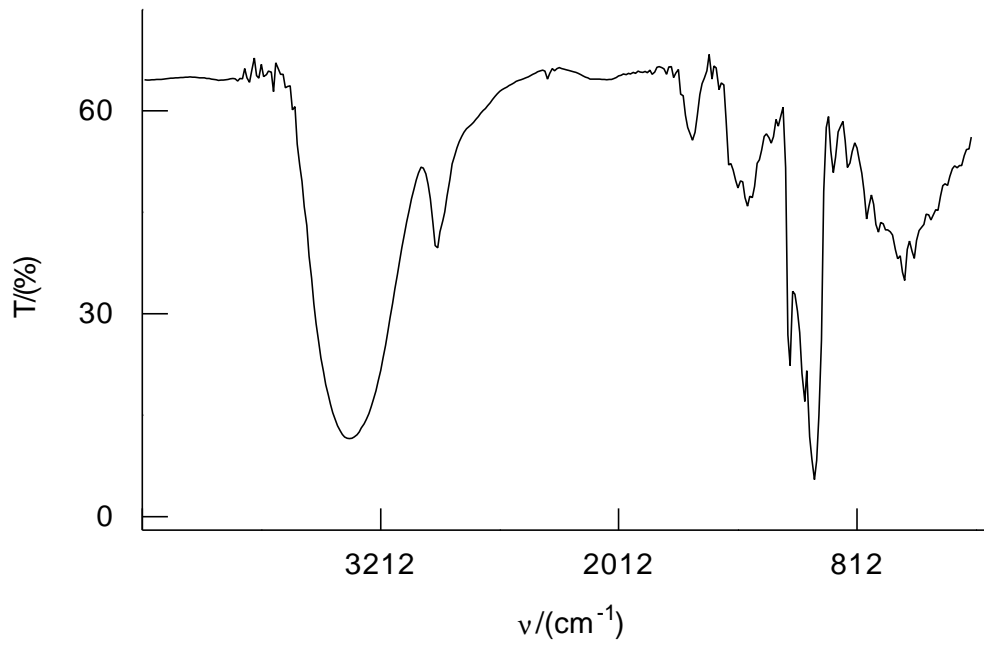


Figura 49 - Espectro na região do infravermelho do filme de amido pré-exposto.

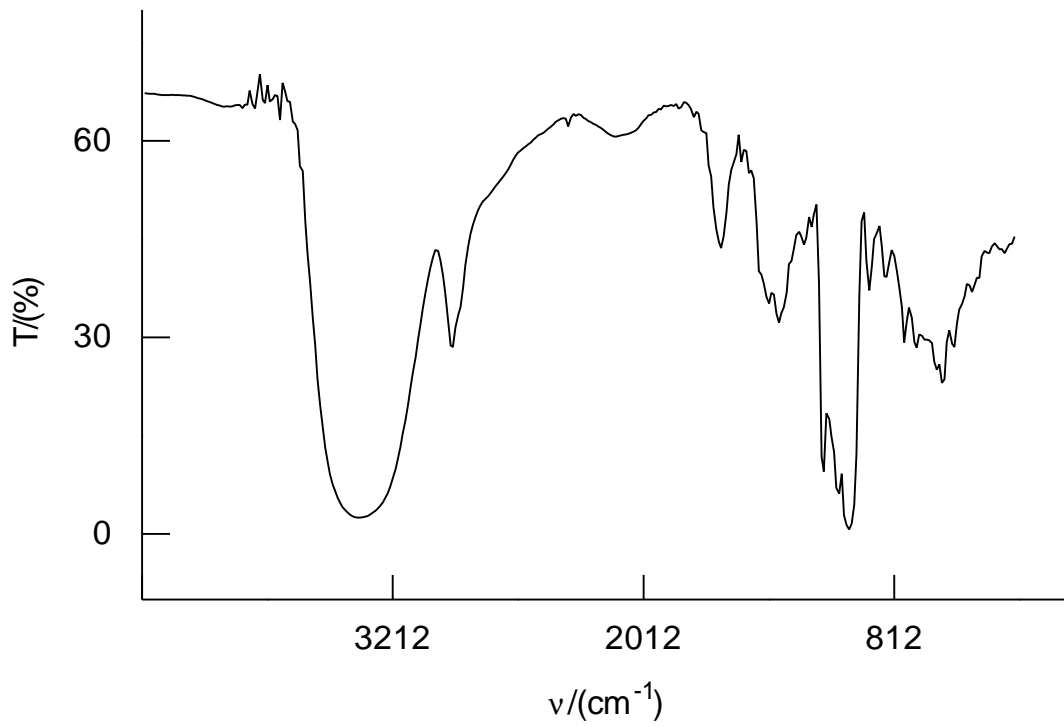


Figura 50 - Espectro na região do infravermelho do filme de amido pós-exposto.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Este trabalho constituiu de estudos do amido de mandioca, por espectroscopia vibracional na região do infravermelho por transformada de Fourier; as análises foram realizadas no espectrofotômetro FT-IR SPECTRUM 1000. Foram também utilizadas como ferramentas a espectroscopia eletrônica UV-visível, dispondo-se de um espectrofotômetro HITACHI U-2000, e a análise termogravimétrica (TGA), utilizando-se um analisador Dupon 951.

O amido, considerado um sistema físico-químico multicomponente bastante complexo, apresentou dificuldades na obtenção de espectros reprodutíveis e confiáveis. A principal dificuldade foi no preparo das amostras sólidas do grão de amido em pó, pois é necessário uma proporção exata dispersante/amostra para produção de pastilhas homogêneas e ópticamente transparentes.

A partir dos espectros obtidos, foram feitas as atribuições das bandas, em termos de modos normais vibracionais de grupos funcionais, pertencentes a moléculas presentes no grão de amido.

Essas atribuições foram feitas por regiões, com base nos espectros dos componentes presentes em maior quantidade no grão, principalmente macromoléculas de amilose e amilopectina.

As atribuições foram feitas por meio de uma aproximação ao espectro da amilose, aproximação esta considerada coerente pela grande semelhança entre os espectros de amilose e de amido.

Os filmes poliméricos foram obtidos por gelatinização e posterior secagem do grão de amido em pó. Foram avaliadas as características físicas do filme, a difusão de água e a capacidade de incorporação de sulfeto de hidrogênio (H₂S) e iodo (I₂).

Os espectros do filme de amido foram bem mais fáceis de ser conseguidos, pois o filme apresenta transparência ótica.

Comparando os espectros do filme de amido com os espectros do grão de amido em pó, percebeu-se que, no geral, as bandas presentes no espectro do filme são mais resolvidas e alguns picos são mais intensos e simétricos, o que indica que as moléculas presentes no filme estão menos empacotadas que as moléculas presentes no grão de amido em pó.

Um estudo da difusão de moléculas de água foi feito no grão e no filme, objetivando avaliar o comportamento deles após uma desidratação, por meio dos parâmetros intensidade e posição das bandas.

No grão de amido, os resultados apresentaram-se aleatórios e com baixa reprodutibilidade, o que enfatiza a dificuldade na obtenção de amostra homogêneas e a inconstância do número de moléculas no caminho da radiação no infravermelho.

No filme, os resultados foram mais coerentes e os parâmetros estudados mostraram a evaporação de água do filme, com nitidez.

Uma análise termogravimétrica foi feita com analisador DUPON 951 com fluxo de argônio a 110 ml.min⁻¹, numa faixa de temperatura entre 0-600°C. Os termogramas evidenciaram dois eventos térmicos tanto no filme quanto no grão, indicando a evaporação de água e os fragmentos voláteis. No filme de amido, houve diminuição na velocidade máxima de perda de massa, o que pode indicar um empacotamento de moléculas menos denso.

Fez-se uma introdução de moléculas de sulfeto de hidrogênio (H₂S) no filme de amido, a fim de simplesmente avaliar a capacidade do filme em adsorver gases, sem, portanto, realizar um acompanhamento cinético da adsorção. Essa característica foi constatada pela coloração amarela adquirida pelo filme, após a adsorção, e pelo surgimento de uma nova banda no espectro do infravermelho. Porém, só pode ser concluído que o possível composto formado é volátil, mas não se pode afirmar qual composto foi formado no filme de amido.

As moléculas de iodo (I_2) também foram introduzidas no filme de amido, antes e depois de sua formação. O filme pré-exposto adquiriu uma coloração azul, o que pode indicar a formação de complexos de poliodeto. O filme pós-exposto adquiriu uma coloração amarela, com possível formação de complexos de transferência de carga. A análise espectroscópica eletrônica UV-visível indicou que esses compostos são mais energéticos que os complexos de poliodeto. O estudo espectroscópico vibracional na região do infravermelho não mostrou nenhuma diferença nos espectros dos filmes pré e pós-expostos, em relação ao espectro do filme de amido puro; provavelmente alguns compostos formados (poliodeto) não foram ativos no infravermelho e outros compostos (transferência de carga) não absorveram na faixa de frequência analisada ($4.400 - 230 \text{ cm}^{-1}$).

5. SUGESTÕES

Para realização de trabalhos futuros, devem ser consideradas as seguintes possibilidades:

- Estudos com adsorção de pesticidas no filme de amido e utilização em silos de armazenagem.

- Fabricação de máscaras usadas em ambientes tóxicos, já que neste trabalho foi comprovada a capacidade do filme de adsorver gases. Foi verificado, também, que o filme de amido possui uma grande capacidade de dessorção de gases. Em função disto, pode-se sugerir que uma das vantagens da utilização do filme polimérico de amido seja o seu reaproveitamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATKINS, P.W. **Physical Chemistry**. Oxford: Oxford University Press. 5.ed. 1994. 1.031p.
- BADENHUIZEN, N.P. **Starch: chemistry and technology**. London: Academic Inc., 1987. 1.579p.
- BELL, R.J. **Introductory Fourier transform spectroscopy**. New York: Academic Press. 1972. 328p.
- BELTON, P.S., SAFRA, A.S., WILSON, R.H. Use of Fourier transform infrared spectroscopy for quantitative analysis: a comparative study of different detection methods. **Analyst**, London, vol. 112, 1987.
- BHATNAGAR, S., HANNA, M.A. Starch-based plastic foams from various starch sources. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.73, n.5, p.601-604, 1996.
- BULKIN, B.J., KWAK, Y. Retrogradation kinetics of waxy-corn and potato starches; a rapid, Raman-spectroscopic study. **Carbohydrate research**, Amsterdam, v.160, n.95-112, 1987.
- CAEL, J.J., KOENIG, J.L., BLACKWELL, J. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. **Carbohydrate research**, Amsterdam, v.29, p.123-134, 1973.
- CHANDRA, A. Anion clustering and fractal pattern growth in ion conducting polymeric matrix. **Solid State Ionics**, Amsterdam, p.1437-1442, 1996.

- CIACCO, C.F., CRUZ R. **Fabricação de amido e sua utilização**. São Paulo: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia, 1982. v.8, 70p.
- CLARK, A.H., GIDLEY, M.J., RICHARDSON, R.K. et al. Rheological studies of aqueous amylose gels: The effect of chain length and concentration on gel modulus. **Macromolecules**, Washington, v.22, p.346-351, 1989.
- CORRÊA, M.I., PERES, A.E.C. A ação de amidos de milho como depressores de óxidos de ferro. **Revista Brasileira de Tecnologia e Ciência**, v.1, n.1, p.70 -77, 1996.
- EL-HINNAWY, S.I., EL-SAIED, H.M., SAHMI, A. et al. Infrared and X-ray analysis of hidroxyethyl. **Starch/ Stärke**, v.34, n.3, p.92-95, 1982.
- ELIAS, H. **Macromolecules**. New York: Plenum Press. 2.ed., Vol.1 e 2, 1984. 1.342p.
- GARRETT, R.H., GRISHAM, C.M. **Biochemistry**. USA: Saunders College Publishing, 1995. 1.100p.
- GIDLEY, M.J., BULPIN, P.V. Aggregation of amylose in aqueous systems: The effect of chain length on phase behavior and aggregation kinetics. **Macromolecules**, Washington, v.22, p.341-346, 1989.
- GIDLEY, M.J. Molecular mechanisms underlying amylose aggregation and gelation. **Macromolecules**, Washington, v.22, p.351-358, 1989.
- GUR'YANOVA, E.N., GOL'DSHTEIN, I.P., ROMM, I.P. Donor-Acceptor bond. New York: John Wiley & Sons. 1987. 366p.
- HIBI, Y., MATSUMOTO, T., HAGIWARA, S. Effect of high pressure on the crystalline structure of various starch granules. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.70, n.6, p.671-676, 1993.
- HOLLÓ, J., SZEITLI, J., GANTNER, G.S. **Starch/Stärke**, v.21, p.106-108, 1960.
- KOBAYASHI. Manufacture of starch-based films and biodegradable plastics with good transparency. Dainippon Pharmaceutical Co, Japan). Jpn. Kokai. Tokkyo Koho JP 08295744 A2 12 Nov 1996 Heisei, 5 pp. (Japan).
- KOENIG, J.L. **Spectroscopy of polymers**. Washington: ACS Professional Reference Book, 1992. 328p.
- LANGLOIS, D.P., WAGONER, J.A. **Starch: chemistry and technology**. Whistler and Paschall. v.2. 1967, 446p.

- LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: McGraw-Hill, 2 ed., 1995. 839p.
- LEVINE, I.N. **Molecular spectroscopy**. New York: John Wiley & Sons, 1975. 2v. 491p.
- MEYER, K.H. **Adv. Colloid Sci.**, 1 (1942) 143 - 179.
- MILES, M.J., MORRIS, V.J., RING, S.G. Gelation of amylose. **Carbohydrate Research**, v.135, p.257-269, 1985.
- NOAKI, Norio (Chisso Corp, Japan). Biodegradable modified starch compositions Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP, 08325447 A2 10 Dec 1996 Heisei, 6 pp (Japan). CODEN: JKXXAF. CLASS: ICM: C08L067-04. ICS: C08K005-053; C08K005-20; C08K005-21; C08L001-02; C08L029-04. APPLICATION: JP, 95-158663 1 Jun 1995.
- RADLEY, J.A. **Starch production technology**. London: Applied Science Publishers Ltd., 1976.
- RING, S.G., COLONNA, P., L'ANSON, J.K. et al. The gelation and crystallization of amilopectin. **Carbohydrate Research**, v.162, p.277-293, 1987.
- ROSARIO, R.R. DEL, PONTIVEROS, C.R. Retrogradation of some starch mixtures. **Starch/stärke**, v.35, n.3, p.86-92, 1983.
- RUNDLE, R.E.J. **Am. Chem. Soc.**, n.96, p.1769-1772, 1974.
- SCHOCH, T.J. **Bake's Dig**, Washington, v.39, p.48-54, 1965.
- SHRIVER, D.F., ATKINS, P.W., LANGFORD, C.H. Oxford: Oxford University Press, 1989. 706p.
- SMITH, L. **Appl. Spectrosc.**, Boulevard, v.41, p.1.101p., 1987.
- SOEST, J.J.G., WITDE, D., WAGENINGEN, H.T. et al. Retrogradation of potato starch as studied by Fourier transform infrared spectroscopy. **Starch/stärke**, v.46, n.12, p.453-457, 1994.
- SKOOG, D.A., LEARY, J.J. **Principles of instruments analysis**. New York: Saunders College Publishing, 4.ed., 1991. 327p.
- TEITELBAUM, R.C., RUBY, S.L., MARKS, T.J. A resonance Raman/Iodine Mössbauer investigation of the starch-iodine structure. Aqueous solution and iodine vapor preparations. **J. Am. Chem. Soc.**, San Francisco, v.102, p.3322-3328, 1980.

- TEO, C.H., SEOW, C.C. A pulsed NMR Method for the study of starch retrogradation. **Starch/stärke**, Washington, v.44, n.8, p.288-292, 1992.
- VASKO, P.D. BLACKWELL, J., KOENIG, J.L. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, San Francisco, v.23, p.407-416, 1972.
- VASKO, P.D., BLACKWELL, J., KOENIG, J.L. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. **Carbohydrate Research**, San Francisco, v.19, p.297-310, 1971.
- WARD, K.E.J., HOSENEY, R.C., SEIB, P.A. Retrogradation of amylopectin from maize and wheat starches. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.71, n.2, p.150-155, 1994.
- WHISTLER, R.L. **Starch: chemistry and technology**. 2.ed., New York: Academic Press, 1984. 718p.
- WILSON, R.H., BELTON, P.S. A Fourier-transform infrared study of wheat starch gels. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v.180, p.339-344, 1988.
- WILSON, R.H., RING, S.G., BELTON, B.S. et al. A Fourier-transform infrared study of the gelation and retrogradation of waxy-maize starch. **Carbohydrate Research**, Shinfield, v.166, p.162-165, 1987.
- WILSON, R.H., GOODSELL, B.J., BELTON, B.S. et al. Comparison of Fourier transform mid infrared spectroscopy and near infrared reflectance spectroscopy with differential scanning calorimetry for the study of the staling of bread. **J. Sci. Food Agric.**, Philadelphia, v.54, p.471-483, 1991.
- WILSON, R.H., GOODFELLOW, B.J., BELTON, P.S. Fourier transform infrared spectroscopy for the study of food biopolymers. **Food Hydrocolloids**, Shinfield, v.2, n.2, p.169-178, 1988.
- WU, J.Y., EADS, T.M. Evolution of polymer mobility during ageing of gelatinized waxy maize starch: a magnetization transfer ^1H NMR study. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v.20, p.51-60, 1993.
- YUAN, R.C., THOMPSON, D.B., BOYER, C. D. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.70, n.1, p.81-89, 1993.
- ZELEZNAK, K.J., HOSENEY, R.C. The role of water in the retrogradation of wheat starch gels and bread crumb. **Cereal Chem.**, v.63, n.5, p.407-411, 1986.