



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Monize de Almeida Botão

**Estudo físico-químico da interação entre o copolímero tribloco
Plurônico F127 e amido de milho em solução aquosa**

São José do Rio Preto
2020

Monize de Almeida Botão

**Estudo físico-químico da interação entre o copolímero tribloco
Plurônico F127 e amido de milho em solução aquosa**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa

São José do Rio Preto
2020

B748e	<p>Botão, Monize de Almeida</p> <p>Estudo físico-químico da interação entre o copolímero tribloco Plurônico F127 e amido de milho em solução aquosa / Monize de Almeida Botão. -- São José do Rio Preto, 2020</p> <p>82 f. : il., tabs., fotos</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto</p> <p>Orientador: Eloi da Silva Feitosa</p> <p>1. Biofísica molecular. 2. Amido. 3. Copolímeros bloco. 4. Solubilidade. 5. Compostos complexos. I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Monize de Almeida Botão

**Estudo físico-químico da interação entre o copolímero tribloco
Plurônico F127 e amido de milho em solução aquosa**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Eloi da Silva Feitosa
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Vânia Regina Nicoletti
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof. Dr. Renata Danielle Adati
UTFPR – Sede Ecoville

São José do Rio Preto
12 de março de 2020

Dedico esta dissertação a minha família, essência da minha vida, sem a qual nada seria; aos meus queridos amigos e professores, pelo apoio, dedicação e carinho; e à UNESP, pela valiosa oportunidade de aprendizado.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e pelo desenvolvimento intelectual.

Aos meus queridos pais, irmãos e namorado, por todo carinho e amor. Responsáveis, em grande parte, por todas as minhas conquistas e realizações.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Eloi Feitosa, por todos os conselhos, sugestões e ensinamentos; fundamentais para elaboração desta Dissertação.

Aos meus colegas de pós-graduação em Biofísica Molecular, por toda ajuda e companheirismo. Em especial, a minha querida amiga Dra. Monique Lemos.

Ao IBILCE e ao Programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, por todo suporte para o desenvolvimento de minha pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“[...] qualquer interpretação pode ser alterada simplesmente olhando-se para as coisas de outra forma, de ângulos mais coloridos... vendo-se as palavras e o mundo por um caleidoscópio, não por um telescópio.”

Howard (2017, p. 49)

RESUMO

Amido de milho (AM) é considerado insolúvel em água à temperatura ambiente (25 °C), o que pode limitar suas aplicações industriais. A possibilidade de interação entre AM e moléculas anfifílicas, como o copolímero tribloco Plurônico F127 (F127), indica que essas moléculas podem ser usadas para alterar a solubilização dos grânulos de AM, inibindo sua tendência de aglomeração e precipitação. A partir da interação AM-F127, espera-se solubilizar os grânulos de AM em água, sem a desestabilização das micelas de F127. Amostras de AM-F127 desidratadas (sólidas) e hidratadas (em solução) foram investigadas por espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectrofotometria UV-Vis, espectroscopia de dicroísmo circular (CD), espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), difratometria de raios-X e testes de adição de lugol à mistura. Testes com lugol confirmaram que tanto o precipitado quanto o sobrenadante de AM-F127 em água sofrem mudanças significativas em suas estruturas, confirmando a interação AM-F127. Resultados de DLS mostram que AM em água é altamente polidisperso e que a concentração de F127 e a temperatura influenciam a formação e o tamanho dos agregados. O diâmetro hidrodinâmico ($D_h \approx 800$ nm) e os valores de elipticidade de agregados sobrenadantes em mistura de AM e F127 (1,2%) indicam existência de amilose ou grânulos pequenos de AM em solução a 25 °C. Espectrofotometria UV-Vis mostra pequeno aumento na banda de absorvância de F127, evidência de interação AM-FTIR. FTIR e difratometria de raios-X não apresentaram evidências dessa interação. A combinação desses resultados indica pequena influência de F127 na solubilidade de AM e pequeno efeito, em concentrações moderadas, de AM nas micelas de F127. Todavia, os resultados dos testes nas amostra de amido em água dão indício de uma pequena quantidade de grânulos de AM ou amilose solúveis em solução, necessitando de mais estudos para a quantificação desses resultados.

Palavras-chave: Amido de milho. Plurônico F127. Micelas. Interação molecular. Solubilização.

ABSTRACT

Corn starch (AM) is considered insoluble in water at room temperature (25 °C), which may limit its industrial applications. The possibility of interaction between AM and amphiphilic molecules, such as the triblock copolymer Pluronic F127 (F127), indicates that these molecules can be used to solubilize AM granules, inhibiting their tendency to agglomerate and precipitate. From the AM-F127 interaction, it is expected to solubilize the AM granules in water without destabilizing the F127 micelles. Dehydrated (solid) and hydrated (in solution) AM-F127 samples were investigated by dynamic light scattering (DLS), UV-Vis spectrophotometry, circular dichroism spectroscopy (CD), Fourier transform infrared spectrometry (FTIR), X-ray diffractometry and tests for adding lugol to the mixture. Tests with lugol confirmed that both the AM-F127 precipitate and supernatant in water undergo significant changes in their structures, confirming the AM-F127 interaction. DLS results show that AM in water is highly polydisperse and that the F127 concentration and temperature affect the aggregation and hydrodynamic diameter ($D_h \approx 800$ nm) and ellipticity values of supernatant aggregates in mixtures of AM and F127 (1.2%) indicate the existence of amylose or small granules of AM in solution at 25 °C. UV-Vis spectrophotometry shows small increase in F127 absorbance band, evidence of AM-F127 interaction. FTIR and X-ray diffractometry do not yield significant results. The combination of these results indicate little influence of F127 on the solubility of AM and small effect, at moderate concentrations, of AM on the F127 micelles. However, test results on starch in water samples indicate that a small amount of AM granules or amylose are water soluble, requiring further studies to prove and quantify.

Keywords: Corn starch. Pluronic F127. Micelles. Molecular interaction. Solubilization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura molecular da amilose (a) e da amilopectina (b). Os átomos de hidrogênio (H) ligados aos carbonos foram removidos para melhorar a visualização das moléculas de glicose.	17
Figura 2 – Ligação glicosídica α -1,4. α refere-se à configuração α da molécula de glicose e os números 1 e 4 referem-se aos carbonos 1 e 4 (numeração em vermelho nas glicoses). Os átomos de hidrogênio ligados aos de carbono 1, 2, 3, 4, 5 e 6 foram removidos para melhorar a visualização das moléculas de glicose.	19
Figura 3 – Estrutura do grânulo de amido.	20
Figura 4 – Grânulo de AM após α -amilólise observado por microscopia eletrônica de varredura (SEM).	22
Figura 5 – Grânulos de AM observados por SEM.	23
Figura 6 – Estrutura do copolímero tribloco (Plurônico ou Poloxâmero).	25
Figura 7 – Representação esquemática de uma molécula de copolímero tribloco (a) e de uma micela formada por moléculas de copolímero tribloco em água (b).	27
Figura 8 – Representação do processo de micelização e gelificação de F127 em água, com aumento da temperatura ou da concentração do copolímero.	27
Figura 9 – Estrutura molecular do Plurônico F127.	29
Figura 10 – Secções ópticas de grânulos de amido de milho comum, comerciais, tratados a curto prazo com merbromina, vistos por CSLM (microscopia confocal de varredura a laser), ilustrando a penetração lateral do corante nos canais na matriz granular. O grânulo à esquerda é seccionado ao longo do comprimento dos canais; o da direita é seccionado pelos canais.	33
Figura 11 – Componentes básicos do instrumento de DLS.	34
Figura 12 – Esquema de funcionamento dos principais componentes do espectrofotômetro.	36
Figura 13 – Esquema de funcionamento de um polarímetro.	37
Figura 14 – Esquema de funcionamento de um espectrômetro FTIR.	38
Figura 15 – Esquema principal de funcionamento do difratômetro de raios-X.	39
Figura 16 – Esquema do método de preparo das amostras de AM (a), com posterior coleta de sobrenadantes (A2 e A3), e das amostras de F127 (b).	42
Figura 17 – Esquema do método de preparo das amostras de AM secas.	42

Figura 18 – Esquema do método de preparo da mistura de AM com F127 em água com posterior coleta de sobrenadantes e secagem de precipitado.....	43
Figura 19 – Foto do equipamento de DLS - BI 200SM, Brookhaven Instruments Corporation.....	45
Figura 20 – Foto do espectrofotômetro CARY Bio 300 UV-Vis.	45
Figura 21 – Espectropolarímetro CD J-815 JASCO.	46
Figura 22 – Pastilhas para testes de FTIR formadas com as amostras AM (1), F127 (2), AM 0,2% + F127 6% (F4) (3), AM 1,2% + F127 1,2% (F4) (4) ou AM 10 mg + F127 10 mg (5), com adição de KBr.....	47
Figura 23 – Foto do espectrômetro IRTracer-100 FTIR.	47
Figura 24 – Imagem da placa de vidro com 200 mg de AM para testes de raios-X. .	48
Figura 25 – Fotos do difratômetro de raios-X, modelo MiniFlex II.	48
Figura 26 – Esquema de adsorção de íons triiodeto (I_3^-) à macromolécula de AM formando o complexo azul escuro da amilose com iodo.....	49
Figura 27 – Função distribuição de D_h de dispersões de AM 0,05% (A1) obtidas a 25 °C.	51
Figura 28 – Função distribuição de D_h de soluções aquosas de F127 1; 1,2; 5; 6; 10 e 15% obtidas a 25°C.....	51
Figura 29 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras de AM 0,2% A2 (A), AM 0,2% A3 (B), AM 1,2% A2 (C) e AM 1,2% A3 (D), em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.....	52
Figura 30 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas de F127 em água, em função da concentração, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.....	54
Figura 31 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras de F127 6% (A), AM 0,2% + F127 6% F2 (B), AM 0,2% + F127 6% F3 (C), AM 0,2% A2 (D) e AM 0,2% A3 (E) em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C. .	56
Figura 32 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras F127 1,2% (A), AM 1,2% + F127 1,2% F2 (B), AM 1,2% + F127 1,2% F3 (C), AM 1,2% A2 (D) e AM 1,2% A3 (E) em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.	57
Figura 33 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras AM 0,2% (A2 e A3), AM 1% (A2 e A3), 1,2% (A2 e A3) e 5% (A2 e A3), obtidos a 25 °C.	59
Figura 34 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras F127 1, 1,2, 5, 6, 10 e 15%.	59

Figura 35 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras F127 6%, AM 0,2% + F127 6% (F2) e AM 0,2% + F127 6% (F3).	60
Figura 36 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras F127 1,2%, AM 1,2% + F127 1,2% (F2) e AM 1,2% + F127 1,2% (F3).	60
Figura 37 – Espectros de CD das amostras F127 1,2%, AM 1,2% (A2 e A3), AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3), usando como referência água Milli-Q, a 25 °C.	62
Figura 38 – Espectros de CD das amostras AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3) usando como referência água Milli-Q (a) e água Milli-Q + F127 1,2% (b), a 25 °C.	62
Figura 39 – Espectros de CD das amostras F127 6%, AM 0,2% (A2 e A3), AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3), usando como referência água Milli-Q, a 25 °C.	63
Figura 40 – Espectros de CD das amostras AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3) usando como referência água Milli-Q (a) e água Milli-Q + F127 6% (b), a 25 °C.	64
Figura 41 – Espectros FTIR, no intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , das amostras AM, F127, AM 0,2% + F127 6% (F4), AM 1,2% + F127 1,2% (F4), e AM 10 mg + F127 10 mg.	65
Figura 42 – Detalhe do espectro FTIR, no intervalo de número de onda de 1800 a 400 cm^{-1} , das amostras de AM, F127, AM 0,2% + F127 6% (F4), AM 1,2% + F127 1,2% (F4), e AM 10 mg + F127 10 mg.	66
Figura 43 – Difrátogramas de raios-X das amostras de AM, F127 e AM + F127 sólidos, e de AM 0,2% + F127 6% (F4) e AM 1,2% + F127 1,2% (F4).	67
Figura 44 – Difrátogramas de raios-X das amostras AM sólido e de AM 0,2% + F127 6% (F4).	68
Figura 45 – Imagens de amostras contendo lugol em água (Ref.), em amostra de água (L1), em AM 0,05% (A1) (L2) e em amostras de F127 1,2%, na ausência (L3) e na presença de AM 0,05%, amostras F1, F2 e F3 (L4 e L5, L6).	69
Figura 46 – Amostras de AM 5 e 10% (S1 seco e S2 seco).	71
Figura 47 – Vidro da amostra de AM 10% S2 seco esbranquiçado	72
Figura 48 – Esquema do complexo entre um fragmento de Amilose e um monômero de F127.	72
Figura 49 – Esquema de adsorção e complexação de micelas ($D_h \approx 35 \text{ nm}$) e monômeros ($D_h \approx 2 \text{ nm}$) de F127 em grânulo de amido (com canal de diâmetro de $\approx 100 \text{ nm}$). No esquema, apenas uma parte do grânulo de AM está representada. Os tracejados em preto foram inseridos na figura para delimitar as áreas do grânulo de AM e facilitar a compreensão do esquema.	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos grânulos de amido de diferentes fontes botânicas...	18
Tabela 2 – Constituintes secundários do AM.	19
Tabela 3 – Distribuição do volume de grânulos de AM regular (%).	22
Tabela 4 – Massa molecular de alguns Plurônicos e número médio de unidades EO (x) e PO (y), com destaque para F127, objeto desta pesquisa.	26
Tabela 5 – Aplicações dos Plurônicos e concentrações de uso.	28
Tabela 6 – CMC de F127 em solução aquosa para diferentes valores de temperatura.	29
Tabela 7 – Comprimento de cadeia de ácido graxo calculado, número de resíduos de glicosil por ácido graxo e relação molar de saturação de ácido graxo/amilose.	31
Tabela 8 – Tipos de amostras preparadas e técnicas instrumentais empregadas para cada amostra.	44
Tabela 9 – Massas (em g) dos frascos de S1, S2, S1 seco e S2 seco e de seus conteúdos (água e/ou AM).	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM	Amido de milho
CD	Dicroísmo Circular, do inglês <i>Circular Dichroism</i>
CMC	Concentração micelar crítica, do inglês <i>Critical Micelle Concentration</i>
CMT	Temperatura micelar crítica, do inglês <i>Critical Micelle Temperature</i>
Col.	Coleta
CSLM	Microscopia confocal de varredura a laser, do inglês <i>confocal scanning laser microscopy</i> .
D_h	Diâmetro hidrodinâmico
DLS	Espalhamento dinâmico de luz, do inglês <i>Dynamic Light Scattering</i>
EO	Óxido de etileno
F127	Plurônico F127, do inglês <i>Pluronic® F127</i>
FCC	<i>Food Chemicals Codex</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier, do inglês <i>Fourier-transform infrared</i>
H	Hora
λ	Comprimento de onda
μm	Micrômetro (1×10^{-6} m)
Min.	Minuto
nm	Nanômetro (1×10^{-9} m)
PO	Óxido de propileno
SEM	Micrografia eletrônica de varredura
Sobren.	Sobrenadante
T_m	Temperatura de fusão de polímeros
UV-Vis	Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Amido	17
2.1.1	<i>Amido de Milho (AM)</i>	21
2.2	Surfactantes	24
2.2.1	<i>Plurônicos</i>	25
2.2.1.1	<i>Plurônico F127</i>	28
2.3	Interação amido-lipídeo	30
2.4	Técnicas instrumentais	33
2.4.1	<i>Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)</i>	33
2.4.2	<i>Espectrofotometria no Ultravioleta Visível (UV-Vis)</i>	35
2.4.3	<i>Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)</i>	36
2.4.4	<i>Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	37
2.4.5	<i>Difratometria de raios-X</i>	38
3	OBJETIVOS	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1	Métodos de preparo das amostras	41
4.1.1	<i>Medidas de DLS</i>	44
4.1.2	<i>Medidas de espectrofotometria UV-Vis</i>	45
4.1.3	<i>Medidas de CD</i>	46
4.1.4	<i>Medidas de espectrometria FTIR</i>	46
4.1.5	<i>Medidas de difratometria de raios-X</i>	47
4.1.6	<i>Preparo das amostras para teste visual com lugol</i>	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
5.1	DLS	50
5.2	Espectrofotometria UV-Vis	58
5.3	Espectroscopia de CD	61
5.4	Espectrometria de FTIR	64
5.5	Difratometria de raios-X	67
5.6	Teste com Lugol	69
5.7	Teste gravimétrico de AM	70
5.8	Interação de F127-AM em solução aquosa	72

6	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

Amido de milho (AM) é um polissacarídeo natural proveniente do grão de milho utilizado como ingrediente alimentício no Brasil há mais de um século. AM é constituído basicamente por estruturas lineares (amilose) e ramificadas (amilopectina) de moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas. Estudos de suas propriedades físico-químicas têm promovido uma variedade de aplicações de AM na indústria alimentícia, farmacêutica, têxtil e química (TABASUM *et al.*, 2019).

AM é considerado insolúvel em água à temperatura ambiente (25 °C) devido às ligações de hidrogênio e regiões cristalinas presentes em sua estrutura. Seu grânulo torna-se mais flexível quando exposto a temperaturas maiores, absorvendo pequenas porcentagens de água em seu interior. Entretanto, sem atingir a temperatura de gelatinização, grande parte do grânulo permanece insolúvel e a separação de fase fica evidente (FANTA; CHRISTIANSON, 1996).

A solubilidade do amido (em seu estado natural) é uma questão relevante a ser estudada, pois experimentos iniciais desta pesquisa indicam que uma pequena fração de AM, de difícil quantificação, permanece solúvel no volume aquoso à 25 °C. Sabe-se que, em cadeias com 70 a 150 unidades de glicose, o amido se torna solúvel apenas com o emprego de agentes químicos; e, para cadeias com 500 unidades de glicose, ou mais, só é possível dissolver a amilose (um dos constituintes do amido) em água por meio de aquecimento. A solubilidade completa do grânulo de amido somente acontece quando a regularidade da cadeia de amilose é alterada pela modificação ou adição de grupos químicos e o grânulo atinge a temperatura de gelatinização (ZEOULA *et al.*, 1999).

O uso de tensoativos apropriados pode favorecer a solubilização de AM de milho em água à temperatura ambiente, reduzindo sua tendência de aglomeração e precipitação por meio de encapsulação (ENCAPSULAÇÃO, 2005) e/ou formação de complexos de amido-surfactante, aumentando assim, sua aplicabilidade nas indústrias (GOMEZ-ALDAPA *et al.*, 2009).

O copolímero tribloco Plurônico F127 (F127) é um tensoativo com uma grande variedade de aplicações industriais, devido a sua capacidade de formar estruturas micelares em solução aquosa diluída. Estas estruturas são muito usadas com a finalidade de aumentar a solubilidade de compostos hidrofóbicos por meio da

formação de complexos moleculares ou pela incorporação de moléculas pequenas em seu núcleo hidrofóbico (NAGARAJAN; GANESH, 1996).

O propósito deste estudo foi testar o potencial de F127 na solubilização de AM, ou seja, na suspensão e solubilização de grânulos de AM em solução aquosa à temperatura ambiente (25 °C), em concentrações variadas dos componentes (AM, F127, água). As técnicas utilizadas para análise dos sistemas estudados foram: espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis), espectroscopia de dicroísmo circular (CD), espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e difratometria de raios-X. Estudo preliminar de modelagem computacional de AM/F127/água está em andamento, mas não compõe o escopo desta Dissertação.

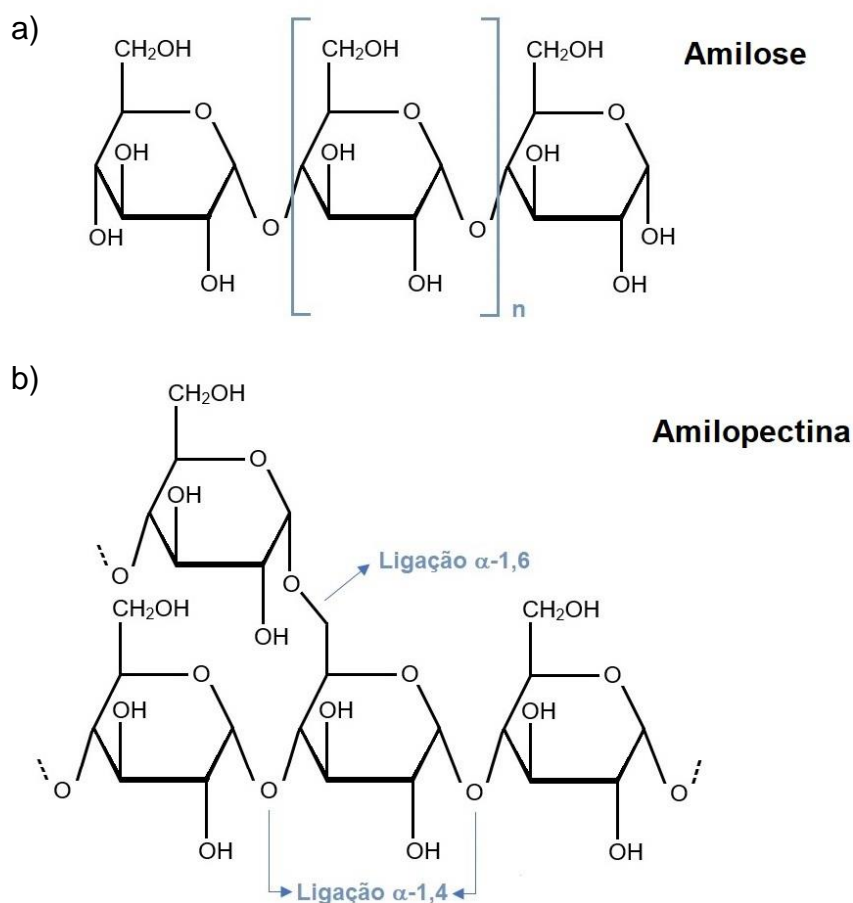
Investigamos também o efeito do AM na estabilidade da estrutura micelar de F127, a fim de correlacionar esses dados com solubilização do AM em água e a formação de complexos moleculares de F127-AM. Tais complexos podem ser empregados na indústria farmacêutica, química e de alimentos, para proteger e carrear fármacos, íons metálicos, nutrientes essenciais, microrganismos, entre outros (KHAN, 2019; QI; TESTER, 2019).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Amido

O amido é um polissacarídeo heterogêneo proveniente da reserva energética de vegetais de folhas verdes (AMIDO, 2013), composto por dois polímeros de D-glicose: amilose (20 a 35%) e amilopectina (65 a 80%) (Figura 1). A proporção destes dois polissacarídeos varia de acordo com a espécie e grau de maturação do vegetal, resultando em diversos tipos de grânulos (Tabela 1) com propriedades físico-químicas características, possibilitando a obtenção de amido com funções e aplicações industriais diferenciados (JANSSEN; MOSCICKI, 2009).

Figura 1 – Estrutura molecular da amilose (a) e da amilopectina (b). Os átomos de hidrogênio (H) ligados aos carbonos foram removidos para melhorar a visualização das moléculas de glicose.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 – Características dos grânulos de amido de diferentes fontes botânicas.

Amido	Tipo	Forma	Distribuição	Tamanho (μm)
Cevada	Cereal	Lenticular (tipo A)	Bimodal	15 – 25
		Esférica (tipo B)		2 – 5
Milho (ceroso e normal)	Cereal	Esférica / poliédrica	Unimodal	2 – 30
Aveia	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3 – 10 (único) 80 (composto)
Ervilha	Leguminosa	Rentiforme (único)	Unimodal	5 – 10
Batata	Tubérculo	Lenticular	Unimodal	5 – 100
Arroz	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3 – 8 (único)
				150 (composto)
Trigo	Cereal	Lenticular (tipo A)	Bimodal	15 – 35
		Esférica (tipo B)		2 – 10

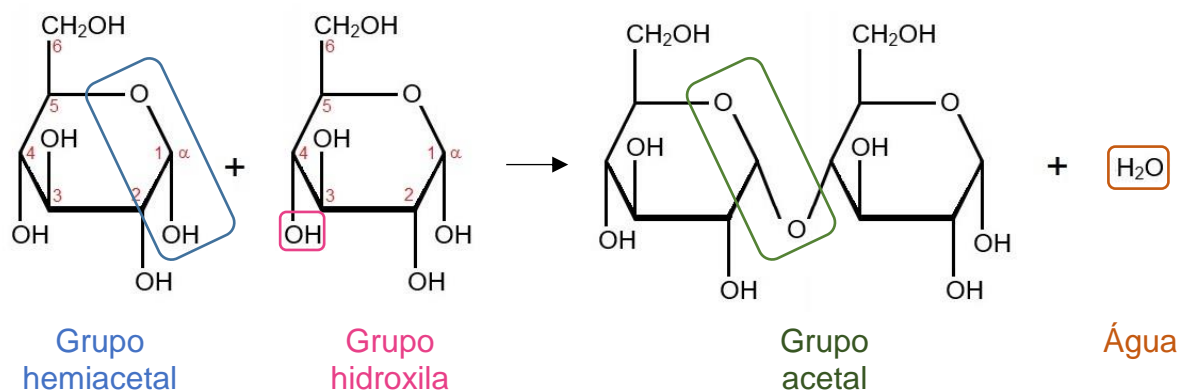
Fonte: Adaptado de Tester, Karkalas e Qi (2004).

A amilose é um polímero linear formado por 500 a 5000 moléculas de D-glicose unidas por ligações glicosídicas em α -1,4, com algumas moléculas (0,1 a 2,2%) ramificadas por ligações em α -1,6. Apesar de apresentar algumas ramificações, a amilose se comporta como um polímero linear. Em contrapartida, a amilopectina, formada por 4700 a 12800 moléculas de D-glicose, unidas também por ligações glicosídicas α -1,4, é fortemente ramificada, com 4 a 6% das ligações em α -1,6 (DENARDIN; SILVA, 2009).

As ligações glicosídicas α -1,4 e α -1,6 são ligações covalentes entre duas glicoses na configuração α , que envolvem o grupo hemiacetal de uma das glicoses e o grupo hidroxila da outra glicose. O produto resultante é um dissacarídeo com grupo acetal e uma molécula de água. A formação da ligação glicosídica α -1,4 pode ser vista na Figura 2 (VARKI *et al.*, 1999).

Além da amilose e da amilopectina, o amido apresenta alguns constituintes secundários (impurezas), que podem variar de acordo com a sua fonte e região de cultivo (ELIASSON, 2004). A Tabela 2 mostra estes constituintes e suas respectivas porcentagens.

Figura 2 – Ligação glicosídica α -1,4. α refere-se à configuração α da molécula de glicose e os números 1 e 4 referem-se aos carbonos 1 e 4 (numeração em vermelho nas glicoses). Os átomos de hidrogênio ligados aos de carbono 1, 2, 3, 4, 5 e 6 foram removidos para melhorar a visualização das moléculas de glicose.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 2 – Constituintes secundários do AM.

Constituinte secundário	Porcentagem
Lipídeos	< 1%
Proteínas	< 1%
Fósforo	< 0,1%
Minerais e sais inorgânicos – reportados como cinzas	< 0,5%
Umidade	Aprox. 12%

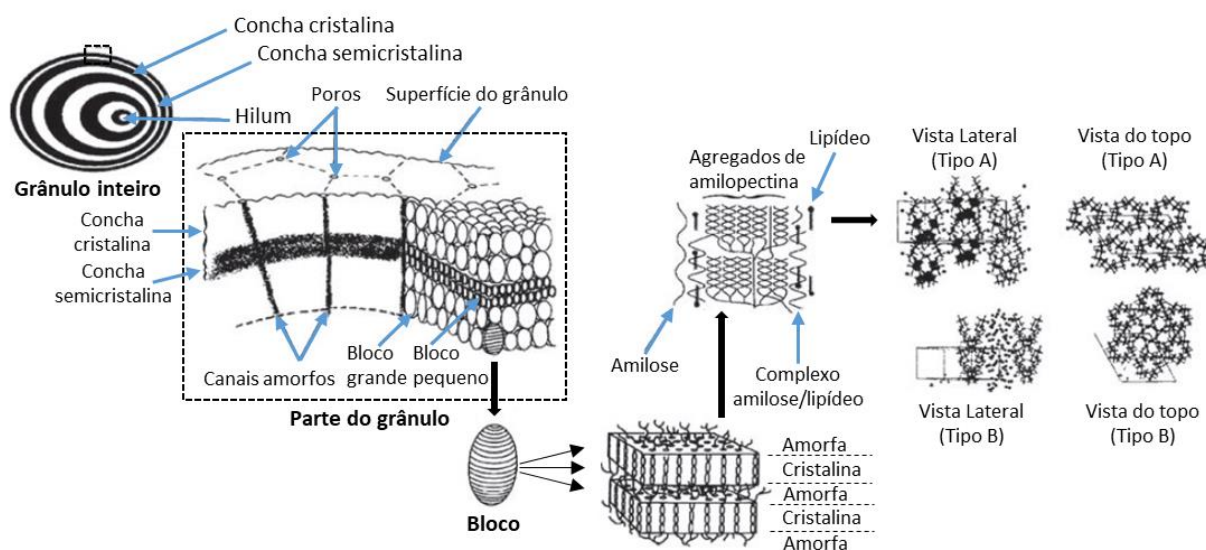
Fonte: Elaborado pelo autor com base em Eliasson (2004); Vamadevan e Bertoft (2015).

A organização estrutural do grânulo de amido é muito complexa e tem sido estudada desde a invenção do microscópio. De acordo com Bertolini (2010), a quantidade de cadeias de amilose no grânulo varia de 1 a 20, cada uma com um grau médio de polimerização de 500 unidades de glicose. Três tipos de conformação da amilose foram reportados na literatura: hélice (conformação em solução neutra), hélice interrompida e hélice deformada. Além disso, a amilose em hélice pode ou não estar complexada com lipídeos. Já a amilopectina possui de 20 a 25 cadeias curtas ligadas à cadeia principal por ligações α -1,6. Modelos estruturais, incluindo estrutura laminada do amido, ramificações aleatórias da amilopectina, terminologia A, B e C para designar diferentes cadeias da amilopectina, e organização de agrupamento/conceito de bloco,

foram propostos para descrever a formação/disposição da amilopectina no grânulo de amido (HOOD, 1982; NIKUNI, 1978).

Com base em hipóteses do comportamento e das estruturas dos grânulos de amido, Gallant, Bouchet e Baldwin (1997) apresentaram um nível de organização estrutural dos grânulos (Figura 3), composto por conchas cristalinas, conchas semicristalinas e hilum. As conchas cristalinas (camadas duras/rígidas) e semicristalinas (camadas macias/flexíveis) são formadas por “bloquetes” (do inglês, *blocklets*) de tamanhos variados (de 20 a 500 nm). As conchas semicristalinas apresentam bloquetes com diâmetro de 20 a 50 nm, indicando uma organização menos cristalina (devido, hipoteticamente, ao aumento da interação das duplas hélices da amilopectina com a amilose); enquanto que as conchas cristalinas apresentam bloquetes com diâmetro de 50 a 500 nm. Os bloquetes são formados por estruturas alternadas de lamelas cristalinas (zona de duplas hélices) e amorfas (zonas de ramificação da amilopectina).

Figura 3 – Estrutura do grânulo de amido.



Fonte: Adaptado de Bertolini (2010, p. 37).

Acredita-se que as regiões entre os aglomerados de amilopectina, nas duas lamelas, sejam relativamente “mais amorfas”, sendo estas regiões responsáveis pela flexibilidade das lamelas e, junto com as lamelas amorfas, seriam encarregadas pela elasticidade do sistema e controle de entrada e saída de água do grânulo de amido (GALLANT; BOUCHET; BALDWIN, 1997). Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) apontam a existência de orifícios e canais radiais nos grânulos de

amido com diâmetros entre 0,1 e 0,3 μm e 0,07 e 0,1 μm respectivamente (ELIASSON, 1996, apud PASCOAL, 2014).

As cadeias externas da amilopectina e as cadeias de amilose podem formar estruturas de dupla hélice individualmente ou por associação entre elas. Contudo, na maioria dos amidos, apenas a amilopectina forma dupla hélice. As estruturas ordenadas de dupla hélice são conhecidas como regiões cristalinas do grânulo. Dependendo de sua fonte, o amido apresenta diferente padrão de difração de raios-x. Amido de cereais apresenta difração de raios-x do tipo A; amido de tubérculo e amido com alto teor de amilose, tipo B; e amido de leguminosas, raízes e frutos, tipo C (combinação de polimorfos do tipo A e B). Dupla hélice do tipo A é relativamente compacta, com baixo teor de água, enquanto que a do tipo B é menos compacta com núcleo helicoidal hidratado (TESTER, KARKALAS, QI, 2004). Duplas hélices do tipo A e B são mostradas na Figura 3.

Segundo Bertolini (2010), os grânulos de amido em solução aquosa sofrem mudanças irreversíveis em sua estrutura quando atingem a temperatura de gelatinização (60-70 °C). Esta temperatura promove o rompimento das ligações de hidrogênio do grânulo, permitindo a absorção de água do meio, formando um gel elástico e opaco. No resfriamento, as cadeias de amido passam pelo processo conhecido como retrogradação. Elas interagem mais fortemente entre si e tendem a se associar em um estado mais ordenado, forçando a saída de moléculas de água (LOBO; SILVA, 2003). Quando inseridos em solução aquosa fria, grânulos de amido absorvem de 10 a 20% de água por meio de suas regiões amorfas. Este processo pode se tornar reversível através da secagem dos grânulos, fazendo com que eles retornem à sua forma e estrutura nativa (WHO/FAO, 1998 apud DENARDIN; SILVA, 2009).

2.1.1 Amido de Milho (AM)

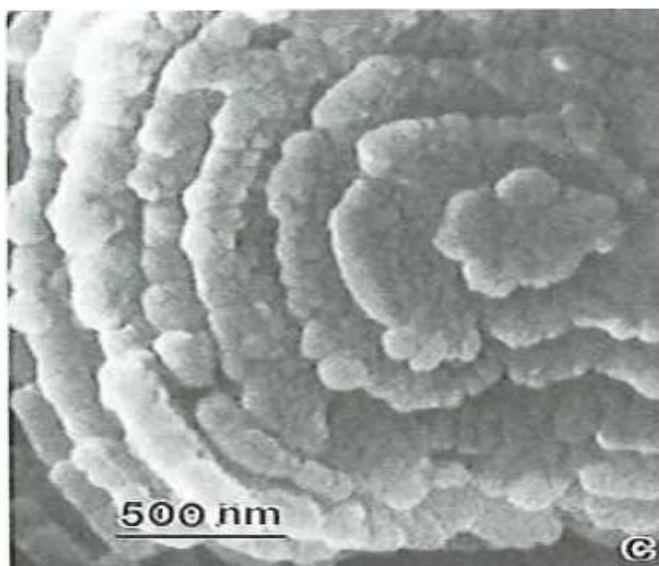
De acordo com Roper e Elvers (2008 apud Bertolini, 2010), 73% de todo amido produzido no mundo advém dos grãos de milho. O 11º levantamento sobre a safra mundial de milho 2018-2019 feito pelo USDA (*United States Department of Agriculture*), estima uma produção de milho de 1,1 bilhão de toneladas, um consumo de 1,13 bilhão de toneladas e exportações globais de 167,0 milhões de toneladas.

Importante destacar que o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, tendo produzido 82,0 milhões de toneladas na safra 2017-2018 (FIESP, 2019).

AM é produzido em grande escala nas indústrias nacionais e internacionais sendo amplamente utilizado como gelificante, espessante e estabilizante de emulsões na indústria de alimentos (LU; LUO; XIAO, 2012; CUI *et al.*, 2018), na confecção de filmes biodegradáveis na indústria de materiais (CARMO; PAIVA, 2015; VIÉGAS, 2016), ligante e elemento formador de poros na indústria de cerâmicas (FERNANDES, 2008), adesivo nas indústrias de papelão (RODRIGUES; CHAGAS; AGUIAR, 2014), excipiente/desintegrante na indústria farmacêutica (CASTRO *et al.*, 2003; SADEGHI *et al.*, 2019), entre outras aplicações.

O grânulo de AM regular (Figura 4), ou *Dent*, possui, em sua composição, 25 a 28% de amilose e 72 a 75% de amilopectina (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009). Seu diâmetro granular apresenta distribuição volumétrica desigual, conforme mostram a Tabela 3 e a Figura 5, podendo chegar a valores próximos a 30 μm (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

Figura 4 – Grânulo de AM após α -amilólise observado por microscopia eletrônica de varredura (SEM).



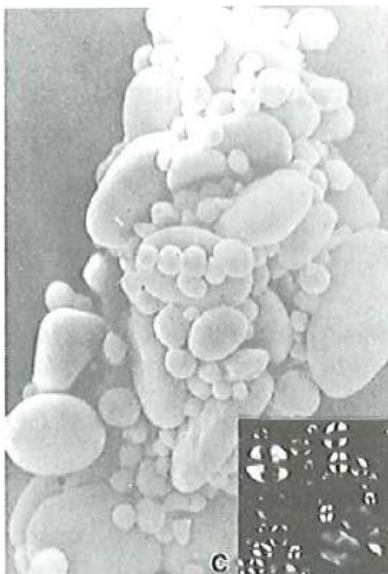
Fonte: Adaptado de Gallant *et al.* (1992).

Tabela 3 – Distribuição do volume de grânulos de AM regular (%).

Diâmetro (μm)	< 2	2-15	> 15
Volume (%)	6,22 \pm 0,22	33,49 \pm 0,96	60,30 \pm 2,07

Fonte: Adaptado de Cui *et al.* (2014).

Figura 5 – Grânulos de AM observados por SEM.



Fonte: Adaptado de Gallant *et al.* (1992).

AM comercial contém uma porcentagem de lipídeos que não é removida no processo de extração. Tais lipídeos são, em sua maioria, monoacil e lisofosfolipídeos. AM também contém uma porcentagem de fósforo incorporado aos fosfolipídeos. Devido a estes componentes e demais características mencionadas acima, comparado a outros amidos, AM comercial apresenta elevada temperatura de pasta (80 °C), baixo pico de viscosidade e maior tendência a retrogradação (PERONI, 2003).

Como é sabido, nenhum amido natural existente possui propriedades físico-químicas que satisfaçam todos os tipos de aplicações industriais. A fim de atender aplicações mais específicas, a indústria desenvolveu amidos modificados, produzidos por processos físicos, químicos ou enzimáticos. Entretanto, a modificação de ingredientes alimentícios, como do AM, não é bem vista pelos consumidores, que preferem o amido natural (SINGH; GEVEKE; YADAV, 2017).

A maioria das aplicações industriais de AM em solução aquosa é feita com, ou após, o cozimento do grânulo (processo de gelatinização), a fim de aumentar a viscosidade de produtos, obter géis, etc. Há poucas aplicações de AM em solução aquosa (em sua forma nativa). Entretanto, essas aplicações não deixam de ser importantes. Um exemplo de utilização do AM nativo em solução aquosa é o consumo de soro oral com adição de AM, onde o amido pode se tornar substrato para as bactérias endógenas ou ser convertido em ácido graxo de cadeia curta estimulando a absorção de sódio e líquidos pelo cólon durante quadros de diarreias infecciosas (QI; TESTER, 2018; RAGHUPATHY *et al.*, 2006). Entretanto, o amido adicionado no soro

oral proporciona à solução (após agitação) alta turbidez e precipita (quando está em repouso) não formando uma suspensão ideal para uso (BRANDT; ANTUNES; SILVA, 2015).

Outra aplicação do AM nativo seria a utilização dele como substituinte de gordura em emulsões (ex., requeijão e maionese), ou como estabilizador de emulsões (ex., molhos e temperos líquidos). Além disto, o AM em solução aquosa também pode servir como uma camada protetora de alimentos, a fim de evitar o “enxarcamento” dos mesmos durante a fritura em óleo ou gordura (ELIASSON, 2004).

AM nativo é considerado uma substância GRAS (*Generally Recognized as Safe*), que não está sujeito a análise e aprovação pela FDA (*U.S. Food and Drug Administration*), pois é reconhecida por especialistas como segura nas condições de uso e aplicação. Entretanto, o consumo excessivo de amido nativo pode resultar em alguns problemas fisiológicos como obesidade e anemia por deficiência de ferro (FDA, 2015).

O uso de tensoativos pode favorecer a solubilização de AM nativo em temperatura ambiente através de interações intermoleculares, as quais podem ocorrer por meio de efeito hidrofóbico, ligações de hidrogênio ($C^{\delta-}-H^{\delta+}-O^{\delta-}$) e/ou forças de Van der Waals (PIMENTEL; MCCLELLAN, 1971; PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010). A possibilidade de solubilizar AM nativo à temperatura ambiente sem modifica-lo, pode se tornar um avanço interessante para vários tipos de aplicações, como, por exemplo, as mencionadas acima.

2.2 Surfactantes

Os surfactantes (ou tensoativos) são moléculas anfifílicas usadas em grande variedade de aplicações industriais, de cosméticos, farmacêuticas, alimentícias, limpeza (detergência), amaciantes etc. Devido a sua capacidade de interação tanto com substâncias polares quanto apolares, os surfactantes alteram as propriedades de interfaces envolvidas, gerando ambientes mais organizados por meio da formação de micelas, monocamadas e bicamadas (vesículas) (KWAK, 1998).

Há, basicamente, três tipos de surfactantes: aniônicos, catiônicos e não-aniônicos; existindo também misturas entre eles. Os surfactantes aniônicos fornecem íons carregados negativamente em solução aquosa, enquanto que os catiônicos

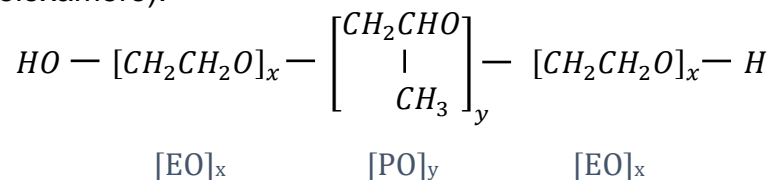
forneem íons carregados positivamente. Os não-iônicos contem grupos hidrofílicos que não ionizam em solução aquosa (SWISHER, 1987).

Surfactantes são aplicados em vários sistemas com a finalidade de solubilizar componentes de baixa solubilidade em um dado solvente, ou formar novos meios e superfícies, modificando a velocidade reacional e a posição de equilíbrio de reações químicas (MANIASSO, 2001).

2.2.1 Plurônicos

Plurônico (Pluronic®), ou Poloxâmeros, é uma classe de surfactantes classificados como copolímeros tribloco não-iônicos, dispostos em estrutura $[EO]_x-[PO]_y-[EO]_x$ (Figura 6), sendo x o número das unidades hidrofílicas (óxido de etileno - EO) e y o número das unidades hidrofóbicas (óxido de propileno - PO). A síntese desses copolímeros se dá pela adição de monômeros de PO e EO com auxílio de um catalisador alcalino (KABANOV; BATRAKOVA; ALAKHOV, 2002). Os copolímeros formados possuem uma proporção característica de EO e PO, que resulta em diferenças físico-químicas importantes, como massa molecular e balanço hidrofílico-lipofílico (BATRAKOVA *et al.*, 2003), resultando em variedades estruturais formadas em solução aquosa dependente da composição do copolímero e da temperatura, além da concentração. A massa molecular de alguns copolímeros e número médio de suas unidades (x e y) podem ser verificados na Tabela 4.

Figura 6 – Estrutura do copolímero tribloco (Plurônico ou Poloxâmero).



Fonte: Adaptado de Kabanov, Batrakova e Alakhov (2002).

Tabela 4 – Massa molecular de alguns Plurônicos e número médio de unidades EO (x) e PO (y), com destaque para F127, objeto desta pesquisa.

Plurônicos	Massa molecular (Da)	x	y	Plurônicos	Massa molecular (Da)	x	y
L35	1900	21,59	16,38	F88	11400	207,27	39,31
L43	1850	12,61	22,23	L92	3650	16,59	50,34
L44	2200	20,00	22,76	F98	13000	236,36	44,83
L61	2000	4,55	31,03	L101	3800	8,64	58,97
L62	2500	11,36	34,48	P103	4950	33,75	59,74
L64	2900	26,36	30,00	P104	5900	53,64	61,03
F68	8400	152,73	28,97	P105	6500	73,86	56,03
L81	2750	6,25	42,67	F108	14600	265,45	50,34
P84	4200	38,18	43,45	L121	4400	10,00	68,28
P85	4600	52,27	39,66	P123	5750	39,20	69,40
F87	7700	122,50	39,83	F127	12600	200,45	65,17

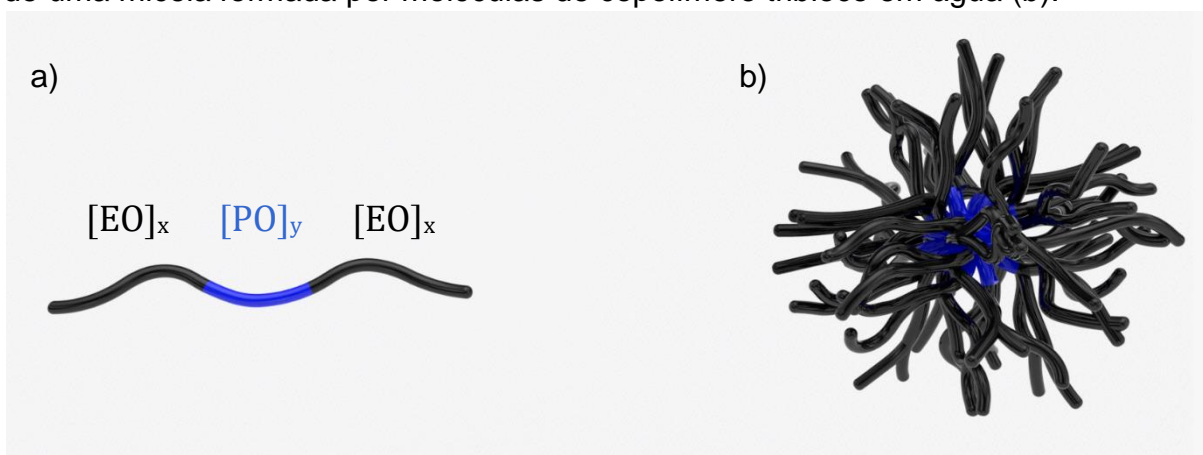
Fonte: Adaptado de Kabanov, Batrakova e Alakhov (2002).

Os nomes comerciais dos Plurônicos indicam características específicas de cada copolímero. A letra inicial do nome, com correspondência em inglês, revela a forma física do Plurônico à temperatura ambiente: L = líquido (*liquid*), P = pasta (*past*), F = floco (*flake*). O último dígito do número que segue a letra L, P ou F, quando multiplicado por dez, expressa a porcentagem em massa do bloco [EO]_x e o primeiro (ou primeiro e segundo) número está relacionado a massa molecular do bloco [PO]_y (NAGARAJAN, 1999; ALEXANDRIDIS; HATTON, 1995). Exemplo: Plurônico F127 é sólido à temperatura ambiente, composto de 70% em massa dos blocos EO e o bloco PO tem massa da ordem de 4.000 Da (ALEXANDRIDIS; HATTON, 1995). De acordo com esta notação, o Plurônico P123 é pastoso à temperatura ambiente, o bloco PO tem massa molecular 4.000 Da e 30% da massa total se deve ao grupo EO.

O caráter tensoativo dos Plurônicos favorece, sob certas condições de temperatura e concentração, a formação de micelas em água (GAO *et al.*, 2011). As moléculas de Plurônico, em geral, não se estruturam em solução aquosa em baixas temperatura e concentração, existindo apenas na forma de monômeros. Entretanto, para uma dada concentração, com o aumento da temperatura, estas moléculas tendem a se agregar em estrutura micelar esférica a partir da temperatura micelar crítica (CMT) (Figura 7). Temperaturas acima da CMT fazem com que as unidades hidrofílicas (EO) do Plurônico se voltem para o exterior da micela e as unidades

hidrofóbicas (PO) se voltam para o interior da micela. Isto acontece, porque o aumento da temperatura diminui o grau de hidratação do copolímero, aumentando sua hidrofobicidade (YAN; ZHOU; GARDEA-TORRESDEY, 2017).

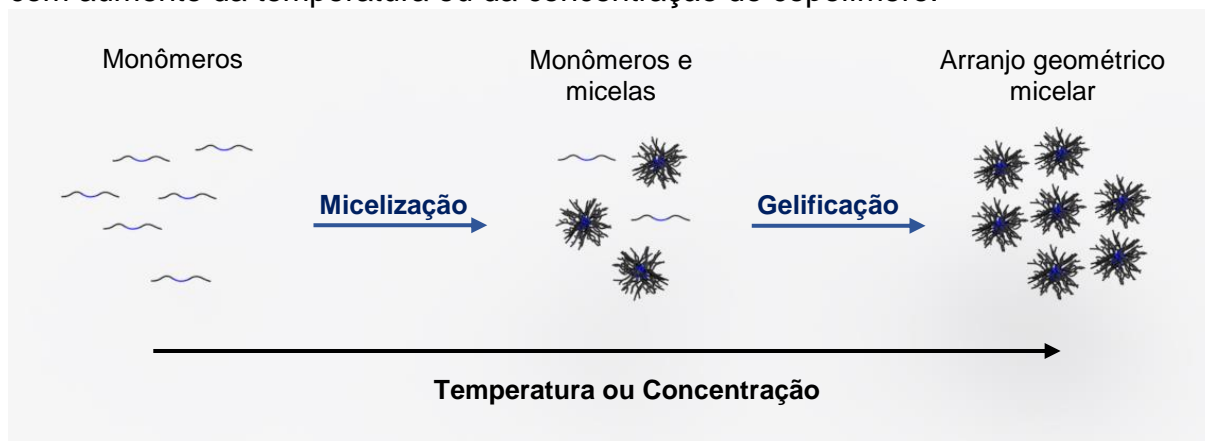
Figura 7 – Representação esquemática de uma molécula de copolímero tribloco (a) e de uma micela formada por moléculas de copolímero tribloco em água (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Outra propriedade relevante no processo de micelização dos Plurônicos é a concentração micelar crítica (CMC). Para uma dada temperatura, a concentração do copolímero em água é aumentada até atingir a CMC. Em concentrações maiores, copolímeros, como o F127, gelificam em solução aquosa, com igual potencial de aplicação da indústria farmacêutica e cosmética, relativamente às micelas desses Plurônicos (RUEL-GARIÉPY; LEROUX, 2004; PITTO-BARRY; BARRY, 2014). O processo de micelização e gelificação de F127 pode ser visto na Figura 8.

Figura 8 – Representação do processo de micelização e gelificação de F127 em água, com aumento da temperatura ou da concentração do copolímero.



Fonte: Adaptado de Cabrini (2018).

Uma forma de verificar a formação de micelas de surfactantes em solução consiste na medida de espalhamento dinâmico de luz (DLS), a fim de obter informações importantes a respeito da estrutura da micela, como por exemplo, o raio hidrodinâmico (rh) (BOOTH; ATTWOOD, 2000).

Plurônicos podem ser usados de várias maneiras, por causa de suas características físico-químicas. Exemplos de aplicações dos Plurônicos podem ser verificados na Tabela 5. Entretanto, o texto de referência de Rowe, Sheskey e Quinn (2009) não especifica o Plurônico utilizado para cada aplicação.

Tabela 5 – Aplicações dos Plurônicos e concentrações de uso.

Aplicações	Concentração (%)
Emulsificante de gordura	0,3
Solubilizador de aromas	0,3
Emulsificante de fluorcarbono	2,5
Agente gelificante	15-50
Agente de espalhamento	1
Agente estabilizador	1-5
Base de supositórios	4-6 ou 90
Revestimento de comprimidos	10
Excipiente para comprimidos	5-10
Agente molhante	0,01-5

Fonte: Adaptado de Rowe, Sheskey e Quinn (2009).

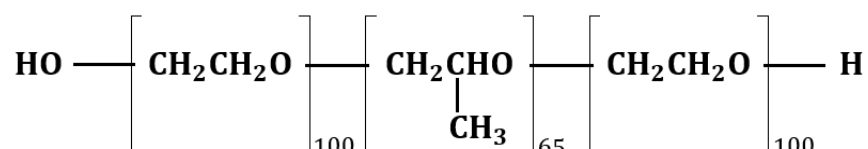
2.2.1.1 Plurônico F127

Plurônico F127, também denominado Poloxâmero 407, muito utilizado em pesquisa e aplicação industrial, é termossensível, não iônico, constituído por 100 unidades de EO, hidrofílicas, e 65 unidades de PO, hidrofóbicas (PETKOVA-OLSSON *et al.*, 2017). Ele é considerado um ingrediente inativo pela FDA (em inalações, soluções, xaropes, etc.) (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Sua baixa toxicidade permite seu uso em diversas aplicações como sistemas orais, cutâneos e oftalmológicos (GIULIANO *et al.*, 2018). De acordo com Oh, Kang e Lee (2018), um sistema de hidrogel, termossensível e biocompatível, formado pela mistura dos Plurônicos F127, F68 e P123, pode ser utilizado como uma barreira ideal

na prevenção de adesão tecidual, normalmente formada em tecidos lesionados após cirurgias. Especificações para F127 estão contidas no *Food Chemicals Codex* (FCC) (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Sua estrutura molecular pode ser verificada na Figura 9.

Figura 9 – Estrutura molecular do Plurônico F127.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os valores da CMC de F127 em solução aquosa, em função da temperatura, são mostradas na Tabela 6. É importante destacar que a 25 °C a CMC de F127 é de aproximadamente 0,7% (p/v), ou seja, a concentração de F127 em solução aquosa precisa ser maior ou igual a 0,7%, a fim de que micelas sejam formadas.

Tabela 6 – CMC de F127 em solução aquosa para diferentes valores de temperatura.

F127 em solução aquosa		
Temperatura (°C)	CMC % (p/v)	CMC (mM)
15	10	7,935
20	4	3,174
25	0,7	0,555
30	0,1	0,079
35	0,025	0,019

Fonte: Adaptado de Alexandridis, Holzwarth e Hatton (1994).

De acordo com Alexandridis e Hatton (1995), monômeros de copolímeros em bloco tem em torno de 2 nm de diâmetro hidrodinâmico, enquanto que suas estruturas micelares possuem aproximadamente 20 nm de diâmetro hidrodinâmico, independente da concentração. A utilização de concentrações de copolímero acima de 2% (p/p), melhora a leitura do sinal de espalhamento de luz, garantindo maior reprodutibilidade.

2.3 Interação amido-lipídeo

A interação molecular entre AM e F127, de interesse de nossa pesquisa, está inserida no estudo mais geral da interação polímero-surfactante, que já vem sendo realizada há décadas por grandes grupos de pesquisa, com especial ênfase em aplicação industrial, e com muito interesse acadêmico (GODDARD; ANANTHAPADMANABHAN, 1993). A formação de complexos moleculares polímero-surfactante tem sido usada para ajustar propriedades de soluções de polímeros ou de surfactantes separadamente, visando possíveis aplicações em processamento de alimentos e formulações farmacêuticas e cosméticas (WINNIK; REGISMOND, 1996).

A separação de fase ocorre com frequência em soluções de polímeros, porque a entropia da solução é uma força motriz termodinamicamente mais fraca para moléculas grandes. A mistura de polímero com surfactante em solução aquosa pode gerar uma interação entre os dois compostos, capaz de alterar significativamente as propriedades do sistema, como a solubilidade do polímero em água ou a estabilidade dos agregados de surfactantes (KWAK, 1998).

Os complexos de inclusão reportados na literatura mostram que o amido é um bom receptor de pequenas moléculas, como surfactantes (p. ex., fosfolipídeos). Isso acontece porque a hélice de amilose é hidrofílica em seu exterior e hidrofóbica em seu interior, possibilitando a adsorção de moléculas hidrofílicas ou hidrofóbicas nesses compartimentos do polímero, seja por efeito hidrofóbico, seja por interação eletrostática (PETKOVA-OLSSON *et al.*, 2017). A cavidade hidrofóbica da hélice de amilose é formada por ligações C-H entre os planos dos anéis (JONHEAD; JÄRNSTRÖM, 2006) e seu diâmetro é ajustado de acordo com o tamanho do agente complexante (BILIADERIS; GALLOWAY, 1989).

Análises de cristalografia e difração de raios-X sugerem que a amilose complexada com lipídeos assume conformação helicoidal, padrão V amilose, cujo eixo é perpendicular à superfície da lamela. A caracterização estrutural destes complexos e suas funcionalidades ainda estão sendo investigadas e são capazes de fornecer vários estados de agregação das moléculas (BILIADERIS; GALLOWAY, 1989; LÓPEZ; VRIES; MARRINK, 2012; SCH AHL; RÉAT; JOLIBOIS, 2020).

A interação amido-lipídeo tem sido estudada por meio de técnicas termoanalíticas, como Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), com o intuito de verificar a temperatura de dissociação e entalpia dos complexos moleculares

formados. Estudos de DSC revelam, por exemplo, que a transição térmica dos complexos amilose-lipídeo depende do tamanho das cadeias dos ácidos graxos, da cabeça polar do lipídeo, da umidade e do tipo de amido utilizado (GOMEZ-ALDAPA *et al.*, 2009).

Uma relação importante fornecida por DSC mostra que a temperatura de fusão de polímeros (T_m) é proporcional à temperatura de cristalização dos mesmos e, conseqüentemente, T_m de cristais lamelares está associada diretamente à espessura lamelar (BILIADERIS; GALLOWAY, 1989). Este tipo de análise também demonstra que surfactantes com cadeia hidrofóbica linear formam complexos mais estáveis comparados a surfactantes com cadeia ramificada (JONHEAD; JÄRNSTRÖM, 2006).

Complexos de inclusão formados por compostos polares não ramificados e amilose são equiparados ao complexo poliidoto de amilose (cor azul escuro). Supõe-se que o agente complexante ocupe o eixo central da hélice de amilose constituída de 6, 7 ou 8 resíduos de glicosil por volta, com passo de aproximadamente 0,8 nm (KARKALAS; RAPHAELIDES, 1986). De acordo com sistemas modelo mostrados por Karkalas e Raphaelides (1986), pode-se dizer que a hélice da amilose é saturada por ácidos graxos linearmente dispostos em uma razão molar ácido graxo/amilose prevista por meio do comprimento da cadeia dos ácidos graxos. Dados relevantes sobre a quantidade de resíduos de glicosil por ácido graxo e razão molar ácido graxo/amilose são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Comprimento de cadeia de ácido graxo calculado, número de resíduos de glicosil por ácido graxo e relação molar de saturação de ácido graxo/amilose.

Ácido graxo	Átomos de carbôno	Comprimento (nm)	Resíduos de Glicosil por ácido graxo ^a			Razão molar (ácido graxo/amilose) ^a		
			6	7	8	6	7	8
Cáprico	10	1,48	11,1	13,0	14,8	0,090	0,077	0,068
Laurico	12	1,73	13,0	15,1	17,3	0,077	0,066	0,058
Mirístico	14	1,98	14,9	17,3	19,8	0,067	0,058	0,050
Palmítico	16	2,23	16,7	19,5	22,3	0,060	0,051	0,045
Esteárico	18	2,49	18,7	21,8	24,9	0,054	0,046	0,040
Araquidônico	20	2,74	20,6	24,0	27,4	0,049	0,042	0,037
Behênico	22	2,99	22,4	26,2	29,9	0,045	0,038	0,033

^aOs números 6, 7 e 8 correspondem ao número de resíduos de glicosil por volta helicoidal, com uma distância de repetição (*pitch*) de 0,8 nm entre as voltas.

Fonte: Adaptado de Karkalas e Raphaelides (1986).

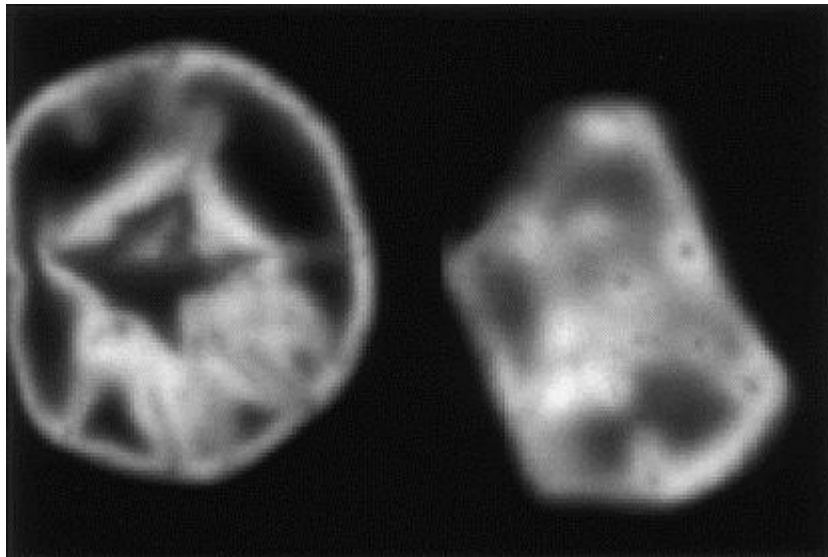
A intensidade da cor azul do complexo amilose/iodo pode ser medida por espectrofotômetro. Por meio dela é possível quantificar os complexos amilose/iodo presentes na amostra e, conseqüentemente, analisar a formação de complexo amilose/tensoativo. Quando adicionado em uma amostra contendo amilose e tensoativo, o iodo não consegue formar complexos com amilose, porque a cadeia alifática do tensoativo entra na cavidade hidrofóbica da amilose originando um complexo amilose/tensoativo, diminuindo a intensidade da cor azul (LI *et al.*, 2014).

Complexos de amilose formados em temperaturas iguais ou inferiores a 60 °C estruturam segmentos helicoidais individuais orientados aleatoriamente. É indispensável certa mobilidade das cadeias de amilose, para que a mesma consiga interagir com o ligante, ficando evidente que as características físico-químicas do ligante e do solvente influenciam diretamente na dinâmica do sistema e na formação dos complexos (PUTSEYS; LAMBERTS; DELCOUR, 2010).

O grânulo de AM possui canais em sua estrutura capaz de permitir a entrada de moléculas em solução aquosa e adsorver à parede hidrofóbica, conforme Figura 10. De acordo com Sato e Ruch (1980), a taxa de adsorção de moléculas depende da natureza do adsorvente, da natureza do adsorvido e da taxa de agitação da solução. A adsorção de polímeros em adsorventes porosos, como a argila, é lenta, podendo demorar horas ou dias para que o equilíbrio seja estabelecido, permitindo supor que monômeros de F127 são adsorvidos mais facilmente pelos grânulos de AM do que as micelas, devido à diferença de tamanho. Assim como na argila, espera-se que o processo de adsorção molecular no grânulo de amido seja lento.¹

¹ Resultados preliminares de dinâmica molecular, obtidos em colaboração com Raphael V. R. Dias, doutorando do grupo de Física Biológica Computacional do Dr. Leandro C. de Oliveira, de um sistema AM/Plurônico em água confirmam esta hipótese.

Figura 10 – Secções ópticas de grânulos de amido de milho comum, comerciais, tratados a curto prazo com merbromina, vistos por CSLM (microscopia confocal de varredura a laser), ilustrando a penetração lateral do corante nos canais na matriz granular. O grânulo à esquerda é seccionado ao longo do comprimento dos canais; o da direita é seccionado pelos canais.



Fonte: Huber e BeMiller (2000).

2.4 Técnicas instrumentais

O aperfeiçoamento de equipamentos e *softwares* tem aumentado a sensibilidade dos equipamentos de medidas, permitindo a realização de análises de pequenas amostras líquidas com baixas concentrações de soluto (CORREIA; DETRICH, 2008). Entre essas técnicas, destaca-se a de espalhamento dinâmico de luz.

2.4.1 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

DLS é uma técnica capaz de medir o diâmetro hidrodinâmico (D_h) de macromoléculas (de dimensões coloidais) submetidas a movimentos Brownianos em solução pela energia térmica natural do sistema em uma dada temperatura (FERRÉ-D'AMARÉ; BURLEY, 1994). Esta medida pode ser obtida através da relação de Stokes-Einstein no regime diluído, próximo à diluição infinita (KNOLL *et al.*, 2019), conforme a Equação (2.1).

$$D_p = \frac{K_B T}{3\pi\eta D_h} \quad (2.1)$$

Onde,

D_p = Coeficiente de difusão translacional

K_B = Constante de Boltzmann

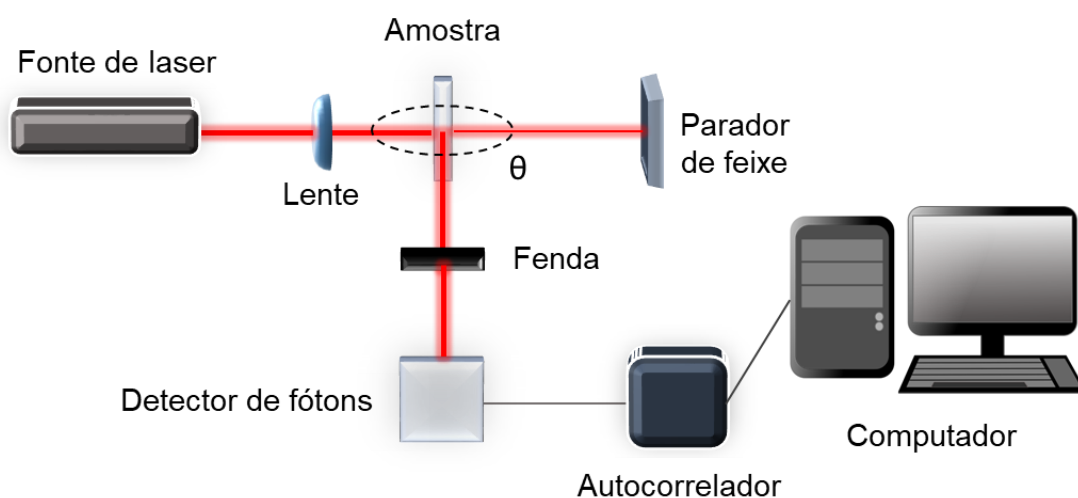
T = Temperatura absoluta

η = Viscosidade dinâmica da fase contínua

D_h = Diâmetro hidrodinâmico das partículas

Os elementos básicos do instrumento de DLS estão representados na Figura 11. O laser, fonte de luz monocromática, é guiado até a célula contendo a amostra líquida passando por fenda de colimação e lente de focalização do feixe. A luz espalhada pela amostra passa por um orifício, para fixar a direção de detecção, fazendo um ângulo (θ), de 90° na figura, com a luz incidente. As flutuações de intensidade de luz recebidas pelo detector são processadas pelo autocorrelador, que fornece dados (função de autocorrelação da intensidade da luz espalhada) do sistema de partículas (KNOLL *et al.*, 2019). Por meio da distribuição dessas funções é possível obter o diâmetro hidrodinâmico médio das macromoléculas, caracterizando assim o tamanho das estruturas em estudo.

Figura 11 – Componentes básicos do instrumento de DLS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Esta técnica foi, recentemente, utilizada no estudo de interações moleculares entre F127 e o peptídeo tritripticina (TRP₃), realizados por Salay *et al.* (2018), a fim de obter informações sobre a estabilidade coloidal dos agregados de F127 na presença e ausência do peptídeo variando a concentração dos componentes. Do mesmo modo, neste estudo, a estabilidade das estruturas de F127 em solução aquosa, na presença e na ausência de AM, foi investigada por DLS.

2.4.2 Espectrofotometria no Ultravioleta Visível (UV-Vis)

Esta técnica utiliza radiação eletromagnética no intervalo de comprimento de onda (λ) de 100 a 750 nm. O espectro UV de uma molécula consiste em uma banda larga de absorção com centro próximo ao comprimento de onda da transição principal, uma vez que os níveis rotacionais e vibracionais são sobrepostos aos níveis eletrônicos. A espectroscopia de absorção segue a Lei de Beer-Lambert, cuja expressão empírica pode ser vista na Equação (2.2). Esta lei só é obedecida quando uma única espécie gera a absorção observada (PAVIA *et al.*, 2015).

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon cl \quad (2.2)$$

Onde,

A = absorvância;

I_0 = intensidade de luz incidente na cubeta;

I = intensidade de luz que sai da cubeta;

ε = absortividade molar;

c = concentração molar do soluto;

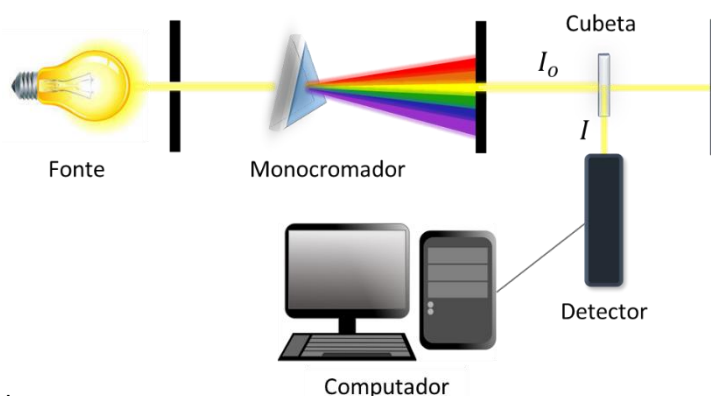
l = comprimento da cubeta (cm).

O espectrofotômetro UV-Vis é constituído basicamente por uma fonte de luz, lâmpada de deutério com radiação na região ultravioleta (UV) e lâmpada de tungstênio com radiação na região do visível (Vis); um monocromador, composto por um colimador, um prisma e uma fenda seletora; um compartimento onde se encaixa a cubeta de quartzo contendo a referência/amostra; e um detector que transmite o sinal

para um computador para análise dos dados, conforme esquema mostrado na Figura 12 (PAVIA *et al.*, 2015).

Por meio da intensidade de luz espalhada recebida pelo detector é possível calcular a intensidade de absorbância das amostras. Variações significativas na intensidade de absorbância, deslocamentos de picos e/ou alargamentos de bandas (sem alteração na concentração dos componentes das amostras) podem indicar interações entre os componentes e mudanças estruturais dos mesmos (LU *et al.*, 2019). Desta forma, assim como DLS, a espectrofotometria UV-Vis permite monitorar a estabilidade das estruturas coloidais suspensas em solução nas amostras em estudo.

Figura 12 – Esquema de funcionamento dos principais componentes do espectrofotômetro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.4.3 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)

Esta é uma técnica instrumental usada para estudar moléculas quirais. Por meio dela, é possível calcular a diferença em absorbância da luz polarizada circularmente à esquerda e à direita, equação 2.3 (RODGER; NORDÉN, 1997).

$$CD = A_L - A_R \quad (2.3)$$

Onde,

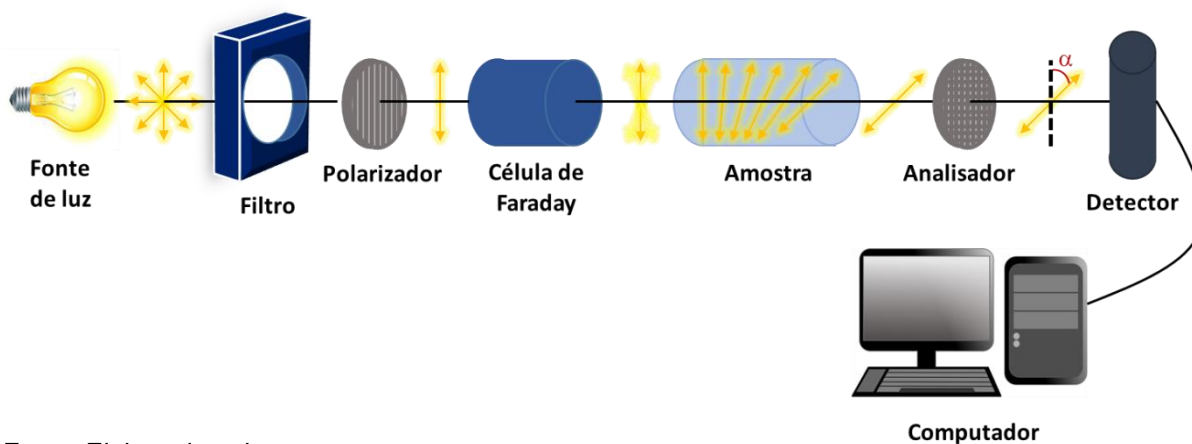
CD = diferença de absorbância;

A_L = absorbância da luz polarizada circularmente à esquerda;

A_R = absorbância da luz polarizada circularmente à direita;

A Figura 13 mostra o esquema de funcionamento básico de um polarímetro, que mede a rotação do plano de polarização da luz ao passar por uma cubeta de quartzo contendo uma amostra opticamente ativa (FARTH; BATISTA, 2018).

Figura 13 – Esquema de funcionamento de um polarímetro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Xu *et al.* (2015) utilizaram a técnica de dicroísmo circular para analisar as interações de ligação entre Amilose e Glutelina de arroz e possíveis mudanças conformacionais na estrutura secundária da proteína. Por meio dos valores de elipticidade negativa obtidos e dados de outras técnicas utilizadas, eles puderam concluir que as interações entre amilose e proteína induziram mudanças conformacionais na estrutura da Glutelina (aumento na quantidade de α hélice e diminuição na quantidade de folhas β).

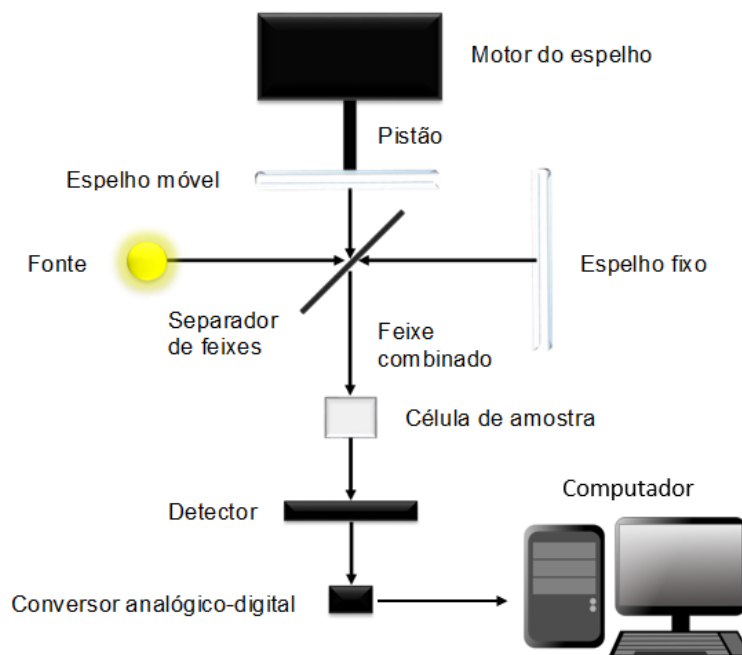
O uso desta técnica, neste estudo, tem como objetivo verificar a presença de amilose ou pequenos grânulos de AM solúveis em solução aquosa de F127. Como mencionado anteriormente, a amilose se estrutura em V amilose (hélice “compacta”), quando complexada com lipídeos. Portanto, espera-se obter valores negativos ou positivos de elipticidade, o que pode confirmar sua solubilização nas amostras.

2.4.4 Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica utiliza radiação no intervalo de comprimento de número de onda de 4000-400 cm^{-1} (ou intervalo de comprimento de onda de 2,5-25 μm). O esquema de funcionamento de um espectrômetro FTIR, mostrado na Figura 14, contém um separador de feixe de radiação e 2 espelhos (um fixo e outro móvel). O movimento do

espelho móvel gera feixes de radiação com intensidades diferentes, os quais são recebidos pelo detector (interferograma), que converte, pela transformada de Fourier, os dados obtidos no domínio de tempo para o domínio de frequência (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

Figura 14 – Esquema de funcionamento de um espectrômetro FTIR.



Fonte: Adaptado de Silverstein, Webster e Kiemle (2006).

Através da intensidade de absorção de radiação infravermelha, obtida pelo interferograma, pode-se identificar a composição de substâncias puras ou de misturas presentes em amostras líquidas ou sólidas, por meio das vibrações específicas das ligações químicas de cada molécula (CAROLEI, 2005; WHITTINGHILL; NORTON; PROCTOR, 2000). Neste estudo, a espectrometria de FTIR foi utilizada para analisar a composição do precipitado seco das amostras de F127 + AM em solução aquosa, a fim de identificar a formação de complexos entre estas substâncias.

2.4.5 Difratometria de raios-X

O esquema principal de funcionamento do difratômetro de raios-X pode ser visto na Figura 15. A fonte de raios-X emite radiação sobre um cristal contendo a amostra. O ângulo do cristal pode ser regulado na direção do círculo pontilhado, a fim de manter o padrão desejado. Normalmente, o plano refletivo do cristal faz um ângulo

θ específico com o feixe incidente e um ângulo 2θ com o detector de raios-X. A radiação difratada é medida em diversos ângulos e seu comprimento de onda é calculado por meio da Equação (2.3) advinda da lei de Bragg (CULLITY, 1978).

$$\lambda = 2d \operatorname{sen}\theta \quad (2.3)$$

Onde,

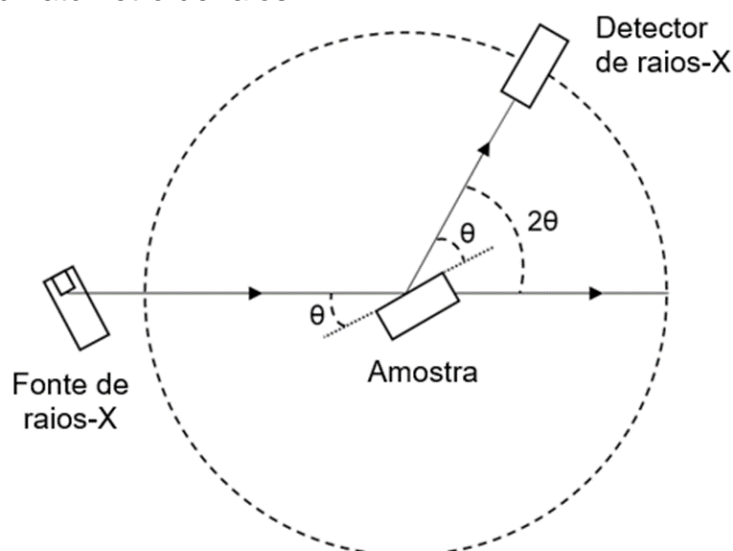
λ = comprimento de onda do feixe de raios-X incidente;

d = distância entre camadas atômicas de um cristal;

θ = ângulo de incidência.

A técnica de raios-X é muito empregada para caracterizar estruturas de cristais. A intensidade de absorvância de raios-X é obtida por meio da radiação difratada pela amostra. Por meio da intensidade (espectro) de absorvância é possível identificar o tipo de cristal utilizado no estudo e possíveis mudanças estruturais ocasionadas pela presença de outra substância na amostra (GARCÉS *et al.*, 2015). Nesta pesquisa, esta técnica foi utilizada para verificar/confirmar a formação de complexos no precipitado seco (desidratado) das amostras de AM + F127.

Figura 15 – Esquema principal de funcionamento do difratômetro de raios-X.



Fonte: Adaptado de Cullity (1978).

3 OBJETIVOS

Objetivo geral:

Investigar, por meio de interações moleculares, a ação de F127 na suspensão de grânulos de AM em solução aquosa e verificar o efeito desses grânulos na estabilidade das micelas de F127 em água a 25 °C.

Objetivos específicos:

- 1) Analisar o efeito da concentração de AM em solução aquosa de F127 à temperatura ambiente (25 °C) por meio das técnicas de DLS, espectrofotometria UV-Vis e CD;
- 2) Determinar as proporções de AM e F127 mais adequadas para a solubilização de AM;
- 3) Caracterizar possíveis interações entre AM e F127 em solução aquosa a 25 °C e correlacionar essas interações com a solubilização de AM e estabilidade das micelas ou complexos moleculares de F127-AM formados;
- 4) Demonstrar a formação de complexos de F127-AM no sobrenadante e no precipitado das amostras, através das técnicas de DLS, espectrofotometria UV-Vis, CD, FTIR e espectroscopia de raios-X;
- 5) Verificar a suspensão de grânulos de AM em solução aquosa a 25 °C, na ausência e na presença de F127;
- 6) Propor um modelo de interação molecular F127-AM em solução aquosa.

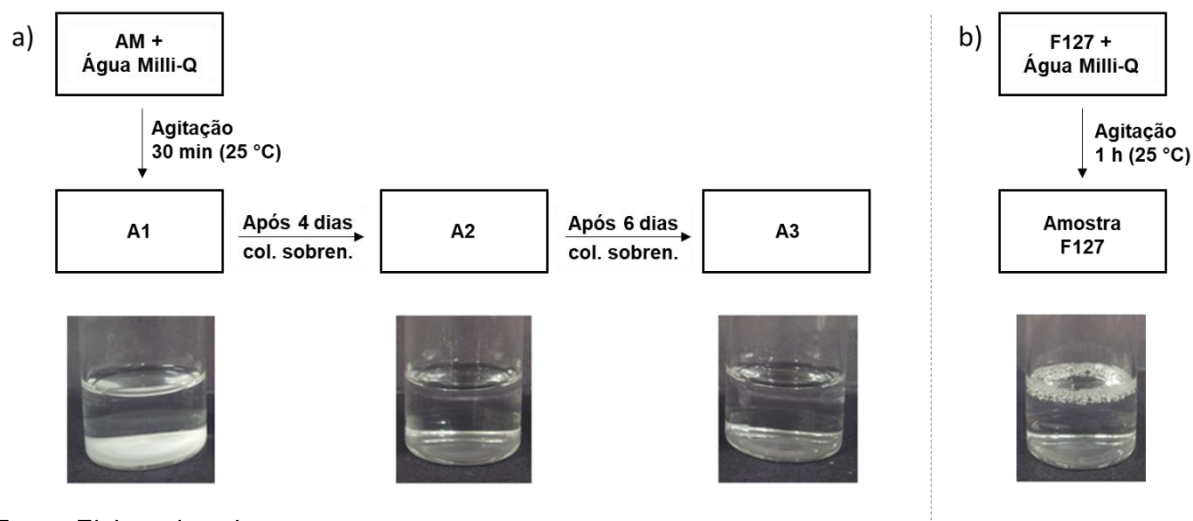
4 MATERIAIS E MÉTODOS

AM comercial selecionado para a realização desta pesquisa foi da marca MAIZENA®. O copolímero tribloco F127 (Pluronic® F127) utilizado, massa molecular 12.600 g/mol, foi adquirido comercialmente junto à Sigma-Aldrich (Merck) e usado conforme recebido. Brometo de potássio (KBr), fornecido pela empresa Shimadzu Corporation (Kyoto – Japão), massa molecular 119 g/mol, também foi usado conforme recebido. Lugol foi obtido por meio da mistura de 5% de I₂ (253,8 g/mol) (fornecido pela empresa Conelgo) e 10% de KI (166,0 g/mol) (fornecido pela empresa Merck) em água. Como a massa molecular do AM utilizado é desconhecida, a unidade escolhida como referência nas amostras de AM e F127 foi porcentagem em massa (% p/p).

4.1 Métodos de preparo das amostras

O preparo das amostras de AM e de F127 em água pode ser visualizado nos esquemas mostrados na Figura 16a e 16b respectivamente. As amostras de AM foram preparadas por diluição simples na concentração desejada, com auxílio de um agitador magnético. Visualmente, os grânulos de amido precipitam em aproximadamente 1 dia. Por meio deste tipo de análise visual, notou-se que quanto maior o tempo de repouso das amostras de AM mais “compacto” se torna o precipitado. Portanto, mais fácil a remoção do sobrenadante, sem a possibilidade de suspensão de grânulos de amido precipitados. Logo, optou-se por deixar o frasco em repouso por 4 dias. Após quatro dias em repouso no frasco 1 (A1), 10 mL do sobrenadante foi removido e colocado em um segundo frasco (A2), onde as amostras permaneceram em repouso por mais seis dias (tempo suficiente para a precipitação dos grânulos não solúveis e hidratação e reorganização das estruturas solúveis) e 5 mL do sobrenadante do segundo frasco foi removido e transportado ao terceiro frasco (A3). As amostras de F127 também foram preparadas por diluição simples na concentração desejada, com auxílio de um agitador magnético. O tempo de agitação das amostras de F127 em concentrações maiores do que 1,2% foi superior a 1 h, a fim de solubilizar completamente o composto.

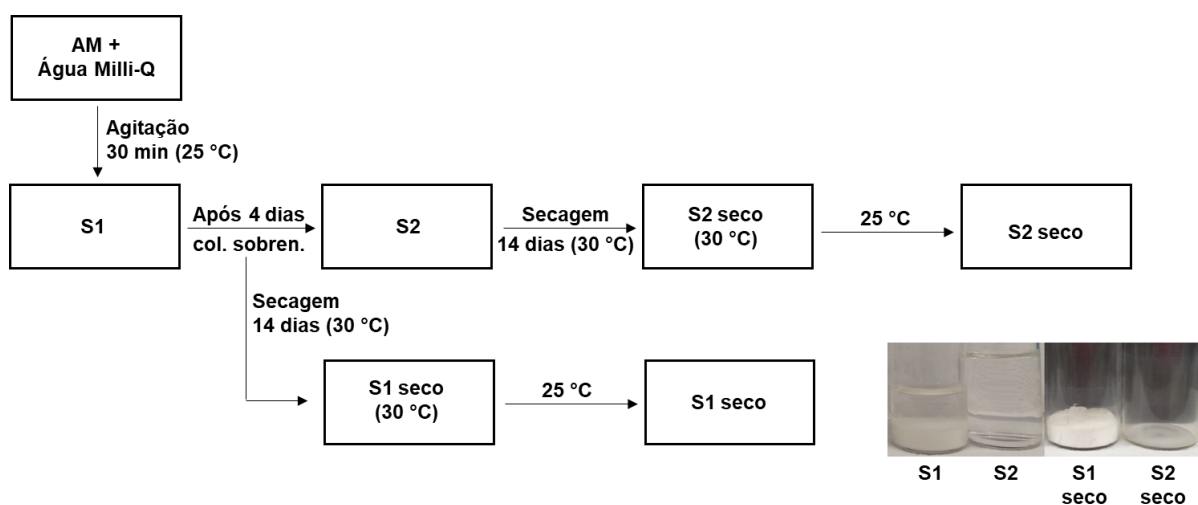
Figura 16 – Esquema do método de preparo das amostras de AM (a), com posterior coleta de sobrenadantes (A2 e A3), e das amostras de F127 (b).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A fim de verificar a existência de AM solúvel em água, amostra de AM (S1) foi preparada por diluição simples na concentração desejada, com auxílio de um agitador magnético (Figura 17). S1 foi mantida em repouso por 4 dias a 25 °C. Após esse período, 10 mL do sobrenadante de S1 foi removido e colocado em um segundo frasco (S2). Ambos os frascos foram colocados em estufa a 30 °C durante 14 dias para secagem lenta das amostras e nomeados “S1 seco” e “S2 seco”. Os componentes dos frascos, inclusive os frascos, foram pesados em balança analítica.

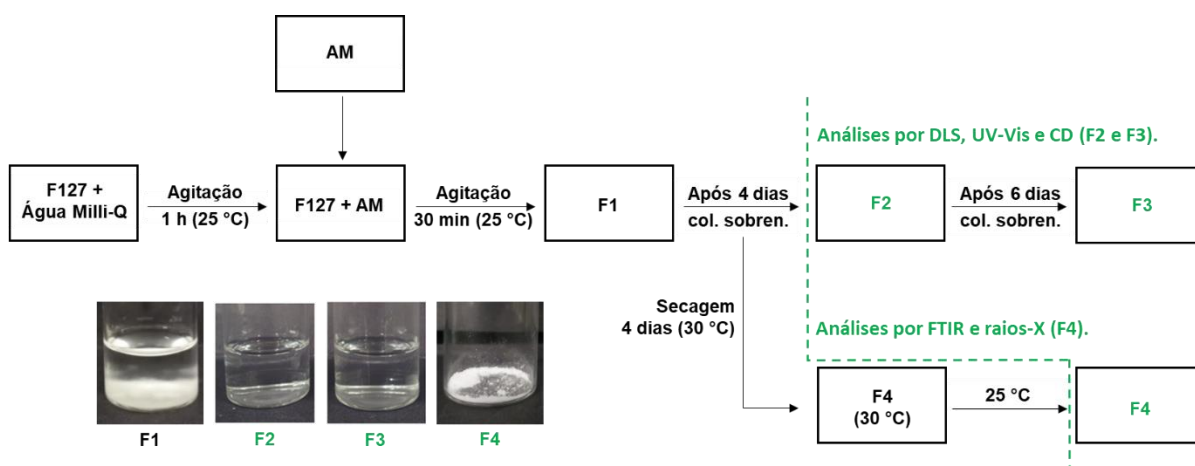
Figura 17 – Esquema do método de preparo das amostras de AM secas.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A mistura de AM com F127 em água foi preparada pela adição de AM sólido à solução aquosa de F127, conforme esquema mostrado na Figura 18. Após quatro dias em repouso no frasco 1 (F1), 10 mL do sobrenadante foi removido e colocado em um segundo frasco (F2). As amostras permaneceram em repouso por mais seis dias e 5 mL do sobrenadante do segundo frasco foi removido e transportado ao terceiro frasco (F3). O precipitado de F1 foi colocado em estufa a 30 °C durante 4 dias para secagem (com exceção do precipitado utilizado no teste com lugol) e denominado F4. Apenas os produtos dos frascos 2 e 3 foram analisados pelas técnicas de DLS, espectrofotometria UV-Vis e CD e o produto do frasco 4 foi analisado pelas técnicas de FTIR e espectroscopia de raios-X.

Figura 18 – Esquema do método de preparo da mistura de AM com F127 em água com posterior coleta de sobrenadantes e secagem de precipitado.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Todas as amostras utilizadas neste estudo podem ser verificadas na Tabela 8.

Os compostos AM e F127 (sólidos) foram usados conforme adquiridos comercialmente.

Tabela 8 – Tipos de amostras preparadas e técnicas instrumentais empregadas para cada amostra.

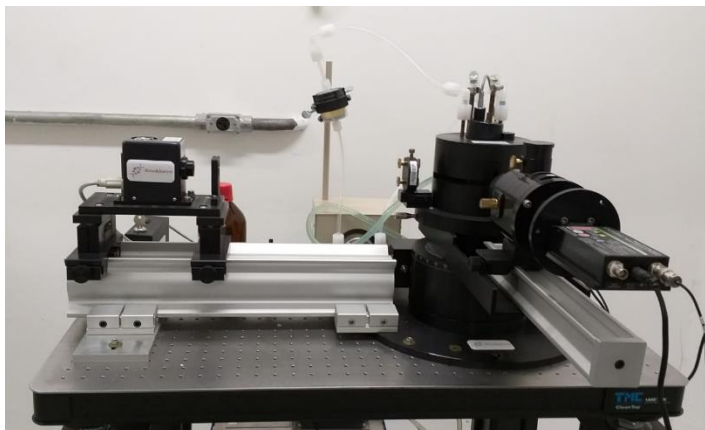
Amostras	Tipo	Técnicas instrumentais utilizadas
AM	Sólida	FTIR e raios-X
F127	Sólida	FTIR e raios-X
AM + F127	Sólida	FTIR e raios-X
AM (0,05; 1, 5 e 10%)	Solução aquosa	UV-Vis, DLS e CD
F127 (1; 1,2; 5; 6; 10 e 15%)	Solução aquosa	UV-Vis, DLS e CD
AM (0,2%) + F127 (6%)	Solução aquosa	UV-Vis, DLS, CD, FTIR e raios-X
AM (1,2%) + F127 (1,2%)	Solução aquosa	UV-Vis, DLS, CD, FTIR e raios-X
AM (0,05%) + F127 (1,2%)	Solução aquosa	Teste visual com lugol

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.1 Medidas de DLS

Aproximadamente 3 mL de amostra, acondicionada em cubeta de vidro cilíndrica, foi usada em cada medida de DLS. O equipamento utilizado nessas medições foi um goniômetro BI 200SM (Brookhaven Instruments Corporation, Holtsville, USA) um autocorrelator digital e um laser de He-Ne, operando no comprimento de onda de 635 nm (Figura 19). Todas as medidas foram feitas em 15, 25 e 35 °C.

Figura 19 – Foto do equipamento de DLS - BI 200SM, Brookhaven Instruments Corporation.

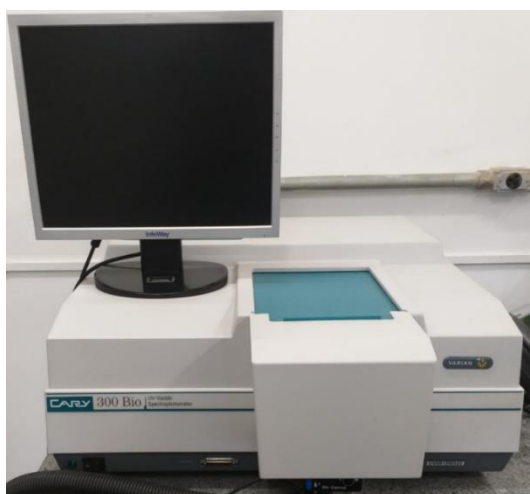


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.2 Medidas de espectrofotometria UV-Vis

As amostras foram colocadas em cubetas de quartzo (com comprimento óptico de 1 cm) para realizar as medições de absorvância. O espectrofotômetro utilizado para as medições foi o Cary Bio 300 UV-Vis (Varian, Mulgrave, Austrália), Figura 20. Varreduras no intervalo de comprimento de onda de 800 a 200 nm foram realizadas em amostras específicas, utilizando água na cubeta de referência. Na análise dos dados, o sinal de absorvância medido foi descontado o sinal medido da água.

Figura 20 – Foto do espectrofotômetro CARY Bio 300 UV-Vis.



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.3 Medidas de CD

As amostras foram colocadas em cubetas de quartzo de comprimento óptico 0,5 cm. Os espectros foram obtidos utilizando o espectropolarímetro CD J-815 JASCO (Figura 21). Ao todo foram feitas 10 acumulações, com velocidade de 50 nm/min. Os espectros apresentados nos resultados são a média das 10 acumulações subtraída a média das 10 acumulações de CD do branco (água milli-Q ou solução aquosa de F127).

Figura 21 – Espectropolarímetro CD J-815 JASCO.

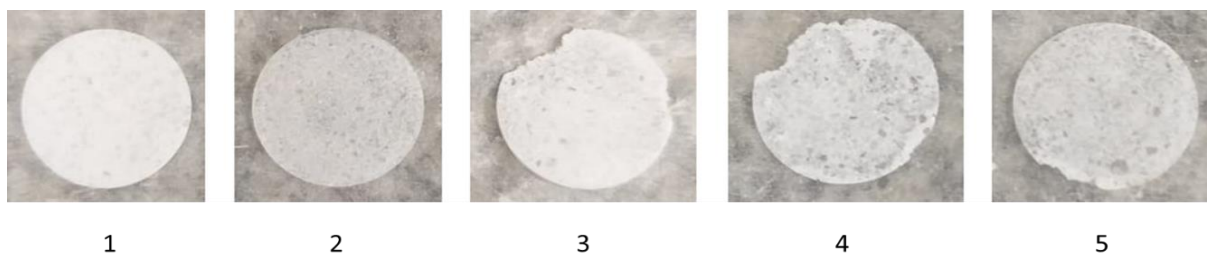


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.4 Medidas de espectrometria FTIR

Para testes de FTIR, pastilhas com diâmetro de aproximadamente 1,3 cm (Figura 22) foram formadas usando uma quantidade pequena de KBr e de amostra (AM; F127; AM 0,2% + F127 6% (F4); AM 1,2% + F127 1,2% ou AM 10 mg + F127 10 mg). Uma força de 80 kN foi empregada durante 3 min para formar a pastilha. Os espectros de FTIR foram registrados à temperatura ambiente na faixa de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} em um espectrômetro IRTracer-100 FTIR, marca Shimadzu (Figura 23). Cada espectro foi calculado a partir de 64 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} . Uma varredura de fundo foi registrada antes de cada medição e subtraída dos espectros das amostras, a fim de extrair o sinal gerado pelo CO_2 atmosférico.

Figura 22 – Pastilhas para testes de FTIR formadas com as amostras AM (1), F127 (2), AM 0,2% + F127 6% (F4) (3), AM 1,2% + F127 1,2% (F4) (4) ou AM 10 mg + F127 10 mg (5), com adição de KBr.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23 – Foto do espectrômetro IRTracer-100 FTIR.

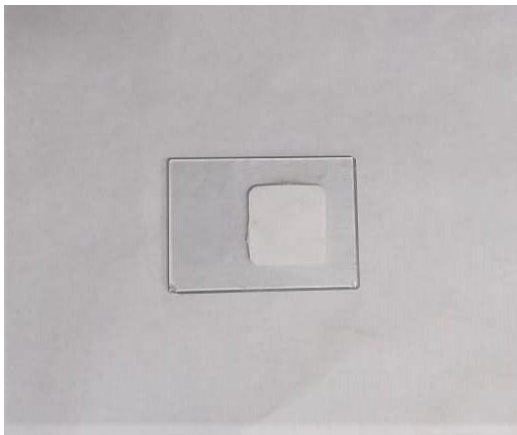


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.5 Medidas de difratometria de raios-X

Placas de vidro amorfo contendo aproximadamente 200 mg de amostra (Figura 24) foram montadas para análise. Os difratogramas foram registrados em um difratômetro de raios-X, modelo MiniFlex II, marca Rigaku (Figura 25), à temperatura ambiente, intervalo de ângulo de difração de 3 a 50°, comprimento de onda de radiação de $\text{CuK}\alpha$ de 1,54 Å e velocidade de varredura de 2°/min. O aparelho foi operado a uma tensão elétrica de 30 KV e corrente de 15 mA.

Figura 24 – Imagem da placa de vidro com 200 mg de AM para testes de raios-X.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 25 – Fotos do difratômetro de raios-X, modelo MiniFlex II.



Fonte: Elaborado pelo autor.

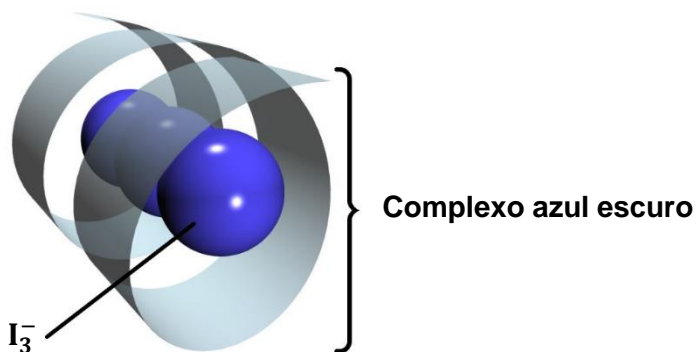
4.1.6 Preparo das amostras para teste visual com lugol

Neste experimento, 20 μ l de lugol (5% de I_2 e 10% de KI em água) foi adicionado em frascos distintos, aqui representados por L_i (i: 1-6), contendo:

- L1: água;
- L2: AM 0,05% em água (A1);
- L3: F127 1,2% em água;
- L4: AM 0,05% + F127 1,2% (F1);
- L5: AM 0,05% + F127 1,2% (F2);
- L6: AM 0,05% + F127 1,2% (F3).

Em seguida, os frascos foram agitados manualmente e deixados em repouso para análise visual da coloração da amostra. Conforme mencionado, o amido em solução aquosa, na presença de iodo, adquire cor azul escuro devido ao complexo formado com a amilose, de acordo com o esquema mostrado na Figura 26. Cor diferente na amostra de AM-F127 em água, após a adição de lugol, pode indicar interação entre estes compostos.

Figura 26 – Esquema de adsorção de íons triiodeto (I_3^-) à macromolécula de AM formando o complexo azul escuro da amilose com iodo.



Fonte: Adaptado de Fantini (2012).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

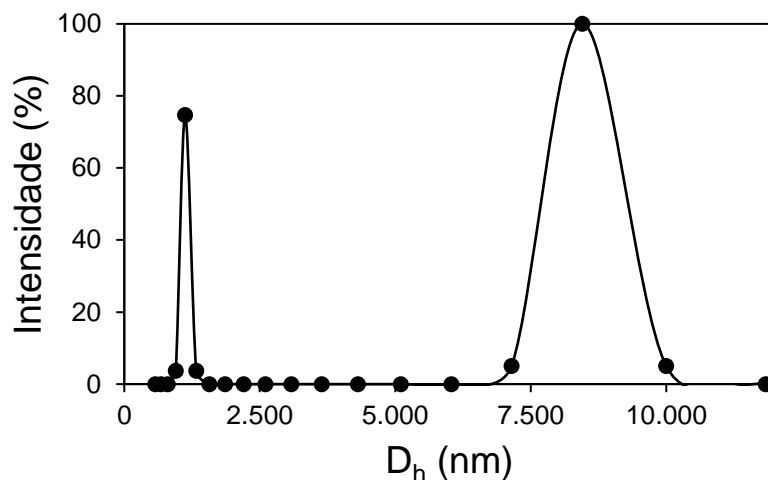
Os resultados experimentais das amostras de AM e F127 obtidos através das técnicas instrumentais apresentadas acima são descritos e apresentados a seguir.

5.1 DLS

Medidas do diâmetro hidrodinâmico (D_h) das micelas de F127 variando a concentração, a 25 °C, são importantes, visto que o tamanho dessas estruturas pode influenciar o modo de interação com AM. Além disso, é relevante saber se pequenas variações de temperatura também alteram o tamanho e a função das micelas de F127 em concentrações fixas.

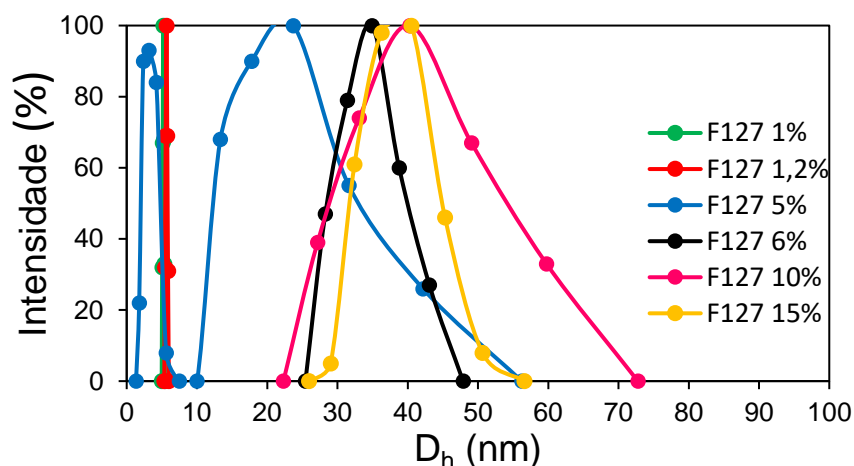
Funções distribuição de D_h características das amostras investigadas são mostradas nas Figuras 27 e 28, onde se vê que a solução de AM 0,05% (A1) é altamente polidispersa comparada às soluções de F127 (sem AM), nas concentrações 1, 1,2, 5, 6, 10 e 15%. Isso se deve a AM possuir grânulos com tamanhos variados e pesos moleculares não homogêneos. A Figura 27 mostra apenas duas populações com valores de D_h 1.120 e 8.450 nm. Entretanto, outros valores de D_h foram encontrados nas medidas de DLS, porém com baixa intensidade. Como o valor de D_h máximo permitido pelo equipamento de DLS utilizado é de 10.000 nm, grânulos maiores do que 10.000 nm devem estar presentes na amostra, pois, conforme mencionado, os grânulos de AM têm dimensões de até 30.000 nm. A Figura 28 mostra apenas um resultado de D_h para cada concentração de F127. A fim de obter os valores de D_h médio das populações dominantes das amostras investigadas, foram selecionados todos os valores de intensidade maiores ou iguais a 50% de todas as medidas realizadas. Os valores de D_h médios são mostrados nas Figuras 29-32.

Figura 27 – Função distribuição de D_h de dispersões de AM 0,05% (A1) obtidas a 25 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28 – Função distribuição de D_h de soluções aquosas de F127 1; 1,2; 5; 6; 10 e 15% obtidas a 25°C.

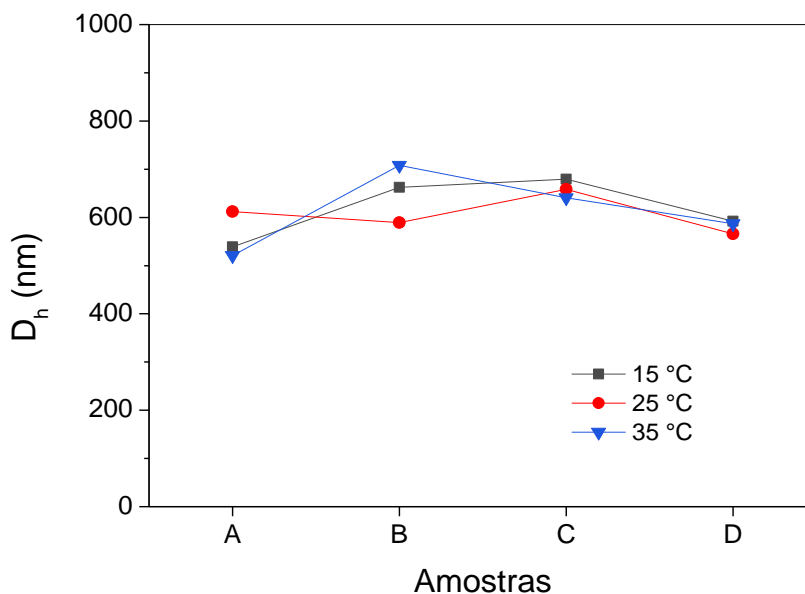


Fonte: Elaborado pelo autor.

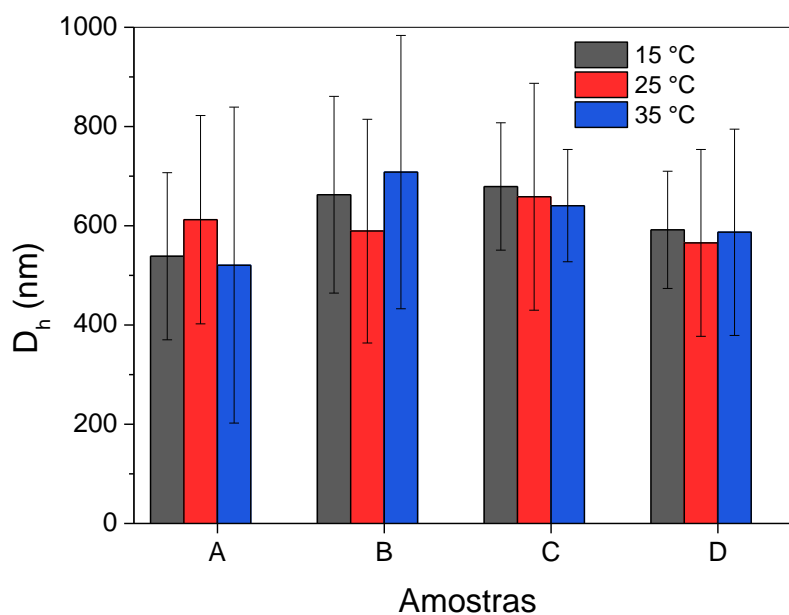
Segundo Bertolini (2010), AM é insolúvel em água a 25°C. A fim de verificar esta afirmação, optou-se por medir D_h das amostras A2 e A3 de AM 0,2 e 1,2% nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C. Na Figura 29a, o valor de D_h das partículas nessas amostras encontram-se na faixa de 500-700 nm. Dentro do erro experimental, de acordo com as barras de erro mostradas na Figura 29b, a variação da temperatura não altera o valor de D_h , indicando a existência de pequenos grânulos de AM ou parte de grânulos (por exemplo, amilose), com diâmetro médio de 600 nm, solúveis em água, na faixa de temperatura de 15-35 °C. Contrariamente a Bertolini, estes resultados indicam que AM é parcialmente solúvel em água.

Figura 29 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras de AM 0,2% A2 (A), AM 0,2% A3 (B), AM 1,2% A2 (C) e AM 1,2% A3 (D), em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.

a)



b)



Fonte: Elaborado pelo autor.

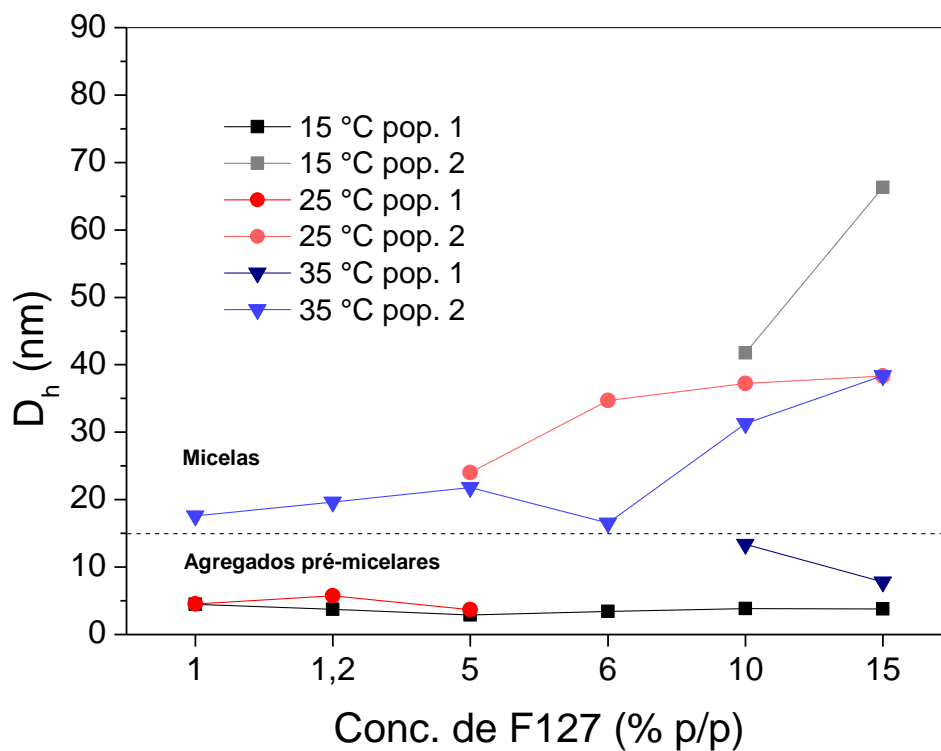
A Figura 30a mostra o efeito da concentração de F127 (1; 1,2; 5, 6; 10 e 15% p/p) e da temperatura de exposição (15, 25 e 35 °C) da amostra em D_h das estruturas micelares ou monoméricas de F127 em água. Em 15 °C, em amostras com concentração inferior a 10%, predominam populações com D_h menor do que 15 nm, indicando a presença de agregados pré-micelares (monômeros, dímeros, trímeros).

Esses dados corroboram os da Tabela 6, onde se vê que em concentrações de F127 menores que 10% não há formação de micelas em água a 15 °C. Amostras com concentrações de F127 entre 10 e 15% apresentaram tanto agregados pré-micelares ($D_h \approx 4$ nm) quanto micelas (com $D_h \approx 42$ e 66 nm, respectivamente). Estruturas de F127 menores do que 15 nm foram consideradas agregados pré-micelares nas três temperaturas utilizadas. As demais amostras analisadas, em 25 e 35 °C, estavam acima da CMC, e suas dimensões são compatíveis com estruturas micelares, com exceção das concentrações 1 e 1,2% de F127, pois concentrações de F127 menores que 2% dificultam a leitura do sinal de espalhamento de luz, interferindo nos valores de D_h obtidos. Em 35 °C e concentração de F127 entre 5 e 15%, D_h das micelas diminuiu, provavelmente porque o núcleo micelar de F127 se torna mais hidrofóbico com o aumento da temperatura, levando à migração de água remanescente do meio interno para o meio externo das micelas (BASAK; BANDYOPADHYAY, 2013). Em concentrações menores que 5% foram observadas micelas apenas em 35 °C; em 25 °C (e 15 °C), por estar na região (ou abaixo) da CMC, predominam agregados pré micelares.

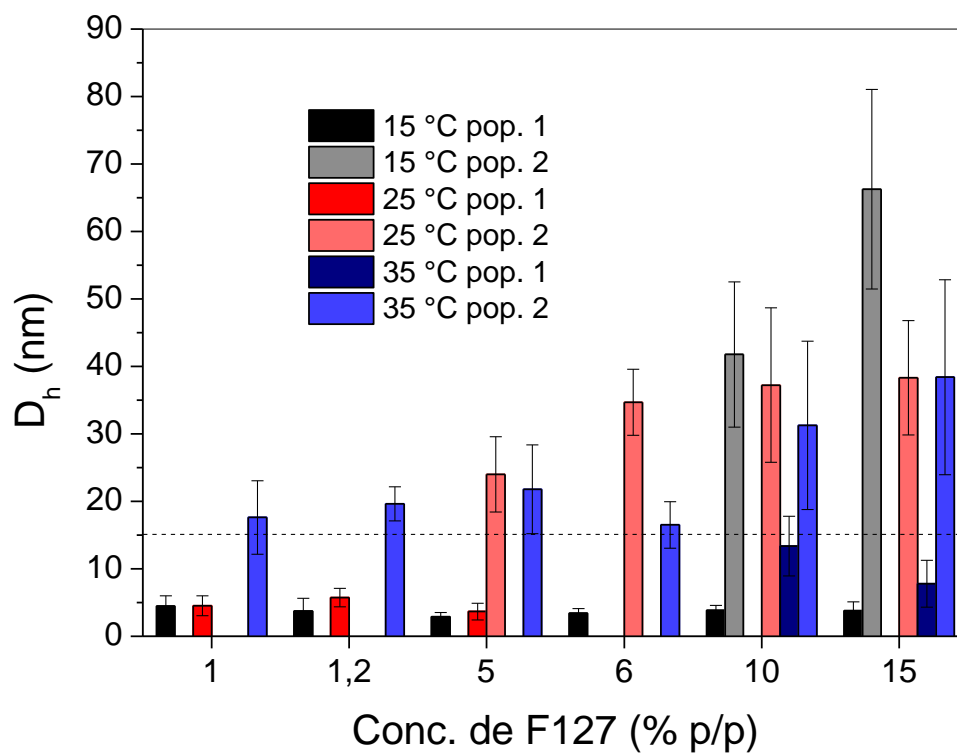
Na Figura 30b vê-se que o desvio médio de D_h aumenta com aumento da concentração de F127. Isto acontece, porque a intensidade de luz espalhada aumenta, pois aumenta o número de micelas em solução, ocorrendo interação entre elas e, eventualmente, múltiplo espalhamento. Existe ainda a possibilidade de aumento de tamanho das micelas, tornando-se mais alongadas. A partir dessas medidas, optou-se por utilizar nas medidas espectrofotométricas concentrações de 1,2 e 6,0% de F127 em solução aquosa a 25 °C, a fim de comparar o efeito dos dois tipos de população (agregados pré-micelares e micelas).

Figura 30 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas de F127 em água, em função da concentração, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.

a)



b)



Fonte: Elaborado pelo autor.

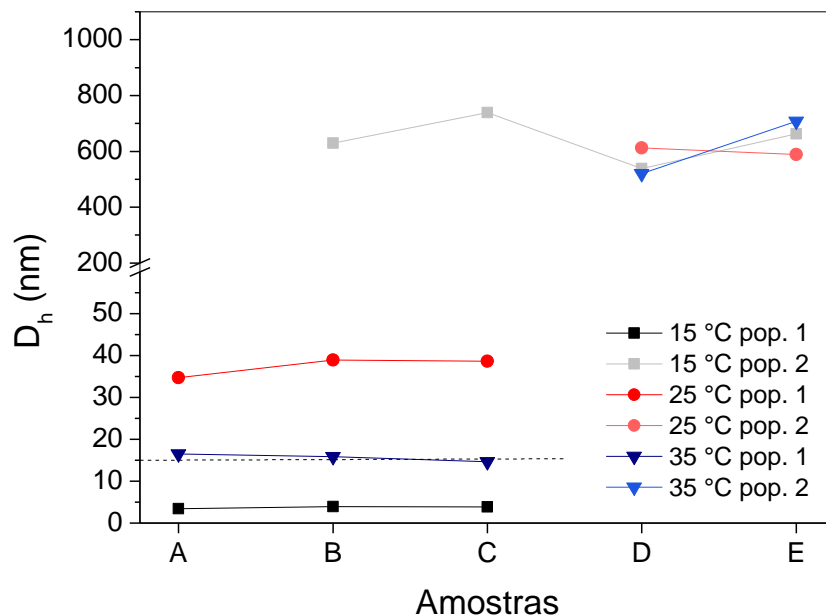
Na Figura 31a e 31b podem-se comparar os valores do D_h das estruturas nas amostras de AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3) com os valores de D_h das estruturas de AM 0,2% (A2 e A3) e F127 6%, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C. $D_h \approx 39$ nm obtido para as amostras de AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3) é igual ao valor obtido para F127 6%. Na Figura 31b verifica-se, por meio das barras de erro, que não existe diferença significativa no valor de D_h das micelas de F127 contendo ou não AM. Portanto, dentro do erro experimental, o tamanho das estruturas de F127 em água não sofreu alteração na presença de AM nas três temperaturas analisadas (lembrando que as micelas de F127 foram formadas antes da adição de AM à solução). Apenas na temperatura de 15 °C foi possível medir D_h das estruturas de AM tanto na amostra B quanto na amostra C. Esses resultados nos levam a hipotetizar que o tipo de complexos com AM depende se F127 está na forma monomérica ou micelar, levando à formação, respectivamente de complexos menores e maiores (sem e com precipitados).

Na Figura 32a e 32b verifica-se que a amostra de F127 1,2% em água apresenta uma população de agregados pré-micelares nas temperaturas de 15 e 25 °C, com $D_h \approx 4$ e 5 nm, respectivamente, e de micelas, com $D_h \approx 20$ nm, em 35 °C. As amostras de AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3) apresentam populações maiores, com D_h na faixa de 760 a 860 nm, nas três temperaturas citadas. Em 35 °C também predominam estruturas micelares pequenas, com $D_h \approx 20$ nm. Comparando as amostras B e C com as amostras D e E, respectivamente, percebe-se que D_h das grandes estruturas das amostras B e C são maiores do que D_h das estruturas das amostras D e E. Embora não sejam significativos, conforme mostram as barras de erro (Figura 32b), estes aumentos de tamanho indicam a formação de complexos de AM-F127, já que as estruturas de F127 são muito menores do que as estruturas de AM; F127 pode interagir com o interior dos grânulos sem alterar o tamanho dos mesmos. A presença de grânulos de AM não altera significativamente o tamanho das estruturas (micelas ou pré-micelas) de F127 e as estruturas de AM não são alteradas pela presença de F127 em solução.

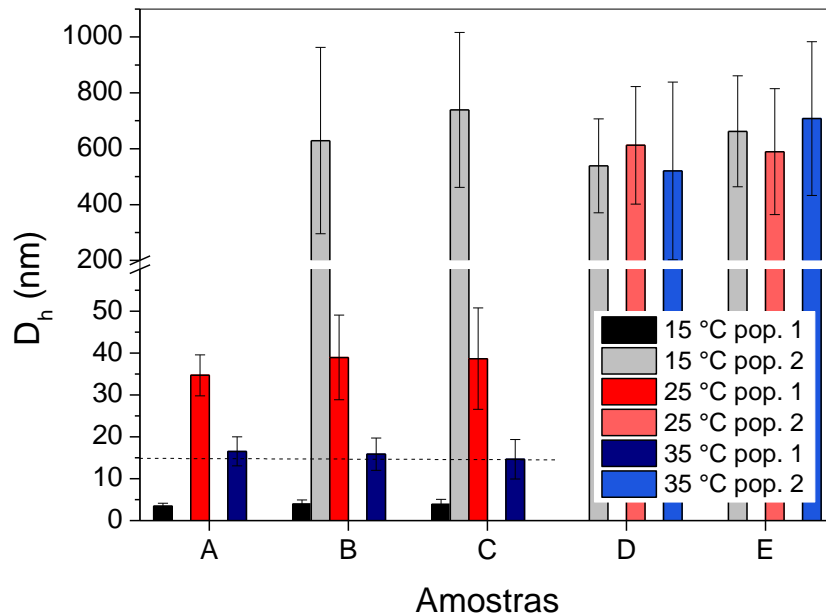
Comparando as interações entre agregados pré-micelares ou micelas e AM em solução aquosa, apresentadas acima, pode-se dizer, por meio dos resultados de DLS, que a interação entre agregados pré-micelares e AM é a mais indicada para a solubilização e estabilidade de AM (ou complexos AM-F127) em solução aquosa a 25 °C.

Figura 31 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras de F127 6% (A), AM 0,2% + F127 6% F2 (B), AM 0,2% + F127 6% F3 (C), AM 0,2% A2 (D) e AM 0,2% A3 (E) em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.

a)



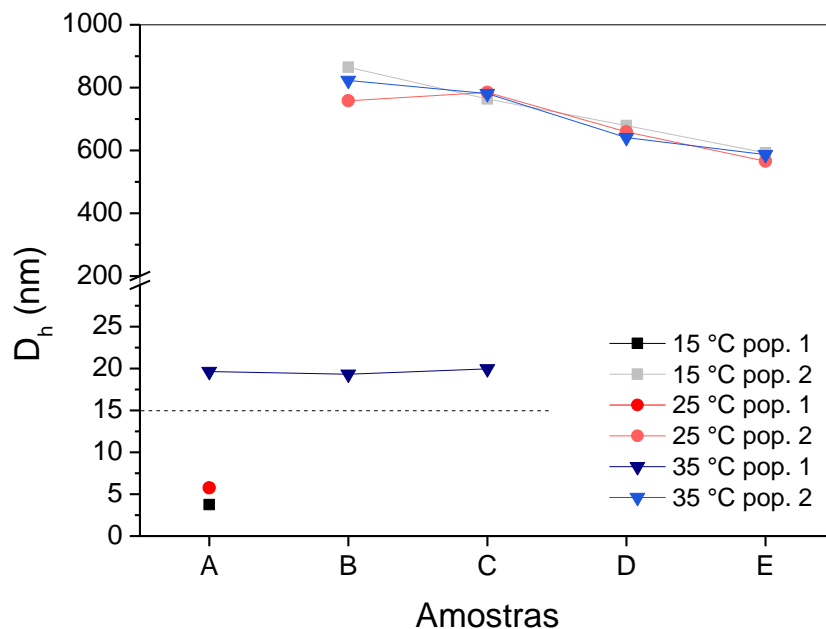
b)



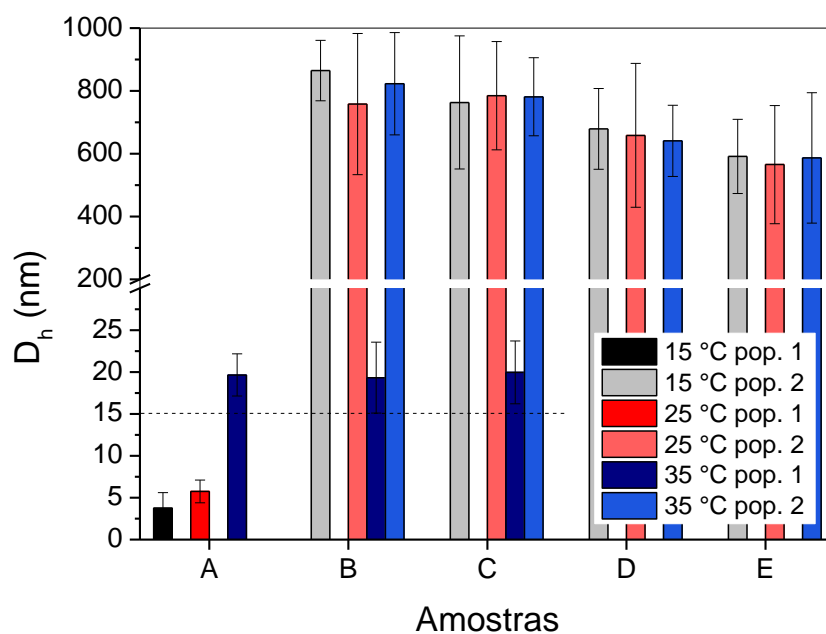
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 32 – Gráfico de D_h (a) e diagrama de barras de D_h (b) das estruturas nas amostras F127 1,2% (A), AM 1,2% + F127 1,2% F2 (B), AM 1,2% + F127 1,2% F3 (C), AM 1,2% A2 (D) e AM 1,2% A3 (E) em água, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C.

a)



b)



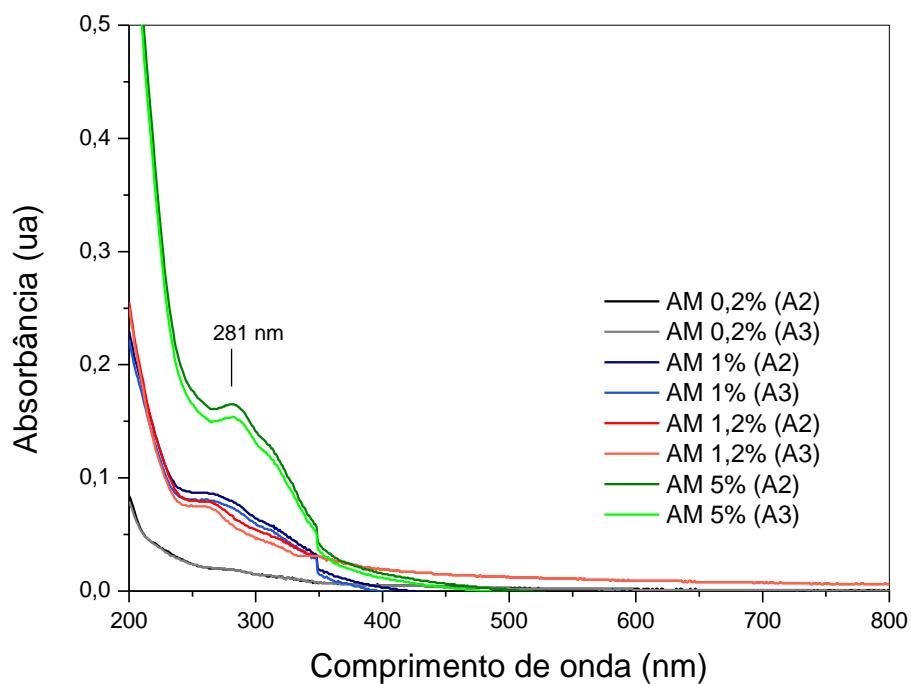
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Espectrofotometria UV-Vis

As Figuras 33 a 36 mostram os espectros de absorvância no UV-Vis das amostras em estudo. Na região do visível (800 a 400 nm), a absorvância das amostras é praticamente nula para todas as amostras. Este resultado era esperado, uma vez que as estruturas de AM e/ou F127 presentes nas amostras são formadas apenas por ligações simples, sem a presença de um grupo cromóforo (grupo covalente insaturado). Além disso, as amostras apresentaram pequeno sinal de espalhamento (próximo de zero).

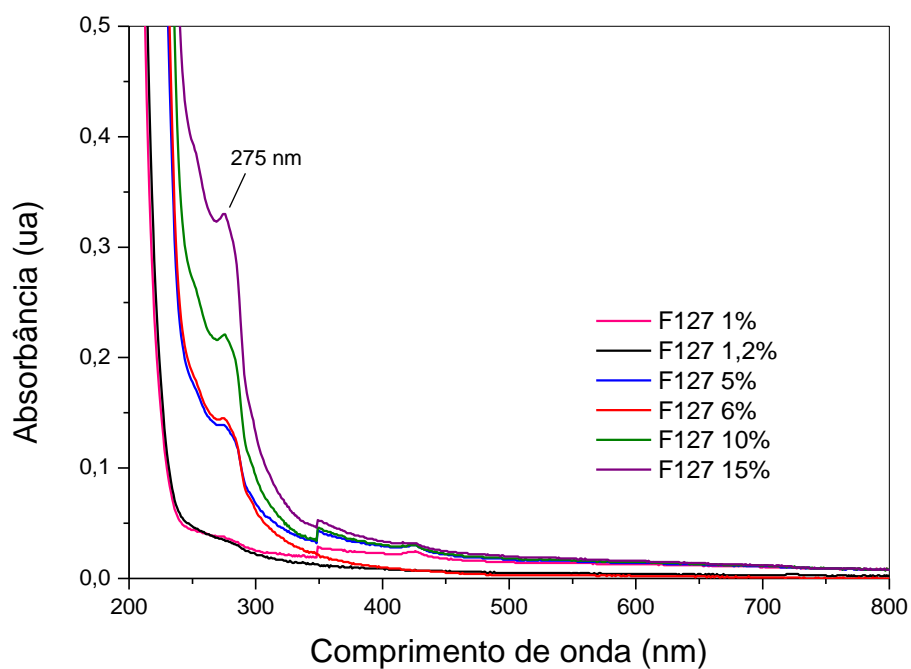
Na região do ultravioleta (entre 400 a 300 nm), a absorvância intensifica rapidamente para menores comprimentos de onda (λ) da radiação. Entre 300 e 250 nm, um máximo de absorvância de AM e F127 puros (Figuras 33 e 34) é observado em 281 nm e 275 nm, respectivamente nas maiores concentrações dos compostos. Estes máximos de absorvância podem estar relacionadas às transições eletrônicas de grupos OH das estruturas de AM e F127, que, caso sofram mudanças, podem ser atribuídas às ligações de H (PERKAMPUS, 1992). O fato das amostras de AM 5% (A2 e A3) terem apresentado uma banda de absorvância, com máximo em 281 nm, demonstra a presença de grânulos pequenos de amido e/ou amilose solúveis nas amostras. Ao comparar as amostras de F127 puras com as amostras de F127 + AM (F2 e F3), nas Figuras 35 e 36, nota-se um aumento de intensidade de absorvância nas amostras de F127 + AM, com maior intensidade em AM 1,2% + F127 1,2%. O aumento da intensidade da banda (com máximo em 275 nm) ocorre sem deslocamento de pico no comprimento de onda, tratando-se de um efeito hipercrômico (aumento da absorvância molar). Isto pode ter acontecido devido a ligações de grupos substituintes de AM nas moléculas de F127, ou por causa de alguma alteração na configuração dos orbitais moleculares do grupo CH₂ de F127, ocasionada pela presença de AM na solução (PAVIA *et al.*, 2015). Este aumento de intensidade evidencia uma possível interação entre as moléculas de F127 e AM nas concentrações apresentadas, sendo a banda com máximo em 275 nm mais evidente em concentrações mais elevadas do Plurônico (F127 6%), como mostra a Figura 35.

Figura 33 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras AM 0,2% (A2 e A3), AM 1% (A2 e A3), 1,2% (A2 e A3) e 5% (A2 e A3), obtidos a 25 °C.



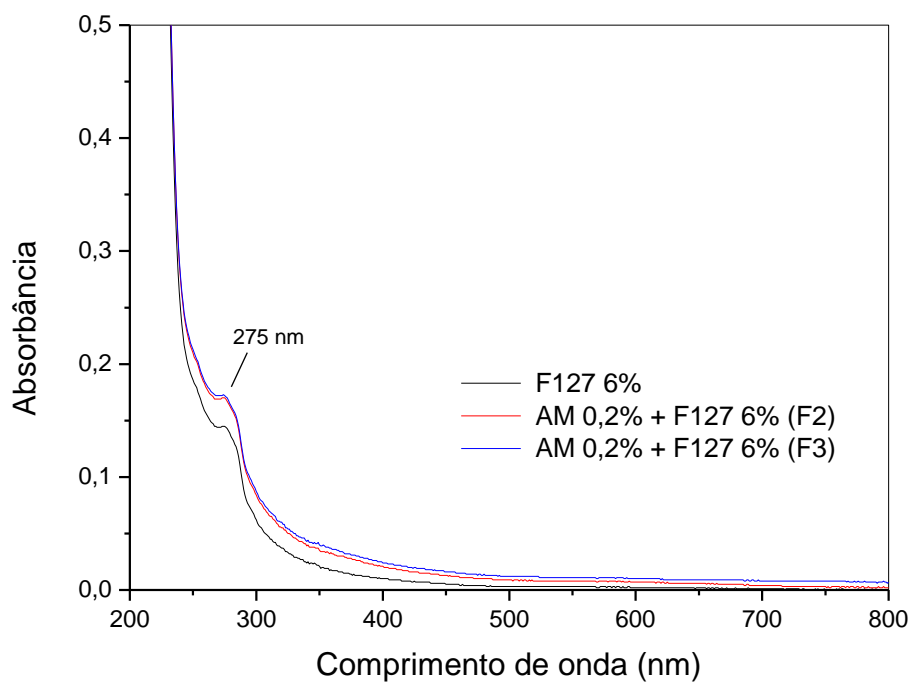
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 34 – Espectros de absorvância UV-Vis das amostras F127 1, 1,2, 5, 6, 10 e 15%.



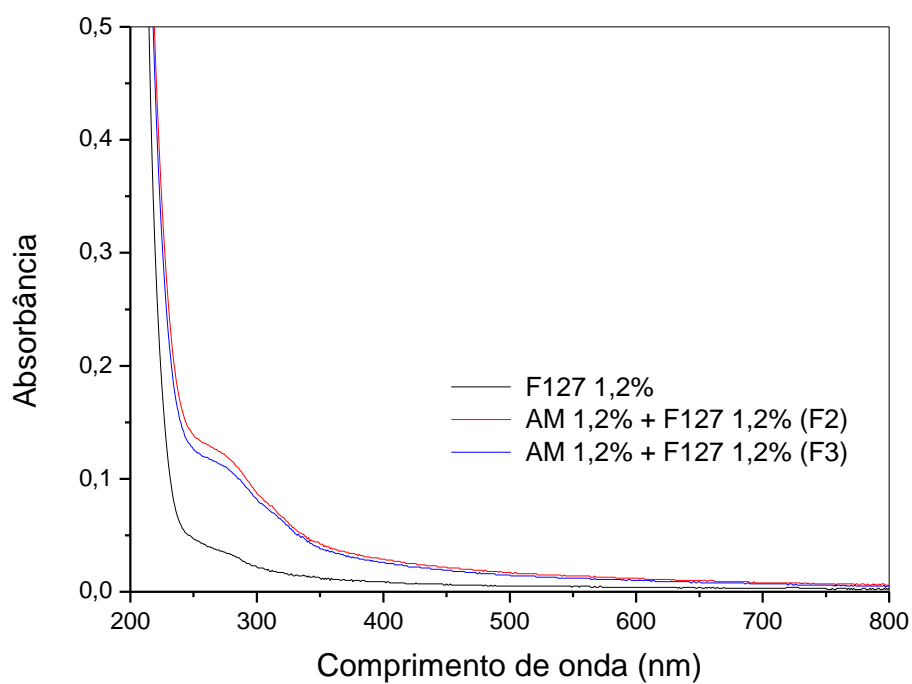
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 35 – Espectros de absorbância UV-Vis das amostras F127 6%, AM 0,2% + F127 6% (F2) e AM 0,2% + F127 6% (F3).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 36 – Espectros de absorbância UV-Vis das amostras F127 1,2%, AM 1,2% + F127 1,2% (F2) e AM 1,2% + F127 1,2% (F3).

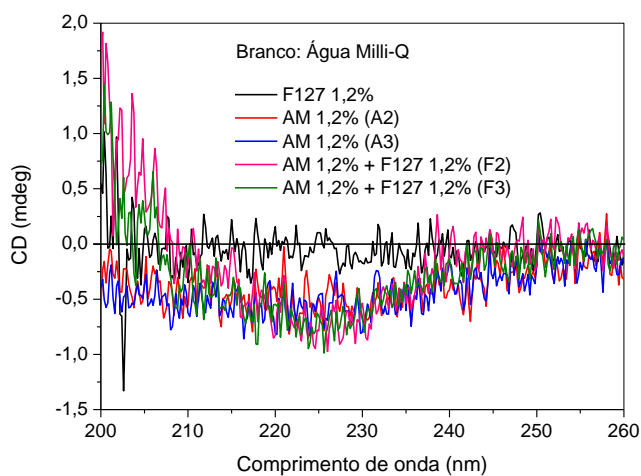


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Espectroscopia de CD

Os espectros de variação ótica das amostras de F127 1,2%, AM 1,2% (A2 e A3), e de AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3), obtidos pela espectroscopia de CD, são mostrados na Figura 37. O espectro de F127 1,2% é próximo de zero (mdeg) em praticamente todos os comprimentos de onda (λ), mostrando que a estrutura dos agregados (micelares ou pre-micelares) de F127 não possui variação ótica. As amostras de AM 1,2% (A2 e A3) possuem pequeno valor negativo de elipticidade, de aproximadamente -0,5 mdeg, para λ na faixa de 235 a 210 nm. Este valor pode indicar a presença de grânulos pequenos de AM ou amilose solúveis nas amostras, uma vez que os grânulos de amido contêm dois tipos de estruturas em hélice: amilose, em formato de hélice estendida (quando não complexada), e amilopectina, estruturada em duplas hélices. Os espectros das amostras de AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3) apresentam uma banda negativa para λ na faixa de 240 a 210 nm e valores positivos de elipticidade para λ na faixa de 210 a 200 nm. Este espectro é semelhante ao espectro da 2-hexanona complexada com amilose hidroxipropilada (WULFF; KUBIK, 1992). Estas variações óticas podem indicar possível formação de complexos entre AM e F127, muito provavelmente entre Amilose e monômeros de F127, formando a chamada V amilose. Estes espectros podem ser verificados com mais clareza na Figura 38a, obtidos por meio da subtração do espectro de referência, no caso, água Milli-Q, e os espectros da Figura 38b foram obtidos por meio da subtração do espectro de água Milli-Q + F127 1,2%. Ao comparar esses espectros, percebe-se que não há diferença significativa entre eles, pois F127, assim como a água, não apresenta variação ótica. Logo, ambas as referências podem ser usadas nestas análises.

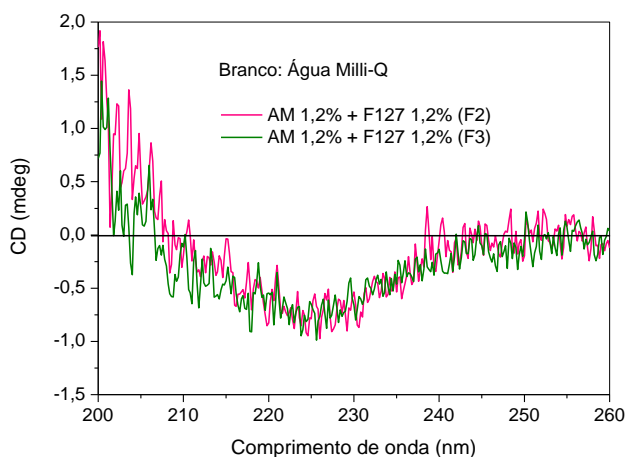
Figura 37 – Espectros de CD das amostras F127 1,2%, AM 1,2% (A2 e A3), AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3), usando como referência água Milli-Q, a 25 °C.



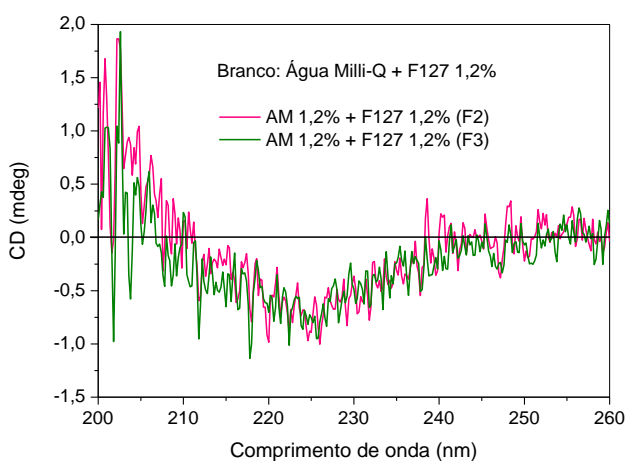
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 38 – Espectros de CD das amostras AM 1,2% + F127 1,2% (F2 e F3) usando como referência água Milli-Q (a) e água Milli-Q + F127 1,2% (b), a 25 °C.

a)



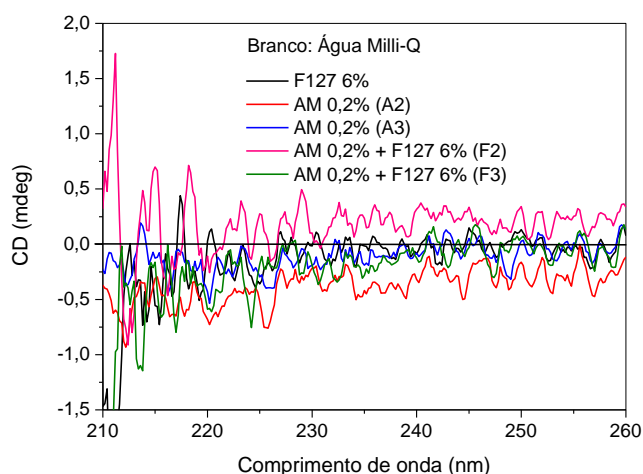
b)



Fonte: Elaborado pelo autor.

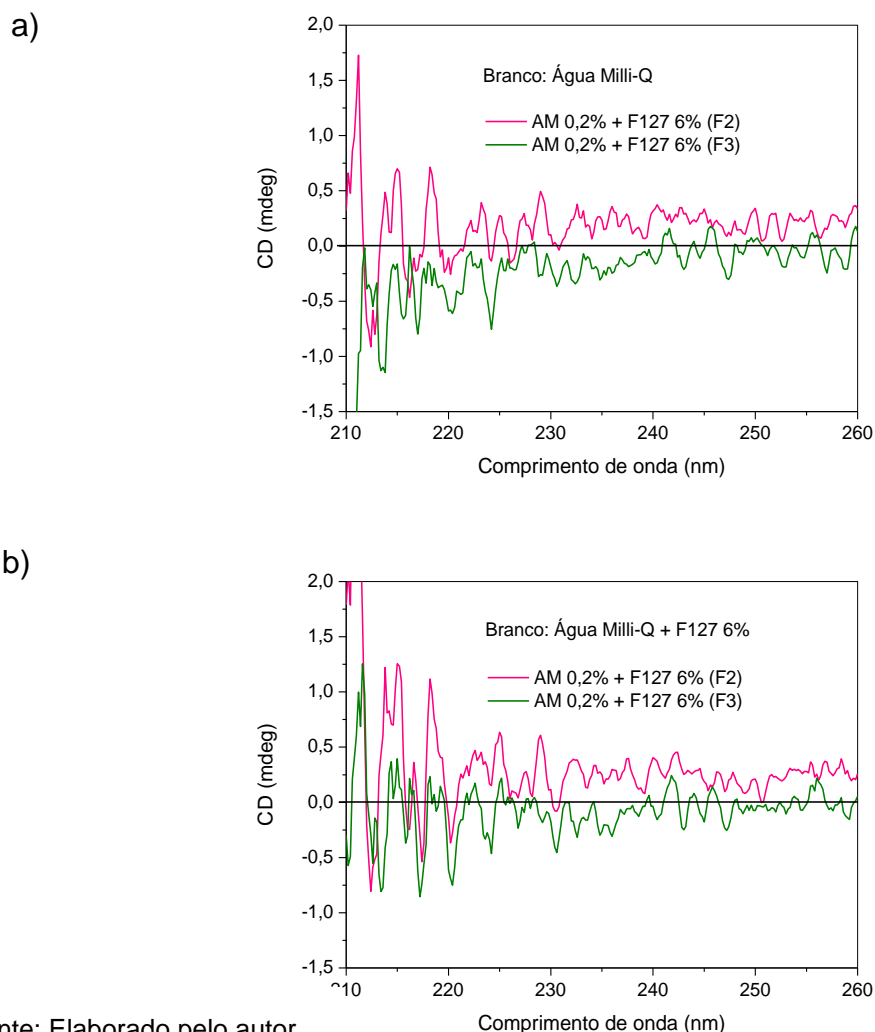
Na Figura 39 são mostrados os espectros de variação ótica das amostras F127 6%, AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3) e AM 0,2% (A2 e A3). A pequena porcentagem de AM (0,2%) e a maior porcentagem de F127 (6%) dificultaram as medidas de CD destas amostras. O amido ficou quase imperceptível nas soluções aquosas e a quantidade de F127 estourou a escala antes da varredura chegar no comprimento de 200 nm. Por isso, a varredura da análise de CD foi feita na faixa de comprimento de onda de 260 a 210 nm. A Figura 40a e 40b mostra os espectros das amostras AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3), modificando apenas o tipo de referência (água Milli-Q e água Milli-Q + F127 6%, respectivamente). Novamente, nenhuma diferença significativa é notada ao comparar os espectros com relação ao tipo de referência utilizada durante a análise.

Figura 39 – Espectros de CD das amostras F127 6%, AM 0,2% (A2 e A3), AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3), usando como referência água Milli-Q, a 25 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 40 – Espectros de CD das amostras AM 0,2% + F127 6% (F2 e F3) usando como referência água Milli-Q (a) e água Milli-Q + F127 6% (b), a 25 °C.



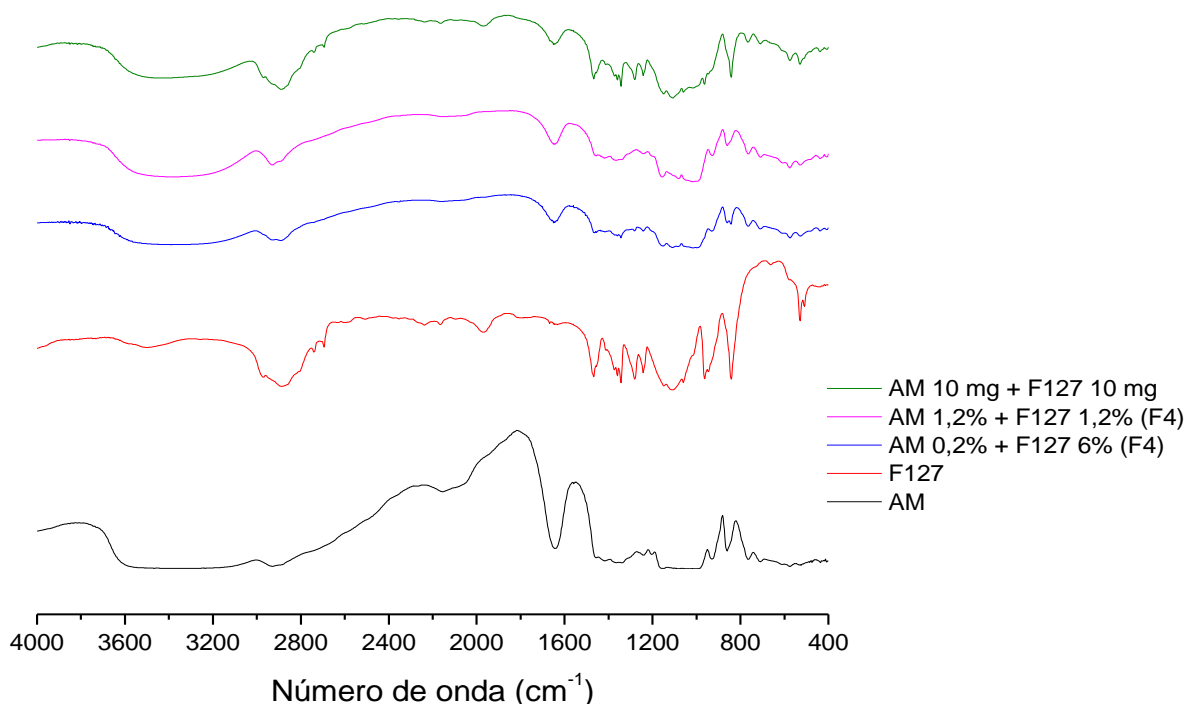
Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Espectrometria de FTIR

Os espectros de FTIR das amostras de AM e F127 sólidos, AM 0,2% + F127 6% (F4), AM 1,2% + F127 1,2% (F4), e AM 10 mg + F127 10 mg (sólido), no intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , são mostrados na Figura 41, onde as bandas dos espectros entre 3650 e 3000 cm^{-1} , referentes a vibrações de alongamento fortes do grupo OH, não são verificadas, pois as amostras continham umidade advinda de armazenamento ou do processamento do produto, como no caso de AM comercial (SCHRADER, 1995). Uma forma de contornar esse problema seria aumentar o tempo de secagem das amostras na estufa, ou, alternativamente, submeter a amostra a liofilização (desidratação por meio de congelamento sob vácuo), contudo, a exposição

das amostras a baixa temperatura e vácuo pode afetar as interações entre os compostos bem como a organização de suas estruturas.

Figura 41 – Espectros FTIR, no intervalo de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , das amostras AM, F127, AM 0,2% + F127 6% (F4), AM 1,2% + F127 1,2% (F4), e AM 10 mg + F127 10 mg.



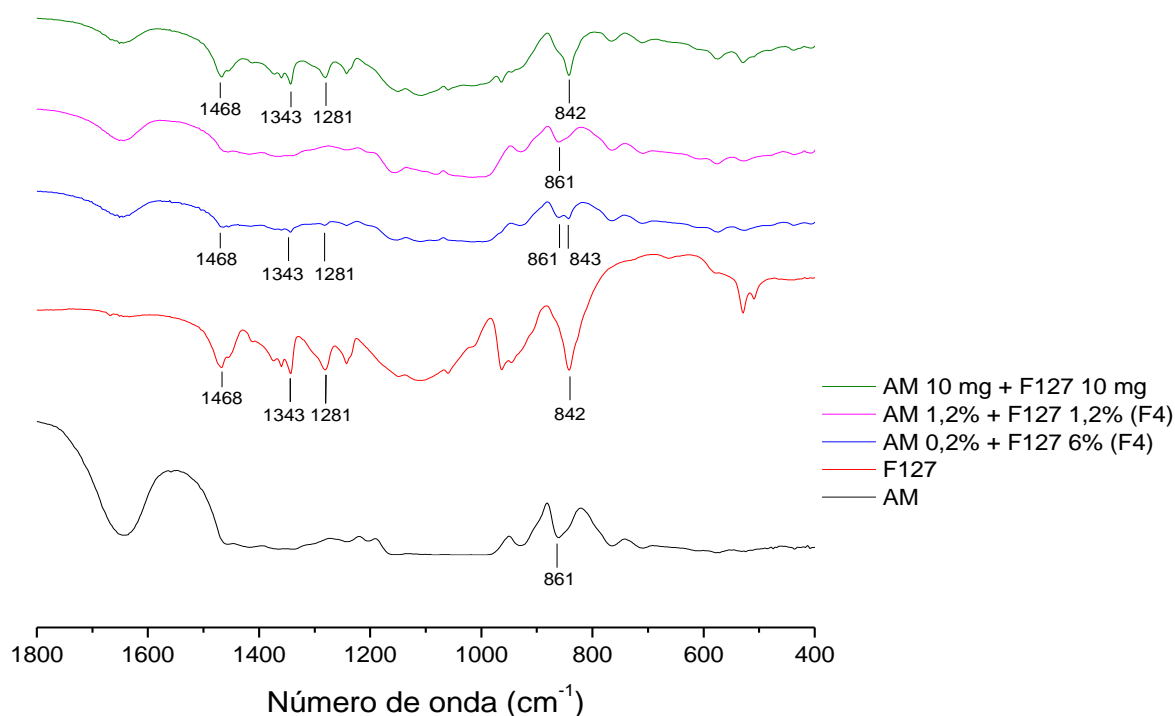
Fonte: Elaborado pelo autor.

Bandas mais definidas de F127 e AM sólidos aparecem na região entre 1800 e 400 cm^{-1} do espectro FTIR. Na Figura 42 estas bandas ficam mais evidentes devido à ampliação da imagem, facilitando a análise das mesmas. As bandas com picos em 1468 cm^{-1} são de vibração de flexão do grupo CH_2 e as bandas com picos em 1343 e 1281 cm^{-1} estão relacionadas às deformações angulares deste mesmo grupo e são consideradas assinaturas de F127 (SCHRADER, 1995; SU; WANG; LIU, 2002). Analisando essas bandas, nota-se que apenas as amostras de F127, AM 0,2% + F127 6% (F4) e AM 10 mg + F127 10 mg apresentam deformações nestas regiões, pois elas contêm quantidade razoável do Plurônico. Isso mostra que existe certa quantidade de F127 junto ao amido precipitado na amostra de AM 0,2% + F127 6% (F4). Entretanto, não é possível saber em detalhes se F127 monomérico ou micelar

encontra-se do lado de fora, do lado de dentro, ou em ambas as regiões dos grânulos de amido.

A banda com pico em 861 cm^{-1} é típica da vibração simétrica fraca do grupo C–O–C, presente na estrutura de AM (SCHRADER, 1995). Esta mesma banda é verificada, com menor intensidade, nas amostras de AM 0,2% + F127 6% (F4) e AM 1,2 % + F127 1,2% (F4). Ela provavelmente não apareceu na amostra AM 10 mg + F127 10 mg, porque foi sobreposta pela banda com pico em 842 cm^{-1} de F127, relacionada ao grupo CH_2 de regiões mais rígidas. A amostra contendo AM 0,2% + F127 6% apresentou uma banda com pico em 843 cm^{-1} , ou seja, o pico em 842 cm^{-1} de F127 sofreu um pequeno deslocamento, entretanto, não é significativo, pois está dentro do erro de medida (2%), conforme o manual do equipamento.

Figura 42 – Detalhe do espectro FTIR, no intervalo de número de onda de $1800\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$, das amostras de AM, F127, AM 0,2% + F127 6% (F4), AM 1,2% + F127 1,2% (F4), e AM 10 mg + F127 10 mg.

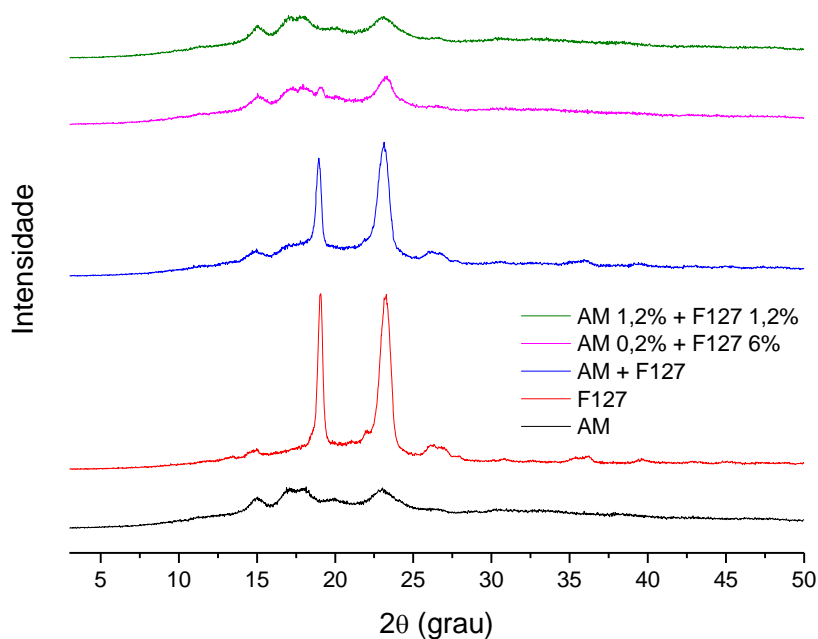


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Difractometria de raios-X

Difratogramas de raios-X das amostras de AM, F127 e AM + F127 sólidos, AM 0,2% + F127 6% (F4) e AM 1,2% + F127 1,2% (F4) são mostrados na Figura 43. De acordo com esta figura, o difratograma da amostra sólida de AM + F127 se comporta de maneira semelhante ao difratograma de F127 sólido, enquanto que o difratograma da amostra contendo AM 1,2% + F127 1,2% (F4) se comporta como o difratograma de AM sólido. Ao comparar os valores de 2θ , com intensidades de absorbância significativas, obtidos no difratograma de AM sólido com os valores de 2θ do difratograma de raio X, padrão A, do amido de feijão massacar (SALGADO *et al.*, 2005) ou com os valores tabelados de 2θ de amido de milho (BABU; PARIMALAV'ALLI, 2014) é possível confirmar que o AM comercial apresenta o padrão de cristalinidade tipo A, e que a presença de picos com maior intensidade nas misturas de AM e F127 podem indicar mudanças estruturais no AM ou interações entre eles.

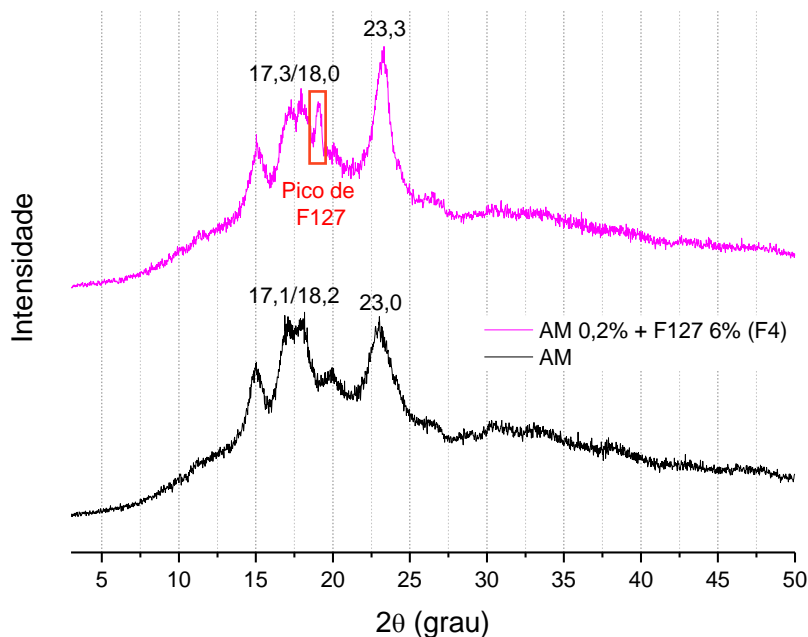
Figura 43 – Difratogramas de raios-X das amostras de AM, F127 e AM + F127 sólidos, e de AM 0,2% + F127 6% (F4) e AM 1,2% + F127 1,2% (F4).



Fonte: Elaborado pelo autor.

O difratograma de AM 0,2% + F127 6% (F4) contém bandas características de AM e de F127 (Figura 44), indicando que a fração dos componentes determina o tipo ou estrutura de agregado formado. A presença de uma banda de F127 (com pico em aproximadamente 19°) no difratograma da amostra de AM 0,2% + F127 6% (F4) indica que existe F127 no precipitado da amostra. Porém, assim como nos resultados de espectrometria de FTIR, não é possível identificar se F127 monomérico ou micelar se encontra no lado de fora, de dentro, ou em ambos os lados dos grânulos de amido. Picos do difratograma de AM sofreram pequenos deslocamentos no difratograma da amostra AM 0,2% + F127 6% (F4). Contudo, estes deslocamentos não são significativos, pois estão dentro do erro experimental (2%) do equipamento, de acordo com o manual. O aumento de intensidade da banda com pico em 23 graus sugere mudança estrutural do AM e/ou, novamente, a presença de F127 junto com AM, pois F127 também apresenta uma banda com um pico em aproximadamente 23 graus. Entretanto, sem saber a concentração exata dos componentes nas amostras, não é possível verificar tais afirmações.

Figura 44 – Difratogramas de raios-X das amostras AM sólido e de AM 0,2% + F127 6% (F4).

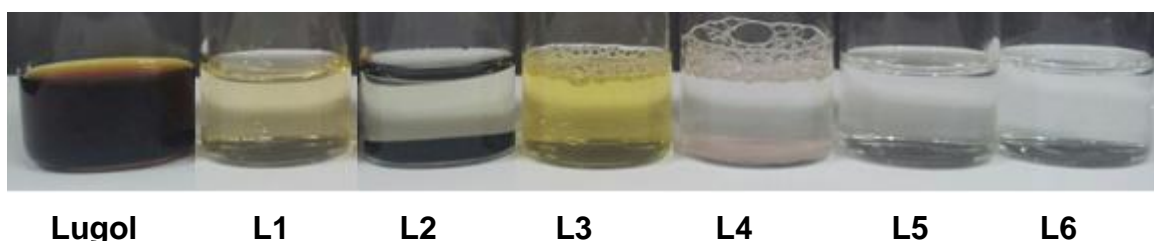


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.6 Teste com Lugol

Teste visual da ação do iodo, em soluções aquosas de F127 (na ausência e na presença de AM), pode ser verificado na Figura 45.

Figura 45 – Imagens de amostras contendo lugol em água (Ref.), em amostra de água (L1), em AM 0,05% (A1) (L2) e em amostras de F127 1,2%, na ausência (L3) e na presença de AM 0,05%, amostras F1, F2 e F3 (L4 e L5, L6).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A amostra referência (Ref.) apresenta cor “vermelho-amarelado”, natural do lugol. L1 (água/lugol diluído) resultou na cor amarelo-claro. A amostra L2, apresentou coloração azul escura no AM precipitado, mas não apresentou coloração no sobrenadante, indicando interação apenas com o precipitado. Provavelmente a interação não foi perceptível na suspensão devido à pequena quantidade de AM dissolvido na solução. A cor azul escura é obtida quando íons tri-iodetos interagem com as hélices de amilose formando o complexo amilose/iodeto. L3 apresentou a cor amarelo intenso. Hipoteticamente, a tonalidade mais acentuada se deve à presença das hidroxilas de poli(óxido de etileno) presentes em F127 que interagem com moléculas de água, diminuindo a interação do iodo com a água. A amostra L4, contendo F127 1,2% + AM 0,05% (F1) em água, a princípio apresentou coloração vermelho-púrpura claro no precipitado, sugerindo pequena interação de iodo com as cadeias de amilopectina. As interações de amilopectina com iodo são menos recorrentes e resultam na cor vermelho-púrpura (SHEN *et al.*, 2013). Entretanto, a amostra L4 ficou transparente no dia seguinte, indicando uma rápida e fraca interação entre os compostos. As amostras L5 e L6 permaneceram sem cor. A ausência de cor nas amostras L4, L5 e L6 se deve, provavelmente, ao fato do iodo ter se ligado ao complexo F127-AM ou a uma suposta estrutura de F127 modificada pela interação com amido, descartando, assim, a interação direta iodo-amido. Analisando o tamanho das estruturas de F127 e de AM, é possível prever uma interação dos monômeros de

F127 com a hélice da amilose, que podem ter ocupado o sítio de ligação do iodo. Outra possibilidade seria o impedimento da passagem do iodo pelos canais do grânulo de AM, que estariam “preenchidos” por monômeros de F127.

5.7 Teste gravimétrico de AM

A fim de verificar se pequenos grânulos de amido são solúveis em água a 25 °C, foram feitas as pesagens das amostras S1, S2, S1 seco e S2 seco. As massas obtidas das amostras de AM 5 e 10% podem ser verificadas na Tabela 9. As amostras foram feitas em duplicatas, para verificação dos resultados.

Tabela 9 – Massas (em g) dos frascos de S1, S2, S1 seco e S2 seco e de seus conteúdos (água e/ou AM).

Massa	AM 5% S1	AM 5% S1 repetição	AM 10% S1	AM 10% S1 repetição
Água	15,0031	15,0200	15,0050	15,0084
AM	0,7899	0,7897	1,6664	1,6667
S1 ¹	5,7274	5,7723	6,6305	6,6320
S1 seco ²	0,7651	0,7679	1,6212	1,6221
AM “coletado ou perdido” ³	0,0248	0,0218	0,0452	0,0446
Massa	5% AM S2	5% AM S2 repetição.	10% AM S2	10% AM S2 repetição.
S2 ⁴	10,0280	10,0217	10,0181	10,0179
S2 seco ⁵	0,0000	0,0005	0,0003	0,0002

¹Massa de água mais massa de AM menos S2 menos perdas durante o preparo.

²Massa de AM de S1 após secagem.

³Massa de AM menos S1 seco.

⁴Massa de ~10 mL de sorenadante.

⁵Massa de AM de S2 após secagem.

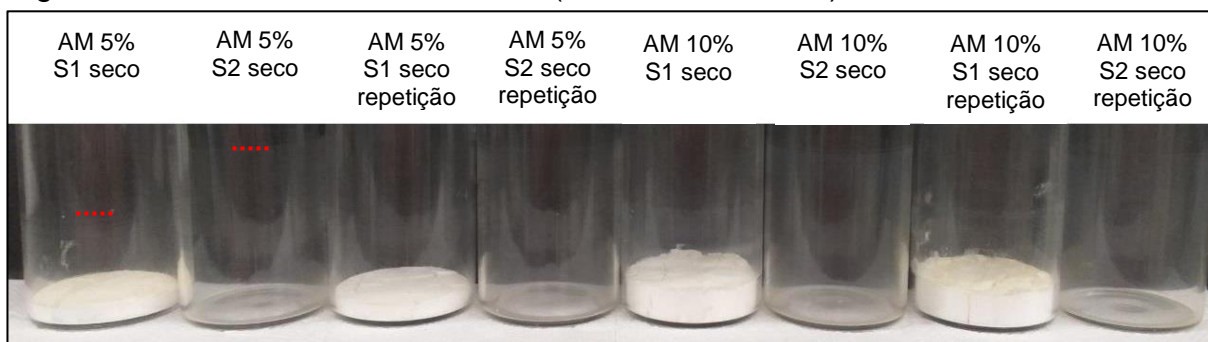
Fonte: Elaborado pelo autor.

Analisando os valores obtidos na Tabela 9, nota-se nos dados destacados em amarelo claro, que a quantidade de AM “coletada ou perdida” de todas as amostras S1 foram significativas. Portanto, esperava-se que quantidades significativas de massas de AM fossem pesadas nas amostras de S2 seco. Contudo, as quantidades

de massas pesadas não foram significativas (de 0,0000 a 0,0005 g). Uma possível explicação para este fato seria o AM seco ter sido “arrastado” para fora dos frascos durante a secagem. Por se tratar de grânulos muito pequenos e leves, a ventilação da estufa pode ter removido os mesmos de dentro dos frascos. Durante a secagem, quando havia pouca água em S2, notou-se que a água estava levemente esbranquiçada, evidência de AM em S2. Perdas de massa de água e/ou AM ocorreram durante o preparo de S2. Porém, não é possível saber se tais perdas são de massa de água, de AM ou de ambos. Tudo indica que há pequenos grânulos de AM ou amilose solúveis em água a 25 °C. Contudo, outras análises de quantificação dessas massas se fazem necessárias.

Os frascos contendo as amostras S1 seco e S2 seco (AM 5 e 10%) podem ser vistos na Figura 46. Os pontilhados em vermelho mostram a marcação da solução de AM em água antes das amostras serem colocados na estufa. Todos os S1 secos possuem as mesmas marcações, assim como os S2 secos. Abaixo da marcação, os frascos ficam esbranquiçados, evidenciando a presença de AM nos mesmos. A Figura 47 mostra mais claramente o vidro da amostra de AM 10% S2 seco esbranquiçado.

Figura 46 – Amostras de AM 5 e 10% (S1 seco e S2 seco).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 47 – Vidro da amostra de AM 10% S2 seco esbranquiçado

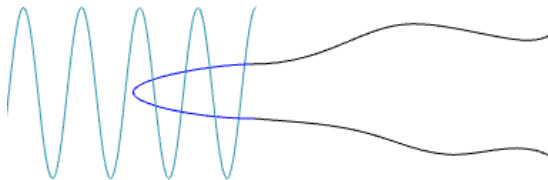


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.8 Interação de F127-AM em solução aquosa

Através da combinação de resultados obtidos, sugerem-se dois tipos de interação entre F127-AM. A primeira interação ocorre através da complexação de amilose com monômeros de F127, conforme esquema da Figura 48. Os blocos hidrofóbicos (PO), parte azul do monômero de F127, posicionam-se dentro da hélice da amilose e os blocos hidrofílicos, parte preta do monômero, projetam-se para fora da hélice, gerando a configuração V-amilose (quando a amilose está complexada com lipídeos). Resultados preliminares de simulação por dinâmica molecular confirmam esta afirmação.² O complexo amilose-monômero seria formado por meio do efeito hidrofóbico e pelas ligações de hidrogênio e estaria presente tanto no sobrenadante, quanto no precipitado das amostras (nesse caso, dentro do grânulo).

Figura 48 – Esquema do complexo entre um fragmento de Amilose e um monômero de F127.

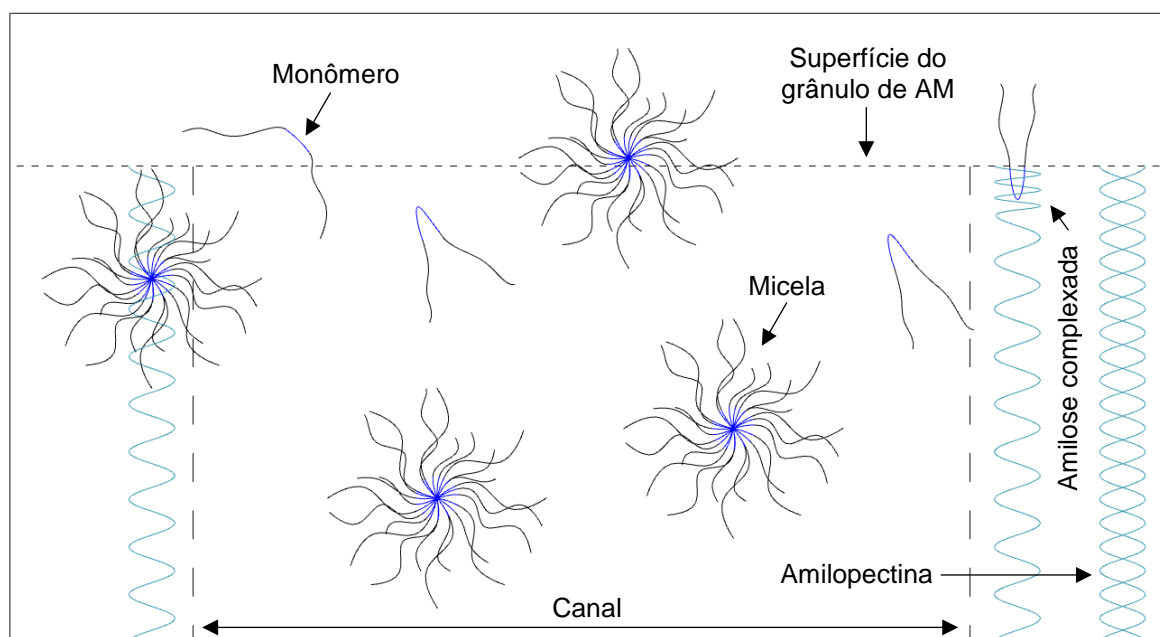


Fonte: Elaborado pelo autor.

² Trabalho em andamento em colaboração com Raphael V. R. Dias, doutorando do grupo de Física Biológica Computacional do Dr. Leandro C. de Oliveira.

A outra interação ocorre entre os grânulos de AM e os monômeros e micelas de F127 (Figura 49). Dependendo do tamanho do diâmetro dos canais dos grânulos, as micelas e os monômeros de F127 seriam adsorvidos na superfície do grânulo e na superfície de seus canais pelo processo de adsorção física, interagindo externamente com as estruturas de amilose e, mais dificilmente, com as estruturas de amilopectina para formação de complexos. A adsorção das estruturas de F127 na superfície do adsorvente (grânulo de AM) ocorre através de forças de van der Waals, consideradas como forças fracas e de longo alcance (SOBRINHO *et al.*, 2015). Entretanto, outras análises são necessárias para compreender a adsorção destas estruturas pelo grânulo de AM.

Figura 49 – Esquema de adsorção e complexação de micelas ($D_h \approx 35$ nm) e monômeros ($D_h \approx 2$ nm) de F127 em grânulo de amido (com canal de diâmetro de ≈ 100 nm). No esquema, apenas uma parte do grânulo de AM está representada. Os tracejados em preto foram inseridos na figura para delimitar as áreas do grânulo de AM e facilitar a compreensão do esquema.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6 CONCLUSÃO

Utilizando várias técnicas experimentais foi possível mostrar, neste trabalho, que, ao contrário do que se afirma na literatura (BERTOLINI, 2010), AM é parcialmente solúvel em água, e que F127 adicionado forma complexos moleculares com AM, aumentando, de forma discreta, a solubilização de AM em água.

Os resultados apresentados mostraram que tanto o precipitado quanto o sobrenadante das amostras de F127-AM sofreram alterações, evidenciando dois tipos de interação: complexo entre amilose e monômero de F127 e adsorção física de monômeros e micelas de F127 pelos grânulos de AM.

A presença de grânulos de AM em solução aquosa de F127 não alterou significativamente o tamanho das estruturas de F127 e as estruturas de AM não foram alteradas na presença das estruturas de F127. Entretanto, a variação de temperatura (15 a 35 °C) modificou as estruturas de F127 formadas (monômeros e micelas) e, conseqüentemente, influenciou no tipo e tamanho de complexos formados na presença de AM (sem e com precipitados).

A interação entre agregados pré-micelares e AM foi considerada a mais indicada para solubilização de AM em solução aquosa a 25 °C. Solubilização de amilose e/ou pequenos grânulos de AM em solução aquosa de F127 poderão servir como alternativa para modificação química de AM em indústrias químicas e de alimentos e diminuição de sua aglomeração em misturas aquosas preparadas a 25 °C. Os complexos de AM-F127 formados poderão também ser usados como carreadores de fármacos ou de nutrientes, essências e compostos funcionais, para fins farmacêutico, nutricional, funcional ou estético. Entretanto, mais estudos devem ser realizados para comprovação dos mesmos.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRIDIS, P.; HATTON, T. A. Poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) block copolymer surfactants in aqueous solutions and at interfaces: thermodynamics, structure, dynamics, and modeling. **Colloids Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 96, p. 1-46, 1995.
- ALEXANDRIDIS, P.; HOLZWARTH, J. F.; HATTON, T. A. Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. **Macromolecules**, v. 27, n. 9, p. 2414-2425, 1994.
- AMIDO: Fontes, tipos e propriedades. **Aditivos e Ingredientes**, São Paulo, n. 98, p. 34-43, 2013. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/busca-geral/AMIDO:%20Fontes,%20tipos%20e%20propriedades>. Acesso em: 07 mar. 2018.
- BABU, A. S.; PARIMALAVALLI, R. Effect of starch isolation method on properties of sweet potato starch. **Food Technology**, v. 38, n. 1, p. 48-63, 2014.
- BASAK, R.; BANDYOPADHYAY, R. Encapsulation of Hydrophobic Drugs in Pluronic F127 Micelles: Effects of Drug Hydrophobicity, Solution Temperature, and pH. **Langmuir**, v. 29, p. 4350-4356, 2013.
- BATRAKOVA, E. V. *et al.* Optimal Structure Requirements for Pluronic Block Copolymers in Modifying P-glycoprotein Drug Efflux Transporter Activity in Bovine Brain Microvessel Endothelial Cells. **The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics**, v. 304, n. 2, p. 845-854, 2003.
- BERTOLINI, A. C. **Starch**: characterization, properties, and applications. Boca Raton: CRC Press, 2010. Cap. 3.
- BILIADERIS, C. G.; GALLOWAY, G. Crystallization behavior of amylose-v complexes: structure-property relationships. **Carbohydrate Research**, v. 189, p. 31-48, 1989.
- BOOTH, C.; ATTWOOD, D. Effects of block architecture and composition on the association properties of poly(oxyalkylene) copolymers in aqueous solution. **Macromolecular Rapid Communications**, v. 21, p. 501-527, 2000.
- BRANDT, K. G.; ANTUNES, M. M. C; SILVA, G. A. P. Diarreia aguda: manejo baseado em evidências. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 6, 2015.
- CABRINI, F. M. **Hidrogéis de poli(N-isopropilacrilamida-co-ácido acrílico) modificados com Pluronic F127 para liberação tópica de óxido nítrico**. 2018 Dissertação (mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2018.

CARMO, K. P.; PAIVA, J. M. F. Filmes Biodegradáveis de Amido e Composições com Outros Materiais. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, 2015. Disponível em: <http://rvq.sbgq.org.br/imagebank/pdf/v7n6a31.pdf>. Acesso em: 22 mai. 2019.

CAROLEI, L. **Determinação de surfactantes e água em formulações de sabonetes líquidos e shampoos por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) utilizando a técnica de reflectância total atenuada (ATR)**. 2005. Tese (doutorado em Química) – Universidade de São Paulo, Instituto de Química, 2005.

CASTRO, A. D. *et al.* Efeito da concentração do amido de milho na liberação de paracetamol de comprimidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 39, n. 3, jul./set., 2003.

CORREIA, J. J.; DETRICH, H. W. **Biophysical Tools for Biologists: In Vitro Techniques**. Academic Press, 2008. V. 84.

CUI, I. *et al.* Starch granule size distribution and morphogenesis in maize (*Zea mays* L.) grains with diferente endosperm types. **Australian Journal of Crop Science, AJCS**, v. 8, n. 11, p. 1560-1565, 2014.

CUI, S. *et al.* Physicochemical properties of maize and sweet potato starches in the presence of cellulose nanocrystals. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 220-227, 2018.

CULLITY, B. D. **Elements of x-ray diffraction**. 2^a ed. Reading, MA: Addison-Wesley, 1978.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, mai./jun., 2009.

ELIASSON, A. C. **Starch in food: Structure, function and applications**. Abington Hall: Woodhead Publishing, 2004.

ENCAPSULAÇÃO. **Cosméticos & Perfumes**. V. VI, n. 38, 2005. Disponível em: http://insumos.com.br/cosmeticoseperfumes/pdf/encapsulamento_n%2038.pdf. Acesso em: 02 out. 2018.

FARTH, L. H. A.; BATISTA, P. D. Montagem de um sistema optoeletrônico para medida da rotação do plano de polarização da luz. CBPF. **Notas Técnicas**, v. 8, n. 2, p. 36-42, 2018.

FANTA, G. F.; CHRISTIANSON, D. D. Starch-hydrocolloid composites prepared by steam jet cooking. **Food Hydrocolloids**, v. 10, n. 2, p. 173-178, 1996.

FANTINI, L. Complexo azul escuro. 2012. Disponível em: <http://mecdb3.c3sl.ufpr.br:8080/xmlui/handle/123456789/13006?show=full>. Acesso em: 10 de jul. de 2019.

FERNANDES, S. F. **Desenvolvimento de processo alternativo para fabricação de materiais cerâmicos envolvendo as técnicas de conformação por consolidação com amido e colagem**. 2008. 142 f. Tese (doutorado em Engenharia

Mecânica) – Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2008.

FERRÉ-D'AMARÉ, A. R.; BURLEY, S. K. Use of dynamic light scattering to assess crystallizability of macromolecules and macromolecular assemblies. **Structure**, v. 2, n. 5, p. 357-359. 1994.

Federação das Indústrias do estado de São Paulo (FIESP). Boletim Informativo. Safra Mundial de Milho 2018/19 – 11º levantamento do USDA. Março de 2019. Disponível em: <https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>. Acesso em: 03 mai. 2019.

GALLANT, D.J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, p. 177-191, 1997.

GALLANT, D. J. *et al.* Physical characteristics of starch granules and susceptibility to enzymatic degradation. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 46, p. S3-S16, 1992.

GAO, Q. *et al.* Synthesis and characterization of novel amphiphilic copolymer stearic acid-coupled F127 nanoparticles for nano-technology based drug delivery system. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88, p. 741-748, 2011.

GARCÉS, F. A. *et al.* Structural Analysis of ZnO(:Al,Mg) Thin Films by X-ray Diffraction. **Procedia Materials Science**, v. 8, p. 551-560, 2015.

GIULIANO, E. *et al.* Mucosal Applications of Poloxamer 407-Based Hydrogels: An Overview. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, 2018.

GODDARD, E. D.; ANANTHAPADMANABHAN, K. P. **Interaction of surfactants with Polymers and Proteins**. Boca Raton: CRC Press, 1993.

GOMEZ-ALDAPA, C. A. *et al.* Influencia de la L- α -lisofosfatidil colina sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón de maíz Influence of L- α -lisophosphatidylcholine on thermal and structural properties of corn starch. **CyTA – Journal of Food**, v.7, n. 1, p. 37-43, 2009.

HOOD, L. F. Current concepts of starch structure. **Food Carbohydrates**, p. 217-269, 1982.

HOWARD, A. G. **Sussurros do País das Maravilhas**. Tradução: Paulo Polzonoff Junior. Ribeirão Preto: Novo Conceito, 2017.

HUBER, K. C.; BEMILLER, J. N. Channels of maize and sorghum starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 41, p. 269-276, 2000.

JANSSEN, L. P. B. M.; MOSCICKI, L. **Thermoplastic Starch: A Green Material for Various Industries**. Weinheim: WILEY-VCH, 2009.

- JONHEAD, A.; JÄRNSTRÖM, L. The Interaction Between Surfactants and 2-Hydroxy-3-(N,N-dimethyl-N-dodecylammonium)-propyloxy Starches. **Starch/Stärke**, v. 58, p. 561-571, 2006.
- KABANOV, A. V.; BATRAKOVA, E. V.; ALAKHOV, V.Y. Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 82, p. 189-212, 2002.
- KARKALAS, J.; RAPHAELIDES, S. Quantitative aspects of amylose-lipid interactions. **Carbohydrate Research**, v. 157, p. 215-234, 1986.
- KHAN, Z. Encapsulation of silver nanoparticles into the helix of water soluble starch and their sensing properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 165-176, 2019.
- KNOLL, M. S. G. *et al.* Simultaneous study of molecular and micelle diffusion in a technical microemulsion system by dynamic light scattering. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 544, p. 144-154, 2019.
- KWAK, J. C. T. **Polymer-surfactant systems**. New York: Marcel Dekker, 1998. Surfactant Science series, v. 77.
- LI, Z. *et al.* Improving the performance of starch-based wood adhesive by using sodium dodecyl sulfate. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 579-583, 2014.
- LU, J.; LUO, Z.; XIAO, Z. Effect of lysine and glycine on pasting and rheological properties of maize starch. **Food Research International**, v. 49, p. 612-617, 2012.
- LU, X. *et al.* Exploration of photophysical and photochemical properties of Zinc phthalocyanine-loaded SDC/TPGS mixed micelles. **Chemical Physics Letters**, v. 735, 2019.
- LOBO, A. R.; SILVA, G. M. L. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, abr.-jun. 2003.
- LÓPEZ, C. A.; VRIES, A. H.; MARRINK, S. J. Amylose folding under the influence of lipids. **Carbohydrate Research**, v. 364, p. 1-7, 2012.
- MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 87-93, 2001.
- NAGARAJAN, R.; GANESH, K. Comparison of Solubilization of Hydrocarbons in (PEO-PPO) Diblock versus (PEO-PPO-PEO) Triblock Copolymer Micelles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 184, p. 489-499, 1996.
- NAGARAJAN, R. Solubilization of hydrocarbons and resulting aggregatemshape transitions in aqueous solutions of Pluronic® (PEO-PPO-PEO) block copolymers. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 16, p. 55-72, 1999.
- NIKUNI, Z. Studies on starch granules. **Starch/Stärke**, v. 30, p. 105-111, 1978.

OH, S. H.; KANG, J. G.; LEE, J. H. Co-micellized Pluronic mixture with thermo-sensitivity and residence stability as an injectable tissue adhesion barrier hydrogel. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 106 B, p. 172-182, 2018.

PASCOAL, A. M. **Extração e caracterização do amido de lobeira (*Solanum lycocarpum*)**. 2014. Tese (doutorado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás, 2014.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. Tradução: Paulo Sérgio Santos. 2ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2015.

PERKAMPUS, H.-H. **UV-VIS Spectroscopy and its Applications**. Springer Verlag, 1992, p. 142-149.

PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003. 118 f. Dissertação (mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2003.

PETKOVA-OLSSON, Y. *et al.* Temperature effect on the complex formation between Pluronic F127 and starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 166, p. 264-270, 2017.

PIMENTEL, G. C.; MCCLELLAN, A. L. Hydrogen Bonding. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 22, p. 347-385, 1971.

PITTO-BARRY, A; BARRY, N. P. E. Pluronic® block-copolymers in medicine: from chemical and biological versatility to rationalisation and clinical advances. **Polymer Chemistry**, v. 5, n. 10, p. 3291-3297, 2014.

PUTSEYS, J. A.; LAMBERTS, L.; DELCOUR, J. A. Amylose-inclusion complexes: Formation, identity and physico-chemical properties. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 238-247, 2010.

QI, X.; TESTER, R. F. Starch granules as active guest molecules or microorganism delivery systems. **Food Chemistry**, v. 271, p. 182-186, 2019.

QI, X.; TESTER, R. F. Starch containing formulations for diarrhoea therapy. **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 28, p. 36-40, 2018.

RAGHUPATHY, P. *et al.* Amylase-Resistant Starch as Adjunct to Oral Rehydration Therapy in Children with Diarrhea. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 42, p. 362-368, 2006.

RODRIGUES, D.; CHAGAS, R.; AGUIAR, F. E. C. Importância da qualidade do adesivo na produção de papelão corrugado. **O Papel**, p. 59-61, abr., 2014.

RODGER, A.; NORDÉN, B. **Circular Dichroism & Linear Dichroism**. New York: Oxford University Press, 1997.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M.E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6^a ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

RUEL-GARIÉPY, E.; LEROUX, J.-C. In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 409-426, 2004.

SADEGHI, M. *et al.* Leucine-grafted starch as a new superdisintegrant for the formulation of domperidone tablets. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 50, p. 136-144, 2019.

SALAY, L. C. *et al.* Molecular interactions between Pluronic F127 and the peptide tritrypticin in aqueous solution. **Colloid and Polymer Science**, v. 296, p. 809-817, 2018.

SALGADO, S. M. *et al.* Modificação da concentração de amido resistente em feijão macassar (*Vigna unguiculata* L. Walp) por tratamento hidrotérmico e congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 259-264, abr./jun., 2005.

SATO, T.; RUCH, R. **Stabilization of colloidal dispersions by polymer adsorption**. New York: Marcel Dekker, 1980.

SCHRADER, B. **Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and Applications**. Weinheim: VCH, 1995.

SCHAHL, A.; RÉAT, V.; JOLIBOIS, F. Structures and NMR spectra of short amylose-lipid complexes. Insight using molecular dynamics and DFT quantum chemical calculations. **Carbohydrate Polymers**, v. 235, 2020.

SHEN, X. *et al.* Iodine binding to explore the conformational state of internal chains of amylopectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 778-783, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Tradução: Ricardo Bicca de Alencastro. 7^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SINGH, A.; GEVEKE, D. J.; YADAV, M. P. Improvement of rheological, thermal and functional properties of tapioca starch by using gum arabic. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 155-162, 2017.

SOBRINHO, O. P. L. *et al.* Uma proposta de aula experimental utilizando mesocarpo de babaçu (*Orbignya speciosa*) na remoção do azul de metileno de soluções aquosas. **Educación Química**, v. 26, p. 314-318, 2015.

SU, Y.-L.; WANG, J.; LIU, H.-Z. FTIR spectroscopic investigation of effects of temperature and concentration on PEO-PPO-PEO block copolymer properties in aqueous solution. **Macromolecules**, v. 35, p. 6426-6431, 2002.

SWISHER, R. D. **Surfactant biodegradation**. 2^a ed. New York: Marcel Dekker, 1987. V. 18.

TABASUM, S. *et al.* A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 969-996, 2019.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

U.S. Food & Drug Administration (FDA). Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Starches, cereal starches, pregelatinized starch. 2015. Disponível em: <http://wayback.archive-it.org/7993/20171031060643/https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/SCOGS/ucm260867.htm>. Acesso em: 19 set. 2019.

VARKI, A. *et al.* **Essentials of Glycobiology**. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999, cap. 2. *E-book*. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20709/>. Acesso em: 08 mai. 2019.

VAMADEVAN, V.; BERTOFT, E. Structure-function relationships of starch components. **Starch/Stärke**, v. 67, p. 55-68, 2015.

VIÉGAS, L. P. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. 2016. 74 f. Dissertação (mestrado em Ciência e Engenharia dos Materiais) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Materiais Avançados. Campos dos Goytacazes, 2016.

WEBER, F. H.; COLLARES-QUEIROZ, F. P.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Rev. Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.4, p. 748-753, out.-dez. 2009.

WHITTINGHILL, J. M.; NORTON, J.; PROCTOR, A. Stability Determination of Soy Lecithin-Based Emulsions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **JAOCs**, v. 77, n. 1, 2000.

WINNIK, F.M.; REGISMOND, S. T. A. Fluorescence methods in the study of the interactions of surfactants with polymers. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 118, p. 1-39, 1996.

WULFF, G.; KUBIK, S. Circular dichroism and ultraviolet spectroscopy of complexes of amylose. **Carbohydrate Research**, v. 237, p. 1-10, 1992.

XU, X. *et al.* Binding interaction between rice glutelin and amylose: Hydrophobic interaction and conformational changes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 942-950, 2015.

YAN, B.; ZHOU, H.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. **Bioactivity of Engineered Nanoparticles**. Singapore: Springer, 2017.

ZEOULA, L. M. *et al.* Solubilidade e Degradabilidade Ruminal do Amido de Diferentes Alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 5, p. 898-905, 1999.