



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
DE ALIMENTOS**



PAULO VITOR FRANÇA LEMOS

**IMPORTÂNCIA DA CRISTALINIDADE E DO TEOR DE
AMILOSE NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE AMIDOS DE
DIFERENTES FONTES BOTÂNICAS**

Salvador
2017

PAULO VITOR FRANÇA LEMOS

**IMPORTÂNCIA DA CRISTALINIDADE E DO TEOR DE
AMILOSE NA ESTABILIDADE TÉRMICA DE AMIDOS DE
DIFERENTES FONTES BOTÂNICAS**

Orientadora: Dr^a. Janice Izabel Druzian
Co-orientadora: Dr^a Ingrid Graça Ramos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia – Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

Salvador
2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lemos, Paulo
IMPORTÂNCIA DA CRISTALINIDADE E DO TEOR DE AMILOSE NA
ESTABILIDADE TÉRMICA DE AMIDOS DE DIFERENTES FONTES BOTÂNICAS /
Paulo Lemos, Ingrid Ramos, Janice Druzian. -- Salvador, 2017.
109 f. : il

Orientadora: Janice Druzian.
Coorientadora: Ingrid Ramos.
Dissertação (Mestrado - Ciência de Alimentos) --
Universidade Federal da Bahia, Farmácia, 2017.

1. Batata. 2. Banana. 3. Milho. 4. Mandioca. 5.
Propriedades térmicas. I. Ramos, Ingrid. II. Druzian, Janice.
I. Druzian, Janice. II. Ramos, Ingrid. III. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

PAULO VITOR FRANÇA LEMOS

**IMPORTÂNCIA DA CRISTALINIDADE E DO TEOR DE AMIOSE NA
ESTABILIDADE TÉRMICA DE AMIDOS DE DIFERENTES FONTES
BOTÂNICAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 31 de julho de 2017.

BANCA EXAMINADORA



Dr^a. Janice Izabel Druzian
Universidade Federal da Bahia
Orientadora



Dr. Renato Souza Cruz
Universidade Estadual de Feira de Santana



M^{sc}. Thais de Souza Rocha
Universidade Estadual de Londrina

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus que criou a natureza complexa e nos deu a oportunidade de tentar compreendê-la.

Á minha família que me amparou em todos os momentos da minha vida. O nome de cada um deles está escrito aqui em dizeres não compreensíveis.

Á minha mentora intelectual, ex-professora e muito amiga, Dra. Ingrid Graça Ramos, pela inteligência fora de série, dedicação, maturidade e perfeccionismo em tudo que se propõe a fazer.

Aos meus amigos que acompanharam essa história desde a adolescência sem entender muito o que, de fato, estava se passando.

Á minha orientadora e também professora no curso de Farmácia, profa. Dra. Janice Izabel Druzian, pelos desafios propostos, pela credibilidade, experiência e compromisso com suas atividades.

Aos meus colegas de trabalho, que acompanharam todo o desenvolvimento desde a iniciação científica.

Aos laboratórios CIEnAm – UFBA DRX e LCM-IFBa pelas análises de DRX, DSC e SEM.

Á todos que duvidaram da minha capacidade ou desdenharam em algum momento da minha vocação, vocês são o meu combustível.

“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar o contrário.”

ALBERT EINSTEIN

RESUMO

As aplicações industriais do amido dependem da sua disponibilidade e das características físico-químicas, tais como: comprimento e grau de ramificação das cadeias de amilose e amilopectina e do teor de amilose. Para a maioria absoluta das aplicações esse polímero de ocorrência natural passará por processamento térmico justificando, portanto, as caracterizações térmicas dos mesmos. Apesar das características térmicas de diversas fontes de amidos nativos já existirem, as correlações com as propriedades físico-químicas são inviáveis por conta do comportamento complexo desse polímero e das diferentes condições empregadas nas análises térmicas que afetam os resultados. Com a finalidade de atender à essa demanda, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os amidos de diferentes fontes para correlacionar suas propriedades térmicas com as respectivas organizações estruturais. Os amidos de batata, banana, milho e mandioca foram caracterizados por SEM, XRD, FTIR-ATR, UV-vis, DSC e TG. Os teores de amilose foram de 20,46;16,36;19,70 e 14,86% para os amido de batata, banana, milho e mandioca, respectivamente. O amido de banana apresentou maior índice de cristalinidade (57,3%) comparado aos demais (17,5-37,1%). As razões das bandas de infravermelho de regiões amorfas/cristalinas ($1013/992\text{ cm}^{-1}$) foram similares aos dados XRD para os amidos de batata e milho. Os teores de amilose foram correlacionados com as medidas de T_g e com as temperaturas de gelatinização obtidas por DSC, com algumas restrições. Os experimentos de TG demonstraram que a matriz cristalina afeta a estabilidade térmica dos amidos, mas o componente principal é o teor de amilose. Portanto, constatou-se que a complementariedade de dados obtidos através de diferentes técnicas analíticas são essenciais na elucidação das propriedades físico-químicas dos amidos, de maneira que os experimentos devem ser realizados para cada fonte botânica ou de diferentes cultivares pelo fato de apresentarem diferentes comportamentos e propriedades térmicas.

Palavras-Chave: batata, banana, milho, mandioca, caracterização e propriedades térmicas.

ABSTRACT

The industrial applications of starch depend on their availability and physico-chemical characteristics, such as: length and degree of branching of the amylose and amylopectin chains and the amylose content. For the majority of applications, this naturally occurring polymer will undergo thermal processing, thus justifying its thermal characterization. Although the thermal characteristics of several sources of native starches already exist, the correlations with the physicochemical properties are not feasible due to the complex behavior of this polymer and the different conditions used in the thermal analyzes that affect the results. In order to meet this demand, the present study aimed to characterize the starches from different sources to correlate their thermal properties with the respective structural organizations. The potato, banana, maize and cassava starches were characterized by SEM, XRD, FTIR-ATR, UV-Vis, DSC and TG. The amylose contents were 20.46, 16.36, 19.70 and 14.86% for potato, banana, maize and cassava starch, respectively. Banana starch presented higher crystallinity index (57.3%) compared to the others (17.5-37.1%). The ratios of the infrared bands of amorphous/crystalline regions ($1013/992\text{ cm}^{-1}$) were similar to the XRD data for potato and corn starches. The amylose contents were correlated with the T_g measurements and with the gelatinization temperatures obtained by DSC, with some restrictions. TG experiments demonstrated that the crystalline matrix affects the thermal stability of the starches, but the main component is the amylose content. Therefore, it was found that the complementarity of data obtained through different analytical techniques are essential in the elucidation of the physicochemical properties of the starches, so that the experiments must be performed for each botanical source or of different cultivars because they present different behaviors and thermal properties.

Keywords: potato, banana, corn, cassava, characterization, thermal properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos grânulos de amido de batata, tapioca, milho, banana, feijão e babaçu (adaptado) ⁵⁷	23
Figura 2 - Representação das estruturas químicas das frações de (A) amilose e (B) amilopectina (adaptado) ⁴	25
Figura 3 - Representação da cadeia de V _{amilose} (26 cilcomaltohexaicosose) com moléculas de água desorientadas obtida através de dados espectroscópicos (¹³ C NMR) e de difratometria de raios X (XRD) aperfeiçoado computacionalmente. Cadeia em secção transversal (a) e com visão lateral (b), imagens obtidas através de software PyMol Viewer ⁶⁴	25
Figura 4 - Seção transversal do grânulo de amido mostrando a orientação das duplas hélices de amilopectina na lamela cristalina (a linha tracejada indica o caminho seguido para obtenção do diagrama de difração utilizando a difração de raios X micro focal com diâmetro de 2 µm) ...	28
Figura 5 – Estrutura cristalina de dupla hélice formadas por arranjos moleculares de amilopectina.....	29
Figura 6 - Representação esquemática da organização do grânulo de amido com disposição dos polímeros de amilose (minoritário) e amilopectina (majoritário), adaptado.	31
Figura 7 - Fluxograma genérico das quatro etapas de separação das frações de amilose e amilopectina descrito por Schoch (1942), adaptado ¹²⁵	36
Figura 8 - Esquema representativo do microscópio de luz polarizada (esquerda) e do microscópio eletrônico de varredura (direita) ¹²⁸	37
Figura 9 - Espectro de raios-X para um alvo de molibdênio em função da voltagem aplicada ¹³⁰	39
Figura 10 - Difração de raios X por um cristal, segundo a Lei de Bragg ¹³²	40
Figura 11 - Padrões de difratometria de raios X (XRD) dos amidos de cereais (A), tubérculos (B), frutos, legumes e sementes (C) e de complexos de lipídios com as cadeias helicoidais da fração de amilose (V), adaptado ¹³⁴	42
Figura 12 - Arranjo de células unitárias de duplas hélices (secção destacada) dos tipos A (esquerda) e B (direita).	42
Figura 13 - Espectros de FTIR obtidos através de pastilhas de KBr dos amidos nativos de milho (variedades <i>high protein</i> e <i>oil</i>), trigo, batata, milho e milho ceroso (<i>waxy</i>) ¹³⁶	44
Figura 14 - Representação esquemática do princípio de funcionamento de um dispositivo de ATR a partir do raio infravermelho (radiação incidente), cristal de ATR ou ERI (elemento de reflexão interna) e amostra em contato com a radiação evanescente, adaptado.....	44

Figura 15 - Espectros de FTIR-ATR dos amidos de trigo, batata, milho e milho ceroso (<i>waxy</i>), adaptado ¹³⁸	46
Figura 16 - Princípios da espectroscopia de absorção molecular: a) Diagrama exemplificando a interação dos fótons com os elétrons de valência dos constituintes do analito, com dois níveis eletrônicos de energia (E_0 e E_1), cada uma com cinco níveis de energia vibratória (V_0 - V_4); b) Esquema representativo de um espectrofotômetro de único feixe de comprimento de onda...48	
Figura 17 - Estrutura do complexo amilose-iodo, representada por 6 unidades de anidro glicose contendo um ânion penta iodeto na cavidade da hélice vista do topo (imagem de cima) e vista lateralmente (imagem de baixo) ¹¹⁰	50
Figura 18 - Perfil de absorção das frações de amilose e amilopectina de batata em presença de solução cromófora de iodo (A=Amilose; AP= Amilopectina e Iodo= branco do reagente contendo iodo) ¹¹⁰	51
Figura 19 – Esquema ilustrativo do funcionamento do mecanismo de separação cromatográfica por exclusão de tamanhos (SEC). Pequenas cadeias enroladas na solução podem acessar maior número de poros; cadeias grandes acessam menor número de pores e cadeias muito grandes acessam pouquíssimos poros dos polímeros da fase estacionária, adaptado ¹⁶⁶	53
Figura 20 – Esquema ilustrativo da separação por exclusão molecular através de sistema de alta pressão acoplado aos detectores de índice de refração e espalhamento de luz multi angular (HPSEC-DRI-MALLS).....	54
Figura 21 – Exemplo de separação cromatográfica por HPSEC-DRI (55 °C; 1 mL min ⁻¹ ; 25 µL) dos amidos de mandioca, batata, arroz, trigo, milho ceroso (<i>waxy</i>), milho com alto conteúdo de amilose (<i>high amylose</i>) e milho normal (de cima para baixo). Os picos a esquerda e a direita representam as frações de amilopectina e amilose, respectivamente ¹²²	55
Figura 22 - Esquema ilustrativo da evolução e dos componentes das células de (a) DTA clássico, DSC por compensação de potência (c) e (b) DSC por fluxo de calor (adaptado).....	58
Figura 23 – Endotérmias de gelatinização de amidos aquecidos em excesso de água à temperaturas específicas (indicadas ao lado direito em °C): (a) batata, (b) milho, (c) milho ceroso (<i>waxy</i>), (d) trigo, (e) arroz e (f) tapioca (adaptado) ¹²²	60
Figura 24 - Exemplos de curvas DSC obtidas em estudos para avaliação da temperatura de transição vítrea (T_g): (a) de amido de trigo nativo em diferentes conteúdos de umidade (13,0-30,0) e (b) padrão de Índio sobre diferentes razões de aquecimento.....	62
Figura 25 - Fundamentos de termogravimetria (TG). Esquema ilustrativo dos componentes de um instrumento de termogravimetria (a) e representação genérica da obtenção de resultados oriundos de corrida TG (b) (adaptado) ¹⁸⁴	63

Figura 26 - Curvas TG e dTG de amidos nativos de milho (linha preta), banana (linha vermelha), mandioca (linha azul) e batata (linha verde) nas seguintes condições: 5 mg; 5 °C min ⁻¹ ; fluxo de N ₂ 50 mL min ⁻¹ , adaptado.....	64
Figura 27 - Curvas TG de amidos modificados: a) amido de banana nativo e modificado para obtenção de ligações cruzadas ¹⁹² , b) amilose de batata não complexada e c) complexada com CuCl ₂ ¹⁹³	66
Figura 28 - Curvas TG (linha sólida) e dTG (linha pontilhada) do amido de arroz nativo e do hidrolisado na presença de 1-butanol, adaptado ¹⁹⁹	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das técnicas para determinação do tamanho dos grânulos de amido ⁵¹	20
Tabela 2 – Tipos de grânulos e tamanhos dos grânulos de amidos de diferentes origens.	21
Tabela 3 - Técnicas empregadas na determinação do teor de amilose em amostras de amidos de diferentes fontes.....	32
Tabela 4 - Propriedades físicas e químicas de alguns elementos de ATR (adaptado)	46
Tabela 5 - Espectroscopia de absorção molecular aplicadas ao estudo dos amidos de diferentes fontes.	49
Tabela 6 – Massas moleculares das frações de amilose e amilopectina de amidos de diferentes fontes determinadas através da técnica de HPSEC-MALLS-DRI.	55
Tabela 7 - Caracterização estrutural do amido por ¹ H e ¹³ C NMR ¹⁶⁷	57
Tabela 8 - Temperaturas (T _o , T _p e T _c) e entalpia (ΔH _{gel}) das endotérmicas de gelatinização de amidos nativos ¹⁸⁷	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2θ	Ângulo Bragg
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
μL	Microlitro
μm	Micrometro
^{13}C NMR	Ressonância Magnética Nuclear de carbono
^1H NMR	Ressonância Magnética Nuclear de próton
^{31}P NMR	Ressonância Magnética Nuclear de fósforo
ATR	Refletância total atenuada
Da	Daltons
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMTA	Análise térmica dinâmico-mecânica
ERI	Elemento de reflexão interna
FTIR	Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
HPSEC-DRI	Cromatografia de Líquida de Alta Performance por Exclusão de Tamanho acoplada ao detector de Índice de Refração
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
IAOM	Análise de imagem de microscopia ótica
LALLS	Espalhamento de luz em baixo ângulo
MALLS	Espalhamento de luz em multi ângulo
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milimetro
Mw	Massa molecular
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura
TG/dTG	Termogravimetria e Termogravimetria Derivada
T_p	Temperatura de pico da endoterma
T_g	Transição vítrea
UPLC	Cromatografia Líquida de Ultra Performance
Uv-Vis	Ultravioleta-Visível
XRD	Difratometria de Raios X
ΔH_{gel}	Entalpia da endoterma gelatinização

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	12
2.	OBJETIVOS.....	14
2.1	GERAL.....	13
2.2	ESPECÍFICOS.....	13
3.	CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1	IMPORTÂNCIA DO AMIDO EM ALIMENTOS E PROCESSOS INDUSTRIAIS	15
3.2	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO GRÂNULO DE AMIDO.....	17
3.3	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO AMIDO.....	22
3.4	CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO AMIDO.....	25
3.5	TÉCNICAS EMPREGADAS PARA A DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIOSE NO AMIDO.....	29
3.6	OBTENÇÃO DE AMIDOS AMORFOS, AMIOSE E AMILOPECTINA.....	33
3.7	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS.....	34
3.7.1	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM).....	34
3.7.2	DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (XRD).....	36
3.7.3	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	41
3.7.4	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR.....	45
3.7.5	CROMATOGRAFIA DE LÍQUIDA DE ALTO DESEMPENHO POR EXCLUSÃO DE TAMANHO (HPSEC)	49
3.7.6	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR)	54
3.7.7	CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	56
3.7.8	TERMOGRAVIMETRIA (TG).....	61
	REFERÊNCIAS.....	65
4.	CAPÍTULO II - THE IMPORTANT ROLE OF CRYSTALLINITY AND AMYLOSE RATIO IN THERMAL STABILITY OF STARCHES.....	81
4.1	INTRODUCTION.....	81
4.2	MATERIAL AND METHODS.....	82
4.2.1	STARCH SAMPLE.....	82
4.2.2	AMORPHOUS STARCHES AND STARCH SEPARATION METHOD.....	83
4.2.3	SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM).....	83

4.2.4	X-RAY DIFFRACTION (XRD)	83
4.2.5	ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE-FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY (ATR-FTIR)	84
4.2.6	MOLECULAR ABSORPTION SPECTROSCOPY AND AMYLOSE DETERMINATION.....	84
4.2.7	DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY (DSC)	85
4.2.8	THERMOGRAVIMETRY (TG).....	85
4.3	RESULTS AND DISCUSSION.....	86
4.3.1	SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM).....	86
4.3.2	X-RAY DIFFRACTION (XRD).....	87
4.3.3	SPECTROSCOPY: FOURIER TRANSFORMED INFRARED SPECTROSCOPY – ATTENUATED TOTAL REFLECTANCE (FTIR-ATR) AND SPECTROPHOTOMETRY	88
4.3.4	THERMAL ANALYSIS: DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY (DSC) AND THERMOGRAVIMETRY (TG).....	93
4.4	CONCLUSIONS.....	99
4.5	ACKNOWLEDGEMENTS.....	100
	REFERENCES.....	100
5.	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	107

1. INTRODUÇÃO

O mercado mundial de amido está dividido em quatro matérias-primas, sendo quatro delas origem tropical (milho, batata, batata-doce e mandioca). Destas, o milho é a fonte mais expressiva atingindo aproximadamente 75% da produção mundial, concentrando-se principalmente nos Estados Unidos, com cerca de 99% da produção nesse país. Na Europa, Ásia e no Brasil o milho também destaca-se como matéria prima com cerca de 46% da produção de amido nas referidas localidades. Apenas a Tailândia e alguns poucos países da Ásia possuem outras matérias-primas como principal fonte de matéria-prima para a extração do amido. A produção de amido de batata-doce concentra-se em 95% na China, sendo o restante localizado, principalmente no Japão¹.

O amido é um polímero natural, obtido de fontes renováveis e biodegradável produzido por muitas plantas como fonte de energia armazenada. Encontra-se em raízes de plantas, talos, sementes e culturas básicas como arroz, milho, mandioca e batata. É versátil, barato e amplamente utilizado em aplicações alimentares e não alimentares².

Quimicamente, o amido é uma polianidroglicose constituída por dois polímeros homólogos: a amilose, com em média $2-12 \cdot 10^3$ unidades de glicose, um polímero essencialmente linear composto de D-glicopiranosose conectadas com ligações glicosídicas do tipo α -1,4 e um pequeno número de ramificações; e a amilopectina, muito maior ($0,4-35 \cdot 10^6$ unidades de glicose), constituídas por segmentos de glicose α -1,4 ligados por pontos de ramificação glicosídicos do tipo α -1,6 (cerca de 5%), equivalente a 20.000 ramificações em uma molécula média^{3,4}.

A amilopectina possui uma organização “*cluster like*”. As cadeias dentro de um único agrupamento têm um grau modal de polimerização (DP) de 14-18. No entanto, para interconectar múltiplos clusters, são observadas cadeias mais longas (DP de 45-55). Além disso, as cadeias extra-longas (DP ~ 100) são observadas em amidos de cereais regulares⁴.

A amilose possui estrutura helicoidal. A hélice possui um interior hidrofóbico devido à presença de grupos hidrofílicos hidroxil nos resíduos de glicose na parte externa da hélice. Portanto, a hidrofobicidade permite que a amilose atue como uma molécula hospedeira e forma complexo de inclusão com várias moléculas de massas moleculares relativamente baixas (*guest molecules*)⁵.

Na natureza, a amilose e a amilopectina existem como agregados semicristalinos que consistem de regiões ordenadas e desordenadas. A dupla hélice formada por cadeias menores de amilopectina está relacionada a regiões cristalinas dispostas regularmente em relação à outra

nos grânulos, devido à proximidade dessas cadeias que interagem fortemente^{6,7,8}. As regiões amorfas estão relacionadas às ramificações das cadeias de amilopectina e à ocorrência principalmente da fração de amilose, como já previamente reportado⁹.

A aplicação industrial do amido depende da sua disponibilidade e das características físico-químicas¹⁰ tais como: o comprimento das cadeias de α -glucano, a relação amilose: amilopectina e o grau de ramificação, pois esses parâmetros definem o tamanho, a forma e a estrutura dos grânulos. Essas características variam substancialmente entre fontes botânicas¹¹.

Seja qual for a aplicação, o amido, na maioria dos casos passará por processamento térmico. Assim, as técnicas de análise térmica são utilizadas para a sua caracterização com diferentes finalidades.

A análise termogravimétrica (TGA) é amplamente utilizada para caracterizar a decomposição térmica e determinar a estabilidade térmica do amido^{12,13,14}. Aggarwall & Dollimore (1996)¹⁵ propuseram um método baseado em termogravimetria que revelou que o amido de diferentes fontes se decompõe a uma velocidade diferente. Mas eles não sugeriram quais os fatores que causaram a diferença. Guinesi e colaboradores (2006)¹⁶ afirmaram que, apesar das diferenças estruturais, estas tiveram pouca influência no processo de degradação térmica dos amidos de milho, mandioca, arroz e batata.

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é utilizada para estudar a transição vítrea^{17,18}, gelatinização^{19,20,21} e as transições de cristalização^{22,23}.

Apesar de as características térmicas de vários amidos nativos já estarem bem documentadas^{15,16,24,25} os dados disponíveis na literatura são difíceis de correlacionar porque o comportamento térmico deste polímero é muito complexo e as diferentes condições de medição (massa de amostra, atmosfera, taxa de aquecimento) afetam seus resultados²⁶. Além disso, a correlação entre as propriedades térmicas e as estruturas de amidos, geralmente, é proposta para cada amido individualmente e não de forma comparativa sobre as mesmas condições de análise.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Caracterizar amidos de diferentes fontes para correlacionar suas propriedades térmicas com as respectivas organizações estruturais, buscando identificar qual a fração da matriz associada a determinados parâmetros experimentais exerce maior efeito na estabilidade térmica do polímero.

2.2. ESPECÍFICOS

- Utilizar as técnicas de espectrometria UV-vis, FTIR-ATR e DRX, associadas a térmicas DSC e TG, além de morfológica MEV, para caracterizar amidos de batata, banana, milho e mandioca;
- Identificar a influência da origem botânica nas propriedades espectrométricas, morfológicas e térmicas de amidos;
- Correlacionar as medidas obtidas pelas técnicas de DSC e TG com a organização estrutural semicristalina composta pelas cadeias de amilose e amilopectina;
- Identificar a importância da cristalinidade associada aos teores de amilose nas estabilidades térmica dos amidos de batata, banana, milho e mandioca.

3. CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 IMPORTÂNCIA DO AMIDO EM ALIMENTOS E PROCESSOS INDUSTRIAIS

O amido é um polímero natural, renovável e biodegradável produzido por muitas plantas como fonte de energia armazenada. Pode ser encontrado nas raízes de plantas, caules, sementes de culturas e alimentos básicos, como arroz, milho, mandioca trigo e batata^{1,27}.

Abundante na natureza, o amido é usado em uma variedade de indústrias, tais como: alimentícia²⁸, têxtil²⁹, cosmética³⁰, de plásticos³¹, papel³² e produtos farmacêuticos^{32,30}, entre outras.

Na indústria de alimentos, é amplamente empregado em formulações alimentícias, especialmente como agente espessante em alimentos processados³³.

Seja como espessante em formulações alimentícias³³ ou como matéria prima para panificação³⁴, os diferentes amidos pode apresentar comportamentos físico-químicos característicos de cada fonte botânica. Os amidos de diferentes fontes botânicas apresentam propriedades de uso final diferenciadas, em decorrência das razões entre os constituintes, amilose e amilopectina³⁴. O conteúdo de amilose influi nas propriedades do amido, tais como: gelatinização, solubilidade, características de pasta, textura⁶ e na formação de amido resistente³⁵, todas de interesse industrial para a produção de alimentos.

O amido é utilizado no dimensionamento e tingimento na indústria têxtil com a finalidade aumentar o brilho e peso dos tecidos além de servir como agente de endurecimento nas lavanderias³⁵. Tais aplicações se devem ao fato de que os pequenos grânulos de amido penetram nos tecidos, conferindo brilho e rigidez após serem passados a quente³⁶.

Na área da produção de cosméticos, é empregado como importante matéria-prima para o pó utilizado nas diferentes formulações cosméticas³².

O amido também ganhou atenção como um plástico biodegradável para a produção de artigos descartáveis³⁷.

Na produção de papel, o amido de mandioca, é empregado como cola para conseguir brilho e força^{32,36}.

Na indústria farmacêutica, o amido é utilizado como aglutinante, diluente ou desintegrante^{30,32}. Como exemplo de aplicação na produção farmacêutica, tem-se a pasta de amido. Quando preparada a fresco, em concentrações de 5-20%, são utilizadas rotineiramente durante a fabricação de comprimidos³⁸. Na concentração de 5-15%, a aplicabilidade da pasta de amido passa a ser de ação desintegrante nas formulações de comprimidos³⁹. Novas aplicações de amido têm sido exploradas na área das mucosas do nariz⁴⁰, periodontal⁴¹, como

film-based e sistemas *drug delivery*⁴² e dos estudos de pré-formulação através de análises térmicas envolvendo o amido como excipiente⁴³.

Além disso, possui outras utilizações, tais como: aditivo no cimento para melhorar o tempo de solidificação; para melhorar a viscosidade de lamas de perfuração de poços de petróleo; principal matéria-prima em indústrias de cola e adesivos e na fabricação de sabão detergente, mais especificamente, para melhorar a vida de prateleira dos detergentes³².

O Brasil vem se destacando no cenário mundial agrícola pela produção de variados *commodities*, tais como: milho, mandioca, banana e batata, enfatizadas na presente revisão, pelo conteúdo amiláceo presente nesses cultivares⁴⁴.

Na terceira posição, na produção brasileira de *commodities*, foram produzidas cerca de 79,87 mil toneladas de milho (*Zea mays*) em 2014⁴⁴. Ainda que sem o valor estimado sobre a quantidade de amido extraído dessa *commoditie*, sabe-se que o amido de milho tem se destacado na utilização em compósitos⁴⁵ e desenvolvimento de materiais termoplásticos, justificados pelo volume de produção e pelo fato de tratar-se de um substrato biodegradável⁴⁶.

A mandioca (*Manihot esculenta*) encontra-se na quinta posição das *commodities* mais produzidos pelo Brasil com cerca de 22,36 mil toneladas⁴⁴. Em 2014, o Brasil produziu cerca de 6,45 mil toneladas de amido de mandioca⁴⁴. O amido de mandioca pode ser empregado na maioria das funções em que os amidos de milho, arroz e de trigo são usados atualmente³².

Comumente conhecida como banana, as espécies ou híbridos do gênero *Musa*, são produzidas em grande escala em regiões tropicais e subtropicais⁴⁴. Tanto a produção quanto as exportações e as importações de bananas, estão altamente concentrados em poucos países. Dentre os dez principais países produtores de banana, o Brasil apresentou aumento da produção de 6,51 mil toneladas⁴⁷, em 2003, para 6,89 mil toneladas em 2014⁴⁴, sem dados sobre o amido extraído dessa fonte. Muito embora o Brasil seja destaque na produção de banana, esta produção é seriamente afetada por perdas que chegam à 20% do montante total.

Ainda que com elevado percentual de perdas na produção de banana, o amido desse fruto é aproveitado através do cozimento. A relativa baixa digestibilidade do amido de banana (de cerca de 47%), comparada ao amido de inhame (cerca de 40%)⁴⁸, vem conferindo a este produto maior empregabilidade nas dietas “*low carb*”). Por este motivo o amido de banana destaca-se quanto às propriedades de digestão e funcionais, viabilizando sua aplicação em alimentos processados⁴⁷.

Amplamente conhecida como batata (*Solanum tuberosum*), esta variedade apresenta-se na décima terceira posição dentre às vinte *commodities* mais produzidos pelo Brasil até o ano de 2014, com cerca de 3,68 mil toneladas⁴⁴ e também não foram encontradas informações sobre

a quantidade de amido extraído dessa fonte nesse período. O amido de batata apresentam, como a maiorias das raízes e tuberosas, potencial aplicação para indústria de alimentos por serem capazes de formar pastas claras de sabor suave⁴⁹.

Nesse contexto, além da grande inserção do amido nos processos industriais dos variados setores de produção, nota-se, uma grande representatividade na dieta humana e animal, por constituir uma importante fonte energética^{30,32}. Dessa maneira, a crescente demanda por esse polímero de ocorrência natural, justifica o estudo aprofundado da estabilidade térmica dos amidos de diferentes fontes com a finalidade de aperfeiçoar as aplicações nos processos industriais.

3.2 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO GRÂNULO DE AMIDO

3.2.1 TÉCNICAS EMPREGADAS PARA DETERMINAÇÃO DOS TAMANHOS DOS GRÂNULOS DE AMIDO

A geração de dados de distribuição de tamanho de grânulos torna possível comparar os amidos de diferentes origens botânicas e avaliar os parâmetros de processamento, especialmente a eficiência das operações de centrífugas⁵⁰.

Uma técnica de determinação de tamanho satisfatória avalia todos os grânulos sem perder as frações de grânulos pequenos, mantém os grânulos numa forma não agregada, e é capaz de distinguir entre os grânulos de amido e as partículas não amiláceas⁵¹.

As técnicas de microscopia mais utilizadas para obtenção de medidas dos grânulos/análises morfológicas de amido são: microscopia de luz, análise de imagem por microscopia ótica (IAOM) e microscopia eletrônica de varredura (SEM). As técnicas conhecidas como micro peneira (microsieving), resistividade elétrica, espalhamento de luz laser (LALLS), fracionamento por fluxo de campo (FFF) também tem sido amplamente empregadas para tal finalidade. Em maior resolução, as técnicas de microscopia de força atômica (AFM) e eletrônica de transmissão (TEM) também são muito empregadas pelo fato de viabilizarem a avaliação da ultra estrutura granular⁵², incluindo os “*small blocklets*” (com cerca de 20-30 nm)⁵³, os empilhamentos de lamelas cristalinas, e protrusões na superfície granular atribuídas às regiões finais dos *blocklets*⁵⁴.

Por possuírem princípios de funcionamento diferentes entre si, as técnicas empregadas para determinação das medidas dos grânulos de amido possuem vantagens e desvantagens. A Tabela 1 apresenta, de forma sumarizada, cada uma das técnicas com os aspectos positivos e as

limitações em relação às determinações das medidas e análises morfológicas dos grânulos. Dentre todas as técnicas citadas, a SEM tem sido a mais empregada para as análises dos grânulos nativos ou modificados e será discutida de forma mais aprofundada na seção 3.7.1.

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens das técnicas para a determinação do tamanho dos grânulos de amido⁵¹.

Técnica	Vantagens	Desvantagens
Microscopia de luz	Análise <i>in situ</i> Fornecer dados morfológicos	Laborioso
Análise de imagem de microscopia ótica (IAOM)	Fornecer dados morfológicos	O grânulo não pode ter sofrido danos durante o isolamento Requer amostra homogênea
Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	Fornecer dados morfológicos detalhados	Diferenciação limitada de partículas não amiláceas
Resistividade elétrica	Não afetado pela forma dos grânulos Não afetado pela densidade	Limitação para determinações menores do que 3 µm
LALLS (Espalhamento de luz em baixo ângulo)	Avaliações até 0,1 µm	O grânulo não pode ter sofrido danos durante o isolamento Afetado pela forma

3.2.2 TAMANHO DO GRÂNULO

O tamanho e a forma dos grânulos de amido estão relacionados com a fonte biológica da qual é isolado. Em geral, o tamanho dos grânulos pode variar desde menores de 1 µm a maiores de 100 µm. Geralmente, o tamanho dos grânulos refere-se ao diâmetro médio dos grânulos de amido. Para isso, assume-se que os grânulos são esféricos, muito embora essa não seja a forma natural de ocorrência nas diversas fontes botânicas de amido⁵¹.

As medidas de comprimento médio dos eixos maiores e menores, o diâmetro médio, o volume e a área superficial podem ser utilizados para diferenciar os grânulos de amido, gerando uma classificação por tamanho. Desta forma, os grânulos podem ser classificados quanto ao

diâmetro médio em: grandes (>25 μm), médios (10-25 μm), pequenos (5-10 μm) e muito pequenos (<5 μm)⁵¹. Na Tabela 2, encontram-se compilados alguns dados referentes às classificações.

Tabela 2 – Tipos de grânulos e tamanhos dos grânulos de amidos de diferentes origens.

Tipo	Fonte	Diâmetro (μm)	Referência
Grânulos	Banana	20-50	55
bimodais	Batata	10-100	30
(grandes e	Cevada	2-3 ; 12-32	56
médios)	Milho doce	1-5; 10-20	36
	Milho	2-32	30
	Centeio	2-3; 22-36	57
	Trigo	<10; 10-35; 2-45	30,58
	Mandioca	8-22; 5-35	30,59
Grânulos	Trigo sarraceno	2-14	60
pequenos	Aveia	2-14	60
	Arroz	2-10	60
	Arroz selvagem	2-8	61
Grânulos	Amaranto	1-2	60
muito	Erva amarela	1,5-3,5	62
pequenos	Quinoa	0,5-3	60

3.2.3 MORFOLOGIA DO GRÂNULO

Os grânulos de amido de diferentes origens botânicas diferem entre si no aspecto morfológico. Para melhor descrição, as morfologias foram divididas em quatro grupos: raízes e tubérculos, cereais, grãos e frutos e sementes. As descrições apresentadas foram feitas com base nas micrografias obtidas através de microscopia eletrônica de varredura, pois como já descrito na sessão 1.2.1, fornece dados morfológicos detalhados.

Os grânulos de amidos de raízes e de tubérculos, por exemplo, são ovais, redondos, esféricos e poligonais, muito embora algumas formas irregulares também possam existir⁵¹.

As micrografias dos grânulos do amido de batata (*Solanum tuberosum*) (Figura 1 (a)) obtidas por Jane e colaboradores (1994), proporcionaram a descrição de forma equivalente aos de raízes e tubérculos, por possuírem forma lisa, elipsoidal e esférica⁵⁷.

Descrições dos grânulos do amido de mandioca mais conhecida como mandioca (*Manihot esculenta*), muito cultivada no Brasil, foram reportadas como sendo: lisos, de formato irregular de tamanho intermediário (Figura 1 (b))⁵⁷.

No grupo dos cereais, como por exemplo: milho (*Zea mays*), milho waxy e trigo sarraceno, os grânulos são descritos como de forma irregular com um número de faces (poliédricas) e as bordas relativamente afiadas, como pode ser visto na Figura 1(c) para o grânulo do amido de milho⁵⁷.

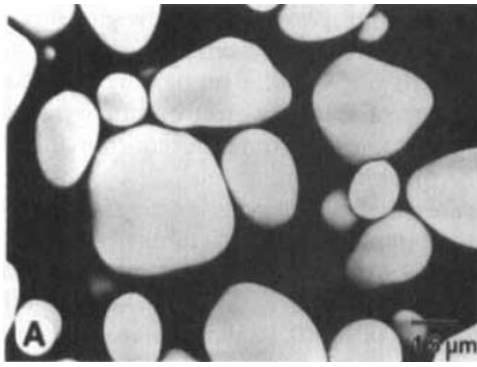
As variedades dos amidos de milho com maior teor de amilose apresentam perda da forma poligonal (poliédrica) e as suas superfícies tornam-se mais suaves, quando comparadas aos grânulos de milho normal⁵⁷.

Existem ainda diferenças de forma entre os grânulos menores, como os de: trigo, cevada, centeio e tritcale que possuem a morfologia diferente em relação aos homólogos maiores⁵¹.

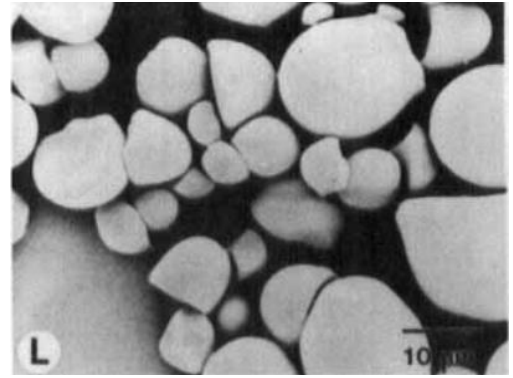
No caso dos grãos como feijão e ervilha, por exemplo, os grânulos de amido são caracterizados como discos espessos, com um "corte" em torno do meio ou nas extremidades e uma reentrância em uma das extremidades⁵¹. Descrições feitas por Jane e colaboradores, (1994) através de micrografias, reforçam a morfologia do grânulo descrita anteriormente para o amido de feijão (*Phaseolus*) apresentados na Figura 1 (e), sendo estes ovais e lisos⁵⁷.

Os grânulos de amido de frutos e nozes podem variar em relação à forma. Alguns grânulos de nozes apresentam morfologia incomum de meia esfera, embora a maioria apresente forma redonda⁵¹.

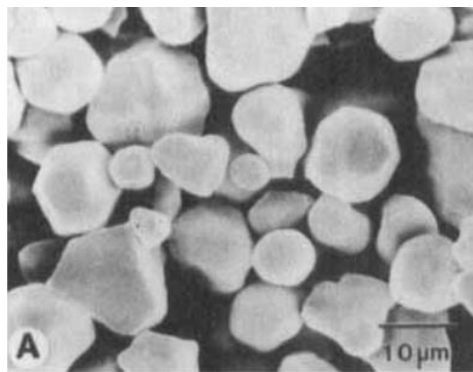
O grupo dos frutos e nozes, não possui um padrão morfológico tão definido quanto os descritos anteriormente. As descrições dos grânulos dos amidos de banana (*Musa spp.*) e semente de babaçu (*Orbygnia martinana*), podem ser dadas como exemplo. Os grânulos do amido de banana (Figura 1(d)), foram descritos como formas irregulares e de disco. Os da semente de babaçu (Figura 1(f)), como de uma forma incomum, com estruturas de semelhantes à de um ovo que parecem ter sido clivadas em várias posições conferindo à esses formas semiesféricas com uma superfície plana em uma extremidade⁵⁷.



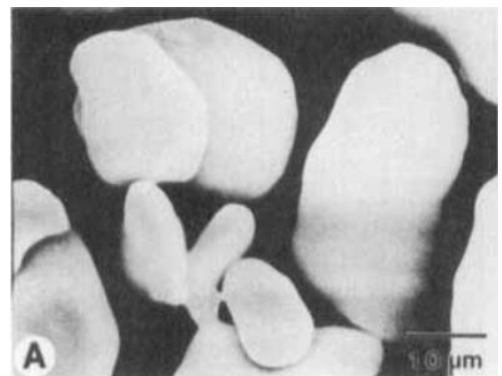
a) Grânulo do amido de batata
(*Solanum tuberosum*) (600 X)



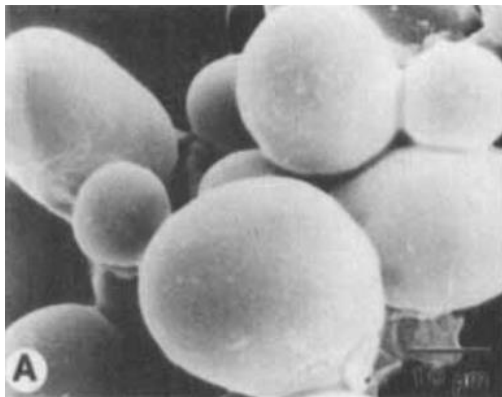
b) Grânulo do amido de mandioca
(*Manihot esculenta*) (1500 X)



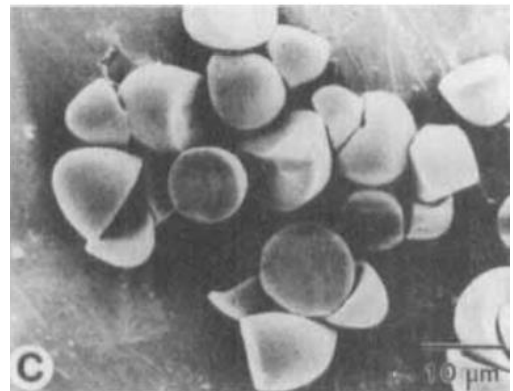
c) Grânulo do amido de milho (*Zea mays*) (1500 X)



d) Grânulo do amido de banana (*Musa spp.*) (1500 X)



e) Grânulo do amido de feijão
(*Phaseolus*) (1500 X)



f) Grânulo da semente de babaçu
(*Orbygnia martinana*) (1500 X)

Figura 1- Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) dos grânulos de amido de batata, tapioca, milho, banana, feijão e babaçu (adaptado)⁵⁷.

3.3 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO AMIDO

Quimicamente, o amido é um polissacárido constituído por unidades repetitivas de glicose. Estruturalmente, ele é composto de duas frações: amilose formada por ligações glicosídicas do tipo α -1,4, sendo uma cadeia linear; e amilopectina, formada por ligações do tipo α -1,4 e α -1,6, dando origem a uma cadeia altamente ramificada^{4,37,63}.

A amilose (Figura 2(A)) é um polímero essencialmente linear, formado por unidades de α -D-glicopirranose ligadas em α -1,4, com poucas ligações α -1,6 (entre 0,1% e 2,2%). Essa molécula possui número médio de grau de polimerização (DP) de 500-5000 unidades de resíduos de glicose, com comprimentos médios de cadeia (CL) de 250-670⁴. A massa molecular média é da ordem de 250.000 Daltons (1500 unidades de glicose), mas varia muito entre as espécies de plantas e dentro da mesma espécie, dependendo do grau de maturação. Moléculas de amilose de cereais são geralmente menores do que aquelas de outras origens (ex. tubérculos e leguminosas)⁴.

Muitas propriedades da amilose podem ser explicadas pela sua habilidade em formar diferentes estruturas moleculares tipos A, B (duplas hélices) e V (única hélice). Proposta em 1999 através do aperfeiçoamento estrutural de dados espectroscópicos (¹³C NMR) e difratometria de raios X⁶⁴, o tipo V_{amilose} é obtido sinteticamente através de precipitação em solução aquosa pela adição de moléculas pequenas (álcoois, cetonas, lípidios e iodo) e encontra-se representado na Figura 3 (a) e (b), em secção transversal e visão lateral da cadeia, respectivamente. A maioria dos métodos preconizados para determinação do teor de amilose baseia-se no fato de que, em soluções aquosas neutras, a estrutura normal de espiral possui a capacidade de interagir com iodo, produzindo complexo de inclusão helicoidal com aproximadamente seis moléculas de glicose por giro, no qual o iodo se encontra na cavidade central da hélice⁴.

A amilopectina (Figura 2B) é o componente ramificado do amido. Ela é formada por cadeias de resíduos de α -D-glicopirranose (entre 17 e 25 unidades) unidos em α -1,4, sendo fortemente ramificada, com 4% a 6% das ligações em α -1,6. Apresenta massa molecular variando em 50-500 x 10⁶ Daltons^{65,66}.

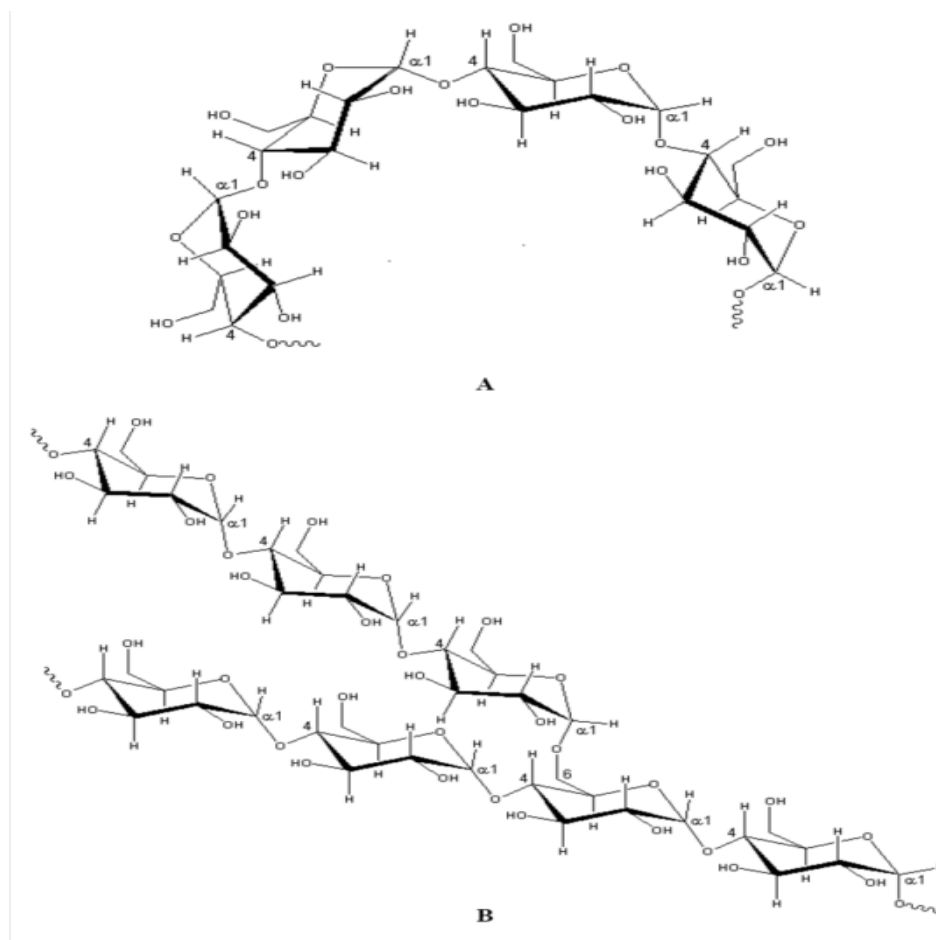
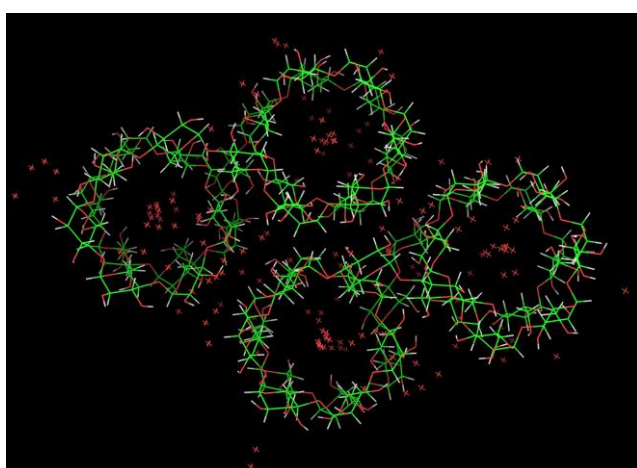
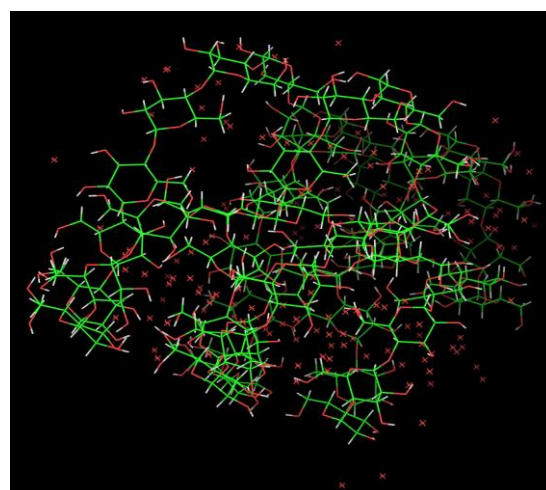


Figura 2 - Representação das estruturas químicas das frações de (A) amilose e (B) amilopectina (adaptado)⁴.



(a) Cadeia de V_{amilose} em seção transversal



(b) Cadeia de V_{amilose} em visão lateral

Figura 3 - Representação da cadeia de V_{amilose} (26 cilcomaltohexaicoosaose) com moléculas de água desorientadas obtida através de dados espectroscópicos (^{13}C NMR) e de difratometria de raios X (XRD) aperfeiçoado computacionalmente. Cadeia em seção transversal (a) e com visão lateral (b), imagens obtidas através de software PyMol Viewer⁶⁴.

A proporção relativa de amilose:amilopectina varia consideravelmente não só entre diferentes tipos de plantas, mas dentro de uma mesma espécie de planta, parte da planta e condições de crescimento e de desenvolvimento. Vários estudos têm mostrado que a variação desta razão implica modificações das suas características físico-químicas e interações com outras moléculas, o que resulta em diferentes temperaturas de gelatinização, solubilidade em água, nas propriedades microscópicas e de barreira e as propriedades mecânicas em filmes de amido^{4,25,37,67}.

Particularmente para a indústria de alimentos, a razão amilose: amilopectina afeta algumas propriedades úteis, como gelatinização, solubilidade, características de pasta e textura. Portanto, o teor de amilose torna-se um parâmetro de qualidade importante para a área de aplicação de produtos à base de amido³⁴.

Além dos componentes majoritários (amilose e amilopectina), outros constituintes químicos, como: lipídios (fosfolipídios e ácidos graxos livres), fosfato monoéster e proteínas/enzimas também são encontrados na composição química granular do amido e mesmo que em menor quantidade, exercem efeitos sobre as propriedades físico-químicas de interesse⁶⁸.

Os lipídios são os constituintes de menor quantidade no amido e ocorrem em formas variadas (ácidos graxos livres ou fosfolipídios) a depender da origem botânica dos grânulos⁶⁹. De fato, a presença desses constituintes está associada à alta retrogradação em amidos cerosos e às diferentes temperaturas de formação de pasta e viscosidade nas diferentes origens botânicas dos grânulos⁷⁰.

O fósforo está presente na forma inorgânica (fosfato) e na forma orgânica (fosfato monoéster) sendo encontrado em todas as variedades de amido investigadas até então^{71,72}. Sabe-se que em amidos nativos, como os de batata e arroz, os fosfatos monoéster encontram-se majoritariamente ligados às moléculas de amilopectina com remanescente nas de amilose^{73,74}. O amido de batata apresenta o maior conteúdo absoluto de fosfato orgânico em relação aos outros amidos comuns (acima de 0,09%)^{71,72}.

Tais ligações variam em relação aos átomos de oxigênio dos grupos glicosídicos de coordenadas atômicas O-6, O-3 e O-2 (61; 38 e 1%, respectivamente). A técnica de ressonância magnética nuclear de fósforo, ³¹P-NMR (discutida na seção 3.6.6), tem sido empregada no estudo dos fosfolipídios e dos fosfatos orgânicos e inorgânicos na estrutura granular dos amidos. Através dessa técnica, foi possível reconhecer a inversa relação entre o conteúdo de fosfato monoéster com a cristalinidade⁷⁵ e entalpia de gelatinização⁷⁶ dos amidos nativos indicando, portanto, a presença desses constituintes na região cristalina.

3.4 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS DO AMIDO

A organização estrutural dos grânulos de amido pode ser descrita considerando a organização molecular de estruturas cristalinas, características cristalinas ultra estruturais e a organização supramolecular⁶⁸.

Ao menor nível estrutural, estudados por microscopia ótica, os grânulos são formados por regiões amorfas e cristalinas alternadas em formato de conchas com cerca de 100-400 nm de espessura, conhecidas como anéis crescentes^{53,54}.

Em maiores níveis de organização molecular (estudados por XRD e SEM), foi notada a periodicidade de 9-10 nm dentro do grânulo. Tal periodicidade foi interpretada como a ocorrência de lamelas cristalinas e amorfas, formadas por aglomerados de cadeias laterais que se ramificam das moléculas de amilopectina dispostas radialmente. Essa organização parece ser uma característica universal dos grânulos de amido independente da fonte botânica⁷⁷.

A organização molecular das estruturas cristalinas foi estudada através da técnica de XRD precedida por hidrólise ácida dos grânulos, com a finalidade de remover as porções amorfas resultando em difratogramas bem resolvidos. Tais estudos forneceram dados referentes aos padrões de cristalinidade dos grânulos de amido relacionados às estruturas de dupla hélice tipos A e B, discutidas mais detalhadamente na seção 3.6.2. Os avanços nesse campo de estudo contribuíram para o entendimento das propriedades físico-química dos grânulos, como as temperaturas de gelatinização para os cristais tipos A e B. Nesse aspecto, uma tendência de aumento nas temperaturas de gelatinização diretamente proporcional à cristalinidade total dos grânulos tipo A foi notada, enquanto que inversamente para os grânulos dos tipos B⁶⁸.

Os avanços nos estudos estruturais do amido através das técnicas de difratometria ou espectroscopias em estado sólido estavam limitados pela impossibilidade da análise dos grânulos de forma individual⁶⁸, pelo fato de serem muito pequenos. Em 1951⁷⁸, a caracterização dos grânulos de amido (elípticos, menores do que 100 μm) tornou-se viável através da nova proposta de difração de raios X de microfoco com radiação síncrotrona (*European Synchrotron Radiation Facility* – Grenoble, França) que possibilitou o mapeamento da ocorrência das regiões cristalinas granulares sem nenhum preparo de amostra.

Os resultados obtidos através dessa técnica forneceram informações chave sobre a natureza e estrutura cristalina do grânulo por meio de padrões de difração bidimensionais orientados, proporcionando um mapeamento completo dos componentes cristalinos⁷⁸ (Figura 4). Nesse contexto, tornou-se possível a determinação da orientação das duplas hélices de amilopectina na lamela cristalina, radialmente orientadas (perpendiculares à superfície do grânulo).

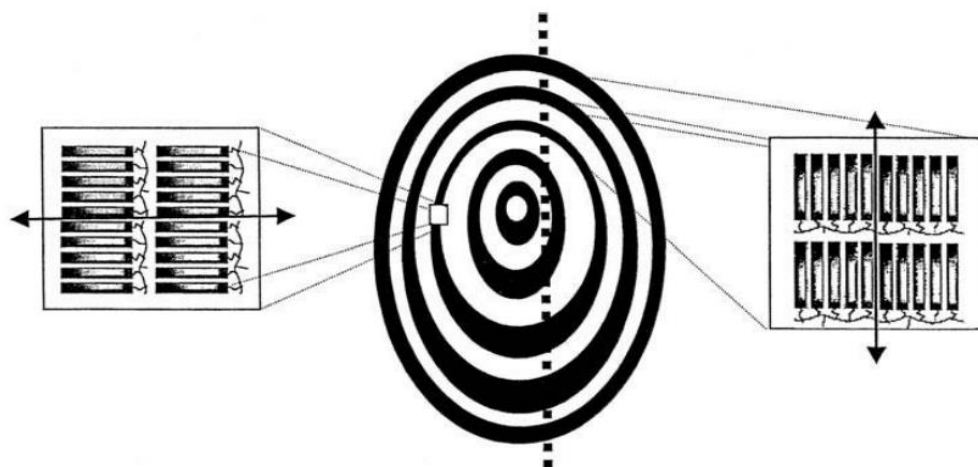


Figura 4 - Seção transversal do grânulo de amido mostrando a orientação das duplas hélices de amilopectina na lamela cristalina (a linha tracejada indica o caminho seguido para obtenção do diagrama de difração utilizando a difração de raios X micro focal com diâmetro de 2 μm)⁷⁹

A técnica de radiação síncrotrona também foi crucial no reconhecimento de um terceiro padrão obtido a partir de difratometria de raios X, o tipo C. O mapeamento micro focal de difração síncrotrona em ângulo largo, empregado na elucidação da estrutura granular de amidos de ervilha, revelou a coexistência das estruturas tipos A e B dentro do mesmo grânulo com 60 e 40% de cada uma delas, respectivamente⁸⁰. A coexistência das duas estruturas ocorre com os cristais do tipo A na parte mais externa do grânulo e o tipo B majoritariamente mais distribuído na região central^{80,81}.

A proposta da organização supramolecular dos grânulos de amido foi explicada através das regiões cristalinas e amorfas alternadas na estrutura lamelar, em concordância com o modelo de clusters de amilopectina^{82,83} e com a periodicidade (a cada 10 nm) revelada pelas técnicas de difratometria de raios X e microscopia eletrônica⁸⁴.

O estudo das ligações glicosídicas através de modelos computacionais de densidades eletrônicas e torções de ligações forneceu evidências de que as cadeias de amilopectina poderiam se organizar em forma de duplas hélices através das ligações α -1,6 com mínima distorção⁸⁴. Tais evidências se integraram facilmente ao modelo de *cluster* proposto (mais moderno até então), com cadeias lineares curtas das ramificações sendo entrelaçadas nas duplas hélices enquanto que os pontos de ramificação estão localizados nas regiões mais amorfas entre os clusters de duplas hélices⁸⁴. A referida estrutura pode ser esquematicamente representada pela Figura 5.

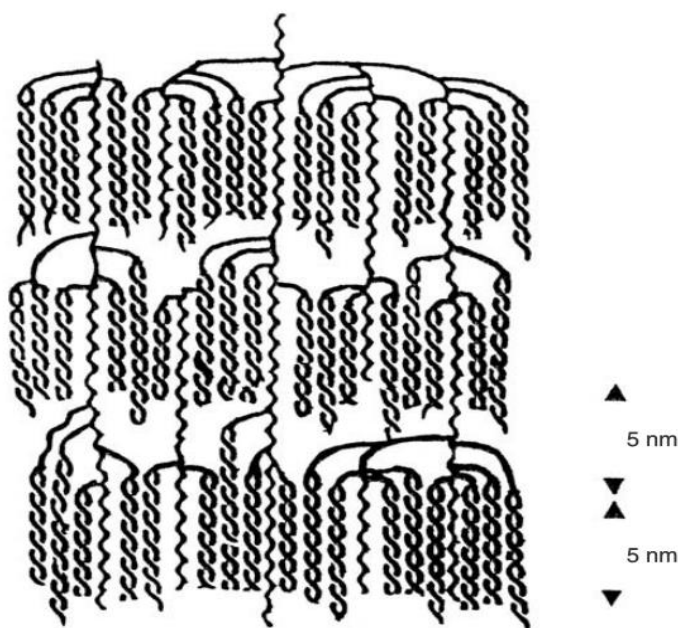


Figura 5 – Estrutura cristalina de dupla hélice formadas por arranjos moleculares de amilopectina⁸⁵.

O entendimento do arranjo estrutural de moléculas de amilopectina em formato de duplas hélices explica a ocorrência de ordem estrutural granular, o que não seria esperado para um polímero ramificado.

Em 1986⁸⁶, mais avanços foram alcançados através do estudo da distribuição poli modal das cadeias de amilopectina por sistema cromatográfico de alto desempenho através de exclusão molecular. As investigações da estrutura fina da amilopectina provaram que os amidos do tipo A tem cadeias constitutivas mais curtas e uma fração de cadeia curta maior do que as amilopectinas do tipo B.

Em 1997⁸⁷, novos avanços revelaram que os amidos do tipo A tinham pontos de ramificação dispersos em regiões amorfas e cristalinas, enquanto os do tipo B apresentavam maior parte das ramificações em áreas amorfas. Portanto, a junção das evidências encontradas a respeito do padrão organizacional das moléculas de amilopectina provou que os pontos de ramificação desempenham papel fundamental na determinação do tipo da linhagem do cristal. As investigações a respeito dos *clusters* de amilopectina foi incrementada no ano 2000. Através de linhagens mutantes de amidos de milho dos tipos A e B, foi provado que a zona de ramificação dos *clusters* no tipo A é mais larga, mas com uma distância pequena entre os pontos de ramificação quando comparadas ao tipo B comprovando, portanto, que o comprimento das cadeias de amilopectina e a distribuição das ligações glicosídicas α -1,6 são determinantes nas características dos *clusters*⁸⁸.

Nesse contexto, percebe-se que a construção do modelo estrutural da arquitetura dos grânulos de amido é um tema de alta complexidade sendo oriundo da complementariedade de evidências de diferentes técnicas analíticas. Ainda que complexo, para fins de aplicação, o entendimento da organização supramolecular é um dos fatores determinantes nas propriedades físico-químicas dos grânulos além do teor de amilose.

Até então, muitos questionamentos a respeito da estrutura granular do amido já haviam sido respondidos. Entretanto, a localização e estado da fração polimérica de menor tamanho molecular (a amilose) ainda estava a ser elucidada.

Os estudos a respeito da disposição das cadeias de amilose permearam por três possibilidades: I) ocorrência tangencial à orientação radial da amilopectina, de modo a minimizar as interações helicoidais⁸⁴; II) ocorrência radial da amilose em cadeias individuais⁸⁰ e III) ocorrência em cadeias individuais intercaladas entre os clusters de amilopectina tanto nas regiões cristalinas quanto nas semicristalinas^{89,90}. Após experimentação com reação cruzada⁹⁰, ficou evidenciada a maior aceitação da III hipótese. A Figura 6 ilustra a organização estrutural do amido com as frações de amilose e amilopectina, sem considerar a presença de componentes minoritários como os lipídios e o fósforo ligados.

Desde então, novos estudos foram conduzidos com a finalidade de compreender I) em quais regiões dos grânulos as cadeias de amilose estariam preponderantemente localizadas e II) qual a conformação preferencial dessas cadeias nos grânulos nativos.

No aspecto da localização das cadeias de amilose, foram constatadas evidências substanciais que indicam maior quantidade de amilose em direção à periferia do grânulo⁹¹ e que essas (localizadas na periferia) possuem comprimentos de cadeia mais curtos quando comparadas as cadeias localizadas no centro⁸⁴. Estudos a respeito da lixiviação da amilose dos grânulos através da gelatinização demonstraram que a maioria das cadeias lixiviadas estavam em estado único ou *single helical state* (correspondente ao tipo V_{amilose}) ao em vez de dupla hélice (tipos A e B)⁹².

Não menos curioso e complexo do que a organização das estruturas de amilopectina, o fato de as cadeias de amilose ocorrerem na periferia granular com determinado tamanho de cadeia e na região central com outro tamanho de cadeia, gera por si, um forte impacto relacionado ao método de determinação do teor de amilose por ligação com iodo (discutidos na seção 3.5). A lixiviação total das cadeias de amilose (localizadas na região central e periférica) que demandam de temperaturas acima de 90°C⁹³, podem gerar determinações inconsistentes do teor dessa fração. Além disso, a absorvidade pelo método de ligação com o iodo é afetada por alguns fatores, dentre eles o comprimento de cadeia⁹⁴.

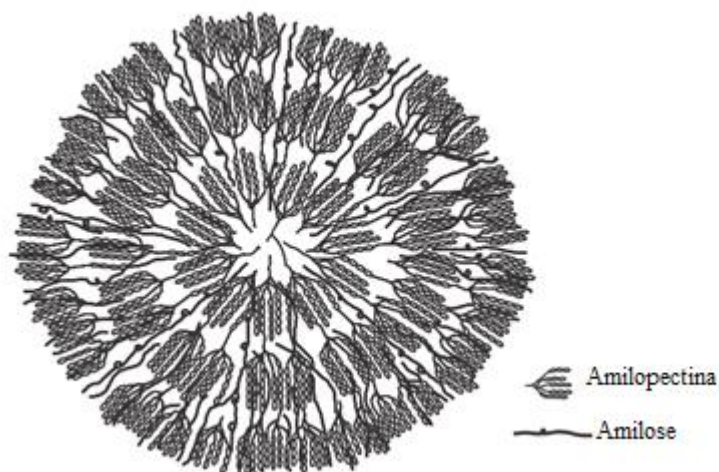


Figura 6 - Representação esquemática da organização do grânulo de amido com disposição dos polímeros de amilose (minoritário) e amilopectina (majoritário), adaptado⁹⁵.

3.5 TÉCNICAS EMPREGADAS PARA A DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMILOSE NO AMIDO

Como mencionado na sessão 3.1, o teor de amilose é um parâmetro de qualidade importante para os produtos que contém amido, tanto na indústria de alimentos quanto nos demais segmentos.

Por este motivo, os estudos para os desenvolvimentos de métodos através de diferentes técnicas analíticas têm sido feitos, com a finalidade de estimar o teor de amilose em amostras de amidos de diferentes fontes.

A comparação das determinações do teor de amilose através de diferentes técnicas analíticas permite combinar os melhores resultados em nível de precisão e exatidão com os menores custos, dispêndio de tempo de análise e em alguns casos presença ou ausência de analistas qualificados.

Dessa forma, a comparação das vantagens e desvantagens das diferentes técnicas analíticas, permite a escolha da melhor opção para a determinação do teor de amilose em amostras de amido nas indústrias. A Tabela 3, sumariza a aplicação das diferentes técnicas com os resultados obtidos na determinação do teor amilose em amidos de diferentes fontes.

Tabela 3 - Técnicas empregadas na determinação do teor de amilose em amostras de amidos de diferentes fontes.

Técnica	Origem da amilose	Teor estimado (%)	Referência
HPSEC	Trigo	27±0,2	96
	Arroz	23,7±1,4	97
	Feijão	43,4(CV<5%)	98
	Batata	28,0±1,0	99
DSC	Trigo	46,8±1,0	34
	Arroz	28,7±1,9	100
Espectrofotometria	Arroz	13,6 (CV<5%)	101
	Arroz	24,9±4	97
	Arroz	24,9±4	100
	Arroz	29,1(CV<5%)	102
	Batata	23,3 (CV<5%)	101
	Batata	22,8±0,2	103
	Batata	26,0 (CV<5%)	37
	Batata	21,0	104
	Banana	9,11-17,16 (10 cultivares diferentes)	105
	Banana	22,20 ± 0,74; 24,70 ± 0,01	106
	Milho	23,0	107
	Milho	28,0	104
	Milho	21,40	108
	Milho	21,0	109
	Milho	23,1; 24,7	110
	Mandioca	18,8 (CV<5%)	101
	Mandioca	14,20; 16,62; 16,90; 17,37; 19,03;20,86; 25,31% (CV <5%)	111
	Mandioca	18,3; 18,5; 18,8	112
	Mandioca	17,0	104
	Feijão	32,3(CV<5%)	98
Trigo	40,1±0,3	34	
Trigo	22,5 (CV<5%)	101	
Trigo	18,1 (CV<5%)	102	
Potenciometria	Cevada	23,8±1	113
	Trigo	25,8±0,5	101
¹ H NMR	Batata	27,5±0,5	101
	Arroz	21,7±0,5	101
	Mandioca	23,4±0,5	101
GPC (coluna aberta)	Mandioca (uso industrial)	17,1±0,25	114
	Mandioca (consumo alimentar)	18,0±0,25	114
Enzimática	Arroz	29,1(CV<5%)	102
	Batata	26,3(CV<5%)	102
	Trigo	23,4(CV<5%)	102
Precipitação com lecitina (Concanavalina A)	Arroz	16,9(CV<5%)	115
Termogravimetria	Arroz	29,1 (CV<5%)	102
	Batata	26,9 (CV<5%)	102
	Trigo	20,9 (CV<5%)	102

HPSEC: Cromatografia líquida de alto desempenho. DSC: Calorimetria exploratória diferencial. GPC: Cromatografia de permeação em gel.

O método mais utilizado para a determinação da proporção de amilose de amidos é o método espectrofotométrico. Por ser o método referência, este consiste em dispersar os grânulos de amido com etanol e gelatinizar com hidróxido de sódio, seguido pela formação de um complexo azul de inclusão, devido à reação da fração de amilose com espécies químicas aniônicas formadas pela solução de iodo/iodeto de potássio.

Este método é descrito na norma ISO (International Organization for Standardization) para a determinação do teor de amilose para o arroz polido¹¹⁶ e também para o arroz semibranqueado e não parboilizado¹¹⁷. Ambos são aplicáveis em amido de arroz à uma fração de mais do que 5% de amilose. No entanto, para uso em outras matrizes, a validação é necessária.

Algumas desvantagens podem ser citadas no método ISO, como: o valor superestimado da fração de amilose, devido à capacidade do iodo também se ligar a amilopectina, mesmo em pequenas quantidades; a utilização de reagentes; o tratamento da amostra, que envolve a gelatinização tornando o método moroso^{97,118}.

Além disso, as evidências experimentais utilizando o método de ligação com o iodo mostrou que cada fonte de amido diferente necessita da geração de uma curva analítica. Isso significa que as determinações dos teores de amilose em amidos de diferentes origens são normalmente difíceis^{34,102}.

Outros métodos, como o enzimático¹⁰², o cromatográfico^{97,118} e o calorimétrico^{100,119,120}, também têm sido relatados na literatura para a determinação da proporção de amilose. Mas, em geral, requerem a preparação da amostra ou envolvem custos elevados.

Os métodos enzimáticos são altamente específicos, mas podem subestimar o teor de amilose de materiais contendo amido resistente à hidrólise enzimática. Além disso, o procedimento é dispendioso e demorado³⁴.

A cromatografia por exclusão de tamanho de alto desempenho (HPSEC), tem sido amplamente utilizada para estimar a massa molecular (Mw) absoluta e a proporção das frações de amilose e amilopectina em amido. As faixas de massa molecular estimadas por HPSEC, são usualmente obtidas por filtração em gel, através de colunas analíticas ligadas em série, mantidas à temperaturas entre 50-70°C. A detecção das frações do amido, fundamentada na difração da luz, é realizada pelos detectores de índice de refração (IR) e *multi angle laser light scattering* (MALLS).

Além das determinações dos intervalos de Mw e da proporção entre os polissacarídeos do amido, os dados obtidos por HPSEC provaram a existência de diferentes estruturas de

amilopectina oriundos de diferentes genótipos do amido de mandioca, que resultam em grânulos de amido com diferentes propriedades químicas e físicas²⁷.

A maioria absoluta dos métodos de preparação de amostra utilizando a técnica de HPSEC, demanda agentes dispersantes tais como DMSO ou solução alcalina forte, como os hidróxidos de sódio e potássio, por exemplo^{34,70,121}, tornando a referida técnica laboriosa e de alto custo quando empregada para a determinação do teor de amilose em análises de rotina.

O método calorimétrico (DSC) é baseado na medição da entalpia de fusão ou formação de complexos amilose-lípido após a dispersão completa da estrutura granular na presença de um excesso de fosfolípido ou monoglicérido. Este método também precisa de uma curva analítica. Assim como os métodos de ligação com iodo, tendem a superestimar o teor de amilose^{34,100}.

A termogravimetria (TG) foi aplicada na determinação do teor de amilose. Desenvolvido por Stawski (2008), o método foi implementado com sucesso em amostras de amido de arroz, batata e trigo. A técnica tem a vantagem de não incluir etapas de processamento da amostra, ser rápida e facilmente adaptável à análise de rotina. Este método baseia-se na influência da proporção de amilose na estabilidade térmica do amido. Assim, uma curva analítica foi construída a partir da temperatura a perda de massa de 50% (T50%) de misturas binárias que contêm amilose:amilopectina¹⁰².

Através de estudos de NMR, Dunn e Krueger (1999)¹⁰¹ encontraram evidências da existência de três tipos de amilopectina, por meio do cálculo da razão das ligações (α -1,4) / (α -1,6). A amilopectina cerosa com maior grau de ramificação; a amilopectina de batata com um grau intermédio de ramificação e a amilopectina presente em amido de milho com elevado teor de amilose que tem menor grau de ramificação. Estes resultados provam que as diferentes fontes de amido fornecem diferentes estruturas de amilopectina, o que é importante, pois interferem na determinação do teor de amilose através da técnica de RMN.

Desta forma, o método termogravimétrico para a determinação da proporção de amilose proposto por Stawski (2008), tem vantagens interessantes sobre o método espectrofotométrico e outros métodos baseados na reação com iodo, muitas vezes utilizados para esta finalidade¹⁰². No entanto, para determinar o teor de amilose em amostras de amido nativo por termogravimetria através da construção de curvas analíticas por misturas binárias de amilose e amilopectina, é necessário separar essas frações da respectiva fonte de amido, a fim de verificar a viabilidade do método termogravimétrico proposto. Tal necessidade é consequência dos diferentes comportamentos térmicos das frações do amido observados para cada fonte botânica analisada.

3.6 OBTENÇÃO DE AMIDOS AMORFOS, AMILOSE E AMILOPECTINA

A obtenção dos amidos amorfos é fundamentada no aquecimento dos grânulos nativos em presença de plastificantes (normalmente água pura). O aquecimento acima da temperatura de gelatinização dos amidos nativos (cerca de 70°C), promove a ruptura do arranjo cristalino formado majoritariamente pelas frações de amilopectina. Ratnayake e Jackson, 2007¹²² conduziram estudos empregando diferentes temperaturas para tratamento de amidos nativos em meio aquoso e comprovaram a ruptura do arranjo cristalino através da avaliação da perda gradual de birrefringência dos grânulos ao microscópio ótico e das modificações na endotérmica de fusão em ensaios de DSC em excesso de água.

Portanto, de uma maneira geral, os métodos para obtenção de amidos amorfos^{123,124} são baseados no tratamento térmico dos amidos nativos em meio aquoso, por curto período (cerca de 30 min), e em ausência de atmosfera oxidativa, com a finalidade de prevenir quaisquer alterações durante o processo de aquecimento.

Os métodos empregados para a obtenção das frações de amilose e amilopectina são baseados na formação seletiva de complexos de inclusão de álcoois com a fração de amilose, gerando espécies orgânicas insolúveis em meio aquoso, após a ruptura da estrutura granular do amido, seguida por centrifugação.

Pioneiramente descrito por Schoch (1942)¹²⁵, o método de separação do amido por precipitação seletiva com 1-butanol foi realizado com a finalidade de superar dificuldades no isolamento dos componentes do amido. Essas dificuldades podem ser numeradas: 1) dispersão incompleta do amido, 2) métodos de separação “lentos” como a eletroforese, os quais permitiam a retrogradação do amido para uma forma menos solúvel, e 3) interferências de impurezas, especialmente os ácidos graxos. Esses estudos tornaram-se uma tendência para que novos métodos empregassem álcoois ou outras pequenas moléculas orgânicas na separação dos constituintes do amido.

Alguns anos depois, Montgomery-Senti (1958)¹²⁶ empregaram o mesmo princípio de precipitação seletiva avaliando alguns álcoois (dentre eles o 1-butanol) desenvolvendo um método de separação que oferecia as vantagens devido ao amido ser submetido apenas às condições brandas de temperatura, pH e tratamento mecânico, com a proposta de minimizar a degradação ou a modificação dos constituintes separados. Além das referidas vantagens, o método aperfeiçoado possui uma etapa de pré-tratamento que consiste em romper a estrutura cristalina do amido e remover possíveis lipídios complexados.

Em seguida, o mesmo princípio de precipitação seletiva foi utilizado por outros autores em diferentes fontes de amido como milho³⁴, arroz⁸⁶, batata e trigo em estudos com diferentes

finalidades¹²⁷. Ainda que com pequenas modificações tais como: temperatura empregada para a dispersão do amido nativo, velocidade e tempo de centrifugação e emprego de diferentes agentes precipitantes, os métodos de separação das frações de amilose e amilopectina podem ser genericamente representados em quatro etapas (Figura 7), conforme descrito por Schoch (1942)¹²⁵.

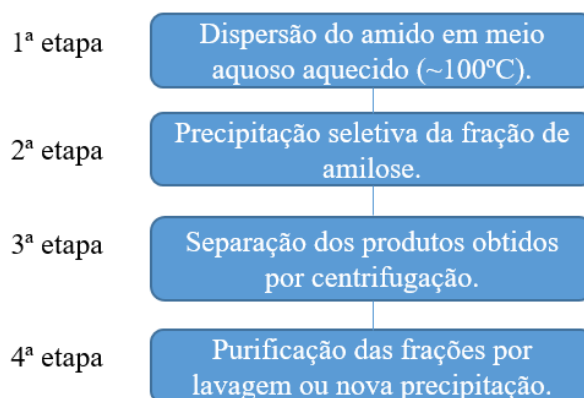


Figura 7 - Fluxograma genérico das quatro etapas de separação das frações de amilose e amilopectina descrito por Schoch (1942), adaptado¹²⁵.

3.7 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS AMIDOS

3.7.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (SEM)

Por definição, o princípio de um microscópio eletrônico de varredura consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura¹²⁸ está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície da amostra segundo uma malha retangular. O sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação¹²⁸.

Em nível morfológico, a técnica mais comumente empregada para a visualização da estrutura granular do amido é a microscopia de luz polarizada que permite a visualização dos tamanhos, formatos e posição do hilum, muito embora seja a técnica mais antiga⁵⁷.

Com os avanços tecnológicos, a microscopia eletrônica de varredura (SEM) passou a ser empregada para as caracterizações mais apuradas dos grânulos de amidos nativos. Essa técnica apresenta duas grandes vantagens sobre microscopia de luz polarizada: Primeiro, tem profundidade de foco centenas de vezes maior do que o microscópio de luz, e, segundo, tem

uma ordem muito maior de resolução e ampliação⁵⁷. Por esse motivo, a referida técnica ganhou mais notoriedade nos estudos de caracterização dos grânulos de amidos de diferentes fontes ou cultivares e dos produtos de modificações químicas ou físicas desses grânulos.

Enquanto os microscópios de luz polarizada permitiam a visualização da estrutura granular do amido com aumento de cerca de 2000 vezes, o instrumento de SEM passou a viabilizar as micrografias com aumento de até 300.000 vezes, para a maior parte dos materiais sólidos, com a conservação da profundidade de campo e a possibilidade de visualização de superfícies rugosas¹²⁸. A maior resolução do instrumento de SEM é proveniente da utilização de um feixe de elétrons no lugar dos fótons utilizados no microscópio óptico convencional, como (Figura 8).

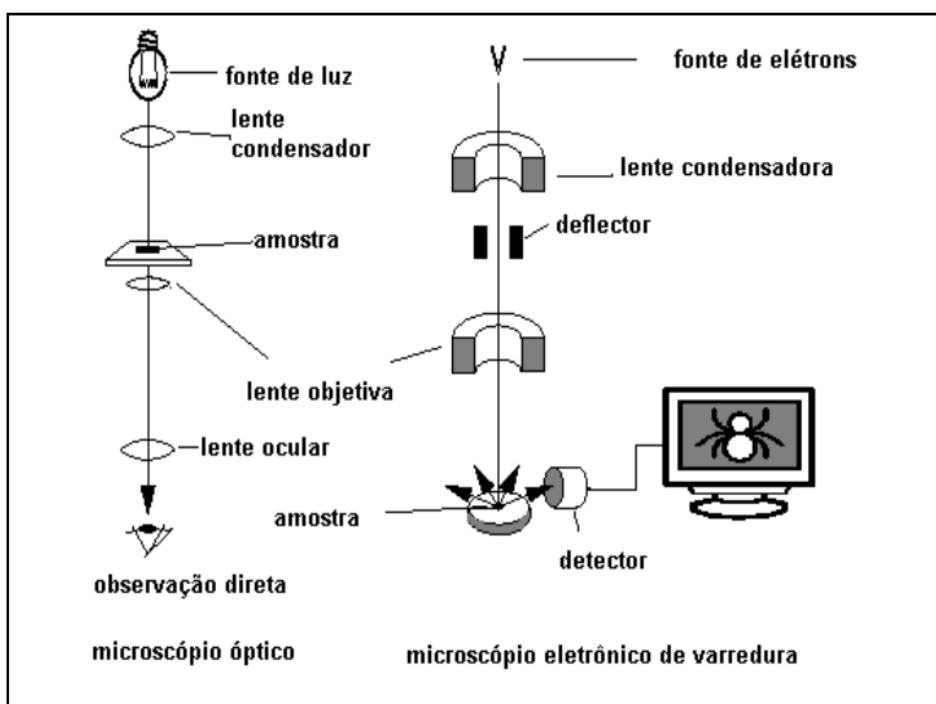


Figura 8 - Esquema representativo do microscópio de luz polarizada (esquerda) e do microscópio eletrônico de varredura (direita)¹²⁸.

O aumento de resolução das imagens está fundamentado na aplicação do princípio do dualismo onda partícula e na relação entre o comprimento de onda de um elétron em função de sua energia¹²⁹. Portanto, as micrografias com maiores resoluções são visualizadas através da combinação de: I) campos elétricos com voltagens suficientemente grandes (ex: 50 kV), II) elétrons de comprimento de onda extremamente curtos (potenciais produtores de alta resolução) e III) a possibilidade da focalização dos feixes eletrônicos produzidos através de campos eletrostáticos¹²⁸.

A obtenção das micrografias através da técnica de SEM é relativamente simples e rápida, mas necessita de uma etapa prévia de metalização das amostras com baixa condutividade elétrica, como as amostras de amido.

As micrografias dos amidos nativos de batata, banana, milho e mandioca (objeto de estudo do presente trabalho), de babaçu e feijão (típicos cultivares brasileiros), estão apresentados na Figura 1.

3.7.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (XRD)

Descobertos pela primeira vez em 1895, por Röntgen, os raios X ganharam tal nomenclatura em consequência da natureza desconhecida¹³⁰. Cerca de 30 anos após tal descoberta, Max von Laue observou o efeito de difração da radiação X causada pela natureza cristalina dos materiais que após a comprovação da natureza ondulatória da radiação, deu origem à um novo método de investigação da estrutura atômica dos materiais¹³¹.

Dentre as emissões eletromagnéticas de comprimento curto, encontram-se os raios X. A origem da emissão dessa radiação se dá quando uma partícula eletricamente carregada colide com um anteparo. Normalmente, os elétrons são utilizados para a emissão, de maneira que, para este fim deve haver uma mínima diferença de potencial responsável pela aceleração destes elétrons em direção ao anteparo, produzindo raios-X que irradiam em todas as direções¹³². A radiação que sai do anteparo é constituída de diferentes comprimentos de onda que por sua vez são dependentes da voltagem aplicada (normalmente expressa em kV). A Figura 9 exemplifica os conceitos através do espectro de raios X para um alvo de molibdênio em função da voltagem aplicada em relação à presença de dois tipos de radiação: característica (representadas por κ_{α} e κ_{β}) e contínua.

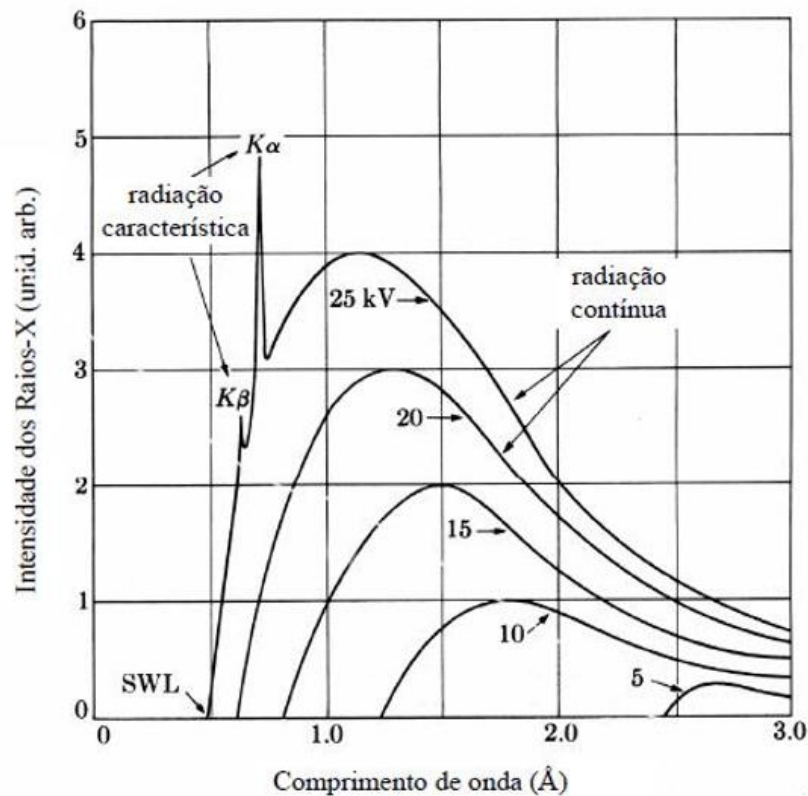


Figura 9 - Espectro de raios-X para um alvo de molibdênio em função da voltagem aplicada¹³⁰.

No espectro apresentado, a radiação contínua é causada pela rápida desaceleração dos elétrons, muito embora nem todos sejam desacelerados da mesma maneira. Os elétrons desacelerados em um único impacto liberam toda energia de uma só vez dando origem aos fótons de máxima energia, correspondentes aos raios X de comprimento de onda mínimo assinalados na Figura 9 como λ_{SWL} .

Outros elétrons não são freados em uma única colisão, sofrendo impactos que causam perdas sucessivas de frações de energia cinética total, até que esta seja totalmente transformada. Sendo assim, somente uma fração de sua energia é emitida como radiação, dando origem a fótons de energia inferior à máxima, que correspondem aos raios-X com comprimentos de onda maiores que o comprimento de onda mínimo (λ_{SWL}). A totalidade destes comprimentos de onda, maiores que o comprimento de onda mínimo, constitui o espectro contínuo.

Um movimento ondulatório “deformado” por um obstáculo que possui dimensões próximas ao seu comprimento de onda origina o fenômeno conhecido como difração. No caso dos raios X (que ocupam no espectro eletromagnético de 0,01 a 100 Å) a medida comumente empregada para os comprimentos de onda é o angstrom (Å), equivalente a 10^{-10} m¹³⁰.

Para efeitos de aplicabilidade, a teoria que descreve o fenômeno de difração de raios-X nos cristais, ou seja, que relaciona os parâmetros do cristal e da radiação incidente é conhecida como Lei de Bragg, dada a relação da Equação 1:

$$2d \operatorname{sen}\theta = n\lambda \quad (\text{Eq.1})$$

sendo d (distância entre os planos da rede cristalina), θ (ângulo de difração e complementar do ângulo de incidência), n (número inteiro chamado de ordem de difração) e λ (comprimento de onda do raio incidente). A Figura 10 representa esquematicamente o princípio da técnica de difração de raios X através da Lei de Bragg, que assume que as ondas incidentes são refletidas por planos paralelos de átomos do cristal, e que os raios refletidos a partir dos sucessivos planos produzem interferência construtiva desde que a diferença de caminho óptico seja um múltiplo inteiro do comprimento de onda do raio incidente.

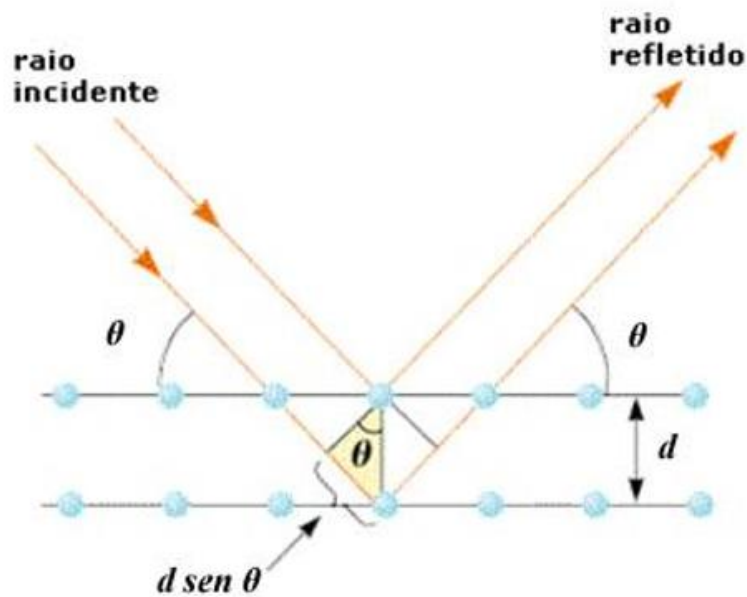


Figura 10 - Difração de raios X por um cristal, segundo a Lei de Bragg¹³².

Estudos de difratometria de raios-X mostram que os grânulos de amido possuem natureza semicristalina, com índices de cristalinidade que variam em cerca de 15-45%^{4,96}. A região amorfa é constituída pelas ramificações das cadeias de amilopectina e pelas frações de amilose dispostas entre essas cadeias. A região cristalina consiste essencialmente por amilopectina, mas com algum pequeno conteúdo de amilose. Além disso, a técnica permite classificar os padrões de cristalinidade dos grânulos de amido na forma nativa em três tipos: A,

B e C, que dependem parcialmente do comprimento da cadeia da amilopectina, da densidade de empacotamento dentro dos grânulos e da presença de água.

Os amidos do tipo A apresentam picos de difração correspondente ao ângulo de Bragg 2θ em aproximadamente 15,3; 17,1; 18,2 e 23,5⁶³. Os amidos do tipo B apresentam picos de difração correspondente ao ângulo de Bragg 2θ em aproximadamente 5,6; 14,4; 17,2; 22,2 e 24⁶³. Os amidos do tipo C apresentam picos de difração correspondente ao ângulo de Bragg 2θ em aproximadamente 5,6; 15,3; 17,3 e 23,5⁶³. A estrutura tipo V, apresenta padrões de difração dependentes da molécula “*guest*” formadora de complexo com a hélice. Dentre as diversas possibilidades de formação de complexo de inclusão, está a V-amilose-1-butanol, com picos característicos correspondentes ao ângulo de Bragg em: 9,30; 11,95; 21,23 2θ ¹³³ (os padrões de difração podem ser observados na Figura 11).

A cristalinidade do tipo A ocorre na maioria dos cereais. Nesse tipo, a estrutura da amilopectina possui comprimentos de cadeias de 23 a 29 unidades de glicose. A ligação de hidrogênio entre os grupos hidroxila das cadeias das moléculas de amilopectina resultam na formação de uma estrutura de dupla hélice externa. Entre essas micelas, cadeias lineares de porções de amilose são empacotadas para formação da ligação de hidrogênio com cadeias lineares externas da amilopectina^{30,63}.

A estrutura do tipo B consiste de uma amilopectina de comprimento de cadeia entre 30 a 44 moléculas de glicose com água interdifundida⁶³.

As estruturas do tipo C possuem comprimento de cadeia de 26 a 29 unidades de glicose, e é uma combinação da cristalinidade do tipo A com o tipo B. Essa estrutura é típica em ervilhas e feijões⁶³.

As duplas hélices do tipo B possuem orientação antiparalela, hexagonal com canal central rodeado por 6 duplas hélices e são caracterizadas por serem preenchidas por 36 moléculas de água por célula unitária. Em contraste, as organizações de duplas hélices do tipo A são mais compactas pelo fato de possuírem uma sétima dupla hélice dentro do canal central, tornando-as, portanto, capazes de acomodar apenas 8 moléculas de água em cada célula unitária (Figura 12)⁶³.

O tipo V distingue-se claramente das estruturas A e B, pelo fato de possuírem uma estrutural unilateral, colapsada com 6 resíduos de glicose que se repetem a cada 8 Å. A designação “V” é derivada dos primeiros estudos estruturais desse tipo o qual acreditava-se que o padrão de cristalinidade encontrado era referente ao amido gelatinizado, portanto, foi empregada a primeira letra da palavra *Verkleisterungsspektrum*, de origem alemã¹³⁴.

Estudos das transformações alomórficas comprovaram que a transição do tipo V para o tipo B é dependente de hidratação, já a transição reversa (B para V) requer a presença de agentes complexantes como os álcoois lineares e ramificados¹³⁴, DMSO¹³⁴, nitroparafinas¹³⁴ emulsificantes¹³³, ácidos graxos e fosfolipídios¹³⁴.

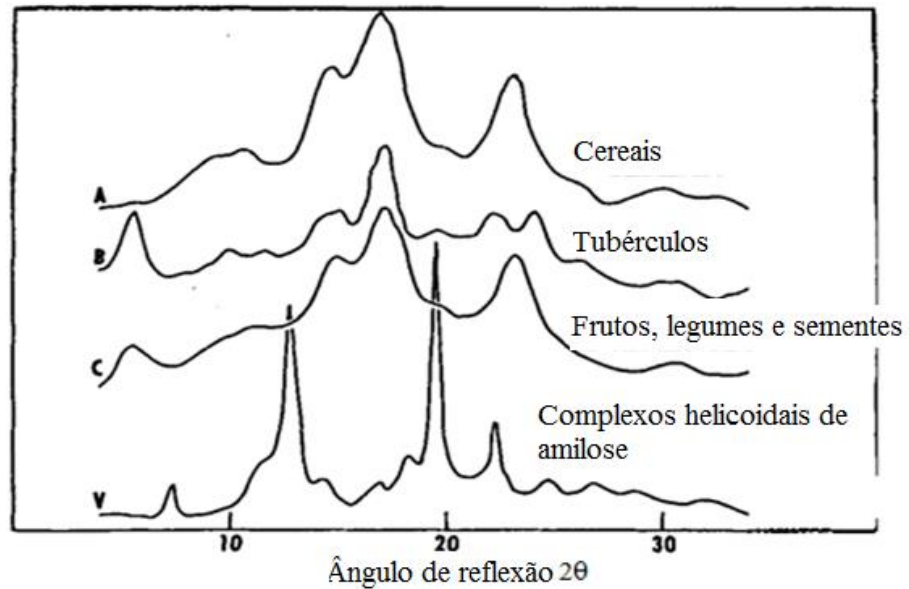


Figura 11 - Padrões de difratometria de raios X (XRD) dos amidos de cereais (A), tubérculos (B), frutos, legumes e sementes (C) e de complexos de lipídios com as cadeias helicoidais da fração de amilose (V), adaptado¹³⁴.

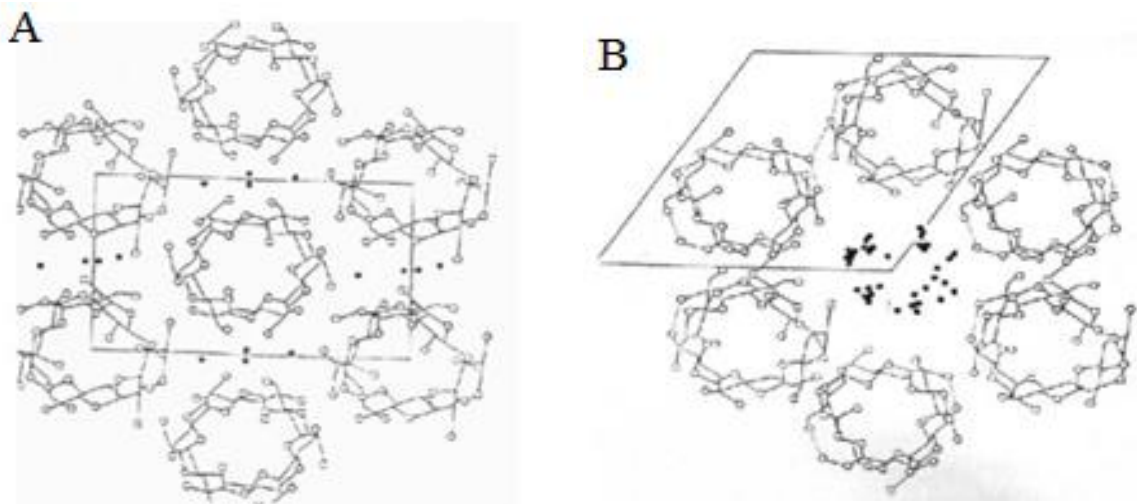


Figura 12 - Arranjo de células unitárias de duplas hélices (secção destacada) dos tipos A (esquerda) e B (direita)¹³⁵.

3.7.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A técnica de FTIR é comumente empregada na avaliação de amidos resultantes de modificações estruturais que incluem: I) succinilação II) acetilação, III) maleinização, que podem aumentar o valor funcional e a gama de propriedades físico-químicas. A detecção destas alterações estruturais no amido, devido às modificações químicas, constitui uma necessidade industrial importante para determinar a qualidade dos amidos modificados¹³⁶.

No caso dos amidos nativos, a referida técnica (quando realizada através da compressão do pó seco da amostra com KBr, formando uma pastilha) não fornece muitas informações uma vez que os perfis espectroscópicos dos amidos nativos são muito similares. Tal similaridade é decorrente das sobreposições dos modos vibracionais de glicose, os quais dominam o espectro abaixo da região de 1500 cm^{-1} ¹³⁶.

A região próxima à 1404 cm^{-1} apresenta bandas que se referem aos modos vibração das ligações H-C-H, C-H e O-H. As bandas observadas na região entre 1157 cm^{-1} e 1018 cm^{-1} podem ser atribuídas ao estiramento da ligação C-O. A banda correspondente à 933 cm^{-1} foi atribuída aos modos de vibrações do anel D-glicopiranosose⁶⁰. Kizil e colaboradores (2002)¹³⁶ atribuíram essa banda às ligações glicosídicas α -1,4. Essa atribuição foi possível, pois estudos simultâneos de FTIR e FT-Raman foram realizados¹³⁷. As regiões abaixo de 800 cm^{-1} no espectro de infravermelho exibem modos de vibração complexos, com consequente baixa resolução das bandas¹³⁷. As bandas observadas em 3402 cm^{-1} e 2924 cm^{-1} podem ser atribuídos aos estiramentos das ligações O-H e C-H, respectivamente^{136,137}. A banda observada em 1651 cm^{-1} é característica das vibrações das moléculas de água¹³⁶. A Figura 13, exemplifica a ocorrência das referidas bandas através dos perfis de FTIR obtidos através do método de pastilhas de KBr para os amidos de milho (variedades *high protein* e *oil*), trigo, batata, milho e milho ceroso (*waxy*).

Apesar da técnica de compressão de amostras em pastilhas ser impactada pela complexidade dos modos de vibração de glicose, uma nova abordagem a respeito da elucidação da organização estrutural dos amidos tem sido reportada através dos dispositivos de refletância total atenuada (ATR)¹³⁸.

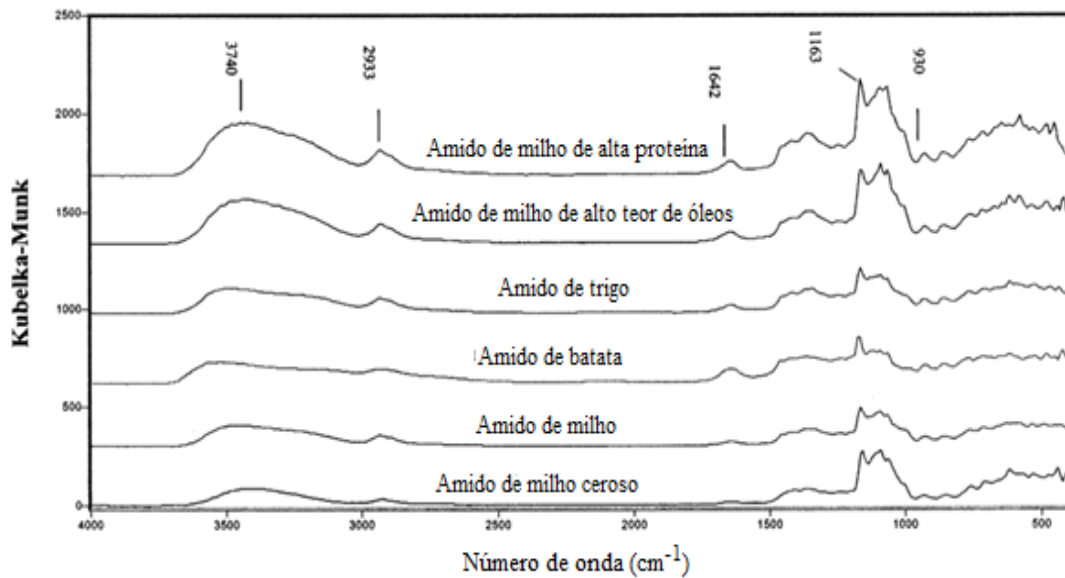


Figura 13 - Espectros de FTIR obtidos através de pastilhas de KBr dos amidos nativos de milho (variedades *high protein* e *oil*), trigo, batata, milho e milho ceroso (*waxy*)¹³⁶.

A teoria do ATR¹³⁹ descreve o funcionamento do dispositivo quando um feixe de infravermelho atravessa o prisma de forma que ele seja internamente refletido na parte de trás do prisma que está em contato com a amostra (Figura 14).

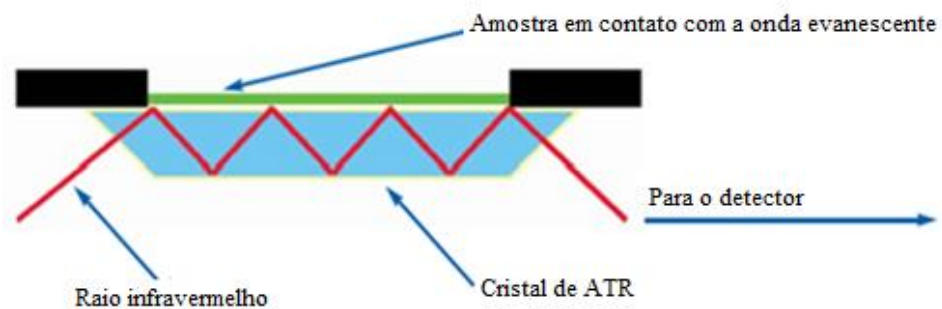


Figura 14 - Representação esquemática do princípio de funcionamento de um dispositivo de ATR a partir do raio infravermelho (radiação incidente), cristal de ATR ou ERI (elemento de reflexão interna) e amostra em contato com a radiação evanescente, adaptado¹⁴⁰.

Nessa situação, uma onda evanescente penetra a amostra tornando-se apta a interagir com a mesma logo além da interface prisma-amostra conduzindo à uma absorção da radiação. A intensidade da absorção depende primeiramente do contato apropriado da amostra com o prisma e da profundidade da penetração da onda evanescente, tornando, portanto, o ATR um

método de análise de superfície¹³⁸. A profundidade da referida penetração (d_p) é diretamente proporcional ao número de onda, portanto, quanto maior o número de onda analisado maior a penetração na superfície da amostra, sendo descrita pela Equação 2.

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\text{sen}^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}} \quad (\text{Eq.2})$$

sendo, d_p (profundidade da penetração do raio incidente), λ (número de onda incidente), n_1 (índice de refração do ERI), n_2 (índice de refração da amostra).

A intensidade dos espectros obtidos através da técnica de ATR é afetada por pelo menos dois parâmetros relacionados ao ERI: I) o comprimento (L) e a espessura (τ), ambos relacionados ao número de reflexões internas (N), conforme Equação 3.

$$N = \frac{L}{\tau} \cos \theta \quad (\text{Eq.3})$$

Nesse sentido, a compreensão da teoria do ATR discutida por Harrick (1967)¹³⁹ viabiliza a escolha do ERI mais adequado para a análise desejada, considerando: a faixa de interesse, a natureza do solvente utilizado (quando houver), o pH do sistema, as diferentes propriedades físico-químicas dos cristais de ATR disponíveis no mercado e o custo envolvido.

Os polissacarídeos, como o amido, absorvem na região de $1200-800 \text{ cm}^{-1}$ ¹³⁸. Dessa forma, a combinação dos dispositivos de ATR com métodos de deconvolução tem-se mostrado muito úteis para obtenção de espectros sensíveis à organização externa dos grânulos de amido e consequentes elucidções das organizações estruturais de dupla hélice curtas e longas¹³⁸. A Figura 15 exemplifica alguns espectros de absorção obtidos através de dispositivo ATR e a Tabela 4 os tipos de cristais mais comuns para o acessório, com as devidas propriedades de interesse para a escolha.

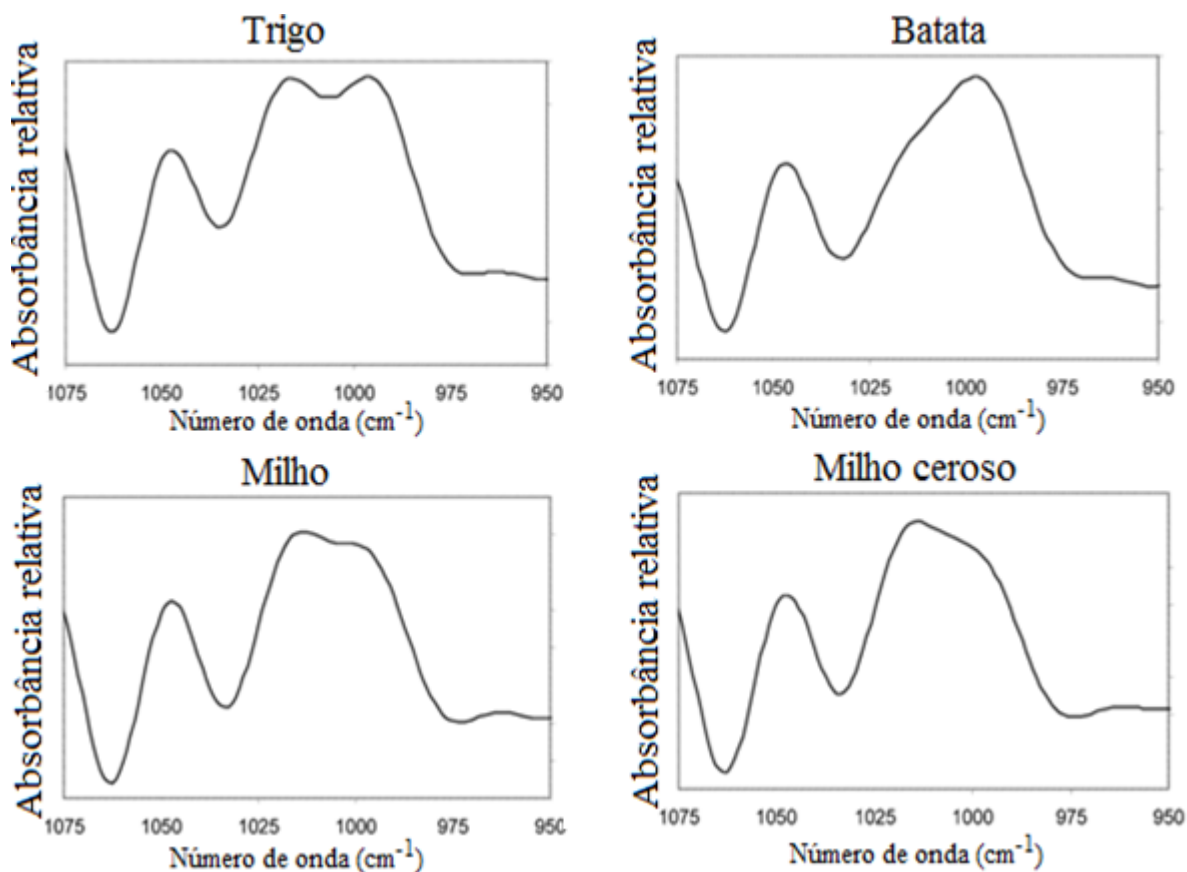


Figura 15 - Espectros de FTIR-ATR dos amidos de trigo, batata, milho e milho ceroso (*waxy*), adaptado¹³⁸.

Tabela 4 - Propriedades físicas e químicas de alguns elementos de ATR (adaptado)¹⁴¹

ERI	n1	Dureza (Koop*)	Ponto de ebulição (°C)	Solvente de limpeza	Faixa de transmissão (cm ⁻¹)
AMTIR	2,5	170	300	Álcool, acetona, tolueno e água	11.000-1.000
Germânio	4,0	550	936	Álcool, acetona, tolueno e água	5.000-900
Safira	1,7	1370	2030	Álcool, acetona, tolueno e água	3.300-2.800
Silício	3,4	1150	1420	Álcool, acetona, água	9.500-1.500
KRS-5	2,4	40	415	Metil-etil-acetona	14.000-400
ZnSe	2,4	137	1520	Álcool, acetona, água	20.000-700

*Kg mm⁻²

3.7.4 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR

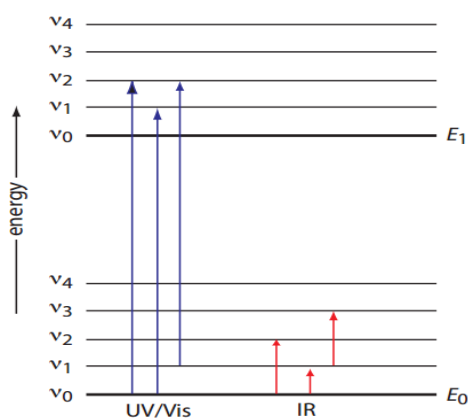
Na espectroscopia de absorção molecular um feixe de radiação eletromagnética atravessa a amostra. Grande parte da radiação passa através da amostra sem que haja perda de intensidade. No entanto, em comprimentos de onda selecionados, a intensidade da radiação é atenuada. Esse processo de atenuação é chamado de absorção¹⁴².

A atenuação na intensidade da radiação é decorrente da absorção de fótons por átomos ou moléculas do analito. No caso das radiações ultravioleta e visível, a absorção dos fótons altera a energia dos elétrons de valência dos constituintes do analito, causando uma mudança nos níveis de energia (do menor para o maior nível). Além das mudanças nos níveis de energia, a absorção de fótons também causa mudanças vibracionais nas moléculas¹⁴².

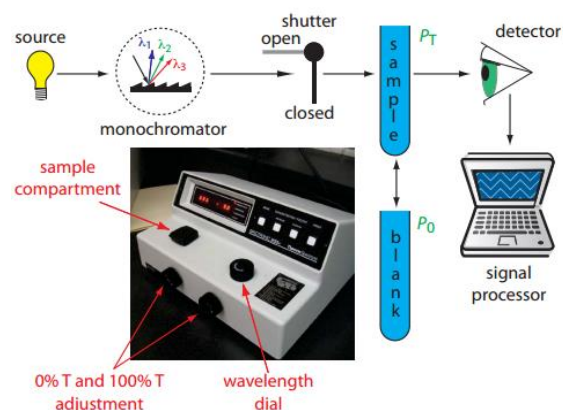
O diagrama da Figura 16 (a) exemplifica a interação dos fótons com os elétrons de valência, com dois níveis eletrônicos de energia (E_0 e E_1), cada uma com cinco níveis de energia vibratória (V_0 - V_4). A absorção de radiação ultravioleta e visível (representado por UV/Vis) leva a uma mudança nos níveis eletrônicos de energia dos constituintes do analito e possivelmente na energia vibratória. A mudança na energia vibracional sem alteração nos níveis eletrônicos ocorre com a absorção de radiação infravermelha (representado por IR)¹⁴².

Fundamentada na interação da radiação com os elétrons de valência dos átomos e moléculas, a instrumentação analítica viabilizou a obtenção de informações sobre diversos compostos. O espectrofotômetro, instrumento que usa um monocromador para seleção de comprimento de onda encontra-se esquematicamente representado na Figura 16 (b). Na representação esquemática, o instrumento de feixe único possui fonte luminosa (*source*) emite a radiação que será filtrada por um monocromador para que ocorra a passagem somente do comprimento de onda selecionado. O feixe atravessa a célula contendo a amostra (*sample*) chega ao detector com determinada intensidade, é convertido à um sinal eletrônico.

Com os avanços na técnica, surgiram os instrumentos de dois feixes e de arranjo diodos permitindo a caracterização espectroscópica em múltiplos comprimentos de onda. Além dos avanços instrumentais, a espectroscopia derivada tem sido aplicada como uma ferramenta poderosa para a análise quantitativa de misturas multicomponente. Quando derivada, os máximos e mínimos da função original assumem valores zero, e as inflexões são convertidas em máximos ou mínimos, respectivamente¹⁴³.



- a) Exemplo da interação dos fótons com os elétrons de valência dos constituintes do analito, com dois níveis eletrônicos de energia (E_0 e E_1), cada uma com cinco níveis de energia vibratória (V_0 - V_4)¹⁴².



- b) Esquema representativo de um espectrofotômetro de único feixe de luz¹⁴². Componentes: Fonte (*source*), monocromador (*monochromator*), obturador (*shutter*), amostra (*sample*), branco (*blank*), detector (*detector*) e processador de sinais (*signal processor*).

Figura 16 - Princípios da espectroscopia de absorção molecular: a) Diagrama exemplificando a interação dos fótons com os elétrons de valência dos constituintes do analito, com dois níveis eletrônicos de energia (E_0 e E_1), cada uma com cinco níveis de energia vibratória (V_0 - V_4); b) Esquema representativo de um espectrofotômetro de único feixe de comprimento de onda.

Por muitas décadas as soluções de iodo/iodeto tem sido empregadas para facilitar a identificação de fibras celulósicas, através da técnica de espectrofotometria. A interação das espécies aniônicas formadas nas soluções de iodo/iodeto com os polissacarídeos apresentam cores diferentes a depender da presença e natureza de cada polissacarídeo¹⁴⁴.

Na área de ciência de alimentos a espectroscopia de absorção molecular conjugada à derivação dos espectros foi aplicada com êxito à: determinação de antocianinas em couve vermelha, amora-preta, cereja e uva¹⁴⁵; determinação de vitamina C em frutas e sucos comerciais¹⁴⁶; determinação de ureia em leite com aumento de resolução, sensibilidade e seletividade dentre outras aplicações relevantes¹⁴⁷.

No caso do amido, a espectroscopia de absorção molecular tem sido empregada na determinação do teor de amilose através de métodos que foram aprimorados com o tempo. A Tabela 5 apresenta algumas publicações relevantes a respeito dos avanços através dessa técnica.

O fundamento da determinação consiste no fato de a fração da amilose ser capaz de formar complexo de inclusão com íons tri iodeto (em meio aquoso) modificando a cor da solução para azul escuro. A amilopectina interage parcialmente modificando a cor da solução, mas com a coloração de menor intensidade.

Tabela 5 - Espectroscopia de absorção molecular aplicadas ao estudo dos amidos de diferentes fontes.

Fonte de amido	Principais avanços do estudo	Referência
Batata	Estudo da hidrólise da β -amilase no amido para a preparação de amilose e amilopectina de batata e de um método de quantificação baseado na intensidade da coloração azul desenvolvida pela formação do complexo com iodo.	148
Batata, trigo e milho	Desenvolvimento de um método para determinação do teor de amilose em amido com base nas medidas colorimétricas formadas pelo complexo com iodo, com apenas um comprimento de onda e sem utilizar dispersantes potencialmente destrutivos para o amido.	110
Batata, trigo, milho, arroz, feijão	Desenvolvimento de um método para determinação do teor de amilose em amidos de cereais, baseado na dispersão em DMSO-ureia prevenindo o erro analítico causado pela complexação dos monoacilglicerois com a fração de amilose.	108
Batata	Novo método espectrofotométrico para a determinação dos teores de amido total, amilose e amilopectina em amidos desengordurados. Baseado nos espectros de absorção da amilose e amilopectina, o novo método utiliza seis comprimentos de onda por meio de um arranjo diodos.	149
Batata	Estudou a extração do amido de tecidos foliares através de ácido perclórico seguido pela quantificação do teor de amilose através de um método espectrofotométrico utilizando dois comprimentos de onda simultâneos.	150
Milho	Desenvolveu um procedimento rápido para quantificação do teor de amilose em amostras de amido de milho viabilizando análises em menos de 1 hora com teores equivalentes ao do método tradicional.	151

Neste complexo, a amilose forma uma estrutura helicoidal com espaçamento de 8 Å, com diâmetro externo de 13 Å e uma cavidade central com 5 Å de largura, envolto por 6 monômeros de glicopiranosose¹⁵², conforme ilustrado na Figura 17.

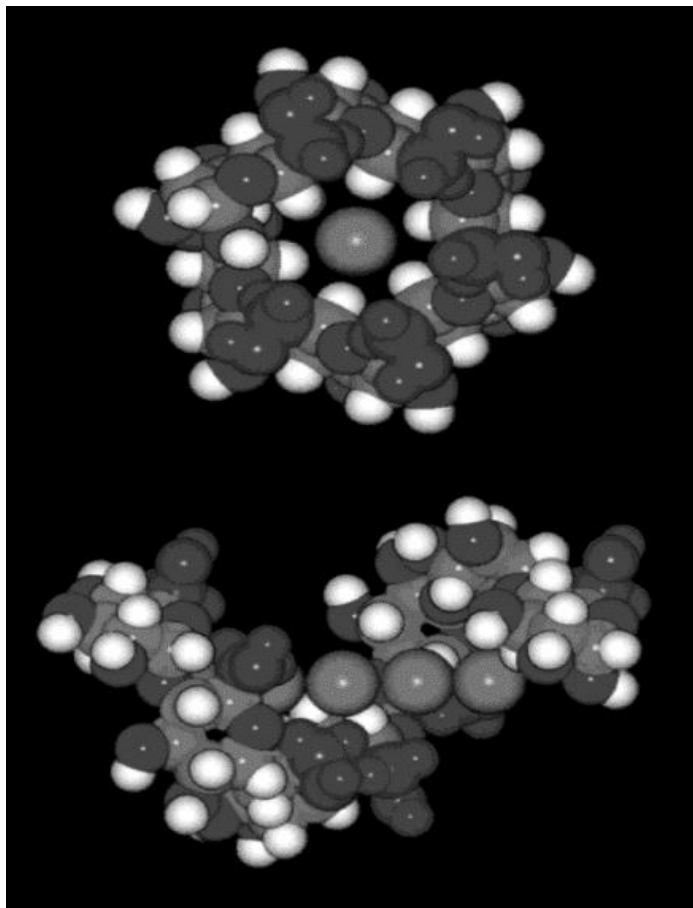


Figura 17 - Estrutura do complexo amilose-iodo, representada por 6 unidades de anidro glicose contendo um ânion penta iodeto na cavidade da hélice vista do topo (imagem de cima) e vista lateralmente (imagem de baixo)¹¹⁰.

O espectro de absorção formado pelo complexo depende do comprimento de cadeia da amilose, do tempo em que essa fração fica em contato com a solução de iodeto e do teor nos amidos de diferentes origens¹¹⁰.

A construção da curva analítica para determinação do teor de amilose está fundamentada na direta proporcionalidade entre o valor de absorbância e quantidade de analito em solução, no comprimento de onda de máxima absorção. Por esse motivo, faz-se necessária a determinação do comprimento de onda mais apropriado para tal finalidade através de uma varredura em todo espectro UV-Vis.

Os padrões de absorção das frações de amilose, amilopectina e branco (contendo solução cromófora de iodo) encontram-se exemplificados na Figura 18. Muito embora existam

pontos máximos de absorção entre os comprimentos de onda: 288-292 nm e 349-352 nm, esses não são adequados para estimar o teor de amilose por não apresentarem sensibilidade e especificidade, respectivamente. Na região do visível, as máximas absorções entre 628-636 nm foram descritas como viáveis para as determinações por apresentar altos coeficientes de correlação linear ($r^2=0,9994$) quando empregadas para a construção da curva analítica¹¹⁰.

Dessa forma, a espectroscopia de absorção molecular ainda constitui a técnica mais empregada para o estudo do amido, mais especificamente, para a determinação do teor de amilose. Apesar dos métodos oficiais, como os dos compêndios da ISO^{116,117}, sejam espectrofotométricos, a técnica apresenta uma limitação relacionada às origens dos padrões de amilose e amilopectina. Evidências experimentais sugerem que para a determinação dos teores de amilose de diferentes fontes botânicas é necessário a construção de curva analítica empregando as frações de amilose e amilopectina da mesma fonte botânica a que deseja quantificar o teor de amilose³⁴.

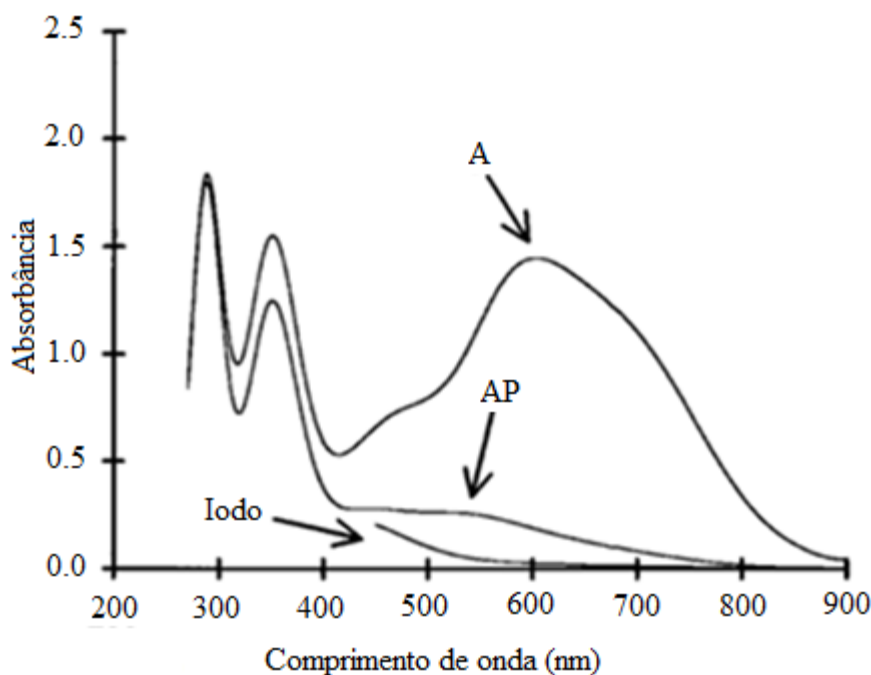


Figura 18 - Perfil de absorção das frações de amilose e amilopectina de batata em presença de solução cromófora de iodo (A=Amilose; AP= Amilopectina e Iodo= branco do reagente contendo iodo)¹¹⁰.

3.7.5 Cromatografia de Líquida de Alto Desempenho por Exclusão de Tamanho (HPSEC)

O conceito de separações baseadas em tamanho molecular por cromatografia foi primeiramente especulado por Synge e Tiselius¹⁵³, baseado na observação de que pequenas

moléculas poderiam ser excluídas dos pequenos poros de zeólitas em função de seu tamanho molecular¹⁵⁴.

Com o passar dos anos, Lindqvist e Storgards reportaram a primeira separação de biomoléculas por exclusão de tamanhos, onde peptídeos foram separados numa coluna recheada com amido¹⁵⁵. Mais avanços nos recheios de colunas de separação por exclusão de tamanhos vieram por meio da utilização de outras resinas poliméricas, como: agar e agarose^{156,157}, poliacrilamida¹⁵⁸ e sephadex¹⁵⁹. Além dos recheios de coluna, novos adventos como a redução de tamanho de poros garantiram o aumento da resolução cromatográfica nas separações por exclusão de tamanho¹⁵⁹. O aumento das opções de colunas cromatográficas com diferentes tamanhos de exclusão promovidos pelos novos recheios, combinados à diminuição do tamanho de partículas, permitiram os avanços nos estudos cromatográficos de polímeros naturais como o amido.

A cromatografia líquida tem sido utilizada tanto na determinação do teor de amilose quanto na caracterização das frações do amido, desde o surgimento dos sistemas de exclusão molecular de baixa pressão⁹⁷. Entretanto, os avanços nesses estudos só foram viabilizados com o advento dos sistemas de separação por exclusão de tamanho com pressões mais altas, atualmente conhecidos como HPLC e UPLC. O incremento da pressão nas colunas de filtração em gel foi essencial, pois tornou o método muito mais rápido e com melhores resoluções cromatográficas.

As colunas de filtração em gel mais comumente empregadas para a separação de biopolímero como o amido são usualmente conectadas em série e mantidas em forno em temperaturas que variam de 50 a 70°C. As colunas mais empregadas são: TSK gel G3000 SWXL e G4000 SWX¹⁶⁰, Shodex OH Pak SB-803,804,805,806^{161,162}, Shodex KS 802,803,804,806⁹⁷, TSK gel G4000,G5000 PW³², Sephacryl S-500 HR¹⁶³ e Ultrahydrogel linear^{164,165} e viabilizam a separação das frações de amilose e amilopectina mesmo com grande heterogeneidade nos tamanhos das cadeias.

O esquema ilustrativo (Figura 19) demonstra o funcionamento do mecanismo de separação cromatográfico por exclusão de tamanhos (SEC). Ao serem solubilizadas, as cadeias poliméricas são dobradas e adquirem conformações semelhantes à esferas, sendo que os tamanhos das esferas são dependentes das massas moleculares das cadeias enroladas entre si. Dessa forma, as esferas de diferentes tamanhos são eluídas pela fase móvel entre os poros da fase estacionária de maneira que as maiores esferas de cadeias poliméricas conseguem adentrar um menor número de poros da fase estacionária enquanto que as menores esferas são capazes de ocupar um número maior de poros¹⁶⁶.

Por tratar-se de um mecanismo de separação exclusivamente físico (ou seja, sem a presença de interações químicas) a interpretação da separação por exclusão molecular pode ser vista como o tempo que cada esfera polimérica demanda para percorrer os poros da resina da fase estacionária. Portanto, as maiores esferas são eluídas nos menores tempos de retenção (primeiros picos) e as menores nos maiores tempos de retenção.

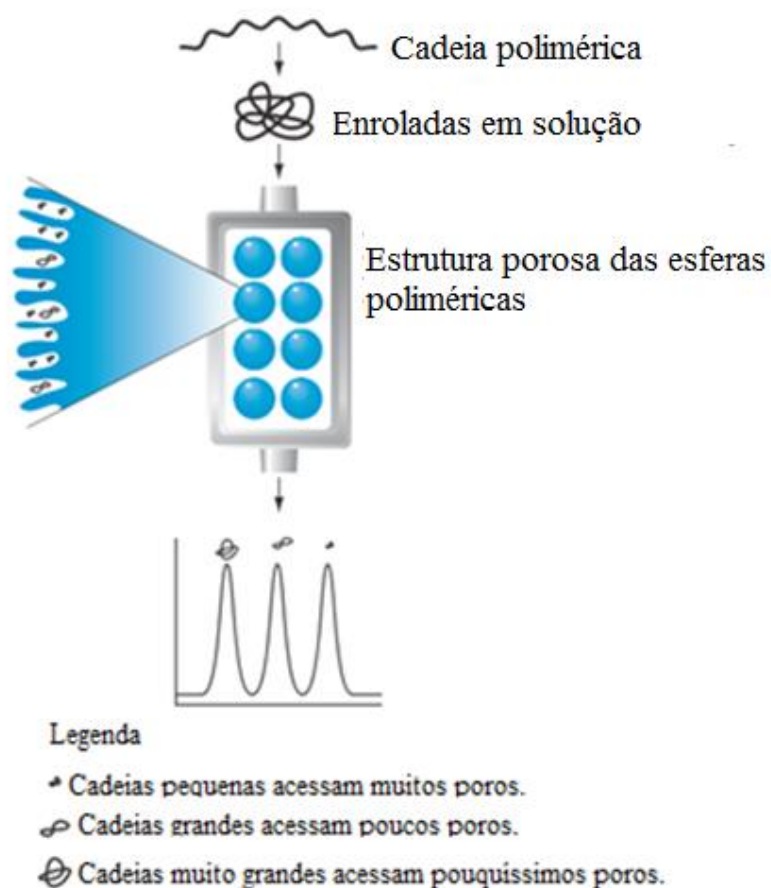


Figura 19 – Esquema ilustrativo do funcionamento do mecanismo de separação cromatográfica por exclusão de tamanhos (SEC). Pequenas cadeias enroladas na solução podem acessar maior número de poros; cadeias grandes acessam menor número de pores e cadeias muito grandes acessam pouquíssimos poros dos polímeros da fase estacionária, adaptado¹⁶⁶.

Pioneiramente, os sistemas de HPLC acoplados aos detectores de índice de refração foram utilizados para determinação dos teores médios de amilose através de uma curva analítica. Com os avanços da técnica, os detectores de baixo (LALLS) e multi (MALLS) espalhamento foram acoplados ao sistema HPLC-IR permitindo a determinação das massas absolutas das frações de amilose e amilopectina oriundas de diferentes fontes de amido⁹⁷.

A ausência da absorção de luz em soluções poliméricas muito diluídas permite a obtenção de informações sobre: I) a massa molecular absoluta de um polímero, a partir da intensidade da difração da luz; II) o tamanho da molécula, através da dependência angular da luz espalhada, conhecida como raio de giro^{70,163}. Tal fundamentação do método de detecção referente ao MALLS, compete à técnica HPSEC-IR-MALLS a independência da construção de curva analítica e a obtenção de informações importantes na caracterização de polímeros naturais como o amido^{97,163}. A Figura 20 ilustra o sistema completo com os principais componentes: reservatório de fase móvel, de gaseificador, bomba analítica, injetor, colunas de separação por exclusão de tamanho acopladas em série, forno, detector de espalhamento de luz multi angular (representado no esquema por *Dawn*), detector de índice de refração (RI), interface do sistema, microcomputador e impressora.

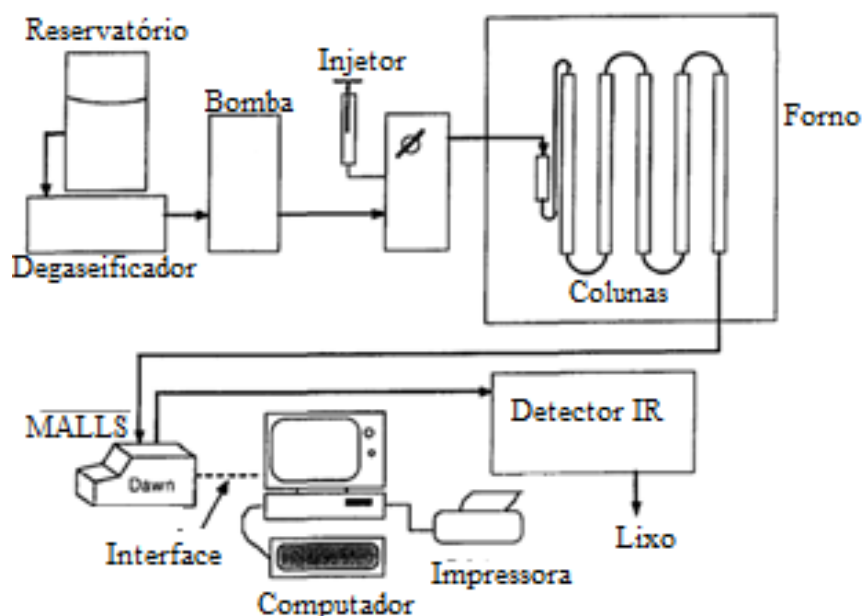


Figura 20 – Esquema ilustrativo da separação por exclusão molecular através de sistema de alta pressão acoplado aos detectores de índice de refração e espalhamento de luz multi angular (HPSEC-DRI-MALLS)¹⁶⁷.

A Figura 21 demonstra a aplicação da separação dos sete amidos nativos de diferentes fontes por exclusão de tamanho através de sistema de alta pressão (HPLC) acoplado ao detector de índice de refração (DRI). O acoplamento de colunas de separação molecular em série permite a separação das frações de amido com resolução cromatográfica suficiente para avaliações de massa molecular e estimativa de conteúdo (através da normalização das áreas), de cada uma delas¹²². Os dados de massas moleculares das frações de amilose e amilopectina de amidos de diferentes fontes encontram-se sumarizados na Tabela 6.

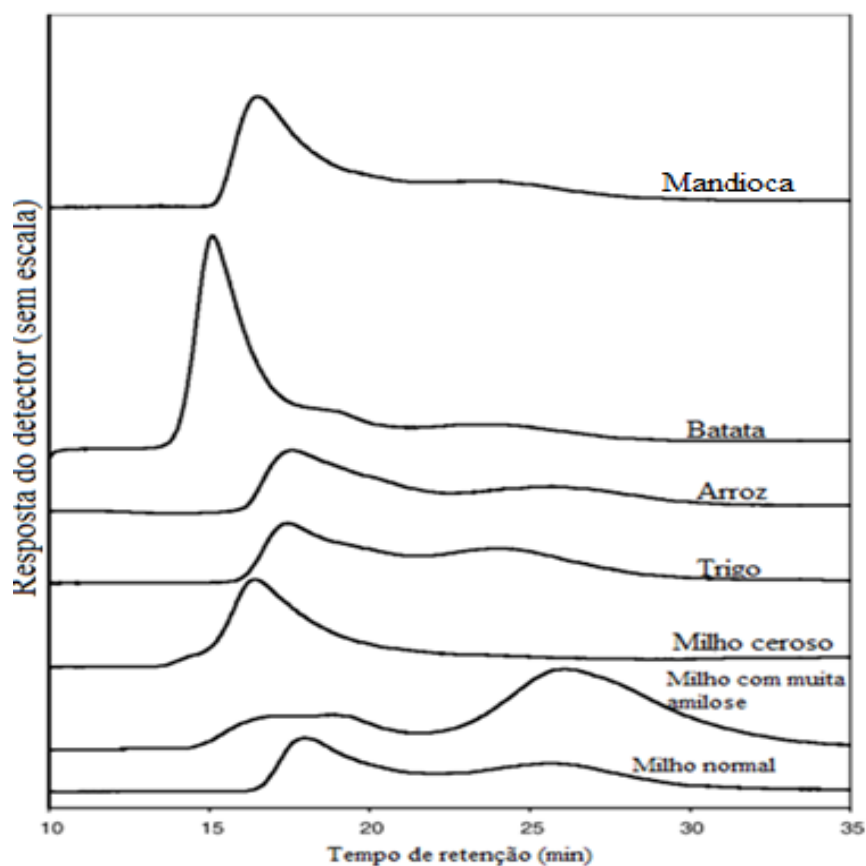


Figura 21 – Exemplo de separação cromatográfica por HPSEC-DRI (55 °C; 1 mL min⁻¹; 25 µL) dos amidos de mandioca, batata, arroz, trigo, milho ceroso (*waxy*), milho com alto conteúdo de amilose (*high amylose*) e milho normal (de cima para baixo). Os picos a esquerda e a direita representam as frações de amilopectina e amilose, respectivamente¹²².

Tabela 6 – Massas moleculares das frações de amilose e amilopectina de amidos de diferentes fontes determinadas através da técnica de HPSEC-MALLS-DRI.

Fração analisada	Fonte botânica do amido	Massa molecular média (Da)	Referência
Amilopectina	Batata	1,7 x 10 ⁸	70
	Batata cerosa	2,0 x 10 ⁸	70
	Banana verde	1,9 x 10 ⁸	70
	Milho normal	4,8 x 10 ⁸	70
	Milho ceroso	8,9 x 10 ⁸	70
	Mandioca	0,7 x 10 ⁸	70
	Milho normal	19,7 x 10 ⁷	163
Amilose	Batata	9,0 x 10 ⁶	167
	Batata doce	1,3 x 10 ⁶	167
	Milho	2,3 x 10 ⁶	163
	Mandioca	2,7 x 10 ⁶	167
	Trigo	3,7 x 10 ⁶	167

3.7.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR).

A técnica de NMR tem sido amplamente utilizada para caracterizar matérias primas alimentares como óleos, gorduras, vinhos e bebidas em geral¹⁶⁸. Os fenômenos de NMR têm as origens dentro do núcleo de certos átomos, tais como ^1H , ^{13}C e ^{31}P . Por esse motivo, cada um desses núcleos pode ser escolhido para que sejam estudados diferentes aspectos das amostras de amido quer sejam naturais ou industrializadas.

Os efeitos só são observados em um campo magnético e envolvem a troca de energia entre pelo menos dois níveis (ressonância). A forma mais simples de evento de NMR envolve dois níveis de energia, sendo o caso para ^1H , ^{13}C e ^{31}P , os núcleos de NMR relevantes para o estudo do amido¹⁶⁹.

Em linhas gerais, a ^{31}P NMR tem sido empregada na determinação dos compostos contendo fósforo em amidos nativos, tais como: fosfato monoéster¹⁷⁰, fosfato, inorgânico¹⁷⁰, grau de fosforilação em C-3 e C-6⁷¹ e fosfolipídios. Já as ^1H , ^{13}C NMR, tem sido aplicada à caracterização estrutural de amidos nos seguintes aspectos: I) influência da hidratação, II) estrutura física, III) estrutura dos cristais de amilose IV) mobilidade da água nos grânulos de amido e V) complexos de inclusão no polimorfo da amilose, tipo -V¹⁶⁸. A Tabela 7 sumariza as publicações de grande relevância na caracterização estrutural do amido indicando as estruturas alvo, as fontes de amidos estudadas, o tipo de NMR e os achados principais.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear viabiliza o estudo estrutural do amido em diferentes aspectos, possibilitando o melhor entendimento do comportamento físico-químico do amido e suas interações com demais componentes em sistemas alimentícios e na produção de filmes. As informações estruturais a nível molecular provenientes dessa técnica não destrutiva têm sido estudadas e comparadas com outras, tais como: XRD, HPSEC, DSC, FTIR, análise térmica dinâmico mecânica (DMTA) e espectroscopia de absorção molecular (Uv-Vis) através do método de ligação com iodo apresentando alta complementariedade nos achados¹⁶⁸.

Tabela 7 - Caracterização estrutural do amido por ^1H e ^{13}C NMR¹⁶⁸.

Estrutura	Fonte de amido	Tipo de NMR	Achados principais	Referência
Ordem molecular	Milho, batata	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido	Espectro interpretado em relação à cristalinidade do amido pela primeira vez	171
	Variadas	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido	Espectro interpretado em relação à cristalinidade do amido pela primeira vez. O espectro foi interpretado em relação aos tipos de polimorfos do amido.	172
	Variadas	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido	Espectro relacionado ao polimorfo do amido. O pico C-1 foi um tripleto para o polimorfo tipo A e um dubleto para o tipo B	173
	Arroz	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido	Os relativos graus de cristalinidade (37,2-58,9 %) e proporções entre as hélices simples (1-7,9%), duplas hélices (39,6-61,8 %) e o material amorfo (37,2-52,5%) foram quantificados. Deficiências nas enzimas de ramificação do amido I e IIb diminuíram o grau de cristalinidade e porção de duplas hélices, e aumentaram a porção de hélices simples.	174
	Variadas	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido	Um modelo parcial dos mínimos quadrados foi produzido para quantificação rápida estrutura granular do amido via NMR	175
Temperatura de transição vítrea	Milho waxy	^{13}C CP/MAS NMR – Estado sólido, NMR pulsado	As temperaturas de transição vítrea do amido amorfo foram caracterizadas entre 10-22% de umidade	176
Estrutura amorfa do amido	Amido de batata, amilose e amilopectina processadas	^{13}C CP/MAS NMR, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ com transferência de magnetização e 2D WISE – NMR em estado sólido	Cinco tipos de ligação $\alpha(1-4)$ foram descobertos a partir das decomposições das ressonâncias do espectro de C-1.	177,178
Taxa de ramificação	Variadas	^1H NMR, ^{13}C NMR	As taxas de $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$ de amidos nativos e degradados foram determinadas (17,5-26). Glicose e terminais redutores podem ser diferenciados por ^{13}C NMR	179
	Variadas	^1H NMR	DB* variou de 1 (amilose de batata) a 4,77 % (amilopectina de milho). CL** variou de 21 (amilopectina de milho) a 100 resíduos de glicose (amilose de batata)	180
	Amidos de milho com variados teores de amilose.	^1H NMR	Taxas $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$ foram determinadas para o amido de milho. A relação $\alpha(1-4)/\alpha(1-6)$ variou entre 21,7-83,9%	101
	Milho e arroz	^1H NMR	Foram determinados os DB* de amido de milho: 3,34% e de 14 genótipos de amidos de arroz, variando entre 2,7-3,6%	181,182

* DB (grau de ramificação) = $\alpha(1-6) \div \alpha(1-4) + \alpha(1-6)$. ** CL: Comprimento de cadeia médio.

3.7.7 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica termoanalítica utilizada com a finalidade de monitorizar as alterações nas propriedades físicas ou químicas dos materiais em função da temperatura através da detecção das alterações de calor associadas a tais processos¹⁸³.

Em DSC, o princípio de medição é comparar a taxa de fluxo de calor aplicado à amostra contra a taxa aplicada a um material inerte que são aquecidos ou arrefecidos à uma mesma razão de aquecimento/resfriamento. Alterações na amostra que estão associadas com a absorção ou emissão do calor causam uma alteração no fluxo de calor diferencial que é então registrado como um pico. A área sob o pico é diretamente proporcional à mudança de entalpia e sua direção indica se o evento térmico é endotérmico ou exotérmico¹⁸³.

Os sistemas de medidas calorimétricas foram evoluindo a partir da célula de análise térmica diferencial (DTA). Os primeiros sistemas DTA permitiam o monitoramento das alterações das amostras em função da temperatura de forma qualitativa, uma vez que a referida célula baseia-se na diferença de temperatura entre a célula que contém a amostra contra a célula referência.

O primeiro refinamento da célula de DTA foi feito por uma empresa multinacional norte americana (Perkin Elmer IncTM) que modificou a célula que até então realizava medidas diferenciais das temperaturas da referência e da amostra, para medidas de calor. Quando criada, a primeira célula DSC ganhou destaque por viabilizar a obtenção de dados quantitativos sobre as transições da entalpia, como: fusão, ebulição e mudanças nas estruturas cristalinas de amostras de diversas naturezas.

A proteção de patente norte americana dessa célula acabou forçando outros fabricantes a procurar uma maneira alternativa de obtenção de medidas de calor em função da temperatura. Por meio de uma única fonte de calor (como na célula DTA) foi criado o DTA quantitativo ou de Boersma, conhecido atualmente como célula de DSC por fluxo de calor (Figura 22).

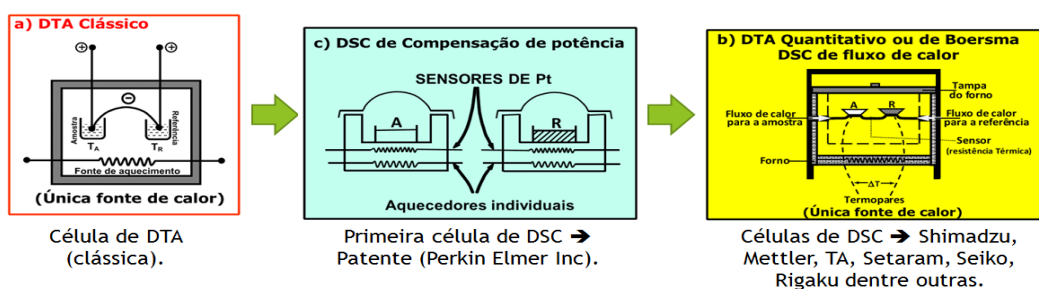
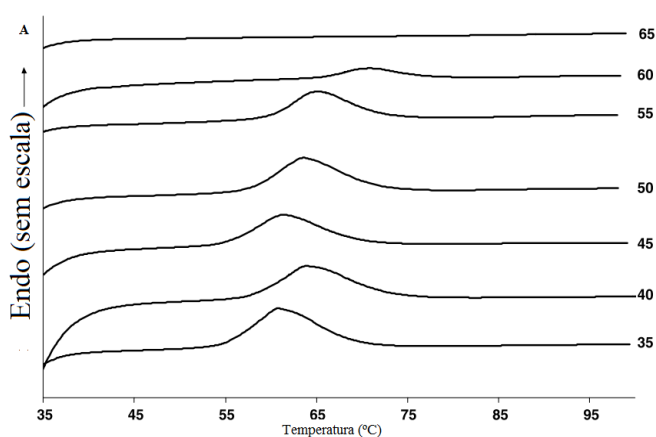


Figura 22 - Esquema ilustrativo da evolução e dos componentes das células de (a) DTA clássica, DSC por compensação de potência (c) e (b) DSC por fluxo de calor (adaptado)¹⁸⁴.

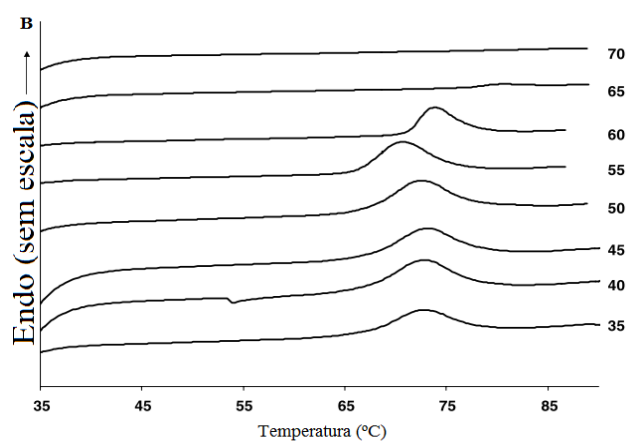
Essa técnica viabiliza a caracterização de diferentes matrizes como o amido, fornecendo informações muito úteis aos processos industriais seja para o controle de qualidade ou para o desenvolvimento de novos produtos à base de amido. Tais informações referem-se majoritariamente à determinação: I) da entalpia de gelatinização do amido¹⁸³ e II) das temperaturas de transição vítrea¹⁸⁵, das endotermas de gelatinização e das associadas à tratamentos para modificações físicas do amido, como o *annealing*¹⁸⁶. A técnica de DSC destacou-se nas últimas décadas por ter contribuído com informações importantes para o entendimento dos efeitos do processamento do amido, em bases moleculares¹⁸⁷.

A gelatinização do amido é primordial no setor industrial devido ao impacto na textura dos alimentos e produtos à base de amido¹⁸³. Tal transformação é avaliada em sistemas amido: água com excesso de solvente, em porta amostras próprios para análise de líquidos. A endoterma de gelatinização é descrita como a consequência do processo de inchamento dos grânulos do amido causado pela hidratação, seguida pelo aumento da mobilidade das cadeias na parte amorfa do grânulo provocando a fusão dos cristais de amido^{183,186}.

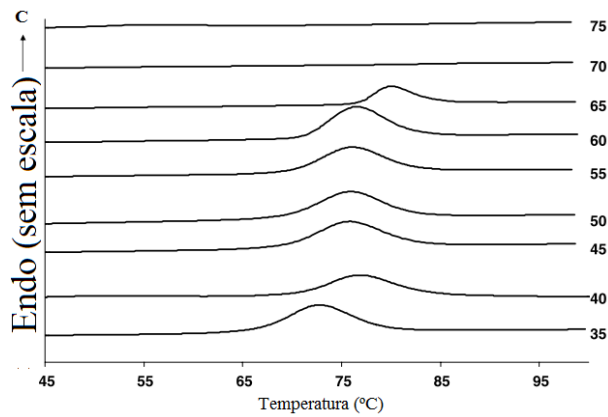
A caracterização da endotérma de gelatinização é feita normalmente através de três medidas obtidas da curva DSC: I) temperatura de início da endotérma (T_{onset} ou T_o), II) a temperatura de pico da endotérma (T_{peak} ou T_p), III) a temperatura de conclusão da endotérma ($T_{\text{conclusion}}$ ou T_c) e o valor da entalpia de gelatinização (ΔH_{gel}). A Figura 23 e a Tabela 8 exemplificam os formatos das referidas endotermas e alguns dados experimentais obtidos de amidos de diferentes fontes, respectivamente. Os dados apresentados mostram claramente que as temperaturas de pico de gelatinização variam a depender da fonte botânica dos amidos.



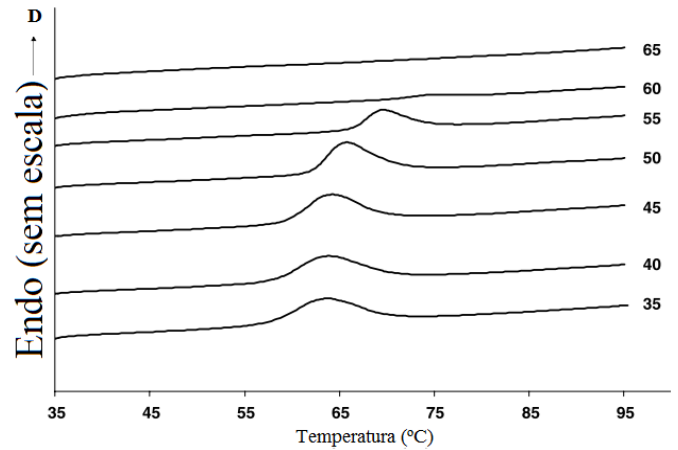
a) Endotermas de gelatinização de amido de batata nativa pré aquecida em temperaturas específicas (lado direito, °C).



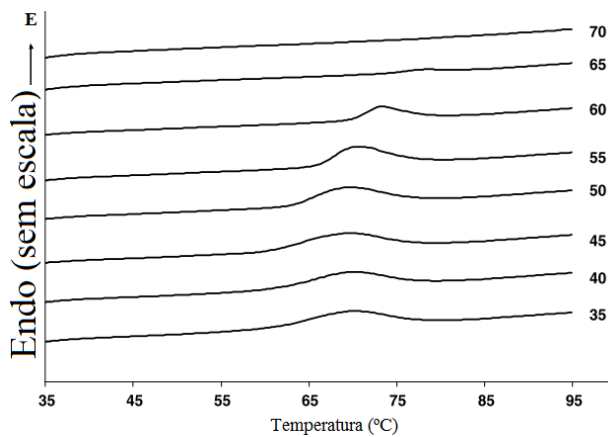
b) Endotermas de gelatinização de amido de milho nativo pré aquecido em temperaturas específicas (lado direito, °C).



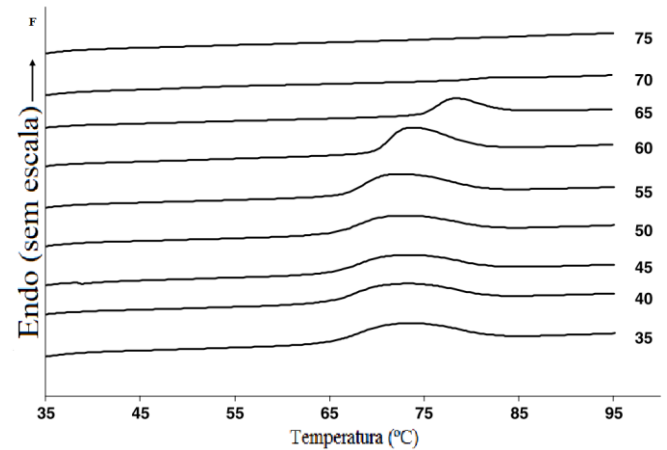
c) Endotermas de gelatinização de amido de milho ceroso (*waxy*) nativo pré aquecido em temperaturas específicas (lado direito, °C).



d) Endotermas de gelatinização de amido de trigo nativo pré aquecido em temperaturas específicas (lado direito, °C).



e) Endotermas de gelatinização de amido de arroz nativo pré aquecido em temperaturas específicas (lado direito, °C).



f) Endotermas de gelatinização de amido de mandioca nativa pré aquecida em temperaturas específicas (lado direito, °C).

Figura 23 – Endotermas de gelatinização de amidos aquecidos em excesso de água à temperaturas específicas (indicadas ao lado direito em °C): (a) batata, (b) milho, (c) milho ceroso (*waxy*), (d) trigo, (e) arroz e (f) tapioca (adaptado)¹²².

Tabela 8 - Temperaturas (T_o , T_p e T_c) e entalpia (ΔH_{gel}) das endotermas de gelatinização de amidos nativos¹⁸⁸.

Amido	ΔH_{gel} (cal/g)	Temperaturas (°C)		
		T_o	T_p	T_c
Trigo	4,7	50	68	86
Milho	4,3	70	78	89
<i>High amylose</i>	-	-	-	-
Milho	7,6	50	-	133
Milho ceroso	4,4	68	79	90
Batata	6,6	57	72	93
Mandioca	5,5	68	78	87

A temperatura de transição vítrea (T_g) é um parâmetro muito importante que afeta as propriedades físicas dos polímeros. O termo descreve a transição induzida por temperatura de um sistema de polímero vítreo amorfo para um estado progressivamente mais elástico quando

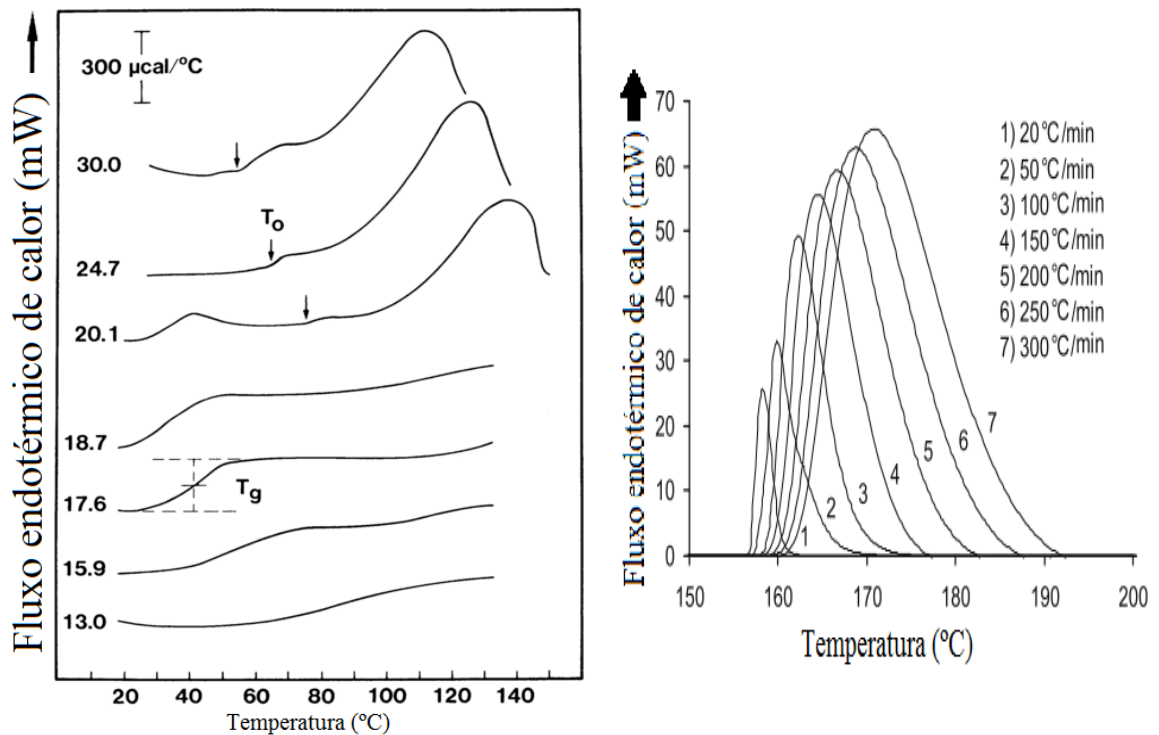
é aquecido (normalmente na presença de um solvente/plastificante, quando aplicado a polissacarídeos)¹⁸⁶.

No entanto, a medição das temperaturas T_g do amido por DSC são difíceis uma vez que a alteração da capacidade térmica ou o sinal no fluxo de calor é usualmente muito mais fraco do que o dos polímeros convencionais^{186,187}. A comparação do calor de fusão do polipropileno (cerca de 80 kcal/g) com o calor de gelatinização do amido (cerca de 0,95 cal/g) justifica as dificuldades encontradas na obtenção dos valores de temperatura e calor associados as transições no amido¹⁸⁷.

Por esse motivo, muitos esforços têm sido envolvidos para o desenvolvimento de métodos que possibilitem a visualização do evento associado à transição vítrea, viabilizando a determinação da temperatura associada à tal evento. Nesse sentido, foram estudados dois aspectos fundamentais na determinação da T_g : I) o teor de umidade nas amostras de amido¹⁸⁸ II) a razão de aquecimento empregada no instrumento de calorimetria¹⁸⁷.

Estudos de amostras de amido de trigo em diferentes condições de umidade provaram a dependência da magnitude do evento associado à transição vítrea com o conteúdo de água do amido. Esse evento é visualizado por uma descontinuidade na linha base (Figura 23 (a)). Essa relação com o conteúdo de água tem sido associada à saída da água da região amorfa e a consequente formação de ligações de hidrogênio intra e inter moleculares nessas regiões que restringem a mobilidade das cadeias, portanto, elevando a magnitude associada ao evento de transição vítrea¹⁸⁸.

Além do conteúdo de umidade, estudos realizados em instrumentos de calorimetria capazes de realizar corridas DSC à altas razões de aquecimento provaram que o aumento na magnitude do evento de T_g também está associado à maiores taxas de aquecimento (Figura 24 (b)). O aumento na magnitude da T_g está associado ao aumento das taxas de aquecimento empregadas, uma vez que o sinal do DSC é uma função da medida de calor (mW), ou seja, energia por unidade de tempo. A medida que a taxa de aquecimento é aumentada, o mesmo fluxo de calor ocorre em intervalo de tempo mais curto, aumentando a sensibilidade do instrumento¹⁸⁷.



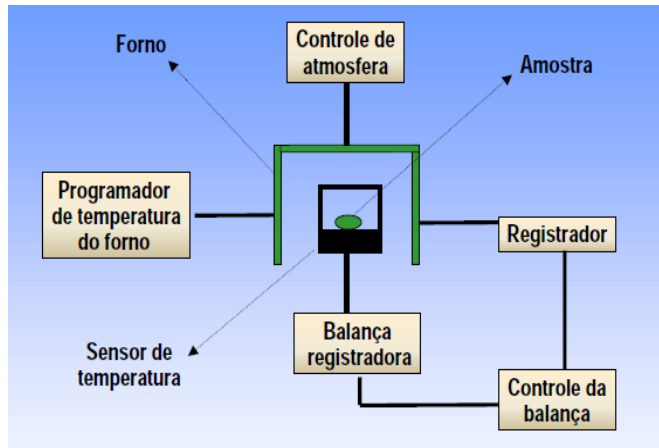
a) Curvas DSC de amido de trigo nativo em diferentes conteúdos de umidade (13.0 – 30.0)¹⁸⁸.

b) Curvas DSC de Índio em diferentes razões de aquecimento¹⁸⁹.

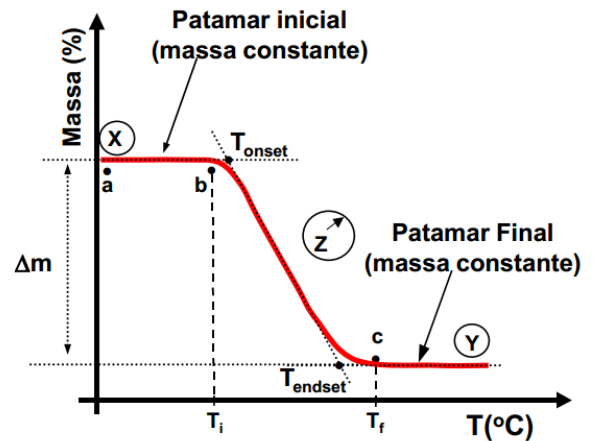
Figura 24 - Exemplos de curvas DSC obtidas em estudos para avaliação da temperatura de transição vítrea (T_g): (a) de amido de trigo nativo em diferentes conteúdos de umidade (13,0-30,0) e (b) padrão de Índio sobre diferentes razões de aquecimento.

3.7.8 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

A técnica de termogravimetria tem sido amplamente utilizada para caracterizar a decomposição térmica (quantidade e taxa de perda de massa), estabilidade térmica e estabilidade em longo prazo de materiais poliméricos¹⁸⁹. Por definição, a TG trata-se de uma técnica de análise térmica em que a variação de massa da amostra (perda ou ganho) é determinada como uma função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura¹⁸⁴. De uma maneira geral, os instrumentos de termogravimetria podem ser ilustrados pela Figura 25 (a).



a) Esquema ilustrativo dos componentes de um instrumento de termogravimetria.



b) Representação genérica da obtenção de medidas oriundas de corrida TG (X= massa constante associada ao intervalo de estabilidade térmica; Z= perda de massa associada à produtos de decomposição térmica em estado gasoso e Y= massa constante associada à presença de produtos finais de reação termicamente estáveis).

Figura 25 - Fundamentos de termogravimetria (TG). Esquema ilustrativo dos componentes de um instrumento de termogravimetria (a) e representação genérica da obtenção de resultados oriundos de corrida TG (b) (adaptado)¹⁸⁴.

Os primeiros sistemas possuem montagem vertical (como ilustrado no esquema) e possuem controladora de fluxo de gás (N_2 , ar sintético ou alguma mistura de gases), um forno em formato cilíndrico, capaz de controlar minuciosamente o aquecimento dentro da faixa de temperatura programada (até $1500\text{ }^\circ\text{C}$ a depender do instrumento), balança registradora e um acessório para integração ao computador. Os sistemas mais modernos possuem disposição semelhante, entretanto são capazes de obter medidas termogravimétricas e calorimétricas simultaneamente.

As medidas obtidas através das curvas TG úteis na caracterização termogravimétrica do amido são: I) temperatura de início do evento de degradação térmica (T_{onset}), II) temperatura em que ocorreu 50% de perda de massa da amostra analisada ($T_{50\%}$), III) temperatura final do evento de composição térmica (T_{endset}) e IV) temperatura de maior velocidade de decomposição térmica da amostra através da primeira derivada da curva TG ($T_{\text{pico}} dTG$)^{190,191,192,193}. Através dessas medidas, os materiais poliméricos (como o amido) podem ser caracterizados e comparados entre si, desde que os dados tenham sido obtidos nas mesmas condições instrumentais (Figura 25 (b)).

As análises termogravimétricas do amido são descritas, em linhas gerais, como curvas que possuem duas perdas de massa: a primeira, atribuída à desidratação e a segunda, à decomposição térmica e formação de compostos carbonáceos, respectivamente assinalados em 1, 2 e 3 na Figura 26. Tais atribuições ganharam mais notoriedade a partir dos estudos do mecanismo de decomposição térmica do amido através de técnicas hífenadas com a termogravimetria, como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (TG-FTIR)¹⁸⁹.

Diferenças nas propriedades térmicas foram relatadas tanto para os amidos de diferentes fontes^{190,194,195} quanto para as frações de amilose e amilopectina de milho¹⁹⁰. Posteriormente, estudos conduzidos por Stawski (2008)¹⁰² provaram a clara dependência da estabilidade térmica do amido em função do conteúdo de amilose.

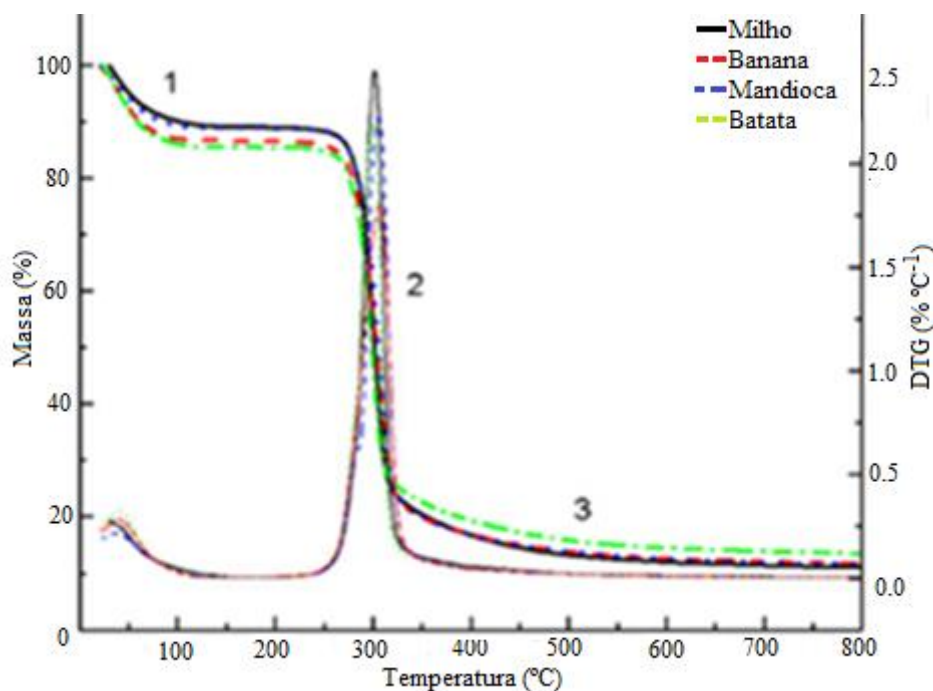
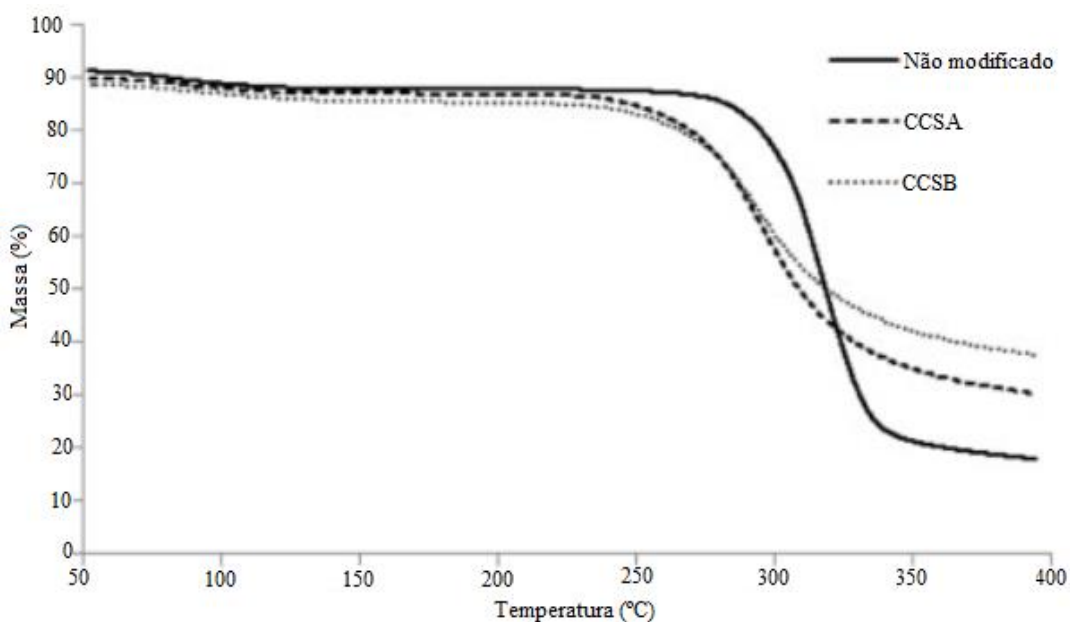


Figura 26 - Curvas TG e dTG de amidos nativos de milho (linha preta), banana (linha vermelha), mandioca (linha azul) e batata (linha verde) nas seguintes condições: 5 mg; 5 °C min⁻¹; fluxo de N₂ 50 mL min⁻¹, adaptado¹⁹⁶.

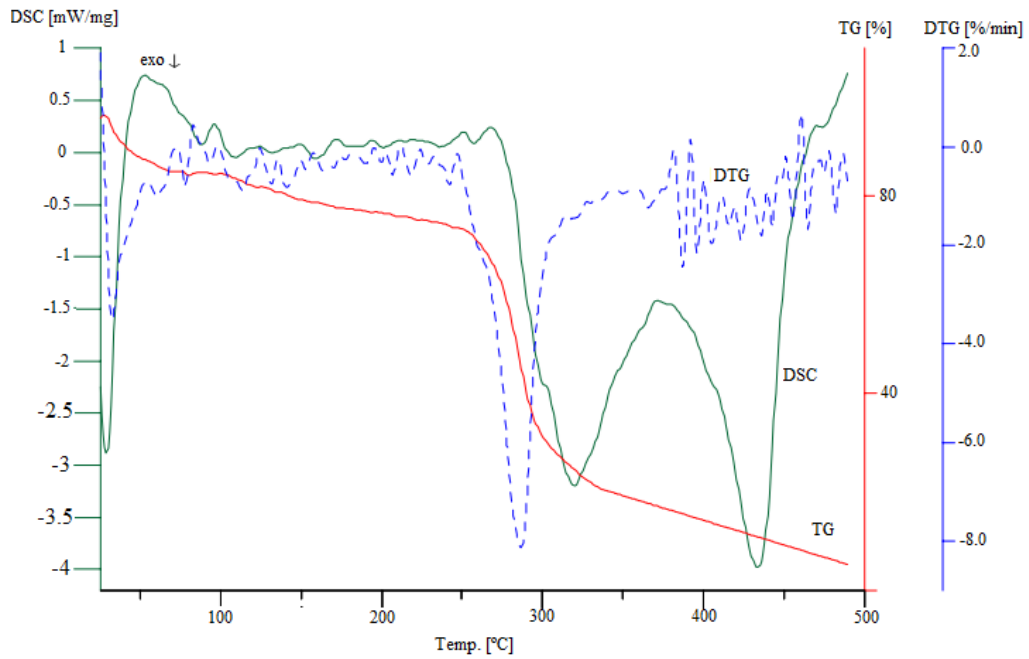
Além de ter se mostrado muito útil na caracterização dos amidos nativos em função dos diferentes teores de amilose, cadeias de amilopectina e cristalinidade, a TG vem sendo muito empregada na obtenção de dados termo analíticos provenientes de amidos modificados, como por exemplo: para formação de ligação cruzada através de carboximetilação¹⁹⁷ (Figura 27 (a)), formação de complexos de coordenação com metais¹⁹⁸ (Figura 27 (b) e (c)) e de complexos de

inclusão com pequenas moléculas orgânicas capazes de serem acomodadas na estrutura helicoidal da amilose, conhecidas como “*small guests*”^{64,199,200} (Figura 28).

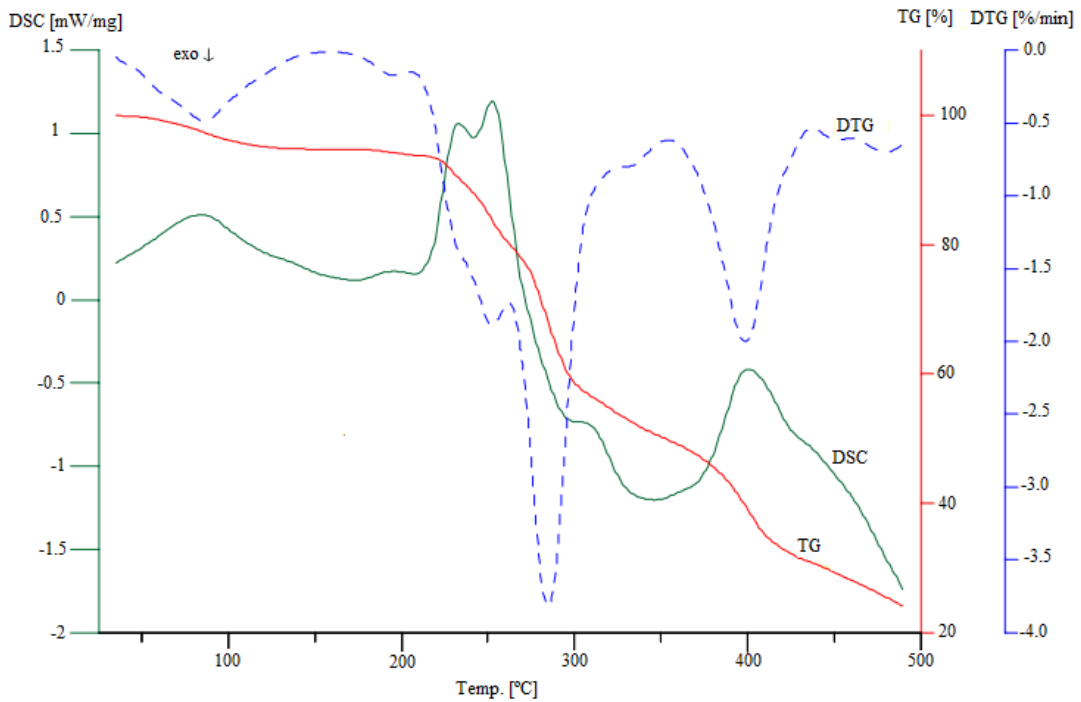
As diferenças nas curvas TG dos amidos modificados por formação de ligações cruzadas e hidrolisados na presença de 1-butanol (Figura 27 (a) e Figura 28, respectivamente), podem ser visualizadas através do deslocamento para menores temperaturas dos amidos tratados quando comparados aos nativos (controle). O complexo de coordenação formado entre a fração de amilose e o CuCl_2 , causa diminuição na estabilidade térmica e modificação do perfil de degradação térmica, uma vez que a amilose de batata passou a ter uma decomposição térmica multi etapas (Figura 27 (c)).



a) Curvas TG do amido de banana nativo, carboximetilado por POCl_3 (CCSA) e carboximetilado por trifosfato de sódio (CCSB), adaptado¹⁹⁷.



b) Curvas TG, dTG e DSC da fração de amilose de batata não complexada, adaptado¹⁹⁸.



c) Curvas TG, dTG e DSC da fração de amilose de batata complexada com CuCl_2 , adaptado¹⁹⁸.

Figura 27 - Curvas TG de amidos modificados: a) amido de banana nativo e modificado para obtenção de ligações cruzadas¹⁹², b) amilose de batata não complexada e c) complexada com CuCl_2 ¹⁹³.

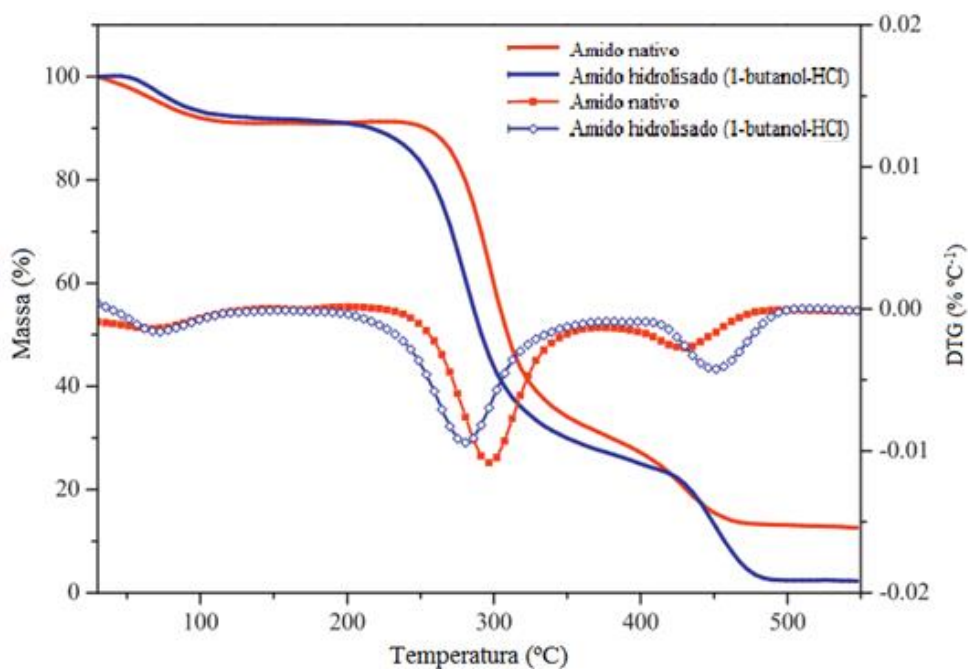


Figura 28 - Curvas TG (linha sólida) e dTG (linha pontilhada) do amido de arroz nativo e do hidrolisado na presença de 1-butanol, adaptado¹⁹⁹.

Os exemplos citados demonstram que a TG é uma técnica termoanalítica importante na caracterização do amido e seus constituintes (amilose e amilopectina). Neste sentido, é capaz de prover dados termoanalíticos que diferenciam os amidos: I) de diferentes fontes botânicas (muito embora sejam constituídos essencialmente por unidades de glicose), II) obtidos através de modificações químicas, III) complexados com “*small guests*” ou com metais de transição, a termogravimetria fornece, informações complementares às outras técnicas de caracterização de polímeros.

REFERÊNCIAS

1 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTOS DE AMIDO DE MANDIOCA. Mercado mundial do amido, uma das matérias primas para o bioplástico. Disponível em: <<http://www.abam.com>>. Acesso em: 17 de jul. 2017.

2 CHEVIGNY, C.; FOUCAT, L.; ROLLAND-SABATÉ, A.; BULÉON, A.; LOURDIN, D. Shape-memory effect in amorphous potato starch: the influence of local orders and paracrystallinity. **Carbohydrate Polymers**, v. 143, n. 1, p. 411-419, 2016.

3 ZHU, J.; ZHANG, S.; ZHANG, B.; QIAO, D.; PU, H.; LIU, S.; LI, L. Structural features and thermal property of propionylated starches with different amylose/amylopectin ratio. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, n. 1, p. 123–130, 2017.

4 DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

5 KADOKAWA, J. I. Architecture of amylose supramolecules in form of inclusion complexes by phosphorylase-catalyzed enzymatic polymerization. **Biomolecules**, v. 3, n. 3, p. 369–385, 2013.

6 JANE, J.; CHEN, Y. Y.; LEE, L.F.; MCPHERSON, A. E.; WONG, K. S.; RADOSAVLJEVIC, M.; KASEMSUWAN, T. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.76, n. 5, p. 629-637, 1999.

7 BOGRACHEVA, T. Y.; WANG, Y. L.; WANG, T. L.; HEDLEY, C. L. Structural studies of starches with different water contents. **Biopolymers**, v. 64, n. 5, p. 268–281, 2002.

8 Thomas and Atwell, Starches. Eagan Press Handbook Series: Minesota 1999, p.94.

9 Jane J-L. Structural Features of Starch Granules II. In: Be Miller. J, Whistler. L, editors. Starch: Chemistry and Technology. Oxford: Food Science and Technology, International Series; 2009. pp. 193-227.

10 SANTANA, Á. L.; ANGELA, M.; MEIRELES, A. New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. **Food and Public Health**, v. 4, n. 5, p. 229–241, 2014.

11 ALCÁZAR-ALAY, S. C.; MEIRELES, M.A.A. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 215–236, 2015.

12 MOO-HUCHIN, V. M.; CABRERA-SIERRA, M. J.; ESTRADA-LÉONN, R. J.; RÍOS-SOBERANIS, C. R.; BETANCUR-ANCONA, D.; CHEL-GUERRERO, L.; ORTIZ-FERNÁNDEZ, A.; ESTRADA-MOTA, I. A.; PÉREZ-PACHECO, E. Determination of some physicochemical and rheological characteristics of starch obtained from *Brosimum alicastrum* swartz seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 45, p. 48–54, 2015.

13 DAS, D.; JHA, S.; KUMAR, K. J. Isolation and release characteristics of starch from the rhizome of Indian Palo. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 341–346, 2015.

14 ELMI SHARLINA, M. S.; YAACOB, W. A.; LAZIM, A. M.; FARZY, S.; LIM, S. J.; ABDULLAH, S.; NOORDIN, A.; KUMARAN, M. Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyrifolia* tubers. **Food Chemistry**, v. 220, n.1, p. 225–232, 2017.

15 AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A comparative study of the degradation of different starches using thermal analysis. **Talanta**, v. 43, n. 96, p. 1527–1530, 1996.

16 GUINESI, L. S.; RÓZ, A. L.; CORRADINI, E.; MATTOSO, L. H. C.; TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. **Thermochimica Acta**, v. 447, n. 2, p. 190–196, 2006.

-
- 17 LIU, P.; YU, L.; WANG, X.; LI, D.; CHEN, L.; LI, X. Glass transition temperature of starches with different amylose/amylopectin ratios. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 388–391, 2010.
- 18 FIGUEROA, Y.; GUEVARA, M.; PÉREZ, A.; COVA, A.; SANDOVAL, A. J.; MULLER, A. J. Effect of sugar addition on glass transition temperatures of cassava starch with low to intermediate moisture contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 231–237, 2016.
- 19 RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: New insights. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3712–3716, 2006.
- 20 CHEN, X.; DU, X.; CHEN, P.; GUO, LI.; XU, Y.; ZHOU, X. Morphologies and gelatinization behaviours of high-amylose maize starches during heat treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, n. 1, p. 637–642, 2017.
- 21 LI, Z.; LIU, W.; GU, Z.; LI, C.; HONG, Y.; CHENG, L. The effect of starch concentration on the gelatinization and liquefaction of corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 48, n. 1, p. 189–196, 2015.
- 22 LI, W.; GUO, H.; WANG, P.; TIAN, X.; ZHANG, W.; SALEH, A. S. M.; ZHENG, J.; OUYANG, S.; LUO, Q.; ZHANG, G. Physicochemical characteristics of high pressure gelatinized mung bean starch during recrystallization. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, n.1, p. 432–438, 2015.
- 23 HESSO, N.; LE-BAIL, A.; LOISEL, C.; CHEVALLIER, S.; PONTOIRE, B.; QUEVEAU, D.; LE-BAIL, P. Monitoring the crystallization of starch and lipid components of the cake crumb during staling. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, n. 1, p. 533–538, 2015.
- 24 SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological ,thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219–231, 2003.
- 25 FREDRIKSSON, H.; SILVERIO, J.; ANDERSSON, R.; ELIASSON, A.-C.; AMAN, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 35, n. 3, p. 119-134, 1998.
- 26 YU, L.; CHRISTIE, G. Microstructure and mechanical properties of oriented thermoplastic starches. **Journal of materials science**, v. 40, n. 1, p. 111–116, 2005.
- 27 CHARLES, A. L.; CHANG, Y. H.; KO, W. C.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Influence of Amylopectin Structure and Amylose Content on The Gelling Properties of Five Cultivars of Cassava Starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7 , p. 2717-2725, 2005.
- 28 ZAVAREZE, E. R.; RODRIGUES, A. O.; STORCK, C. R.; ASSIS, L. M.; WALLY, A. P. S.; DIAS, A. R. G. Poder de inchamento e solubilidade de amido de arroz submetido ao tratamento térmico com baixa umidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, n. 1, p. 31-35 2009.

-
- 29 FERNANDES, L. P. Produção de amilases pelo fungo *Macrophomina Phaseolina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 43-51, 2007.
- 30 MANEK, R. V. Physicochemical and Binder Properties of Starch Obtained from *Cyperus esculentus*. **PharmSciTech**, v. 13, n. 22, p. 10, 2012.
- 31 CORRADINI, E. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 4, p. 268-273, 2005.
- 32 TONUARI, N. J. Cassava and the future of starch. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 1, p. 12–15, 2004.
- 33 MOORTHY, S. N. Starch and starch derivatives in food. **Trends Carbohydrate Chemistry**, v. 2, n. 133, p. 1-9, 1996.
- 34 ZHU, T.; JACKSON, D. S.; WEHLING, R. L.; GEERA, B. Comparison of Amylose Determination Methods and the Development of a Dual Wavelength Iodine Binding Technique. **Cereal Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 51-58, 2008.
- 35 BJÖCK, I.; ELIASSON, A.-C.; DREWS, A.; GUDMUNDSSON, M.; KARLSSON, R. Some nutritional properties of starch and dietary fiber in barley genotypes containing different levels of amylose. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 4 p. 327-333, 1999.
- 36 JANE, J.; SHEN, L.; WANG, L.; MANINGAT, C. C. Preparation and Properties of Small-Particle Corn Starch. **Cereal Chemistry**, v. 69, n. 3, p. 280–283, 1992.
- 37 SUN, X. S. Biodegradable plastics from renewable biomaterials. **Advanced Agricultural Science and Technology**, v. 1, n. 1 p. 149-167, 2002.
- 38 ROWE, C. R.; SHESKEY, P. J.; WELLER, P. J. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 4 ed. London: Pharmaceutical Press, 2003.
- 39 PATEL, N. R.; HOPPONEN, R. E. Mechanism of action of starch as a tablet disintegrant I: factors affecting swelling of starch granules at 37 °C. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 55, n. 6 , p. 614-617, 1996.
- 40 ILLUM, L.; FISHER A. N.; JABBAL-GILL I.; DAVIS S. S. Bioadhesive starch microspheres and absorption enhancing agents act synergistically to enhance the nasal absorption of polypeptides. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 222, n. 1, p. 109-119, 2001.
- 41 BROMBERG L. E.; BUXTON D. K.; FRIDEN, P. M. Novel peridontal drug delivery systems for treatment of periodontitis. **Journal of Controlled Release**, v. 75, n. 3, p. 251-259, 2001.
- 42 KROGARS, K. *Aqueous-based amylose-rich maize starch solution and dispersion: a study on free films and coatings*. 2003.46 f. Dissertação – Faculdade de ciências da universidade de Helsinski, Helsinski 2003.

-
- 43 OLIVEIRA, M.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; MUSSEL, W. N.; VIANNA-SOARES, C. D.; PIANETTI, G. A. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1653-1657, 2010.
- 44 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT statistics database. Disponível em: < <http://faostat3.fao.org/home/E> > Acesso em: 26/06/2016.
- 45 GUIMARÃES, J. L.; WYPYCH, F.; SAUL, C. K.; RAMOS, L. P.; SATYANARAYANA, K. G. Studies of the processing and characterization of corn starch and its composites with banana and sugarcane fibers from Brazil. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 1, p. 130–138, 2010.
- 46 SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros**, v. 10, n. 1, p. 24–30, 2000.
- 47 ZHANG, P.; WHISTLER, R. L.; BEMILLER, J. N.; HAMAKER, B. R. Banana starch: Production, physicochemical properties, and digestibility - A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 59, n. 4, p. 443–458, 2005.
- 48 CERNING-BEROARD, J.; LE DIVIDICH, J. Feed value of some starchy tropical products: In vitro and in vivo study of sweet potato, yam, malanga, breadfruit, and banana. **Annales de Zootechnie**, v. 25, n. 1, p. 155–168, 1976.
- 49 JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 7, n. 2, p. 210–218, 2004.
- 50 CORNELL, H. J.; HOVELING, A. W.; CHRYSS, A.; ROGERS, M. Particle size distribution in wheat starch and its importance in processing. **Stach/Starke**, v. 46, n. 6, p. 203-207, 1994.
- 51 LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. **Stach/Starke**, v. 56, n. 34, p. 89–99, 2004.
- 52 RIDOUT, M. J.; GUNNING, A. P.; PARKER, M. L.; WILSON, R. H.; MORRIS, V. J. Using AFM to image the internal structure of starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, n. 2, p. 123–132, 2002.
- 53 GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of a new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 4, p. 177–191, 1997.
- 54 YAMAGUCHI, M.; KAINUMA, K.; FRENCH, D. Electron microscopic observations of waxy maize starch. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 69, n. 2, p. 249–261, 1979.
- 55 NÚÑEZ-SANTIAGO, M. C.; BELLO-PÉREZ, L. A.; TECANTE, A. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 1, p. 65–75, 2004.

-
- 56 TANG, H.; ANDO, H.; WATANABE, K.; TAKEDA, Y.; MITSUNAGA, T. Physicochemical properties and structure of large, medium and small granule starches in fractions of normal barley endosperm. **Carbohydrate Research**, v. 330, n. 2, p. 241–248, 2001.
- 57 JANE, J.; KASEMSUWAN, T.; LEAS, S.; IA, A.; ZOBEL, H.; DARIEN, I. L.; ROBYT, J. F. Anthology of Starch Granule Morphology by Scanning Electron Microscopy. **Stach/Starke**, v. 46, n. 5, p. 121–129, 1994.
- 58 EVERS, A. D. The size distribution among starch granules in wheat endosperm. **Stach/Starke**, v. 25, n. 9, p. 303-304, 1973.
- 59 SRIROTH, K.; SANTISOPARI, V.; PETCHALANUWAT, C.; KUROTJANAWONG, K.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C. G. Cassava starch granule structure–function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 38, n. 2, p. 161–170, 1999.
- 60 ZHENG, G. H.; SOSULSKI, F. W. Physicochemical properties of small granule starches. In: American Association of Cereal Chemists (AACC) Annual Meeting, San Diego-CA, 1997. p. 4.
- 61 WANG, L.; WANG, Y. J.; PORTER, R. Structures and physico-chemical properties of six wild rice starches. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, n. 13, p. 2695–2699, 2002.
- 62 ABDEL-AAL, E-S. M.; HUCL, P. J.; SOSULSKI, F.W. Structural and compositional characteristics of canaryseed (*Phalaris canariensis L.*). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 45, n. 1, p. 3049–3055, 1997.
- 63 SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant Starch - A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2006.
- 64 GESSLER, K.; USÓN, I.; TAKAHA, T.; KRAUSS, N.; SMITH, S. M.; OKADA, S.; SHELDRIK, G. M.; SAENGER, W. V-Amylose at atomic resolution: X-ray structure of a cycloamylose with 26 glucose residues (cyclomaltohexaicosaoase). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 8, p. 4246–4251, 1999.
- 65 VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GEEROMS, J.; DELCOUR, J. A. Rice starches I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behavior of granular starch. **Journal of Cereal Science**, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2003.
- 66 LAJOLO, F. M.; MENEZES, E. W. Carbohidratos en alimentos regionales Iberoamericanos. São Paulo: Universidade de São Paulo, p.648, 2006.
- 67 HERMANSSON, A.; SVEGMARK, K. Developments in the understanding of starch functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 7, n. 11, p. 345-353, 1996.

-
- 68 JAY-LIN, J. Structural Features of Starch Granules II. In: BE MILLER, J.; WHISTLER, L., ed. *Starch: Chemistry and Technology*. Oxford: Food Science and Technology, International Series, p. 193-227, 2009.
- 69 MORRISON, W. R. The Stability of Wheat Starch Lipids in Untreated and Chlorine-treated Cake Flours. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 29, n. 4, p. 365–371, 1978.
- 70 YOO, S-H.; JANE, J-L. Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser light scattering and refractive index detectors. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 3, p. 307-314, 2002.
- 71 LIM, S-T.; KASEMSUWAN, T.; JANE, J-L. Characterization of Phosphorous in Starch by ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 71, n. 5, p. 488-493, 1994.
- 72 KASEMSUWAN, T.; JANE, J-L. Quantitative method for the survey of starch phosphate derivatives and starch phospholipids by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Cereal Chemistry**, v. 73, n. 6, p. 702–707, 1996.
- 73 HIZUKURI, S.; TABATA, S.; KAGOSHIMA; NIKUNI, Z. Studies on Starch Phosphate Part 1. Estimation of glucose-6-phosphate residues in starch and the presence of other bound phosphate(s). **Stach-Starke**, v. 22, n. 10, p. 338–343, 1970.
- 74 HIZUKURI, S.; SHIRASAKA, K.; JULIANO, B. O. Phosphorus and Amylose Branching in Rice Starch Granules. **Stach-Starke**, v. 35, n. 10, p. 348–350, 1983.
- 75 MUHRBECK, P.; SVENSSON, E.; ELIASSON, A-C. Effect of the Degree of Phosphorylation on the Crystallinity of Native Potato Starch. **Stach-Starke**, v. 43, n. 12, p. 466–468, 1991.
- 76 MUHRBECK, P.; ELIASSON, A. C. Influence of the Naturally-Occurring Phosphate-Esters on the Crystallinity of Potato Starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 55, n. 1, p. 13–18, 1991.
- 77 MCDONALD, A. M. L.; STARK, J. R.; MORRISON, W. R.; ELLIS, R. P. The composition of starch granules from developing Barley genotypes. **Journal of Cereal Science**, v. 13, n. 1, p. 93–112, 1991.
- 78 KREGER, D.R. The configuration and packing of the chain molecules of native starch as derived from x-ray diffraction of part of a single starch grain. **Biochimica et biophysica acta**, v. 6, n. 3, p. 406–25, 1951.
- 79 WAIGH, T. A.; HOPKINSON, I.; DONALD, A.M.; BUTLER, M.F.; HEIDELBACH, F.; RIEKEL, C. Analysis of the Native Structure of Starch Granules with X-ray Microfocus Diffraction. **Macromolecules**, v. 30, n. 13, p. 3813–3820, 1997.
- 80 BULÉON, A.; GÉRARD, C.; RIEKEL, C.; VUONG, R.; CHANZY, H. Details of the Crystalline Ultrastructure of C-Starch Granules Revealed by Synchrotron Microfocus

Mapping. **Macromolecules**, v. 31, n. 19, p. 6605–6610, 1998.

81 BOGRACHEVA, T. Y.; MORRIS, V. J.; RING, S. G.; HEDLEY, C. L. The granular structure of C-type pea starch and its role in gelatinization. **Biopolymers**, v. 45, n. 4, p. 323–332, 1998.

82 MANNERS, D. J.; MATHESON, N. K. The fine structure of amylopectin. **Carbohydrate Research**, v. 90, n. 1, p. 99–110, 1981.

83 MANNERS, D. J. Recent developments in our understanding of amylopectin structure. **Carbohydrate Polymers**, v. 11, n. 2, p. 87–112, 1989.

84 PÉREZ, S.; BALDWIN, P. M.; GALLANT, D. J. Structural Features of Starch Granules I. In: BE MILLER, J.; WHISTLER, L., ed. *Starch: Chemistry and Technology*. Oxford: Food Science and Technology, International Series, p. 149–188, 2009.

85 IMBERTY, A.; PÉREZ, S. Conformational analysis and molecular modelling of the branching point of amylopectin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 11, n. 3, p. 177–185, 1989.

86 TAKEDA, Y.; HIZUKURI, S.; JULIANO, B. O. Purification and structure of amylose from rice starch. **Carbohydrate Research**, v. 148, n. 2, p. 299–308, 1986.

87 JANE, J.-L.; WONG, K. S.; MCPHERSON, A. E. Branch-structure difference in starches of A and B-type x-ray patterns revealed by their naegeli dextrans. **Carbohydrate Research**, v. 300, n. 3, p. 219–227, 1997.

88 GÉRARD, C.; PLANCHOT, V.; COLONNA, P.; BERTOFT, E. Relationship between branching density and crystalline structure of A- and B-type maize mutant starches. **Carbohydrate Research**, v. 326, n. 2, p. 130–144, 2000.

89 JANE, J.-L.; SHEN, J. J. Internal structure of the potato starch granule revealed by chemical gelatinization. **Carbohydrate Research**, v. 247, n. 2, p. 279–290, 1993.

90 KASENSUWAN, T.; JANE, J.-L. Locations of Amylose in Normal Starch Granules. II. Locations of Phosphodiester Cross-Linking Revealed by Phosphorus-31 Nuclear Magnetic Resonance. **Cereal Chemistry**, v. 71, n. 3, p. 282–287, 1994.

91 BOYER, C. D.; SHANNON, J. C.; GARWOOD, D. L.; CREECH, R. G. Changes in starch granule size and amylose percentage during kernel development in several *Zea Mays* L. genotypes. **Cereal Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 327–337, 1976.

92 RING, S. G.; ANSON, K. J.; MORRIS, V. J. Static and Dynamic Light Scattering Studies of Amylose Solutions. **Macromolecules**, v. 18, n. 2, p. 182–188, 1985.

93 BANKS, W. GREENWOOD, CT. *Starch and Its Components*. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1975. 342 p.

94 KNUTSON, C. A. Evaluation of variations in amylose–iodine absorbance spectra. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, n. 1, p. 65–72, 1999.

-
- 95 LINEBACK, D. R. Current Concepts of Starch Structure and Its Impact on Properties. **Journal of Japanese Society of Starch**, v. 33, n. 1, p. 80-88, 1986.
- 96 WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.
- 97 CHEN, M. H.; BERGMAN, C. J. Method for determining the amylose content, molecular weights, and weight- and molar-based distributions of degree of polymerization of amylose and fine-structure of amylopectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 3, p. 562–578, 2007.
- 98 KIM, S-H.; LEE, B-H.; BAIK, M-Y.; JOO, M-H.; YOO, S-H. Chemical Structure and Physical Properties of Mung Bean Starches Isolated from 5 Domestic Cultivars. **Journal of Food and Science**, v. 72, n. 9, p. 1-7, 2007.
- 99 KIM, S.; WILLETT, J. L. Isolation of amylose from starch solutions by phase separation. **Starch/Starke**, v. 56, n. 1, p. 29–36, 2004.
- 100 MESTRES, C.; MATENCIO, F.; PONS, B.; YAJID, F.; FLIEDEL, G. A Rapid Method for the Determination of Amylose Content by Using Differential-Scanning Calorimetry. **Stach/Stärke**, v. 48, n. 1, p. 2–6, 1996.
- 101 DUNN JR, L. B.; KRUEGER, W. J. Branching ratios of starch via proton nuclear magnetic resonance and their use in determining amylose/amylopectin content. Evidence for three types of amylopectin. **Macromolecular Symposia**, v. 140, n. , p. 179–186, 1999.
- 102 STAWSKI, D. New determination method of amylose content in potato starch. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 777-781, 2008.
- 103 KIM, C.; SHIN, M, J. Physicochemical properties of starch isolated from eight different varieties of Korean sweet potatoes. **Starch/Starke**, v. 65, n. , p. 923-930, 2013.
- 104 SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch/Starke**, v. 35, n. 1, p. 2665-2667, 1985.
- 105 EGGLESTON, G.; HEVERLEE, R.; AKONI, S. Physicochemical Studies on Starches Isolated. **Starch/Starke**, v. 44, n. 4, p. 121–128, 1992.
- 106 DE LA TORRE-GUTIERREZ, L.; TORRUCO-UCO, J. G.; CASTELLANOS-RUELAS, A.; CHEL-GUERRERO, L. A.; BETANCUR-ANCONA, D. Isolation and structure investigations of square banana (*Musa balbisiana*) starch. **Starch/Starke**, v. 59, n. 7, p. 326–333, 2007.
- 107 LIU, X.; YU, L.; LIU, H.; CHEN, L.; LI, L. Thermal decomposition of corn starch with different Amylose/Amylopectin ratios in open and sealed systems. **Cereal Chemistry**, v. 86, n. 4, p. 383–385, 2009.

-
- 108 MORRISON, W. R.; LAIGNELET, B. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. **Journal of Cereal Science**, v. 1, n. 1, p. 9–20, 1983.
- 109 BATES, F. L.; FRENCH, D.; RUNDLE, R. E. Amylose and Amylopectin Content of Starches Determined by their Iodine Complex Formation. **Journal of American Chemical Society**, v. 65, n. 1941, p. 142–148, 1943.
- 110 McGRANCE, S. J.; CORNELL, H. J.; RIX, C. J. A Simple and Rapid Colorimetric Method for the Determination of Amylose in Starch Products. **Stach/Starke**, v. 50, n. 1, p. 1–6, 1998.
- 111 GLADYS, D. G.; ROSE-MONDE, M.; MICAËL, B. E.; SEBASTIEN, N. L. Physicochemical characterization of starches from seven improved cassava varieties: Potentiality of industrial utilization. **Journal of Applied Biosciences**, v. 73, n. 1, p. 6002–6011, 2014.
- 112 DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physico-chemical properties of cassava starch. **Starch/Starke**, v. 5, n. 23, p. 58–64, 1986.
- 113 IZYDORCZYK, M. S.; STORSLEY, J.; LABOSSIÈRE, D.; MACGREGOR, A. W.; ROSSNAGEL, B. G. Variation in total and soluble β -glucan content in hullless barley: Effects of thermal, physical, and enzymic treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 982–989, 2000.
- 114 IACHEL, F.; SILVA, D. A.; CABELLO, C. Caracterização das estruturas moleculares de amido de mandioca utilizando metodologia de permeação em gel. **Energia na Agricultura**, v. 21, n. 1, p. 50–68, 2006.
- 115 GIBSON, T. S.; SOLAH, V. A.; MCCLEARY, B. V. A Procedure to Measure Amylose in Cereal Starches and Flours with Concanavalin A. **Journal of Cereal Science**, v. 25, n. 2, p. 111–119, 1997.
- 116 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. **ISO 6647-1:2007: Determination of amylose content – Part 1: Reference Method**. Geneva: ISO, 2007. 12 p.
- 117 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. **ISO 6647-2:2007: Determination of amylose content – Part 2: Routine methods**. Geneva: ISO, 2007. 12 p.
- 118 GÉRARD, C.; BARRON, C.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V. Amylose determination in genetically modified Starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 44, n. 1, p. 19–27, 2001.
- 119 SIEVERT, D.; HOLM, J. Determination of amylose by differential scanning calorimetry. **Stach/Starke**, v. 45, n. 4, p. 136–139, 1993.
- 120 KUGIMIYA, M.; DONOVAN, J. W. Calorimetric Determination of the Amylose Content of Starches Based on Formation and Melting of the Amylose-Lysolecithin Complex. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 3, p. 765–770, 1981.

-
- 121 YOO, S-H.; LEE, C-S.; KIM, B-S.; SHIN, M. The properties and molecular structures of gusiljatbam starch compared to those of acorn and chestnut starches. **Stach/Starke**, v. 64, n. 5, p. 339-347, 2012.
- 122 RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 4, p. 511–529, 2007.
- 123 GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 4, p. 425–437, 2002.
- 124 NARA, S.; MORI, A.; KOMIYA, T. Study on Relative Crystallinity of Moist Potato Starch. **Starch/Stärke**, v. 30, n. 4, p. 111–114, 1978.
- 125 SCHOCH, J. Selective Precipitation with Butanol. **Solutions**, v. 64, n. 3, p. 2957–2961, 1940.
- 126 MONTGOMERY, E. M.; SENTI, F. R. Separation of Amylose from Amylopectin of Starch by an Extraction-Sedimentation Procedure. **Journal of Polymer Science**, v. 28, n. 1, p.1-9, 1958.
- 127 MUKERJEA, R.; ROBYT, J. F. Isolation, structure, and characterization of the putative soluble amyloses from potato, wheat, and rice starches. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 3, p. 449–451, 2010.
- 128 DEDAVID, B. A. **Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores**. EDIPUCRS. Porto Alegre: 2007. 60p. Disponível em: <http://www.pucrs.br/edipucrs/online/microscopia.pdf>. Acesso em: 16 nov.2016.
- 129 DE BLOGLIE, L. V. P. R. Recherches Sur la Théorie des Quanta. *Annales de Physique*, v. 3, n. 1, p. 1-22, 1925.
- 130 CULLITY, B.D. *Elements of X-Ray Diffraction*. Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company, 2001. 664 p.
- 131 SANTIN, O. F. Breve histórico dos cem anos da descoberta dos raios-X: 1985 – 1995. **Química Nova**, v. 18, n. 6, p. 578-580, 1995.
- 132 SPOMBERG, S. **Uso de difratometria de raios-x na quantificação de ferrita e austenita em aços inoxidáveis dúplex**. São Paulo: Centro Universitário da FEI - Relatório (PIBIC), 2010. 38 p.
- 133 LE BAIL, P.; RONDEAU, C.; BULÉON, A. Structural investigation of amylose complexes with small ligands: Helical conformation, crystalline structure and thermostability. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, n. 2, p. 1–7, 2005.
- 134 ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Stach/Starke**, v. 40, n. 1, p. 1–7, 1988.

-
- 135 GAILLARD, T. *Starch: Properties and potential*. Chichester: Society of Chemical Industry by John Wiley & Sons, 1987. 150 p.
- 136 KIZIL, J; SEETHARAMAN, K. R. I. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 1 p. 1-7, 2002.
- 137 NIKONENKO, N. A; BUSLOV, D. K; SUSHKO, N. I; ZHBANKOV, R. G. Spectroscopic manifestation of stretching vibrations of glycosidic linkage in polysaccharides. **Journal of Molecular Structure**, v. 752, n. 1, p. 1-5, 2005.
- 138 SEVENOU, O.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A.; MITCHELL, J. R. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 3, p. 79–85, 2002.
- 139 HARRICK, N. J. *Internal Reflection Spectroscopy*. New York: Wiley, 1967. 327 p.
- 140 PERKIN ELMER. FT-IR Spectroscopy: Attenuated Total Reflectance (ATR). Disponível em: <<http://www.perkinelmer.com>>. Acesso em: 29 de jun. 2017.
- 141 HIND, A. R.; BHARGAVA, S. K.; MCKINNON, A. At the solid/liquid interface: FTIR/ATR-the tool of choice. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 93, n. 1, p. 91-114, 2001.
- 142 HARVEY, D. *Analytical Chemistry 2.0* — an open-access digital textbook. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 1, p. 149-152, 2011.
- 143 OJEDA, C. B.; ROJAS, F. S. Recent applications in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2009-2011. A review. **Microchemical Journal**, v. 106, n. 1, p. 1–16, 2013.
- 144 YU, X.; HOUTMAN, C.; ATALLA, R. H. The complex of amylose and iodine. **Carbohydrate Research**, v. 292, n. 1, p. 129–141, 1996.
- 145 ŞAKAR, D.; KARAOĞLAN, G. K.; GÜMRÜKÇÜ, G.; ÖZGÜR, M. Ü. Determination of Anthocyanins in some Vegetables and Fruits by Derivative Spectrophotometric Method. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 4, p. 1-16, 2008.
- 146 DANET, A. F.; PISOSCHI, A. M.; KALINOWSKI, S. Ascorbic acid determination in commercial fruit juice samples by cyclic voltammetry. **Journal of Automated Methods and Management in Chemistry**, v. 2008, n. 1, p.1-8, 2014.
- 147 NYANZI, S. A.; ISIKO, M.; KATEREGGA, F.; SCHWACK, W. Second-derivative spectrometric determination of urea in milk using the diacetyl monoxime reagent. **Journal of AOAC International**, v. 93, n. 1, p. 485–491, 2010.
- 148 MCCREADY, R.; HASSID, W. The separation and quantitative estimation of amylose and amylopectin in potato starch. **Journal of the American Chemical Society**, v. 65, n. 6, p. 1154–1157, 1943.

-
- 149 JARVIS, C. E.; WALKER, J. R. L. Simultaneous, rapid, spectrophotometric determination of total starch, amylose and amylopectin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 63, n. 1, p. 53–57, 1993.
- 150 JAYAKODY, L.; HOOVER, R. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins - A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 691–703, 2008.
- 151 KNUTSON, C. A; GROVE, M. J. Rapid method for estimation of amylose in maize starches. **Cereal Chemistry**, v. 71, n. 5, p. 469-471, 1994.
- 152 SAENGER, W. The Structure of Blue Starch-Iodine Complex. **Natur Wissenschaften**, v. 71, n. 1, p. 1-6, 1984.
- 153 SYNGE, R. L. M.; TISELIUS, A. Fractionation of Hydrolysis Products of Amylose by Electrokinetic Ultrafiltration in an Agar-Agar Jelly. **Biochemical Journal**, v. 46, n. 1, p. 41-42, 1950.
- 154 HONG, P.; KOZA, S.; BOUVIER, E. S. P. Size-Exclusion Chromatography for the Analysis of Protein Biotherapeutics and their Aggregates. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 35, n. 20, p. 2923–2950, 2012.
- 155 LINDQVIST, B.; STORGARDS, T. Molecular-Sieving Properties of Starch. **Nature**, v. 175, n. 1, p. 511–512, 1955.
- 156 POLSON, A. Fractionation of Protein Mixtures on Columns of Granulated Agar. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 50, n. 3, p. 565-567, 1961.
- 157 HJERTÉN, S. The Preparation of Agarose Spheres for Chromatography of Molecules and Particles. **Biochimica et Biophysica Acta - Specialized Section on Biophysical Subjects**, v. 79, n. 2, p. 393-398, 1964.
- 158 HJERTÉN, S.; MOSBACH, R. “Molecular-Sieve” Chromatography of Proteins on Columns of Cross-Linked Polyacrylamide. **Analytical Biochemistry**, v. 3, n. 2, p. 109-118, 1962.
- 159 FLODIN, P. Methodological Aspects of Gel Filtration with Special Reference to Desalting Operations. **Journal of Chromatography A**, v. 5, n. 1, p. 103-115, 1961.
- 160 BELLO-PÉREZ, L. .; ROGER, P.; BAUD, B.; COLONNA, P. Macromolecular Features of Starches Determined by Aqueous High-performance Size Exclusion Chromatography. **Journal of Cereal Science**, v. 27, n. 3, p. 267–278, 1998.
- 161 GUMUL, D.; KRYSZYJAN, M.; BUKSA, K.; ZIOBRO, R.; ZIEBA, T. The influence of oxidation, extrusion and oxidation/extrusion on physico-chemical properties of potato starch. **Starch/Starke**, v. 66, n. 2, p. 190–198, 2014.
- 162 YOO, S.-H.; LEE, C.-S.; KIM, B.-S.; SHIN, M. The properties and molecular structures of gusiljatbam starch compared to those of acorn and chestnut starches. **Starch/Starke**, v. 64, n.

5, p. 339-347, 2012.

163 BULTOSA, G.; HAMAKER, B. R.; BEMILLER, J. N. An SEC–MALLS Study of Molecular Features of Water-soluble Amylopectin and Amylose of Tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] Starches. **Starch/Starke**, v. 60, n. 1, p. 8–22, 2008.

164 SANGUANPONG, V.; CHOTINEERANAT, S.; PIYACHOMKWAN, K.; OATES, C.G.; CHINACHOTI, P.; SRIROTH, K. Preparation and structural properties of small-particle cassava starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 8, p. 760–768, 2003.

165 TIAN, Y.; LI, Y.; XU, X.; ZENGYU, J.; JIAO, A.; WANG, J. A novel size-exclusion high performance liquid chromatography (SE-HPLC) method for measuring degree of amylose retrogradation in rice starch. **Food Chemistry**, v. 118, n. 2, p. 445–448, 2010.

166 AGILENT TECHNOLOGIES. An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography. Disponível em:
<<http://www.agilent.com/chem/gpcresources>>. Acesso em: 20 de jun. 2017.

167 ONG, M. H.; JUMEL, K.; TOKARCZUK, P. F.; BLANSHARD, J. M. V; HARDING, S. E. Simultaneous determinations of the molecular weight distributions of amyloses and the fine structures of amylopectins of native starches. **Carbohydrate Research**, v. 260, n. 1, p. 99–117, 1994.

168 ZHU, F. NMR spectroscopy of starch systems. **Food Hydrocolloids**, v. 63, n. 1, p. 611–624, 2017.

169 GIDLEY, M. J. Starch NMR. In: HALLEY, P & AVEROUS, L. **Starch polymers: From genetic engineering to green applications**. Elsevier, 2014. p. 243-253.

170 MUHRBECK, P.; TELLIER, C. Determination of the phosphorylation of starch from native potato varieties by ³¹P NMR. **Starch/Starke**, v. 43, n. 1, p. 25-27, 1999.

171 MARCHESSAULT, R. H.; TAYLOR, M. G. Preliminary communication n.m.r of starches. **Carbohydrate Research**, v. 144, n. 1, p. 1–4, 1985.

172 GIDLEY, M. J. Quantification of the structural features of starch polysaccharides by NMR spectroscopy. **Carbohydrate Research**, v. 139, n. 1, p. 85–93, 1985.

173 VEREGIN, R. P.; FYFE, C. A.; MARCHESSAULT, R. H.; TAYLOR, M. G. Characterization of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallization by high-resolution ¹³C CP/MAS NMR. **Macromolecules**, v. 19, n. 4, p. 1030–1034, 1986.

174 MAN, J.; YANG, Y.; HUANG, J.; CHANGQUAN, Z.; CHEN, Y.; WANG, Y.; GU, M.; LIU, Q.; WEI, C. Effect of simultaneous inhibition of starch branching enzymes I and IIb on the crystalline structure of rice starches with different amylose contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 41, p. 9930–9937, 2013.

175 FLANAGAN, B. M.; GIDLEY, M. J.; WARREN, F. J. Rapid quantification of starch

molecular order through multivariate modelling of C-13 CP/MAS NMR spectra. **Chemical Communications**, v. 51, n. 80, p. 14856–14858, 2015.

176 KALICHEVSKY, M. T.; JAROSZKIEWICZ, E. M.; ABLETT, S.; BLANSHARD, J. M. V.; LILLFORD, P. J. The glass transition of amylopectin measured by DSC, DMTA and NMR. **Carbohydrate Polymers**, v. 18, n. 2, p. 77–88, 1992.

177 PARIS, M.; BIZOT, H.; EMERY, J.; BUZARE, J. Y.; BULE, A. NMR local range investigations in amorphous starchy substrates : II-Dynamical heterogeneity probed by ^1H / ^{13}C magnetization transfer and 2D WISE solid state NMR. **International Journal of Biological Macromolecules** , v. 29, n. 2, p. 137–143, 2001.

178 PARIS, M.; BIZOT, H.; EMERY, J.; BUZARÉ, J. Y.; BULÉON, A. NMR local range investigations in amorphous starchy substrates I. Structural heterogeneity probed by ^{13}C CP-MAS NMR. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 29, n. 2, p. 127–136, 2001.

179 GIDLEY, M. J.; BOCIEK, S. M. Molecular Organization in Starches: A Study. **Journal of Americal Chemical Society**, v. 107, n. 10, p. 7040–7044, 1985.

180 NILSSON, G. S.; BERGQUIST, K.-E.; NILSSON, U.; GORTON, L. Determination of the degree of branching in normal and amylopectin type potato starch with ^1H NMR spectroscopy. Improved resolution and two-dimensional spectroscopy. **Starch/Starke**, v. 48, n. 10, p. 352–357, 1996.

181 TIZZOTTI, M. J.; SWEEDMAN, M. C.; TANG, D.; SCHAEFER, C.; GILBERT, R. G. New ^1H NMR procedure for the characterization of native and modified food-grade starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 6913–6919, 2011.

182 SYAHARIZA, Z. A.; SAR, S.; HASJIM, J.; TIZZOTTI, M. J.; GILBERT, R. G. The importance of amylose and amylopectin fine structures for starch digestibility in cooked rice grains. **Food Chemistry**, v. 136, n. 2, p. 742–749, 2013.

183 BILIADERIS, C. G. Differential scanning calorimetry in food research-A review. **Food Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 239–265, 1983.

184 IONASHIRO, M. *Giolito: Fundamentos da Termogravimetria; Análise Térmica Diferencial; Calorimetria Exploratória Diferencial*. Araraquara: Giz Editorial, 2004. 98 p.

185 WOOTTON, M.; BAMUNUARACHCHI, A. Application of Differential Scanning Calorimetry to Starch Gelatinization 1. **Starch/Starke**, v. 31, n. 6, p. 201–204, 1979.

186 TESTER, R. F.; DEBON, S. J. J. Annealing of starch - A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 27, n. 1, p. 1–12, 2000.

187 LIU, P.; YU, L.; LIU, H.; CHEN, L.; LI, L. Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 250–253, 2009.

188 ZELEZNAK, K. J.; HOSENEY, R. C. The glass transition in starch. **Cereal Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 121-124, 1987.

-
- 189 LIU, X.; YU, L.; XIE, F.; LI, M.; CHEN, L.; XIAOXI, L. Kinetics and mechanism of thermal decomposition of cornstarches with different amylose/amylopectin ratios. **Starch/Starke**, v. 62, n. 1, p. 139-146, 2010.
- 190 AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. **Thermochimica Acta**, v. 319, n. 2, p. 17-25, 1998.
- 191 ALVAREZ, V. A.; VÁZQUEZ, A. Thermal degradation of cellulose derivatives/starch blends and sisal fibre biocomposites. **Polymer Degradation and Stability**, v. 84, n. 1, p. 13-21, 2004.
- 192 O'CONNELL, C. The effects of methylparaben on the gelatinization and thermal decomposition of corn starch. **Thermochimica Acta**, v. 340-341, n. 1, p. 183-194, 1999.
- 193 SOARES, R. M. D.; LIMA, A. M. F.; OLIVEIRA, R. V. B.; PIRES, A. T. N.; SOLDI, V. Thermal degradation of biodegradable edible films based on xanthan and starches from different sources. **Polymer Degradation and Stability**, v. 90, n. 3, p. 449-454, 2005.
- 194 SINGH, S. K.; JOHNSON, L. A.; WHITE, P. J.; JANE, J-L.; POLLAK, L. M. Thermal properties and paste and gel behaviors of starches recovered from accessions used in the Germplasm Enhancement of Maize project. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 315-321, 2001.
- 195 SEETHARAMAN, K.; TZIOTIS, A.; BORRAS, F.; WHITE, P. J.; FERRER, M.; ROBOTTI, J. Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 379-386, 2001.
- 196 PINEDA-GÓMEZ, P.; ANGEL-GIL, N. C.; VALENCIA-MUÑOZ, C.; ROSALES-RIVERA, A.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. E. Thermal degradation of starch sources: Green banana, potato, cassava, and corn - Kinetic study by non-isothermal procedures. **Starch/Starke**, v. 66, n. 8, p. 691-699, 2014.
- 197 CARMONA-GARCIA, R.; AGURRE-CRUZ, A.; YEE-MADEIRA, H.; BELLO-PÉREZ, L. A. Dual modification of banana starch: Partial characterization. **Starch/Starke**, v. 61, n. 11, p. 656-664, 2009.
- 198 CIESIELSKI, W.; TOMASIK, P. Complexes of amylose and amylopectins with multivalent metal salts. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 98, n. 12, p. 2039-2051, 2004.
- 199 HU, X.; WEI, B.; ZHANG, B.; LI, H.; XU, X.; JIN, Z.; TIAN, Y. Interaction between amylose and 1-butanol during 1-butanol-hydrochloric acid hydrolysis of normal rice starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 61, n. 1, p. 329-332, 2013.
- 200 BULÉON, A.; VÉRONÈSE, G.; PUTAUX, J. L. Self-association and crystallization of amylose. **Australian Journal of Chemistry**, v. 60, n. 10, p. 706-718, 2007.

4. CAPÍTULO II – NEW APPROACHES ON THERMAL STABILITY OF STARCHES

Abstract

Although the thermal characteristics of several sources of native starches already exist, the correlations with the physicochemical properties are not feasible due to the complex behavior of this polymer and the different conditions used in the thermal analyzes that affect the results. The potato, banana, corn and cassava starches were characterized through different analytical techniques and their structural characteristics had presented correlated with thermal properties studied through TGA technique. SEM technique revealed authentic native morphologies of all starch granules. FTIR-ATR infrared ratios of amorphous/crystalline regions were close to XRD data for potato and corn starches. The T_g and gelatinization measurements through DSC technique presented restricted correlations with amylose ratio. TGA assays demonstrated that the crystalline array and the amylose content affects starch thermal stability with different magnitudes.

Keywords: thermal stability, polysaccharides, structural, correlation, features.

4.1 Introduction

Starch is a carbohydrate polymer extracted from agricultural raw materials, such as rice, corn, wheat, cassava, and potato. It is renewable, biodegradable, versatile, cheap and widely used in food and non-food applications [1,2].

Chemically, the starch is polyanhydroglucose consisting of two homologous polymers: amylose and amylopectin. Amylose is an essentially linear polymer composed by $2-12 \cdot 10^3$ glucose units on average, which are linked to each other by α -1,4 glycosidic bond. Amylose also has a small number of long branches. Amylopectin is much larger, composed by $0.4-35 \cdot 10^6$ glucose units in α -1,4 glycosidic bonds, connected by α -1,6-linked branch points (about 5%, 20,000 branches in an average molecule) [3,4,5,6].

Amylopectin has a cluster like organization. The chains within a single cluster have a modal degree of polymerization (DP) of 14-18. However, to interconnect multiple clusters, longer chains (DP of 45-55) are noticed. In addition, extra-long chains (DP~100) are observed in regular cereal starches [6].

The amylose is helical. The helix has a hydrophobic interior due to the presence of hydrophilic hydroxyl groups in the glucose residues in the outer part of the helix. Therefore,

the hydrophobicity allows the amylose to act as a host molecule and to form inclusion complex with various guest molecules of relatively low molecular weight [7].

In nature, amylose and amylopectin exist as semi crystalline aggregates consisting of ordered and disordered regions. The double helix formed from outer chains of amylopectin are related to crystalline regions regularly arranged with respect to each other in granule, due to the proximity of these chains that interact strongly [8,9,10]. The amorphous regions are related not only to amylose chains, but also to amylopectin branching points [11].

The industrial application of starch depends on its availability and its physicochemical characteristics [12], such as: the length of the α -glucan chains, amylose:amylopectin ratio and the branching degree, because these parameters define size, shape and structure of granules. These characteristics vary substantially among botanical sources [13].

Whatever the application, the starch, very likely, will undergo thermal processing. Thus, the techniques of thermal analysis have been used for its characterization with different purposes.

The thermogravimetric analysis (TG) is widely used to characterize thermal decomposition and determine the thermal stability of starch [14,15,16]. Aggarwall & Dollimore (1996) [17] proposed a method based on thermogravimetry that revealed that starch from different sources decompose at different speed but they did not suggest which the factors that caused the difference. Guinesi & colleagues (2006) [18] affirmed that, despite the structural differences, these had little influence on the thermal degradation process of the corn, cassava, rice and potato starches.

The differential scanning calorimetry (DSC) has been used to study the glass transition [19,20] , gelatinization [21,22,23] and crystallization transitions [24,25].

Despite the thermal characteristics of various native starches are already well documented [17,18,26,27] the available data in literature are difficult to correlate because the thermal behavior of this polymer is very complex and the different measurement conditions (sample mass, atmosphere, heating rate) affect its results [28]. Furthermore, the correlation between the thermal properties and the structures of starches, usually, is carrying out in only one source of starch.

The aim of this paper was to investigate starches of different sources (potato, banana, corn and cassava) through different techniques and to correlate their thermal properties with its structures.

4.2 Material and methods

4.2.1 Starch Sample

Commercial samples of potato (*Solanum tuberosum*) and corn (*Zea mays*) starches were used. The cassava (*Manihot esculenta*) and banana (*musa spp.*) starches were provided by Embrapa - Cassava and Fruits, Cruz das Almas, BA. The potato amylose and amylopectin (Sigma-Aldrich) were used to determine amylose ratio by spectrophotometry.

4.2.2 Amorphous starches and starch separation method

In order to treat native potato, banana, corn and cassava starches to obtain amorphous samples of them, the method described by Ratnayake & Jackson, 2007 [29] was employed with little modifications. Sample of 6g of each starch source were separately stirred up in a boiling bath (100 mL of distilled water) for 30 minutes, cooled until -80 °C by an ultra-freezer (Coldlab CL580-86V) and freeze-dried (Liotop L101; -43 °C) until obtention of the dry powder.

Based on Montgomery & Senti (1958) starch separation method [30], the cassava starch was initially pretreated to extraction of fat and to facilitate the extraction of the starch using only water. For this, the starch (5%) was added to a solution of 70% glycerol. The obtained suspension is stirred slowly while heating to 89°C at a rate of 0,8 °C min⁻¹, with N₂ sparging. The temperature was maintained for one hour, cooled, filtered; and washed with ethanol until the absence of the pretreatment solvent.

The pretreated starch aqueous solution (2%) was adjusted to pH 6.0-6.3 using phosphate buffer, stirred at 200 rpm and heated to 98°C. Then the solution was cooled using an ice bath (0-2 °C), and subjected to centrifugation (18.000 rpm) for 1 hour. The resulting supernatant (amylose) was submitted to the centrifugation (Hitachi CR22G III) process until no precipitate. The solid fractions were collected, lyophilized and formed the cassava amylopectin.

Supernatants were mixed, combined with 1-butanol (1:3 v/v) and maintained at rest for 8 hours. Then, the solution was centrifuged (6.000 rpm) for 10 minutes. The obtained solid fraction was freeze-dried (Liotop L101) and the sample consisted of cassava amylose.

4.2.3 Scanning Electron Microscopy (SEM)

Starch granules micrographs were obtained using a Tescan – Vega Lmu field emission scanning electron microscope (Oxford Instruments X-Act). Images of gold coated samples were obtained at 15kV, the morphology was evaluated at 1200 times.

4.2.4 X-ray diffraction (XRD)

The XRD patterns of starches were obtained on an X-ray diffractometer Shimadzu XRD-6000 model with graphite monochromator operating with CuK radiation ($\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$) at 40kV, 30mA, 0.02 (slit) in the region of 5 to 80 2θ .

The crystalline index related to alpha quartz (CI) of the samples were taken using the software OringinPro 8.1, by determining the area under the peaks in the range between 3 and 30 2θ , region of higher concentration of common peaks of starch samples [31].

The CI was also obtained as described by Nara, Mori & Komiya (1978) [32], considering the treated starches as the 100% amorphous area and the alpha quartz as 100% crystalline, following the Equation 1:

$$\% \text{ CI} = \left(\frac{\sum |I_s - I_a|}{\sum |I_c - I_a|} \right) \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

where, $|I_s - I_a|$ = absolute difference between the sample $[I_s]$ and amorphous $[I_a]$ intensities, and $|I_c - I_a|$ = absolute difference between the crystalline (quartz) $[I_c]$ and amorphous $[I_a]$ intensities.

4.2.5 Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR)

The FTIR spectra of starches were obtained in absorbance mode using a Perkin Elmer Spectrum Two equipped with ATR reflectance cell containing a diamond crystal. The acquisitions were performed at room temperature, accumulating 64 scans, Happ-Genzel apodization and resolution of 2 cm^{-1} .

The infrared ratios ($1044/1013 \text{ cm}^{-1}$ and $1013/992 \text{ cm}^{-1}$) of starches were obtained following the method described by Huang and colleagues, 2015 [33] with some modifications. The absorbance spectra of starches ranging $1200\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$ were deconvoluted and fitted by OriginPro 8.1 assuming a Lorentzian shape.

4.2.6 Molecular Absorption Spectroscopy and Amylose Determination.

Sample characterization by molecular absorption spectroscopy were carried out based on the method described by Zhu, Jackson, Wehling & Geera (2008) [34] with some adaptations. Samples containing 200 mg of mass previously dried at 40°C for 24 hours were transferred to a 100 mL volumetric flask followed by an addition of 1 mL of ethanol, 10 mL of NaOH 1 N. After the solution was kept standing for 1 hour, the balloon volume was completed with distilled

water. A 2 ml aliquot was transferred to a 100 mL volumetric flask and 50 mL of distilled water were added. This solution was neutralized with 0.1 N HCl using pH indicator strip. Then 2 mL solution of iodine-iodide 2% (m/v) were added to the neutral solution and the volume was completed with distilled water. The final solution was allowed to stand for 30 minutes for color development and subsequently measured on a Shimadzu spectrophotometer UV-Vis Model 1650 PC, in quartz cuvettes with optical path of 1 cm in a wavelength range of 400 - 900 nm.

The amylose content of potato, banana, corn and cassava starches were determined, in triplicate, by the iodine binding reaction by spectrophotometry. Two analytical curves were constructed using amylose and amylopectin from potato (Sigma-Aldrich; $r^2=0.9998$) and those from cassava (obtained the starch separation method; $r^2=0.9999$). The potato, banana, corn and cassava starches were prepared and carried to Shimadzu spectrophotometer UV-Vis Model 1650 PC, in quartz cuvettes (1 cm) and the absorbance values were obtained at 630 nm, following the ISO 6647-1/2 procedure [35,36].

4.2.7 Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Experiments were conducted on a differential scanning calorimeter (TA-60, Shimadzu Corp.), previously calibrated.

To detect the incremental change in heat capacity (C_p) associated to glass transition (T_g), samples (10 mg) were stored into a vial containing 2 μ L of distilled water, carefully homogenized and kept for 72 h to complete moistened, as suggested by Yu (2001) [28]. The moistened samples (2mg) were sealed in aluminum pans and typically heated at $15^\circ\text{C min}^{-1}$ from 25°C to 270°C . This first scan was performed to erase the thermal memory of starches. After cooling, a second scan was performed with the same heating rate, starting from -50°C to 270°C . All scans were performed at a N_2 flow rate of 50 mL min^{-1} .

In order to evaluate the gelatinization of starches the method of Carmona-García, Aguirre-Cruz, Yee-Madeira & Bello-Pérez, 2009 [37] was used with an adaptation on the water amount. A mass (2 mg) of each sample was separately placed in aluminum pans followed by the addition of 10 μ L of distilled water. The DSC pan was sealed and allowed to rest for one hour, to complete hydration of starches. The hydrated samples were heated in the calorimeter from 20°C to 110°C at a heating rate of $10^\circ\text{C min}^{-1}$. The DSC parameters as: the onset temperature (T_o); the peak temperature (T_p); the conclusion (T_c) and the gelatinization enthalpy (ΔH_{gel}) of the endotherms were obtained through TA-60[®] software. All scans were performed at a N_2 flow rate of 50 mL min^{-1} .

4.2.8 Thermogravimetry (TG)

The measurements were performed using a Perkin Elmer thermogravimetric analyzer, Pyris1 TGA, previously calibrated.

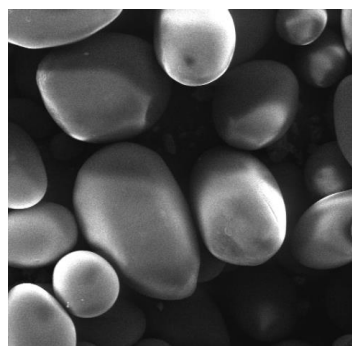
Based on Stawski (2008) method [5], a platinum crucible was used under the following conditions: sample mass of approximately 5 mg, N₂ flow rate of 40 mL min⁻¹, heating rate 15 °C min⁻¹ and temperature range of 25 to 650°C.

The moisture of the samples was calculated by Pyris 1 TGA software, by measuring the mass loss of the first thermal event of each TG curve. Measurements related to degradation events as: T_{onset} DTG, T_{50%} and T_{peak} DTG were calculated by the same software. The slopes were calculated by the T_{onset} DTG (left limit) to T_{50%} (right limit) both on TG curves.

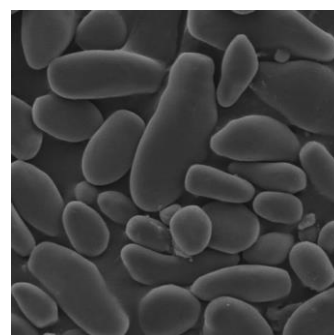
4.3 Results and Discussion

4.3.1 Scanning electron microscopy (SEM)

SEM micrographs of native starches are presented in Figure 1. Frequently, tuber and root starches have smooth, oval and round morphologies of relatively large size with axes of 10-100 µm [38,39], this description fits the morphology presented on Figure 1 (a). Banana starch granule has extended irregularly shaped granules that are disk shaped with a long axis of 15-45 µm and a short of 10-20 µm [38,39], which fits the measurements presented on Figure 1 (b). Corn starches can present many morphologies and sizes. In general, normal corn has irregularly shaped granules with a number of polyhedral faces and relative sharp edges, as can be seen in Figure 1 (c) [38,39]. Cassava starch granule have smooth, irregularly shaped and intermediate size of 5-40 µm [38,39] and it can be confirmed on Figure 2 (d).



(a)



(b)

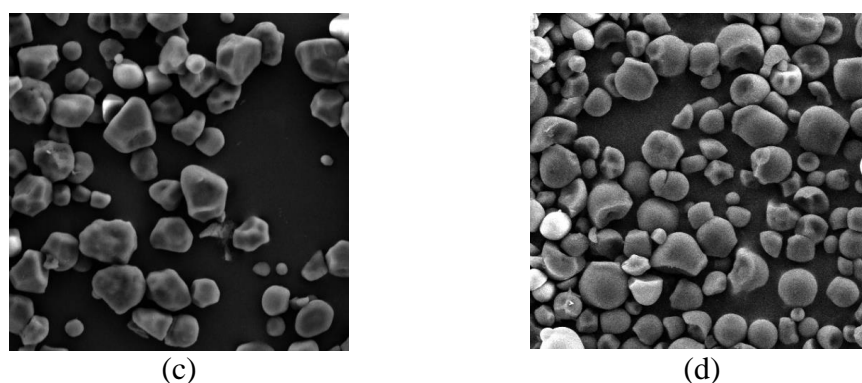


Figure 1 - SEM micrographs of native starches of different sources (1200X magnified): (a) potato, (b) banana, (c) corn and (d) cassava.

4.3.2 X-Ray diffraction (XRD)

Studies of X-ray diffraction have showed that the starch granule is a semi-crystalline material. The amorphous region consists mainly of amylopectin branching chains and amylose while the crystalline region consists in majority of amylopectin but also with some amylose [40]. The starch granules, depending on their botanical source, show three types of crystallinity patterns: A (Bragg angle 2θ at about 15.3; 17.1; 18.2 and 23.5), B (Bragg angle 2θ at approximately 5.6; 14.4; 17.2; 22.2 and 24) and C (Bragg angle 2θ at approximately 5.6; 15.3; 17.3 and 23,5). The C-type crystallinity is a combination between A and B-type [41,42]. The main difference between A and B polymorph is in the packaging of double helix, which consequently also differs in the content of intra-helical water [40].

The Figure 2 shows the XRD diffractogram obtained for potato, banana, corn and cassava starch samples. A-type crystallinity is commonly found at cereals [40]. However, the cassava starch granule, despite of being a tuber, has presented A-type crystallinity [40], as corn starch granule. The potato starch granule has presented B-type crystallinity [40], while banana starch granule has presented a C-type crystallinity [41-43].

The degree of crystallinity, which can be interpreted as long-range order (packing of double helices into ordered arrays), in a semi-crystalline biopolymer [44,45], were calculated and normalized to alpha quartz for all samples, as described on method session. The Figure 2, shows native starches (black line) and the amorphous (light gray line) employed to calculate %CI of each starch botanical source.

As can be seen in Table 1, the crystalline index (%CI) decreases following the order banana>potato>corn>cassava.

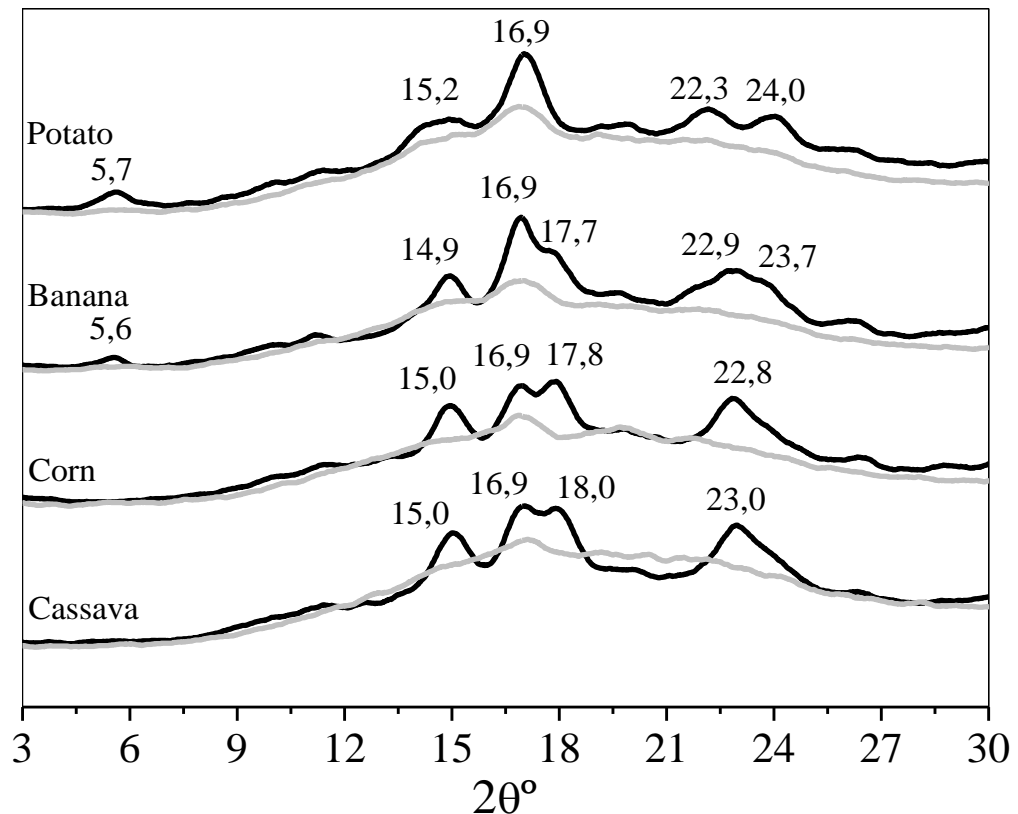


Figure 2 - XRD diffractogram of native (black) and amorphous obtained by water boiling bath (gray) for potato, banana, corn and cassava starches.

Table 1 - %CI for native potato, banana, corn and cassava starches

Sample of starch	%CI	Peaks (degrees)
Potato	37,1	5.7; 15.2; 16.9; 22.3; 24.0
Banana	57,3	5.6; 14.4; 16.9; 17.7; 22.9; 23.7
Corn	27,6	15.0; 16.9; 17.8; 22.8
Cassava	17,5	15.0; 16.9; 18.0 23.0

Using the same method for %CI calculation, the results found for potato and corn starches were close to other reports [29,46]. However, higher differences were found for cassava [29,47] and banana starches [48,49]. These differences can be attributed to the cultivars variations and to the starch extraction method of each one.

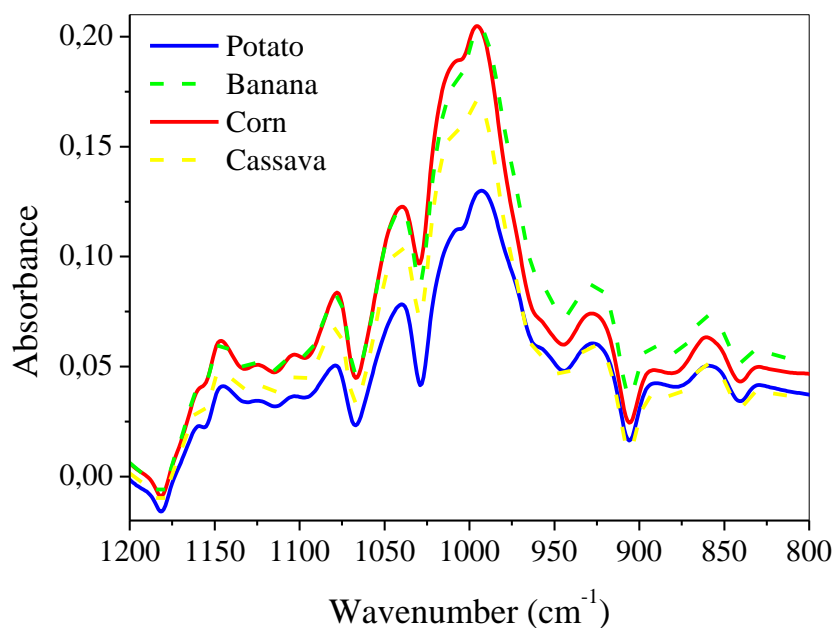
4.3.3 Spectroscopy: Fourier transform infrared – Attenuated total reflectance (FTIR-ATR) and spectrophotometry:

The FTIR spectrum obtained by KBr pellet method from native starch samples (not showed) has presented similar profiles among them. This similarity is due to the overlapping

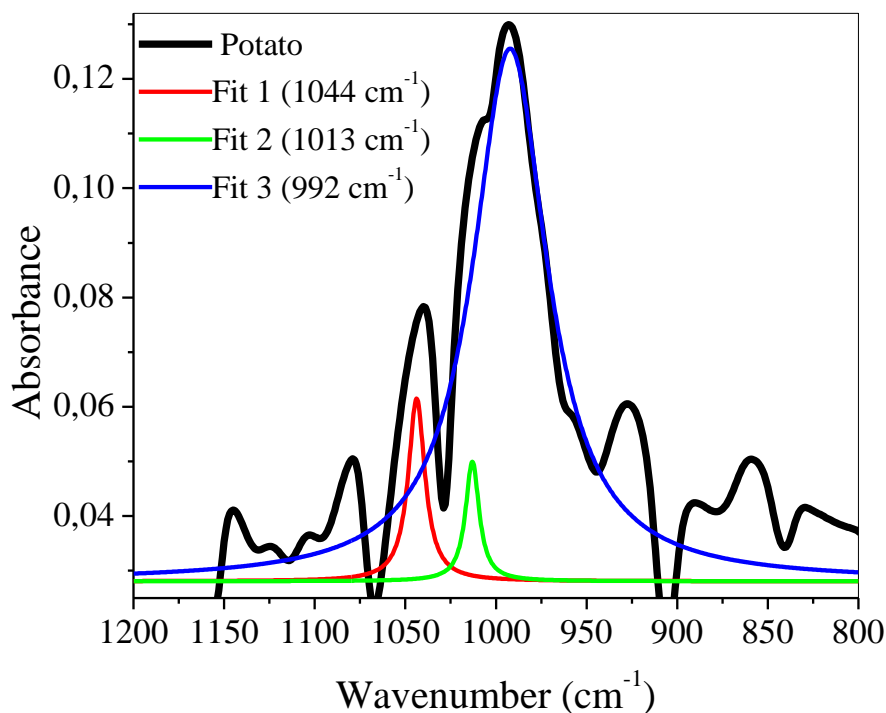
of the glucose vibration modes [50]. Thus, this technique did not offer any elucidation considering the different botanical origin.

Meanwhile, the FTIR spectroscopy coupled with ATR can be used in order to evaluate the short-range ordered structure, defined as the double-helical order [33] (supposed to be the double helix content in starch) present in external region of starch granules [33,44,47]. This understanding of structure at the surface of starch granules is important to establish the relationship between the starch granule and its surrounding environment [45].

Thereby, the $1044/1013\text{ cm}^{-1}$ absorbance ratio was used to evaluate the degree of order in starch samples; while the $1013/992\text{ cm}^{-1}$ to estimate the proportion of the amorphous to ordered carbohydrate structure in the starch [33]. The ATR spectrum ranging $1200\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ of all starches is presented in Figure 3 (a) and a typical deconvoluted and fitted spectra of potato starch on Figure 3 (b). The infrared ratio presented in Table 2 refers to the absorbance obtained by the fitted spectra of potato, banana, corn and cassava starches.



(a)



(b)

Figure 3 - FTIR-ATR of (a) potato, banana, corn and cassava starches and (b) a typical deconvoluted and fitted spectra of potato starch.

Table 2 - Infrared absorbance ratios measured on deconvoluted spectra of potato, banana, corn and cassava starches

Sample of starch	Infrared ratio/cm ⁻¹	
	1044/1013	1013/992
Potato	1.23	0.39
Banana	1.28	0.34
Corn	1.04	0.44
Cassava	1.06	0.47

The following decreasing order was found for degree of order in starch external region: banana>potato>cassava>corn; whereas the decreasing order for proportion of amorphous to ordered structure was: cassava>corn>potato>banana. In spite of FTIR-ATR technique is applied to estimate short-range ordered structure and XRD to assess and quantification of long-range crystalline order in starch, high correlation inversely proportional ($r=-0.9888$) was verified between infrared absorbance ratios on 1013/992 cm⁻¹ and %CI calculated by XRD.

Spectrophotometry technique was employed to evaluate potato, banana, corn and cassava starches through iodine binding and also determine the amylose ratio. The amylose is able to form helical complex with iodine, which exhibit a blue color, and can be detected in the

visible region (about 630 nm) [51]. However, the iodine also forms a complex of red color due to complexation with long chain amylopectin polymers (about 540 nm) [34].

Because the contribution to absorption of amylopectin complex is much smaller than amylose complex [52], the absorption of starch-iodine depends mainly of amylose fraction. The factors that primarily influence the absorption is the degree of helix formation (number of helical turns), besides the I_3^- - I_2 ratio, iodide concentration and the length of the 1,4 α -glucan chains [53].

The molecular absorption spectra at visible region obtained from the starch samples of different sources are presented on Figure 4. All the profiles have showed the typical absorbance spectrum for iodine-starch, presenting peaks not symmetrical around the maximum, but skewed toward higher wavelengths [53].

The wavelengths of maximum absorbance (λ_{max}) of different sources of starch are presented in Table 3. The λ_{max} were quite similar, suggesting that the degree of polymerization among these samples also is similar [53]. In spite of method used to estimate the amylose content to use a wavelength of 630 nm, it is suitable because the samples have very broad peaks [52].

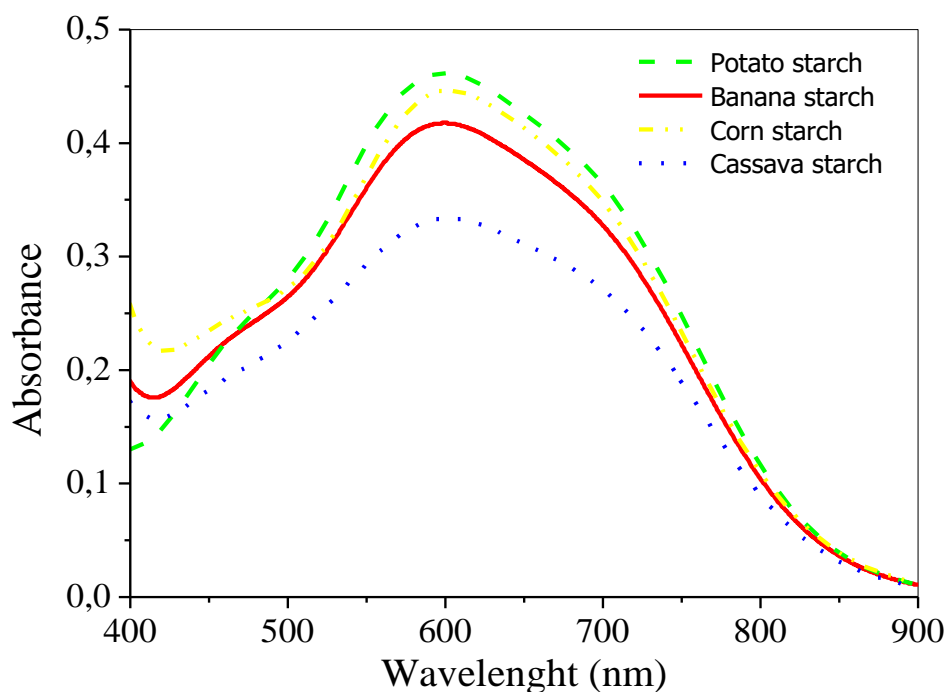


Figure 4 - Profile of visible spectral scan of iodine binding with starches from potato, banana, corn and cassava.

Table 3 - Wavelengths of maximum absorbance (λ_{\max}) and amylose content obtained for starches from different sources.

Starch	λ_{\max} (nm)	Maximum absorbance(dimensionless)	% amylose by ISO 6647-1/2 (analytical curve generated from potato amylose)
Potato	599	0.462	20.46 ± 0.66
Banana	598	0.418	16.36 ± 0.27
Corn	602	0.447	19.70 ± 0.89
Cassava	599	0.334	14.86 ± 0.78

The results of amylose content followed the decreasing order: potato>corn>banana>cassava, either in the curve generated by the potato or by cassava amyloses. The analytical curve generated from potato amylose provided comparable values of amylose content (Table 3) for potato [52,54,55,56], banana [57-59] and corn [52,56,60,61] starches but not for cassava, when compared to other reports.

Some authors had already reported some differences on the amylose content determinations in consequence of: I) differences on the absorptivity of amylose fractions of different botanical sources, caused by the effect of the polymerization degree of the complexation of iodine with amylose. This polymerization degree effect is related to the number of iodine molecules into the amylose cavity. The quantity of iodine molecules, on its hand, increases as the length of the glucan chains increase, as a consequence, the iodine binding capacity increases [53]; II) the unavailability of high purity commercial amyloses employed to generate the analytical curves by spectrophotometry [53].

In this sense, as the cassava starch presented less amylose content ($11.19 \pm 0.80\%$) than it usually occurs for normal starches ($\sim 15\text{-}30\%$) [4,62], it was newly determined by the ISO 6647-1/2 method [34,35] with cassava amylose and amylopectin fractions separated and purified in the laboratory by selective precipitation method with 1-butanol [30], in order to verify this discrepancy. The amylose ratio of the cassava starch after the new determination with fractions of the same botanical source was $14.86 \pm 0.78\%$, becoming closer to at least four varieties of other reports [63-65].

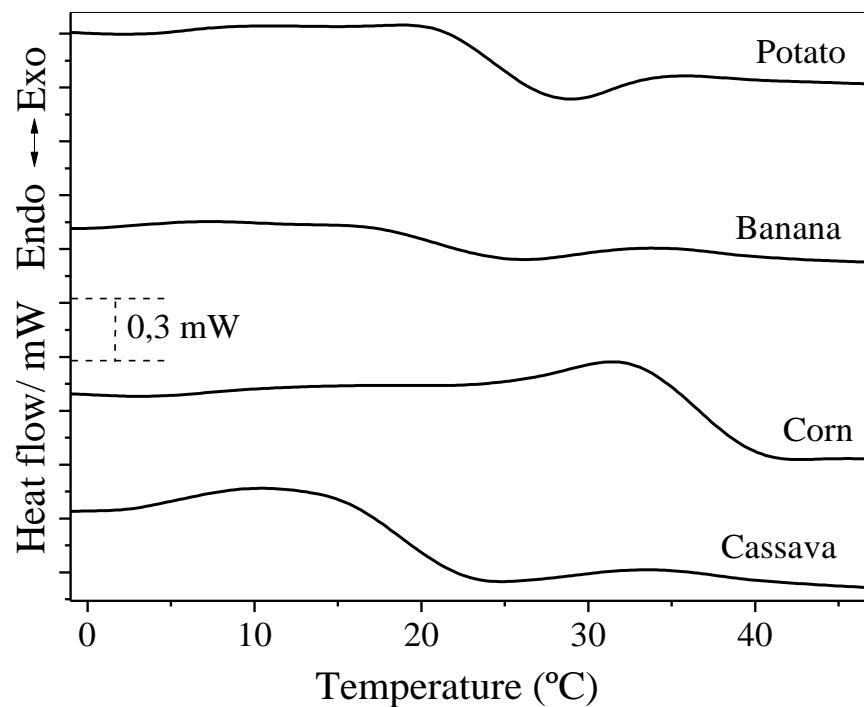
Although some authors have found that the crystallinity usually decreases with increasing amylose content [19,66], there was no relationship between crystallinity and amylose concentration for the samples studied in this work. This occurred, probably, due to the differences in botanical sources that present granules of different structures. Moreover, Zhu, Jackson, Wehling & Geera (2008) [34] have already mentioned the differences presented in analytical curves when different patterns of amylose and amylopectin is used in iodine binding

method. The amylose content, meantime, has been correlated with the width of granule growth rings [67].

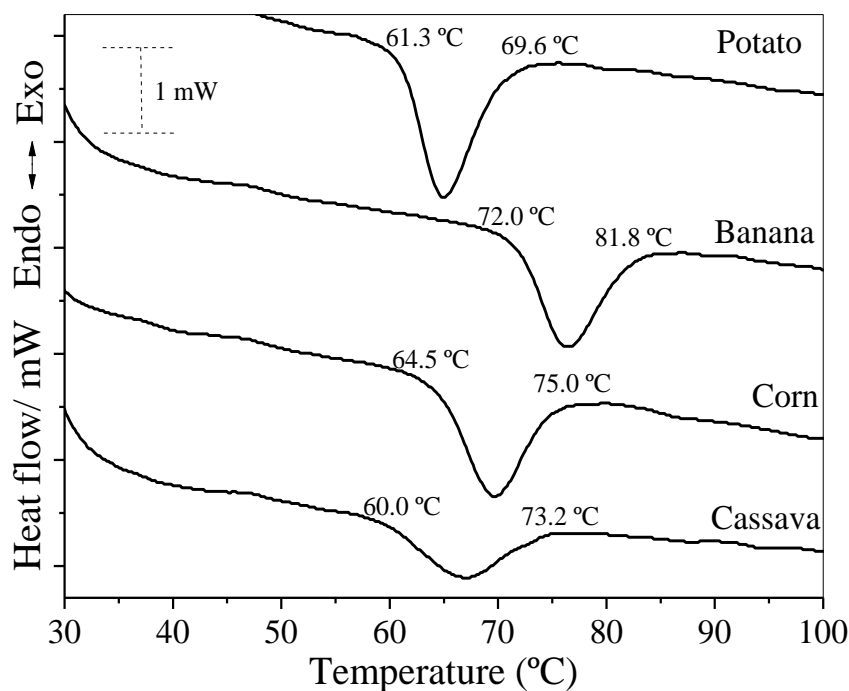
4.3.4 Thermal analysis: Differential scanning calorimetry (DSC) and Thermogravimetry (TG):

The starch, being a semi crystalline polymer exhibits physicochemical changes that occur during its heating. In this work, the glass transition and gelatinization were evaluated for starches of potato, banana, corn and cassava.

The glass transition temperature (T_g) refers to the temperature at which the amorphous domains of the starch granule are transformed from a rigid glassy to a mobile rubbery state when heated in the presence of solvents such as water or glycerol (plasticizers) [68]. It is typically marked as a little variation in ΔC_p on DSC curves and is noticeable as the starches have more amorphous regions [69]. As the magnitude of ΔC_p and T_g temperatures of starches are affected by moisture content [69,70], the samples were moistened as described in DSC method section. The values of moisture for potato, banana, corn and cassava starches are presented in Table 4 (Moisture^b (%)).



(a)



(b)

Figure 5 - DSC profile of starches: (a) glass transition temperatures and (b) gelatinization endotherms.

The T_g results (Table 4, Figure 5 (a)) were not similar to those reported on literature for potato [71], banana (no comparable data), corn [19,71] and cassava [72]. These differences were attributed to small deviances (at about 5 %) on sample moisture content obtained by each author and mostly due the difference in instrumental conditions.

Table 4 - Moisture, T_{onset} DTG, $T_{50\%}$, T_{peak} DTG, slope, glass transition temperature (T_g), gelatinization peak temperature (T_p) and gelatinization enthalpy (ΔH_{gel}) of starch samples.

Starches	Moist ^a (%)	Moist ^b (%)	T_g (°C)	T_p (°C)	T_c-T_o (°C)	ΔH_{gel} (J g ⁻¹)	T_{onset} DTG (°C)	$T_{50\%}$ (°C)	T_{peak} DTG (°C)	Slope (% °C ⁻¹)
Potato	7.8	24.8	16.0	64.9	8.3	11.7	332.4	367.4	351.8	-1.0
Banana	8.4	20.8	15.5	76.5	9.8	8.1	337.2	368.9	367.0	-1.3
Corn	8.7	36.2	16.1	69.7	9.5	9.8	344.4	374.7	367.7	-1.2
Cassava	7.1	18.3	15.2	67.0	13.2	10.6	349.9	380.8	374.0	-1.1
Potato	10.4	-	-	-	-	-	323.6	354.8	350.9	-1.5
Banana	9.3	-	-	-	-	-	331.2	364.0	363.0	-1.4
Corn	9.5	-	-	-	-	-	325.6	363.4	361.9	-1.5
Cassava	11.9	-	-	-	-	-	348.4	380.5	377.9	-1.0

Amorp. = Amorphous samples.

Moist. = Sample moisture.

^avalues obtained for thermogravimetric method of previously dried starches.

^bvalues obtained by thermogravimetry after water content adjusted for T_g evaluations.

T_c-T_o = difference between the conclusion and onset temperatures of gelatinization endotherms.

When the temperatures were compared between them (with very close moisture values), the decreasing sequence: corn > potato > banana > cassava were quite similar to the amylose content observed by the iodine affinity in Table 3. In spite of the iodine affinity sequence is truly: potato > corn > banana > cassava, was considered that the absorbance values between potato and corn starches were very small. The increases of T_g with increases of amylose content was noticed on other reports and two explanation were used for justify this fact.

Bizot and colleagues (1997) [73] considered that the interactions among linear chains of amylose in crystalline zones as an equivalent to crosslinking, inducing to partial crystallinity and reducing the mobility in the interfacial or interlamellar rigid amorphous fraction bordering crystallites. On the other hand, branched chains have flexibility effect.

Liu and colleagues (2010) [19], however, used the unique gel-ball structure of gelatinized amylopectin which consists to the formation super globes and gel-ball structures by the amylopectin chains in the presence of plasticizers, as water. The entangled gel-ball system requires less energy to move than linear chains and explains why high amylopectin starches exhibit lower T_g . This interpretation, which considers the crystal structure and microstructure of gelatinized starch, seems to be more plausible.

Although some authors have evidenced that T_g is elevated by increasing crystallinity [70] when starch from same source compared, the results obtained in this work could not be related to crystallinity. This can be attributed to the respective size and distribution of crystalline and amorphous domains when the matrix is mobilized at the glass transition [73].

The T_g is a transition concerns to amorphous phase of starch and is influenced by hydration of starch [70,71]. The gelatinization, in contrast, is ascribed to crystalline phase [29] and is measured in a suspension of starch.

The starch gelatinization, that is accompanied by the loss of birefringence, has been interpreted in terms of a non-equilibrium melting process controlled by the plasticization of the amorphous regions of the starch, which prior to gelatinization were a glass [74]. Therefore, as the starch granules become less rigid due to T_g and able to hydrate. Hereafter, swell occurs followed by collapse of molecular arrangement due to melting crystallites, unwinding of double helices, and breaking of hydrogen bonds [62]. Thus, in order for gelatinization to take place, glass transition must be at least partially underway, so the two are interrelated.

In contrast with T_g measurements, the gelatinization peak temperatures (T_p) were all in accordance with literature for all starch sources (Table 4). The gelatinization temperatures (T_p) of starches followed the order: banana > corn > cassava > potato. The same decreasing order was found by Jane and colleagues (1999) [8] for the samples studied with small differences of

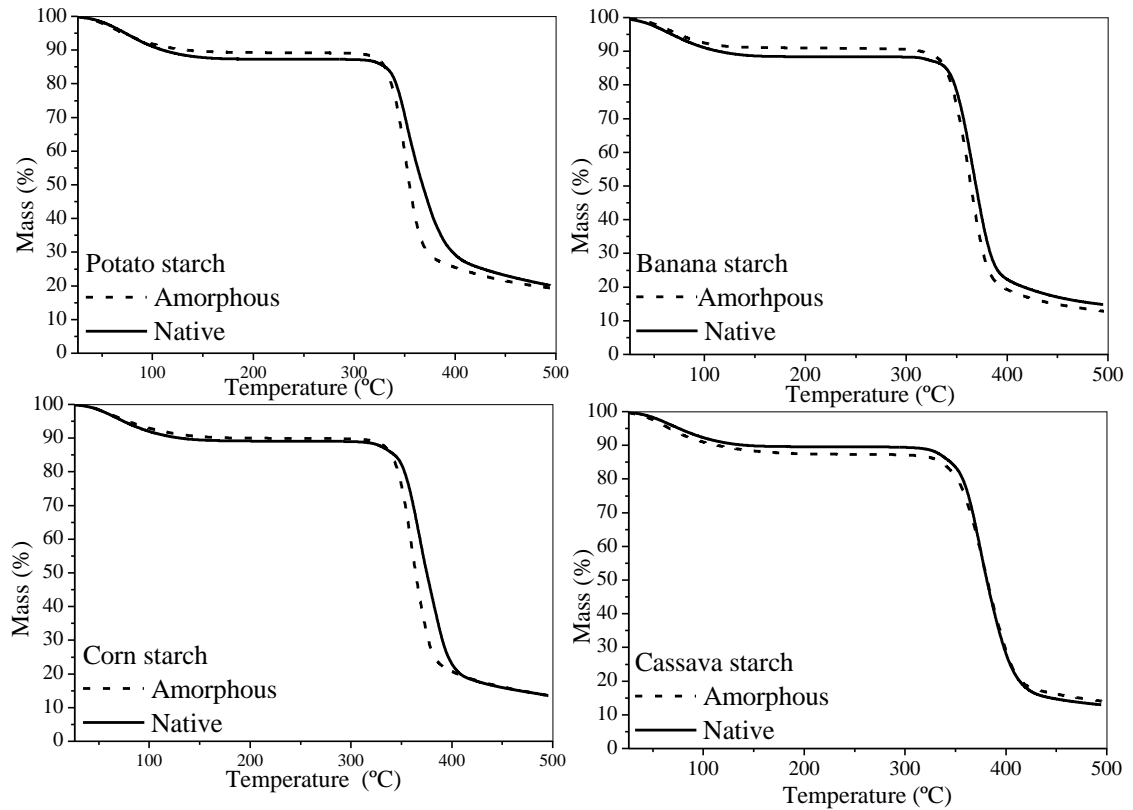
temperatures. The T_p shows directly proportional and high correlated ($r=0.9994$) with %CI (Table 2), except for potato starch. The T_p has been represented by the measure of the double helix length [26,75]. Thus, the results of T_p suggest that the length of branch-chain of amylopectin decreases in the same order to T_p , except for potato. The potato starch, although presents B-type polymorphism (has higher branch-chain than A-type polymorph), exhibited low T_p . This can be attributed to the presence of negative charges from monoester derivatives, which destabilize the double-helical [8,75].

The gelatinization enthalpy (ΔH_{gel}) of native starches followed the decreasing order: potato>cassava>corn>banana (Table 4). Similar decreasing order was found by Jane and colleagues, 1999 [8], except to banana starch. However, the ΔH_{gel} (Table 4) shows inversely proportional and high correlated ($r=0.9974$) with %CI (Table 2), except for potato starch. The ΔH_{gel} is the energy necessary for dissociation of crystalline double-helices (measured by XRD) in the granules [26,46,75]. Thus, enthalpy should increase with the increases of %CI. The absence of relationship between ΔH_{gel} and %CI were noticed [46] for starches of true yam, taro, new cocoyam, cassava and potato. Thus, others factors, such as: interaction between adjacent amylopectin double helices within the crystalline domains [46], granule shape, percentage of large and small granules, distribution of amylopectin shorter chains, and presence of phosphate ester should be affecting the ΔH_{gel} [26].

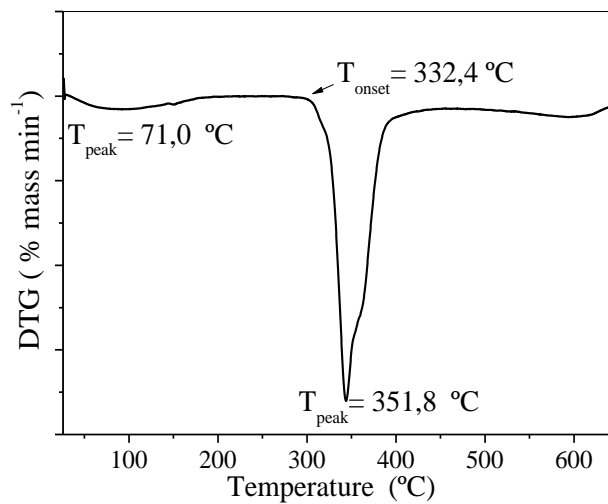
The DSC runs also provided the information about the crystallites heterogeneity within the starch granules. As the endotherm shape becomes broader, it indicates that the crystallites contained high heterogeneity, meaning various sizes and degrees of perfection [76]. The difference between the conclusion and onset temperatures of starches endotherms (T_c-T_o , presented on Table 4) were used to evaluate these differences between the crystals of each starch source. The values were comparable for potato starch with less than 2°C of difference [77,78]. The banana starch presented differences (about 9°C) when compared to other reports [79,80]. Corn starch presented similar values (about 10°C) when compared to nine varieties of native corn starches studied [81]. The cassava starch also presented small differences (less than 3°C) when compared to other reports [82,83].

The decreasing order of T_c-T_o : cassava>banana≥corn>potato was inversely proportional and high correlated ($r=-0,8684$) to the amylose ratio (Table 3), because the gelatinization endotherm refers to the melting of crystalline region.

Two thermal events can be observed in the TG curves of the starch samples (Figure 6 (a)) and evidenced in the DTG typical curve of potato starch (Figure 6 (b)).



(a)



(b)

Figure 6 - TG curves of native and amorphous (a) potato, banana, corn and cassava starches and (b) typical DTG curve of potato starch.

The first event may be attributed to the water evaporation/desorption [84]. This event starts after the increase in temperature and ends around 160 °C. The moisture values (Table 4)

calculated from mass loss referring this event for the starches studied followed the decreasing order: potato>corn>cassava>banana. The potato presents the highest amount of absorbed water. This is according to B-type pattern granules, which can hold more water molecules as compared with A-type pattern granules [85]. For the other starch samples, the resultant of amylopectin content and crystallinity can be considering for explain water sorption. Although the hydroxyl groups of glucose units and the water molecules interact by hydrogen binding with both amylose and amylopectin, the bind is stronger for amylopectin due to its branched chain nature [86,87]. However, this hypothesis can be overcome when the crystallinity of the polymer is considered. The extensive secondary intermolecular bindings with hydroxyl groups on adjacent glucose units interact with one another, reducing then the sites available for adsorption of water molecules. Thus, the higher degree of crystallinity could be reducing the moisture sorption [85,86].

The second event corresponds to thermal decomposition, which starts at about 300°C (Figure 6(b)). The decomposition event involves elimination of polyhydroxyl groups, accompanied by depolymerization and decomposition, with final production of carbon [84]. The decomposition products are gaseous compounds formed by hydrogen, oxygen, and carbon according to the composition of the amylose and amylopectin that form the structure of the starch granule [88]. As the water evaporation/desorption ends before of decomposition event, the water content did not affect the decomposition temperature.

The mass loss ranges of the decomposition events of the four different starches studied were quite similar to each other, ranging between 67% of mass loss (Figure 6(a)). Four measurements were obtained from each TG curve of starch in order to characterize and compare them: (i) T_{onset} DTG, (ii) T50%, (iii) T_{peak} DTG (temperature of highest decomposition rate), and (iv) slope (decomposition rate).

The T_{onset} dTG, T50% and T_{peak} dTG showed the following decreasing order: cassava>corn>banana>potato. An inversely proportional relationship was noticed between amylose content and thermal stability (except for corn starch), for all temperatures indicator, with high correlation ($r = -0.9823$) for T_{onset} dTG. This same proportionality has already been prior [5,89]. Including, the T50% was plotted against amylose content for construct an analytical curve in order to determine amylose in potato, rice and wheat starches [5]. These findings are supported by the greater thermal stability of amylopectin. Because amylopectin fraction has a higher molecular mass due to the large amount of α -1,6 bindings, a higher activation energy is required to decomposition process [19].

The same temperature indicators were correlated to %CI. An inversely proportional relationship was noticed between %CI and thermal stability (except for banana starch), high correlated ($r=-0.9976$) for T50%. There are no previous studies relating thermal stability with crystallinity.

To understand how the crystallinity influences the thermal stability, the amorphous starches were analyzed. The same TG profile of natives was found to amorphous starches (Figure 6 (a)). However, it was verified that the amorphous starches decompose faster and at lower temperatures than semicrystalline starches (Table 4). This shows that crystallinity has an important role in thermal stability of starches. In fact, the crystallinity must be considered and evaluated before the construction of the analytical curve based on starch thermal stability, proposed by Stawski, 2008 [5]. As can be seen, at T50% the potato and corn starches presented the highest differences attributed to the loss of crystallinity (at about 12°C).

When the effect of crystallinity on the thermal stability measurements was excluded (amorphous starches), a new order inversely proportional to amylose content was established, with $r=-0.9039$ for T_{onset} DTG, $r=-0.8649$ for T50% and $r=-0.8797$ for T_{peak} DTG.

Finally, these results show that the thermal stability of starch is dependent of both, amylose content and crystallinity. On the samples studied, the corn starch was the most dependent of crystallinity and banana starch was the most dependent of amylose content. The cassava starch has presented shortly dependence of crystallinity. Although the amylose ratio determinations are truly affected by the purity and absorptivity values as demonstrated and discussed for the cassava starch, the correlations with the thermal measurements remained high.

4.4 Conclusions

The structural features and amylose content influences the thermal properties of potato, banana, corn and cassava starches leading high or less thermal stability of these polymers. It was noticeable that the botanical source truly changes the starch features, which implies in differences on the thermal behavior as demonstrated by TG and DSC experiments. Therefore, these differences must be studied for the industry applications and to the amylose determination method by TG.

Differences on TG measurements between natives and amorphous starches lead to conclude that the crystalline array participates as the minor component of their thermal stability. Despite it had a less contribution than the amylose ratio (the major component), it must be considered for the applications of starch product based and to the TG method for amylose

determination, because the loss of crystallinity promotes shifts on TG curves to less temperatures.

4.5 Acknowledgements

The authors are grateful to Fapesb for the scholarship (8892/2015) granted to Paulo Vitor França Lemos, to Dr. Heloysa Martins Carvalho Andrade and Msc. Maurício Brandão (CIEnAm – UFBA) for the XRD analysis; and to Carina Soares do Nascimento (LCM - IfBa) for the SEM and DSC analysis.

REFERENCES

- 1 CHEVIGNY, C.; FOUCAT, L.; ROLLAND-SABATÉ, A.; BULÉON, A.; LOURDIN, D. Shape-memory effect in amorphous potato starch: the influence of local orders and paracrystallinity. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, n. 1, p. 411-419, 2016.
- 2 THIEWES, H. J.; STEENEKEN, P. A. M. The glass transition and the sub-Tg endotherm of amorphous and native potato starch at low moisture content. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 2, p. 123–130, 1997.
- 3 ZHU, J.; ZHANG, S.; ZHANG, B.; QUIAO, D.; PU, H.; LIU, S.; LI, L. Structural features and thermal property of propionylated starches with different amylose/amylopectin ratio. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, n. 1, p. 123–130, 2017.
- 4 GARCIA, M. C.; FRANCO, C. M. L.; JÚNIOR, M. S. S.; CALIARI, M. Structural characteristics and gelatinization properties of sour cassava starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 2, p. 919-926, 2016.
- 5 STAWSKI, D. New determination method of amylose content in potato starch. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 777-781, 2008.
- 6 VERMEYLEN, R.; GODERIS, B.; REYNAERS, H.; DELCOUR, J. A. Amylopectin molecular structure reflected in macromolecular organization of granular starch. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 5, p. 1775–1786, 2004.
- 7 KADOKAWA, J. I. Architecture of amylose supramolecules in form of inclusion complexes by phosphorylase-catalyzed enzymatic polymerization. **Biomolecules**, v. 3, n. 3, p. 369–385, 2013.
- 8 JANE, J-L. Effects of amylopectin branch chain-length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. **Cereal Chemistry**, v. 52, n. 3258, p. 629-637, 1999.
- 9 BOGRACHEVA, T. Y.; WANG, Y. L.; WANG, T. L.; HEDLEY, C. L. Structural studies of starches with different water contents. **Biopolymers**, v. 64, n. 5, p. 268–281, 2002.

-
- 10 THOMAS, D.J.; ATWELL, W.A. *Starches*. 6ed. Minesota: Eagan Press Handbook Series, 1999. 94 p.
- 11 JANE, J-L. Structural Features of Starch Granules II. In: BE MILLER, J.; WHISTLER, L (Ed). *Starch: Chemistry and Technology*. Oxford: Food Science and Technology International Series, 2009. p. 193-227.
- 12 SANTANA, Á. L.; ANGELA, M.; MEIRELES, A. New Starches are the Trend for Industry Applications: A Review. **Food and Public Health**, v. 4, n. 5, p. 229–241, 2014.
- 13 ALCÁZAR-ALAY, S. C.; MEIRELES, M. A. A. Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 2, p. 215–236, 2015.
- 14 MOO-HUCHIN, V. M.; CABRERA-SIERRA, M. J.; ESTRADA-LEÓN R. J.; RÍOS-SOBERANIS C. R.; BETANCUR-ANCONA D.; CHEL-GUERRERO, L.; ORTÍZ-FERNANDES, A.; ESTRADA-MOTA, I. A.; PÉREZ-PACHECO, E. Determination of some physicochemical and rheological characteristics of starch obtained from *Brosimum alicastrum* swartz seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 45, n.1, p. 48–54, 2015.
- 15 DAS, D.; JHA, S.; KUMAR, K. J. Isolation and release characteristics of starch from the rhizome of Indian Palo. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, n. 2, p. 341–346, 2015.
- 16 ELMI-SHARLINA, M. S.; YAACOB, W. A.; LAZIM, A. M.; FAZRY, S.; LIM, S. J.; ABDULLAH, S. Physicochemical Properties of Starch from *Dioscorea pyrifolia* tubers. **Food Chemistry**, v. 220, n. 2, p. 225–232, 2017.
- 17 AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D. A comparative study of the degradation of different starches using thermal analysis. **Talanta**, v. 43, n. 9, p.1527-1530, 1996.
- 18 GUINESI, L. S.; RÓZ, A. L.; CORRADINI, E.; MATTOSO, L. H. C.; TEIXEIRA, E. M.; CURVELO, A. A. S. Kinetics of thermal degradation applied to starches from different botanical origins by non-isothermal procedures. **Thermochemica Acta**, v. 447, n. 2, p. 190–196, 2006.
- 19 LIU, P.; YU. L.; WANG, X.; LI, D.; CHEN, L.; LI, X. Glass transition temperature of starches with different amylose/amylopectin ratios. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 388–391, 2010.
- 20 FIGUEROA, Y.; GUEVARA, M.; PÉREZ, A.; COVA, A.; SANDOVAL, A. J.; MÜLLER, A. J. Effect of sugar addition on glass transition temperatures of cassava starch with low to intermediate moisture contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, n. 1, p. 231–237, 2016.
- 21 RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: New insights. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3712–3716, 2006.

-
- 22 LI, Z.; LIU, W.; GU, Z.; LI, C.; HONG, Y.; CHENG, L. The effect of starch concentration on the gelatinization and liquefaction of corn starch. **Food Hydrocolloids**, v. 48, n. 1, p. 189–196, 2015.
- 23 CHEN, X.; DU, X.; CHEN, P.; GUO, L.; XU, Y.; ZHOU, X. Morphologies and gelatinization behaviours of high-amylose maize starches during heat treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, n. 1, p. 637–642, 2017.
- 24 HESSO, N.; LE-BAIL, A.; LOISEL, C.; CHEVALLIER, S.; PONTOIRE, B.; QUEVEAU, D.; LE-BAIL, A. Monitoring the crystallization of starch and lipid components of the cake crumb during staling. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, n. 1, p. 533–538, 2015.
- 25 LI, W.; GUO, H.; WANG, P.; TIAN, X.; ZHANG, W.; SALEH, A.S.M.; ZHENG, J.; OUYANG, S.; LUO, Q.; ZHANG, G. Physicochemical characteristics of high pressure gelatinized mung bean starch during recrystallization. **Carbohydrate Polymers**, v. 131, n. 1, p. 432–438, 2015.
- 26 SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 1, p. 219–231, 2003.
- 27 FREDRIKSSON, H.; SILVERIO, J.; ANDERSSON, R.; ELIASSON, A-C.; AMAN, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 35, n. 1, p. 119-134, 1998.
- 28 YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 2, p. 179-184, 2001.
- 29 RATNAYAKE, W. S.; JACKSON, D. S. A new insight into the gelatinization process of native starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 67, n. 4, p. 511–529, 2007.
- 30 MONTGOMERY, E. D.; SENTI, F. R. Separation of Amylose from Amylopectin of Starch by an Extraction-Sedimentation Procedure. **Journal of Polymer Science**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 1958.
- 31 CHEETAM, N. W. H.; TAO, L. The effects of amylose content on the molecular size of amylose, and on the distribution of amylopectin chain length in maize starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 33, n. 4, p. 251-261, 1997.
- 32 NARA, S.; MORI, A.; KOMIYA, T. Study on Relative Crystallinity of Moist Potato Starch. **Starch-Starke**, v.30, n. 4, p. 111–114, 1978.
- 33 HUANG, J.; ZHAO, L.; MAN, J.; WANG, J.; ZHOU, W.; HUAI, H.; WEI, C. Comparison of physicochemical properties of B-type nontraditional starches from different sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 78, n. 1, p. 165–172, 2015.
- 34 ZHU, T.; JACKSON, D. S.; WEHLING, R. L.; GEERA, B. Comparison of Amylose Determination Methods and the Development of a Dual Wavelength Iodine Binding Technique **Cereal Chemistry**, v. 85, n. 1, p. 51-58, 2008.

-
- 35 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. ISO 6647-1:2007: Determination of amylose content – Part 1: Reference Method. Geneva: ISO, 2007, 1-7.
- 36 INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. ISO 6647-2:2007: Determination of amylose content – Part 2: Routine methods. Geneva: ISO, 2007, 1-9.
- 37 CARMONA-GARCIA, R.; AGURRE-CRUZ, A.; YEE-MADEIRA, H.; BELLO-PÉREZ, L. A. Dual modification of banana starch: Partial characterization. **Starch-Starke**, v. 61, n. 11, p. 656–664, 2009.
- 38 LINDEBOOM, N.; CHANG, P. R.; TYLER, R. T. Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. **Starch-Starke**, v. 56, n. 34, p. 89–99, 2004.
- 39 JANE, J.; KASEMSUWAN, T.; LEAS, S.; IA, A.; ZOBEL, H.; DARIEN, I. L.; ROBYT, J. F. Anthology of Starch Granule Morphology by Scanning Electron Microscopy. **Starch-Starke**, v. 46, n. 5, p. 121–129, 1994.
- 40 SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant Starch - A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 1, p. 1-17, 2006.
- 41 HORNUNG, P. S.; CORDOBA, L. P.; LAZZAROTTO, S. R. S.; SCHNITZLER, E.; LAZAROTTO, M.; RIBANI, R. H. Brazilian *Dioscoreaceas* starches. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 3, p.1869–1877, 2017.
- 42 HERNÁNDEZ-JAIMES, C.; BELLO-PÉREZ, L. A.; VERNON-CARTER, E. J.; ALVAREZ-RAMIREZ, J. Plantain starch granules morphology, crystallinity, structure transition, and size evolution upon acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 207–213, 2013.
- 43 PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; SOBRAL, P. J. D. A.; MENEGALLI, F. C. Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Starch-Starke**, v. 64, n. 5, p. 382–391, 2012.
- 44 VAN SOEST, J. J. G.; BEZEMER, R. C.; DE WIT, D.; VLIEGENTHART, J. F. G. Influence of glycerol on the melting of potato starch. **Industrial Crops and Products**, v. 5, n. 1, p. 1–9, 1996.
- 45 SEVENOU, O.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A.; MITCHELL, J. R. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 3, p. 79–85, 2002.
- 46 VILLAS-BOAS, F.; FRANCO, C. M. L. Effect of bacterial β -amylase and fungal α -amylase on the digestibility and structural characteristics of potato and arrowroot starches. **Food Hydrocolloids**, v. 52, n. 1, p. 795-803, 2016.

-
- 47 GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, n. 4, p. 425–437, 2002.
- 48 ZENG, J.; LI, G.; GAO, H.; RU, Z. Comparison of A and B Starch Granules from Three Wheat Varieties. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 10571-10591, 2011.
- 49 ZOBEL, H. F. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch-Starke**, v. 40, n. 1, p. 1–7, 1988.
- 50 KIZIL, J.; SEETHARAMAN, K. R. I. Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 3912-3918, 2002.
- 51 HERRERO-MARTÍNEZ, J. M.; SCHOENMAKERS, P. J.; KOK, W.T. Determination of the amylose-amylopectin ratio of starches by iodine-affinity capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1053, n. 2, p. 227–234, 2004.
- 52 MCGRANCE, S. J.; CORNELL, H. J.; RIX, C. J. A Simple and Rapid Colorimetric Method for the Determination of Amylose in Starch Products. **Starch-Starke**, v. 50, n. 1, p. 157-163, 1998.
- 53 KNUTSON, C. A. Evaluation of variations in amylose–iodine absorbance spectra. **Carbohydrate Polymers**, v. 42, n. 1, p. 65–72, 1999.
- 54 DUNN JR., L. B.; KRUEGER, W. J. Branching ratios of starch via proton nuclear magnetic resonance and their use in determining amylose/amylopectin content. Evidence for three types of amylopectin. **Macromolecular Symposia**, v. 140, n. 1, p. 179–186, 1999.
- 55 KIM, J.; REN, C.; SHIN, M. Physicochemical properties of starch isolated from eight different varieties of Korean sweet potatoes. **Starch-Starke**, v. 65, n. 1, p. 923-930, 2013.
- 56 SWINKELS, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches. **Starch-Starke**, v. 35, n. 1, p. 2665-2667, 1985.
- 57 EGGLESTON, G.; HEVERLEE, R.; AKONI, S. Physicochemical Studies on Starches Isolated. **Starch-Starke**, v. 44, n. 1, p. 121-128, 1992.
- 58 LING, B. L.; OSMAN, E. M.; FERNANDES, J.; REILLY, P. J. Physical Properties of Starch from Cavendish Banana Fruit. **Starch-Starke**, v. 34, n. 1, p. 184-188, 1982.
- 59 DE LA TORRE-GUTIERREZ, L.; TORRUCO-UCO, J. G.; CASTELLANOS-RUELAS, A.; CHEL-GUERRERO, L. A.; BETANCUR-ANCONA, D. Isolation and Structure Investigations of Square Banana (*Musa balbisiana*) Starch. **Starch-Starke**, v. 59, n. 1, p. 326-333, 2007.
- 60 MORRISON, W. R.; LAIGNELET, B. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. **Journal of Cereal Science**, v. 1, n. 1, p. 9–20, 1983.

-
- 61 BATES, F. L.; FRENCH, D.; RUNDLE, R. E. Amylose and Amylopectin Content of Starches Determined by their Iodine Complex Formation. **Journal of American Chemical Society**, v. 65, n. 2, p. 142–148, 1943.
- 62 WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.
- 63 GLADYS, D. G.; ROSE-MONDE, M.; MICAËL, B. E.; SEBASTIEN, N. L. Physicochemical characterization of starches from seven improved cassava varieties: Potentiality of industrial utilization. **Journal of Applied Bioscience**, v. 73, n. 1, p. 6002–6011, 2014.
- 64 DEFLOOR, I.; DEHING, I.; DELCOUR, J. A. Physico-chemical properties of cassava starch. **Starch-Starke**, v. 5, n. 1, p. 58–64, 1986.
- 65 CHARLES, A. L.; CHANG, Y. H.; KO, W. C.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Influence of Amylopectin Structure and Amylose Content on The Gelling Properties of Five Cultivars of Cassava Starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 2017–2025, 2005.
- 66 ZHOU, W.; YANG, J.; HONG, Y.; LIU, G.; ZHENG, J.; GU, Z.; ZHANG, P. Impact of amylose content on starch physicochemical properties in transgenic sweet potato. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, n. 1, p. 417–427, 2015.
- 67 LI, J. H.; VASANTHAN, T.; HOOVER, R.; ROSSNAGEL, B. G. Starch from hull-less barley: Ultrastructure and distribution of granule-bound proteins. **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 524–532, 2003.
- 68 JAYAKODY, L.; HOOVER, R. Effect of annealing on the molecular structure and physicochemical properties of starches from different botanical origins - A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 691–703, 2008.
- 69 CHUNG, H.; LEE, E.; LIM, S. Comparison in glass transition and enthalpy relaxation between native and gelatinized rice starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 1, p. 287–298, 2002.
- 70 ZELEZNAK, K. J.; HOSENEY, R. C. The glass transition in starch. **Cereal Chemistry**, v. 64, n. 1, p. 121–124, 1987.
- 71 LIM, S. T.; CHANG, E. H.; CHUNG, H. J. Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 46, n. 2, p. 107–115, 2001.
- 72 PERDOMO, J.; COVA, A.; SANDOVAL, A. J.; GARCÍA, L.; LAREDO, E.; MULLER, A. J. Glass transition temperatures and water sorption isotherms of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 305–313, 2009.

-
- 73 BIZOT, H.; LE BAIL, P.; LEROUX, B.; DAVY, J.; ROGER, P.; BULEON, A. Calorimetric evaluation of the glass transition in hydrated, linear and branched polyanhydroglucose compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, n. 1, p. 33–50, 1997.
- 74 RUSSELL, P.L. Gelatinisation of Starches of Different Amylose / Amylopectin Content . A Study by Differential Scanning Calorimetry. **Journal of Cereal Science**, v. 6, n. 2, p. 133–145, 1987.
- 75 AI, Y.; JANE, J-L. Gelatinization and rheological properties of starch. **Starch-Starke**, v. 7, n. 3, p. 213–224, 2015.
- 76 VASANTHAN, T.; BHATTY, R. S. Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular, and high-amylose barleys. **Cereal Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 199-207, 1996.
- 77 HOOVER, R.; VASANTHAN, T. The Effect of Annealing on the Physicochemical Properties of Wheat, Oat, Potato and Lentil Starches. **Journal of Food Biochemistry**, v. 17, n. 5, p. 303–325, 1993.
- 78 VERMEYLEN, R.; GODERIS, B.; DELCOUR, J. A. An X-ray study of hydrothermally treated potato starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 64, n. 2, p. 364–375, 2006.
- 79 NÚÑEZ-SANTIAGO, M. C.; BELLO-PÉREZ, L. A.; TECANTE, A. Swelling-solubility characteristics, granule size distribution and rheological behavior of banana (*Musa paradisiaca*) starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 2004, p. 65–75, 2004.
- 80 WOOTTON, B.M.; BAMUNUARACHCHI, A. Application of Differential Scanning Calorimetry to Starch Gelatinization: I. Commercial Native and Modified Starches. **Starch-Starke**, v. 6, n. 1, p. 201-204, 1979.
- 81 SANDHU, K. S.; SINGH, N. Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1499–1507, 2007.
- 82 ATICHOKUDOMCHAI, N.; VARAVINIT, S.; CHINACHOTI, P. A study of annealing and freeze-thaw stability of acid-modified tapioca starches by differential scanning calorimetry (DSC). **Starch-Starke**, v. 54, n. 8, p. 343–349, 2002.
- 83 WALISZEWSKI, K. N.; APARICIO, M. A.; BELLO, L. A.; MONROY, J. A. Changes of banana starch by chemical and physical modification. **Carbohydrate Polymers**, v. 52, n. 3, p. 237–242, 2003.
- 84 CYRAS, V. P.; ZENKLUSEN, M. C. T.; VAZQUEZ, A. Relationship between structure and properties of modified potato starch biodegradable films. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 101, n. 6, p. 4313–4319, 2006.
- 85 MANEK, R. V. Physicochemical and Binder Properties of Starch Obtained from *Cyperus esculentus*. **PharmSciTech**, v. 13, n. 22, p. 379-387, 2012.

86 BEERY, K.E.; LADISCH, M.R. Chemistry and properties of starch based desiccants. **Enzyme and Microbial Technology**, v.28, n.7, p. 573–581, 2001.

87 OSTROFF, A.; HATZIDIMITRIU, E.; KOKINI, J. L. Thermodynamics of water and ethanol adsorption on model biomass systems. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 3, n. 8, p. 880–884, 1988.

88 PINEDA-GÓMEZ, P.; ANGEL-GIL, N. C.; VALENCIA-MUÑOZ, C.; ROSALES-RIVERA, A.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. E. Thermal degradation of starch sources: Green banana, potato, cassava, and corn - Kinetic study by non-isothermal procedures. **Starch-Starke**, v. 66, n. 7, p. 691–699, 2014.

89 LIU, P.; YU, L.; LIU, H.; CHEN, L.; LI, L. Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 250–253, 2009.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

As características estruturais dos amidos nativos de batata, banana, milho e mandioca apresentam-se intimamente correlacionadas com as propriedades térmicas dos mesmos, avaliadas pelas técnicas de TG e DSC.

A compreensão da complexa organização estrutural dos grânulos de amido demanda a realização de experimentos através de diferentes técnicas analíticas para que sejam constatadas evidências complementares sobre a disposição das cadeias de amilose, amilopectina e os componentes minoritários dentro do grânulo. A complementariedade entre tais evidências no presente trabalho viabilizou a inferência do efeito do teor de amilose e da cristalinidade na estabilidade térmica dos amidos estudados, através do estabelecimento de correlações lineares. O teor de amilose exerceu efeito de forma mais expressiva em relação à cristalinidade em todas as fontes de amido estudadas.

Os efeitos do conteúdo de amilose e da cristalinidade na estabilidade térmica dos amidos avaliados no presente estudo apresentam potencial aplicação em diferentes áreas de conhecimento com ênfase para os campos de ciência de materiais, ciências farmacêuticas e de alimentos.

Por tratar-se de um insumo de baixo valor agregado e com diferentes características físico-químicas que variam para cada fonte botânicas estudada, o amido é um produto com potencial aplicação para compor matrizes alimentícias, blendas poliméricas e excipiente em formulações farmacêuticas.

Visando o referido potencial de aplicação, as novas perspectivas encontram-se na caracterização de outras fontes de amido convencionais, não convencionais e das frações de amilose e amilopectina isoladas, com enfoque termoanalítico.

