



## Análise de fase quantitativa pelo Método de Rietveld dos cristais de amido do tipo B submetidos a ultrassom e processos de hidrólise

Camila da Costa Pinto (PG)\*<sup>1</sup>, Pedro Henrique Campelo Felix (PQ)<sup>1,2</sup>, Sérgio Michielon de Souza(PQ)<sup>1,3</sup>

\* camilacpinto@ufam.edu.br

1 – Programa de Pós-graduação em Física – UFAM. Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200 - Coroadó I, Manaus - AM, 69067-005

2 – Faculdade de Ciências Agrárias - UFAM. Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200 - Coroadó I, Manaus - AM, 69067-005

3 –Departamento de Física - UFAM. Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200 - Coroadó I, Manaus - AM, 69067-005

**Palavras Chave:** Difração de raios-X; Método de Rietveld; Cristalinidade.

### Introdução

Os amidos são o polímero natural mais abundante da natureza, sendo a molécula para armazenagem de energia mais importante nos vegetais, podendo ser encontrada em muitas espécies de cereais, tubérculos, raízes, frutos e sementes<sup>1</sup>. O uso deste material semicristalino é difundido em muitas aplicações e motiva sua posição como o polissacarídeo mais relevante industrialmente, sendo um campo abundante de pesquisa o estudo e exploração de nanocristais de amido (estruturas cristalinas preservadas obtidas a partir da erosão da porção amorfa em grãos de amido), e sua respectiva cristalinidade (o que irá impactar grandemente sua aplicação comercial).

Os principais métodos de produção de nanocristais de amido são químicos, focados na erosão de fase amorfa por aplicação de ácidos fortes, ou métodos mecânicos, em que a quebra de cadeias poliméricas ocorre por meio de uma grande quantidade de energia fornecida na moagem ou ultrassom<sup>2</sup>. Combiná-los é uma boa alternativa para diminuir o tempo de processamento<sup>1</sup>. Durante a produção de nanocristais de amido, é erodida a parte desordenada e por isto é, de forma relativa, incrementada a parte ordenada, aumentando a cristalinidade. O método de caracterização mais indicado para verificar a organização atômica é a difração de raios X, combinando-o com o Método de Rietveld para refinar as grandezas microestruturais do material<sup>3</sup>.

### Material e Métodos

Amostras de amido de batata (rico em amilose do tipo B) foram hidrolisadas em HCl, sendo uma amostra pré-processada por ultrassom antes da hidrólise. Após a secagem, os nanocristais foram analisados por difração de raios-X. Os difratogramas foram simulados pelo método de Rietveld, e os componentes cristalino e difuso foram deconvoluídos, o tamanho do cristalito aparente foi

calculado usando a equação de Scherrer e os parâmetros cristalográficos foram refinados e discutidos.

O método Rietveld do pacote de software GSAS foi usado para refinar os parâmetros cristalográficos e as larguras de linha dos padrões de XRD.

A parte desordenada e o fundo de espalhamento inelástico foram ajustados alternando o número de termos dos polinômios de Chebyshev. Assumindo que o espalhamento difuso  $I_{DE}$  simulado pelas funções de Chebyshev descreve a fase amorfa e o espalhamento inelástico é desprezível, pode-se considerar que a intensidade integrada total  $I_{total}$  corresponde a  $I_{cristalino} + I_{DE}$ , a porcentagem de cristalinidade é calculada pela Equação (1):

$$x_c(\%) = 100 \frac{I_{total} - I_{DE}}{I_{total}} \quad \text{Eq. (1)}$$

### Resultados e Discussão

As informações microestruturais e tamanho médio de cristalito de amostras comerciais de amido de batata (Controle), US, Hydrolyzed e US-Hydrolyzed foram determinados para ilustrar a aplicação do método. Verificou-se que tanto no controle quanto no amido de batata processado por ultrassom o procedimento de hidrólise ácida promoveu redução semelhante no grau de cristalinidade. Além disso, o Método de Rietveld forneceu detalhes finos dos efeitos da hidrólise nos cristais do tipo B, incluindo as posições cristalinas nas quais as moléculas de água são distribuídas na célula unitária: essas moléculas de água intracristalina estão localizadas em bolsas discretas que definem o tipo B lamelas de amido. Após a hidrólise, a intensidade relativa desse pico lamelar diminui, sugerindo fibras rompidas em direção ao eixo C. Essa observação representa um avanço substancial, que abre caminho para muitas outras

investigações de amido do tipo B que levam em consideração os estudos cristalográficos dessa estrutura.

O pré-processamento por ultrassom causou apenas pequenas alterações nos padrões de difração, como podemos ver no detalhe da Figura (a), por isso vale ressaltar que as estruturas permaneceram estáveis.

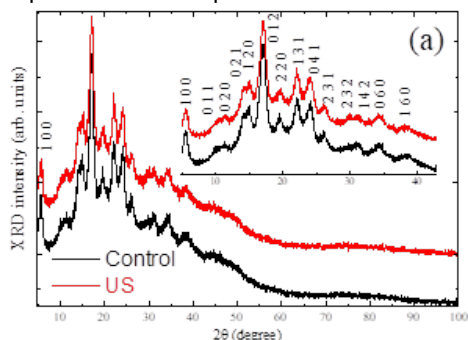


Figura a). Ultrassom não alterou significativamente a estrutura

O pico em torno de  $2\theta = 5,6^\circ$ , conhecido como pico interlícite <sup>2</sup>, corresponde aos planos cristalográficos (1 0 0) e (0 1 0), compostos pelas moléculas de água periodicamente dispostas, com uma característica regular espaçamento lamelar. O pico lamelar surge da capacidade das hélices duplas de serem primeiro desacopladas da estrutura do polímero e, em seguida, alinhadas na forma de camadas lamelares na presença de água <sup>2</sup>. Portanto, a diminuição desse pico de intensidade relativa sugere que o tratamento ultrassônico removeu as moléculas de água das cavidades estruturais, reduzindo a água retida pela amilopectina.

As linhas de base foram simuladas alterando o número de termos em polinômios de Chebyshev. O critério de seleção utilizado considerou o menor número de termos polinomiais para os menores fatores de convergência e linha residual. Portanto, 11 termo polinômios de Chebyshev (IBG). A cristalinidade  $x_c$  foi então calculada e aplicada a todas as amostras. Os valores obtidos foram de ~ 74% da fase amorfa, portanto, uma cristalinidade de  $x_c \sim 26\%$  para ambas as amostras.

A Figura b) mostra a sobreposição dos padrões de XRD das amostras que passaram por ultrassom, tendo a segunda sido submetida a hidrólise. A concordância entre os padrões na indica que as linhas de base utilizadas simulam relativamente bem o efeito de espalhamento difuso. É possível notar que o aumento da linha de base não corresponde apenas à fase amorfa, mas também à sobreposição dos picos aumentados.

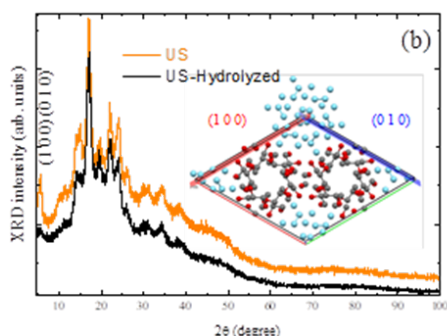


Figura b). A hidrólise alterou significativamente o padrão de difração.

A Figura c) mostra o refinamento de Rietveld da amostra hidrolisada que passou por ultrassom. A linha de base foi também simulada pela mesma quantidade de 11 termos para o polinômio de Chebyshev. Ao realizar a comparação da cristalinidade entre as amostras, evidencia-se uma melhora de 10% na cristalinidade obtida para as amostras que sofreram hidrólise; isto é, uma porção substancial do componente desordenado foi eliminada com hidrólise para as amostras de controle e tratadas com ultrassom. Síncrotron, medições de vácuo controladas por umidade são necessárias para uma melhor análise de dados e quantificação mais precisa.

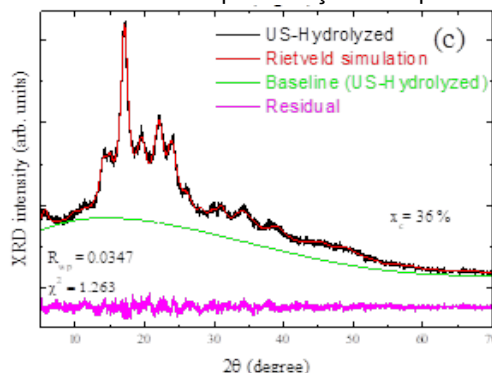


Figura c). O refinamento de Rietveld evidencia o aumento de cristalinidade ao processar com Hidrólise e ultrassom.

## Conclusões

Neste trabalho, além de aplicar o método de Rietveld pela primeira vez aos padrões de difração de raios-X de amido em pó, propomos alguns critérios para separação entre o componente cristalino do amorfo em difratogramas de raios-X de amido tipo B.

O método para a quantificação de fase de amido do tipo B provou ser menos sujeito a erros usando dados de difração de pó de raios-X e método de refinamento de Rietveld. Pela primeira vez, o modelo é usado para simular padrões de DRX de pó de amido empregando o método de Rietveld, o que reduz o viés do pesquisador tanto na análise da microestrutura quanto na determinação da taxa de cristalinidade.

## Agradecimentos

UFAM, FAPEAM, CAPES, CNPq.

<sup>1</sup> IMBERTY, A., BULEÓN, A., TRAN, V., & PÉREZ, S. (1991). *Recent Advances in Knowledge of Starch Structure*. Starch - Stärke, 43(10), 375–384.

<sup>2</sup> TAKAHASHI, Y., KUMANO, T., & NISHIKAWA, S. (2004). *Crystal structure of B-amylose*. Macromolecules, 37(18), 6827–6832.

<sup>3</sup> PINTO, C.C., CAMPELO, P.H., SOUZA, S. M., *Rietveld-based quantitative phase analysis of B-type starch crystals subjected to ultrasound and hydrolysis processes*, J. Appl. Polym. Sci. (2020) 49529.