



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

VALTER DOS SANTOS LUCIO

**PREPARAÇÃO DE UM BIOFILME A PARTIR DAS PROTEÍNAS DO
MILHO**

Assis
2013

VALTER DOS SANTOS LUCIO

PREPARAÇÃO DE UM BIOFILME A PARTIR DAS PROTEÍNAS DO MILHO

Trabalho de conclusão de curso de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação em química industrial.

Orientador: Dr. Idécio Nogueira da Silva

Área de Concentração: Química

Assis
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

LUCIO, Valter dos Santos

Preparação de um biofilme a partir das proteínas do milho/
Valter dos Santos Lucio. Fundação Educacional do Município de
Assis - FEMA -- Assis, 2013.

49p.

Orientador: Dr. Idécio Nogueira da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de
Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Biofilme. 2.Proteínas. 3.Zeína.

CDD:660
Biblioteca da FEMA

PREPARAÇÃO DE UM BIOFILME A PARTIR DAS PROTEÍNAS DO MILHO

VALTER DOS SANTOS LUCIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, analisado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador: Dr. Idécio Nogueira da Silva

Analisador: Dr^a Mary Leiva de Faria

Assis
2013

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e aos meus amigos pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pela vida, saúde, sabedoria e força em todos os momentos.

Ao professor, Idécio pela orientação e pelo constante estímulo transmitido durante o trabalho.

À minha família, em especial, à minha esposa Juliana, que sempre me apoiou e me deu forças nos momentos em que eu queria desistir; à minha mãe e ao meu irmão, que juntos contribuíram para a realização do meu sonho.

Aos amigos e companheiros de sala de aula, que estiverem comigo durante esta jornada, vivendo comigo cada momento, em especial, Filipe Alves, Gabriel Bedinote, Karina Cunha e Kátia Leite Vital.

E a todos que colaboraram direta ou indiretamente, na execução deste trabalho.

RESUMO

Por serem baratas, resistentes, versáteis e apresentarem alta flexibilidade, as embalagens de polímeros sintéticos como o PET, o poliestireno, o polietileno e demais olefinas têm sido utilizadas na indústria de alimentos por mais de 50 anos. A quase totalidade desses materiais é, contudo, de descatabilidade rápida e já ocupam de 15 a 20% do volume do lixo urbano, causando impactos ambientais de diferentes magnitudes e de difícil remediação. Nos últimos anos o incentivo ao uso de materiais biodegradáveis e ambientalmente amigáveis, tais como plásticos de origem bacteriana como os da família dos polihidroxialcanoatos (PHA), os derivados de proteínas ou aqueles a base de amido termoplástico e demais polissacarídeos têm crescido e tendem a substituir gradualmente os polímeros sintetizados a partir do petróleo. Dentre os chamados polímeros naturais, um material de interesse para a confecção de filmes para emprego em embalagens para contato com alimentos são os derivados de zeínas. As zeínas são proteínas de reserva do milho, denominadas prolaminas, que podem ser extraídas através de solubilização em meio alcoólico. Estas proteínas são altamente hidrofóbicas, com elevado grau de polimerização, sendo usadas principalmente em indústrias farmacêuticas, como material de encapsulamento de drogas, na impermeabilização de papéis e embalagens cartonadas e associadas a polímeros sintéticos para a minimização de contato e deteriorações em alimentos. O objetivo deste trabalho é a obtenção de um biofilme a partir da zeína do grão do milho, devido a grande abundância deste cereal no Brasil. Para a extração da zeína duas técnicas foram utilizadas, uma, porém, não foi eficiente, que consistia em separar as proteínas do milho por centrifugação, a outra consistiu em solubilizar as proteínas do milho em diferentes solventes sobre agitação constante e posterior evaporação do solvente. A técnica utilizada para a preparação do biofilme mostrou ser eficiente, mas era preciso que se utilizasse uma placa de Pétri de Plástico ou outra superfície nivelada de acrílico, pois o biofilme formado ficou com o aspecto gelatinoso, devido a interação do biopolímero com a sílica da placa de Pétri utilizada.

Palavras-chave: Biofilme; Proteínas; Zeína.

ABSTRACT

Because they are inexpensive , durable , versatile, and presenting high flexibility , packages of synthetic polymers such as PET , polystyrene , polyethylene and other olefins have been used in the food industry for over 50 years. Nearly all these materials is, however, already occupy descatabilidade quickly and 15 to 20 % of the volume of solid urban waste, causing environmental impacts of different magnitudes and difficult to remedy. In recent years, encouraging the use of environmentally friendly and biodegradable materials such as plastics bacterial origin such as the family of polyhydroxyalkanoates (PHA), the derivatives or those protein -based thermoplastic starch and other polysaccharides have grown and tend to replace gradually polymers synthesized from petroleum. Among the so-called natural polymers, materials of interest for making films for use in packaging for food contact are derived from zeins. The zeins are storage proteins from corn, called prolamines which can be extracted by dissolution in an alcoholic medium. These proteins are highly hydrophobic, with a high degree of polymerization and is mainly used in pharmaceutical industries, as material for encapsulation of drugs in waterproofing paper and cartons and associated with synthetic polymers to minimize contact and deteriorations in food. The objective of this work is to obtain a biofilm from the zein of corn grain, due to the great abundance of this cereal in Brazil. For the extraction of zein two techniques were used, one, however, was not efficient, consisting in separating the corn protein by centrifugation, the other was to solubilize proteins in different solvents on corn stirring and subsequent evaporation of the solvent. The technique used for the preparation of biofilm was effective but it had to be used a plastic petri plate or other flat surface of acrylic, because the biofilm was formed with the gelatinous due to interaction with the silica of the biopolymer Petri dish used.

Keywords: Biofilm; Proteins; Zein.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1– Partes do grão do milho.....	17
Figura 2 – Estrutura geral de um aminoácido.....	20
Figura 3 – Aminoácidos Essenciais.....	21
Figura 4 – Aminoácidos não essenciais.....	22
Figura 5 – Projeção de Fischer.....	23
Figura 6 - Ligação peptídica	23
Figura 7 – Estrutura primária de uma proteína.....	24
Figura 8 – Estrutura secundária de uma proteína.....	25
Figura 9 – Estrutura terciária de uma proteína.....	25
Figura 10 – Estrutura quaternária de uma proteína.....	26
Figura 11 – Proteína globular e fibrosa	27
Figura 12 – Estrutura da Zeína obtida por modelagem molecular.....	28
Figura 13 – Exemplos de reagentes usados na preparação de biofilmes.....	32
Figura 14 – Precipitação das proteínas através de centrifugação.....	41
Figura 15 – Proteínas obtidas por evaporação do solvente.....	41
Figura 16 – Biofilme obtido com o gérmen do milho.....	41
Figura 17 – Biofilme obtido com o endosperma e o gérmen do milho.....	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais produtores de milho.....	18
Tabela 2 - Solubilidade das Proteínas.....	27
Tabela 3 – Resultados observados durante a realização do experimento.....	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. CEREAIS.....	15
2.1 MILHO.....	16
3. AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS.....	20
3.1 AMINOÁCIDOS.....	20
3.2 PROTEÍNAS.....	23
3.2.1 Estrutura das Proteínas.....	24
3.2.2 Classificação das Proteínas.....	26
3.3 ZEÍNAS.....	27
4. REVESTIMENTOS E BIOFILMES COMESTÍVEIS EM ALIMENTOS.....	30
5. PRECIPITAÇÃO E HIDRÓLISE DE PROTEÍNAS COMO TEMÁTICA PARA O ENSINO DAS PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DAS PROTEÍNAS.....	34
6. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
6.1. MATERIAIS E REAGENTES.....	37
6.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	38
6.2.1 Preparação das amostras do milho.....	38
6.2.2 Preparação do biofilme a base de zeína.....	39
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
8. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

O milho é produzido em quase todos os continentes, sendo sua importância econômica caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal até a indústria de alta tecnologia, como a produção de filmes e embalagens biodegradáveis. Cerca de 70% da produção mundial de milho é destinada à alimentação animal, em países desenvolvidos. Em termos gerais, apenas 15% de toda a produção mundial destina-se ao consumo humano, de forma direta ou indireta (PAES, 2006).

Normalmente os grãos de milho contém cerca de 70-75% de carboidratos, 9-11% de proteínas e 3-5% de lipídeos. Mais da metade das proteínas do milho consiste da fração zeína. Outra importante proteína de armazenamento é a fração glutelina. A albumina e a globulina se apresentam principalmente no embrião. Estas são proteínas de boa qualidade, enquanto que a zeína é de pobre qualidade nutricional. Portanto, apesar de conter quantidades adequadas de proteínas a qualidade nutricional do milho é baixa, devido a que sua principal fração proteica é deficiente em lisina (LYS) e triptofano (TRP) (TORO, 2006).

Proteína são macromoléculas resultantes da condensação de moléculas de α -aminoácidos através da ligação peptídica. As suas moléculas contém Carbono, Hidrogênio, Oxigênio, Nitrogênio e geralmente Enxofre. As suas macromoléculas possuem pesos moleculares variados desde alguns milhares até vários milhões. Representam cerca dos 50 a 80% do peso seco da célula sendo, portanto, o composto orgânico mais abundante de matéria viva (MARZZOCO; TORRES, 1999).

As zeínas, ou prolaminas, são proteínas de reserva compostas por vários polipeptídeos que representam mais de 50% da massa total das proteínas presentes no endosperma do milho (*Zea mays*) e que podem ser extraídas através de solubilização em meio alcoólico (FORATO et al, 2013).

Embora existam diversas versões de como se dividem essas proteínas, atualmente pode-se afirmar que várias frações podem ser encontradas e, entre elas, as α -

zeínas, a de maior concentração, compreendido cerca de 60-70% do total desta fração, as β -zeínas 10-15% e as γ -zeínas 10 a 15% e as δ -zeínas cerca de 5% (BERDEJO, 2010).

Por serem baratas, resistentes, versáteis e apresentarem alta flexibilidade, as embalagens de polímeros sintéticos como o PET, o poliestireno, o polietileno e demais olefinas têm sido utilizadas na indústria de alimentos por mais de 50 anos. A quase totalidade desses materiais é, contudo, de descatabilidade rápida e já ocupam de 15 a 20% do volume do lixo urbano (FORATO et al, 2013).

Ultimamente, a crescente preocupação com as condições ambientais e ecológicas, além da necessidade de reduzir a dependência em relação à utilização de petróleo levou vários países a reconhecerem a necessidade de buscar novas alternativas ecologicamente corretas para solucionar os problemas do impacto ambiental ocasionado pelo exagerado descarte de plásticos. Assim, pesquisadores vêm desempenhando esforços para o desenvolvimento de materiais que possam ser viáveis economicamente e com características semelhantes ao já existente (FAKHOURI, 2009).

Desde o início do século XX a zeína tem sido examinada quanto ao seu potencial para ser utilizada como material de partida para aplicação em materiais poliméricos. A zeína teve sua primeira aplicação industrial após 1930 e foi usada em várias áreas como manufaturas de fibras, adesivos e revestimento. Atualmente vem sendo realizados experimentos usando a zeína como um plástico biodegrável (CORRADINI, 2004). Uma substância é biodegradável se os microrganismos presentes no meio ambiente forem capazes de convertê-la a substâncias mais simples, existentes naturalmente em nosso meio (CANGEMI; SANTOS; NETO, 2005).

O desenvolvimento de resinas poliméricas biodegradáveis a partir da zeína tem um grande potencial de diversificação de mercado para a utilização da fração proteica dos cereais, em especial a do milho (CORRÊA; FILHO, 2009). Assim, o objetivo desta pesquisa é a preparação de um biofilme a base de zeína, devido à abundância de cereais no Brasil.

2. CEREAIS

Cereal é qualquer fruto ou semente comestível da família das gramíneas que pode ser utilizado como alimento. As gramíneas são plantas herbáceas que apresentam flores muito pequenas e frutos secos chamados grãos ou “cariopses”, compreendendo cerca de 8000 espécies. (EMBRAPA, 2012).

Os cereais são representados principalmente pelo arroz, trigo, milho, centeio, cevada e aveia. Este grupo inclui os alimentos mais importantes para a alimentação no planeta. (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

O produto principal do cultivo de cereais é o grão. A importância do grão dos cereais revela-se no fato que 65% da quantidade total de proteínas ingeridas em todo o mundo veem das plantas, sendo que 47% destas são provenientes de grãos de cereais (FIGUEIRA, 2007).

O número de espécies de cereais utilizados na alimentação humana é de pelo menos 10. O principal constituinte do grão de cereal é o amido, seguido em quantidade pelas proteínas que é de aproximadamente 10 a 15% do peso dos grãos (SGARBIERI, 1996).

Os cereais estão entre as plantas cultivadas que mais contribuem para a alimentação humana e animal. Em 2006, mais de 681 milhões de hectares foram cultivados com cereais em todo o mundo, resultando numa produção de cerca de 2,2 bilhões de toneladas de grãos. Três espécies contribuíram com 89% deste total: arroz (614 milhões de toneladas), trigo (626 milhões de toneladas) e milho (692 milhões de toneladas) (FIGUEIRA, 2007).

Em termos de área, o trigo detém a primeira colocação, com cerca de 223,1 milhões de hectares cultivados no planeta. O milho vem na segunda posição, com 161,9 milhões de hectares. A área média cultivada com arroz é de 157,4 milhões de hectares (DEMARCHI, 2011).

Todos os cereais vistos são alimentos muito ricos, porém sua proteína ainda tem deficiência de dois aminoácidos: a lisina e o triptofano, que são aminoácidos essenciais ao nosso organismo (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Conforme Millward (1999 apud Figueira., 2007, p.1).

O principal produto resultante do cultivo de cereais é o grão. Em termos botânicos, o grão é uma cariopse, tipo de fruto em que a parede da semente (testa) encontra-se fundida com a parede do fruto (pericarpo). A importância do grão dos cereais revela-se no fato que 65% da quantidade total de proteínas ingeridas em todo o mundo vêm das plantas, sendo que 47% destas são provenientes de grãos de cereais.

2.1 MILHO

Os primeiros registros do cultivo de milho datam de cerca de 7.300 anos e foram feitos em pequenas ilhas próximas ao litoral mexicano. De acordo com pesquisadores da Universidade do Estado da Flórida, do Museu Nacional de História Nacional dos Estados Unidos, do Instituto Smithsonian, do Instituto da República do Panamá e da Universidade do Estado de Washington, a cultura se espalhou de forma rápida pelo México. Do Sudoeste do país, onde foi domesticado primeiro, o milho foi levado para o Sudeste mexicano e para outras regiões tropicais da América, como o Panamá e a América do Sul. O milho pode ser cultivado em climas tropicais, subtropicais e temperado, do nível do mar a altitudes superiores a 3000 metros. O milho é o cereal mais cultivado em termos de número de países (cerca de 70). (EMBRAPA, 2012).

Dentro da classificação botânica, o milho é uma gramínea da família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, gênero *Zea* e espécie *Zea mays* L. É taxonomicamente identificado como *Zea mays* L. spp *mays*.(SILVA, 2009).

Os grãos do milho são, geralmente, amarelos ou brancos, podendo apresentar colorações variando desde o preto até o vermelho. O peso individual do grão varia,

em média, de 250 a 300mg e sua composição média em base seca é 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra e 4% de óleo. (EMBRAPA, 2012).

O grão do milho pode ser dividido em 3 partes: pericarpo, endosperma e gérmen.

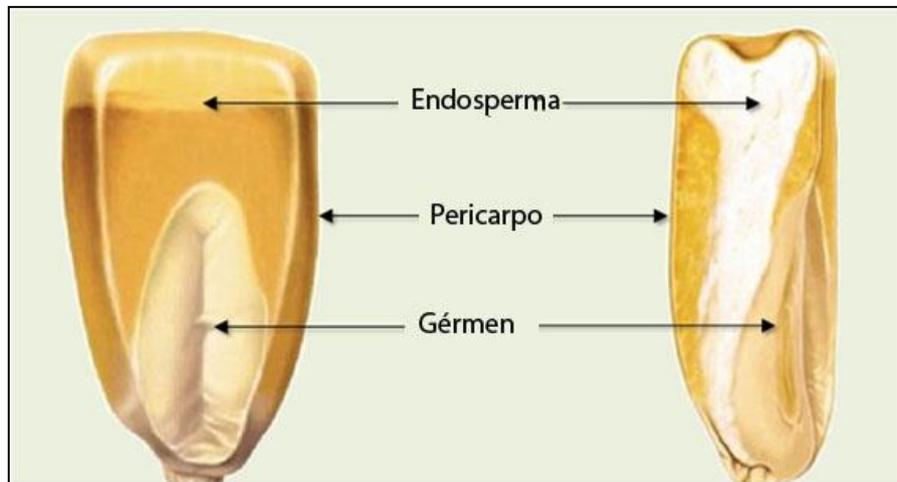


Figura 1: Partes do grão do milho (<https://www.google.com.br> 2013)

O pericarpo é a parte que recobre o grão. Devidamente processada, ela é empregada como ingrediente em rações animais (ABIMILHO, 2013).

O endosperma pode chegar a constituir cerca de 80% do peso da semente, e possui a função de armazenar as reservas de nutrientes para a germinação do embrião e o estabelecimento da nova planta; é composto basicamente de amido (quase 61%), além de outros 7% de glúten que envolve os grânulos de amido e de pequena porcentagem de gordura e demais componentes (FIGUEIRA, 2007).

O gérmen é a parte vegetativa do grão e fonte de óleo do milho. O gérmen é um componente importante para alimentos, produtos farmacêuticos e aplicações industriais. As frações remanescentes do gérmen são processadas e podem ser utilizadas como ingredientes em rações animais (ABIMILHO, 2013).

“Os Estados Unidos são os principais produtores e consumidores. A cada ano aumenta a utilização do produto para a produção de etanol. A estimativa é de que a demanda norte americana de milho para o etanol situe-se em 1/3 da sua produção.” (DEMARCHI, 2011).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, totalizando 53,2 milhões de toneladas na safra 2009/2010. A primeira ideia é o cultivo do grão para atender ao consumo na mesa dos brasileiros, mas essa é a parte menor da produção. O principal destino da safra são as indústrias de rações para animais (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013).

Segundo CONAB (2011), “nas últimas safras, a produção brasileira total de milho situou-se em 54 milhões de toneladas anuais. A safra recorde foi obtida em 2008, quando o país colheu 58,65 milhões de toneladas” (tabela 1).

Safras 2008/09 a 2012/13 (milhões de t).					
Países	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13 (*)
EUA	307,14	332,55	316,17	313,92	271,94
China	165,91	163,97	177,25	192,78	200,00
Brasil	51,00	56,10	57,40	72,73	70,00
Argentina	15,50	25,00	25,20	21,00	28,00
Outros	106,31	116,08	121,00	127,34	125,87
Mundo	799,53	821,2	830,29	877,75	839,02

(*) Estimativa para a safra de 2013

Tabela 1 - Principais produtores de milho (In: DEMARCHI 2011, p.2).

Cultivado em diferentes sistemas produtivos, o milho é plantado principalmente nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul. O grão é transformado em óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose e flocos para cereais matinais. (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2013).

O Paraná é líder na produção brasileira de milho, participando, em média, por 23% da produção total. A produção total tem se situado em torno de 56 milhões de

toneladas anuais. O Mato Grosso vem se firmando como segundo produtor nacional, respondendo, em média, por 14% do total produzido pelo país. Minas Gerais, tradicional estado produtor do cereal, vem na terceira posição, com uma participação média de 12% do total produzido (DEMARCHI, 2011).

Conforme já mencionado, mais da metade das proteínas do milho consiste da fração zeína. Embora existam diversas versões de como se dividem essas proteínas, atualmente pode-se afirmar que várias frações podem ser encontradas e, entre elas, as α -zeínas, a de maior concentração, compreendendo cerca de 60-70% do total desta fração, as β -zeínas 10-15% e as γ -zeínas 10 a 15% e as δ -zeínas cerca de 5% (BERDEJO, 2010).

As proteínas de reserva do milho, as zeínas, são consideradas nos países desenvolvidos, como de grande importância industrial, sendo utilizada como matéria-prima para a fabricação de filmes comestíveis destinados ao revestimento de frutas, verduras e grãos, a fim de estender a vida de prateleira desses produtos. Além desse uso, as zeínas são ainda utilizadas na fabricação de fibras para várias aplicações, no encapsulamento de sementes e ainda na fabricação de embalagens biodegradáveis (PAES, 2006).

A utilização de coberturas comestíveis em alguns alimentos não é recente e, ultimamente, vem despertando maior interesse dos produtores, comerciantes e consumidores, pois se trata de uma alternativa para a conservação dos alimentos com apelo ecológico, natural e comestível (FILHO; HONÓRIO; GIL, 2006).

3. AMINOÁCIDOS E PROTEÍNAS

3.1 AMINOÁCIDOS

Quimicamente aminoácidos seriam todos os derivados de ácidos carboxílicos nos quais um hidrogênio estaria substituído por um grupo amina, em qualquer posição da cadeia carbônica. Porém, todos os aminoácidos naturais ou os obtidos por hidrólise de proteínas, tem sempre um grupo amina ou imínico adjacente ao grupo carboxílico. (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Ligados ao carbono central (carbono alfa) estão um grupamento carboxila, um grupamento amina e um átomo de hidrogênio. O quarto ligante é um radical chamado genericamente de “R”, responsável pela diferenciação entre os 20 aminoácidos, figura 2. É o radical “R” quem define uma série de características dos aminoácidos, tais como polaridade e grau de ionização em solução aquosa. É o radical “R” que permite a classificação dos aminoácidos de diferentes maneiras (LEHNINGER, 2002).

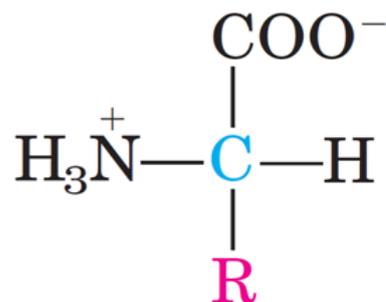


Figura 2 - Estrutura geral de um aminoácido (In: <http://bioquimicaufal.blogspot.com.br> 2013)

“Embora mais de 300 aminoácidos diferentes tenham sido descritos na natureza, somente 20 são comumente encontrados como constituintes de proteínas dos mamíferos.” (CHAMPE; HARVEY, 1996).

Os aminoácidos essenciais, ou seja, aqueles que o nosso organismo não consegue sintetizar, por isso devem ser ingerido em nossa dieta são eles: histidina, isoleucina, valina, metionina, lisina, leucina, triptofano, treonina e fenilalanina, conforme a figura 3 (GONÇALVES, 2013).

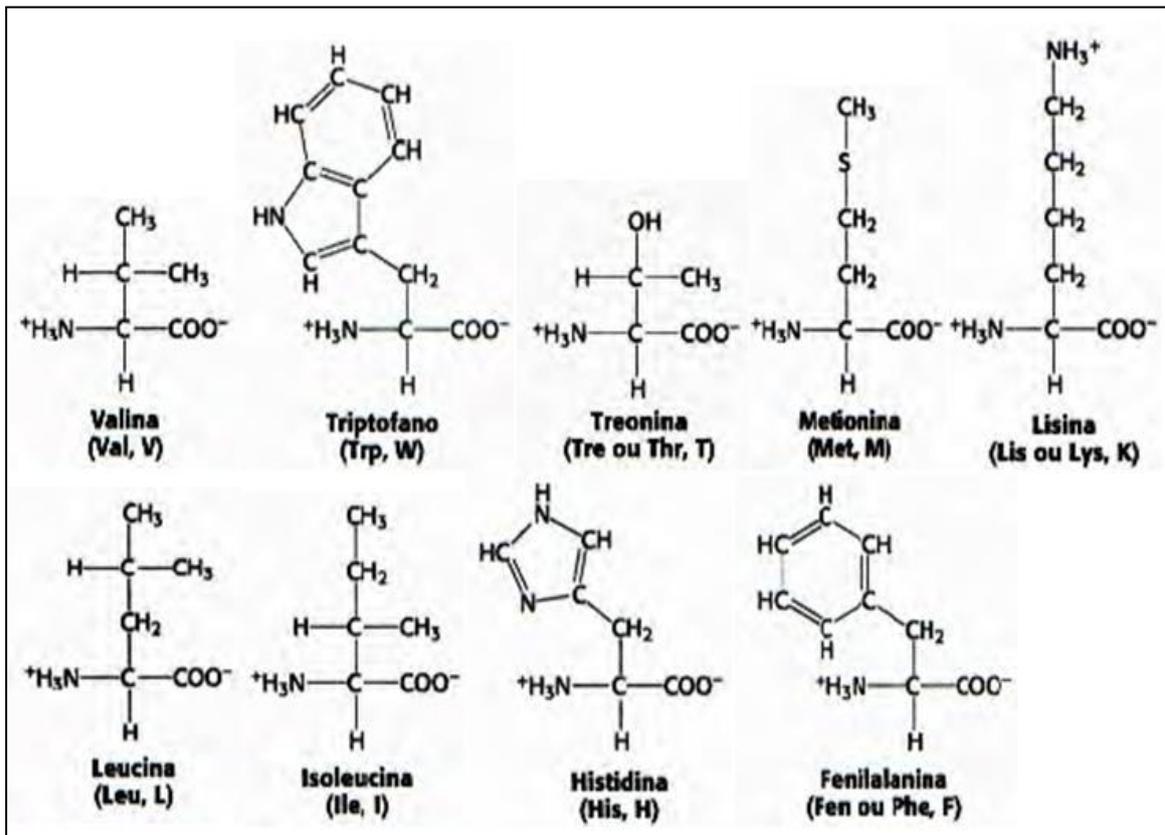


Figura 3: Aminoácidos Essenciais (In: BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2004, p. 48).

Os aminoácidos naturais também chamados de não essenciais, são produzidos pelo nosso próprio organismo, são eles: ácido aspártico, ácido glutâmico, alanina, asparagina, prolina, tirosina, serina, glicina, glutamina, cisteína e arginina conforme a figura 4 (GONÇALVES, 2013).

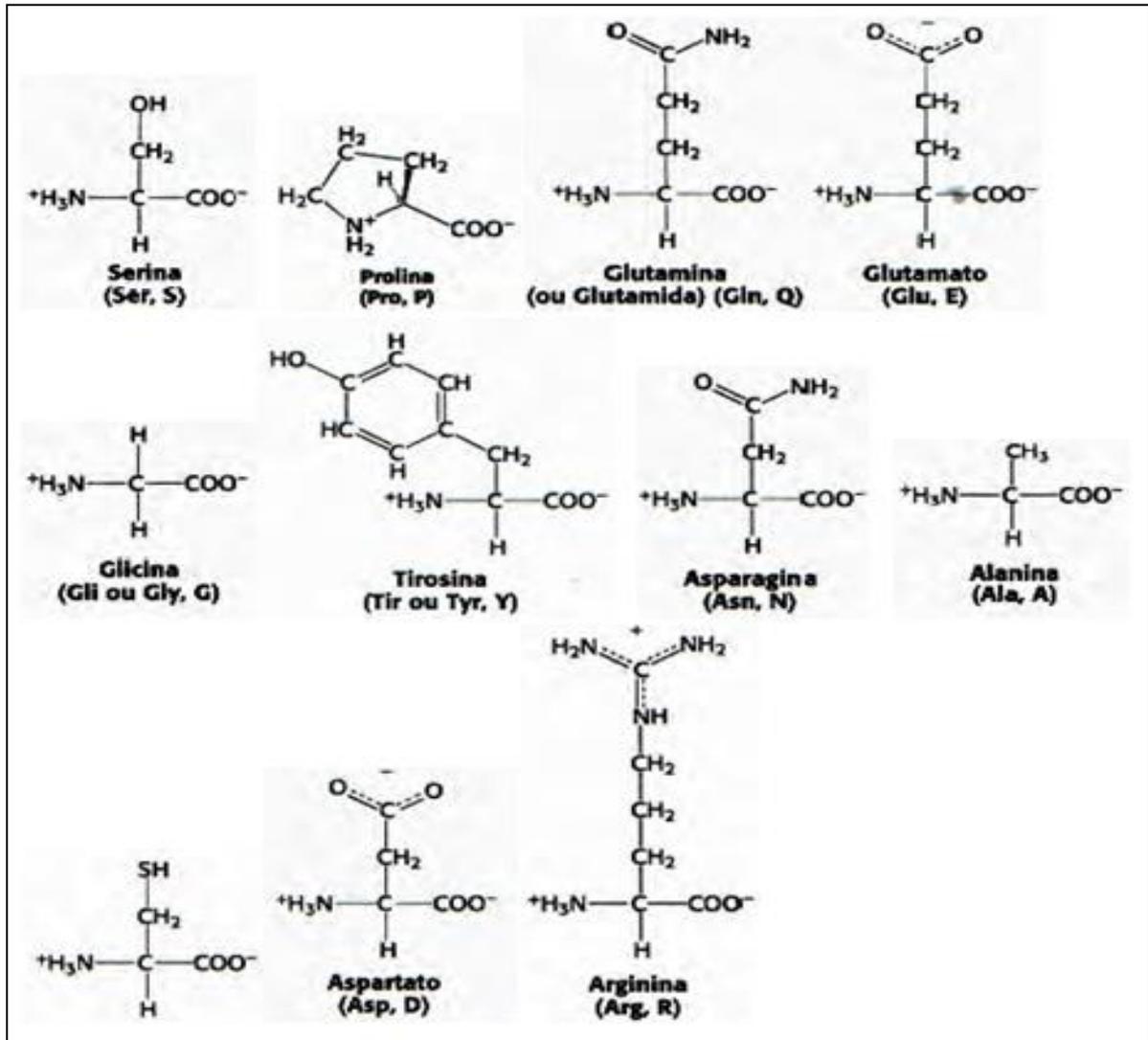


Figura 4 - aminoácidos não essenciais (In: BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2004, p. 50).

Nem todos os alimentos contêm todos os aminoácidos, por isso a alimentação deve ser bastante diversificada. Os alimentos mais ricos em aminoácidos essenciais são de origem animal: ovos, leite, carne, etc. Os vegetais não possuem todos os aminoácidos essenciais, logo uma dieta vegetariana precisa ser bem diversificada (GONÇALVES, 2013).

Os aminoácidos são representados usualmente pela projeção de Fischer:

São muitas as fontes, e o número de proteínas existentes na natureza é praticamente infinito, embora o número de α -aminoácidos que as constituem seja bastante reduzido, em torno de 20. Todavia, as possibilidades de existirem proteínas diferentes, constituídas por esse número reduzido de aminoácidos, são muito grandes, pois as proteínas são compostas por centenas de aminoácidos e cada um deles pode estar presente mais de uma vez (MARZZOCO; TORRES, 1999).

As proteínas estão presentes em todas as células vivas. Aproximadamente 50% da massa seca de nosso corpo é proteína. (BROWN; 2005).

Todas as proteínas são constituídas de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre e apresentam composição muito semelhante: 50 a 55% de carbono, 6 a 8% de hidrogênio, 20 a 24% de oxigênio, 15 a 18% de nitrogênio, de 0,2 a 0,3% de enxofre (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

A quase totalidade da proteína consumida pelo homem é de origem animal e vegetal e somente pequena quantidade é proveniente das chamadas fontes não convencionais. (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

3.2.1 Estrutura das Proteínas

A sequência de aminoácidos de uma proteína é denominada estrutura primária, figura 7. A compreensão da estrutura primária das proteínas é importante, pois muitas doenças genéticas resultam em proteínas com sequência de aminoácidos anormais. (CHAMPE; HARVEY, 1996).

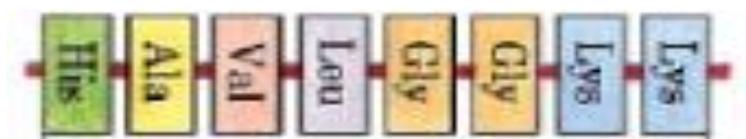


Figura 7 – estrutura primária de uma proteína (In: google imagens, 2013)

A estrutura secundária, figura 8, descreve as estruturas regulares bidimensionais formadas por segmentos da cadeia polipeptídica. As organizações estruturais estáveis são denominadas α -hélice e β -pregueada. (MARZZOCO; TORRES, 1999).

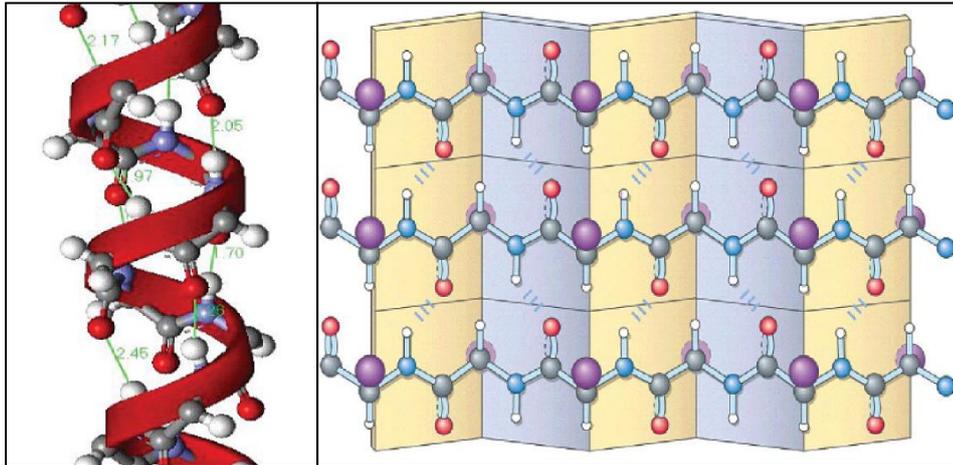


Figura 8 – estrutura secundária de uma proteína (In: google imagens, 2013)

A estrutura terciária, figura 9, se refere a posteriores dobras e enrolamentos que as cadeias peptídicas sofrem, resultando em uma estrutura complexa e mais compacta para as proteínas. (BOBBIO; BOBBIO, 2003, p.108).

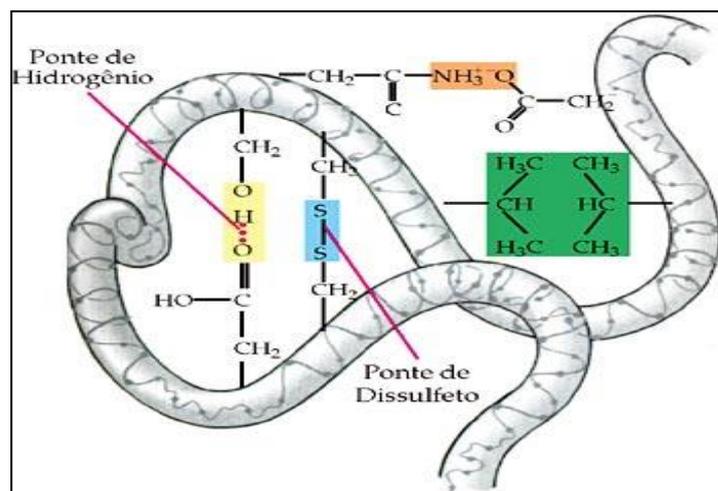


Figura 9 – estrutura terciária de uma proteína (In: BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2004, p. 66).

Muitas proteínas consistem em uma única cadeia polipeptídica, outras, porém, consistem em duas ou mais cadeias polipeptídicas que podem ser idênticas ou diferentes. O arranjo destas subunidades peptídicas é denominado estrutura quaternária, figura 10 (CHAMPE; HARVEY, 1996).

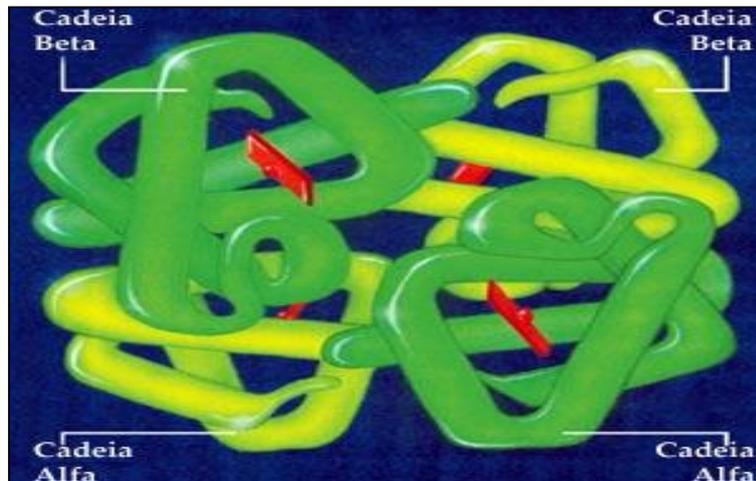


Figura 10 – estrutura quaternária de uma proteína (In: google imagens, 2013)

3.2.2 Classificação das Proteínas

As proteínas devido a sua grande variedade podem ser classificadas de diversas maneiras. As proteínas derivadas são aquelas derivadas da hidrólise parcial de proteínas naturais. Essas proteínas são produzidas durante a digestão das proteínas naturais do organismo. As proteínas conjugada, são as que por hidrólise produzem aminoácidos e outros compostos denominados grupos prostéticos. De acordo com o grupo prostético as heteroproteínas podem ser classificadas em: glicoproteínas, cujo grupo prostético é um glicídio; fosfoproteínas cujo grupo prostético é o ácido fosfórico; cromo proteínas onde o grupo prostético é um pigmento; nucleoproteínas onde o grupo prostético é um ácido nucléico; lipoproteínas, cujo grupo prostético é um ácido graxo; lecitoproteínas onde o grupo prostético é a lecitina. Proteínas simples: que são as que por hidrólise liberam apenas aminoácidos (BERG;

TYMOCZKO; STYER, 2004). As proteínas simples podem ser classificadas de acordo com sua solubilidade, conforme descrito na tabela 2.

Solvente	Classificação
Solução salina	Globulina
Ácido/ Base	Glutamina
Água	Albuminas
Álcool	Prolaminas

Tabela 2 – Solubilidade das Proteínas (In: Souza, 2010)

As proteínas, em geral, podem se apresentar sob a forma globular, com estrutura espacial complexa, sendo a maioria solúvel em água; ou fibrosa, formadas por longas moléculas retilíneas e paralelas ao eixo da fibra, a maioria são insolúveis em água (Souza, 2010).

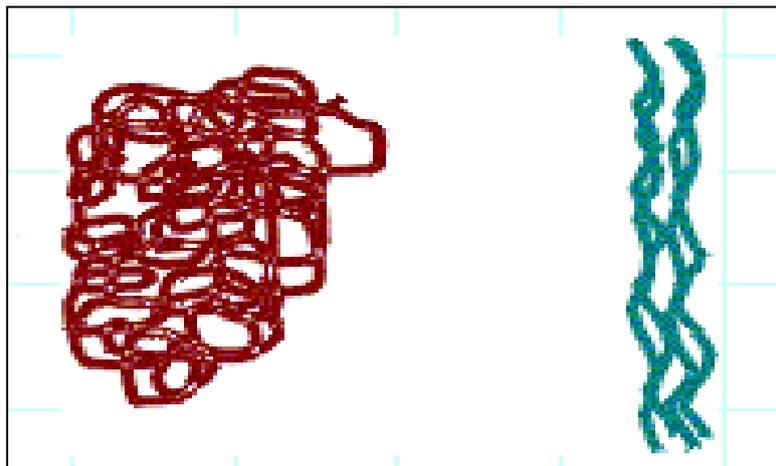


Figura 11 – proteína globular e fibrosa (In: GALLO, 2013)

3.3 ZEÍNAS

As proteínas do grão do milho apresentam uma grande deficiência nutricional devido ao seu baixo teor de triptofano e lisina. Como o milho é uma das principais fontes protéicas da dieta humana e animal, há grande interesse em melhorar sua qualidade protéica. As proteínas de reserva (zeínas) representam de 75 a 80% das proteínas deste cereal e por isso as técnicas usadas para melhorar a qualidade protéica estão relacionadas com a sua redução nos grãos ou à modificação do conteúdo de seus aminoácidos (FORATO, et al. 1999).

A zeína é um polímero biodegradável, e que pode ser processada em equipamentos comuns de processamento de plásticos. Possui caráter hidrofóbico, mas é considerado um polímero caro, comparado ao amido e polietileno (CORRADINI, 2004).

Zeínas, figura 12, são consideradas proteínas globulares constituídas por 18 aminoácidos, sendo a porcentagem de aminoácidos apolares estimada em 64%, suas frações são classificadas de acordo com sua massa relativa (Mr) e solubilidade, pela nomenclatura de Esen as zeínas são classificadas em 4 grupos: α , β , γ e δ (CORRADINI, 2004).

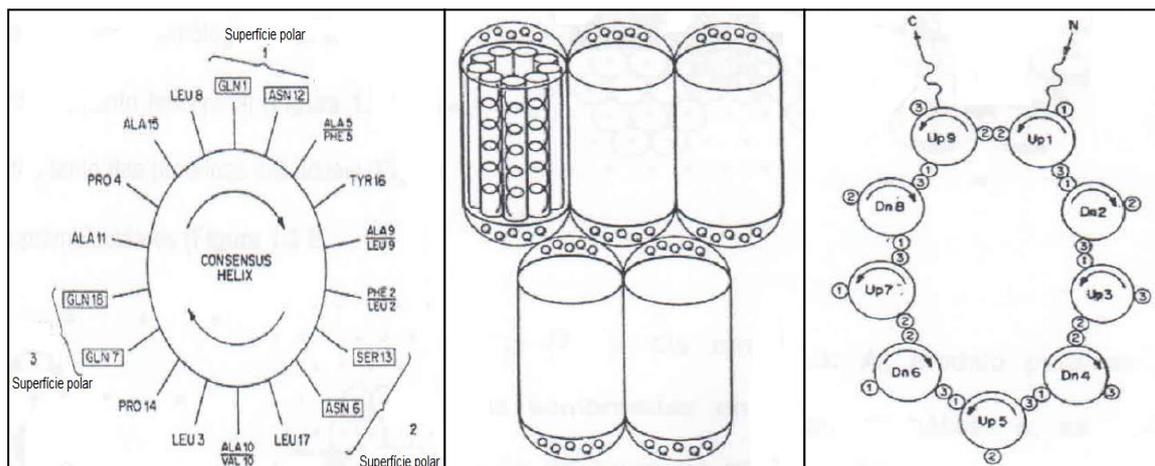


Figura 12 – estrutura da Zeína obtido por modelagem molecular (In: FORATO, 2000, p.10).

As zeínas α compreendem as proteínas de 19 KDa (Z19) e 22 KDa (Z 22) constituindo de 75 a 85 % das zeínas totais. As zeínas β correspondem aos grupos prostéticos de 14 a 16 KDa, representando de 10 a 15% das zeínas totais. As zeínas γ apresenta banda de 28 KDa e é conhecida como glutelina 2. As zeínas δ correspondem à banda de 10 KDa e representam apenas traços de zeínas totais (FORATO, 2000).

As prolaminas são as proteínas de reserva encontradas em maior quantidade no endosperma dos cereais, o alto teor de prolina e glutamina observada nas prolaminas foi o responsável por sua denominação, dada por Osbourne, em 1908. (GASPAR, 1996). A solubilidade e a alta reatividade química da zeína são determinadas pela presença de seus grupos funcionais. A zeína é insolúvel em água, mas é solúvel em misturas de água com álcoois alifáticos tais como isopropanol e etanol (CORRADINI, 2004).

A síntese das zeínas no milho ocorre durante o desenvolvimento da semente, e se inicia ao redor de 12 dias após a polinização, terminando com a maturidade da semente, aproximadamente no 50º dia após a polinização (GASPAR, 1996).

4. REVESTIMENTOS E BIOFILMES COMESTÍVEIS EM ALIMENTOS

O uso de cobertura ou embalagens comestíveis para a proteção de alimentos é praticado há muito tempo. Pode-se citar, por exemplo, a proteção frente à dessecação e trocas gasosas de pedaços de carne mediante recobrimento com gordura (que se pratica na Europa desde o século XVI), de alguns produtos de confeitaria como chocolate ou de certas frutas por recobrimento com filmes de ceras (praticado na China desde o século XII) (RIGO, 2006). Na década de 50, a cera de carnaúba foi amplamente usada para este fim; nos anos 60, ceras e vernizes processados a partir de gomas solúveis em água se tornaram populares no revestimento de citrus e frutas em geral (ALBERTINI, 2011).

Os biofilmes são películas de variadas espessuras constituídas por substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento, sem riscos à saúde do consumidor, uma vez que não são metabolizados pelo organismo (LIMA, 2011).

Filmes e revestimentos diferem em sua forma de aplicação: os revestimentos são aplicados e formados diretamente sobre o alimento, enquanto os filmes são pré-formados separadamente para posterior aplicação sobre o produto (ALBERTINI, 2011).

Filmes e revestimentos comestíveis são desenvolvidos para interagir favoravelmente com os alimentos, aumentando sua vida de prateleira. A utilização de revestimentos comestíveis tem recebido a atenção de pesquisadores e vem sendo explorada para reduzir a predisposição à deterioração de produtos. Pesquisas sobre embalagens têm sido enfocadas em filmes e revestimentos comestíveis a base de biopolímeros, como lipídios, polissacarídeos e proteínas, que são completamente biodegradados, num período curto de tempo, contribuindo para a diminuição da poluição ambiental (VILLADIEGO et al., 2004).

Os revestimentos comestíveis sobre alimentos devem apresentar certas peculiaridades como ser invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no gosto ou odores originais (ASSIS; BRITTO; FORATO, 2009). As embalagens comestíveis são

consideradas como ingredientes, quando melhoram a qualidade nutricional do produto, ou como aditivos, quando não incrementam o seu valor nutricional (VILLADIEGO et al., 2004).

Esses filmes não podem substituir as embalagens primárias obtidas com materiais sintéticos para prolongar a estocagem de alimentos, sendo utilizados nestes casos como embalagens secundárias ou terciárias (RIGO, 2006).

As características ideais de um revestimento são essencialmente: permeabilidade seletiva e a formação de uma camada uniforme, elástica e plastificante sobre a superfície dos alimentos. Usualmente, são adicionados alginato e glicerol, para fornecerem as soluções dos filmes comestíveis caráter viscoso e espesso (SANTANA, 2012).

A característica funcional mais importante do filme comestível é a resistência à umidade. Uma pequena perda de água pode ser tolerada, mas àquelas responsáveis pelo enrugamento e murchamento do alimento devem ser evitadas (OLIVEIRA; GRDEN; RIBEIRO, 2007).

Os revestimentos e filmes comestíveis oferecem numerosas vantagens como, por exemplo, o consumo direto com o produto, melhora das propriedades mecânicas, organolépticas e nutricionais (RIGO, 2006).

As coberturas comestíveis podem atuar de diferentes modos: retardando a perda de umidade, atuando como barreira física; protegendo o alimento do contato com o oxigênio evitando assim, as reações de oxidação; aportando um conservante superficial ou uma ação antimicrobiana (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998).

Os filmes e revestimentos comestíveis têm demonstrado ser uma técnica eficaz de preservação de frutas e hortaliças para manter a aparência fresca, a firmeza e o brilho, aumentando assim, o valor comercial (VILLADIEGO et al., 2004).

Dentre os reagentes mais utilizados na preparação de biofilmes, podem ser citados: os lipídios (monoglicerídeos acetilados, ácido esteárico, ácido oleico, ceras e ésteres de ácido graxo), os polissacarídeos (amido e seus derivados, pectina, celulose e seus derivados, alginato e carragena) e as proteínas (gelatina, proteínas miofibrilares, caseína, ovoalbumina, glúten de trigo e a zeína) (ALBERTINI; 2011).

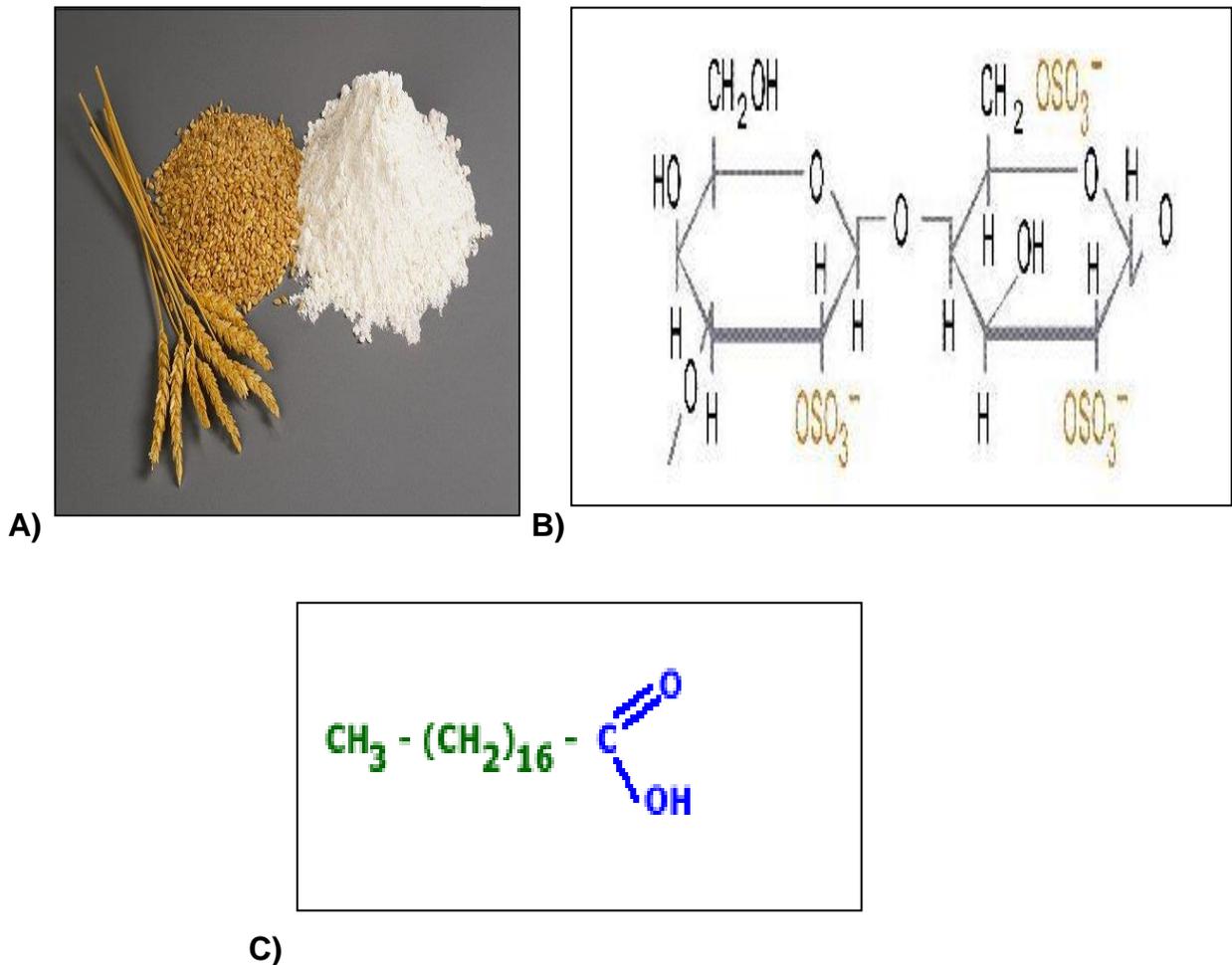


Figura 13 – Exemplos de reagentes usados na preparação de biofilmes. A) Glutén de trigo. B) Estrutura da carragena. C) Estrutura do ácido oleico. (In: www.google.com, 2013)

Os filmes a base de lipídios apresentam boas propriedades de barreira ao vapor de água, entretanto, apresentam pouca resistência às propriedades mecânicas como força e resistência (RIGO, 2006).

Os revestimentos de polissacarídeos oferecem pouca barreira à perda de umidade, (alguns podem retardar a perda da umidade); constituem boas barreiras ao oxigênio, retardando a oxidação lipídica e melhorando o sabor dos alimentos (ALBERTINI; 2011).

Os revestimentos a base de proteínas têm geralmente propriedades mecânicas e de barreira superiores aos formados por polissacarídeos, devido à estrutura das

proteínas que são capazes de conferir maiores propriedades funcionais (OLIVEIRA; GRDEN; RIBEIRO, 2007).

Filmes produzidos a partir da diluição de zeínas puras apresentam caráter hidrofóbico, o que pode ser potencialmente interessantes para aplicações como revestimentos ou barreiras à umidade, ao vapor de água, ao transporte de oxigênio, dióxido de carbono e demais compostos voláteis (FORATO et al, 2013).

A zeína do milho tem sido utilizada comercialmente como filme comestível em vários alimentos, devido às propriedades de adesão de vitamina e de carreadora de agentes microbianos (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000).

Um estudo do efeito do filme comestível de zeína de milho na vida de prateleira e na qualidade de tomates, indicou que o filme afetou positivamente a troca de oxigênio nos tomates, evidenciado pelo retardamento na mudança de cor, perda da firmeza e de peso durante o armazenamento, estendendo a vida de prateleira em 6 dias (MAIA; PORTE; SOUZA, 2000).

Os filmes podem ser obtidos em laboratórios pelo método “*casting*”, que consiste em espalhar a solução formadora do filme em uma superfície lisa e deixar secar. Na indústria, os filmes podem ser obtidos pelos mesmos métodos utilizados para elaborar filmes plásticos flexíveis, como extrusão e co-extrusão para filmes multicamadas, laminação e, principalmente por secagem em rolos para a remoção do solvente de solução polimérica (FONSECA, 2009).

5. PRECIPITAÇÃO E HIDRÓLISE DE PROTEÍNAS COMO TEMÁTICA PARA O ENSINO DAS PROPRIEDADES E CARACTERÍSTICAS DAS PROTEÍNAS.

Nem sempre é possível fazer com que os alunos tenham interesse pela química. Sendo assim, deve-se procurar proporcionar aulas que deem a eles um maior interesse pela matéria, algo que chame atenção, que desperte neles o interesse pela química, facilitando assim, cada vez mais o aprendizado.

Um grande problema no ensino médio é o fato de que várias escolas não possuem laboratórios de química adequados para as aulas experimentais. Além disso, faltam professores designados para tal fim, e o número de aulas semanais por turma é pouco, sendo insuficiente inclusive para as aulas consideradas teóricas. Muitas escolas que possuem laboratório enfrentam outro problema que é não ter verba suficiente para sua manutenção (SILVA, 2011).

Cabe destacar, ainda, que a relação teoria-prática e Química-cotidiano é praticamente inexistente, permitindo concluir que o ensino, baseia-se, geralmente na transmissão de conhecimentos, sem relação com o cotidiano dos alunos e sem o desenvolvimento de habilidades investigativas dos mesmos (PAZ; PACHECO, 2008).

Uma alternativa para tais problemas é a elaboração de roteiros de aulas práticas de fácil acesso, utilizando materiais e reagentes encontrados no dia a dia. Através de experimentos simples, é possível prender a atenção dos alunos na aula, fazendo com que eles tenham noção de como um químico age no laboratório, facilitando desta forma o entendimento da matéria.

Para iniciar o ensino deste tema, podem-se definir proteínas como polímeros cujas unidades constituintes fundamentais são os aminoácidos. Os aminoácidos, por sua vez, são moléculas orgânicas que apresentam 4 ligantes ligados ao carbono central, sendo os ligantes: um grupo amino, um grupo carboxílico, um átomo de hidrogênio e um radical "R", que diferencia os aminoácidos (JUNIOR; FRANCICO, 2006).

Através de uma tabela de aminoácidos é possível mostrar aos alunos, de que forma as proteínas são formadas e parte de sua estrutura primária, ensinando o conceito de ligação peptídica.

Através de experimentos simples como o da hidrólise e gelatinização da gelatina, é possível trabalhar com os alunos sobre algumas das propriedades das proteínas como: hidrólise e desnaturação (JUNIOR; FRANCICO, 2006).

O experimento proposto segue a metodologia de (JUNIOR; FRANCICO, 2006), consiste em dissolver 0,5 g gelatina em pó em 2,5 mL água colocando-os em banho-maria para facilitar a solubilização. O conteúdo deverá ser colocado em 9 tubos de ensaio. Em 3 tubos de ensaio deve-se adicionar 2,5 mL de clara de ovo.

Em seguida deverá ser colocar 2,5 mL dos seguintes reagentes em cada tubo de ensaio:

- Solução de amaciante de carne;
- Medicamento digestivo (digeplus);
- Extrato de suco de abacaxi concentrado;
- Solução saturada de sal de cozinha;
- Álcool (etanol comercial 92%);
- Folha de gelatina em pó;
- Clara de ovo.

Após a adição dos reagentes, deverá ser resfriado os tubos contendo gelatina em banho de gelo. Os resultados deverão ser observados e comparados, conforme a tabela 3.

Substrato	Reagente	Resultado observado
Clara de ovo (1)	Água	Nenhum
Clara de ovo (2)	Etanol	Precipitação
Clara de ovo (3)	Sal de cozinha	Leve Turvação
Gelatina em pó (4)	Água	Gelatinização
Gelatina em pó (5)	Extrato de abacaxi	Nenhum
Gelatina em pó (6)	Extrato de abacaxi fervido	Gelatinização
Gelatina em pó (7)	Medicamento digestivo	Nenhum
Gelatina em pó (8)	Medicamento digestivo fervido	Gelatinização
Gelatina em pó (9)	Solução de amaciante de carne	Nenhum
Gelatina em pó (10)	Solução de amaciante de carne fervida	Gelatinização
Gelatina em pó (11)	Solução de sal de cozinha	Leve turvação
Gelatina em pó (12)	Etanol	Precipitação

Tabela 3 – Resultados observados durante a realização do experimento (In: JUNIOR; FRANCICO, 2006).

A gelatina apresenta a capacidade de formar géis em temperaturas não muito elevadas, pois retém as moléculas de água. Neste experimento a gelatinização foi observada nos tubos 4, 6,8 e 10. Como nos tubos 6, 8 e 10 as enzimas presentes foram desnaturadas pelo calor, estas perderam suas funções, permitindo assim a ocorrência da gelatinização. No tubo 4 a gelatinização ocorreu devido a retenção de água da gelatina em pó, formando um gel. Nos tubos 5,7 e 9, ocorreu a hidrólise enzimática, pois as enzimas presentes na solução de amaciante de carne, no extrato de suco de abacaxi e no medicamento digestivo, são classificadas como proteases quebrando as proteínas em fragmentos menores. Nos tubos 2 e 12 houve a

precipitação das proteínas devido a adição de etanol, este, quebrou as interações fracas e fez com que as proteínas se precipitassem. Nos tubos 3 e 11 ocorreu a solvatação dos íons, provocando o efeito *salting out*, este faz com que as proteínas se coagulem, devido a diminuição das interações entre as cadeias das proteínas, deixando a solução turva (JUNIOR; FRANCICO, 2006), (MARZZOCO; TORRES, 1999).

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1. MATERIAIS E REAGENTES

- Milho (Supermercado X de Ourinhos dia 15 out. 2013)
- Cadinho de porcelana
- Pistilo
- Soxhlet (Tecnal Sebelin TE-188)
- Balança analítica (Marte AY 220)
- Agitador Magnético (Fisotom 713)
- Evaporador rotativo (Tecnal TE-240)
- Bomba a vácuo (Tecnal TE-058)
- Centrifuga (Tecnal)
- Bécker (100, 500 e 1000mL)
- Proveta (100 e 500 mL)
- Dessecador
- Placas de Pétri
- Hexano (Dinâmica)
- Acetona (Dinâmica)
- H₂O destilada

- Solução de NaCl 0,5 M
- Etanol 70% (V/V) (Dinâmica)
- Etanol 75% (V/V) (Dinâmica)
- Ácido graxo oleico (Synth)
- Glicerina (Dinâmica)

6.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.2.1 Preparação das amostras do milho

200 gramas do gérmen de milho verde foram macerados em um cadinho de porcelana, obtendo uma pasta, que foi enrolada em um papel filtro e pesada. Esta pasta foi levada ao aparelho soxhlet durante 24 horas para que a amostra fosse desengordurada, utilizando como solvente hexano. As amostras desengorduradas foram levadas a estufa durante 30 minutos para secagem e novamente pesadas em uma balança analítica, resultando em uma massa de 165,3575g. A amostra desengordurada foi colocada em um bécker onde foi adicionado 500 mL da solução de NaCl 0,5 M. A mistura foi agitada em um agitador magnético por 6 horas. O sobrenadante foi descartado e ao resíduo foram adicionados 500 mL de etanol 70%. A amostra foi então agitada em um agitador magnético por 24 horas. Após este período, a amostra foi filtrada e o sobrenadante colocado no evaporador rotativo, para a extração das proteínas (zeína). Após a evaporação do solvente, etanol 70%, a massa foi medida resultando em 5,3130 gramas.

O mesmo procedimento foi realizado como gérmen e o endosperma, descartando somente o pericarpo do milho.

6.2.2. Preparação do biofilme a base de zeína

Para a formação dos biofilmes, foram adicionadas 5,3130g de zeína a 25 mL de etanol 75%; e 20mL de ácido graxo oleico para o aumento da opacidade, que foram solubilizados na solução aquosa de etanol 75% através de agitação em um agitador magnético por 10 minutos. Foram adicionados 10g de glicerina como coadjuvante do agente plastificante. Em seguida, essa solução foi aplicada, em placas de Pétri e o material foi mantido à temperatura ambiente (25°C) sobre superfície nivelada durante 48h para secagem.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho foi dividido em duas etapas: a extração da zeína e a obtenção do biofilme, sendo utilizadas metodologias de três trabalhos. A zeína não foi caracterizada, pois esta, normalmente é caracterizada através de eletroforese ou espectrofotometria com transformada de Fourier, técnicas não disponíveis no laboratório.

Para a extração das proteínas do milho, dois métodos foram testados. O primeiro, seguindo a metodologia descrita por (OTTOBONI, 1989), consistiu em separar as frações proteicas do milho através de centrifugação e solubilização destas em diferentes solventes. Para isso as amostras foram desengorduradas utilizando como solvente acetona e centrifugadas em etapas sucessivas a fim de precipitar as proteínas. Porém, o resultado obtido não foi satisfatório, pois precisava de uma rotação maior por minuto para que as proteínas fossem precipitadas (figura 14). O outro método seguiu a metodologia descrita por (FORATO et al, 2013). consistiu em solubilizar as proteínas, através de agitação constante em um agitador magnético, para que assim, as zeínas, que são solúveis em soluções alcoólicas, fossem separadas do solvente através da evaporação do mesmo (figura 15). Foram preparadas duas amostras: uma com apenas o gérmen do milho e a outra com o gérmen e o endosperma. A amostra que foi preparada com apenas o gérmen do milho, apresentou um baixo rendimento de proteínas, e na preparação do biofilme não ocorreu a polimerização, ficando somente pequenos fragmentos transparentes e muito quebradiço (figura 16). A amostra preparada com o gérmen e o endosperma do milho apresentou um rendimento maior de proteínas, e o biofilme obtido através deste método ficou com a coloração amarelada, camada espessa e com um aspecto gelatinoso (figura 17).

A preparação do biofilme seguiu a metodologia descrita por (CORRÊA; FILHO, 2009), com adaptações.



Figura 14 – Precipitação das proteínas através de centrifugação

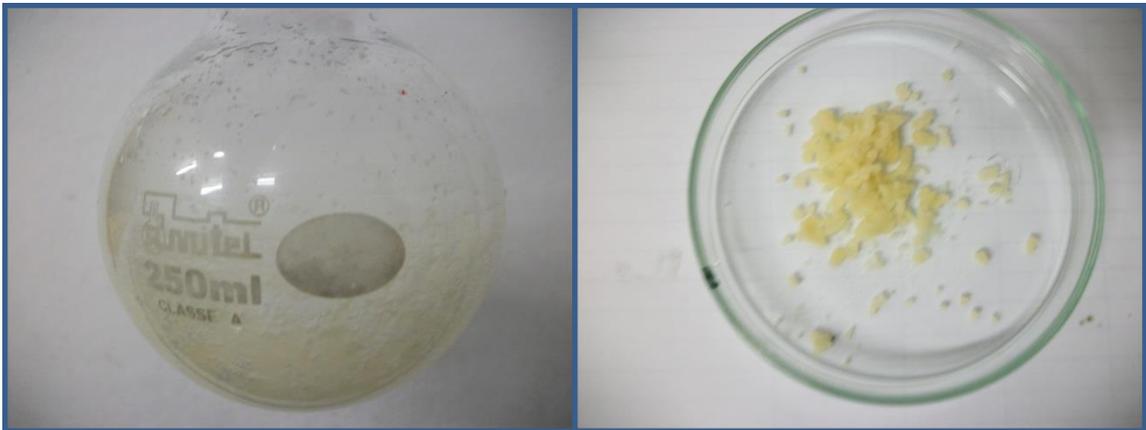


Figura 15 – Proteínas obtidas por evaporação do solvente



Figura 16 – Biofilme obtido com o gérmen do milho

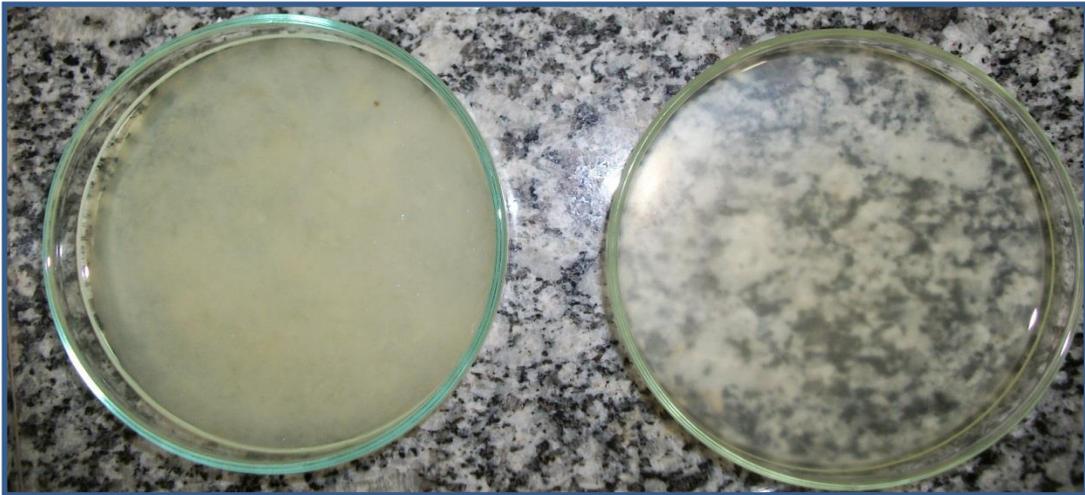


Figura 17 – Biofilme obtido com o endosperma e o gérmen do milho

8. CONCLUSÃO

A metodologia utilizada inicialmente para a extração das proteínas do milho através de centrifugação, não se mostrou eficiente devido a falta de uma centrífuga adequada, porém a metodologia utilizada para a extração das proteínas do milho através de agitação e posterior separação pela evaporação do solvente mostrou ser uma técnica eficiente. A metodologia utilizada para a preparação do biofilme, também foi eficiente, resultando em um biofilme transparente, opaco e com coloração amarelada, porém com aspecto gelatinoso devido a utilização de placas de Pétri de vidro, estas deveriam ser substituídas por placas de Pétri de plástico ou por outra superfície nivelada de acrílico, pois o biopolímeros formado interagem com a sílica do vidro, deixando o biopolímeros formado com aspecto gelatinoso.

Os biopolímeros têm se mostrado uma alternativa promissora para o futuro, uma vez que apresentam características semelhantes aos polímeros sintéticos, mas com inúmeras vantagens como, menor tempo de degradação, matéria prima obtida de fontes renováveis e menores impactos ambientais.

REFERÊNCIAS

ABIMILHO. **Associação Brasileira das Indústrias do milho.** Disponível em: <http://www.abimilho.com.br/milho>. acesso :01 out 2013

ALBERTINI, Silvana. **Efeito de Tratamentos Químicos, Revestimento Comestíveis e Irradiação na Conservação de Mamões Minimamente Processados.** 2011. 186p. Tese (Doutorado) – Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente – Centro de Energia Nuclear na Agricultura – Piracicaba, 2011.

ARAÚJO, Júlio M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática.** 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 1999.

ASSIS, Odílio Benedito Garrido, BRITTO, Douglas, FORATO, Lucimara Aparecida. O uso de Biopolímeros como Revestimentos Comestíveis Protetores Para Conservação de Frutas in Natura e Minimamente Processados. In: **Boletim Técnico.** EMBRAPA, São Carlos, 2009, 23p.

BARUFFALDI, Renato; OLIVEIRA, Maricê Nogueira. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos.** São Paulo: Editora Atheneu, 1998.

BERDEJO, Bertha Dévora Agurto. **Caracterização das Proteínas de Reserva em Linhagem QPM e Estudo Bioquímico da Enzima Homoserina Quinase (HK) em Sementes de Milho (Zea mays L.).** 2010. 122p. Tese (Doutorado) - Instituto de Genética e Melhoramento de Plantas – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2010.

BERG, Jeremy M.; TYMOCZKO, John L.; STYER, Lubert. **Bioquímica.** 5ª Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2004.

BOBBIO, Florinda Orsatti; BOBBIO, Paulo A. **Introdução à Química de Alimentos.** 3ª ed. São Paulo: Editora Varela, 2003.

BOBBIO, Paulo A.; BOBBIO, Florinda Orsatti. **Química do Processamento de Alimentos.** 2. ed. São Paulo: Editora Varela, 1992.

BROWN, Theodore, L.; LEMAY, H. Eugene Jr., BURSTEN, Bruce E. **Química a Ciência Central**. 9.ed. São Paulo: Editora Pearson Prentice Hall, 2005.

CANGEMI, Jose Marcelo; SANTOS, Antonia Marli dos; NETO, Salvado Claro. Biodegradação: Uma Alternativa para Minimizar os Impactos Decorrentes dos Resíduos Plásticos. **Química Nova na Escola**, nº 22, novembro, 2005, p. 17-21.

CHAMPE, Pamela C.; HARVEY, Richard A. **Bioquímica Ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Editora Artes Médicas Sul (ARTMED), 1996.

CORRADINI, Elisângela. **Desenvolvimento de Blendas Poliméricas de Zeína e Amido de Milho**. 2004. 114p. Tese (Doutorado) – Interunidades em Ciência e Engenharia de Materiais – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

CORRÊA, Beatriz Mariani; FILHO, José Francisco Lopes. Elaboração e Caracterização de Biofilmes à base de Zeína. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA. 8, 2009, Uberlândia, Brasil. **Anais do VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, v.1, Julho, 2009. p. 1-5.

DEMARCHI, Margorete. Análise da Conjuntura Agropecuária. In: **MILHO SAFRA 2011/12**. Secretaria da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, Estado do Paraná, 2011, 14p.

EMBRAPA. **Milho e Sorgo**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/grao/7_edicao/grao_em_grao_materia_03.htm. Acesso em: 7 set. 2012.

FAKHOURI, Farayde Matta. **Bioplásticos Flexíveis e Biodegradáveis a base de Amido e Gelatina**. 2009. 249p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

FIGUEIRA, Thais Resende e Silva. **“A Origem do Milho: A Identificação de Saccharum Como um de Seus Prováveis Parentais”**. 2007. 90p. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia Departamento de Genética e Evolução – Universidade Estadual de Campinas., Campinas, 2007.

FILHO, Celso Duarte Carvalho; HONÓRIO, Sylvio Luis; GIL, José Moure. Qualidade pós colheita de cerejas cv. Ambrunés Utilizando coberturas comestíveis. **Revista Brasileira Frutic.** V. 28, n. 2, agosto 2006, p.180-184.

FONSECA, Sergio Ferraz. **Utilização de Embalagens Comestíveis na Indústria de Alimentos.** 2009. 34p. Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

FORATO, Lucimara A; Britto, Douglas de; SCRAMIM, Juliana A; COLNAGO, Luiz A; ASSIS, Odilio B.G. Propriedades mecânicas e molhabilidade de filmes de zeínas extraídas de glúten de milho. In: **Artigo técnico.** EMBRAPA, São Carlos, 2013, 48p.

FORATO, Lucimara Aparecida; COLNAGO, Luis Alberto; GARRAT, Richard; LOPE, Maurício Antônio. Caracterização de Ácidos Graxos Livres nos Corpos Proteicos do Milho por rmn. In: **PESQUISA EM ANDAMENTO.** Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária, São Carlos, 1999, 6p.

FORATO, Lucimara Aparecida. **Estudos das estruturas das zeínas por RMN, FTIR e MFA.** 2000. 125p. Tese (Doutorado) – Instituto de química de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

GALLO, Luis Antonio. **Proteínas globulares e fibrosas.** Disponível em: <http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/aminoacidos.html>. Acesso: 01 out 2013

GASPAR, Marília. **Alterações em Genes de Zeína Induzidas por Variação somaclonal.** 1996. 106p. Tese (Mestrado) – Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas., Campinas, 1996.

GOOGLE IMAGENS. **Biopolímeros Naturais.** Disponível em: www.google.com/imgs/exemplosdebiopolimerosnaturais/. Acesso em: 12 out 2013

GOOGLE IMAGENS. **Estrutura das proteínas.** Disponível em: www.qnint.sbq.org.br. Acesso: 02 out 2013

GONÇALVES, Fabiana dos Santos. **Aminoácidos.** Disponível em: <http://www.infoescola.com/bioquimica/aminoacido/> Acesso: 21 set. 2013

JUNIOR, Wilmo Ernesto Francisco; FRANCISCO, Welington. Proteínas: Hidrólise, precipitação e um tema para o ensino de química. **Química Nova na Escola**, n° 24, novembro, 2006, p. 12-16.

LEHNINGER, Albert Lester. **Princípios de Bioquímica**. 3ª ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2002.

LOVATTO, Maria Bernardete. **Características Físicas e Conteúdo de Proteínas de Endosperma Normal e Sugary opaque-2, em Espigas Segregantes**. 1979. 55 p. Tese (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Campinas 1979.

LIMA, Antonia Barbosa. **Qualidade e Conservação Pós-Colheita de Abacaxiz 'Pérola' e 'M2' Sob Manejo orgânico e Convencional na Agricultura Familiar**. 2011. 183p. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2011.

MAIA, Luciana Helena, PORTE, Alexandre, SOUZA, Valéria França. Filmes Comestíveis: Aspectos Gerais, Propriedades de Barreira a Umidade e Oxigênio. **Boletim CEPPA**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2000, 128p.

MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. **Bioquímica Básica**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. , 1999.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Culturas de Milho**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>. Acesso: 14 set 2013

OLIVEIRA, Cristina Soltovski, GRDEN, Larissa, RIBEIRO, Maria Carolina de Oliveira. Utilização de Filmes Comestíveis em Alimentos. In: **Série em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Desenvolvimento em Tecnologia de Alimentos**. Universidade Tecnológica do Paraná, Ponta Grossa, 2007, 57p.

OTTOBONI, Laura. **Caracterização e Comparação com Proteínas do Endosperma do Milho e Teosinte**. 1989. 207p. Tese (doutorado) - Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Campinas 1989.

PAES, Maria Cristina Dias. Aspectos químicos físicos e tecnológicos do grão de milho. In: **CIRCULAR TÉCNICA**. Embrapa, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Sete Lagoas, 2006, 6p.

PAZ, Gizeuda de Lavour da; PACHECO, Hilana de Farias. Dificuldades no Ensino-Aprendizagem de Química no Ensino Médio em Algumas Escolas Públicas da Região Sudeste de Teresina. In: **Bolsa de Iniciação Científica**. Universidade Estadual do Piauí, Teresina, 2008, 14p.

RIGO, Lisandra Naiara. **Desenvolvimento e Caracterização de Filmes Comestíveis**. 2006. 130p. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Ciências Agrárias – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, Erechim, 2006.

RUSSELL, John B. **Química Geral**. 2.ed. Editora: Pearson Makron Books, 1994.

SANTANA, Ana Isabel Estorninho. **Aplicação de Revestimentos Comestíveis à base de Quitina desacetilada Extraída de Subprodutos da Indústria de Pescado em Maçã Fuji de IV Gama**. 2012. 144p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Politécnico de Leiria – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar. Portugal, Leiria, 2012.

SCARBIERI, Valdomiro. **Proteínas em Alimentos Protéicos**, 1.ed. São Paulo: Editora Varela, 1996.

SILVA, Ayrton Marques. Proposta para tornar o ensino de química mais atraente. In: **Ensino de Química Atual**. Universidade Estadual do Ceará, Ceará, 2011, 12p.

SILVA, Marília Rodrigues. **Embriogênese somática, melhoramento da resposta *in vitro* e transformação de Milho (*zea mays L.*) via *Agrobacterium Tumefaciens***. 2009. 216p. Dissertação (mestrado) - Faculdade de agronomia e medicina veterinária - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2009.

SOUZA, Michelle Andrade. **Proteínas**. Disponível em : <http://www2.portoseguro.ifba.edu.br/doc_professores/michelle_andrade/proteinas> Acesso em: 15 nov 2013

TORO, Alejandro Alberto. **Caracterização das Proteínas de Reserva de Mutantes de Endosperma de Milho de Alta Lisina**. 2006. 249p. Tese (Doutorado) – Instituto de Genética e Melhoramento de Plantas – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

VILLADIEGO, Alba Manuela Durango; SOARES, Nilda de Fátima Ferreira; ANDRADE, Nélio José; PUSCHMANN, Rolf; MINIM, Valéria Paula Rodriguês; CRUZ, Renato. Filmes e Revestimentos Comestíveis na Conservação de Produtos Alimentícios. In: **Ceres**. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Viçosa, 2004, 23p.