

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Instrumentação Agropecuária  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio  
Anais do V Workshop 2009**

Odílio Benedito Garrido de Assis  
Wilson Tadeu Lopes da Silva  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Editores

Embrapa Instrumentação Agropecuária  
São Carlos, SP  
2009

**Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:**

**Embrapa Instrumentação Agropecuária**

Rua XV de Novembro, 1452  
Caixa Postal 741  
CEP 13560-970 - São Carlos-SP  
Fone: (16) 2107 2800  
Fax: (16) 2107 2902  
<http://www.cnpdia.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpdia.embrapa.br](mailto:sac@cnpdia.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,  
Dr. João de Mendonça Naime,  
Dr. Washington Luiz de Barros Melo  
Valéria de Fátima Cardoso  
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto  
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso  
Capa: Manoela Campos e Valentim Monzane  
Imagem da Capa: Imagem de AFM de nanofibra de celulose - Rubens Bernardes Filho  
Editoração eletrônica: Manoela Campos e Valentim Monzane

**1ª edição**

1ª impressão (2009): tiragem 200

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,  
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.  
Embrapa Instrumentação Agropecuária**

---

Anais do V Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao  
agronegócio 2009 - São Carlos: Embrapa Instrumentação  
Agropecuária, 2009.

Irregular  
ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia - Evento. I. Assis, Odílio Benedito Garrido de.  
II. Silva, Wilson Tadeu Lopes da. III. Mattoso, Luiz Henrique  
Capparelli. IV. Embrapa Instrumentação Agropecuária

---

© Embrapa 2009



## ANÁLISE DE PERAS REVESTIDAS COM FILMES A BASE DE ZEÍNAS POR RMN DE $^{13}\text{C}$ EM ALTA RESOLUÇÃO

Vieira, C.E.M.<sup>1,2</sup>, Scramin, J.A.<sup>1,3</sup>, Assis, O.B.G.<sup>2</sup>, Bernardes Filho, R.<sup>1</sup>, Imasato, H.<sup>2</sup>, Forato, L.A.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP. \*lucimara@cnpdia.embrapa.br

<sup>2</sup>Instituto de Química de São Carlos - USP

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia-UFSCar

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

### Resumo

Neste trabalho foram utilizadas zeínas, que são proteínas hidrofóbicas e formam uma barreira contra a umidade e o oxigênio, para revestimento de peras. Estas foram revestidas com soluções filmogênicas a base de zeínas e o ácido oléico (AO) foi usado como plastificante em diferentes concentrações. Os frutos foram avaliados pela sua perda de massa e pela espectroscopia de RMN de  $^{13}\text{C}$  em alta resolução. As análises de RMN permitiram avaliar que o maior consumo de glicose ocorreu com as frutas que apresentaram maior perda de massa, indicando que tais frutas apresentaram maiores trocas gasosas com o ambiente e, portanto redução em seu tempo de prateleira.

**Palavras-chave:** zeínas, filmes comestíveis, pêra, RMN de  $^{13}\text{C}$ .

### Introdução

Os filmes comestíveis são películas de variadas espessuras constituídas por diferentes substâncias naturais e/ou sintéticas que se polimerizam e isolam o alimento de seu entorno. Estes filmes visam minimizar a perda de umidade e reduzir as taxas de respiração, evitar a proliferação microbiana além de conferir aparência brilhante e atraente (MAIA et al., 2000; ASSIS et al., 2008).

Os filmes comestíveis a base de zeínas, proteínas de reserva do milho que são constituídas principalmente por resíduos de aminoácidos apolares, são insolúveis em água, formando uma barreira à umidade. No entanto os filmes preparados somente a base dessas proteínas são frágeis, quebradiços, havendo a necessidade da adição de um composto plastificante para aumento de sua flexibilidade. Portanto neste trabalho foram preparadas soluções filmogênicas a base de zeínas, utilizando-se ácido oléico (AO) como plastificante em diversas concentrações.

Os frutos (peras) revestidos ou não foram analisados por medidas de perda de massa e pela espectroscopia de RMN  $^{13}\text{C}$  para se monitorar o metabolismo dos açúcares com o tempo.

### Materiais e métodos

As peras foram adquiridas no comércio local, em um mesmo estádio de maturação e revestidas com soluções filmogênicas a base de zeínas na concentração de 4 % em massa e solubilizadas em etanol 70%. O agente plastificante usado foi o ácido oléico separadamente adicionado nas proporções de 0,25% e 1,0% em massa.

As peras foram mergulhadas na solução por aproximadamente 2 a 3 s e secaram até a evaporação do solvente. As frutas foram diariamente pesadas para acompanhamento da perda de massa.

Para as análises de RMN de  $^{13}\text{C}$ , o espectrômetro utilizado foi um Varian®, modelo Inova com campo magnético de 9,4T que opera na frequência de 400 MHz para núcleos de hidrogênio.

Amostras da polpa da pera, sem casca foram colocadas em tubos de 5 mm com a adição de 50  $\mu$ L de D<sub>2</sub>O (água deuterada). Os espectros foram obtidos de 2000 transientes com pulso de 90° com duração de 11,5  $\mu$ s, tempo de espera de 10 s, tempo de aquisição de 1,2 s e janela espectral de 25 KHz. O desacoplamento foi usado somente durante a aquisição. Os espectros foram filtrados com função de decaimento exponencial (Ib=5). O DSS (2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato) foi usado como padrão de deslocamento químico.

## Resultados e discussão

A perda de massa pela transpiração ocorre principalmente pela transferência da água existente na casca e no interior do fruto. Quando revestido, o filme pode bloquear os estômatos e cutícula, influenciando nas trocas gasosas. Menores taxas de transpiração preservam a temperatura superficial, e atua na redução da taxa de respiração e consequentemente da senescência (NETO et. al 1999).

As pêras revestidas com filme de 4% zeínas com adições de 0,25% AO apresentaram menor perda de massa, sendo os melhores resultados de revestimento conseguido. Frutas não revestidas e revestidas com 1,0% AO, por sua vez, comportaram distintamente apresentando maiores valores para perda de massa (Fig. 1).

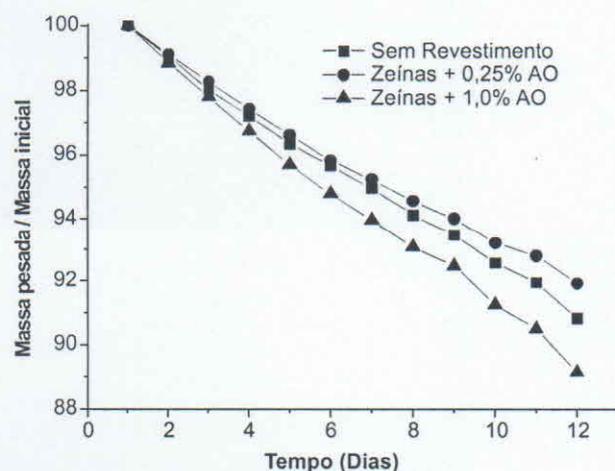


Fig. 1. Gráfico da perda de massa em peras em função da massa perdida e do tempo.

De acordo com a literatura tal comportamento pode ser devido à presença das moléculas de plastificante nas cadeias poliméricas que provocam a reorientação dos grupos polares na direção da interface e também uma redução do número de resíduos de aminoácidos exposto ao solvente, deixando assim os filmes com caráter hidrofílico (MUTHUSELVI e DHATHATHREYAN, 2006).

A espectroscopia por RMN de <sup>13</sup>C é uma ferramenta muito útil para a elucidação dos componentes dos sacarídeos e da conformação dos carboidratos. A Figura 2 mostra o espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas.

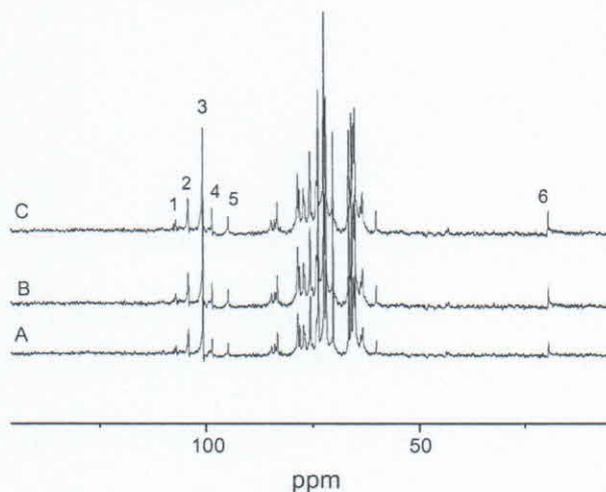


Fig. 2. Espectro por RMN de <sup>13</sup>C de: A pera com revestimento a base de zeínas e 1% de ácido oléico; B pera se revestimento e C pera com revestimento a base de zeínas e com 0,25% de ácido oléico. Os espectros de foram obtidos no dia 35 após revestimento.

Na Tabela 1 são mostrados os principais deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e as atribuições do espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas mostradas na Figura 2. As nomenclaturas das atribuições são:  $\beta$ -Fru-C<sub>2</sub>\* corresponde ao carbono 2 da frutose presente na molécula de sacarose,  $\alpha$ -Fru-C<sub>2</sub> e  $\beta$ -Fru-C<sub>2</sub> correspondem ao carbono 2 da molécula de frutose na conformação  $\alpha$  e  $\beta$  respectivamente,  $\alpha$ -Gli-C<sub>1</sub> e  $\beta$ -Gli-C<sub>1</sub> correspondem ao carbono 2 da molécula de glicose na conformação  $\alpha$  e  $\beta$  respectivamente e Rha-C<sub>6</sub> pode ser atribuído ao carbono 6 da molécula de ramnose (BUDD, 2003; RONDEAU-MOURO et. al., 2002).

Tabela 1. Principais deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e atribuições do espectro por RMN de <sup>13</sup>C das peras analisadas.

Número do pico	$\delta$ (ppm)	Atribuição
1	107,1	$\beta$ -Fru-C <sub>2</sub> *
2	104,3	$\alpha$ -Fru-C <sub>2</sub>
3	100,8	$\beta$ -Fru-C <sub>2</sub>
4	98,6	$\beta$ -Gli-C <sub>1</sub>
5	94,8	$\alpha$ -Gli-C <sub>1</sub>
6	19,5	Rha-C <sub>6</sub>

Durante a respiração do fruto, amido é hidrolisado e convertido a glicose que, em sua maior parte, é utilizada no processo respiratório. Na Tabela

2, são apresentadas as intensidades dos sinais de glicose para as amostras analisadas. Pode-se notar claramente que a amostra que mais consumiu glicose foi a pêra revestida com zeínas e AO 1%, indicando maior taxa de respiração. Este resultado também concorda com a maior perda de massa para tal amostra (Fig. 1).

A frutose também é utilizada na respiração, no entanto, parte dela é acumulada no vacúolo, região onde não ocorre processo de respiração. Apenas frutose contida no citoplasma participa do processo de respiração. Isto sempre se reflete em picos de frutose mais intensos (picos 1, 2 e 3) nos espectros de  $^{13}\text{C}$  se comparados aos picos menos intensos da glicose (picos 4 e 5) que é consumida durante todo o processo respiratório e não se acumula nos vacúolos. A sacarose fica a maior parte do tempo acumulada nos vacúolos, desse modo sua concentração permanece praticamente a mesma até que a acidez decaia a um nível crítico mudando a permeabilidade da membrana, neste momento a sacarose e a frutose acumuladas entram no citoplasma e começam a participar do processo de respiração (BIALE, 1950). Isto é condizente com o aumento da relação sacarose/frutose com o tempo, mostrando uma redução de sacarose no processo de amadurecimento.

**Tabela 2.** Intensidade dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  da glicose e razão sacarose/frutose para as amostras indicadas.

Amostra	Intensidade sinais de glicose	Razão sacarose / frutose
Pêra sem revestimento	1	0,38
Pêra Zeína + 0,25% AO	1,8	0,40
Pêra Zeína + 1,0% AO	0,57	0,27

Os valores mais baixos da relação sacarose/frutose juntamente com os valores mais baixos das intensidades de todos os sinais de  $^{13}\text{C}$  nas peras revestidas a base de zeínas e com 1,0% de ácido oléico indicam que o processo de respiração foi maior, uma vez que a quantidade de carboidratos consumida foi maior. Isto se deve ao fato da maior permeabilidade gasosa do filme. Nas frutas sem revestimento e com revestimento a base de zeínas com 0,25% de ácido oléico a relação sacarose/frutose são praticamente iguais, isto pode ser explicado devido à parte da frutose não ser utilizada na respiração e, portanto se acumula, refletindo em razões sacarose/frutose parecidas para essas duas amostra. Isto, pois estas últimas têm diferenças menos pronunciadas de consumo de glicose e perda de massa se comparadas com a amostra revestida com zeínas e 1% de AO (Tabela 2 e Fig. 1).

## Conclusões

Os revestimentos comestíveis à base de zeínas com menor porcentagem de plastificante, 0,25%AO, reduziram as perdas de massa das frutas quando comparados a frutas sem revestimento e frutas revestidas com formulações contendo plastificantes acima deste teor. Com as análises RMN foi possível se avaliar o alto consumo de glicose com o tempo, bem como o acúmulo de frutose. O alto consumo de glicose, assim como a perda de massa, indicou o pior desempenho para o filme contendo 1% de AO e o melhor com 0,25% do mesmo.

## Agradecimentos

EMBRAPA.

## Referências

- ASSIS, O. B. G.; FORATO, L. A.; BRITTO, D. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 22, p. 99-106, 2008.
- BIALE, J. B. Postharvest physiology and biochemistry of fruits. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 1, p. 183-206, 1950.
- BUBB, W. A. NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. **Concepts in Magnetic Resonance**, Hoboken, v. 19A, n. 1, p. 1-19, 2003.
- MAIA, L. H.; PORTE, A.; SOUZA, V. F. Filmes comestíveis: aspectos gerais, propriedades de barreira a umidade e o oxigênio. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 1, 2000.
- MUTHUSELVI, L.; DHATHATHREYAN, A. Contact angle hysteresis of liquid drops as means to measure adhesive energy of zein on solid substrates. **Pramana J. of Physics**, Bangalore, v. 66, n.3, p. 563-574, 2006.
- NETO, L. G.; CRISTO, A. S.; CHOUDHURY, M. M. Conservação pós-colheita de frutos de goiabeira, variedade paluma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 1, 1999.
- RONDEAU-MOURO, C.; CREPEAU, M.-J.; LAHAYE, M. Application of CP-MAS and liquid-like solid-state NMR experiments for ... **International Journal of Biological Macromolecules**, Guildford, v. 31, p. 235-244, 2002.