

ISSN 2175-8395

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

**REDE DE NANOTECNOLOGIA APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

**ANAIS DO VI WORKSHOP – 2012**

Maria Alice Martins  
Morsyleide de Freitas Rosa  
Men de Sá Moreira de Souza Filho  
Nicodemos Moreira dos Santos Junior  
Odílio Benedito Garrido de Assis  
Caue Ribeiro  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso

**Editores**

Fortaleza, CE  
2012

## Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

### **Embrapa Instrumentação**

Rua XV de Novembro, 1452,  
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)

### **Embrapa Agroindústria Tropical**

Rua Dra. Sara Mesquita, 2270,  
CEP 60511-110 – Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
<http://www.cnpat.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnpat.embrapa.br](mailto:sac@cnpat.embrapa.br)

### **Comitê de Publicações da Embrapa Instrumentação**

Presidente: João de Mendonça Naime  
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori, Washington Luiz de Barros Melo, Sandra Protter Gouvêa, Valéria de Fátima Cardoso.  
Membro suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Júnior

### **Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical**

Presidente: Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
Secretário-Executivo: Marcos Antonio Nakayama  
Membros: Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Capa: Mônica Ferreira Laurito, Pedro Hernandes Campaner

Imagens da capa:

Imagem de MEV-FEG de Titanato de potássio – Henrique Aparecido de Jesus Loures Mourão, Viviane Soares

Imagem de MEV de Eletrodeposição de cobre – Luiza Maria da Silva Nunes, Viviane Soares

Imagem de MEV de Colmo do sorgo – Fabrício Heitor Martelli, Bianca Lovezutti Gomes, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de HPMC com nanopartícula de quitosana – Marcos Vinicius Lorevice, Márcia Regina de Moura Aouada, Viviane Soares

Imagem de MEV-FEG de Vanadato de sódio – Waldir Avansi Junior

Imagem de MEV de Fibra de pupunha – Maria Alice Martins, Viviane Soares

1ª edição

1ª impressão (2012): tiragem 300

#### **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**

---

Anais do VI Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio 2012 – São Carlos: Embrapa Instrumentação; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012.

Irregular

ISSN: 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Martins, Maria Alice. II. Rosa. Morsyleide de Freitas. III. Souza Filho, Men de Sá Moreira de. IV. Santos Junior, Nicodemos Moreira dos. V. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VI. Ribeiro, Caue. VII. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. VIII. Embrapa Instrumentação. IX. Embrapa Agroindústria Tropical.



---

## ANÁLISE DAS KAFIRINAS DO SORGO SACARINO POR RMN DE $^{13}\text{C}$ NO ESTADO SÓLIDO

---

Juliana Aparecida Scramin<sup>1,2</sup>, Rubens Bernardes Filho<sup>2</sup>, José Avelino dos Santos Rodrigues<sup>3</sup>, Luiz Alberto Colnago<sup>2</sup>, Lucimara Aparecida Forato<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Carlos – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação

<sup>3</sup> Embrapa Milho e Sorgo  
email: ju.biotec08@gmail.com

---

**Projeto Componente:** PC3 e PC6

**Plano de Ação:** 1 e 2

---

### Resumo

As kafirinas, prolaminas do sorgo, são proteínas altamente hidrofóbicas com capacidade de formação filmes, os quais podem ser destinados para revestimentos de frutas e outros alimentos. Neste trabalho, essas proteínas foram extraídas dos grãos de sorgo sacarino BR501 e foram caracterizadas pela eletroforese em gel contendo dodecil-sulfato de sódio (SDS/PAGE) como constituídas pelas frações  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\beta$ . A análise dessas frações pela ressonância magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido revelou que as estruturas secundárias predominantes são do tipo  $\alpha$ -hélice, com importante contribuição de folhas  $\beta$ .

**Palavras-chave:** kafirinas, filmes comestíveis, sorgo sacarino, estrutura secundária de proteínas, RMN.

---

### Introdução

---

As kafirinas são proteínas depositadas no endosperma dos grãos de sorgo e são altamente hidrofóbicas, sendo, portanto um material de interesse para obtenção de filmes para revestimento de frutas e outros alimentos, por serem atóxicas e obtidas de fontes renováveis.

Essas proteínas representam de 68 a 70% das proteínas totais do sorgo, e, pela SDS/PAGE podem ser classificadas em frações protéicas denominadas de kafirinas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ . A fração  $\alpha$  representa de 80 a 84% das kafirinas totais e apresentam duas bandas no gel de poli(acrilamida) contendo dodecil sulfato de sódio (SDS/PAGE) com massas relativas ( $M_r$ ) de 23 e 25 KDa. As kafirinas  $\gamma$  apresentam duas bandas de  $M_r$  28 KDa e 49 KDa, representam até 20% das kafirinas totais. As kafirinas  $\beta$  representam até 10% das kafirinas totais e apresentam  $M_r$  de 15, 17 e 18 KDa. As kafirinas  $\delta$  representam as frações de  $M_r$  em torno de 14 e 21KDa e representam apenas traços das kafirinas totais [1].

Estudos estruturais sobre as kafirinas são escassos e em geral elas têm sido comparadas às zeínas (proteínas de reserva do milho) em sua conformação. Como as zeínas, as kafirinas são proteínas altamente hidrofóbicas capazes de formar uma barreira contra umidade e oxigênio aumentando o tempo de vida dos frutos. Vários estudos indicam que as propriedades de estruturas secundárias afetam as propriedades mecânicas de filmes a base de kafirinas. Assim, para melhor compreensão das propriedades de formação de filme dessas proteínas, as kafirinas foram extraídas do sorgo sacarino e as mesmas foram caracterizadas pela SDS/PAGE e analisadas quanto às suas estruturas secundárias pela espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido.

---

### Materiais e métodos

---

Os grãos de sorgo sacarino BR501 foram moídos e então extração do óleo foi realizada extrator soxlet, com hexano, por 24 horas. A seguir a massa residual foi agitada com solução aquosa NaCl a 0,5mol/L. A seguir a massa residual foi agitada em solução de etanol a 70% por 24 horas.

O etanol foi evaporado em evaporador rotativo e as kafirinas então precipitadas e liofilizadas. As kafirinas foram caracterizadas pela SDS/PAGE com gel de 15%.

O espectrômetro de RMN utilizado foi um Varian, modelo Inova 400, campo de 9,4 T. Foram obtidos espectros de  $^{13}\text{C}$  em estado sólido com a técnica de polarização cruzada, rotação da amostra no ângulo mágico e desacoplamento de alta potência, conhecida como CPMAS. Usou-se um pulso de  $\pi/2$  de 4  $\mu\text{s}$ , tempo de contato de 1ms, 1024 pontos, tempo de repetição de 3s, desacoplador com banda de 60 KHz e janela espectral de 40 KHz. As amostras foram empacotadas em rotores de zircônia de 5 mm e submetidas a uma rotação no ângulo mágico de 7 KHz. Foram obtidos 1000 transientes e os espectros foram filtrados com função de decaimento exponencial ( $lb = 20$ ).

## Resultados e discussão

Com a SDS/PAGE caracterizou-se as kafirinas extraídas, as bandas de maior concentração foram referentes às frações  $\alpha$  e  $\gamma$  com a presença de traços da fração  $\beta$ . O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido (Fig.1) apresenta sinais típicos de proteína de 172 a 176 ppm atribuído à carbonila, os sinais das cadeias laterais de aminoácidos aromáticos de 100 a 140 ppm e os carbonos  $\alpha$  de 15 a 45 ppm. Os sinais em 130 e 30 ppm podem ser atribuídos à presença de ácidos graxos livres nessas proteínas, assim como nas zeínas [2].

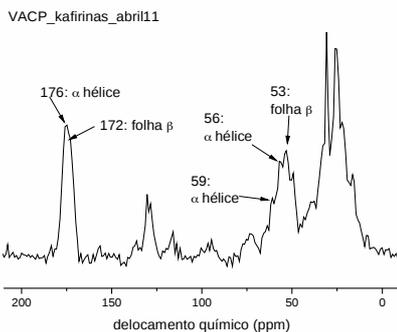


Fig.1: Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido, CPMAS, para as kafirinas.

Na Fig.1 os sinais de 185 a 165 ppm podem ser usados para analisar as estruturas secundárias das kafirinas. A carbonila apresenta um sinal principal em 176 ppm e um ombro em 172 ppm que

são atribuídos à presença das estruturas  $\alpha$ -hélice e folhas  $\beta$ , respectivamente [3].

O sinal da carbonila é largo e portanto foi calculada sua segunda derivada e o ajuste do sinal (Fig.2) cujas áreas dos sinais em 176 e 172 ppm respectivamente, indicaram que as kafirinas apresentam 57% de estruturas do tipo  $\alpha$ -hélice 43% de folhas  $\beta$ . Embora estes resultados estejam de acordo com a literatura de que as kafirinas tem estrutura predominante do tipo folhas  $\beta$ , tal quantificação aqui apresentada não é definitiva pois os sinais de RMN não levam em consideração as estruturas secundárias menos repetitivas que são as voltas e outras estruturas. Ainda assim, além do sinal da carbonila, a presença das estruturas do tipo  $\alpha$ -hélice e folhas- $\beta$  também são confirmadas pelos sinais do carbono- $\alpha$ , onde os sinais em 56 e 59 ppm são típicos de  $\alpha$ -hélice e 53 ppm de folhas- $\beta$ .

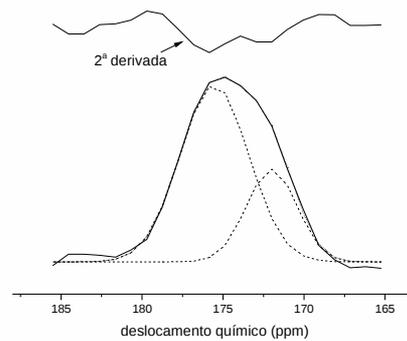


Fig.2: Expansão do espectro da Fig.1 na região da carbonila (linha cheia), o ajuste do sinal (pontilhado), as áreas individuais dos picos calculadas (tracejadas) e a segunda derivada (acima do espectro).

## Conclusões

Com os resultados aqui apresentados pode-se concluir que as kafirinas do sorgo sacarino BR501 extraídas com etanol 70% são constituídas por kafirinas  $\alpha$ ,  $\gamma$  e  $\beta$ , sendo as duas primeiras as predominantes. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no estado sólido destas proteínas é típico de estruturas predominantes do tipo  $\alpha$ -hélice com contribuição importante do tipo folhas  $\beta$ , considerando-se que prolaminas ricas em  $\alpha$ -hélice proporcionam filmes com propriedades mecânicas mais adequadas do que quando pobres neste tipo de estrutura, concluindo-se que as kafirinas extraídas pelo presente método tem alto potencial para a obtenção de filmes flexíveis.

---

## Agradecimentos

---

CAPES, EMBRAPA, REDE AGRONANO, FINEP e CNPq.

---

## Referências

---

1. P.S. Belton, I. Delgadillo, N.G. Halford, P.R. Shewry, *J. Cereal Sci.* 2006, 44, 272.
  2. T.C. Bicudo, L.A. Forato, L.A.R. Batista, L.A. Colnago, *Anal. Biol. Chem.* 2005, 383, 291.
  3. K.G. Duodu, H. Tang, A. Grant, N. Wellner, P.S. Belton, R.N. Taylor, *J. Cereal Sci.* 2001, 33, 261.
-