

DETERMINAÇÃO DE CARGAS NEGATIVAS PRESENTES NA ZEÍNA BRUTA E SUA PUREZA

Maria Rafaela Lopes dos Santos & Gabriela de Vita

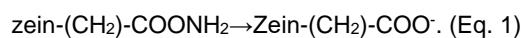
Sergio A. Yoshioka

Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo

e-mail: mariarafaelalopes@usp.br

1-) Objetivos

A zeína é uma proteína da classe das prolaminas extraída dos grãos de milho que representa cerca de 8% nos grãos. A zeína consiste em grandes quantidades de aminoácidos hidrofóbicos (Leu e Pro) por isso que é insolúvel em água, mas solúvel em meio hidroetanolíco (70 a 95% EtOH). e grande quantidade no CGM60 (farelo de glúten de milho com 60% de proteínas totais CGM ~20%, Como a extração do amido de milho é realizado acima de 100 °C na presença de SO₂, pode ocorrer desaminação dos grupos laterais da glutamina (Gln, com cerca de 40 grupos amidas) e asparagina (Asn com 44 grupos amidas na zeína neutra), produzindo a zeína aniônica, segundo os autores deste trabalho. Essa desamidação (Eq 1) faz com que a zeína tenha um comportamento diferente da zeína neutra, o que acarreta em outras aplicações. Uma forma de determinar essa desamidação é a quantificação de grupos carboxílicos por método de titulação colorimétrica após a diálise.



2-) Métodos e Procedimentos

a. Percentual de proteínas totais por método de Kjeldahl

Em tubos de diálise, foi colocado aproximadamente 0,5000 g de cada tipo de

zeína e, logo após, colocamos o catalisador com a mesma quantia que utilizamos de cada zeína. Segundo o método de Kjeldahl, foi realizada digestão sulfúrica à 350°C para a obtenção do sulfato de amônio em meio ácido. Após digestão, ajustou-se o tubo no destilador de nitrogênio (Fig.1), liberou-se o NaOH (50%) do reservatório do destilador no tubo lentamente até ficar amarronzada. Em aproximadamente 5 minutos, coletou-se a amônia condensada no erlenmeyer, contendo 20 mL de ácido bórico (4%, m/v) até que complete 100 mL.



Figura 1: Destilador de nitrogênio

Em seguida foi realizado as titulações com HCl_{padrão} adicionando duas gotas de fenolfalteína na solução do erlenmeyer até a obtenção de uma cor rosada. Obteve-se volume de HCl_{padrão} (V_{HCl}) e que foi utilizado para calcular as proteínas (percentual) totais na fórmula abaixo:

$$\% \text{ Proteínas totais} = (1,4 \cdot V_{HCl} \cdot [HCl] \cdot 6,5) / m$$

Onde: m é a massa da amostra e [HCl] é a concentração do HCl padronizado.

b) Determinação de cargas negativas na zeína por titulação da zeína dialisada

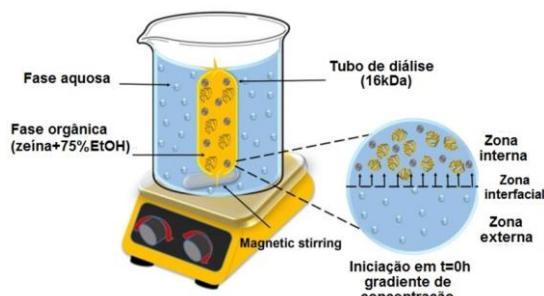


Figura 2: Esquema de montagem do sistema de diálise de anti solvente.

Inicialmente, 25 cm de membranas de diálise foram lavados 2 vezes em 300mL de água desionizada por 30 minutos a temperatura ambiente cada depois por etanol 75%. Em seguida, 100 mL de extrato de zeína dissolvida em EtOH a 75% foram colocados no tubo de diálise pré-tratado anteriormente e selado em ambos os lados para evitar derramamento. Em seguida, o tubo de diálise com zeína bruta dissolvida em EtOH(75%) foi colocado em um frasco contendo 300 mL de água desionizada como antisolvante por 30 minutos. O sistema de diálise (Fig.2) foi deixado em agitação magnética e contínua por mínimo 12h a 25°C. O pó de zeína da Aldrich foi usado como controle para comparar a cor e rendimento da extração

Resultados

a. Percentual de proteínas totais do método Kjeldahl

Segundo os experimentos preliminares, os resultados de percentuais, de proteínas totais mostram que as zeínas brutas obtidas do farelo de glúten de milho da ingredion foram cerca de 82% (m/m), igualando-se com a da Aldrich, a qual não fornece o grau de pureza (Tabela 1).

b. Determinação de cargas negativas na zeína por titulação da zeína dialisada

Segundo a tabela 2 abaixo, os dados mostram que a zeína Aldrich não é totalmente neutra (65,9 cargas negativas), enquanto que as zeínas da Ingredion e da Indemil possuem cerca de 85,3 e 89,7, respectivamente de cargas negativas, porém necessitam de mais titulações calorimétricas.

Tabela 1: Comparação de percentual de proteínas totais e números de cargas negativas das zeínas

AMOSTRA	%	Cargas negativas
Zeína Aldrich	85,00	65,9
ZIg	85,3	85,3
Zeína Purificada	95,00	89,7
ZB (milho branco)	74,37	7

A tabela 1 mostra que a zeína Aldrich não é neutra, possui a cerca de 66 cargas negativas, mostrando que durante a sua extração essa zeína sofreu algum tratamento térmico ou ácido forte para sofrer a desaminação. O mesmo ocorre com a zeína da Ingridion e a zeína purificada Ingridion, com tratamento térmico e SO₂. Como a zeína do milho branco não sofreu nenhum tratamento térmico e químico, porque ela é neutra.

Conclusões

Apesar de serem dados preliminares, os resultados são coerentes àqueles ao padrão-ouro gelatinoso de proteínas totais. Em relação às cargas totais, o padrão-ouro é a zeína do milho branco, já que não sofre tratamento químico nenhum.

Agradecimento

A Ingredion pelo CGM fornecido e ao Lab de Ensino pelo empréstimo do destilador de N e do digestor sulfúrico.

Referências

1. BET, M.R.; GOISSIS, G.; LACERDA, C.A. Characterization of polyanionic collagen prepared by selective hydrolysis of asparagines and glutamine carboxyamide side chains. Biomacromolecules,v.2(4), p.1074-9, 2001.
2. SILVA, D. J., QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos. Métodos químicos e biológicos.** 3^a edição. Editora UFV. 235p. 2009.
3. Zein Protein Market 2023-2028 | Size, Share, Price, Demand, Report. <https://www.expertmarketresearch.com/reports/zein-protein-market>, acesso em 28/11/2022.