

**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

I. 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



---

## CARACTERIZAÇÃO POR $^1\text{H}$ RMN DA OXIDAÇÃO DE NOZES MACADÂMIA REVESTIDAS COM COBERTURA PROTEICA HIDROFÓBICA

---

Marina Colzato, Juliana A. Scramin, Lucimara A. Forato, Luis A. Colnago, Odílio B.G. Assis\*

Embrapa Instrumentação Agropecuária, 13560-970, São Carlos/SP - \*odilio@cnpdia.embrapa.br

Projeto Componente: PC3

Plano de Ação: 01.05.1.01.03.03

---

### Resumo

A eficiência de coberturas hidrofóbicas a base de zeínas como barreira à oxidação de nozes macadâmia foi estudado por  $^1\text{H}$  RMN de alta resolução. Formulações de zeínas na concentração de 4,0% em peso e ácido oléico (AO) como plastificante nas proporções de 0,25; 0,50 e 1,00% foram avaliadas. A oxidação das amostras foi acelerada fazendo uso de um reator a 60°C. Óleos extraídos anterior ao revestimento e após 10 e 30 dias de ensaios foram varridos por RMN. Os resultados indicam que adições de plastificantes acima de 0,50% não são eficientes, podendo alterar o caráter hidrofóbico original da cobertura protéica.

**Palavras-chave:** filmes comestíveis, zeínas, coberturas hidrofóbicas, oxidação de óleos.

---

### Introdução

A macadâmia (*Macadamia integrifolia*) é uma árvore originária da Austrália que produz nozes de grande valor comercial. Essas nozes são reconhecidas como ricas fontes de cálcio, potássio e fibras (MOODLEY et al., 2007) e contém ao redor de 75% de óleos em peso. Após sua decorticação as nozes tornam-se susceptíveis à rancidez como resultado da oxidação natural de seus óleos, levando a uma crescente perda de sabor. A temperatura e, principalmente a umidade, também são fatores determinantes da perda de qualidade durante o armazenamento desses produtos.

A taxa de oxidação e o ganho de umidade podem ser ambos reduzidos pelo uso de uma cobertura que limite a permeação de oxigênio e de vapor de água. Para esse propósito revestimentos hidrofóbicos baseados em zeínas parecem indicados para esse fim. As zeínas, quando adicionadas a plastificantes, apresentam razoável habilidade em

formar filmes, gerando uma membrana semipermeável reduzindo o transporte de umidade, oxigênio,  $\text{CO}_2$  e demais componentes voláteis. As zeínas já têm sido empregadas como coberturas protetoras em frutos (BAI et al., 2003) e foi sugerida (ANDRES, 1984) como possível material para a redução da oxidação em nozes.

O objetivo da presente pesquisa é o de avaliar o caráter protetor de revestimentos finos a base de zeínas na evolução da oxidação de macadâmias fazendo uso de Ressonância Magnética Nuclear ( $^1\text{H}$ NMR) de alta resolução.

### Materiais e métodos

As zeínas empregadas neste trabalho foram extraídas do glúten de milho (CGM), gentilmente fornecidas pela Corn Products. O procedimento de extração foi o desenvolvido pela Embrapa Instrumentação Agropecuária (FORATO et al., 2003).

Para a preparação das formulações de coberturas, as proteínas foram solubilizadas em solução aquosa de etanol a 70%. As soluções foram homogeneizadas e ácido oléico (AO) separadamente adicionado nas proporções de 0,25; 0,50 e 1,00 % em peso.

As coberturas foram obtidas por imersão das nozes diretamente nas soluções por um período aproximado de 5 seg. Uma amostragem de 20 exemplares em cada condição foi avaliada. Amostras revestidas e não-revestidas foram submetidas à oxidação acelerada em um reator a fluxo constante de O<sub>2</sub> em 3 atm e em banho-maria de 60 °C.

Ressonância de <sup>1</sup>H RMN de amostras de óleos foram realizadas em espectrômetro Varian INOVA 400MHz usando CDCl<sub>3</sub> como solvente. Tetrametilsilano (TMS) foi empregado como padrão interno.

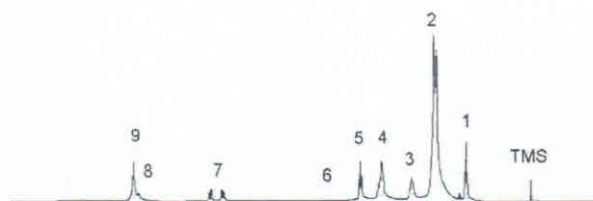
## Resultados e discussão

Com a evaporação do etanol os filmes são formadas quase imediatamente e resultam em coberturas imperceptíveis a olho nu. Na Tabela 1 temos a identificação dos principais sinais encontrados no espectro de <sup>1</sup>H RMN de óleos comestíveis, de acordo com Guillén e Ruiz, (2001) e apresentados no espectro da Figura 1. Os sinais obtidos por NMR correspondem principalmente a grupos de ácido oléico (AO) que para macadâmia corresponde a quase 70% de todos os ácidos graxos (PRESTES et al., 2007).

**Tabela 1.** Sinais identificados nas varreduras de <sup>1</sup>H RMN de óleos de macadâmia.

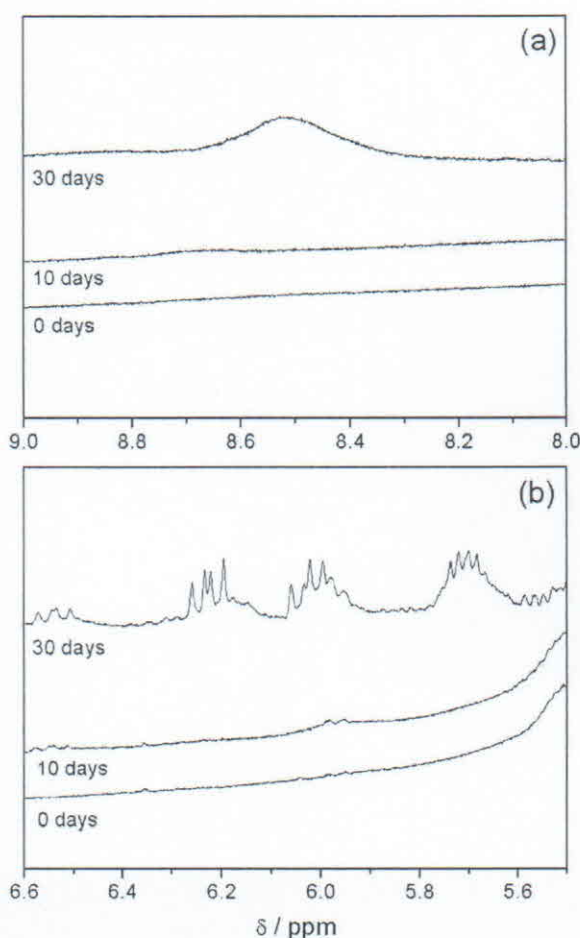
Identificacao	Sinal (ppm)	Grupo Funcional
1	0,90-0,80	-CH <sub>3</sub>
2	1,40-1,15	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -
3	1,70-1,50	-OCO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
4	2,10-1,90	-CH <sub>2</sub> -CH=CH-
5	2,35-2,20	-OCO-CH <sub>2</sub> -
6	2,80-2,70	=HC-CH <sub>2</sub> -CH=
7	4,32-4,10	-CH <sub>2</sub> OCOR-
8	5,26-5,20	-CHOCOR-
9	5,40-5,26	-CH=CH-

A literatura indica que monohidroperóxidos e dienos conjugados são os principais compostos resultantes da reação de oxidação de gorduras insaturadas (GRAY, 1987) e tem ressonâncias nas regiões de 8,5 e 6,0 ppm respectivamente (GUILLÉN e RUIZ, 2001), sendo assim esta região foi explorada para identificação da formação de produtos de oxidação.



**Fig. 1.** Espectro de <sup>1</sup>H RMN de óleo de macadâmia. Picos identificados na Tabela 1.

Para as amostras padrões de óleos sinais ao redor de 6.0 ppm tornam-se evidentes após 10 dias de oxidação, correspondentes à dienos conjugados e após 30 dias uma clara banda de monohidroperóxido é formada (Fig. 2).



**Fig. 2.** Bandas de oxidação forçada em óleo referência: (a) monohidroperóxido e (b) dienos conjugados, obtidos por RMN.

Para macadâmias não revestidas fica claro a ocorrência da formação de dienos, mas não são constatados produtos de monodroxoperóxidos. Com respeito aos ensaios realizados nas nozes revestidas, foram observados comportamentos distintos: na formulação zeínas com 0.25% de AO temos uma boa resposta sem a ocorrência de nenhum produto para

medidas em 15 dias. Após 30 dias bandas de dienos são identificadas. Este período é reduzido com o aumento da concentração de plastificante na formulação. Não apenas o período, mas a intensidade dos picos torna-se mais intensa com a elevação do teor de plastificante.

Este resultado, de certa forma inesperado, pode ser entendido em termos da interação entre plastificante e moléculas de proteínas, segundo argumentos apresentados por WANG e PADUA, (2006). Em adição, em estudo por <sup>13</sup>C NMR realizado por FORATO et al., 2004, foi proposto que uma interação eletrostática ocorre preferencialmente entre o grupo carboxyl das moléculas de AO e os resíduos de aminoácido argininas na estrutura das zeínas, o que leva a alteração na distribuição dos radicais hidrofílicos no filme. Em outras palavras, a presença de AO em certa proporção gerará características hidrofílicas ao filme, elevando a absorção de água e reduzindo sua barreira à vapores.

---

### Conclusões

---

O uso de zeínas associados a ácido oléico como plastificante para as formulações de coberturas comestíveis sobre noz macadâmias pode gerar barreiras eficientes contra a rancidez oxidativa durante o armazenamento. Filmes com concentrações de 4% (wt) de zeínas e baixas adições de AO atuam satisfatoriamente na inibição da geração de produtos de oxidação, principalmente dienos e monohidroperóxidos. Altas concentrações de plastificantes contudo, levam o filme a ter um caráter hidrofílico, reduzindo ou até mesmo deteriorando as características protetoras. Efeito este que pode ser entendido considerando as interações entre as moléculas de zeínas de AO.

---

### Agradecimentos

---

CNPq, FINEP/MCT, EMBRAPA.

---

### Referências

---

- ANDRES, C. **Food Process**, [S. l.], v. 45, p. 48-49, 1984.
- BAI, J.; ALLEYNE, V.; HAGENMAIER, R. D.; MATTHEIS, J. P.; BALDWIN, E. A. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 28, p. 259-268, 2003.
- FORATO, L. A.; BICUDO, T. C.; COLNAGO, L. A. **Biopolymers (Biospectroscopy)**, New York, v. 72, p. 421-426, 2003.

FORATO, L. A.; YUSHMANOV, V. E.; COLNAGO, L. A. **Biochemistry**, [S. l.], v. 43, p. 7121-7126, 2004.

GRAY, J. I. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, [S. l.], v. 55, p. 539-546, 1978.

GUILLEN, M. D. ; RUIZ, A. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 12, p. 328338, 2001.

MOODLEY, R.; KINDNESS, A.; JONNALAGADDA, S. B. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, New York, v. 42, p. 20972104, 2007.

PRESTES, R. A.; COLNAGO, L. A.; FORATO, L. A.; VIZZOTTO, L.; NOVOTNY, E. H.; CARRILHO, E. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 596, p. 325329, 2007.

WANG, Y.; PADUA, G. W. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 83, p. 331-334, 2006.