

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS MATEMÁTICAS E DA NATUREZA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ORGÂNICA

INVESTIGAÇÃO DE VOLÁTEIS E
PRECURSORES DE VOLÁTEIS
GLICOSILADOS DA JACA (*Artocarpus
heterophyllus* Lam.) e DO MURUCI (*Byrsonima
crassifolia* Lam. Rich)

SANDRA REGINA GOMES FRAGA

2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

AGRADECIMENTOS

Aos profs Warner Bruce Kover e Cláudia Moraes de Resende, pela orientação e incentivo, no decorrer deste trabalho.

Ao Paulo, Beatriz e Julia pela enorme paciência e compreensão nos momentos ausentes do “ratuna matata” “ratuna matata”...

A todos os amigos que contribuíram direta ou indiretamente para a elaboração deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A Deus por tudo que sou, pelos conhecimentos adquiridos e pelos amigos Rose, Bia, Silvia, Josélia, Ricardo, Flavio, Marilza, Zé, Barbara, Carol, Patrícia, André, Nubia, Michele, Andréa, Lilians, Luis dos muitos cafezinhos... MUITOS AMIGOS conquistados.....QUE BOM !!!

FICHA CATALOGRÁFICA

Fraga, Sandra Regina Gomes

Investigação dos voláteis e precursores de voláteis glicosilados da Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) e do Muruci (*Byrsonima crassifolia* Lam. Rich). Programa de Pós-graduação em Química Orgânica, Instituto de Química, C.C.M.N., UFRJ, 2005.

Tese: Doutor em Ciências (Química Orgânica)

1. *Artocarpus heterophyllus* Lam.
2. *Byrsonima crassifolia* Lam. Rich
3. Voláteis
4. Jaca
5. Muruci
6. Análise Sensorial
7. Glicosídeos
8. Clivagem de glicosídeos

I. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, INSTITUTO DE QUÍMICA

Investigação dos voláteis e precursores de voláteis
glicosilados da Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) e do
Muruci (*Byrsonima crassifolia* Lam. Rich)

Sandra Regina Gomes Fraga

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciência.

Orientadores:

Dra. Claudia Moraes de Rezende – IQ, UFRJ.

Dr. Warner Bruce Kover – IQ, UFRJ.

Banca Examinadora:

Dra. Elizabeth Roditi Lachter – IQ, UFRJ

Dra. Selma Gomes Ferreira Leite – EQ, UFRJ.

Dra. Sonia Couri – Embrapa – RJ

Dr. Luis Antonio d'Avila – EQ, UFRJ

Prof. Dr. João F. Cajaíba da Silva- IQ, UFRJ
(suplente)

Prof. Dr. Octávio Augusto C. Antunes- IQ, UFRJ
(suplente)

Paulo, Beatriz e Julia.

RESUMO

As frutas da jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam) e do muruci (*Byrsonima crassifolia* Lam. Rich) possuem gosto e aroma intensos e bastante peculiares, com atributos sensoriais de frutal, azedo, floral e doce, sendo bastante apreciadas no nordeste brasileiro. As técnicas de amostragem de voláteis como extração e destilação simultâneas, “headspace”, extração líquido-líquido e microextração em fase sólida em diferentes fases foram aplicadas a estas frutas e os extratos avaliados olfativamente quanto à semelhança com as frutas naturais, pelo emprego de técnicas olfatométricas descritivas, comparativas e por cromatografia gasosa olfatométrica.

Todos os extratos tiveram sua composição química determinada por espectrometria de massas acoplada a cromatografia gasosa, associada aos cálculos de índice de retenção e à co-injeção de padrões. Para a jaca, o extrato mais representativo do aroma foi proveniente do “headspace” e no caso do muruci, o da destilação e extração simultâneas por 15 minutos. Através da técnica de análise por diluição aromática (AEDA) foi possível determinar as substâncias de impacto do aroma das frutas. Para a jaca, foi encontrado butanoato de etila, 3-metil butanoato de etila, butanoato de butila e 3-metil butanoato de butila e para o muruci, butanoato de etila, hexanoato de etila, 1-octeno-3-ol, ácido butanóico, ácido hexanóico e álcool fenetílico como substâncias mais representativas do aroma. Foi realizada uma coleta das substâncias de impacto no aroma da jaca por cromatografia gasosa com divisor de fluxo que, após avaliação olfativa comparativa, mostrou reproduzir o aroma da fruta natural, evidenciando uma alternativa interessante para a elaboração de uma essência com um número bastante restrito de substâncias químicas, o que vem de encontro com a legislação atual de aditivos em alimentos. Precursores glicosilados de aroma foram investigados através da metodologia padrão preconizada por Gunata, com algumas modificações. O método modificado consistiu em fracionar o extrato das frutas em XAD-2 com vários eluentes, dentre eles: água, diclorometano, acetato de etila e metanol/ água (20/80, 40/60, 60/40, 80/20 até 100% de metanol). As frações em acetato de etila, metanol/ água (20:80) e metanol foram derivatizadas

com BSTFA/Piridina e analisadas por CG-EM. Os glicosídeos do álcool benzílico e álcool fenetílico foram identificados nos extratos de jaca. O perfil cromatográfico pobre observado nas frações de muruci sugeriu um número diminuto de precursores glicosilados de aroma, inviabilizando a análise. A síntese de alguns glicosídeos foi efetuada a fim de guiar o andamento cromatográfico na análise destes precursores, visto a ausência de padrões comerciais, bem como de seus fragmentogramas nas bases de dados usuais dos espectrômetros de massas. Foi empregada a metodologia de Köenigs-Knorr para a obtenção do *O*-β-*D*-*n*-hexil glicosídeo e a de Fischer, para a obtenção de *n*-butil, *n*-octil, *n*-decil e 2-etilhexil *O*-β-*D*-glicosídeos. As frações obtidas das frutas foram hidrolisadas em meio ácido gerando diversas substâncias voláteis, onde foi possível correlacionar as agliconas dos álcoois benzílico e fenetílico detectados na fração glicosídica da jaca. Foi proposta uma metodologia alternativa para a hidrólise de glicosídeos a partir de reações de SN_2 do *O*-β-*D*-*n*-hexil glicosídeo, variando tanto o nucleófilo quanto o solvente, porém os resultados obtidos não foram satisfatórios.

ABSTRACT

Jack fruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) and muruci fruit (*Byrsonima crassifolia* Lam. Rich) are very appreciated in northeast Brazil and have an intense and peculiar aroma with fruity, floral, cheese and sweet odor notes.

The fruits were extracted by steam distillation and extraction (SDE), liquid-liquid extraction, headspace and solid phase microextraction using different microfibers. The extracts were analysed by gas chromatography-mass spectrometry associated to retention indices and co-injection of standards, and were also olfatometric evaluated using descriptive and comparative sensory analyses and gas chromatography-olfatometry.

The extract obtained by headspace proved to be the most similar to the natural aroma of jack fruit. For muruci, 15 min SDE showed to be the best related to the fruit.

By the use of aroma extract dilution analysis (AEDA) on the headspace extract of jack fruit, ethyl butanoate, ethyl 3- methylbutanoate, butyl butanoate and butyl 3-methyl butanoate were characterized as impact aroma compounds. For muruci, the impact aroma compounds were: ethyl butanoate, ethyl hexanoate, 1-octen-3-ol, butanoic acid, hexanoic acid and 2-phenylethanol.

Impact aroma compounds in jack fruit were collected by a GC-sniffing apparatus to give a genuine essence of jack fruit by comparative sensory analysis with the natural fruit. This result showed an interesting alternative to create essences with a reduced number of chemical substances, in agreement with actual food legislation.

Glycosides of both fruits were studied by a modified Gunata methodology, using XAD-2 column chromatography and water, dichloromethane, ethyl acetate and methanol/water (20:80, 40:60, 60:40, 80:20 and 100 MeOH) as eluent. Ethyl acetate, methanol/water (20:80) and methanol fractions were derivatized with BSTFA/ pyridine and analysed by GC-MS. Benzyl and phenetyl glycosides were observed on the pulp of jack fruit. Muruci showed a very poor and not determined composition of glycosides.

Two methodologies were used to synthesize glycosides: *n*-butyl, ethylhexyl, *n*-octyl and *n*-decyl by Fischer acidic etherification and *O*- β -D-*n*-hexil glycoside by Koenigs-Knorr. These standards were synthesized to help the chromatographic study associated to fragmentation of silanized glycosides, and also to investigate the liberation of the aglicon of *O*- β -D-*n*-hexil glycoside by a SN₂ reaction with different solvents and nucleophiles. The results obtained on this methodology were not satisfactory.

ABREVIATURAS

ABIFRA – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais, Produtos Químicos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins

AcOEt- Acetato de etila

AEDA- *Aroma Extraction Dilution Analysis*

APCI-MS - *Atmospheric Pressure Chemical Ionisation-MS*

BSTFA - *N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoracetamida*

CAR-PDMS – Carboxen/Polidimetilsiloxano

CGAR - Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

CGO - Cromatografia Gasosa Olfatométrica

CHARM - *Combined Hedonic Response Measurement*

DIC – Detector de Ionização de Chama

EFS – Extração por Fluido Supercrítico

EM – Espectrometria de Massa

FAB – Fast Atom Bombardment

FD - Fator de Diluição

Fig. – Figura

HS - *headspace*

IFF – *International Flavor and Fragrance*

IR - Índice de Retenção

ISO – *International Standards Organization*

IV – Infra vermelho

m/z – razão massa/carga

MEFS – Micro Extração Em Fase Sólida

MeOH- Metanol

MS/MS - *Tandem Mass Spectrometry*

NIF – *Nasal Impact Frequency*

OSME – da palavra grega *σμη* - cheiro

p. – página

PA – Poliacrilato

PDMS – Polidimetilsiloxano

PDMS-DVBZ – Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno

PTR-MS - *Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry*

Py – Piridina

REMPI-TOFMS - *Resonant MultiPhoton Ionisation Time-of-Flight MS*

Ref. - Referência

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SDE – *Simultaneous Distillation and Extraction*

SPME - *Solid Phase Micro Extraction*

th - *Threshold*

TOFMS - *Time of Flight Mass Spectrometry*

T_r - Tempo de Retenção

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
ABREVIATURAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xviii
ÍNDICE DE TABELAS	xxiii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Aspectos Gerais sobre Aromas	1
1.2 Química de Aromas	6
1.2.1 Isolamento e concentração de voláteis	9
1.2.1.1 Headspace	9
1.2.1.1.1 Micro Extração em Fase Sólida/SPME	9
1.2.1.1.2 Purge and Trap	11
1.2.1.2 Destilação	12
1.2.1.2.1 Destilação por arraste a vapor	12
1.2.1.2.2 Destilação e extração simultâneas (SDE)	13
1.2.1.3 Extração	13
1.2.1.3.1 Extração Direta	13

1.2.1.3.2 Extração líquido-líquido (ELL)	13
1.2.1.3.3 Extração por fluido supercrítico (EFS)	13
1.2.2 Métodos Analíticos	14
1.2.2.1 Cromatografia gasosa multidimensional	14
1.2.2.2 Cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM)	14
1.2.2.3 Cromatografia gasosa olfatométrica (CG-O)	15
1.2.3 Análise sensorial	17
1.2.3.1 Métodos Analíticos	19
1.2.3.1.1 Métodos Descritivos	19
1.2.3.1.2 Métodos Comparativos	19
1.2.3.2 Métodos Afetivos	19
1.2.4 Precusores glicosilados de voláteis	21
1.3 As frutas Jaca e Murici	25
1.3.1 Jaca	25
1.3.2 Murici	27
2. OBJETIVOS	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1 Amostragem	30
3.2 Métodos de Extração	31
3.2.1 SDE	31

3.2.2	Análise das sementes do Murici	31
3.2.3	Headspace	31
3.2.4	ELL	32
3.2.5	Micro Extração em Fase Sólida/SPME	32
3.2.6	Isolamento da Fração Glicosídica	33
3.3	Reação de Derivatização	33
3.4	Produtos Sintetizados	34
3.4.1	Obtenção do <i>n</i> -hexil- <i>O</i> - β -(D)-glicopiranosídeo	34
3.4.1.1	Glicose pentaacetilada	34
3.4.1.2.	α -Bromo tetra- <i>O</i> -acetil-(D)-Glicose	34
3.4.1.3.	Síntese do Trifluoracetato de Prata	35
3.4.1.3.1.	Óxido de Prata:	35
3.4.1.3.2.	Trifluor Acetato de Prata	35
3.4.1.4.	<i>n</i> -Hexil- β - <i>O</i> -(D)-glicopiranosídeo peracetilado	35
3.4.1.5.	Desacetilação do <i>n</i> -Hexil- β - <i>O</i> -(D)-glicopiranosídeo peracetilado	36
3.4.2.	α e β -D-glicopiranosídeos pela metodologia de Fischer (<i>n</i> -butanol, etil-hexanol, <i>n</i> -octanol e <i>n</i> -decanol)	36
3.4.2.1.	N-Butil- α e β -D-glicopiranosídeos	36
3.5	Reação de Liberação da Aglicona Volátil	37
3.8.1	Hidrólise Ácida	38
3.7	Hidrólise Enzimática	38

3.8 Condições Cromatográficas	39
3.8.1 Coluna DB-1	39
3.8.2 Coluna DB-WAX	40
3.9 Determinação dos Índices de Retenção	41
3.10 Avaliação Aromática Olfatométrica via CG-Divisor de Fluxo (“sniffing-port”)	42
3.11 Coleta de Picos para Obtenção de Amostra Composta	44
3.12 Procedimento para Técnica de AEDA (Técnica de Diluição d Extrato Aromático)	45
3.13 Avaliação Sensorial – Planejamento e Treinamento de Provadores	45
3.1.3.1. Atributos apresentados aos avaliadores para treinamento	46
3.14 Formulários Aplicados na Avaliação Sensorial	47
3.15 Técnica Descritiva	50
3.16 Técnica Comparativa	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Voláteis	52
4.1.1 Jaca	52
4.1.2 Análise dos voláteis do extrato de Murici (<i>Byrsonima Crassifólia</i>) por diferentes metodologia	80
4.2 Glicosídeos	97
4.2.1 Jaca	108
4.2.2 Muruci	118

4.2.3 Metodologia alternativa proposta para clivagem	121
5. CONCLUSÕES	127
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	129
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	130
8. ANEXOS	141

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representação percentual do Mercado de Aromas (Fonte: Leffingwell & Associates)

Figura 2: Representação percentual do Mercado de Aromas por regiões (Fonte: Leffingwell & Associates)

Figura 3: Principais caminhos de biossíntese de voláteis em frutas (adaptado de Parliment at al. em *Biogeneration of Aromas*)

Figura 4: Aparelhagem adaptada para purge and trap

Figura 5: Roda de aromas - Descritores de Análise Sensorial (adaptado de Rowe, D. em *Perfume & Flavorist*, 27, 2002.)

Figura 6: Representação esquemática do glicosídeo

Figura 7: Representação dos glicosídeos (açúcar e aglicona) encontrado em frutas

Figura 8: Jaca

Figura 9: Muruci

Figura 10: Representação esquemática do detetor olfativo (“Sniffing-port”)

Figura 11: Divisor ou *Splitter*

Figura 12: Sistema umidificador do “sniffing-port”

Figura 13: Sistema para coleta de picos cromatográficos

Figura 14: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por SDE-15 min (DB-1 - 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 15: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por Extração Líquido-Líquido (DB-1 - 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

Figura 16: Fragmentograma relativo a análise de Jaca por "Headspace" (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.1 em materiais e métodos)

Figura17: Aromagrama do extrato de Jaca (AEDA HS-JC X Picos identificados)

Figura 18: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS-PA (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 19: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS -CAR-PDM (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 20: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS -PDMS-DVBZ (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 21: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS -PDMS (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 22: Gráfico esquemático relacionando as classes funcionais encontradas nas diversas amostragens para análise cromatográfica da Jaca.

Figura 23: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por SDE (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições do item 3.8.2 em materiais e métodos)..

Figura 24: Aromagrama do extrato de Muruci (AEDA SDE-MC X Picos identificados)

Figura 25 – Fragmentograma relativo à análise de Muruci por "Headspace" (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos)

Figura 26: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-CAR-PDMS (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 27: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-PDMS-DVBZ (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 28: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-PDMS (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 29: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-PA (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 30: Gráfico esquemático relacionando as classes funcionais encontradas nas diversas amostragens para análise cromatográfica do Muruci.

Figura 31: Fragmentograma relativo ao *n*-butil- α e β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 32: Espectro de massas relativo ao *n*-butil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

Figura 33: Fragmentograma relativo ao *n*-hexil β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 34: Espectro de massas do *n*-hexil β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

Figura 35: Fragmentograma relativo ao etil hexil- α e β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 36: Espectro de massas do etil hexil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

Figura 37: Fragmentograma relativo ao *n*-octil- α e β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 38: Espectro de massas do *n*-octil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

Figura 39: Fragmentograma relativo ao *n*-decil- α e β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 40: Espectro de massas do *n*-decil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

Figura 41: Fragmentos característicos da glicose trimetilsilanizada

Figura 42: Fragmentograma relativo à fração metanólica o extrato de Jaca após cromatografia em XAD-2 (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 43: Fragmentograma relativo à fração em acetato de etila do extrato de Jaca após cromatografia em XAD-2 (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 44: Esquema indicativo dos fragmentos de massas m/z 91 e m/z 105 evidenciados na fração em acetato de etila da Jaca

Figura 45: Fragmentograma relativo à fração em metanol/Água (80/20) do extrato de Jaca após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 46: Fragmentograma relativo à fração em metanol do extrato de Jaca após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 47: Fragmentograma relativo à fração em acetato de etila do extrato de Muruci após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 48: Fragmentograma relativo à fração em metanol do Muruci após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 49: Fragmentograma relativo à glicose pentaacetilada (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 50 : Efeitos orbitalar e eletrônico atuando no efeito anomérico

Figura 51: Fragmentograma relativo ao Bromo-glicose tetraacetila (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Figura 52: Fragmentograma relativo ao n-hexil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 01: Percentual das principais empresas na Indústria de Aromas e Fragrâncias no ano de 2002 (Fonte: Leffingwell & Associates).

Tabela 02: Fragmentos de massas dos glicosídeos sintetizados.

Tabela 03: Análise Sensorial descritiva dos extratos de Jaca obtidos por SDE, “Headspace”, Extração Líquido-Líquido e dos gomos de jaca.

Tabela 04: Análise Sensorial comparativa dos extratos de Jaca obtidos por SDE, “Headspace”, Extração Líquido-Líquido e dos gomos de jaca.

Tabela 05: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por SDE-15 min. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 06: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por Extração Líquido-Líquido . (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 07: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por “Headspace” (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos)

Tabela 08: Análise comparativa das amostras relativas aos extratos: “Headspace” jaca e amostra composta com polpa de jaca

Tabela 09: Substâncias identificadas nas amostragens da Jaca por MEFS nas diversas fibras: PA, PDMS, CAR-PDMS e PDMS-DVBZ. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 10: Percentual das substâncias identificadas por classe funcional da Jaca nas diversas amostragens: MEFS- PDMS, CAR-PDMS, PDMS-DVBZ, PA; Headspace, SDE e ELL.

Tabela 11: Avaliação Sensorial Descritiva dos extratos de Muruci por SDE e “Headspace”

Tabela 12: Avaliação Sensorial Comparativa dos extratos de Muruci SDE e “Headspace” com a polpa de muruci (padrão sensorial)

Tabela 13: Substâncias identificadas no Muruci por SDE-15 min (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme item 3.8.2 em materiais e métodos)

Tabela 14: Substâncias identificadas no Muruci por “Headspace” (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos).

Tabela 15: Substâncias identificadas no Muruci por MEFS nas fibras: PA, PDMS, CAR/PDMS e PDMS/DVBZ (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 16: Percentual das substâncias identificadas por classe funcional do Muruci nas diversas amostras MEFS-PDMS, MEFS-PDMS-DVBZ, MEFS-PA, MEFS-CAR-PDMS, SDE, HS.

Tabela 17: Fragmentos relativos aos açúcares livres e aos glicosídeos sintetizados.

Tabela 18: Tempos de retenção e Índices de retenção dos açúcares livres padrão e glicosídeos sintetizados.

Tabela 19: Fragmentos relativo à fração em acetato de etila do extrato de Jaca após XAD-2.

Tabela 20: Voláteis liberados após a hidrólise ácida da fração em acetato de etila do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 21: Voláteis liberados após a hidrólise enzimática da fração em acetato de etila do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 22: Fragmentos relativos a fração em MeOH/H₂O do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

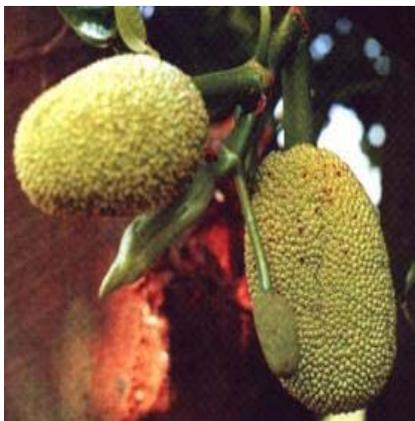
Tabela 23: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em MeOH/H₂O (80/20) do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 24: Fragmentos relativos a fração em MeOH do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 25: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em MeOH do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

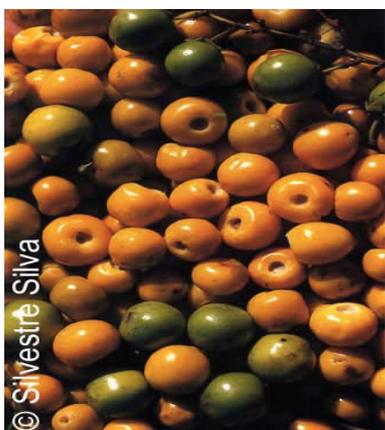
Tabela 26: Fragmentos relativos à fração em acetato de etila do extrato de Muruci após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tabela 27: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em acetato de etila do extrato de Muruci após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)



JACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)

INVESTIGAÇÃO DE VOLÁTEIS E PRECURSORES
DE VOLÁTEIS GLICOSILADOS DA
JACA (*Artocarpus Heterophyllus* Lam.)
E DO MURICI (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)



© Silvestre Silva

MURICI (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)

INTRODUÇÃO

1.1. ASPECTOS GERAIS SOBRE AROMAS

Em busca de uma alimentação mais saudável, os consumidores tem exigido alimentos com alto valor vitamínico e baixo teores de gordura e açúcar. As metodologias empregadas pelas indústrias para redução destes teores acabam por alterar o aroma e o sabor originalmente presentes nestes alimentos¹. Logo, a recomposição das características organolépticas originais se torna fundamental, e tem sido feita basicamente por três processos: supressão, redução ou adição de flavors², que são, na sua grande maioria, substâncias voláteis responsáveis pelas características de gosto e aroma de um produto específico.

Em todo o mundo e principalmente nos países desenvolvidos da Europa e do Continente Americano, a busca por sabores e aromas novos e exóticos vem se tornando um verdadeiro “frenesi”. Cultivos ecológicos, voltados para o desenvolvimento social e provenientes das florestas tropicais são o que há de mais atual no mercado. Neste quadro as regiões Norte e Nordeste do Brasil são verdadeiros mananciais de abastecimento³. Diversas fruteiras com apelo exótico para os mercados externos como o cajá, cupuaçú, bacuri, umbú e umbú-cajá, dentre outras, já se encontram em fase de expansão de plantio e consumo, para os quais já se encontram associadas uma série de pesquisas científicas. Estudos sobre o desenvolvimento e divulgação de tecnologias adequadas a todo processo, desde a escolha genética dos cultivares até a colheita, oferecem alternativas para um aproveitamento mais rentável, através da agregação de valor ao produto, e estimulando a sua produção.

Associado ao consumo das frutas “in-natura”, encontra-se o mercado de aditivos alimentícios e/ou fragrantes. Segundo tendência anunciada pelo setor, a indústria vem se voltando para a produção de cópias idênticas ao que existe na natureza⁴. Para dar conta deste desafio, as empresas têm apresentado constantes desenvolvimentos tecnológicos para identificar o maior número de componentes voláteis emitidos por matérias primas encontrados na natureza. Presente no Brasil desde 1951, a empresa IFF (International Flavors and Fragrance) investiu mais de US\$ 30 milhões em sua fábrica de aromas, inaugurada em 1995, em Taubaté. Após forte atuação do seu centro de pesquisas, a companhia reformulou a tecnologia “living flavors” ou “aroma ao vivo”. Sucesso na década de 90, o processo apresenta

como proposta a imitação mais fiel possível do sabor das frutas e vegetais, por meio de um sistema capaz de absorver melhor a formulação natural dos objetos de pesquisa⁵. Essa fidelidade se dá por conta da operação ser realizada quando o produto ainda está na árvore ou nos canteiros; daí a denominação “ao vivo”. Com esta proposta, as empresas esperam vencer o preconceito do consumidor atual que quer ficar longe do conceito artificial, conseguindo aproximar o aditivo do aroma natural.

Considera-se que a adição de flavorizante e/ou aromatizante instiga as percepções sensoriais, sendo capaz de satisfazer os sentidos, proporcionar prazer e estimular sentimentos. Para a indústria, de forma geral, os conceitos são menos subjetivos, porém de igual efeito para o consumidor. O aditivo caracteriza o produto e também atua como ferramenta para melhorar a composição final e padronizá-la, frente à temporada das frutas e legumes, por exemplo. A estes se somam as funções de reconstituir o perfil aromático, perdido durante o processo de fabricação do produto, e de mascarar notas não-desejáveis das formulações.

Pautado em alto grau de sofisticação tecnológica, o setor relativo aos flavors e aromatizantes tenta se alinhar às necessidades da indústria alimentícia, sua principal provedora, e também da indústria de fragrâncias. Grande investidor em pesquisa e desenvolvimento, o mercado de aromas gera anualmente vários novos produtos.

O Mercado de Aromas encontra-se representado nos gráficos a seguir:

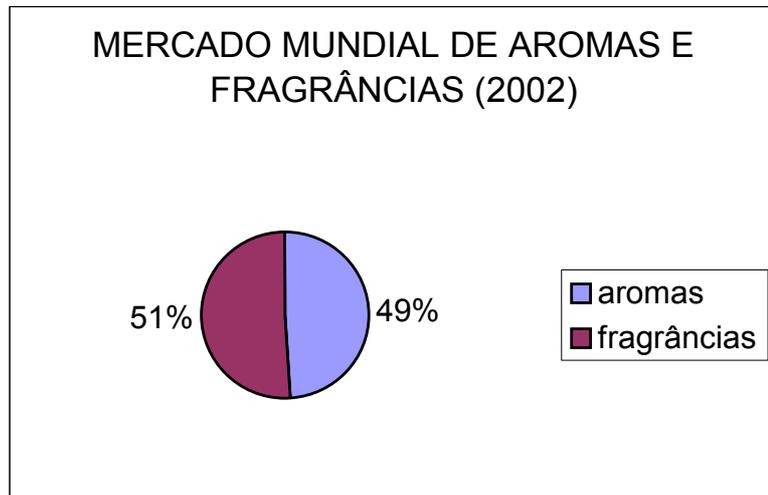


Figura 1: Representação percentual do Mercado de Aromas (Fonte: Leffingwell & Associates)

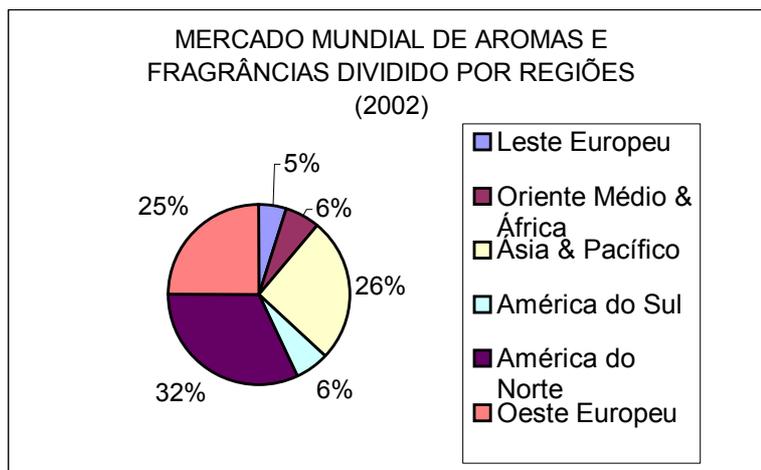


Figura 2: Representação percentual do Mercado de Aromas por regiões (Fonte: Leffingwell & Associates)

Os dados contidos nas Figuras 1 e 2 mostram como o mercado mundial de aromas e fragrâncias, em 2002, divide-se nas várias regiões mundiais. De acordo com a Tabela 1 este mercado movimentou, somente em 2002, algo em torno de US\$ 15 bilhões, e está representado por grandes empresas multinacionais que investem maciçamente na inovação tecnológica e comercial de seus produtos (aromas e fragrâncias, cosmética, farmacêutica, etc.). Segundo dados da Associação Brasileira

das Indústrias de Óleos Essenciais, Produtos Químicos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins (Abifra), o mercado brasileiro neste mesmo período foi avaliado em US\$ 295 milhões, com maior inserção em aromas e fragrâncias⁶.

De acordo com a Tabela 1, é interessante observar que a indústria mundial de perfumaria e aromatizantes, comandadas por empresas localizadas nos EUA, Europa e Japão⁷, sustenta-se de matérias-primas adquiridas nos chamados países “em desenvolvimento”, agregando-lhes valor através de processos muitas vezes simples, como a destilação e a filtração e gerando composições químicas a serem utilizadas nos diversos produtos atraentes ao consumidor. Esta constatação pode ser observada ao se consultar dados disponíveis do sistema eletrônico nas diversas fontes oferecidas “on-line”.

Tabela 1: Percentual das principais empresas na Indústria de Aromas e Fragrâncias no ano de 2002 (Fonte: Leffingwell & Associates).

Mercado mundial de aromas e fragrâncias em 2002			
Posição	Companhia	2002 US\$	Fatia do mercado
1	Givaudan	1932,8	12,8%
2	IFF	1809,2	12,0%
3	Firmenich	~ 1374,1*	~9,1%
4	Symrise	1300,2	8,6%
5	Quest International	1152,7	7,6%
6	Takasago	849,8	5,6%
7	Sensient Flavors	423,0	2,8%
8	T. Hasegawa	380,9	2,5%
9	Mane SA	269,5	1,8%
10	Darisco	~ 263,2	1,7%
Total das 10 maiores empresas		~ 9755,4	64,6%
Demais companhias		~ 5344,6	35,4%
Total mercado mundial		~ 15,100	100%

Fonte: www.leffingwell.com/
 * Valor estimado, a empresa não forneceu os dados do ano 2002

O levantamento do número de patentes no ISI Web of Science, usando as palavras chaves Aroma, Aroma de fruta, Aroma of fruit, Jaca, Aroma de alimento, Brasil, Brazil, Flavor e Flavour, encontra-se aproximadamente 9506 registros, sendo que em nenhum destes o Brasil está citado como proprietário de patente⁸. Consultando outras bases como INPI (Instituto Nacional de Propriedade Intelectual),

esp@cenet (Banco de patentes da União Européia) e a USPTO (Banco de patentes dos E.U.A), novamente constata-se, através das buscas cruzadas, que o Brasil praticamente não figura na nacionalidade dos titulares-proprietários. De um modo geral, as patentes encontradas no banco de dados do INPI aborda aroma enquanto agente de mascaramento para odores desagradáveis, aditivo alimentar para tornar o alimento mais atrativo ao consumidor, aroma estes que se encontram predominantemente na linha de café, salgado e chocolate. Além de aromas encapsulados visando resguardar o odor em função do tempo de prateleira de determinado produto⁹.

Outras fontes consultadas, como os periódicos principais da área de aromas e fragrâncias, a saber: Flavor and Fragrance Journal, Journal of Agricultural and Food Chemistry e Food Chemistry, disponíveis no portal Capes, também apresentam inúmeros pesquisadores estrangeiros (principalmente França, EUA e Japão) detalhando as frutas tropicais (Amazonas e Pará) e avaliando, dentre outras características, a potencialidade aromática e/ou nutricional das mesmas.

Os dados extraídos das diversas bases “on line” consultadas ratificam a afirmativa citada no texto acima, ou seja, o Brasil (País “em desenvolvimento”) e mundialmente conhecido como o país de maior biodiversidade do mundo, possuidor de aromas os mais diversificados, desde os mais comuns aos mais exóticos, é um grande fornecedor de matéria-prima para as grandes empresas assim como fonte riquíssima para pesquisadores estrangeiros.

A diversidade brasileira é um dos principais trunfos da indústria para os próximos anos. Dois destaques nacionais são a Natura, indústria nacional, particularmente com a Linha Ekos de produtos cosméticos que oferece produtos exclusivamente naturais da biodiversidade brasileira e a VittaFlavor (SP), empresa de capital 100% nacional, fundada há dez anos que ressalta a criação de um laboratório específico para pesquisas desse gênero. O local designa-se aos estudos dos componentes voláteis responsáveis pelos sabores das frutas tropicais brasileiras. Com o foco neste nicho de mercado, a empresa busca ir além das fronteiras e conquistar o paladar estrangeiro.

1.2. QUÍMICA DE AROMAS

O estudo de um aroma está baseado em 3 pilares: extração dos constituintes (voláteis e/ou precursores de voláteis), análise e avaliação sensorial destes constituintes. A química de aromas tornou-se expressiva a partir dos anos 60, em função do desenvolvimento das técnicas analíticas de cromatografia gasosa e da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas¹⁰. A seguir serão discutidos alguns aspectos considerados relevantes em cada um destes tópicos.

Frutas são unidades em constante desenvolvimento, com características metabólicas próprias, o que leva a diferentes taxas de respiração durante seu processo de amadurecimento, e conseqüentemente a profundas diferenças no seu aroma até a sua deterioração. A perfuração de sua casca acelera reações enzimáticas, o uso de aquecimento catalisa, no pH natural, reações de degradação dos açúcares naturais e promovem reações de condensação entre compostos aminados e carbonilados; tudo isso introduz aromas não naturais que descaracterizam o odor inicial peculiar de uma fruta¹¹. A enorme variedade estrutural dos frutos que conhecemos justificaria, por si só, a aplicação de diversas técnicas de isolamento do aroma durante um processo investigativo.

Os possíveis caminhos biogénéticos na produção de substâncias aromáticas são resumidos no quadro que se segue ¹², sendo alguns deles investigados por experimentos com marcação isotópica (C¹⁴) com frutas fatiadas nos diferentes estágios de amadurecimento.

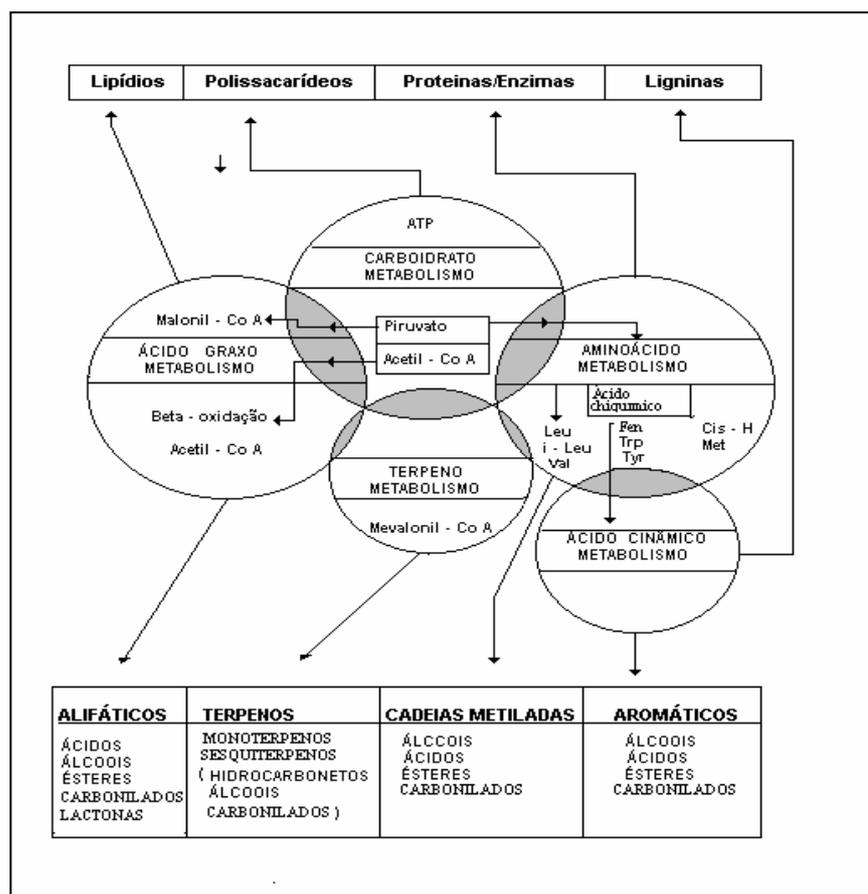


Figura 3: Principais caminhos de biossíntese de voláteis em frutas
(adaptado de Parliment at al. em *Biogeneration of Aromas*)

A busca por um extrato representativo do aroma da fruta “in-natura” deve levar em consideração técnicas de isolamento e concentração tais que evitem, ao máximo, a degradação do alimento evitando assim a presença de aromas não característicos da fruta (“off-flavors”) ¹³. As técnicas mais utilizadas para análise de voláteis são: “Headspace” ¹⁴⁻¹⁷, SDE (Simultaneous Distillation-Extraction) ¹⁸⁻¹⁹, SPME (Solid Phase Micro Extraction) ²⁰⁻²⁴, Purge and Trap ^{25,26}, Extração por Solvente ²⁷ e Extração por Fluido Supercrítico ²⁸.

A avaliação sensorial através dos testes sensoriais descritivos e/ou comparativos torna possível a identificação do extrato representativo do aroma em estudo ²⁹. Em combinação com as técnicas de cromatografia em fase gasosa, cromatografia em fase gasosa-olfatométrica, cromatografia em fase gasosa-espectrometria de massas e técnicas de diluição do extrato aromático, elas possibilitam a investigação do aroma do extrato e de seus constituintes químicos,

além do conhecimento de qual aroma dentre tantos percebidos é o que realmente contribui para a sua percepção²⁹⁻³⁰.

A cromatografia em fase gasosa olfatométrica, CG-O, permite a correlação de determinado pico cromatográfico com seu respectivo aroma^{10,31}. É fundamental que haja resolução cromatográfica, pois no caso de extratos complexos, como os de plantas e alimentos em geral, a detecção inequívoca do aroma está diretamente relacionada ao alcance de uma boa separação cromatográfica. É muito comum a ausência de pico cromatográfico nas regiões de aroma mais intenso, visto que estas substâncias normalmente se encontram em concentrações mínimas, além da possibilidade de co-eluição encontrada nestas análises³²⁻³⁴.

O aroma que mais contribui para um determinado odor global pode ser determinado com a ajuda de técnicas de diluições de aroma tais como: NIF “Nasal Impact Frequency”³⁵, OSME³⁶, da palavra grega *σμη* que significa cheiro, CHARM “Combined Hedonic Response Measurement”³⁷ e AEDA “Aroma Extraction Dilution Analysis”³⁸⁻³⁹. “AEDA” e “CHARM” se baseiam no valor de “threshold” (limiar de percepção dos componentes “flavors”) enquanto que OSME é baseado em medidas de intensidade e NIF em frequência com que um determinado aroma é sentido. Quanto menor o limiar de percepção do aroma de determinado composto mais potente é o seu cheiro, refletindo em maior contribuição para o aroma global⁴⁰⁻⁴¹.

Análises quantitativas e qualitativas de compostos voláteis são tarefas difíceis em função de aspectos como: matrizes extremamente complexas, associação com compostos não voláteis, concentrações mínimas presentes (em frutas < 10⁻¹⁴%), mistura onde coexistem substâncias com diferentes pressões de vapor, substâncias com propriedades organolépticas diferenciadas, reatividade química e a presença, às vezes, de quantidades razoáveis de substâncias sem nenhum potencial odorífero^{42,43}. Para tornar possível um estudo preciso e objetivo na identificação destes compostos faz-se necessário o uso de técnicas analíticas avançadas, desenvolvidas exatamente com esta finalidade⁴⁴.

Seguem abaixo descrições mais detalhadas das técnicas de isolamento de voláteis, técnicas analíticas de identificação de voláteis e técnicas de análise sensorial visto as mesmas serem parte importante deste trabalho.

1.2.1. ISOLAMENTO E CONCENTRAÇÃO DE VOLÁTEIS

Os métodos de isolamento de aromas dividem-se em: “Headspace”, Destilação e Extração por Solvente.

1.2.1.1 - HEADSPACE

O “headspace”⁴⁵ consiste na atmosfera gasosa que circunda uma amostra. As técnicas que empregam o “headspace” coletam os compostos presentes nesta atmosfera, o que pode ser feito de modo estático ou dinâmico, este último utilizando um gás inerte que tem como função o arraste dos flavors, em geral para um adsorvente. No uso de adsorvente o material coletado deverá ser liberado pelo emprego de solvente ou de temperatura. Esta técnica é vantajosa por não haver obrigatoriedade de aquecimento da matriz. Para a obtenção de dados quantitativos, é necessário a análise do decaimento da concentração de voláteis ao longo da amostragem, o que alonga por demais o tempo de análise⁴⁶.

A fração aromática obtida por esta técnica exige uma concentração posterior de volume, que deve ser executada com muito cuidado a fim de não ocorrer perda de nenhum volátil.

Em frutas, observa-se que extratos obtidos por “headspace” apresentam aroma bastante similar ao da matriz, o que a torna uma das técnicas mais empregadas, se não a mais, no estudo de aromas de frutas. Há inúmeros relatos de aplicação de “headspace” em frutas, empregando diferentes aparelhagens e adsorventes como pode ser visto no estudo de maracujá⁴⁷, cajá⁴⁸, cupuaçu⁴⁹, umbu-cajá⁴⁹, araçá-boi⁴⁹, camu-camu⁴⁹, murici⁵⁰, entre outras.

1.2.1.1.1. Micro Extração em Fase Sólida (MEFS/ SPME)

Uma das mais recentes e interessantes variações em “headspace” é a microextração em fase sólida⁵¹ (em inglês, SPME – Solid Phase Micro Extraction). Surgida na década de 90, consiste na adsorção de substâncias voláteis em uma superfície polimérica de espessura de fase entre 07 e 100 μm fixadas em uma seringa. A extração dos voláteis por adsorção pode ser feita por seu “headspace” (HS-SPME) ou ainda na por contato direto da fibra com a matriz (DI-SPME).

Após a adsorção dos voláteis, os compostos são liberados por dessorção térmica no próprio injetor cromatográfico por efeito da temperatura, o que torna a técnica muito simples para utilização. Uma boa análise por SPME é obtida quando otimizados os parâmetros que interferem diretamente na técnica⁵², tais como:

- **Seleção do modo de extração:** DI-SPME é mais sensível para analitos semi-voláteis predominantemente em líquidos, enquanto que HS-SPME é mais utilizado para analitos de maior volatilidade presentes em amostras sólidas, líquidas ou gasosas. Vale ressaltar que a amostragem por HS exibe menor grau de ruídos na linha base (background) na análise cromatográfica, além de aumentar o tempo de uso da fibra visto que a mesma não fica em contato direto com a amostra.
- **Natureza e espessura da fase adsorvente:** São disponíveis comercialmente com adsorventes de diferentes polaridades e espessuras de fase. Observa-se que: polidimetilsiloxano (PDMS) é mais sensível a compostos não polares, poliacrilato (PA) é preferido para compostos polares e a combinação destes com outros adsorventes tais como Divinilbenzeno (DVB), Carboxen (CAR), Carbowax (CW) é utilizada para as mais variadas composições encontradas nas diversas amostras. Segundo a literatura, o uso do Carboxen nestas fibras aumenta a capacidade de retenção em função de potencializar simultaneamente os efeitos de adsorção e de distribuição dos analitos na fase estacionária. Quanto a espessura de fase, os compostos voláteis requerem o uso de fibras com espessura de fase maior, exigindo um tempo mais alto para atingir o equilíbrio entre a fibra e as substâncias presentes no “headspace”. Fibras com espessura de fase maior possibilitam maior sensibilidade, pois tem a capacidade de reter maior concentração de voláteis.
- **Agitação e Temperatura da amostra:** Observa-se que a presença de agitação e aquecimento (40-60°C) acelera a transferência dos voláteis da matriz para o adsorvente.
- **Adição de sais solúveis à amostra:** A eficiência de extração é aumentada pela adição de sais tais como: cloreto de sódio, carbonato de potássio e outros, sendo o mais comum o cloreto de sódio. A adição de sais é preferencialmente utilizada quando da extração por “headspace” a fim de

poupar a fibra da presença destes sais. Isto é um resultado direto do fenômeno de “salting-out”.

- **Dessorção do analito:** A dessorção eficiente dos analitos adsorvidos na fibra é dependente de fatores tais como: volatilidade do composto, espessura de fase da fibra, temperatura do injetor cromatográfico, “design” do injetor e tempo de dessorção. Geralmente utiliza-se o injetor no modo sem divisão de fluxo, de 2-5 minutos de válvula fechada, de modo a garantir toda a transferência dos voláteis adsorvidos para a coluna cromatográfica. A temperatura do injetor deve levar em consideração o ponto de ebulição do componente menos volátil presente na fibra. A fim de evitar alargamento dos picos e garantir uma boa resolução cromatográfica da amostra, deve-se manter a temperatura do forno cromatográfico o mais baixa possível, ou ainda optar por criogenia.

Em comparação com outras técnicas empregadas na análise de flavors, a micro extração em fase sólida tornou-se vantajosa por sua simplicidade, rapidez, ausência de solvente, baixo custo e pouquíssima manipulação da amostra durante a análise. Em função das vantagens descritas, inúmeros trabalhos vem sendo descritos na literatura⁵³⁻⁵⁷. Particularmente na análise de flavors em frutas, os mais recentes dizem respeito ao taperebá⁵⁸, cajá⁵⁸, abacaxi⁵⁹ e laranja^{60,61}. Uma outra aplicação importante da técnica diz respeito a caracterização de voláteis produzidos por microrganismos em fermentações de mosto de uva⁶²⁻⁶⁴, além de outras fermentações⁶⁵.

1.2.1.1.2. PURGE AND TRAP

É a extração de voláteis por fluxo contínuo de gás inerte através ou na superfície acima da amostra, sendo, em seguida, capturados e se necessário concentrados em adsorventes (carvão ativo, Porapak, Tenax, etc.). A liberação dos voláteis capturados pode ser feita através da dessorção térmica ou extração com solventes^{66,67}. A figura 4 descreve a aparelhagem adaptada para Purge and Trap.

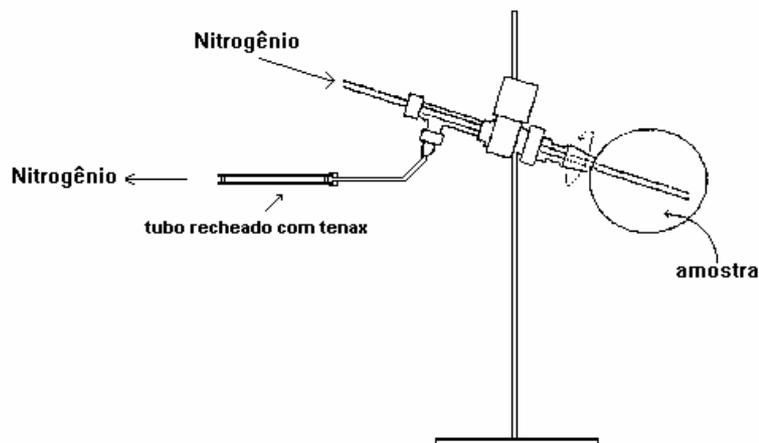


Figura 4: Aparelhagem adaptada para purge and trap.

1.2.1.2 - DESTILAÇÃO

A destilação simples não é relatada na literatura como um método muito utilizado na extração de voláteis e sim, como um método industrial para concentração de aromas. Os métodos de destilação mais comuns na análise de aroma são:

1.2.1.2.1. Destilação por Arraste a Vapor

Envolve co-destilação dos voláteis presentes em uma determinada matriz por arraste com vapor d' água. Os compostos voláteis arrastados são condensados em aparelhagem eficientemente resfriada e os voláteis contidos no destilado aquoso são, então, extraídos com um solvente orgânico, e posteriormente concentrados⁶⁸. São várias as aparelhagens para destilação por arraste a vapor, porém, uma bastante utilizada é a aparelhagem tipo *Clevenger*, que em função do seu "design" a destilação procede sem a posterior necessidade de extração por solvente orgânico, visto que com o uso da mesma obtém-se o óleo essencial (extrato aromático) isolado da água utilizada para o arraste. Observa-se neste procedimento que a temperatura elevada pode acarretar a degradação de substâncias termolábeis.

1.2.1.2.2. Destilação e Extração Simultâneas ou SDE (Simultaneous Distillation and Extraction). - técnica desenvolvida por Likens e Nickerson, consiste na destilação de compostos orgânicos pela passagem de uma corrente de vapor d'água através da mistura, com simultânea extração por solvente não miscível em água^{69,70}. Embora apresente as vantagens de não ser necessária uma posterior concentração, em função da pequena quantidade de solvente utilizado na extração (em geral menos que 5 mL) e de exigir uma pequena quantidade de material (1 a 15g), seu maior inconveniente se deve a presença de artefatos nos extratos obtidos.

Observa-se que o uso da Extração e Destilação Simultâneas sob pressão reduzida minimiza bastante a presença dos artefatos gerados⁷¹.

1.2.1.3 EXTRAÇÃO

1.2.1.3.1 Extração Direta – Consiste em colocar a matriz diretamente em contato com um solvente orgânico durante determinado tempo e posteriormente concentrar o extrato aromático obtido.

1.2.1.3.2 Extração Líquido-Líquido (ELL) - Entre os métodos de extração é o mais utilizado para flavors e consiste em colocar a amostra aquosa em contato com um solvente extrator imiscível, numa aparelhagem que opera em modo contínuo⁷⁷. Em geral solventes utilizados de baixo ponto de ebulição como diclorometano, pentano ou pentano-éter apresentam como vantagem o fato de não ser necessário o aquecimento da amostra.

1.2.1.3.3 Extração por fluído supercrítico (EFS) – vertente mais moderna da extração por contato consiste na utilização de uma variedade de fluídos extratores (normalmente CO₂ ou CO₂ modificado com solvente orgânico (em geral MeOH)), altas pressões (2000-4000 psi) e elevadas temperaturas (50-150°C)⁷². Embora não seja largamente utilizado no Brasil devido ao seu alto custo, apresenta vantagens em relação a outros métodos de isolamento como a utilização de reduzido tamanho da amostra, menor volume extrator, menor tempo de extração e a possibilidade de extração de um grande número de amostras e no caso de CO₂ ausência de solvente.

Todos os métodos citados para isolamento de voláteis apresentam vantagens e desvantagens de tal forma que aquele a ser utilizado dependerá do objetivo a ser

alcançado no isolamento dos voláteis de determinada matriz, além da natureza dos voláteis da mesma. Caso o objetivo seja investigar os voláteis presentes na matriz “in-natura”, deve-se procurar utilizar métodos que evitem aquecimentos prolongados e com alta temperatura, pois como já foi citado, estes fatores favorecem a formação de artefatos, que muitas das vezes, no caso particular de aromas, favorece o aparecimento de notas aromáticas não características (off-flavors) da matriz. No entanto sendo o objetivo a geração de uma essência com notas predominantemente torradas e tostadas, muito provavelmente a técnica escolhida para isolamento dos voláteis será aquela que favoreça a formação destas substâncias, ou seja, com aquecimento.

1.2.2. MÉTODOS ANALÍTICOS

A investigação na composição de aromas costuma deparar-se com odorantes importantes em nível de traços, muitas vezes imersos em outros voláteis presentes em altas concentrações, o que leva à necessidade de técnicas espectrométricas de alta seletividade, rapidez e acurácia.

1.2.2.1 CROMATOGRAFIA GASOSA MULTIDIMENSIONAL

Diversas variações associadas à cromatografia gasosa, como a cromatografia em fase gasosa multidimensional (CG-MDS)⁷³ é também um sistema extremamente útil na análise de voláteis em matrizes complexas, pois permite a análise da amostra em duas colunas capilares de polaridades distintas em uma única corrida cromatográfica. A primeira coluna permite a avaliação preliminar de toda a amostra e a seleção das regiões de interesse para avaliação em uma segunda coluna de polaridade diferenciada, e no caso de substâncias quirais, o uso de uma coluna de fase quiral a fim de resolver os enantiômeros presentes.

1.2.2.2. CROMATOGRAFIA GASOSA-ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Desde 1955, quando F. W. McLafferty e R. S. Golilke ofereceram a comunidade científica o primeiro acoplamento eficiente entre um cromatógrafo gasoso (CG) e um espectrômetro de massas (EM)⁷⁴, a CG-EM vem assumindo o posto da técnica mais usada na análise de substâncias voláteis de matrizes variadas, inclusive aromas, o que se deve especialmente à facilidade de identificação de um vasto número de substâncias, subsidiada pelo acesso a

extensos bancos de espectros de massas, a co-injeção de padrões e ao uso de índices de retenção precisos, que se complementam na identificação de compostos.

Do mesmo modo que a técnica CG-EM é a principal ferramenta na análise de odorantes, a espectrometria de massas mudou o paradigma na análise de flavors na boca. O estudo da liberação de flavors de alimentos durante a mastigação exige o uso de metodologias mais eficientes. Em função destas necessidades específicas surgiram variações do CG-EM padrão, como CG-TOFMS (GC-Time of Flight Mass Spectrometry) e MS/MS (Tandem Mass Spectrometry) assim como APCI-MS (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation-MS), PTR-MS (Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry) e REMPI-TOFMS (Resonant MultiPhoton Ionisation Time-of-Flight MS)⁷⁵.

CG-TOF MS e MS/MS oferecem alta sensibilidade permitindo identificação estrutural em função da reconstrução correta da massa de determinados compostos em complexas misturas com alto grau de especificidade⁷⁶. APCI-MS, PTR-MS e REMPI-TOF-MS são técnicas bastante interessantes, pois permitem analisar voláteis sem qualquer processo de pré-separação, tornando-as extremamente atraentes, pois podem ser aplicadas a estudos de liberação de flavor assim como o monitoramento *in situ* de sua formação⁷⁷.

1.2.2.3 CROMATOGRAFIA GASOSA OLFATOMÉTRICA (CG-O)

Técnica introduzida por Fuller *et al.* e muito utilizada na caracterização de voláteis que apresentam aroma, permite correlacionar o pico cromatográfico com o aroma percebido pelo avaliador através do “sniffing-port”⁷⁸. Na saída da coluna capilar, adapta-se um divisor de fluxo (dois tubos capilares ociosos ligados a uma conexão) que levará, ao mesmo tempo, uma parte do fluxo para o detetor DIC, EM, etc. e outra parte para um “sniffing-port”. Este nada mais é que um tubo de aço, encamisado com fita de aquecimento, através do qual se passa um dos tubos capilares oriundos do divisor de fluxo. Deste modo, será possível avaliar os aromas das substâncias e associá-las ao sinal cromatográfico registrado, oriundo do detetor utilizado, no mesmo tempo. Fica evidente a necessidade dos dois tubos divisores terem o mesmo tamanho, para que o tempo de retenção percebido pelo integrador seja perfeitamente igual ao detectado pelo nariz humano. No final da avaliação aromática global obtém-se uma série de aromas restando definir quais destes apresentam maior atividade aromática, ou seja, quais realmente contribuem ao

aroma global do extrato. É consenso que apenas um pequeno número dos voláteis que compõem um alimento realmente contribue para o aroma global do mesmo. O aroma de maior contribuição em um alimento é aquele de maior poder aromatizante, poder odorante este que depende da relação existente entre “threshold” (limiar de percepção) e concentração⁷⁹⁻⁸¹. Logo, um pico cromatográfico de pequena área pode, em função do seu baixo limite de percepção (threshold) representar muito para o aroma global enquanto que outro com área relativamente grande contribuir pouco.

Em geral, os resultados da CG-O podem ser afetados pela falta de atenção/concentração dos avaliadores, principalmente nos seguintes casos: somente um pequeno número de componentes pode ser percebido; quando estes componentes mostram baixa intensidade de odor; quando o estímulo é muito rápido; quando a sessão é muito longa ou quando a equipe não está motivada⁸². Em relação a estes fatores, a subjetividade em uma análise sensorial é minimizada através do uso de painés de especialistas e de descritores de atributos sensoriais bem determinados. Atesta-se que os dados obtidos com a utilização das ferramentas citadas acima apresentam boa reprodutibilidade e confiabilidade.

Como dito anteriormente, os odorantes de impacto, ou seja, os que mais contribuem para um determinado aroma global, podem ser determinados com a ajuda de técnicas tais como: NIF, OSME, CHARM e AEDA. Quanto menor o limiar de percepção de um odorante, mais potente é o seu cheiro, refletindo numa maior impacto aromático⁸³.

Dentre estes métodos o AEDA é o mais simples. Seu princípio básico de diluição consiste em diluir por um fator X o extrato, formando uma série de diluições na qual cada diluição deve ser X vezes mais concentrada do que a seguinte. O número de diluições vai depender da capacidade aromatizante das substâncias presentes no extrato. As várias diluições são analisadas sensorialmente com o uso da CG-O de modo que cada odor percebido tenha seu tempo de retenção devidamente anotado assim como a percepção sensorial daquele odor (frutal, torrado, medicinal, etc.) além do valor ou fator de diluição (FD) correspondente àquele aroma. Este fator de diluição corresponde a magnitude da atividade aromatizante de determinado odor⁸⁴.

A tarefa do avaliador em análises por diluição é relativamente simples e consiste em avaliar olfativamente sucessivas diluições do mesmo extrato até o desaparecimento do aroma.

Por fim, o acoplamento da cromatografia gasosa olfatométrica a espectrometria de massas (CG-O-EM), permite proceder simultaneamente à análise sensorial e à identificação dos constituintes voláteis, o que simplifica sobremaneira a análise de extratos complexos⁸⁵.

1.2.3. ANÁLISE SENSORIAL

A caracterização de um aroma pelo olfato humano se inicia como uma resposta do organismo às ligações formadas entre as moléculas do odorante e as terminações proteicas existentes nas células receptoras, localizadas na parte posterior da cavidade nasal. Estudos genéticos indicam que cada terminação proteica ou um pequeno grupo de terminações é seletiva para cada tipo de odor. Diversas partes de uma mesma molécula se ligam a estas terminações proteicas, a mensagem é codificada e o aroma caracterizado. Existem aproximadamente 1000 tipos de proteínas receptoras, permitindo um grande número de combinações. Estima-se que o homem possa reconhecer cerca de 10.000 aromas diferentes mesmo que a sensibilidade olfativa humana esteja na ordem de 10^{-19} mols. Ainda que recentemente Richard Axel e Linda B. Buck, cientistas americanos ganhadores do Premio Nobel de Medicina, tenham descobertos uma família genética, composta por mil genes diferentes e que dão origem a um número equivalente de tipos diferentes de receptores olfativos, o olfato talvez permaneça como o mais enigmático dos nossos sentidos⁸⁶. <http://nobelprize.org/medicine/laureates/2004>.

Estes estímulos, quando tratados por metodologias que permitam quantificar e interpretar as características globais de determinada matriz, tais como a aparência, gosto, textura, som e o aroma compreendem o que se entende por Análise Sensorial⁸².

Ainda assim, há que se ressaltar que a análise de odorantes em alimentos é bastante complexa, e depende de diversos fatores. Um deles seria a liberação de voláteis durante a mastigação, que podem estar livres na matriz ou serem gerados enzimaticamente durante a fratura do endocarpo no caso de frutas naturais. Outro fator seria a diluição dos odorantes na saliva e os remulsados consequentes da solubilidade e alteração nas pressões de vapor.

As propriedades organolépticas dos alimentos podem ser percebidas sucessivamente em três momentos diferentes: antes, durante e após o consumo dos

alimentos. A aceitação ou rejeição de um alimento e sua preferência em relação a outro dependem em grande parte das seguintes informações sensoriais⁷⁸:

- **Visão:** cor, forma e aparência geral são muito importantes, pois fornecem informações que mobilizam o organismo para o início do processo digestivo, ou, pelo contrário, atentam contra a ingestão de material potencialmente nocivo ou deteriorado, o que nos remonta a expressão “comemos com os olhos”.
- **Tato:** percepção das características físicas dos alimentos como: temperatura, consistência, dureza, maciez, calor, frio.
- **Audição:** Em alguns casos, o ruído característico produzido por certos alimentos ao serem cortados, abertos, mordidos ou quebrados está em relação direta com a qualidade: pão, mordida em maçã, gordura fritando, etc.
- **Paladar:** discriminam cinco sabores básicos: doce, ácido, salgado, amargo e umami.
- **Olfato:** Em geral, antecipa-se à visão, tato, audição e paladar como agente de tomada do apetite. O odor de alimentos sendo preparados, como por exemplo churrasco, frituras, etc., mobilizam nosso aparelho digestivo ativando a salivação e secreções gástricas. O inverso também é verdadeiro, cheiro de alimento estragado e lixo causam náusea, afastando o desejo de comer.

A aceitação de um produto alimentício para o consumo é predominantemente estudada pelo uso de métodos sensoriais, que permitem identificar suas características organolépticas prevendo a alta ou baixa aceitação no mercado consumidor. Suas principais aplicações são: desenvolver novos produtos, reproduzir um determinado produto, melhorar um produto já existente ou ainda atuar no controle de qualidade identificando a presença de odores e sabores estranhos em algum produto⁸⁷.

Os métodos sensoriais⁷⁸ se dividem em métodos analíticos e afetivos.

1.2.3.1 Analíticos:

1.2.3.1.1. Descritivos – envolvem detecção (discriminação) e descrição dos aspectos sensoriais qualitativos e quantitativos;

1.2.3.1.2 Comparativos – testes que medem as diferenças existentes ou não entre as amostras;

1.2.3.2. Afetivos (de respostas subjetivas) – tem como objetivo principal a resposta pessoal (preferência e/ou aceitabilidade) do consumidor comum ou do consumidor em potencial, sobre um produto já existente, em projeto, ou das características específicas de um determinado produto.

Na área de desenvolvimento de novos produtos, as análises sensoriais descritivas e comparativas são bastante utilizadas, pois permitem avaliar com segurança diferenças e similaridades entre produtos. A análise descritiva visa descrever de forma clara um produto, em termos de atributos sensoriais percebidos pelas pessoas⁹⁵.

Para a realização de uma análise sensorial é importante que se tenha atenção com: as amostras (quantidade, temperatura, codificação), a equipe de pessoas treinadas (provadores devem apresentar sensibilidade, reprodutibilidade, interesse, disponibilidade, objetividade e boa saúde), o horário dos testes e o local dos testes (ventilação e iluminação).

Em geral existe a necessidade de um treinamento olfativo da equipe avaliadora de análise sensorial. Para este treinamento, as pessoas que possivelmente farão parte da equipe avaliadora são inicialmente treinadas nos aromas básicos e posteriormente nas classificações destes aromas (anel de flavor). O treinamento na identificação e vocabulário próprio nos diversos aromas é feito com a utilização de substâncias características dos diversos aromas em concentrações diferenciadas. Os testes sensoriais são feitos em horários relativamente distantes das grandes refeições como 10:00 e 15:00 h. Um exemplo da classificação dos aromas pode ser visto na Figura 5.

1.2.4 PRECURSORES GLICOSILADOS DE VOLÁTEIS

Glicosídeos são constituídos por uma ou mais moléculas de açúcar ligadas entre si e que, por sua vez, estão ligadas a uma aglicona volátil. Em geral esta última pode ser um álcool monoterpênico (onde os mais comuns são o linalol, o geraniol e o nerol), óxidos de linalol, polióis terpênicos, álcoois lineares ou cíclicos (hexanol, 2-feniletanol, álcool benzílico, etc.) norisoprenóides do tipo C₁₃, ácidos fenólicos e fenóis voláteis como a vanilina⁹¹.

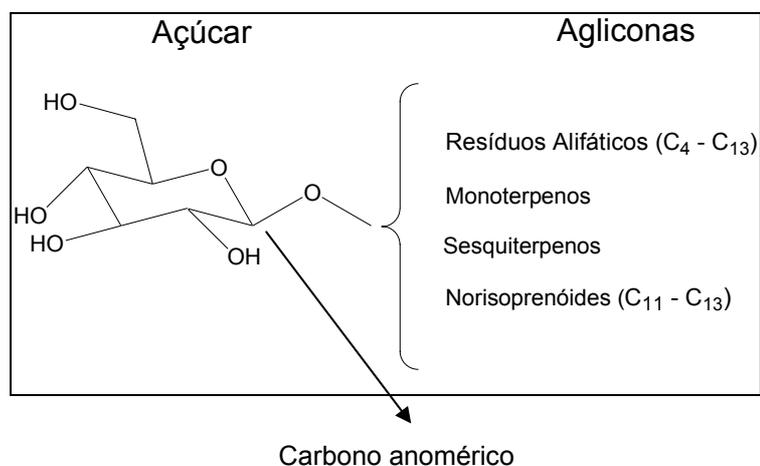


Figura 6: Representação esquemática do glicosídeo

Os O-glicosídeos classificam-se em α ou β -glicosídeos dependendo se a aglicona, ligada no carbono anomérico, encontra-se axial ou equatorial, ou ainda, β quando a aglicona está do mesmo lado do grupamento alquil vizinho ao oxigênio do ciclo (na figura 6, posição equatorial) e α , do lado oposto a este grupo (na figura 6, posição axial)⁹².

Observa-se que em geral, os glicosídeos associados a frutas se encontram na forma de O- β -D-monoglicosídeos ou ainda na forma β -D-diglicosilada^{90,93}, conforme demonstrado na Figura 7.

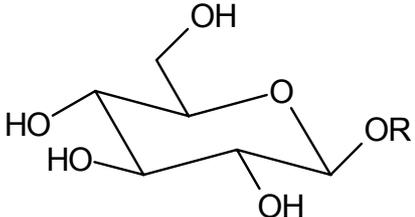
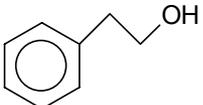
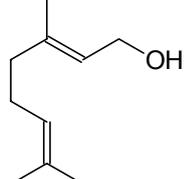
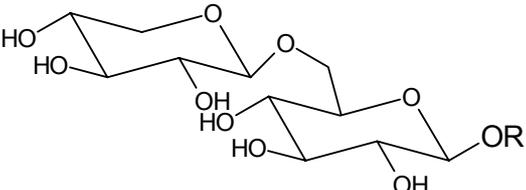
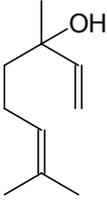
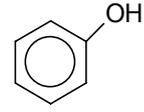
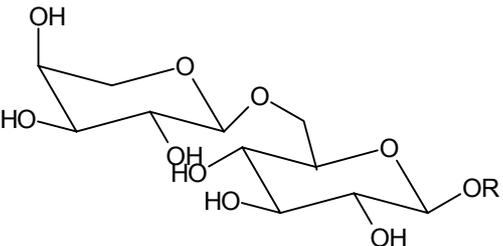
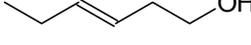
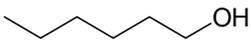
PORÇÃO AÇÚCAR	PORÇÃO AGLICONA	
 <p data-bbox="300 564 646 600">β-D-glicopiranosídeo (Glc)</p>	 <p data-bbox="895 510 1061 542">2-feniletanol</p>	 <p data-bbox="1197 510 1276 542">linalol</p>
 <p data-bbox="284 907 869 943">6-O-D-xilopiranosídeo- β-D-glicopiranosídeo</p>	 <p data-bbox="895 788 1005 819">geraniol</p>	 <p data-bbox="1109 788 1316 819">álcool benzílico</p>
 <p data-bbox="367 1254 782 1339">6-α-L-arabinopiranosídeo- β-D-glicopiranosídeo</p>	 <p data-bbox="1165 869 1348 900">(E)-3-hexenol</p>	 <p data-bbox="1165 945 1300 976">n-hexanol</p>
	 <p data-bbox="949 1326 1109 1406">p-2-Hidroxi-etil-fenol</p>	 <p data-bbox="1181 1326 1356 1406">p-2-propeno-fenol</p>

Figura 7: Representação dos glicosídeos (açúcar e aglicona) encontrados em frutas.

O primeiro estudo sobre a liberação de compostos voláteis, obtidos através da hidrólise de glicosídeos, foi relatado em uvas do tipo moscatel em função da quebra da ligação O-glicosídica. Estes compostos estáveis a temperatura ambiente, ao sofrerem hidrólise liberam as agliconas relacionadas ao aroma, em função do aumento de temperatura, pH ácido ou na presença de enzimas glicolíticas⁹⁰.

Na investigação de glicosídeos em alimentos, a abordagem principal tem sido a caracterização de agliconas por CG-EM. Inúmeras publicações a respeito de glicosídeos precursores de voláteis com contribuição ao aroma encontram-se na literatura⁹⁴⁻⁹⁸. Dentre as mesmas, frutas frescas como: maracujá⁹⁹, cereja¹⁰⁰, manga¹⁰¹, bebidas como chá¹⁰², tomate¹⁰³, além de vinhos¹⁰⁴⁻¹⁰⁷.

A metodologia de trabalho mais abordada em frutas é a que usa cromatografia do extrato vegetal em coluna recheada com XAD-2 (resina de poliestireno, 20-60 mesh, Aldrich)¹⁰⁸. A eluição é feita primeiramente com água (para retirada de açúcares, ácidos e sais) seguida de solventes orgânicos como: pentano, éter, diclorometano (para retirada das agliconas livres), acetato de etila e por fim com metanol. Esta última fração então é concentrada a baixa temperatura, e submetida à hidrólise a fim de liberar as agliconas. Com as agliconas livres, novas extrações são feitas e analisadas segundo o protocolo de voláteis livres: CG, CG-O, CG-EM. Em plantas, a metodologia de trabalho diversifica-se; além do tratamento em coluna recheada com XAD-2 utiliza-se extração direta das folhas em MeOH para posterior separação cromatográfica nas diversas fases existentes: sílica, C18, sephadex LH-20 além do uso de cromatografia líquida de alta resolução associada a espectrometria de massas (IE, FAB)¹⁰⁹.

O estudo sobre a liberação de voláteis em glicosídeos pode ser realizado por via enzimática ou utilizando meio ácido. A hidrólise enzimática vem sendo associada ao uso de quatro enzimas: α -ramnosidase, α -arabinosidase, β -apiosidase e β -glicosidase. Dependendo do glicosídeo em questão, a hidrólise acontece em duas etapas. Na primeira dá-se a quebra da ligação 1,6 dos dissacarídeos por uma α -L-ramnosidase, α -L-arabinosidase, β -D-apiosidase, havendo liberação da ramnose, arabinose, apiose e de β -glicosídeos. Na segunda etapa atua uma β -D-glicosidase libertando a aglicona aromática⁹⁰.

A hidrólise enzimática é preferida a ácida, pois apresenta condições brandas de liberação das agliconas, embora o uso de enzimas ainda seja um procedimento relativamente de alto custo. Porém, em função da especificidade enzimática, a liberação das agliconas presentes pode ficar um tanto restrito, dificultando uma investigação mais ampla destes precursores.

A metodologia de análise dos glicoconjugados mais comumente utilizada é a cromatografia líquida de alta eficiência utilizando colunas de fase reversa¹⁰⁹. Porém, um método rápido e eficiente é o que utiliza a cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas, após a derivatização das hidroxilas dos glicosídeos com agentes silanizantes ou acetilantes^{110,111}. A CG-EM do extrato bruto é pouco utilizada, visto que não existem informações básicas como índice de retenção em cromatografia gasosa e fragmentos de massas dos vários glicosídeos,

o que desestimula a aplicação desta metodologia. Através desta metodologia são poucos os trabalhos publicados na literatura; isto porque padrões de glicosídeos não são usualmente comercializados, sendo que os disponíveis comercialmente são relativamente caros.

A investigação de precursores de voláteis glicosilados exige novamente a utilização de métodos de isolamento, de concentração e analíticos bastante criteriosos. Em frutas, sua concentração costuma ser muito baixa associado ao fato de estarem contidos em extratos riquíssimos em açúcares livres, dificultando bastante a análise. Por outro lado, podem ser aplicados com sucesso em produtos industrializados onde se deseja reter o aroma até o processamento e consumo.

1.3 AS FRUTAS: JACA E MURICI

1.3.1 JACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)



Figura 8: Jaca

A jaca (figura 8) pertence à família Moraceae e ao gênero *Artocarpus* e possui quatro sinônimas: *Artocarpus integra* Merr., *Artocarpus integrifolia* Linn. F, *Artocarpus brasiliensis* Lam. e *Artocarpus heterophyllus* Lam. , sendo este último o mais aceito¹¹². Foi introduzida no Brasil pelos portugueses e é muito popular em países do Sudeste da Ásia e da África. A jaqueira é uma árvore de copa irregular que alcança até 25 m de altura e desenvolve-se bem, produzindo frutos de melhor qualidade em regiões de clima quente úmido ou em clima semi-árido com irrigação. As jaqueiras podem ser propagadas por sementes ou vegetativamente. O fruto alcança maturação em 180 a 200 dias. Mede de 22 a 90 cm de comprimento, 13 a 50 cm de diâmetro e apresenta peso variando de 3 a 60 kg. A jaca é a maior de todas as frutas cultivadas. A jaca pode ser consumida fresca, cozida, em doces cristalizados ou em compota.

Considerando-se a consistência da polpa dos frutos, Manjunath classificou suas variedades em Kapa ou jaca dura (frutos maiores e polpa firme) e Barkaou jaca mole (frutos menor e bagos moles).¹¹² Suas folhas e caules são utilizados no tratamento da gripe como espectorante, no tratamento da anemia e asma e suas sementes descritas por apresentar propriedades afrodisíacas

Abraham (1971) observou que a destilação por arraste não seria um bom método de extração de flavors, visto comprometer o aroma com notas não características da fruta¹¹². Swords et al (1978), utilizando CG-EM e a destilação por arraste identificou em torno de 20 componentes sendo os álcoois alifáticos: butanol, álcool isoamílico, hexanol e octanol e os ésteres isovalerato de butila, butanoato de

butila, isovalerato de isoamila, acetado de butila, isovalerato de propila como compostos majoritários¹¹². Em estudos posteriores Rasmussen (1983), através da técnica de extração e destilação a vácuo usando diclorometano como solvente extrator, duas colunas de polaridades distintas no CG, identificou basicamente a mesma composição anteriormente citada¹¹² e mais alguns ésteres e Wong et al (1992), usando destilação e extração (SDE) atmosférica e pentano como solvente extrator, conseguiu identificar por CG-EM 45 compostos, sendo 32% de ésteres¹¹³.

Oliveros et al utilizando a técnica de destilação por arraste da parte não comestível da jaca, observou que o óleo essencial obtido desta fração apresentava aroma característico de jaca¹¹². Embora com pequeno rendimento, 0,03% p/v, chamou atenção para uma possível aplicação desta fração não comestível. Outra investigação de toda a fração não comestível da jaca foi o desenvolvido por Subburamu¹¹⁴, que identificou que 59% do peso total da jaca pertence à fração não comestível; e que este material depois de seco e analisado quimicamente poderia ser utilizado como adjunto na preparação de ração animal, visto ser uma fonte rica em carboidrato, proteína, gordura, minerais e aminoácidos¹¹⁵.

Chowdhury, Raman e Mian identificaram e quantificaram por cromatografia gasosa, através de seus derivados trimetilsilanizados e metil ésteres, os açúcares livres e os ácidos graxos nas diversas partes da fruta. Frutose, glicose e sacarose foram os açúcares majoritários em todas as partes da fruta e os ácidos graxos: caprílico, mirístico, láurico e palmítico, oleico, esteárico, linoleico e aracnídeo foram os reportados como majoritários^{116,117}.

Mais recentemente, Maia e cols. (2004) utilizando SDE por 3 horas e comparando os voláteis de jaca mole e jaca dura, identificaram na jaca dura 20 compostos, sendo 13 ésteres, 4 álcoois, 2 ácidos e 1 aldeído com contribuição majoritária e na jaca mole, 31 componentes sendo 21 ésteres, 4 álcoois, 3 aldeídos e 3 hidrocarbonetos, sendo majoritários em ambas amostras o isovalerato de isopentila¹¹⁸. Avaliações sensoriais não foram abordadas neste trabalho.

1.3.2 MURICI (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)



Figura 9: Muruci

Entre as frutas regionais brasileiras que costumam aparecer nos pregões matinais dos vendedores ambulantes, em especial nas capitais da região Norte e Nordeste, o muruci (figura 9) certamente tem um lugar de destaque e, dependendo da época do ano, ocupa o mesmo espaço destinado a frutas tão importantes como graviola, jambo, caju e pitomba.

Em suas diferentes variedades, os murucis, também referidos como muricis, distinguem-se também por suas cores e locais de ocorrência. Assim, são conhecidos o muruci-amarelo, o muruci-branco, o muruci-vermelho, o muruci-de-flor-branca, o muruci-de-flor-vermelha, o muruci-da-chapada, o muruci-da-mata, o muruci-da-serra, o muruci-das-capoeiras, o muruci-do-campo, o muruci-do-rejo, o muruci-da-praia, entre outros.

O muruci classificado como *Byrsonima crassifolia* L. Rich., da família Malpighiaceae, é o mais conhecido e o que fornece os frutos mais apreciados¹¹⁹. É um fruto pequeno e amarelo, saborosíssimo e suavemente perfumado com polpa carnosa e translúcida e sementes de coloração creme. Frutifica de abril a junho e as sementes germinam em solo argiloso necessitando de local sombreado. O seu desenvolvimento é lento e a árvore também é utilizada como ornamental, se apresentando em até 5 m de altura com tronco cilíndrico, casca escura, áspera e copa estreita, com folhas verdes e rígidas e flores de coloração alaranjada aparecendo de janeiro a março.

Alves & Jennings (1979) foram os pesquisadores que primeiro relataram a composição de voláteis de muruci através do uso da destilação e extração simultâneas (SDE) em polpa industrializada; identificando 23 substâncias⁷⁹. Os compostos majoritários foram ésteres, dentre estes butirato, hexanoato e octanoato de etila como predominantes. Além destes compostos outros como: hexanoato de butila, hexanoato de metila, octanoato de metila e hexanal foram associados ao aroma da fruta. Mais recentemente, os compostos voláteis do “headspace” de muruci foram investigados por Alves & Franco (2003), que atestaram a presença dos compostos identificados por Alves & Jennings, além de outros compostos aromáticos como ácidos butanóico e hexanóico e o composto sulfurado 3-metiltio-propanoato de metila⁵⁰. Segundo os autores o aroma característico de muruci está possivelmente associado aos ácidos graxos, embora nenhuma avaliação sensorial tenha sido feita.

2. OBJETIVO

A riqueza natural encontrada no Brasil pode levar a obtenção de vários aromas ainda não descobertos, visto que as espécies já investigadas ainda representam um pequeno percentual da rica diversidade presente no país. A fim de contribuir neste campo tão rico da biodiversidade procurou-se neste trabalho:

- Caracterizar os voláteis presentes nas frutas Jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) e Muruci (*Byrsonima crassifolia* L.).
- Caracterizar sensorialmente, através de seu perfil aromático, as frutas Jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) e Muruci (*Byrsonima crassifolia* L.)
- Determinar os compostos de impacto (de menor limiar de percepção ou menor “threshold”) das frutas em questão a fim de reproduzir o aroma das mesmas através da composição das substâncias de impacto (composição de essência).
- Investigar os possíveis precursores glicosilados de aroma das frutas Jaca e Muruci.
- Investigar um método alternativo de hidrólise de glicosídeos diferentemente dos métodos de hidrólise ácida e/ou enzimática, explorando reações de substituição nucleofílica bimolecular no centro anomérico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

- (RMN¹H e RMN¹³C) - 200 ou 300 MHz e 50 ou 75 MHz, respectivamente, em aparelho Bruker DRX-200 e DRX-300, utilizando o tetrametilsilano (TMS) ou o núcleo do hidrogênio residual do clorofórmio deuterado (CHCl₃) como referencial interno, sendo os valores de deslocamento químico (δ) expressos em partes por milhão (ppm).
- Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em espectrofotômetro Nicolet-Magna 760 utilizando pastilhas de brometo de potássio ou cloreto de potássio. Os valores para as absorções são referidos em números de ondas, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).
- Os Pontos de fusão foram obtidos em MEL-TEMP II, laboratory devices, USA e não foram corrigidos.
- Balança analítica OHAUS, GA 110 (4 casas decimais)
- Os espectros de massa foram obtidos em equipamento CG-EM/FID Agilent 6890/5973

3.1. AMOSTRAGEM

Jaca – Frutas maduras foram coletadas manualmente no período de abril de 2000 a abril de 2003 (anualmente e armazenadas em freezer até o processamento) no município de Sacra Família do Tinguá, Paulo de Frontin, Rio de Janeiro. As jacas apresentavam-se intactas com odor frutal característico e consistência típica de jaca “dura”. A jaca foi despolpada, os “gomos” foram pesados e usados diretamente nas análises de voláteis

Murici – Frutas maduras foram compradas no mercado do Ver-o-Peso, Belém, Pará, nos meses de janeiro de 1999 e janeiro de 2000. As frutas apresentavam coloração amarelada e odor característico.

3.2. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

3.2.1.SDE - A extração foi realizada segundo aparelhagem descrita por Likerson & Nelson durante 3h, 2h, 1h e 15 min. 50g de cada fruta separadamente, juntamente com 50 mL de água destilada, foram adicionadas ao balão de maior capacidade (200 mL) enquanto ao balão de menor capacidade (5 mL) foi adicionado 2 mL de diclorometano (grau espectroscópico). O dedo frio foi mantido em 5 °C com a ajuda de um banho de resfriamento. O balão maior foi mergulhado em um banho de óleo, aquecido por uma placa de agitação e aquecimento Corning, e estabilizado em 120 °C, enquanto o balão menor foi mantido a 50 °C com o auxílio de uma segunda placa de agitação e aquecimento. O extrato orgânico obtido foi acondicionado em frasco com tampa rosqueada. Os experimentos foram realizados em triplicata a cada amostragem.

3.2.2. ANÁLISE DAS SEMENTES DE MURUCI – Duas porções de 25 g de sementes de muruci foram trituradas e maceradas. Uma delas sofreu extração com diclorometano por 2 h a temperatura ambiente, sendo posteriormente filtrada e concentrada; apresentou rendimento de 1,56g de óleo. (Fração A). Outros 25g sofreram extração com clorofórmio/metanol (2:1, 200mL), foram filtrados e concentrados. O resíduo foi saponificado com KOH/etanol (10%*m/v*) por 3 h. O material foi extraído com hexano (3 X 50 mL) e a fase aquosa foi acidificada com HCl (pH 2), extraída com éter etílico (3 X 50 mL) e seca sob MgSO₄ anidro, apresentou rendimento de 0,52g (Fração B). Os experimentos foram realizados em triplicata a cada amostragem.

3.2.3.HEADSPACE – A extração de 150g das frutas foi feita utilizando-se um enlenmeyer de 2 litros contendo uma junta esmerilhada 20/32, através do qual foi adaptado um dedo frio, permanentemente abastecido com gelo seco. O erlenmeyer foi imerso em banho de água a 40°C durante 14 horas, sendo que a coleta dos voláteis adsorvidos no dedo frio foi feita a cada 30 min através da raspagem da superfície do dedo frio para um bécher, seguida da lavagem com 2 mL de diclorometano grau espectroscópico. Ao final das 14 horas de extração, o extrato aromático obtido foi saturado com cloreto de sódio, extraído com mais 2 mL de diclorometano, seco sob Na₂SO₄ anidro, filtrado com o auxílio de uma pipeta Pasteur com algodão lavado na ponta e concentrado a 0,5 mL em aparelhagem de

destilação contendo uma cabeça de Claisen, com dedo frio resfriado a 5 °C e a uma temperatura não superior a 40°C. O extrato concentrado foi acondicionado em frasco rosqueado e mantido no freezer até o momento das análises. Os experimentos foram realizados em triplicata a cada amostragem.

3.2.4.EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO – Adicionou-se ao extrator líquido-líquido 60 mL de polpa de fruta (procedimento feito para 30g jaca em 50mL de água) e no balão adaptado a saída lateral do extrator foram adicionados 50 mL de pentano (grau espectroscópico) e pedra pomes. Adicionou-se sobre o extrato de jaca, no corpo central da aparelhagem, mais pentano até que o mesmo retornasse ao balão da saída lateral que já continha solvente. Adaptou-se o condensador resfriado com água a 5 °C à aparelhagem central e o balão com pentano foi aquecido a uma temperatura de 40 °C com banho de água. Durante a extração, por um período de 2 horas, manteve-se a mistura polpa/solvente em constante agitação com o uso de uma barra magnética. Os experimentos foram realizados em triplicata a cada amostragem.

Ao final o extrato em pentano foi concentrado a 5 mL em aparelhagem de destilação com cabeça de Claisen com dedo frio resfriado a 5 °C. O extrato foi acondicionado em frasco com tampa rosqueada e mantido em freezer até o momento das análises.

3.2.5.SPME – Adicionou-se 10 g de polpa de fruta em frasco erlenmeyer com capacidade de 25 mL, vedado com septo e imerso em banho de água a 40°C. Introduziu-se a seringa de SPME pelo septo, expondo a fibra adsorvente acima da matriz (aproximadamente 3 cm) durante 40 minutos. Ao final deste tempo, recolheu-se a fibra adsorvente para dentro da seringa SPME e a mesma foi levada para o injetor cromatográfico onde foi feita a dessorção dos voláteis e sua análise. Para a dessorção, a agulha da seringa foi introduzida no injetor cromatográfico aquecido, contendo “liner” sem empacotamento e a fibra impregnada com os voláteis foi exposta por 2 minutos a temperatura de 240°C no próprio injetor. O injetor foi mantido no modo “splitless” por 2 minutos. Após 2 min de dessorção a fibra foi recolhida e a seringa retirada do injetor cromatográfico. Os experimentos foram realizados em triplicata a cada amostragem.

As diferentes fibras utilizadas foram condicionadas antes do uso. Este condicionamento consistiu na exposição da fibra a 240°C no injetor cromatográfico durante 20 minutos. Durante este período acompanhou-se o sinal cromatográfico para monitoramento da fibra. As fibras utilizadas foram: PDMS (polidimetilsiloxano) de 100µm de espessura de fase, PA (poliacrilato) com 85µm, CAR-PDMS (carboxen-polidimetilsiloxano) de 75µm e DVB-PDMS (divinilbenzeno-polidimetilsiloxano) de 65µm.

3.2.6. ISOLAMENTO DA FRAÇÃO GLICOSÍDICA

Tratamento da resina XAD-2 - 100 g de XAD-2 foram lavados exaustivamente com pentano (14h), acetato de etila (14h) e Metanol (28h) (todos grau de pureza PA) em aparelhagem Soxhlet e acondicionadas em água destilada.

1 Kg da polpa de jaca/murici foi homogeneizada em liquidificador com 1000 mL de água destilada. O homogeneizado obtido foi então submetido à centrifugação em aparelho Sorvall RC 26 Plus, numa temperatura de 20-24 °C, a 6000rpm durante 20 minutos. O sobrenadante obtido (1,5L) foi submetido a uma coluna de vidro (25 X 2 cm) recheada com XAD-2, previamente tratado à vazão de 2 mL/min. Em seguida, à mesma vazão, a coluna foi eluída com água destilada (2000 mL), diclorometano grau espectroscópico (1000 mL), acetato de etila (1000mL) e MeOH/H₂O (20:80, 40:60, 60:40, 80:20 e 100% de metanol (500mL para cada eluente). As frações em ACOEt, MeOH/H₂O e MeOH foram evaporadas em evaporador rotatório (60°C) lavadas com diclorometano, filtradas e secas em alto vácuo até a obtenção do resíduo seco. O resíduo foi mantido sob refrigeração até o momento de derivatização para posterior análise.

3.3. REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO

A 2,0 mg das frações ou padrões foram adicionados 200 µL de BSTFA [*N,O*-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida, Aldrich] e 200µL de piridina anidra. Em seguida o frasco foi fechado e mantido a uma temperatura de 60°C durante 20 minutos. A fração derivatizada foi mantida sob refrigeração até o momento das análises cromatográficas. Foram derivatizadas as seguintes amostras: frações em metanol e em acetato de etila de jaca e muruci e os açúcares livres: arabinose, xilose,

raminose, manose, glicose, frutose, galactose, sacarose, além dos glicosídeos *n*-butil, *n*-hexil, etil-hexil, *n*-octil, *n*-decil-glicosídeos, fenil e mentol glicosídeos.

3.4. PRODUTOS SINTETIZADOS:

3.4.1. Obtenção do *n*-hexil-*O*- β -(D)-glicopiranosídeo pelo procedimento de Koenigs-Knorr¹²⁰

3.4.1.1. D-Glicose Peracetilada¹²¹: 1,0 g de D-glicose (0.0055mols) foi adicionada, com agitação, a uma mistura de 15 mL de anidrido acético PA (recém-destilado) e 0,09 mL de ácido perclórico PA. Deixou-se a mistura total sob agitação por 30 min a uma temperatura de 40 °C em placa de agitação e aquecimento. Ao final de 30 min a mistura reacional foi “vertida” sobre um banho de gelo-água, com adição de Na₂CO₃ até o final da liberação de CO₂. Cristais brancos do produto foram obtidos. Estes ainda foram lavados com água, filtrados e mantido em dessecador. A glicose peracetilada foi caracterizado por IV (bandas característica de éster 1248cm⁻¹ (C-O) 1742cm⁻¹(C=O) e ponto de fusão (P.F. = 110°C). Rendimento obtido: 80%.

EMIE (70ev), m/z (intensidade relativa): 43 (100), 72 (8), 98 (30), 115 (38), 140 (10) 157 (30), 200 (12), 242 (10), 317 (1), 347 (1).

3.4.1.2. α -Bromo tetra-*O*-acetil (D)-Glicose¹²¹: a 3 g (0.0077mols) de glicose penta acetilada foi adicionado gota a gota e sob agitação, 1,5 ml de uma solução de HBr em HAc (33%). A mistura reacional sofreu agitação por 40 min. Ao final deste tempo, foi adicionado à mistura reacional 6 mL de CHCl₃, seguido de lavagem com H₂O e NaHCO₃, a fração orgânica foi seca com Na₂SO₄ e concentrada em evaporador rotatório. O extrato seco retomado em éter de petróleo sob agitação e banho de gelo, e deu como produto um precipitado branco, o brometo de tetra acetil glicose (2,65g). Rendimento obtido = 65%

EMIE (70ev), m/z (intensidade relativa): 43 (100), 69 (3), 109 (35), 127 (16), 145 (5) 169 (56), 187 (2), 211 (2), 229 (2), 331 (2).

RMN ^1H (200MHz) CDCl_3/TMS (δ -ppm) 2,03-2,17 (12H, 4s, CH_3COO), 4.1-4.3 (3H, m, H-5, H-6a e H-6b); 4.8 (1H, dd, $J=4,0$ Hz, 9,9 Hz, H-2); 5.1-5.6 (2H, 2t, $J=9,8$ Hz, H-3 e H-4) e 6,60 (1H, d, $J = 5,0$ Hz, H-1) Destacando-se o dubleto em 6,60 ppm ($J=5\text{Hz}$), característico de acoplamento axial-axial de H-1 com H-2.

3.4.1.3. Síntese do Trifluoracetato de Prata¹²¹:

3.4.1.3.1. Óxido de Prata: 1,32 g de NaOH (0,032 mol) em 10 mL de H_2O foram adicionados sob agitação, a uma solução de 5,48 g (0,032 mol) de AgNO_3 em 10 mL de H_2O . O precipitado obtido foi recolhido por filtração e lavado com água até que a mesma não apresentasse mais pH básico.

3.4.1.3.2. Trifluor Acetato de Prata: À suspensão de 3,74 (0,016 mol) de óxido de prata em 4 mL de H_2O foi adicionado, gota a gota, ácido trifluoracético até que a suspensão inicialmente observada se tornasse uma solução límpida. A solução resultante foi filtrada e o filtrado seco em evaporador rotatório. O trifluoracetato de prata, sal de coloração branca foi obtido com 80% de rendimento (4.2g) apresentou P.F. = 260°C .

3.4.1.4. *n*-Hexil-*O*- β -(D)-glicopiranosídeo peracetilado – metodologia de Köenigs-Knorr – Em banho de gelo, adicionou-se 0,5g de peneira molecular, 0,2533g de α -bromo-tetraacetil-(D)-glicose (0.62mmol) e 0,1235g (0,56mmol) de CF_3COOH recém preparado em 5 mL de éter etílico. Após rápida homogeneização, adicionou-se à mistura reacional 207 μL de *n*-hexanol e 1 mL de $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ (MOLES), deixando a mesma sob agitação e banho de gelo por 60 minutos. Após 1 hora, filtrou-se a mistura reacional sob vácuo em coluna de cloreto de cálcio e celite, lavando a mesma com éter etílico. Após evaporação do solvente, obteve-se um óleo amarelo claro translúcido (220mg). O óleo foi submetido a cromatografia em coluna aberta de sílica gel (1,2 cm de diâmetro externo e 30 cm de comprimento) e eluída com gradiente hexano/acetato de etila. O glicosídeo puro foi obtido com a mistura 17 % hexano/acetato de etila. O rendimento obtido foi de 30% (75,5mg).

3.4.1.5. Desacetilação do *n*-hexil-*O*-acetil- β -(D)-glicopiranosídeo¹²² - A temperatura ambiente e sob agitação, adicionou-se 16,2 mg de KCN em 8 mL de MeOH a 222 mg do *n*-hexil-*O*-acetil- β -(D)-glicopiranosídeo. Deixou-se a mistura reacional sob agitação por 6 horas. Após as 6 horas, filtrou-se a mistura em celite, lavou-se com MeOH e evaporou-se o solvente. Após evaporação, obteve-se um óleo incolor com 70% de rendimento (69,5 mg). Produto caracterizado por IV e RMN.

EMIE (70ev), m/z (intensidade relativa): 43(10), 73(40), 191(10), 204(100), 217(20), 231(5), 405(5), 447(5), 537(7).

RMN ¹H (300 MHz) CDCl₃ (σ -ppm): 0,87 (3H, t, J=3Hz, CH₃-aglicona), 1,27 (2H, m, J=9Hz, CH₂-aglicona), 1,60 (2H, m, J=9Hz, CH₂-aglicona), 3,3 (4H, m, J=8.5Hz, CH₂-aglicona), 3,8.1 (4H, m, J=9Hz, CH₂-aglicona), 3,8 (3H, m, J=6Hz, CH₂-aglicona), 4,3 (2H, d, 8Hz, CH-anomérico). Destaque para o dubleto em 4,47 (J=8Hz) característico do acoplamento equatorial-axial de H-1 e H-2).

RMN ¹³C (50 MHz) CDCl₃ (σ -ppm): 14,21 (C-1, CH₃-aglicona), 22,80 (C-2, CH₂-aglicona), 25,59 (C-3, CH₂-aglicona), 29,72 (C-4, CH₂-aglicona), 31,86 (C-5, CH₂-aglicona), 61,39 (C-6, CH₂-Oglicose), 69,58 (C-2, CHglicose), 70,69 (C-3, CHglicose), 73,54 (C-4, CHglicose), 75,77 (C-5, CHglicose), 102,96 (C-1, CHglicose, C-anomérico).

3.4.2. α e β -D-glucopiranosídeos pela metodologia de Fischer (*n*-butanol, etilhexanol, *n*-octanol e *n*-decanol)¹²³.

3.4.2.1. *N*-Butil- α e β -D-glucopiranosídeos – A 4 g (2,24 mmol) de D-glicose foi adicionado, com agitação, a mistura de 27,5 mL (0,22 mol), 80 mL de dioxana e 0,7 g (3,7 mmol) de ácido *p*-tolueno sulfônico monohidratado. Após a neutralização e evaporação do solvente, o excesso do álcool foi destilado e evaporado em alto vácuo. O resíduo obtido foi suspenso em água e extraído como tolueno por duas vezes. A fração aquosa foi filtrada em sílica, lavada com a mistura 9:1 ACOEt – ETOH e liofilizada. Obteve-se um líquido levemente amarelado com 50% de rendimento. (2,05g).

O mesmo procedimento anterior foi usado para a obtenção dos α - e β -D-glucopiranosídeos do 2-etil-hexanol, *n*-octanol e *n*-decanol, mantendo-se as relações molares, sendo que no caso da reação com *n*-octanol e *n*-decanol o ácido *p*-tolueno sulfônico foi substituído por H₂SO₄ 96%. Todos os produtos obtidos apresentaram-se como líquidos levemente amarelados e com 40% de rendimento (1,65g). Os produtos obtidos foram derivatizados com BSTFA segundo o procedimento citado anteriormente (item 3) e analisados por CGAR-EM.

Os produtos trimetilsilanizados acima descrito foram analisados com base no trabalho sugerido por Adasch e cols (1998) e por CG-EM cujos fragmentos comprovam a existência de carboidrato trimetilsilanizados¹²³.

TABELA 02: FRAGMENTOS DE MASSA DOS GLICOSÍDEOS SINTETIZADOS

Glicosídeos	Fragmentos de massa dos glicosídeos obtidos por glicosilação de Fischer - m/z (intensidade relativa) – EMIE
<i>n</i> -butil glicosídeo	509(1), 435(1), 361(2), 305(2), 231(3), 217(18), 204(100), 175(22), 147(16), 133(9), 117(5), 103(6), 73(44), 57(4)
<i>n</i> -hexil glicosídeo	447(1), 405(1), 361(2), 305(2), 231(3), 217(17), 204(100), 191(3), 147(16), 129(6), 117(5), 103(6), 73(32), 43(9)
etil-hexil glicosídeo	361(2), 305(2), 231(10), 217(12), 204(100), 191(3), 147(12), 129(4), 117(3), 103(4), 81 (2), 73(36), 43(6)
<i>n</i> -octil glicosídeo	475(1), 433(1), 361(5), 305(5), 281(12), 231(16), 217(28), 206(95), 204(100), 191(16), 147(24), 129(10), 117(10), 103(16), 96(10), 73(64), 55(16), 44(40)
<i>n</i> -decil glicosídeo	503(1), 461(1), 361(5), 305(2), 259(15), 231(3), 217(15), 204(100), 147(12), 117(10), 103(4), 73(33), 43(6)

3.5. REAÇÃO DE LIBERAÇÃO DA AGLICONA VOLÁTIL (*n*-hexanol)

1° experimento:

132 mg do *n*-hexil glicosídeo (0,5 mmol) e 83 mg de KI (0,5 mmol) – 1:1 – em 5 mL de DMSO/pentano sob agitação constante a temperatura ambiente foi posto a reagir durante 3 horas continuadas por 3 dias consecutivos.

Segundo dados da cromatografia em camada fina (CCF) e da cromatografia em fase gasosa (CGAR-MS) não houve liberação de hexanol durante as três primeiras horas e nem após 3 dias de reação.

2° experimento

132 mg de *n*-hexil glicosídeo (0,5 mmol) e 83 mg de KI (0,5 mmol) – 1:1 – em 5 mL de DMSO/pentano sob agitação constante em refluxo foi posto a reagir durante 3 horas, em princípio e continuadas por 3 dias consecutivos. Após o isolamento da reação não se observou liberação visto o hexil glicosídeo padrão colocado no início da reação, ser totalmente recuperado no tempo final de reação.

3° experimento

Observados estes resultados tentou-se reagir 132 mg do *n*-hexil glicosídeo com 415 mg de KI (2,5 mmol) em 5 mL de DMSO/pentano sob agitação constante e refluxo (60°C). Após 3 dias de reação não houve liberação de aglicona.

3.8.1. HIDRÓLISE ÁCIDA¹²⁴

A 2,0 mg da fração “glicosídica” (frações em ACOEt, MeOH/H₂O, MeOH) foram adicionados 5,0 mL de HCl 0,5 M em aparelhagem de SDE com diclorometano PA e mantida sob aquecimento (100°C) durante 2 horas. A fração em diclorometano foi mantida sob refrigeração até o momento de análise.

3.7. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

3.7.1.A 1,0 mg da fração em acetato de etila (livre de odor) foi adicionada 1,0 mg de enzima β-glicosidase e 2,0 mL de tampão pH 5 (vide item 3.7.2) em frasco vedado e a mesma mantida sob aquecimento (35°C) durante 3 dias. Após 3 dias o extrato enzimático, agora com aroma, foi saturado, extraído com diclorometano e concentrado. A amostra em diclorometano foi mantida sob refrigeração até o momento de análise.

3.7.2.Solução Tampão pH 5,0 – Foram misturados 24,3 mL de solução de ácido cítrico 0,1 M em água e 25,7 mL de solução 0,2 M de fosfato de sódio dibásico em água, sendo a mistura diluída para um total de 100 mL de solução tampão.

3.8. CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS – CGAR-EM

3.8.1 Coluna: JWDB-1 - fase estacionária: dimetilpolisiloxano (30 m x 0.25 mm D.I. x 0,25 µm E.F.)

- **Injetor:** split/splitless - 240°C
- **Agilent 5973 Network Mass Selective Detector**, impacto de elétrons: 70eV, temperatura da linha de transferência: 280°C, aquisição de dados: modo scan (2.89scan/segundo). Temperatura do Quadrupolo 150°C e Temperatura da Fonte 230°C e Banco de dados: NIST MS Search Program, versão 1.7 e WILEY 275.
- **Condições Cromatográficas:**
Gás de arraste: Hélio
Pressão na cabeça da coluna: 8 psig
Tipo de injeção: splitless [tempo de válvula: 0,5 min (SDE, Extração Líquido-Líquido, “Headspace” e frações trimetilsilanizadas); 2 min (MEFS)] e split 1:20 para os padrões de açúcares e glicosídeos sintetizados.

Programação de temperatura no forno cromatográfico:

temperatura (°C)	taxa de aquec. (°C/min)	tempo (min)
35	-	2
150	3	0
220	7	15

Estas condições cromatográficas foram usadas para análise das amostras de SDE, MEFS e EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO.

- **Programação de temperatura no forno cromatográfico:**

temperatura (°C)	taxa de aquec. (°C/min)	tempo (min)
35	-	1
150	10	0
260	2	0
290	5	15

Condição cromatográfica utilizada nas análises de açúcares livres e glicosídeos.

temperatura (°C)	taxa de aquec. (°C/min)	tempo (min)
40	-	0
290	5	20

Condição cromatográfica utilizada nas análises de semente de muruci.

3.8.2. Coluna DB-WAX

Comprimento: 30 metros

Espessura de fase: 0,25 µm

Diâmetro interno: 0,25 mm

Injetor: split/splitless - 240°C

Detetor: Agilent 5973 Network Mass Selective Detector, impacto de elétrons: 70eV, temperatura da linha de transferência: 280°C, aquisição de dados: modo scan e Banco de dados: NIST MS Search Program, versão 1.7,2000.espectrometria de massas

CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS: gás de arraste: hélio

pressão na cabeça da coluna: 8 psig

tipo de injeção: splitless

tempo de válvula: 0,5 min.

temperatura (°C)	taxa de aquec. (°C/min)	tempo (min)
35	-	8
150	3	0
220	5	15

Somente para a amostra de “HEADSPACE” da Jaca.

temperatura (°C)	taxa de aquec. (°C/min)	tempo (min)
40	-	5
150	5	0
220	8	25

Somente para as amostras de murici: “Headspace” e SDE

3.9. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE RETENÇÃO¹²⁵

Os índices de retenção para os constituintes das amostras de “headspace”, SDE, SPME e extração líquido-líquido foram determinados de acordo com as condições cromatográficas de seus extratos.

No cálculo dos índices de retenção foi necessária a injeção dos padrões de n-alcenos (C5-C30), nas mesmas condições especificadas para seus extratos, de acordo com a metodologia de Kováts.

3.10. AVALIAÇÃO AROMÁTICA VIA CG- DIVISOR DE FLUXO (“ SNIFFING-PORT”)

Realizada no detetor olfativo, “sniffing-port”, de acordo com as Figuras 10 e 11 e descrição que se seguem:

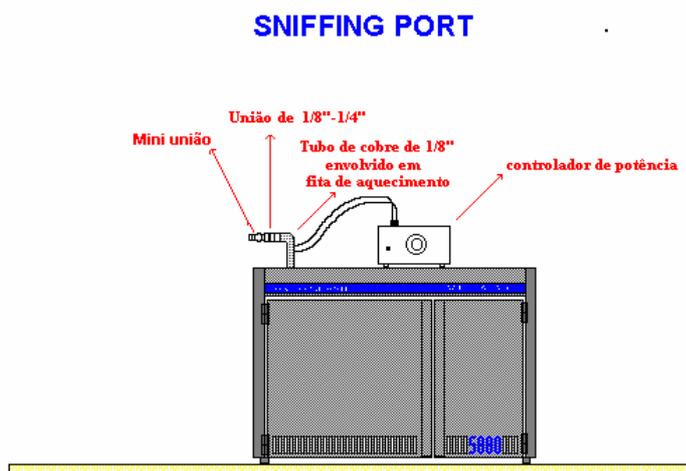


Figura 10: Representação esquemática do detector olfativo (“sniffing-port”)

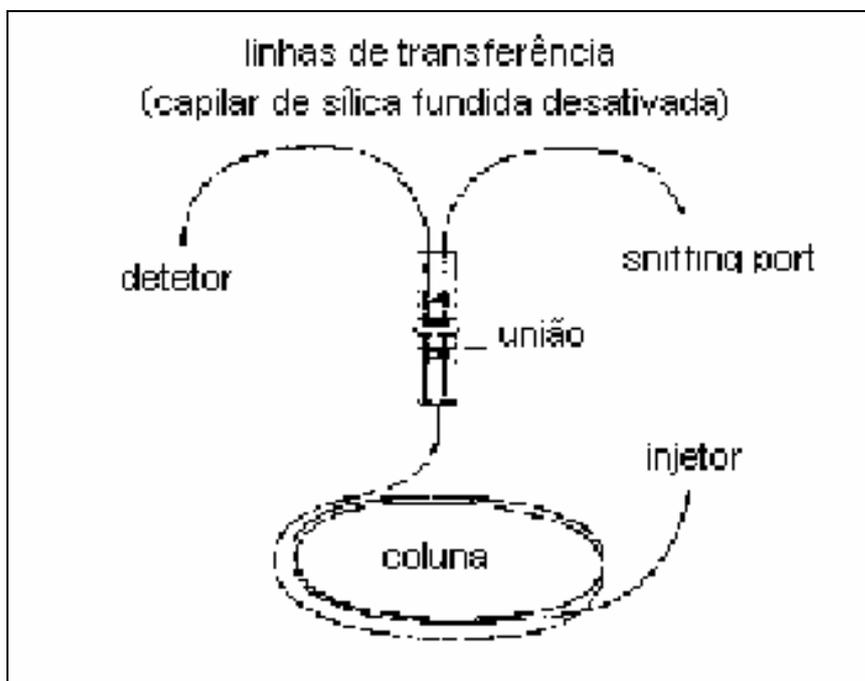


Figura 11: Divisor ou *Splitter*

A Figura 10 apresenta dois tubos de aço inoxidável sendo um de 1/8" e outro de 1/16" com comprimentos de 30 cm, onde o de menor diâmetro entra no maior.

Estes tubos são chamados de linha de transferência. Esta deve ser colocada de tal maneira que, aproximadamente, 5 cm fique dentro de forno cromatográfico e outros 25 cm restantes saiam para fora do cromatógrafo. Faz-se necessário, caso na parede superior do cromatógrafo não tenha nenhum furo ou nenhum injetor empacotado, dar um pequeno furo a fim de possibilitar a passagem desta linha de transferência para fora do aparelho cromatográfico. Esta parte do detetor olfativo que fica para fora do aparelho cromatográfico deve estar envolta em uma fita de aquecimento a uma temperatura de 200°C, a fim de evitar a condensação da amostra que chegará nele. Com o detetor olfativo disponível e de posse da coluna cromatográfica a ser utilizada na análise, conectou-se ao final desta coluna um divisor de fluxo “splitter” de 2 saídas (Figura 11) iguais onde uma parte do fluxo vai para o detetor de espectrometria de massas e outra parte para o detetor olfativo, ou seja, o “sniffing port”, onde o avaliador faz a avaliação olfatométrica registrando o tempo de retenção correlacionado ao aroma percebido.

Os divisores disponíveis comercialmente são de 1:1, 1:5 e 1:10, onde estas divisões ocorrem em função do diâmetro interno do tubo capilar. No caso de avaliações aromáticas preliminares ou sabendo-se que a amostra se encontra muito diluída deve-se usar razão de split 1:5 ou 1:10, colocando-se para o espectrômetro de massas o tubo de maior diâmetro. Caso o objetivo seja a de coleta de algum pico de interesse, o tubo de maior diâmetro deverá ir para o detetor olfativo.

Em função do aquecimento necessário no “sniffing-port”, em torno de 200°C, pode ocorrer eventualmente um ressecamento das narinas. Um sistema umidificador, Figura 12, para levar ar umedecido ao nariz do avaliador, pode ser usado, caso necessário.

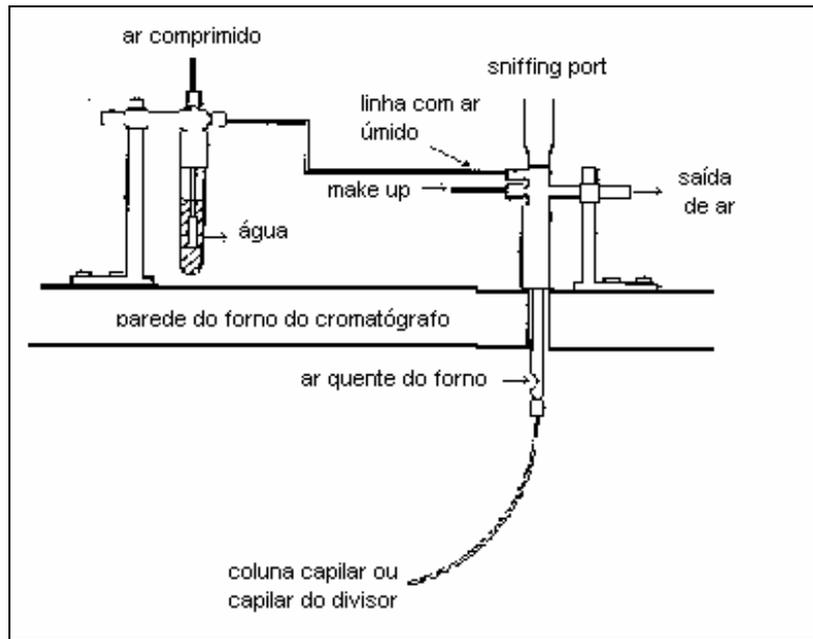


Figura 12: Sistema umidificador do “sniffing-port”

3.11. COLETA DE PICOS PARA OBTENÇÃO DA AMOSTRA COMPOSTA.

Injetou-se o extrato de “Headspace” da jaca em coluna CARBOWAX e somente nos tempos de retenção correspondente aos picos relativos as substâncias: butanoato de etila, 3-metil-butanoato de etila, butanoato de butila e 3-metil butanoato de butila conectou-se um pedaço de coluna capilar (pré-coluna) que se encontrava imerso em banho de gelo seco-acetona, na saída correspondente ao “sniffing-port” conforme Figura 13. Foram necessárias 3 coletas a fim de se ter uma essência das substâncias condensadas na pré-coluna para a avaliação olfativa. Após as 3 coletas, lavou-se com 0,01 mL de diclorometano (grau espectroscópico) a pré-coluna que continha os compostos condensados arrastando os mesmos para um frasco vedado. Obteve-se assim o extrato aromático correspondente a estas 4 substâncias.

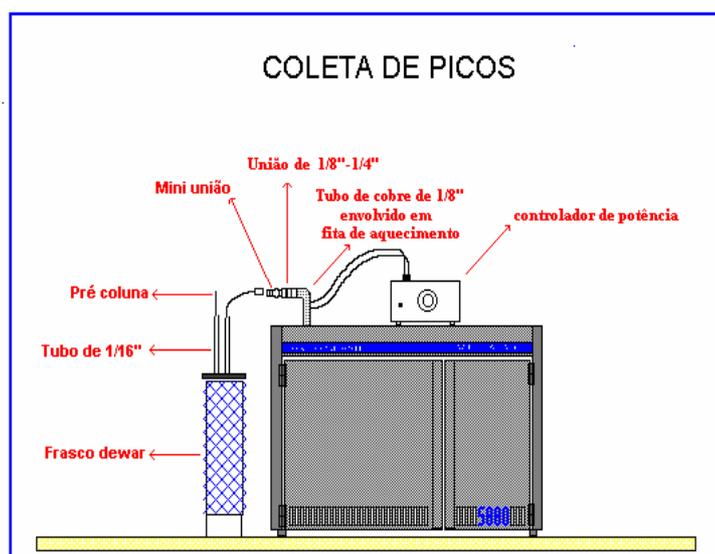


Figura 13: Sistema para coleta de picos cromatográficos

3.12. PROCEDIMENTO PARA A TÉCNICA DE AEDA (TÉCNICA DE DILUIÇÃO DE AMOSTRA)

Diluições do extrato aromático de interesse foram preparados por um fator de dois, várias vezes, formando uma série na qual cada diluição seria duas vezes mais concentrada do que a próxima diluição (diluições exponenciais). As mesmas variaram de 2^1 (fator de diluição 2) a 2^{10} (fator de diluição 1024). Foi escolhido CH_2Cl_2 como solvente de diluição. Uma alíquota dos extratos diluídos foi então analisada por CG-O para a determinação dos aromas sentidos nas diversas diluições. O tempo de retenção de cada odor foi detectado e seu odor descrito.

3.13. AVALIAÇÃO SENSORIAL – PLANEJAMENTO E TREINAMENTO DOS AVALIADORES

Inicialmente 10 voluntários fizeram uma avaliação com amostras conhecidas do dia-a-dia. Foram avaliadas amostras de café, chocolate, alho, orégano, balas de fruta, cravo e erva doce durante uma semana, duas vezes ao dia, sendo as avaliações longe dos horários das refeições. A estes voluntários foi pedido que durante as avaliações não utilizassem perfume, cremes perfumados e não ingerissem nenhum tipo de alimento a fim de não prejudicar a avaliação sensorial. Após compilados os resultados das avaliações, somente 08 voluntários, por

apresentaram nível de acerto acima de 70%, foram selecionados para treinamento olfativo.

O treinamento olfativo foi planejado combinando a norma NBR 14140 – Alimentos e Bebidas – Análise sensorial – Teste de análise descritiva quantitativa (ADQ), através da aplicação dos atributos sensoriais contidos na roda de flavor (figura 5) e da sequência adotada pela empresa Vitta Flavor Indústria e Comércio de Aromas Ltda., gentilmente cedida pelo Dr. Cláudio Miguel Martinez. Este último consistiu da avaliação diária de três padrões aromáticos diluídos, em princípio a 10% em etanol, durante uma semana. Após esta avaliação, os mesmos padrões foram avaliados a 1% e 0,1% em etanol. Os padrões utilizados no treinamento foram descritos de acordo com um vocabulário próprio padronizado. Além do treinamento descritivo foi efetuado um treinamento comparativo, a fim de identificar dentre várias amostras aquelas iguais e/ou diferentes.

Com os avaliadores já treinados nos testes descritivo e comparativo, novos treinamentos foram feitos, agora com as amostras que apresentassem as notas características das amostras em questão (frutas: jaca e murici).

3.13.1. ATRIBUTOS APRESENTADOS AOS AVALIADORES PARA TREINAMENTO

Notas (atributos) olfativas utilizadas no primeiro treinamento sensorial			
Ácido	Chá	Frutal	Metálico
Refrescante/mentolado	Alcoólico	Químico	Queijo
Condimentado	Floral	Cremoso	Herbáceo/amargo
Animal	Doce/balsâmico	Salgado	Terra/mofo
Madeirado	Torrado	Fenólica	Verde

Notas (atributos) utilizadas no segundo treinamento sensorial			
frutal	floral	cítrico	amargo/herbáceo
fermentado	“queijo”	doce	refrescante
verde	oleoso	salgado	alcoólico

3.14.FORMULÁRIOS APLICADOS NA AVALIAÇÃO SENSORIAL

A seguir serão apresentados os modelos dos formulários utilizados na avaliação sensorial.

Formulário 1

Nome do voluntário:Data:.....

Avalie sensorialmente as amostras abaixo, fazendo comentários e associações.

DESCRITORES	COMENTÁRIOS PESSOAIS/ ASSOCIAÇÕES
Café	
Chocolate	
Bala de fruta	
Alho	
Orégano	
Cravo	
Erva-doce	
Jaca (polpa)	
Murici (polpa)	

Formulário 2

Avaliador:Data:.....

Avalie sensorialmente as amostras abaixo, fazendo comentários e associações.

DESCRITORES	COMENTÁRIOS PESSOAIS/ASSOCIAÇÕES
Verde	
Floral	
Animal	
Mentolado	
Frutal	
Mofo/ fermentado/ terroso	
Químico	
Madeirado	
Doce/ Balsâmico	
Defumado	
Herbáceo	
Cremoso	
Codimentado	
Torrado	
Alcoólico	
Salgado	
“queijo”	
Metálico	
Chá	
Fenólico	

IV – Identificar em cada grupo de três amostras, se existe alguma diferente e qual (odor).

A1 _____ A2 _____ A3 _____
B1 _____ B2 _____ B3 _____
C1 _____ C2 _____ C3 _____

V – Qual produto lembra estas amostras ?

1 _____
2 _____
3 _____

VI – Identifique os odores das amostras:

1 _____ 2 _____
3 _____ 4 _____

3.15. TÉCNICA DESCRITIVA

As amostras envolvidas neste tipo de avaliação sensorial foram as da fruta jaca , dos extratos de SDE: 3 horas, 2 horas, 1 hora e 15 minutos de arraste, além do “Headspace” e do extrato oriundo da extração líquido- líquido e amostra coletada através do divisor de fluxo no CGAR.

As amostras foram então avaliadas em tiras papel canson (“tuchinho”), próprio para avaliação sensorial. A natureza da amostra não foi informada ao provador. Durante toda a avaliação a temperatura (22°C - 24°C), luminosidade e ruído da sala foram mantidos constantes.

Para a avaliação sensorial das amostras relativas a este trabalho foi utilizada uma equipe de 06 provadores treinados, visto que os mesmos além de apresentarem nível de acerto acima de 70% possuíam disponibilidade de horário para as avaliações que eram feitas regularmente ao longo do desenvolvimento deste

trabalho. Cabe ressaltar aqui, que nas avaliações sensoriais por cromatografia gasosa olfatométrica, somente três avaliadores participaram visto as mesmas exigirem uma maior disponibilidade de tempo.

O avaliador analisou individualmente a amostra e as diluições geradas pelo AEDA, descrevendo o aroma da mesma. Ao final de cada análise todas as avaliações foram agrupadas e interpretadas para a emissão do laudo que será apresentado ao longo de resultados e discussão.

3.16. TÉCNICA COMPARATIVA

Esta técnica foi utilizada para saber se existia diferença sensorial entre duas amostras. Basicamente esta técnica indica se as amostras são iguais ou diferentes, mas não necessariamente a natureza da diferença entre elas.

Em princípio as amostras relativas à técnica citada acima foram as de SDE (3, 2, 1 hora e 15 min), “Headspace”, Extração líquido-líquido, amostra coletada através do divisor de fluxo no CGAR e o padrão – jaca em gomos ou polpa de murici - onde as amostras foram chamadas A e o padrão B.

A ordem de apresentação AB e/ou BA é necessária a fim de não induzir o avaliador a um pré-julgamento. As duas amostras foram apresentadas simultaneamente, e o provador em função da característica ou atributo sensorial previamente definido (notas aromáticas: frutal, doce e típica de queijo azedo) pôde detectar diferenças ou não.

O procedimento de avaliação foi o mesmo definido para a técnica descritiva, porém, o intervalo entre uma e outra avaliação variou de 10 a 40 segundos. Somente após a memorização olfativa e o conhecimento da terminologia de algumas notas sensoriais, iniciou-se as avaliações sensoriais das amostras envolvidas neste trabalho.

4. RESULTADOS E DISCUSSAO

Para facilitar o entendimento de leitura, este tópico será itemizado da seguinte maneira: VOLÁTEIS (jaca e murici) e GLICOSÍDEOS (jaca e murici).

4.1. VOLÁTEIS

4.1.1 Análise dos voláteis de Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) por diferentes metodologias

A polpa de Jaca foi submetida à extração e destilação simultâneas (SDE), “Headspace” e extração líquido-líquido a fim de investigar qual extrato aromático seria o mais característico da fruta “in natura” e, assim, identificar os constituintes químicos de maior representatividade no aroma da fruta.

A extração por SDE foi realizada inicialmente com 3 horas de arraste. Em uma primeira avaliação olfativa observou-se, com muita nitidez, notas cozidas e fermentadas, não característica da fruta “in-natura”. Em função destes “off-flavors”, notas não características da matriz, foi feito um acompanhamento do processo de extração no qual foram retiradas alíquotas de 15 min, 60 min, 120 min e 180 min de arraste e as frações avaliadas olfativamente conforme será mostrado na tabela sensorial descritiva posteriormente.

As notas sensoriais de cozido/fermentado percebidas nos extratos provenientes do SDE apareceram possivelmente em função da alta temperatura a que a amostra foi submetida, pois reações de decomposição térmica de lipídeos, carboidratos e proteínas acontecem gerando notas típicas de alimentos processados tais como as observadas. As substâncias responsáveis por estes atributos sensoriais podem ter se formado em função das reações de Maillard e degradação de Strecker, reações não enzimáticas presentes em frutas e alimentos em geral, que geram tipicamente estas notas sensoriais, além de induzir o escurecimento da amostra, fenômeno este observado nas amostras de SDE. Muito provavelmente as substâncias responsáveis pelas notas de cozido e fermentado observadas são aquelas derivadas de furanona, piranonas e ou pirróis, como por exemplo o furaneol, maltol, acetil-pirrolina além de outros. Embora estas substâncias estejam relacionadas a degradação térmica de açúcares, algumas como furaneol e maltol já foram encontradas em frutas como abacaxi e morango¹²⁶.

Esta técnica de destilação e extração simultaneas (SDE) como comentado anteriormente em 2.1 de materiais e métodos envolve calor e, por conseguinte, perdas ou modificações podem ocorrer na composição de voláteis, assim como impurezas presentes no solvente podem contaminar o extrato gerando artefatos. A fim de minimizar e/ou identificar o momento da possível degradação dos compostos voláteis de interesse e a introdução de artefatos monitorou-se o tempo de análise e reduziu-se quantidade de solvente a ser utilizada na extração.

A extração líquido-líquido foi realizada, por duas horas, na polpa da jaca empregando pentano com solvente extrator de acordo com procedimento citado no ítem 2.4 de materiais e métodos. O pentano apresenta vantagens como baixo ponto de ebulição e baixa solubilidade em água, tornando a extração mais eficiente no que tange a formação de emulsão. Seu emprego juntamente ao éter etílico, em composições variadas, gerou turvação no extrato orgânico que, após secagem com agente dessecante (Na_2SO_4), revelou uma composição muito pobre na CG-EM, sendo assim abandonado este procedimento extrativo.

A análise por “headspace” foi realizada por 14 horas de coleta da fração gasosa em equilíbrio com a fruta, de acordo com procedimento citado em 2.3 de materiais e métodos. Após concentração das várias coletas obteve-se um extrato com aroma característico da fruta onde aromas com notas de cozido e fermentado não apareceram em nenhum momento no extrato gerado por esta metodologia. Observou-se ainda que a melhor forma de concentrar o extrato oriundo da amostragem por “headspace” foi com aquecimento a 40°C , pois a concentração sob vácuo provocou perda de voláteis na composição global.

Extratos provenientes do SDE, “Headspace” e Extração líquido-líquido foram submetidos à avaliação sensorial, de acordo com as técnicas descritivas e comparativas, com as seguintes finalidades:

1 – descrever os extratos obtidos de acordo com os atributos sensoriais normalmente aplicados na avaliação de extratos frutais, baseados na NBR 14140 – Alimentos e Bebidas – Análise sensorial – Teste de análise descritiva quantitativa (ADQ) e VITTA FLAVOR, que gentilmente cedeu os padrões para o treinamento dos provadores, conforme descrito anteriormente em Materiais e Métodos.

2 – Comparar os extratos obtidos da fruta SDE, ELL, HS à fruta “in-natura”, visando caracterizar qual o extrato mais fiel ao aroma natural. Este teste guiou os

ensaios olfatométricos associados à Cromatografia Gasosa, com o objetivo da elaboração de uma essência de jaca.

TESTES SENSORIAIS

Na análise olfatória evitou-se uma avaliação sensorial muito longa a fim de que não ocorresse saturação das vias olfativas, havendo perda de sensibilidade. Em função de variedades psicológicas e fisiológicas envolvidas em uma avaliação sensorial, as avaliações foram feitas em vários dias com os diferentes analistas a fim de diminuir estas variáveis. Participaram desta avaliação 6 analistas treinados em avaliação sensorial, treinamento este detalhado em Materiais e Métodos (ITEM).

Os resultados da avaliação olfativa empregando técnicas descritivas e comparativas estão apresentados nas tabelas que se seguem.

AVALIAÇÃO DESCRITIVA

Tabela 03: Análise Sensorial descritiva dos extratos de Jaca obtidos por SDE, “Headspace”, Extração Líquido-Líquido e dos gomos de jaca.

Avaliação descritiva dos extratos obtidos da jaca (amostras numeradas abaixo) (1)“headspace”, (2) ELL, (3) SDE-15min, (4) SDE-1h, (5) SDE-2h, (6) SDE-3h (7) padrão – gomos de jaca provedores: 6 As notas sensoriais consideradas foram aquelas que apareciam nas avaliações dos 6 provedores.	
Amostra	Laudo
1	Aroma de amplitude moderada, com notas doces, frutais, “queijo”
2	Aroma de amplitude intensa, muito doce, torrada, “doce enlatado” agradável
3	Aroma de amplitude moderada com notas frutais, doce e cozida
4	Aroma de amplitude moderada com notas frutais, salgadas e cozida
5	Aroma intenso com notas cozidas, codimentadas – desagradável
6	Aroma de amplitude intensa com notas salgada, cozida - desagradável
7	Aroma de amplitude intensa com notas doces, frutais, ácida (“queijo”)

De acordo com a tabela 3, observa-se semelhança nas descrições da amostra 1 (“headspace”) e da amostra 7 (gomos de jaca) sugerindo que a amostra mais representativa do aroma de jaca foi o extrato aromático proveniente do “headspace” (HS). A fim de ratificar esta observação, foi feita uma avaliação sensorial comparativa entre as várias amostras.

Tabela 04: Análise sensorial comparativa dos extratos de Jaca obtidos por SDE, “Headspace”, Extração Líquido-Líquido e dos gomos de jaca.

AVALIAÇÃO COMPARATIVA

Análise sensorial comparativa – Foram comparadas as amostras relativas aos extratos (1,2,3,4,5, 6 – códigos descritos na tabela 03) com o padrão (7) – gomos de jaca	
1 X 7	Amostras semelhantes entre si
2 X 7	Diferentes (principal atributo da diferença: aroma torrado)
3 X 7	Amostras que mostram alguma semelhança (principal atributo da diferença : nota levemente cozida)
4 X 7	Diferentes (principal atributo da diferença: nota salgada)
5 X 7	Diferentes (principal atributo da diferença: nota salgada)
6 X 7	Diferentes (principal atributo da diferença: nota salgada)

Com a observação da semelhança de descrição quanto aos atributos sensoriais das amostras “headspace” (1) e gomo de jaca (7) e com o resultado da avaliação comparativa descrevendo que as amostras 1 e 7 foram semelhantes entre si, pode-se concluir que a amostra mais representativa do aroma da Jaca foi realmente o extrato proveniente do “headspace”.

Embora o “headspace” tenha sido o extrato representativo do aroma da fruta, além dele, os extratos de SDE-15 min, por apresentar alguma semelhança com o aroma da fruta e o de Extração Líquido-Líquido por apresentar notas agradáveis aromaticamente, foram analisados por CG-EM.

Cabe ressaltar que os extratos oriundos da amostragem por SDE- 1h, 2h e 3h não foram analisados via CG-EM pela alteração do aroma da fruta, fugindo ao escopo do trabalho.

Na figura 14, está representado o CG-EM do SDE-15 min.

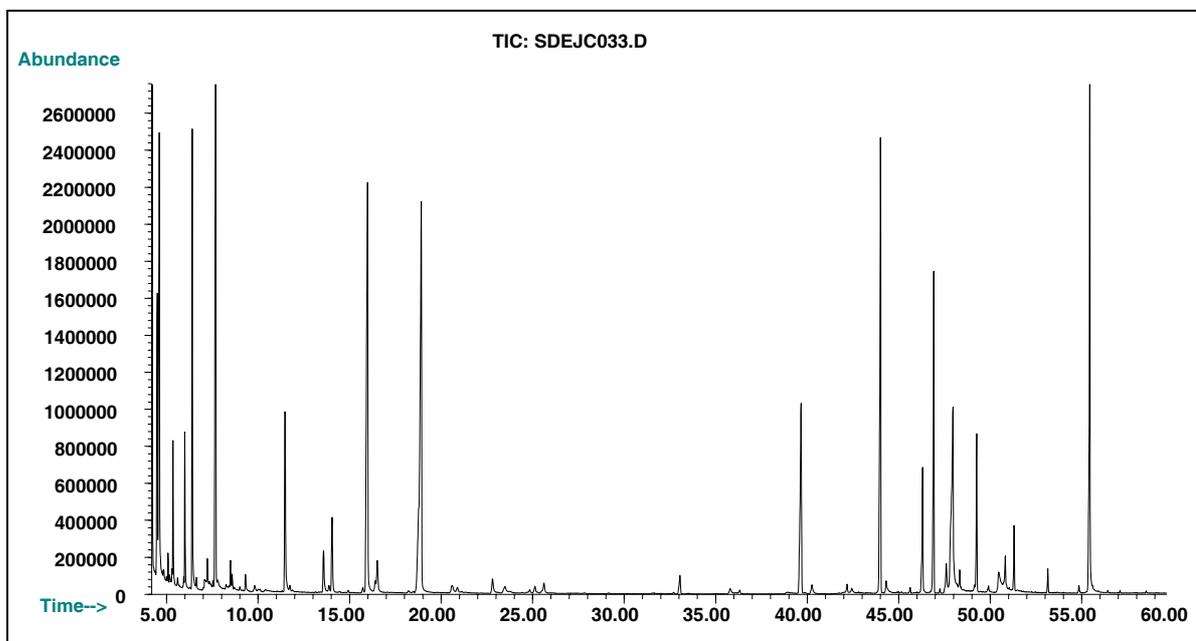


Figura 14: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por SDE-15 min (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

O monitoramento da extração de SDE em vários tempos, torna-se importante pois, na medida que o SDE dá o extrato representativo da fruta, etapas como concentração posterior e arraste durante 14 horas como no caso do “Headspace” poderiam ser suprimidas obtendo-se um extrato característico em menor tempo e já sem necessidade de concentração para análise cromatográfica. A pouca manipulação da amostra aromatizante é o ideal visto que a composição da mesma é de voláteis.

Tabela 05: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por SDE-15 min. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	Substância	IR	Área Relativa (%)
1	Butanoato de etila	784	2.39
2	Acetato de butila	794	1.47
3	<i>Trans</i> -2-hexenal	830	2.79
4	3-Metil-butanoato de etila	840	16.00
5	3-Hidroxi-butanoato de etila	912	0.44
6	3-Metil butanoato de propila	940	4.49
7	Butanoato de butila	978	3.46
8	<i>n</i> -Octanal	985	4.75
9	Isovalerato de isobutila	990	2.07
10	Isovalerato de butila	1020	19.15
11	Butanoato de isoamila	1044	1.83
12	Isovalerato de isoamila	1088	8.76
13	3-Metil butanoato de pentila	1150	15.23
14	Hexanoato de butila	1172	0.83
15	Isovalerato de 2-fenil-etila	1470	0.83
16	Acetato de fenil propila	1347	0.92
17	Ácido palmítico	1743	1.28
18	Palmitato de etila	1776	0.90
19	Oleato de etila	2155	4.08

A composição química da amostra de SDE-15 min da Jaca analisada por CG-EM associada aos índices de retenção permitiu identificar 19 compostos, sendo 84% de ésteres., 10% de aldeídos e 6% de ácidos. Dentre os ésteres identificados, observa-se que 63% correspondem aos ésteres ramificados (isovaleratos) e 37 % aos ésteres lineares. Os compostos majoritários conforme tabela 05 são os ésteres 3-metil butanoato de etila, 3-metil-butanoato de butila e 3-metil butanoato de pentila. Ésteres etílicos e butílicos provenientes de cadeia ácida C4 a C6 predominam na composição global observada. A literatura¹¹ propõe que os ésteres do tipo 3-metil-

butanoatos sejam biossintetizados pela L-leucina, aminoácido chave para a formação destes derivados gerando 3-metil-butiril-CoA, derivado do aldeído ativado via ácido lipóico.

Wong et al. (1992) e Maia et al. (2004)¹¹⁸ sugerem que álcoois e ésteres são os responsáveis pelo aroma de impacto da jaca em função das áreas obtidas. Muito provavelmente, a alta concentração de álcoois e ácidos nos extratos originados por Wong se deve as condições experimentais utilizados (SDE 3h) que, em função do aquecimento prolongado, pode ter gerado reações tais como hidrólise dos ésteres e conseqüentemente, a presença majoritária de álcoois e ácidos. Outra substância existente nos extratos gerados por Wong e provavelmente função do tempo prolongado e alta temperatura é a 2-acetil-1-pirrolina oriunda das reações de Maillard já comentadas anteriormente.

Mesmo que as possíveis reações de degradação possam ocorrer, a metodologia de SDE vem sendo muito utilizada no isolamento de voláteis^{94,95,98} de inúmeras frutas, sendo as mais recentes: Bacuri, Graviola, Cupuaçu, Acerola. A utilização desta metodologia em escala industrial torna-se vantajosa quando as notas sensoriais típicas de cozido, torrado e tostado são desejadas. Na escala analítica, a técnica oferece a vantagem de fornecer um extrato passível de ser avaliado posteriormente (ao contrário da técnica de SPME) através de uma metodologia simples.

Em função do perfil sensorial agradável identificado no painel olfativo, foi feita avaliação por CG-EM do extrato de jaca relativo a ELL e a mesma apresentou o perfil cromatográfico da Figura 15 abaixo:

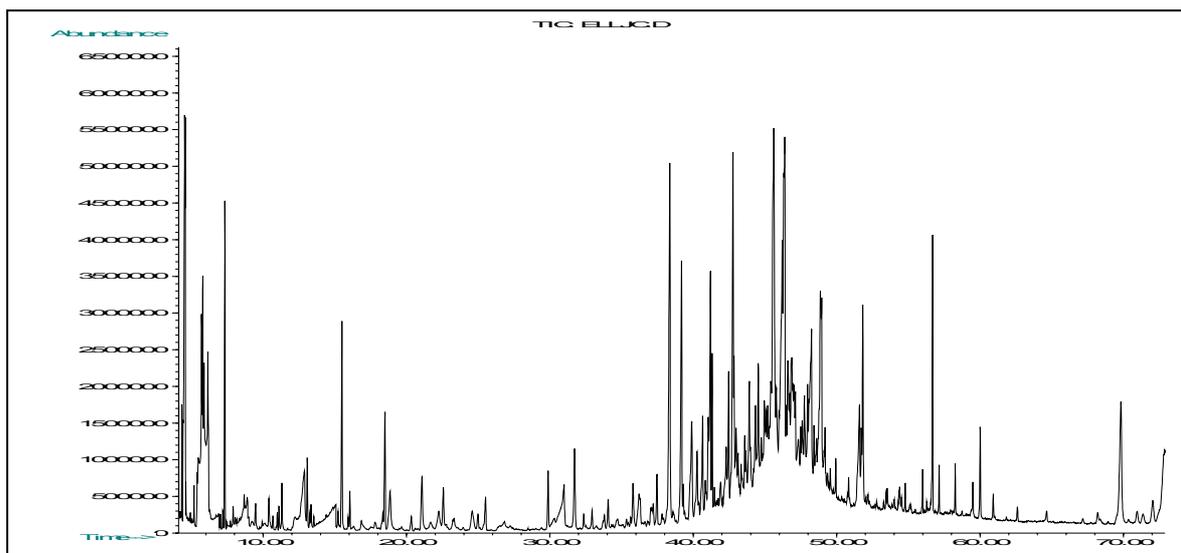


Figura 15: Fragmentograma relativo a análise de Jaca por Extração Líquido-Líquido (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

As substâncias identificadas no extrato da jaca por ELL são as contidas na Tabela 06.

Tabela 06: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por Extração Líquido-Líquido. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área Relativa (%)
1	Álcool isoamílico	719	2.58
2	Álcool amílico	756	0.97
3	3-Metil-butanoato de metila	764	0.10
4	Butanoato de etila	784	1.13
5	3-Metil-butanoato de etila	785	1.30
6	1-Hexanol	852	0.13
7	Butirolactona	885	0.17
8	3-Hidroxi-butanoato de etila	911	0.23
9	3-Metil-butanoato de propila	924	0.08
10	3-Hidroxi-3-metil-butanoato de propila	945	0.10
11	Benzaldeído	956	0.23
12	Butanoato de butila	979	0.31

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área Relativa (%)
13	Hexanoato de etila	986	Tr
14	Octanal	988	0.10
15	Isovalerato de isobutila	990	0.04
16	Ácido hexanóico	987	Tr
17	2-Metil-butanoato de butila	1021	0.10
18	3-Metil-butanoato de butila	1029	1.08
19	Butanoato de 3-metil-butila	1035	0.05
20	Butanoato de pentila	1080	0.16
21	Álcool fenetílico	1104	0.51
22	Valerato de isoamila	1138	0.13
23	3-Metil-butanoato de pentila	1150	0.66
24	3-fenil-propanal	1162	0.52
25	Hexanoato de butila	1185	0.34
26	Álcool fenil propílico	1199	0.28
27	Isovalerato de hexila	1228	Tr
28	Hexanoato de isoamila	1238	0.26
29	Ácido fenil acético	1248	Tr
30	Alfa-cubebeno	1348	0.35
31	Ácido fenil propanoico	1345	1.08
32	β -cubebeno	1390	0.69
33	Beta-cariofileno	1417	0.12
34	Beta-sesquifelandreno	1520	0.19
35	Gama-cadineno	1513	0.05
36	Isovalerato de fenil-etila	1489	0.36
37	<i>Cis</i> –calameneno	1520	0.31
38	Alfa-calacoreno	1540	1.94
39	Gama-gurjuneno	1473	0.20
40	Óxido de cariofileno	1549	1.14
41	Vindiflorol	1588	0.68
42	T-murolol	1643	0.81
43	Cadalenol	1720	0.67

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área Relativa (%)
44	Ácido palmítico	1986	2.58
45	Palmitato de etila	1995	0.84
46	Linoleato de etila	2050	0.41

O extrato aromático obtido na extração líquido-líquido apresentou nota adocicada e torrada incomum na fruta “in natura” conforme evidenciou o painel olfativo. De acordo com a literatura estas notas aromáticas observadas são oriundas de compostos derivados de furanona e/ou piranonas, como: dimetilfuranona (nota sensorial doce) e furaneol (nota sensorial doce/torrado), substâncias com alto potencial flavorizante, visto seus limites de percepção (threshold) muito baixos; 0,04µg/L e 5µg/L respectivamente, enquanto os valores “threshold” para por exemplo hexanoato de etila e ácido hexanóico são 14µg/L e 420µg/L respectivamente. Embora não detectadas estas substâncias de baixo “threshold” devem estar presentes no extrato, haja visto a nota sensorial encontrada, porém em quantidades não detectáveis por CG-EM mas somente pelo detetor olfativo, cuja maior sensibilidade associada ao pequeno threshold destas substâncias facilitou a percepção sensorial e não cromatográfica.

De acordo com a tabela 6 observa-se uma grande quantidade de sesquiterpenos ao lado de ésteres. Provavelmente a presença dos mesmos se dá em função da extração por contato com o solvente, o que favorece o isolamento destas substâncias menos voláteis e ausentes nas outras metodologias (SDE e HS e MEFS).

Segundo a avaliação sensorial descritiva e comparativa anteriormente abordada o extrato da Jaca obtido por “headspace” foi o que apresentou aroma característico da fruta fresca, e ausência das notas sensoriais não características como cozido e fermentado. Esta observação ratifica a presença de notas cozidas quando o aquecimento da amostra se realiza por tempo relativamente longo.

Observa-se na figura abaixo o perfil cromatográfico do extrato de Jaca por “headspace”.

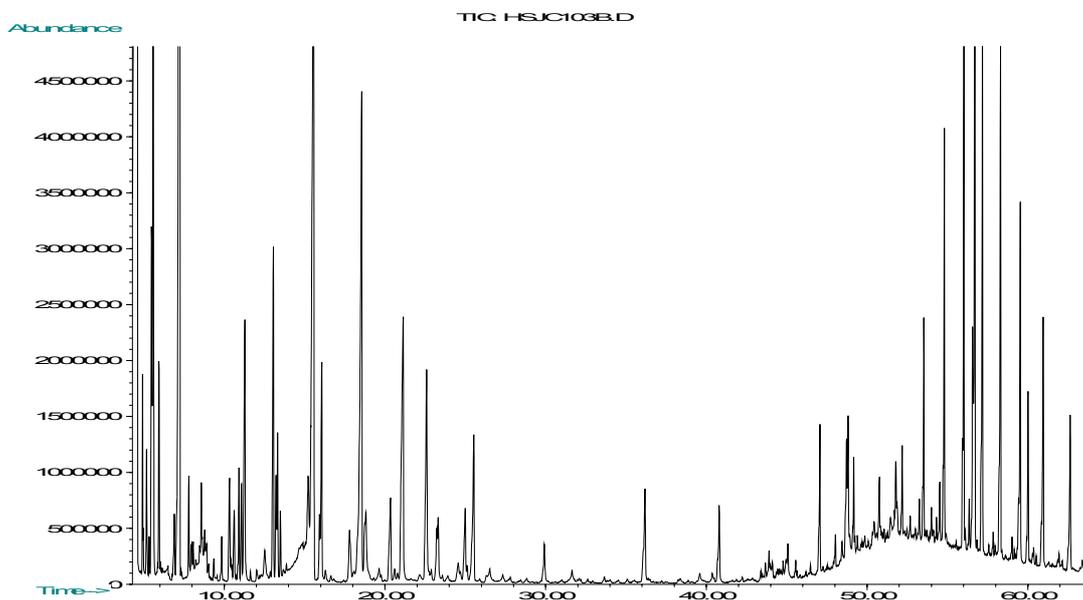


Figura 16: Fragmentograma relativo a análise de Jaca por Headspace (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos)

Em função de ter sido o “headspace” o extrato mais representativo do aroma de Jaca (substâncias descritas na tabela 07), o mesmo, foi submetido a outra avaliação sensorial, esta agora via “sniffing-port”.

Na análise olfatória através da cromatografia gasosa olfatométrica associada a espectrometria de massas (CGEM-O) evitou-se uma avaliação sensorial muito longa, a fim de que não ocorresse saturação das vias olfativas, havendo perda de sensibilidade. No caso da avaliação em “sniffing-port” (CG-EM-O) dividiu-se a avaliação sensorial em etapas de 10 minutos; alternando 10 minutos de avaliação com 10 minutos de descanso sendo o pico do solvente eliminado da avaliação. A avaliação do extrato somente aconteceu quando os provadores acostumaram-se com o ambiente aquecido do “sniffing-port”.

Nesta avaliação, associa-se simultaneamente o pico que vai sendo registrado no cromatograma com o aroma sentido pelo avaliador no detetor olfativo, utilizando-se um divisor de fluxo ao término da coluna cromatográfica. A fim de verificar se a correspondência no tempo de retenção dos dois sistemas de detecção (EM e “sniffing port”), injetou-se um padrão e verificou-se se o aroma do mesmo foi sentido

justamente no momento que o pico cromatográfico foi registrado, o que logrou sucesso. Caso ocorresse diferença de tempo entre pico e aroma, reduziria-se o comprimento de coluna do “splitter” que apresentou o maior tempo, com posterior verificação do sincronismo. Cabe ressaltar que foi verificado também o sincronismo entre o detector EM e o DIC a fim da correta identificação das áreas dos picos relativos as substâncias identificadas. Este procedimento facilita bastante a correlação entre substância identificada e atributo sensorial relativo àquela substância quando o cromatograma apresenta-se como o da amostra “headspace” de jaca, de grande complexidade visto a presença de inúmeros picos cromatográficos.

Em função de variedades psicológicas e fisiológicas envolvidas em uma avaliação sensorial, as avaliações foram feitas em vários dias com os diferentes analistas a fim de diminuir estas variáveis. Participaram desta avaliação 6 analistas treinados em avaliação sensorial, conforme detalhado em materiais e métodos.

Tabela 07: Substâncias identificadas no extrato de Jaca por Headspace (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos)

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área (%)
1	2-Butenal	1012	tr
2	Butanoato de etila	1025	2.07
3	2-Metil-butanoato de etila	1055	0.37
4	3-Metil-butanoato de etila	1050	7.95
5	1-Butanol	1160	19.93
6	3-Metil-butanoato de propila	1164	0,79
7	Hexanoato de metila	1176	tr
8	2-Metil-1-butanol	1204	18.00
9	Butanoato de butila	1208	1,17
10	Hexanoato de etila	1217	0.65
11	3-Metil-butanoato de butila	1240	5.91
12	Butanoato de pentila	1248	1.08
13	2-Metil butanoato de 2-metil butila	1286	tr

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área (%)
14	3-Metil butanoato de 3-metil butila	1300	3.56
15	Pentanoato de butila	1303	tr
16	2-Metil-propenoato de butila	1310	tr
17	1-Hexanol	1330	0.28
18	Hexanoato de 2-metil-propila	1340	0.15
19	3-Hexeno-1-ol	1348	tr
20	3-Metil-butanoato de pentila	1351	tr
21	2,4-Hexadienal	1353	tr
22	Nonanal	1360	tr
23	Octanoato de metila	1362	tr
24	2-Hidroxi-3-metil butanoato de metila	1363	tr
25	<i>trans</i> -2-Hexeno-1-ol	1368	tr
26	3-Hidroxi-3-metil butanoato de etila	1373	0.34
27	2-Octenal	1382	1.44
28	Hexanoato de butila	1388	1.44
29	Butanoato de hexila	1390	tr
30	<i>cis</i> -Óxido de linalol	1400	0,14
31	Furfural	1404	tr
32	3-Etil ciclohexeno	1407	tr
33	Pentanoato de hexila	1429	0.80
34	2,4-Hexadienoato de etila	1434	0.21
35	Acetato de octila	1440	tr
36	2-Hidroxi-3-metil pentanoato de metila	1445	tr
37	3-Hidroxi-butanoato de etila	1471	0.40
38	2-Hexeneoato de butila	1488	tr
39	1-Octanol	1519	tr
40	Ácido butírico	1583	0.23
41	Valerato de pentila	1594	0.38

Picos	Substâncias Identificadas	IR	Área (%)
42	2,4-Hexadienoato butila	1616	tr
43	Ácido isovalérico	1623	1.08
44	3-Hidroxi-butanoato de butila	1655	tr
45	1,5-Octanediol	1699	0.16
46	Fenil acetato de etila	1721	0.20
47	Hidrocinaurato de metila	1774	tr
48	Ácido hexanóico	1794	2.33
49	Dodecanoato de etila	1806	tr
50	Hidrocinaurato de etila	1818	0.28
51	Álcool fenílico	1841	0.88
52	Isovalerato de fenil etila	1925	0.60
53	<i>trans</i> - Cinamaldeído	1950	0.10
54	Álcool fenil propílico	1975	0.21
55	Ácido octanóico	2013	0.20
56	Isovalerato de 3-fenil propila	2055	0.43
57	Hexadecanoato de metila	2176	0.90
58	Palmitato de etila	2223	0.24
59	Ácido mirístico	2625	0.16

Observa-se novamente a presença majoritária de ésteres (68%), seguida de alcoois (16%), ácidos (8%) e aldeídos (8%). Foi possível a identificação de 59 compostos sendo majoritários os ésteres ramificados (isovaleratos). Ésteres etílicos e butílicos provenientes de cadeia C4 a C6 predominam na composição global observada.

Com o conhecimento do extrato mais representativo do aroma de jaca, “headspace”, de acordo com a análise sensorial, foi feito neste extrato uma análise por diluição do extrato aromático (AEDA – Aroma Extraction Dilution Analysis) a fim de determinar-se dentre os aromas globais observados no extrato, aqueles mais representativos para o aroma da fruta (aromas de impacto). Optou-se por este método para identificação dos aromas de impacto em função de seu baixo custo e de sua praticidade.

O extrato foi diluído por várias vezes, segundo a metodologia de AEDA e as diluições avaliadas pelo painel olfativo de acordo com as metodologias citadas nos itens 12 e 13 em Materiais e Métodos. As várias diluições geradas pela técnica de AEDA foram avaliadas inicialmente das mais concentradas para as mais diluídas para um aprimoramento do sistema olfativo (identificação dos atributos sensoriais presentes e perdidos ao longo das diluições). Depois do mecanismo olfativo ter sido aprimorado, as avaliações foram feitas ao contrário, das maiores diluições para as menores diluições. Somente as diluições mais representativas do aroma global, aroma mais característico de jaca, foram avaliadas via cromatografia gasosa olfatométrica-espectrometria de massas.

A análise por CGO-EM destas diluições indicou que as substâncias responsáveis pelo aroma global da fruta “in-natura” (aromas de impacto) foram: butanoato de etila (FD = 256), 3-metil butanoato de etila (FD = 512), butanoato de butila (FD = 128) e o 3-metil-butanoato de butila (FD = 128), visto que as mesmas foram as que resistiram a altos fatores de diluição. O resultado desta análise pode ser visto no aromagrama representado na figura 17.



Figura 17: Aromagrama do extrato de Jaca (AEDA HS-JC X Picos identificados)

É interessante observar que, embora os compostos presentes em maior área sejam os álcoois isoamílicos e amílicos; eles não contribuíram para o aroma de impacto da jaca, de acordo com o determinado pela AEDA, visto não resistirem a diluições altas. Particularmente na amostragem por “headspace”, da qual se obteve o extrato de aroma mais semelhante à fruta, os ésteres butanoato de etila, 3-metil butanoato de etila, butanoato de butila e 3-metil butanoato de butila que são as

substâncias de impacto no aroma da fruta, contribuem com 17,10% (somatório dos ésteres) contra os 37% dos álcoois. Isto mostra que o aroma representativo de uma determinada matriz não necessariamente está associado ao componente de maior área.

Wong et al. ao analisar os constituintes voláteis da Jaca através da metodologia de extração e destilação simultâneas basicamente em função das áreas associadas às substâncias, presumiu que tanto os álcoois quanto os ésteres seriam os principais contribuintes responsáveis pelo o aroma global da jaca¹¹³, o que não é observado neste trabalho que foi respaldado pela análise olfativa.

Os resultados obtidos demonstram que a capacidade de aromatização de determinada substância está associada a sua concentração e principalmente ao seu limiar de percepção, “threshold” ou concentração mínima perceptível do odor da substância numa determinada matriz. Em geral, quanto menor o “threshold” de um componente, maior será a sua contribuição aromática para o aroma global. A determinação de “threshold” de uma determinada substância não é tarefa trivial. A literatura muitas vezes relata valores “threshold” diferente para uma mesma substância, ácido butírico 1µg/L em ar e 173µg/L em uma mistura 10% água/etanol contendo 7g/L de glicerina, em função por exemplo dos efeitos de solubilidade exercidos na determinação. Vale ressaltar que valores de “threshold” bastante diferentes para uma mesma substância química estão relatados na literatura^{40,41}.

De posse deste conhecimento, as substâncias butanoato de etila, 3-metil-butanoato de etila, butanoato de butila e 3-metil-butanoato de butila foram coletadas utilizando uma pré-coluna imersa em banho de gelo-seco/acetona conectada na saída do “sniffing-port” somente nos tempos de retenção 5.21, 6.16, 12.48 e 14.43, que são os relativos as substâncias de impacto citadas acima. Após a captura das substâncias na pré-coluna, esta foi retirada do banho de gelo e “lavada” com 0,01 mL de diclorometano que foi o responsável pelo arraste das substâncias para o frasco receptor. A esta amostra coletada deu-se o nome de amostra composta (procedimento detalhado no item 11 em Materiais e métodos). A amostra composta, após ter sido obtida, foi imediatamente avaliada sensorialmente visto o pequeno volume e a volatilidade do solvente de arraste. Somente a análise sensorial comparativa foi feita visto que interessava saber se a mesma realmente respondia pelo aroma de impacto da fruta.

Tabela 08: Análise comparativa das amostras relativas aos extratos: headspace jaca e amostra composta com polpa de jaca

Análise sensorial comparativa – Foram comparadas as amostras relativas aos extratos de headspace (1) e gomos de jaca (7) com a amostra composta (8) – coleta com os aromas de impacto	
8 X 1	Amostras semelhantes entre si, com diferentes intensidades.
8 X 7	Amostras que guardam alguma semelhança porém com nota mais intensa de azedo para a amostra 7.

O laudo apresentado acima ratifica as informações geradas pelo AEDA e comprova ser possível a elaboração de uma essência com notas características da matriz original com apenas alguns componentes do todo. Este aspecto torna-se interessante em função das questões atuais relativas ao custo e às restrições da legislação para as chamadas “flavor houses”, empresas fornecedoras de essências para as indústrias alimentícias e/ou cosméticas.

Simultaneamente aos extratos por SDE, “Headspace” e Extração líquido-líquido foram feitas análises de Microextração em Fase Sólida com as seguintes fases adsorventes: polidimetilsiloxano (PDMS), polidimetilsiloxano-carboxen (PDMS-CAR), polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB) e poliacrilato (PA), a fim de rapidamente conhecer o perfil químico e sensorial das substâncias presentes na polpa de jaca e comparar a natureza química das substâncias extraídas pelas diferentes fases.

Segue abaixo, os fragmentogramas e tabela referentes à amostragem por SPME.

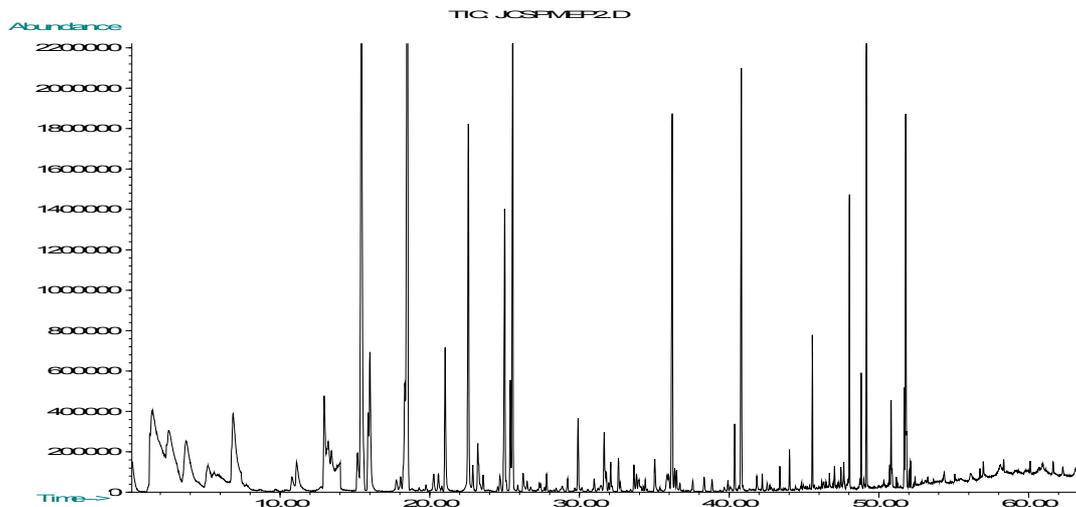


Figura 18: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS-PA (poliacrilato) (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

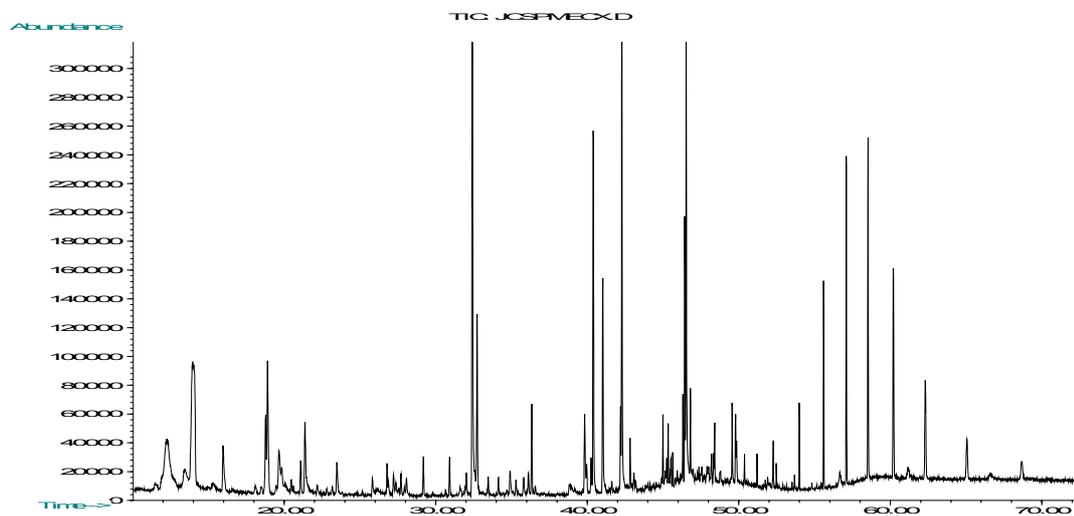


Figura 19: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS -CAR-PDMS (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

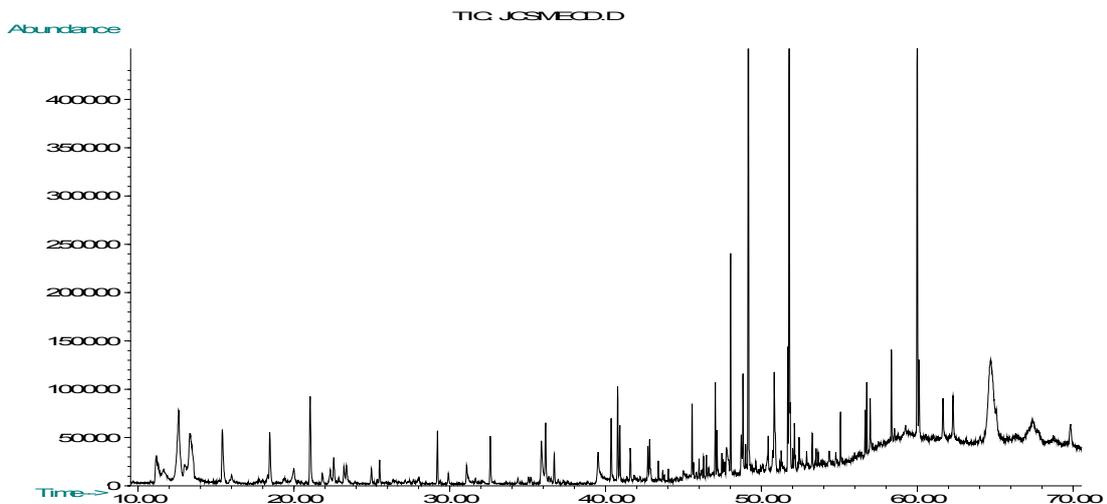


Figura 20: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS –PDMS-DVBZ (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

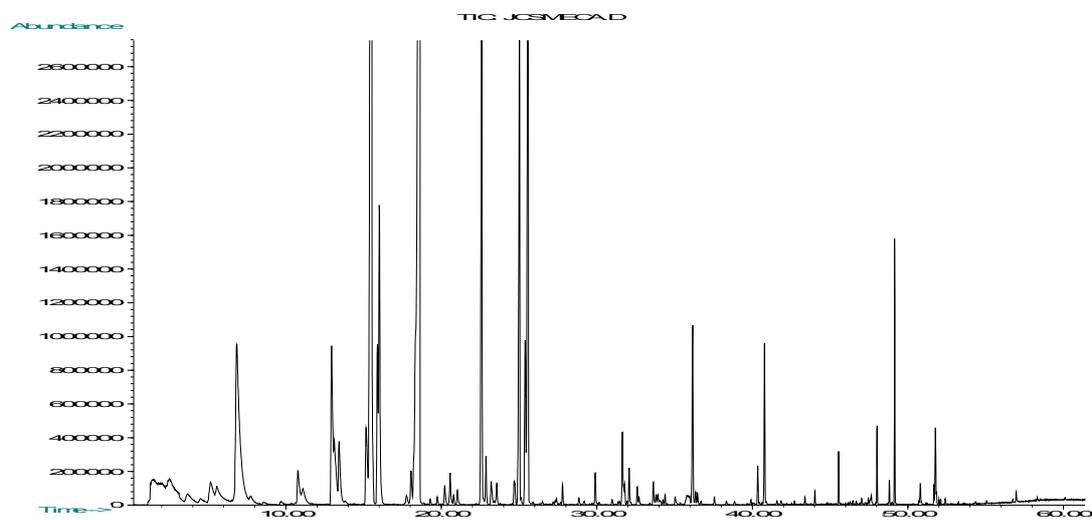


Figura 21: Fragmentograma relativo à análise de Jaca por MEFS –PDMS (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Ao avaliar os cromatogramas acima, identificou-se nas respectivas amostragens o seguinte perfil químico das substâncias:

Tabela 09: Substâncias identificadas nas amostragens da Jaca por MEFS nas diversas fibras: PA, PDMS, CAR-PDMS e PDMS-DVBZ. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA (85µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS (100µm) Área Relativa(%)	SPME CAR/PDM (75µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS/DBZ (65µm) Área Relativa(%)
1	Álcool isoamílico	719	3.14	Tr	-	-
2	Butanoato de etila	784	0.56	0.41	-	-
3	3-Metil-butanoato de etila	861	3.58	5.88	-	-
4	Pentanoato de propila	924	Tr	Tr	-	-
5	Benzaldeído	956	0.86	Tr	-	2.40
6	Butanoato de butila	979	1.70	2.54	-	-
7	Hexanoato de 2-metil-propila	982	1.18	Tr	-	-
8	3-Metil-butanoato de isobutila	992	0.53	1.07	0.77	-
9	Ácido hexanóico	1010	Tr	-	-	-
10	2-Metil-butanoato de butila	1029	0.73	1.31	-	-
11	3-Metil-butanoato de butila	1024	11.59	20.27	-	1.17

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA (85µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS (100µm) Área Relativa(%)	SPME CAR/PDM (75µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS/DBZ (65µm) Área Relativa(%)
12	Butanoato de 3-metil-butila	1040	0.94	1.68	-	-
13	Butanoato de pentila	1072	2.36	3.53	-	-
14	2-Metil-butanoato de isoamila	1092	Tr	0.46	-	-
15	Isovalerato de isopentila	1101	1.68	0.46	0.94	-
16	3-Metil butanoato de pentila	1035	12.42	27.37	1.80	0.83
17	Valerato de hexila	1120	0.28	0.23	-	-
18	Hexanoato de isobutila	1140	0.26	0.35	-	-
19	Isovalerato de amila	1152	1.90	Tr	-	-
20	Benzenepropanal	1160	1.9	-	-	-
21	Hexanoato de butila	1177	4.57	5.22	-	Tr
22	Octanoato de etila	1199	0.30	0.45	-	-
23	Decanal	1205	0.76	0.30	0.42	Tr
24	Acetato de octila	1210	Tr	0.22	-	-
25	Aldeido cinâmico	1227	0.21	-	-	-

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA (85µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS (100µm) Área Relativa(%)	SPME CAR/PDM (75µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS/DBZ (65µm) Área Relativa(%)
26	Pentanoato de hexila	1240	3.01	4.91	-	-
27	Hexanoato de 3-metil-butila	1301	1.15	1.70	-	-
28	Octanoato de 3-metil-butila	1338	5.13	7.55	-	-
29	Aldeido cinâmico	1227	0.21	-	-	-
30	Benzoato de isoamila	1320	Tr	Tr	-	-
31	3-Fenil-propionato de metila	1350	Tr	Tr	-	-
32	Hidrocinamato de etila	1348	0.76	0.30	-	-
33	Benzoato de butila	1354	Tr	Tr	-	-
34	Ácido decanoico	1356	Tr	-	-	-
35	Hexanoato de hexila	1371	0.76	0.74	-	-
36	Butanoato de octila	1373	Tr	0.19	-	-
37	Decanoato de etila	1378	0.33	0.33	-	-
38	Acetato de decila	1393	Tr	-	-	-
39	Dodecanal	1405	0.25	0.12	6.65	0.55

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA (85µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS (100µm) Área Relativa(%)	SPME CAR/PDM (75µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS/DBZ (65µm) Área Relativa(%)
40	Isovalerato de benzila	1420	Tr	Tr	-	-
41	Cinamato de etila	1443	Tr	Tr	-	-
42	Isobutirato de feniletila	1445	Tr	-	-	-
43	Cinamato de etila	1430	0.40	Tr	-	-
44	3-Metil-butanoato de 2-fenil-etila	1489	4.31	1.61	-	-
45	Dodecanoato de metila	1507	Tr	Tr	-	-
46	Isobutirato de 3-fenil-propila	1520	Tr	Tr	-	-
47	Dodecanoato de etila	1595	0.60	0.28	-	-
48	3-Metil-butanoato de 2-fenil-etila	1610	Tr	1.61	-	-
49	Miristato de etila	1680	0.91	Tr	-	0.50
50	Palmitato de metila	1783	1.82	0.44	-	1.59
51	Palmitato de etila	1995	5.34	1.36	-	0.86
52	Linolenato de etila	2050	3.50	0.63	-	0.82

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA (85µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS (100µm) Área Relativa(%)	SPME CAR/PDM (75µm) Área Relativa (%)	SPME PDMS/DBZ (65µm) Área Relativa(%)
53	Estearato de etila	2100	0.16	-	-	-

*-Tr- traço

As análises por microextração em fase sólida foram feitas utilizando-se o modo “headspace” e não contato direto da fibra com a matriz, visto o interesse nos voláteis responsáveis pelo aroma da fruta. As mesmas foram realizadas a 40°C a fim de facilitar a saída da substância da matriz para o “headspace”, acelerando o processo de adsorção da mesma sobre a fibra, já que a constante de distribuição da substância entre a fibra e a matriz depende da temperatura. Todas as extrações foram executadas por 45 minutos de arraste.

De acordo com o que se observa nos cromatogramas e tabela acima, os melhores resultados nas análises via HS-SPME foram obtidos com as fibras de fase polar (Acrilato) e fase apolar (polidimetilsiloxano), que apresentaram maior afinidade com os voláteis presentes na matriz, justificando o maior número de substâncias caracterizadas. Contrariamente, as fibras relativas a CAR-PDMS e PDMS-DVBZ não apresentaram resultados satisfatórios, visto a caracterização de somente 10% dos compostos.

Garcia et al., ao analisar presunto por SPME, observou diferenças significativas nas análises de aldeídos utilizando as fases CAR-PDMS e DVB/CAR/PDMS, com o tempo de equilíbrio alcançado para estes aldeídos de 5h e 3h, respectivamente¹²⁷. É possível que o tempo de equilíbrio empregado na extração dos voláteis da jaca não tenha sido adequado para uma extração eficiente nestas fibras, embora nosso grupo tenha realizado anteriormente diversos experimentos de SPME com outras frutas e este tenha sido o tempo ajustado para a análise. Além deste parâmetro, vale ressaltar que a espessura do filme da fibra adsorvente é outro

parâmetro muito importante na seleção da fibra a ser trabalhada, visto que espessuras de filme maiores permitem a extração de maior quantidade de analitos em comparação a espessuras menores, sendo mais efetiva para extração de compostos voláteis fibras com espessuras de fases maiores, pois possibilitam o transporte para o injetor cromatográfico sem possíveis perdas.

Avaliando somente as fibras SPME-PDMS e SPME-PA, observou-se em termos de perfil funcional (classe de substância) a seguinte distribuição nas várias investigações: SPME-PDMS: 93% ésteres e 7% de aldeídos e SPME-PA: 84% de ésteres, 7% ácidos, 7% álcoois e 2% aldeídos. Estes resultados, juntamente com a análise dos extratos anteriores, afirmam que a composição aromática da jaca é majoritariamente representada por ésteres, visto a contribuição maior desta classe funcional no perfil químico global, independente da fibra utilizada e do método de extração de acordo com o que se observou na amostragem por SDE, Headspace e ELL. A presença dos ácidos e álcoois na amostragem por SPME-PA e a ausência dos mesmos na amostragem por SPME-PDMS mostra claramente a necessidade da utilização de fibras de polaridades distintas na investigação de voláteis das mais diversas matrizes, a fim de observar o perfil global das substâncias presentes, o que se justifica pela seletividade destas fases adsorventes.

A utilização desta metodologia possibilitou muito mais rapidamente, comparada as outras, a obtenção de um perfil químico da matriz. Esta metodologia associada ao CG-EM combina isolamento, pré-concentração e determinação quantitativa e qualitativa de analitos (às vezes presentes em quantidades traços) em um único passo. A variedade de fases adsorventes com polaridades distintas aumenta a seletividade para detecção dos mais diferentes compostos.

A microextração em fase sólida é uma ferramenta importante no estudo de aromas indesejáveis em alimentos (off-flavor). Frequentemente observa-se, em função de processamento ou armazenamento, a presença de notas aromáticas indesejáveis em determinado produto. Esta verificação é facilitada quando se dispõe de um perfil padrão, “fingerprint”, do alimento sem deterioração¹²⁸.

Observa-se em função das vantagens discutidas acima uma grande aplicabilidade desta metodologia para análises qualitativas e/ou quantitativas em aroma de frutas, ervas, condimentos, embutidos, vinhos, cervejas, ração de animal, produtos farmacêuticos, pesticida em água e/ou alimento, além de outras.

Torna-se Interessante ressaltar que a metodologia é tradicionalmente definida para compostos voláteis e semi-voláteis, porém mais recentemente, a análise por SPME através de processo de derivatização permite avaliações de componentes menos voláteis e em tempo pequeno. A rapidez na análise é alcançada visto o processo de derivatização dar-se sobre a fibra. Neste, a fibra é saturada com o agente de derivatização e então imerso na solução ou no headspace da amostra a ser analisada¹²⁹. Novas fases estacionárias associadas a fibra de SPME estão sendo desenvolvidas, como as quirais que permitirá o isolamento de substâncias oticamente ativas , a fim de alcançar uma aplicabilidade maior.

O inconveniente da metodologia está no fato de não ser possível a obtenção de uma essência para posterior avaliação sensorial, pois cada avaliação deve ser feita exatamente no momento da amostragem, e mais tarde para aplicação em determinado produto.

A investigação dos voláteis da jaca segundo os métodos de extração expostos acima: SDE, ELL, Headspace e MEFS e com o auxílio da cromatografia gasosa-espectrometria de massas, da co-injeção de padrões e o uso comparativo dos índices de retenção forneceu os resultados listados nas tabelas anteriores, que são aqui compilados para melhor visualização. Os dados apresentados abaixo foram considerados de acordo com a classe funcional das substâncias identificadas nas diversas metodologias empregadas.

Tabela 10: Percentual relativo das substâncias identificadas por classe funcional da Jaca nas diversas amostragens: MEFS- PDMS, CAR-PDMS, PDMS-DVBZ, PA; Headspace, SDE e ELL.

Classes de Substâncias	SPME PDMS	SPME CAR/PDMS	SPME DVBZ / CAR	SPME PA	HS	SDE	ELL
ÁCIDOS	-	-	9	7	8	7	9
ALCOOIS	-	-	-	7	16	7	13
ALDEIDOS	7	36	18	2	8	4	7
ESTERES	93	50	72	84	68	78	43
HIDROCARBONETOS	-	-	-	-	-	4	-
LACTONAS	-	-	-	-	-	-	2
SESQUITERPENOS	-	13	-	-	-	-	26

SPME (POLIDIMETILSILOXANO/100 μm) = PDMS

SPME (CARBOXEN/PDMS) = CAR/PDMS

SPME (DIVINILBENZENO/ PDMS) = DVB/PDMS

SPME (ACRILATO/65 μm) = PA

HEADSPACE – 14 horas de extração.

SDE – 15 minutos

ELL – 2h de extração

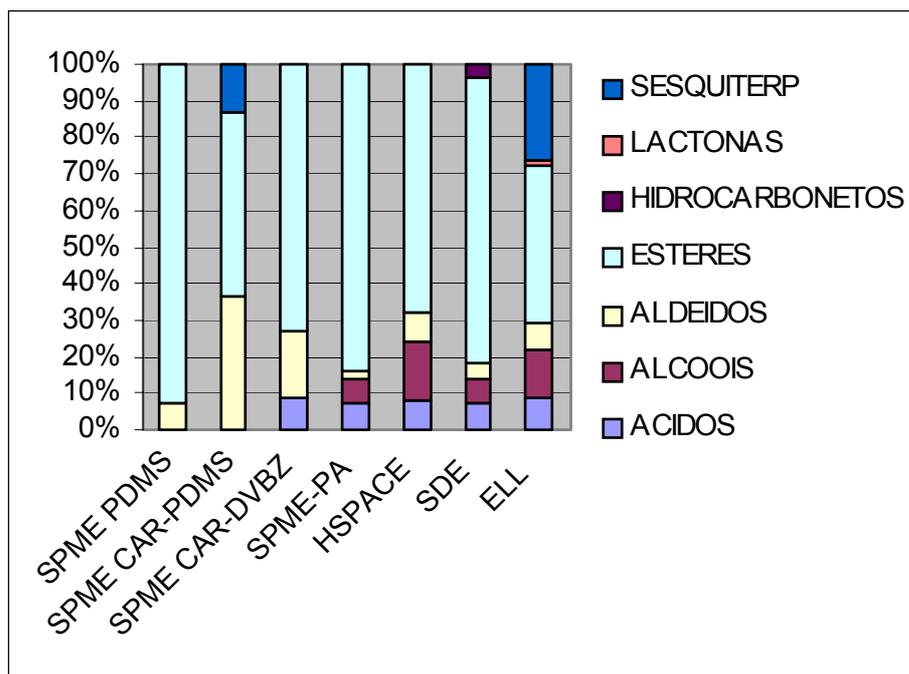


Figura 22: Gráfico esquemático relacionando as classes funcionais encontradas nas diversas amostragens para análise cromatográfica da Jaca.

Ésteres etílicos, butílicos, isobutílicos oriundos de cadeia C4 normal e ramificada a C6 predominam na composição global. A fibra de SPME que apresenta perfil funcional bastante semelhante ao “headspace” foi a com recobrimento polar (Poliacrilato), com uma leve diferença no teor de álcool. Creditou-se a essa diferença uma maior solubilidade dos álcoois no adsorvente (dedo frio) utilizado na extração por “headspace”.

A caracterização aromática dos extratos obtidos através dos métodos descritos acima pode atuar na criação de novos aromas idênticos ao natural que reproduzam, ou intensifiquem um produto final.

É importante ressaltar que a aplicação destas possíveis essências a produtos em desenvolvimento somente pode ser feita se os extratos estiverem em veículos próprios (ex.: etanol/propileno glicol); logo, deve-se após a obtenção do extrato, em geral em diclorometano ou pentano-éter, trocar estes solventes por etanol ou propileno glicol, certificando-se que não há nenhum solvente residual (diclorometano/pentano-éter) no extrato alcoólico a ser aplicado no produto final.

4.1.2. Análise dos voláteis do extrato de muruci (*Byrsonima crassifolia*) por diferentes metodologias

Os extratos obtidos no processamento do muruci foram os referentes ao “headspace” em dedo frio e SDE (15 min., 1h, 2h, 3h), além do SPME nas diversas fibras usadas na análise de jaca. Outras metodologias não foram testadas mas obteve-se um perfil olfativo totalmente descaracterizado, e os resultados não serão aqui discutidos.

O extrato por “headspace” do muruci foi obtido com 14 horas de arraste e a coleta dos voláteis adsorvidos ao dedo-frio sendo feita de 30 em 30 minutos com lavagens do dedo-frio por diclorometano ocorrendo de 60 em 60 minutos.

A fim de identificar dentre os extratos aromáticos obtidos aquele mais representativo da fruta *in natura*, testes sensoriais descritivos e comparativos foram aplicados aos mesmos que apresentaram o perfil abaixo.

Tabela 11: Avaliação Sensorial Descritiva dos extratos de Muruci por SDE e Headspace

Avaliação descritiva dos extratos de muruci (1) headspace, (2) SDE-15min (3) SDE-1h (4) SDE-2h (5) SDE-3h (6) padrão – polpa de muruci provadores: 6 As notas sensoriais consideradas foram aquelas que apareciam nas avaliações dos 6 provadores.	
amostra	Laudo
1	Aroma pungente, com notas rançosa e frutal.
2	Aroma de amplitude intensa, metálica, frutal, floral e azeda
3	Aroma de amplitude moderada com notas frutais e cozida
4	Aroma de amplitude moderada com notas frutais, salgadas e cozida
5	Aroma intenso com notas cozidas e salgadas semelhante a amostra anterior.
6	Aroma de amplitude intensa com notas frutais, azeda e floral

De acordo com a avaliação sensorial descritiva os atributos sensoriais referentes ao muruci foram queijo, metálico, frutal e floral. Com as notas sensoriais discriminadas foi feito uma avaliação sensorial comparativa que visa identificar o extrato mais representativo da fruta in natura.

Tabela 12: Avaliação Sensorial Comparativa dos extratos de Muruci SDE e *Headspace* com a polpa de muruci (padrão sensorial)

Análise sensorial comparativa – Foram comparadas as amostras relativas aos extratos: (1) Headspace (2) SDE-15min (3) SDE-1h (4) SDE-2h (5) SDE-3h (6) padrão – polpa de muruci	
1 X 6	Amostras parecidas com nota rançosa/azeda maior para amostra 1
2 X 6	Amostras semelhantes com notas florais, frutais e azeda
3 X 6	Amostras que apresentam alguma semelhança porém com nota levemente cozida diferenciada
4 X 6	Diferentes (principais atributos de diferença: salgada/cozida)
5 X 6	Diferentes (principais atributos de diferença: salgada/cozida)

Analisando as avaliações sensoriais acima pode-se concluir que o extrato mais representativo do aroma do muruci foi o proveniente da extração e destilação simultâneas (SDE) por um período de 15 min, visto o perfil semelhante encontrado entre as amostras.

Em função do extrato relativo à extração e destilação simultâneas (SDE) –15 min ter sido o extrato mais representativo do aroma da fruta o mesmo foi submetido a análise por CGO-EM, cujos perfil químico e sensorial do extrato são mostrados a seguir.

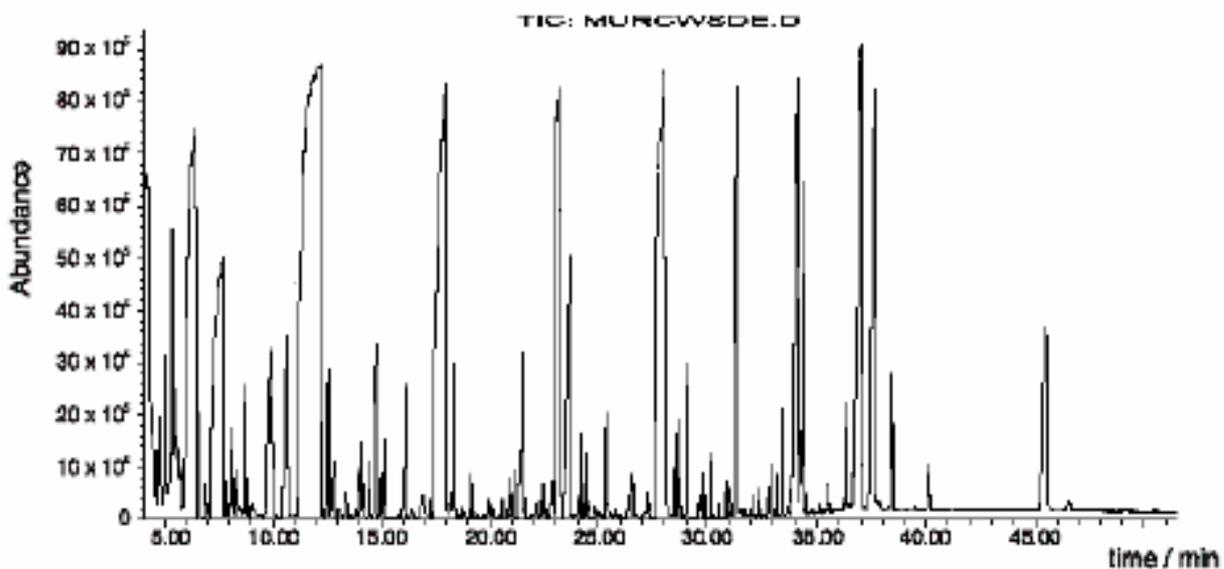


Figura 23: Fragmentograma relativo a análise de Muruci por SDE (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições do ítem 3.8.2 em materiais e métodos).

A análise da amostra acima por CG-EM associada a co-injeção de padrões e aos índices de retenção revelou a presença das substâncias abaixo.

Tabela 13: Substâncias identificadas no Muruci por SDE-15 min (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme ítem 3.8.2 em materiais e métodos)

Picos	Substâncias Identificadas	Área Relativa (%)	Fator de Diluição (FD) (descrição de odor)	IR
1	2-Pentanona	<0.1		966
2	Butanoato de metila	0.5		974
3	Butanoato de etila	7.5	128(doce, frutal)	1026
4	2-Metil butanoato de etila	<0.1		1044
5	3-Metil butanoato de etila	<0.1		1057
6	Acetato de butila	<0.1		1061
7	Isobutanol	6.0		1108
8	Butanoato de propila	0.4		1115
9	β-Pineno	<0.1		1120
10	Propanoato de etila	0.3		1125
11	δ-3-Careno	<0.1		1140
12	Butanoato de 2-metil propila	0.2		1160
13	2-Heptanona	<0.1		1175
14	Hexanoato de metila	2.1		1177
15	Álcool isoamílico	1.4		1185
16	Hexanoato de etila	16.7	256(frutal)	1220
17	<i>trans</i> -β-Ocimeno	<0.1		1247
18	3-Octanona	<0.1		1250
19	Butanoato de 3-metil butila	0.4		1260
20	2-Heptanol	<0.1		1280
21	3-Hidroxi-2-butanona	0.3		1288
22	Octanal	<0.1		1290

Picos	Substâncias Identificadas	Área Relativa (%)	Fator de Diluição (FD) (descrição de odor)	IR
23	Isovalerato de isoamila	<0.1		1293
24	Hexanoato de propila	0.2		1298
25	Heptanoato de etila	0.2		1320
26	Lactato de etila	1.4		1340
27	Hexanoato de isobutila	<0.1		1350
28	Octanoato de metila	0.4		1378
29	Hexanoato de butila	0.5		1400
29	Octanoato de etila	7.3		1420
30	2,5-Dimetil-3-etilpirazina	<0.1		1426
31	1-Octeno-3-ol	1.7	64(fermentado/cogumelo)	1430
32	<i>trans</i> - Óxido de linalol	<0.1		1459
33	p-Mentona	1.1		1477
34	Pentadecano	<0.1		1500
35	Benzaldeído	0.2		1515
36	3-Noneno-2-ona*	<0.1		1530
37	3-Metiltiopropionato de metila	<0.1		1536
38	(Z)-2-Nonenal	<0.1		1535
39	Nonanoato de etila	<0.1		1538
40	linalol	0.1		1545
41	3-Metiltiopropionato de etila	2.8		1560
42	β -Cariofileno	<0.1		1575
43	Decanoato de metila	<0.1		1582
44	Isopulegol	<0.1		1587
45	Hexanoato de hexila	<0.1		1600
46	Mentol	0.1		1604
47	Benzoato de metila	<0.1		1604

Picos	Substâncias Identificadas	Área Relativa (%)	Fator de Diluição (FD) (descrição de odor)	IR
48	Ácido butírico	5.5	128(rançoso)	1628
49	Decanoato de etila	3.9		1633
50	Benzoato de etila	<0.1		1640
51	Ácido 3-metil butírico	0.2		1643
52	Succinato de etila	<0.1		1645
53	3-Hidroxihexanoato de etila	<0.1		1662
54	α -Terpineol	<0.1		1693
55	<i>n</i> -Heptadecano	<0.1		1700
56	3-Metilol-1-propanol	0.4		1728
57	Piperitona	<0.1		1739
58	Ácido pentanoico	<0.1		1743
59	Acetato fenético	<0.1		1783
60	Benzoato de butila	<0.1		1790
61	Laurato de metila	<0.1		1795
62	Salicilato de etila	<0.1		1818
63	Anetol	<0.1		1833
64	Laurato de etila	<0.1		1830
65	Ácido hexanóico	18.6	256(queijo)	1849
66	Butanoato de benzila	<0.1		1856
67	Álcool benzílico	<0.1		1870
68	3-Fenil propanoato de etila	0.3		1887
69	3-Hidroxiocetanoato de etila	0.6		1890
70	Álcool fenético	1.8	256(floral)	1901
71	Isobutanoato de 2-feniletila	0.4		1905
72	δ -Octalactona	<0.1		1920

Picos	Substâncias Identificadas	Área Relativa (%)	Fator de Diluição (FD) (descrição de odor)	IR
73	Miristato de metila	<0.1		1984
74	4-Etilguaiacol	<0.1		2013
75	Miristato de etila	<0.1		2024
76	Ácido octanóico	3.5		2050
77	δ -Nonalactona	<0.1		2031
78	Tiglato de benzila	<0.1		2069
79	Cinamato de etila	<0.1		2092
80	Ácido nonanóico	<0.1		2170
81	Hexanoato de 2-feniletila	<0.1		2138
82	4-Etilfenol	0.2		2141
83	δ -Decalactona	0.1		2145
84	Palmitato de metila	<0.1		2211
85	δ -Undecalactona	<0.1		2251
86	Palmitoleato de metila	<0.1		2262
87	Palmitato de etila	2.6		2270
88	Ácido decanóico	1.7		2279
89	Oleato de metila	0.4		2439
90	Oleato de etila	5.4		2470
91	Linoleato de metila	2.7		2488
92	Linoleato de etila	0.5		2496
93	Ácido mirístico	0.2		2870
94	Ácido palmítico	2.2		3104

A cromatografia gasosa olfatométrica associada a espectrometria de massas permitiu identificar no extrato de SDE-15 min. 94 substâncias, sendo 50% ésteres, 10,4% cetonas e aldeídos, 9,4% ácidos carboxílicos, 8,3% terpenóides, 6,2% álcoois, 4,1% lactonas, 4,1% compostos sulfurados e 7,6% de outras substâncias. Dentre os ácidos, os compostos majoritários, conforme a tabela SDEMC, são os

ácidos butírico, hexanóico e octanóico. Ésteres etílicos oriundos de cadeia C4 a C18 predominam na composição global seguido dos ésteres metílicos e ácidos carboxílicos livres. Outros compostos como derivados fenéticos e δ -lactonas de C8 a C11 também foram observados. Embora a contribuição tenha sido minoritária, a co-injeção da δ -decalactona com a amostra confirmou a presença da mesma.

Os compostos sulfurados observados na polpa de murici foram metiltiopropanoato de metila e etila e o metionol. Estas substâncias tem sido associadas com o metabolismo enzimático da metionina, e sendo referenciado como um importante odor de abacaxi, juntamente com butanoatos e homólogos insaturados.

A análise sensorial descritiva do murici associada com a cromatografia gasosa olfatométrica indicou que as substâncias responsáveis pela nota de azeda (“queijo”) associada a fruta foram hexanoato de metila, e os ácidos butanóico, hexanóico e octanóico. A nota metálica foi caracterizada pelo 3-metiltiopropanoato de etila, com características sulfurosas como antes já descritas. As notas frutais e florais não puderam inicialmente ser associada a uma substância em particular.

Com o objetivo de caracterizar os compostos de impacto de aroma neste extrato identificado, foi empregada a técnica de AEDA. A cromatografia gasosa olfatométrica associada a AEDA permitiu observar como notas de aroma mais resistentes a diluição os atributos de frutal, rançoso, queijo e floral.

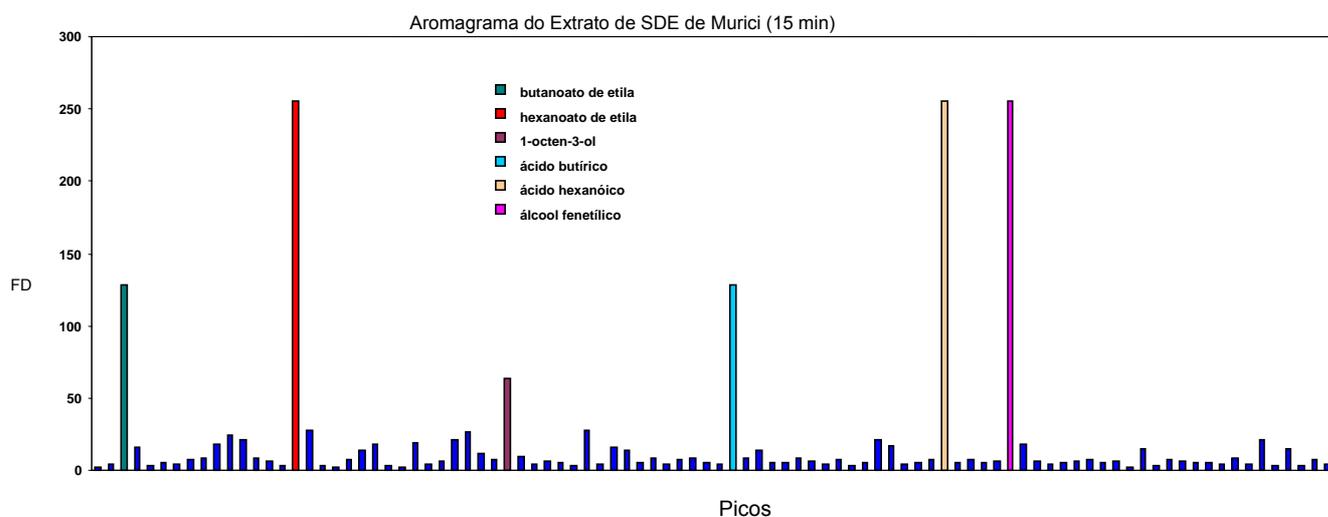


Figura 24: Aromagrama do extrato de Murici (AEDA SDE-MC X Picos identificados)

Após a AEDA os compostos identificados como os de maior impacto para o aroma global foram: butanoato de etila (frutal/doce) FD = 128, hexanoato de etila (frutal) FD = 256, álcool feniletílico (floral) FD = 256, juntamente com os ácidos butanóico (FD = 128) e hexanóico (pungente, queijo) FD = 256. e o 1-octeno-3-ol (cozido/cogumelo) FD = 64. Os ésteres e álcoois contribuem para o aroma em função dos baixos “thresholds” encontrados pelos mesmos, enquanto que a contribuição das substâncias com altos “thresholds”, como os ácidos butanóico e hexanóico, pode ser explicado em função da mais alta concentração encontrada na polpa da fruta¹⁴⁸.

Observou-se também a composição da semente do murici, visto apresentar uma nota sensorial muito parecida com a da amostra. A análise do extrato das sementes por CG-EM, obtido pela extração por contato em diclorometano seguida da esterificação com solução de diazometano em éter etílico, revelou a presença de diversos ésteres metílicos na seguinte composição: 31,1% de hexadecanoato (palmitato), 29,8% de (Z)-9-octadecenoato (oleato), 12,9% de (Z,Z)-9,12 octadienoato (linoleato), 3,8% de octadecanoato (estearato), 0,95% de (Z)-9-hexadecenoato (palmitoleato), 0,66% de tetradecanoato (miristato) e 0,42% de dodecanoato de metila (laurato). A investigação do óleo não esterificado revelou ainda a presença de quantidades minoritárias de ácidos butanóico e hexanóico que são importantes contribuintes do aroma característico de “queijo” rançoso tanto na fruta como na semente.

Foi relatado anteriormente em semente de cacau que os ácidos butanóico e hexanóico estariam presentes decorrente de fermentação ou secagem das mesmas, caracterizando processos microbiológico ou oxidativos, como típicos produtos de degradação¹⁴⁹⁻¹⁵⁰. Cabe ressaltar que com o tempo, as sementes de murici apresentavam redução de rendimento em termos de óleo obtido assim como a ausência dos ácidos butanóico e hexanóico, o que traduziu-se em perda de aroma. O aproveitamento das sementes na elaboração de uma possível essência de murici é extremamente interessante, pois permite um maior beneficiamento da fruta além da agregação de valor ao material residual do murici.

Como o extrato relativo ao “headspace” apresentou atributos parecidos com a matriz a mesma foi analisada por CG-EM apresentando o perfil abaixo:

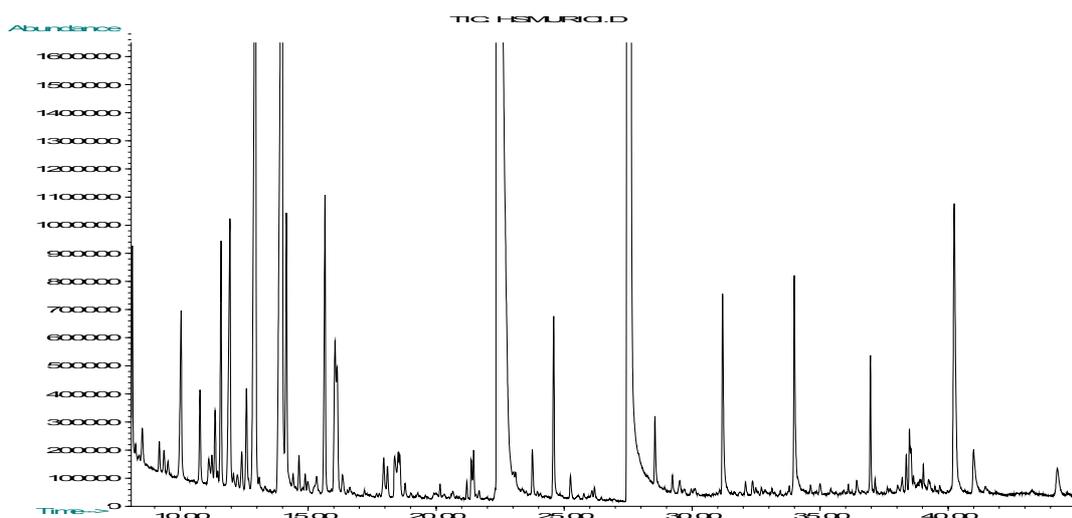


Figura 25 – Fragmentograma relativo a análise de Muruci por Headspace (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos)

A análise por CG-EM associada aos índices de retenção, forneceu o resultado abaixo.

Tabela 14: Substâncias identificadas no Muruci por Headspace (Carbowax 30m X 0,25 µm X 0,25mm conforme condições 3.8.2 em materiais e métodos).

Tr	Substâncias	IR	Área Relativa (%)
12	Ácido acético	569	0.37
1	2-Butanol	975	0.22
3	Hexanoato de metila	1177	0.20
5	3-Metil-1-butanol	1185	2.21
4	Limoneno	1206	1.36
9	2-Hexanol	1216	0.15
7	Hexanoato de etila	1230	6.86
8	<i>E</i> -3-hexenol	1351	1.80
6	Butanoato de hexila	1395	0.23
11	Hexanoato de butila	1400	0.31
13	Octanoato de etila	1420	0.32
14	Ácido isobutírico	1530	0.22
15	3-Metiltio propionato de etila	1560	0.28

Tr	Substâncias	IR	Área Relativa (%)
16	Ácido butírico	1628	29.04
17	Ácido isovalérico	1680	0.27
19	Ácido hexanóico	1849	29.78
20	Álcool fenetílico	1901	0.59
21	Ácido octanóico	2050	1.34
22	Ácido palmítico	3104	0.49

Foi possível identificar 22 compostos sendo 36% de ácidos, 32% de ésteres, 24% de álcoois, 4% de monoterpenos e 4% de sulfurados no extrato obtido por headspace.

Observa-se na amostragem por “headspace” perfil aromático mais azedo com ausência de notas que suavizem este perfil. Há uma maior contribuição dos ácidos no extrato global quando comparada com a amostra de SDE. Provavelmente esta diferença ocorreu em função do adsorvente polar (dedo frio-água condensada) utilizado na amostragem por “headspace”.

Simultaneamente ao extrato de SDE foram feitas análises via MEFS através das fibras já citadas na amostragem da jaca.

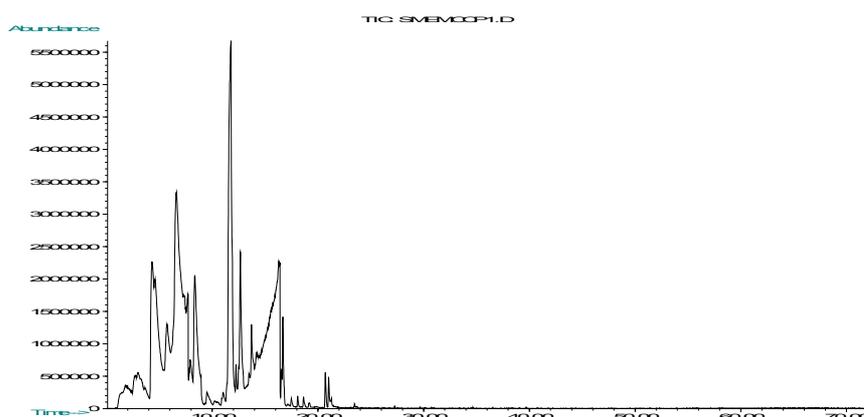


Figura 26: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS–CAR-PDMS(DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

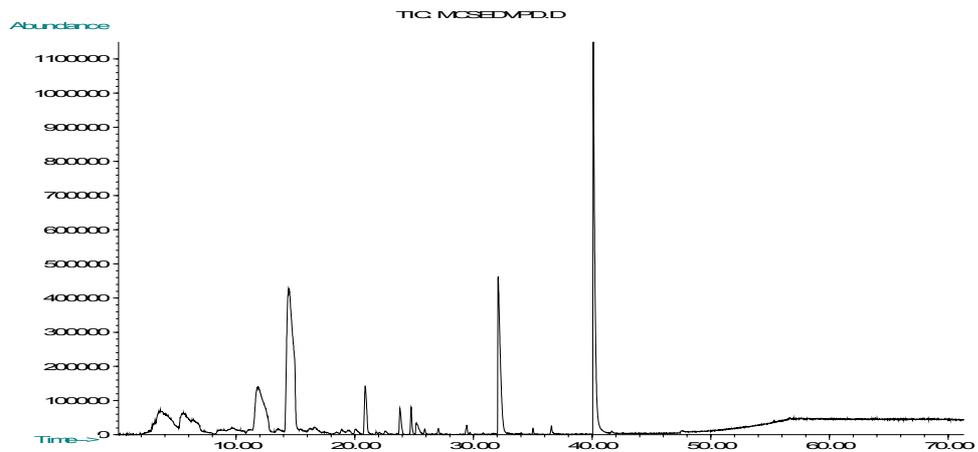


Figura 27: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-PDMS-DVBZ(DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

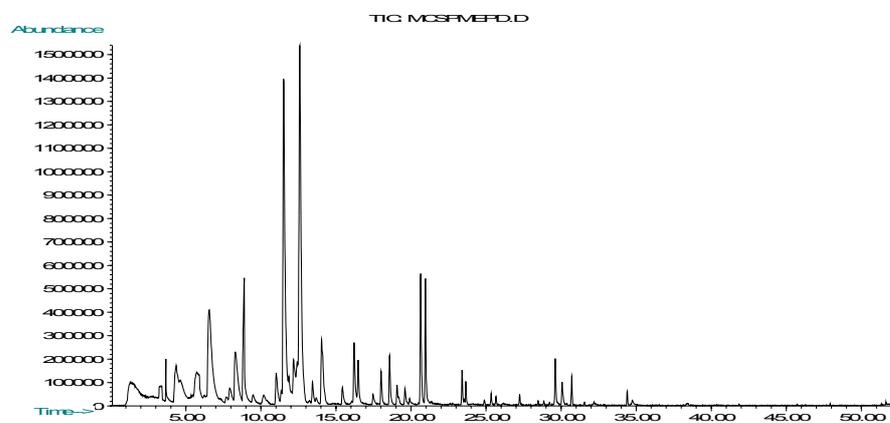


Figura 28: Fragmentograma relativo à análise de Muruci por MEFS-PDMS(DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

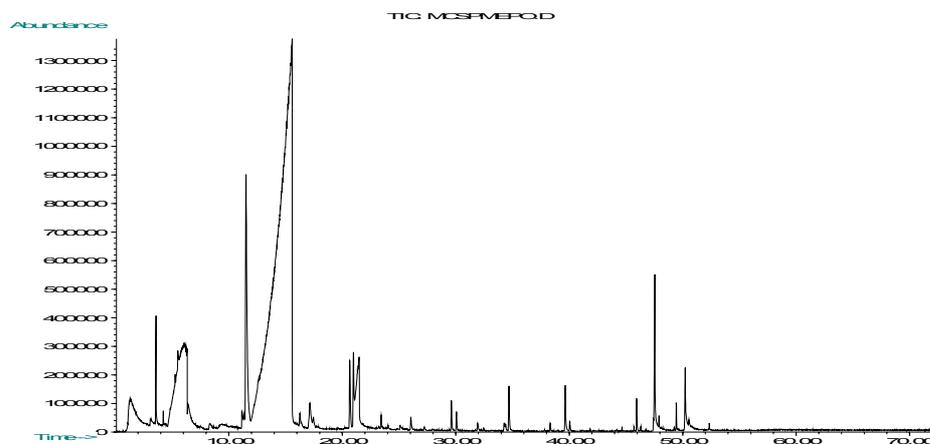


Figura 29: Fragmentograma relativo a análise de Muruci por MEFS-PA (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

A análise por CG-EM forneceu os resultados apresentados na tabela 15.

Tabela 15: Substâncias identificadas no Muruci por MEFS nas fibras: PA, PDMS, CAR/PDMS e PDMS/DVBZ (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA Área (%)	SPME PDMS Área (%)	SPME CAR/PDMS Área (%)	SPME PDMS/DBZ Área (%)
1	Acetato de etila	600	-	-	-	1.43
2	Butanoato de etila	785	-	2.82	4.62	2.11
3	Ácido isovalérico	800		-	-	Tr
4	Ácido butanóico	825	Tr	-	2.18	-
5	3-Hexeno-1-ol	840		-	-	Tr
6	Hexanol	855	Tr	-	-	3.96

7	Acetato de isoamila	862	-	-	19.88	Tr
Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA Área (%)	SPME PDMS Área (%)	SPME CAR/PDMS Área (%)	SPME PDMS/DBZ Área (%)
8	3-Metil butanoato de etila	867	-	-	4.08	-
9	Propanoato de butila	889	-	Tr		--
10	Hexanoato de metila	906	-	4.04	5.97	-
11	Benzaldeído	927	-	-	-	Tr
12	Isobutirato de butila	930	-	0.55	-	-
13	β-Pineno	942	-	0.73	-	-
14	Butanoato de butila	980	Tr	0.42	-	-
15	Hexanoato de etila	985	5.70	15.47	13.53	33.16
16	Mirceno	986	-	1.48	0.48	-
17	Acetato de hexila	994	-	-	-	Tr
18	Isobutirato de isoamila	997	-	-	0.69	-
19	Ácido hexanóico	1001	89.84	3.54	18.91	25.59
20	3-Metiltiopropanoato de etila	1005	Tr	-	-	-
21	Acetato de hexila	1012	-	2.33	0.61	-
22	Limoneno	1026	-	18.55	4.08	14.82

23	Butanoato de isoamila	1038	-	3.46	-	-
Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA Área (%)	SPME PDMS Área (%)	SPME CAR/PDMS Área (%)	SPME PDMS/DBZ Área (%)
24	2-Metil-butanoato de butila	1040	-	0.83	-	-
25	γ -Terpineno	1048	-	Tr	-	-
26	Heptanoato de etila	1080	-	2.26	-	-
27	Octanoato de metila	1105	-	0.33	0.16	Tr
28	Álcool fenetílico	1110	Tr	-	-	Tr
29	Cânfora	1136	-	0.97	0.12	-
30	Mentona	1141	-	1.45	0.13	-
31	Ácido octanóico	1170	Tr	-	Tr	14.31
32	Mentol	1171	-	0.50	-	-
33	Hexanoato de butila	1172	1.02	3.56	0.40	1.78
34	Butanoato de hexila	1176	-	-	-	Tr
35	Octanoato de etila	1178	0.67	2.98	0.32	1.37
36	Delta lactona	1211	Tr		-	-
37	Acetato de linalila	1246	-	0.52	-	-
38	Hexanoato de hexila	1352	Tr	1.25	-	-
39	Decanoato de etila	1396	Tr	0.67	-	-
40	β -cariofileno	1417	-	0.63	-	-

41	Isobutirato de 2-fenil etila	1430	Tr	-	-	-
Picos	Substâncias Identificadas	IR	SPME PA Área (%)	SPME PDMS Área (%)	SPME CAR/PDMS Área (%)	SPME PDMS/DBZ Área (%)
42	Isovalerato de 2-fenil etila	1489	Tr	-	-	-
43	Dodecanoato de etila	1579	Tr	-	-	-
44	Tetradecanal	1610	Tr	-	-	-
45	Ácido palmítico	1938	1.95	-	-	-
46	Ácido oleico	2050	Tr	-	-	-
47	Salicilato de metila	2380	-	-	-	Tr

Observa-se no SPME-PDMS: 65% ésteres, 31% monoterpenos, 7% aldeídos e 4% ácidos, sendo compostos majoritários o hexanoato de etila e o limoneno. No SPME-PA: 52% ésteres, 30% ácidos, 10% álcoois, 4% aldeído e 4% de lactonas, sendo majoritário o ácido hexanóico e o hexanoato de etila. No SPME-CAR-PDMS: 68% de ésteres, 21% de monoterpenos e 11% ácidos, sendo majoritário os compostos acetato de isoamila, hexanoato de etila e ácido hexanóico. No SPME-PDMS/DVB: 52% ésteres, 16% ácidos, 16% álcoois, 8% monoterpenos, 4% aldeído e 4% tiol sendo majoritário o hexanoato de etila, limoneno e os ácidos hexanóico e octanóico.

Analisando os resultados acima, conclui-se pela presença majoritária de ésteres na composição química do murici. No entanto, dentre tantos ésteres identificados, somente o butanoato de etila e o hexanoato de etila contribuíram para o aroma global da fruta, seguido dos ácidos butanóico e hexanóico e os álcoois 1-octeno-3-ol e o álcool fenetílico, de acordo com a avaliação por CGO-EM. Observa-se na amostragem com as fibras relativas ao PDMS e ao CAR-PDMS a ausência de álcoois na composição global enquanto àquelas com caráter polar mais acentuado, PDMS-DVB, e a totalmente polar, PA, a presença dos mesmos de acordo com o caráter afim da fibra e das substâncias.

A observação da presença e/ou ausência de determinadas substâncias nas diversas fibras existentes mostra a necessidade da análise do extrato nas várias fibras a fim de maximizar a investigação de voláteis em matrizes variadas.

A tabela 16 e figura 30 mostram a reunião dos dados globais das análises de MEFS.

Tabela 16: Percentual das substâncias identificadas por classe funcional do Muruci nas diversas amostragens: MEFS-PDMS, CAR/PDMS, DVBZ/PDMS e PA; SDE e Headspace.

Classes Substâncias	SPME PDMS	SPME CAR/ PDMS	SPME DVBZ/ PDMS	SPME PA	SDE	HSPACE
ÁCIDOS	4	11	16	30	16	36
ALCOOIS	-	-	16	10	16	24
ALDEIDOS	7	-	4	4	8	-
ESTERES	65	68	52	52	40	32
CETONAS	-	-	-	-	4	-
LACTONAS	-	-	-	4	-	-
TERPENÓIDES	31	21	8	-	12	4
COMPOSTOS SULFURADOS			4		4	4

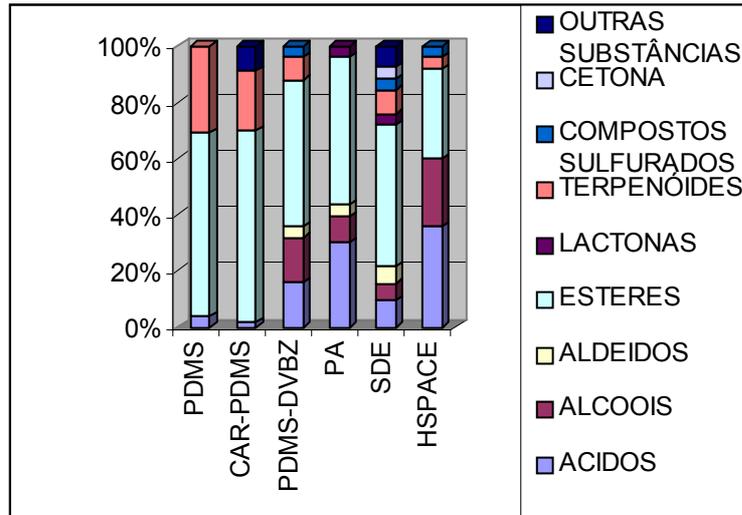


Figura 30: Gráfico esquemático relacionando as classes funcionais encontradas nas diversas amostragens para análise cromatográfica do Muruci.

Pode-se concluir que, dentre todas as fibras utilizadas na amostragem por MEFS, aquela que responde mais ao perfil químico das substâncias encontradas no SDE, cujo extrato apresentou perfil sensorial mais característico da fruta “in natura”, foi a fibra recoberta com PDMS-DVBZ. Esta informação disponibiliza uma análise rápida do perfil químico de uma eventual essência de muruci gerada por SDE, podendo ser usada em casos de controle de qualidade de essências fornecidas por diferentes fornecedores (ou “flavor house”).

A menor composição de ésteres no perfil global e a maior composição dos ácidos encontrado no “headspace” comparativamente ao extrato de SDE ratifica as informações do painel sensorial indicando um atributo mais rançoso e menos frutal para a amostragem por “headspace”.

Com os voláteis das frutas Jaca (*Artocarpus heterophyllus*) e Muruci (*Byrsonima crassifolia*) identificados e, dentre estes, os voláteis responsáveis por seus aromas caracterizados, partiu-se para a obtenção de informações mais completas a respeito de eventuais precursores de voláteis nestas frutas, o que será discutido a seguir.

4.2. GLICOSÍDEOS

Em Buttery et al. (1971), a observação de que a concentração de monoterpenos aumentava quando polpa de tomate era aquecida sugeriu a existência de precursores destas substâncias, de tal forma que ao sofrerem tratamento térmico liberariam os compostos monoterpênicos voláteis¹³⁰. Em 1974, estudos de hidrólise ácida e enzimática em polpas de uvas moscatel foram feitos o que atestou a presença de precursores de aroma. Desde então o número de publicações vem aumentando nesta área e o que se observa é que a maioria dos precursores de voláteis observados são de derivados glicosilados.

Mais recentemente, glicosídeos tem sido vistos como importantes contribuintes de aroma, a serem explorados, por exemplo, em produtos que venham a sofrer fermentações ou processos térmicos no instante de uso, o que faz com que os glicosídeos se hidrolizem liberando o aroma desejado.

A abordagem principal na análise de precursores glicosilados em frutas tem sido a caracterização das agliconas livres após hidrólise química ou enzimática, sem uma investigação dos glicosídeos de origem. Nestes trabalhos, a abordagem mais empregada foi a aplicação da cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrometria de massas aos extratos de frutas processados em XAD-2 e derivatizados com agente silanizante, fazendo uso de padrões de glicosídeos sintetizados no laboratório e do emprego de janelas cromatográficas¹³¹.

A fim de investigar a presença de glicosídeos precursores de aroma em jaca e murici, em princípio foi utilizada a metodologia de trabalho mais aplicada a frutas, introduzida por Gunata e colaboradores, empregando extração de glicosídeos por adsorção em XAD-2, seguida de hidrólise (ácida ou enzimática) dos precursores extraídos. Na metodologia utilizada, o extrato aquoso das frutas citadas foi centrifugado, filtrado e submetido a uma coluna de XAD-2 à vazão de 3,0 mL/min sendo em seguida, à mesma vazão, eluída com água destilada, para extração dos açúcares e ácidos, diclorometano, para extração dos voláteis livres, acetato de etila e por fim metanol para extração dos glicosídeos.

Cabe ressaltar a importância da centrifugação e filtração do extrato aquoso a fim de evitar ao máximo a presença de partículas em suspensão e reduzir os entupimentos constantes na coluna de fracionamento. Foram preparadas soluções individuais de arabinose, xilose, raminose, glicose, frutose, galactose e sacarose, escolhidos em função da presença em maior ou menor quantidade em frutas e

silanizados com BSTFA/ Piridina (N, O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida/ piridina anidra). Foram ainda sintetizados alguns glicosídeos, escolhidos com base nos mais observados em frutas, tais como as misturas diastereoisoméricas dos anômeros α e β , de: *n*-butil- O- D- glicopiranosídeo, etil- hexil- O- D-glicopiranosídeo, *n*- octil- O- D- glicopiranosídeo, *n*- decil- O- D- glicopiranosídeo obtidos através da glicosilação de Fischer, que é uma reação de acoplamento entre a glicose e os álcoois lineares correspondentes, cujo procedimento fornece como produto a mistura dos anômeros α e β , com o anômero α majoritário. Pela simplicidade desta metodologia optou-se por sintetizar a maioria dos glicosídeos por este método, já que se buscava mapear os tempos de retenção e a fragmentação dos glicosídeos derivatizados para a investigação dos extratos de frutas.

Pelo fato do anômero majoritariamente encontrado em polpas de frutas ser o β , optamos por sintetizar também *n*- hexil-O-D-glicopiranosídeo pela metodologia de Köenigs-Knorr, que forneceria somente o anômero β e seria assim usado como sonda para o estudo em questão.

A seguir serão apresentados alguns cromatogramas e fragmentogramas dos glicosídeos sintetizados.

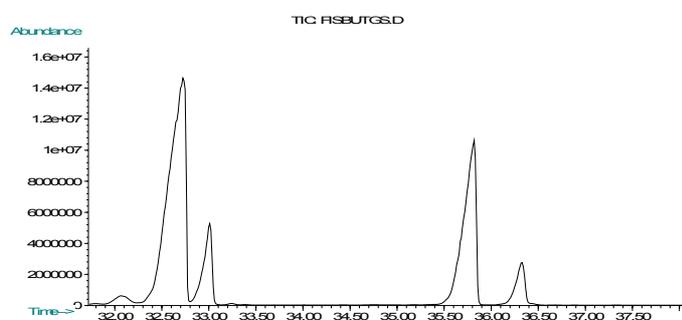


Figura 31: Fragmentograma relativo aos anômeros α e β do *n*-butil-(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

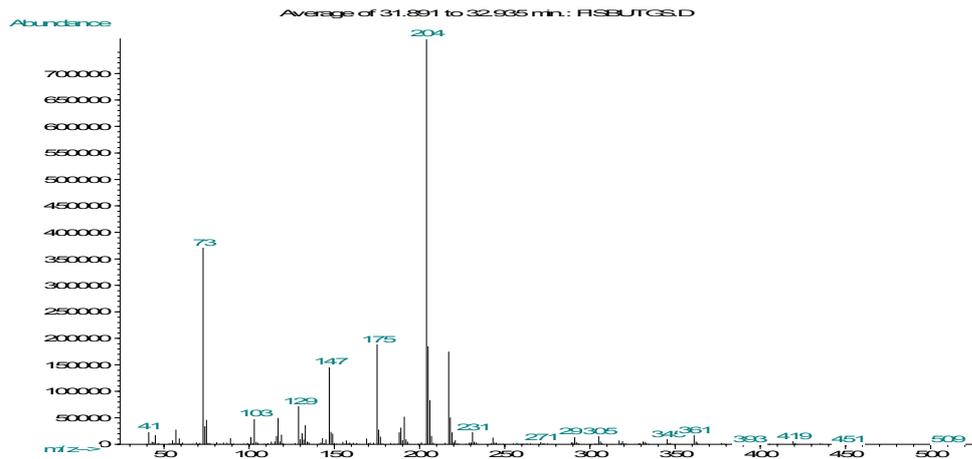


Figura 32: Espectro de massas do *n*-butil- O- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

De acordo com o espectro de massas, evidencia-se a presença de *n*-butil-D-glicopiranosídeo, em função da presença do íon característico m/z 509 (15), conforme discutido por De Jongh (1969), no seu clássico trabalho sobre espectrometria de massas de carboidratos trimetilsilanizados.

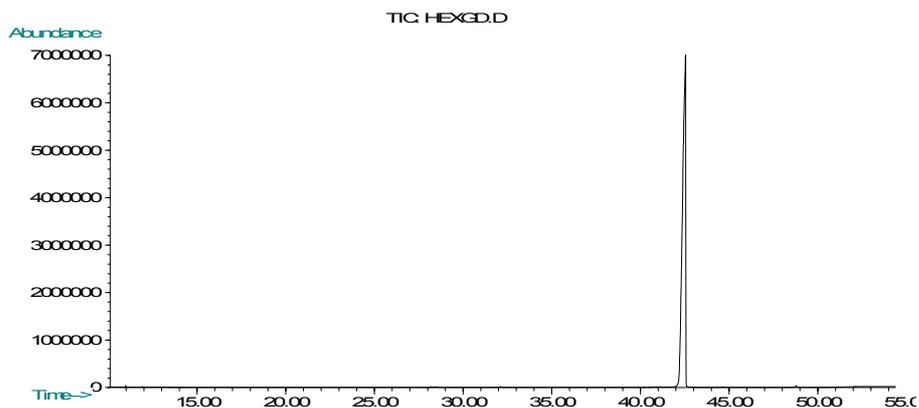
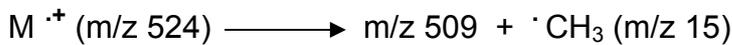


Figura 33: Fragmentograma relativo ao *n*-hexil β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

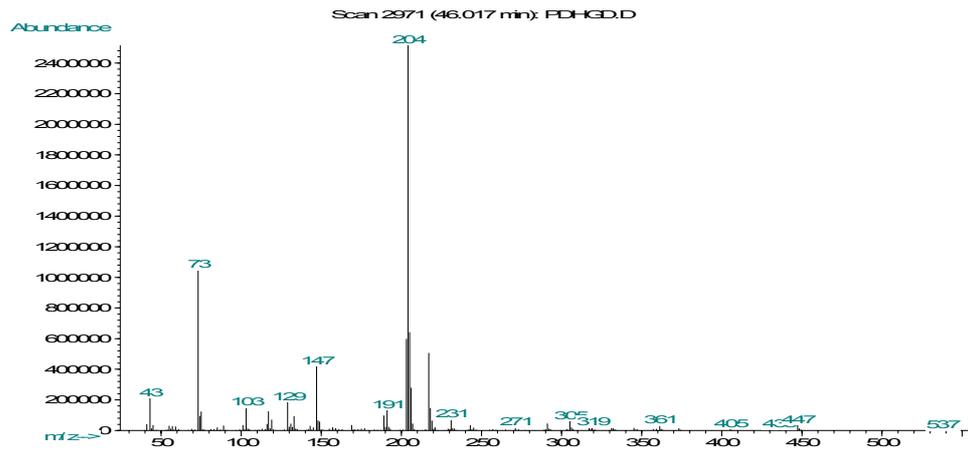


Figura 34. Espectro de massas do *n*-hexil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado.

O derivado *n*-hexil glicosídeo foi evidenciado pela presença do fragmento m/z 537 [$M^+ - 15, (1)$], relativo a perda da metila a partir do pico do íon molecular m/z 552.

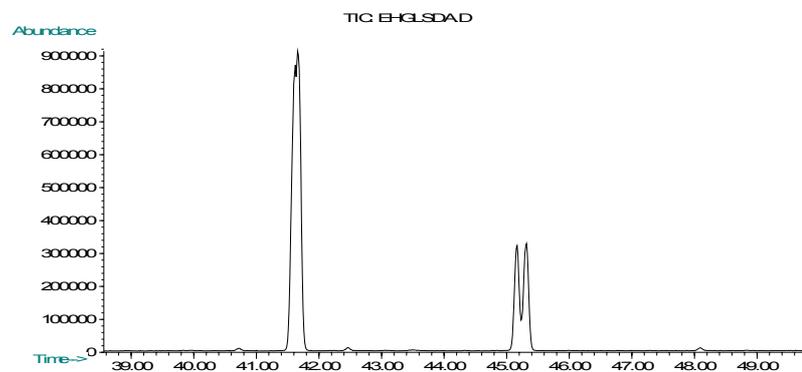


Figura 35: Fragmentograma relativo aos anômeros α e β - etil-hexil-(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

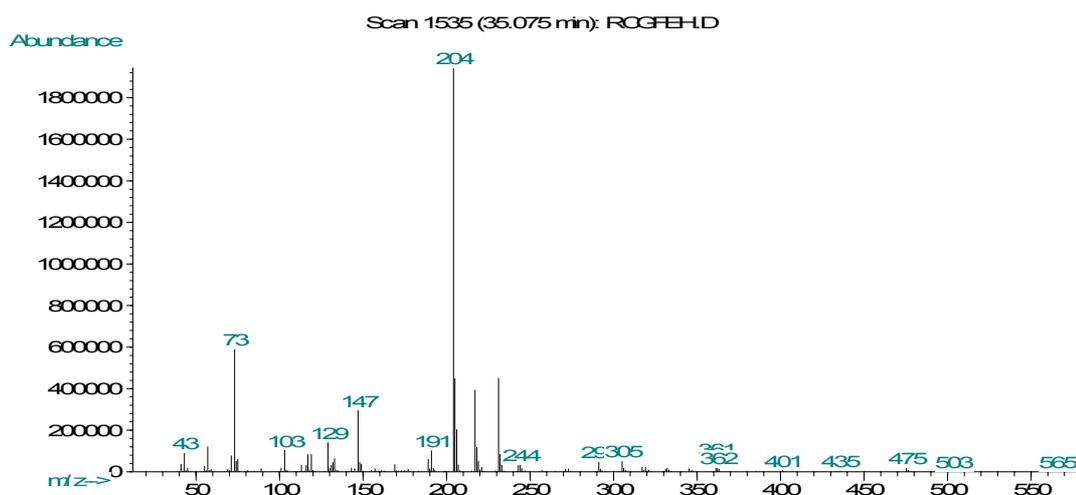


Figura 36: Espectro de massas do β -etil-hexil-(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado.

O derivado etilhexil glicosídeo foi evidenciado pela presença do fragmento m/z 565 [$M^+ - 15, (1)$], relativo a perda da metila a partir do pico do íon molecular m/z 580.

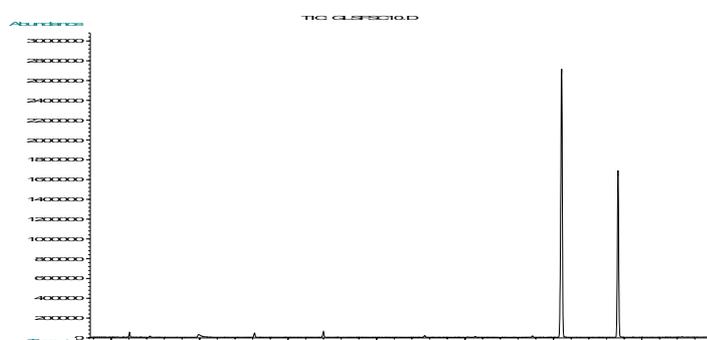


Figura 37: Fragmentograma relativo aos anômeros α e β do n -octil-(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

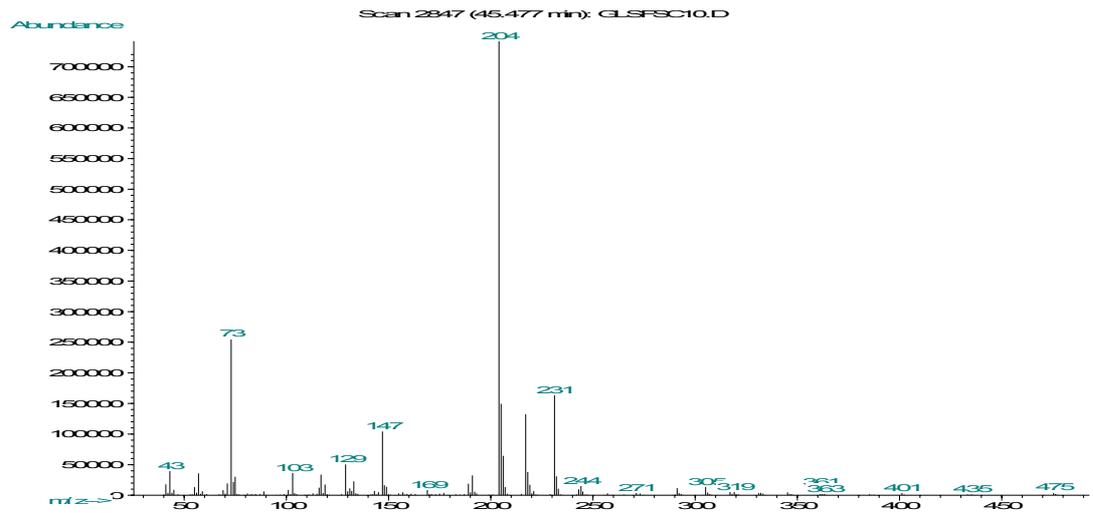


Figura 38: Espectro de massas do β -n-octil-(D)-O-glicopiranosídeo trimetilsilanizado.

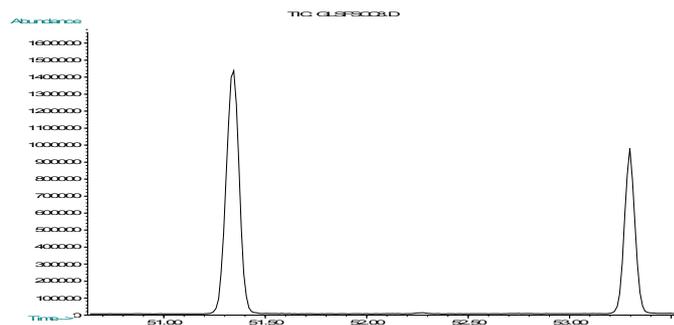


Figura 39: Fragmentograma relativo aos anômeros α e β do *n*-decil-(D)-O-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 8 de materiais e métodos)

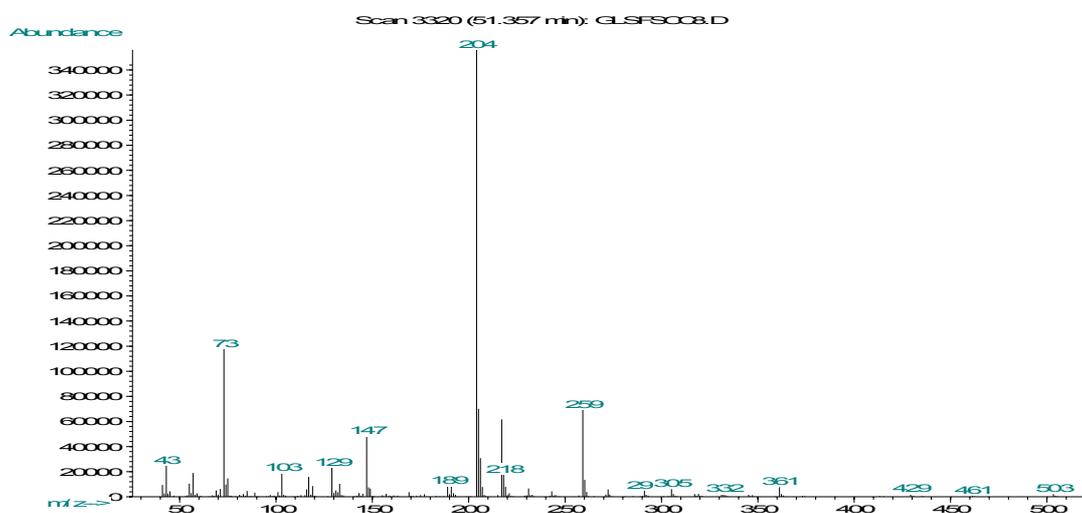


Figura 40: Espectro de massas do β -*n*-decil-(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado

A Tabela 17 mostra os principais fragmentos e suas abundâncias para os glicosídeos sintetizados e os açúcares livres investigados neste trabalho na forma de trimetilsilil éteres por CGAR-EM.

Tabela 17: Fragmentos de massas relativos aos açúcares livres e aos glicosídeos sintetizados.

AÇÚCARES LIVRES		
Tr	Açúcar	Principais fragmentos iônicos (m/z (intensidade relativa)) presentes nos açúcares livres
18.84	Arabinose	423(1), 393(1), 367(1), 333 (2), 305(4), 291(2), 259(2), 217(100), 204(62), 191(56), 147(32), 133(6), 117(3), 101(4), 73(100), 45(6)
28.60	Glicose	525(1), 435(1), 393(2), 345(2), 305(4), 291(3), 231(4), 217(20), 204(100), 191(48), 147(28), 117(7), 103(6), 73(60), 45(4)
27.40	Galactose	435(1), 392(2), 361(2), 305(7), 265(4), 243(5), 217(38), 204(100), 191(65), 147(32), 129(12), 117(4), 103(6), 73(70), 45(5)
25.42	Frutose	435(1), 365(5), 306(1), 273(2), 247(3), 217(100), 204(13), 191(2), 189(2), 147(12), 129(7), 117(4), 103(6), 73(50), 45(5)
AÇÚCARES LIVRES		
Tr	Açúcar	Principais fragmentos iônicos (m/z (intensidade relativa)) presentes nos açúcares livres
19.07	Raminose	437(1), 347(1), 305(3), 273(2), 231(1), 217(12), 204(100), 191(32), 147(24), 130(7), 117(4), 103(2), 73(71), 45(5)
21.58	Xilose	423(1), 393(1), 367(1), 333(2), 305(5), 291(3), 259(4), 217(51), 204(100), 191(46), 147(33), 133(9), 117(5), 101(6), 73(89), 45(8)
56.40	Sacarose	565(5), 525 (5), 437(20), 361(100), 319(10), 217(50), 204(5), 191 (10), 147 (30), 73 (70)

<i>PADRÕES DE GLICOSÍDEOS</i>			
Tr	Glicosídeos	Principais fragmentos iônicos (intensidade relativa) presentes nos glicosídeos	(m/z nos
35.81	<i>n</i> -Butil- O- β-(D)-glicopiranosídeo	509(1), 435(1), 361(2), 305(2), 231(3), 217(18), 204(100), 175(22), 147(16), 133(9), 117(5), 103(6), 73(44), 57(4)	
42.54	<i>n</i> -Hexil- O- β-(D)-glicopiranosídeo	537(2), 447(1), 405(1), 361(2), 305(2), 231(3), 217(17), 204(100), 191(3), 147(16), 129(6), 117(5), 103(6), 73(32), 43(9)	
45.24	Etil-hexil l- O- β-(D)-glico-piranosídeo	565(3), 361(2), 305(2), 231(10), 217(12), 204(100), 191(3), 147(12), 129(4), 117(3), 103(4), 81 (2), 73(36), 43(6)	
48.65	<i>n</i> -Octil- O- β-(D)-glicopiranosídeo	475(1), 433(1), 361(5), 305(5), 281(12), 231(16), 217(28), 206(95), 204(100), 191(16), 147(24), 129(10), 117(10), 103(16), 96(10), 73(64), 55(16), 44(40)	
53.30	<i>n</i> -Decil - O- β-(D)-glicopiranosídeo	503(1), 461(1), 361(5), 305(2), 259(15), 231(3), 217(15), 204(100), 147(12), 117(10), 103(4), 73(33), 43(6)	

Observam-se fragmentações muito semelhantes entre os açúcares livres, sendo a principal diferença a intensidade de alguns íons; no caso de hexopiranoses, o íon m/z 204 apresenta maior intensidade quando comparados às pentafuranoses, onde a maior intensidade relativa dá-se para m/z 217. No caso dos dissacarídeos a maior intensidade relativa deve-se ao m/z 361.

Em função do conhecimento dos tempos de retenção, e diante da associação com os tempos de retenção de uma série homóloga dos hidrocarbonetos, foi possível a obtenção dos índices de retenção dos açúcares livres assim como dos glicosídeos preparados.

Tabela 18: Tempos de retenção e índices de retenção dos açúcares livres e glicosídeos sintetizados.

O-glicosídeos e/ou açúcares livres trimetilsilanizados	Tr	IR
Arabinose persilanizada	18.83	1716
Raminose persilanizada	19.10	1833
Xilose persilanizada	21.58	1910
Frutose persilanizada	25.70	1960
Galactose persilanizada	27.41	2000
Glicose persilanizada	29.31	2050
<i>n</i> -Butil- O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado	35.81	2225
<i>n</i> -Hexil- O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado	42.54	2450
Fenil O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado**	45.00	2578
Etil-hexil- O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado	46.00	2690
<i>n</i> -Octil- O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado	48.65	2758
<i>n</i> -Decil- O- β-(D)-glicopiranosídeo persilanizado	53.30	3025
Sacarose persilanizado	55.00	3300

**-padrão comercial

De acordo com De Jongh (1969), carboidratos persilanizados apresentam íons característicos na espectrometria de massas, o que facilita sua identificação embora muitas vezes o pico do íon molecular (M^+) nem sempre apareça nos espectros. Estes íons seriam: m/z 435, típico de perda de um radical $\cdot\text{CH}_3$ a partir do pico do íon molecular seguido da perda TMSiOH e de m/z 437, indicando a perda de um radical $\cdot\text{CH}_2\text{OTMSi}$ (vide Figura 41)

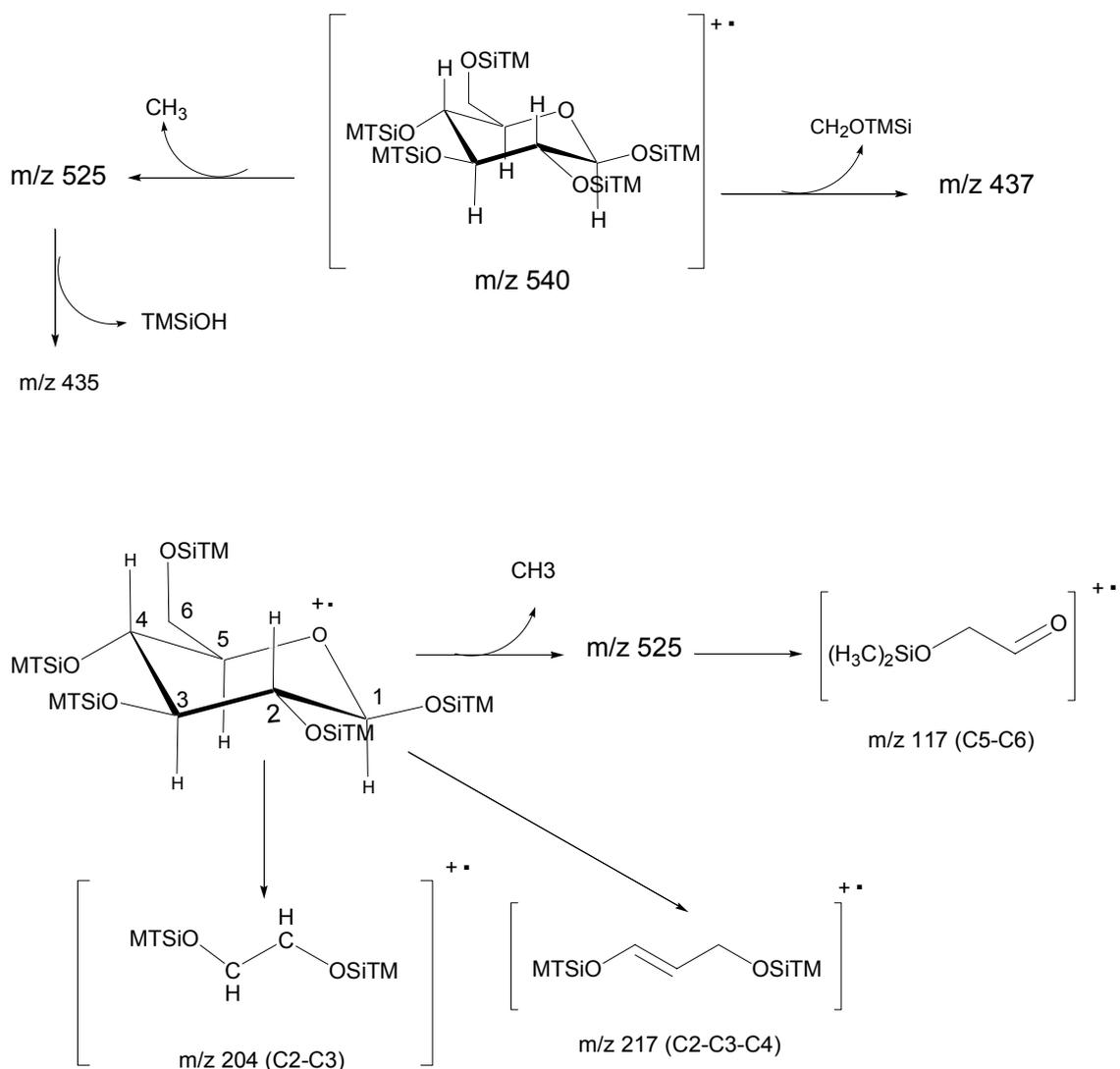


Figura 41: Fragmentos característicos da glicose trimetilsilanizada

Substâncias que apresentam os fragmentos iônicos de m/z 117, m/z 204 e m/z 217 retêm os carbonos 2, 3, 4, 5 e 6 das hexoses pertrimetilsilanizadas.

Com o conhecimento dos tempos de retenção dos açúcares livres assim como dos glicosídeos sintetizados foi possível identificar que, seguindo a metodologia sugerida por Gunata, para obtenção dos possíveis glicosídeos, obteve-se uma fração metanólica (e não glicosídica, como é muitas vezes citada na literatura) com predominância de açúcares livres, monossacarídeos, conforme demonstrado na figura 42. No caso particular da jaca os açúcares glicose, frutose e sacarose foram identificados como majoritários, e sua distribuição também pode ser vista na figura 42.

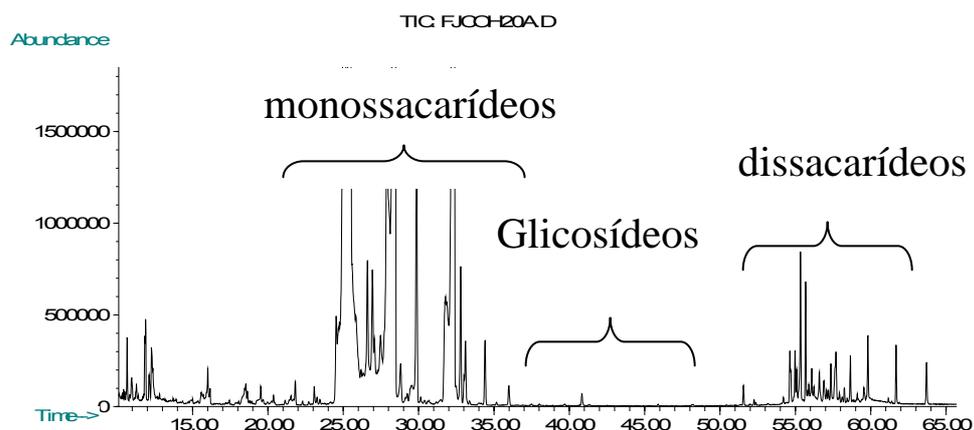


Figura 42: Fragmentograma da fração metanólica do extrato de jaca após cromatografia em XAD-2 (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

A constatação de que, nesta fração metanólica, a presença dos açúcares livres ainda era majoritária, mesmo após inúmeras tentativas de adequação da metodologia proposta por Gunata e cols., dificultou em demasia a identificação dos glicosídeos, presentes em quantidades minoritárias, pelo comprometimento da resolução cromatográfica de toda região.

A metodologia que melhor reduziu o teor de açúcares livres no extrato glicosídico foi a eluição da coluna de XAD-2 inicialmente com água, depois diclorometano, acetato de etila e um gradiente de H₂O/MeOH (80/20, 60/40, 40/60, 20/80, 100% MeOH).

Objetivando uma melhor visualização da investigação de glicosídeos nas duas frutas estudadas, Jaca e Murici, as mesmas serão particularizadas:

4.2.1 JACA (*Artocarpus heterophyllus*)

Analisando olfativamente as frações obtidas do isolamento em XAD-2 observou-se que:

Fração em diclorometano – Presença de aroma – frutal, doce e “queijo”

Fração em acetato de etila – Ausência de cheiro.

Fração em metanol - Ausência de cheiro

Dentre as frações em ACOEt, e MeOH/H₂O (20/80, 40/60, 60/40, 80/20, 100/0) somente as frações em ACOEt,, MeOH/H₂O (80/20) e MeOH/H₂O (100/0) foram investigadas, visto nestas existir evidências de precursores glicosilados pela observação dos fragmentos iônicos m/z 117, m/z 204 e m/z 217 em tempos de retenção diferentes dos apresentados para os monossacarídeos.

No espectro de Infravermelho da fração metanólica (anexo1) observou-se bandas características das deformações axiais dos grupamentos OH (ν 3437cm⁻¹), C=C (ν 1638cm⁻¹) e C-O (ν 1616cm⁻¹), sugestivas da presença de carboidratos¹³².

Além das janelas cromatográficas sugeridas pelo emprego dos padrões, utilizou-se ainda a técnica de monitoramento por íons seletivo (SIM- CG-EM) nas diversas frações obtidas buscando, em princípio, os fragmentos presentes em constituintes minoritários característicos de carboidratos trimetilsilanizados, fora da janela preconizada. Na figura 43 é possível visualizar estes constituintes (em verde).

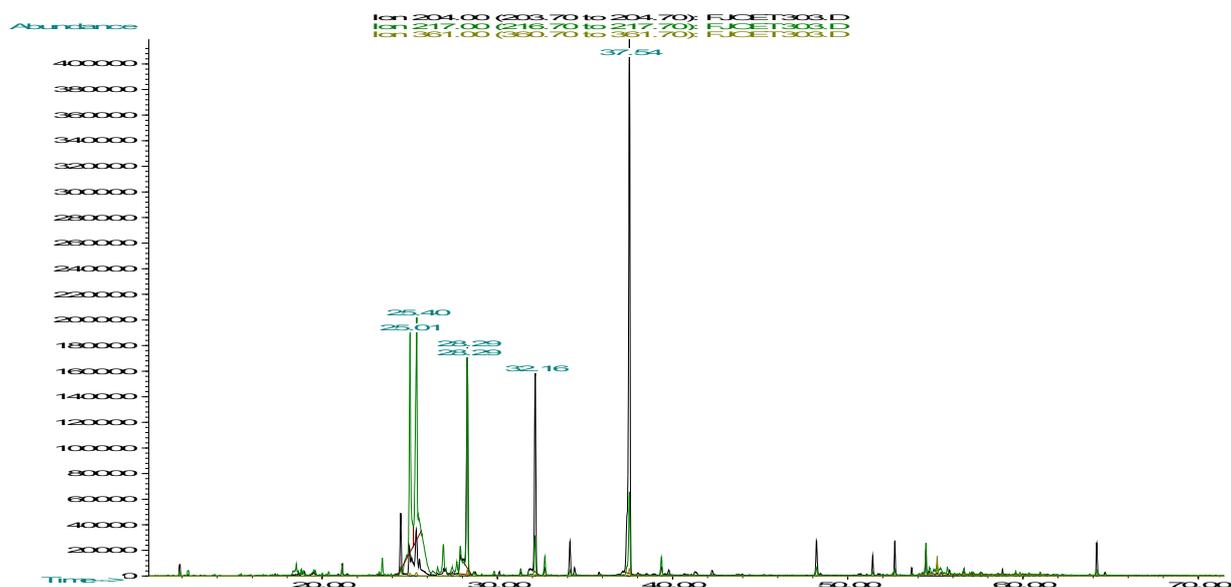


Figura 43: Fragmentograma no modo extração por íons seletivo (em verde) da fração em acetato de etila do extrato de jaca após cromatografia em XAD-2 (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos). Em preto, o fragmentograma em scan obtido por IE (70 ev).

Alguns dos componentes desta fração apresentaram íons consistentes com a fragmentação de agliconas alifáticas (m/z 45, 59, 73 e m/z 43, 57, 71) , nos tempos de retenção 25.32, 28.30 e 32.16 min, assim como de agliconas aromáticas (m/z 77, 91, 105), nos tempos de retenção 48.13 e 51.39 min, conforme demonstrado na tabela 19.

Tabela 19: Fragmentos relativos a fração em acetato de etila do extrato de jaca após XAD-2.

<i>FRAÇÃO EM ACETATO DE ETILA – JACA</i>		
Tr	Área Relativa (%)	Principais fragmentos iônicos (m/z (intensidade relativa)) presentes na fração em ACOET da jaca
25.32	3.8.1	465(32), 437(16), 393(1), 363(8.7), 347(8.7), 305(3.2), 273(51), 257(5.4), 217(62), 204(9,8), 147(45.6), 103(5.4), 73(100), 59 (2), 45 (6),
28.30	16.6	466(1), 435(1), 393(1), 361(3.2), 332 (5), 305(8), 292(2), 244(8,5), 217(79), 204(70), 191(24), 147(34), 103(15), 73(100), 59 (3), 45(6.5)
32.16	16.50	435(2), 405(1), 345(1), 319(2), 305(3), 271(1), 231(2), 197(22), 191(50),147(25), 129(5.4), 103(5.4), 73(62), 59(2), 45(5,0)
37.53	46.21	433(0,1), 391(1), 361(4), 305(2), 271(1), 231(3), 217(19), 197(22), 189(22),147(33), 129(5.4), 103(3.2), 73(38), 57(2), 43(7.9)
48.13	2.54	445(3), 391(5), 355(4.3), 317(95), 231(4.3), 217(8.7), 204(32), 191(3), 147(32), 129(21), 91(16), 73(100), 45(8.7)
51.39	1.10	279(2), 223(15), 217(22), 191(4), 167(7), 149(25), 129(6.4), 105(34), 91(2), 73(60), 57(5), 44(8.7)
52.58	tr	281(8), 217(28), 204(92), 191(8), 147(32), 129(19), 103(8.5), 55(8.2), 44(43)
64.12	tr	429(6), 355(16), 281(33), 253(15), 217(31), 207(95), 204(32), 197(19), 147(33), 133(8.7), 96 (9.2), 44(45)

A fração em acetato de etila foi então hidrolisada em meio ácido a fim de liberar a parte não osídica (aglicona) dos possíveis glicosídeos. Cabe ressaltar que a fração em ACOEt não apresentava aroma e o resultado da hidrólise desta fração apresentou aroma frutal. O resultado da hidrólise por CGAR-EM encontra-se na tabela 20.

Tabela 20: Voláteis liberados após a hidrólise ácida da fração em acetato de etila do extrato de jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	SUBSTÂNCIA	IR
1	Furfural	815
2	<i>trans</i> -2-hexenal	832
3	benzaldeído	947
4	1-octeno-3-ol	968
5	álcool benzílico	1033
6	p-cimeno	1010
7	álcool fenetílico	1102
8	nonadienal	1125
9	3-fenil-propanol	1225

A presença dos íons m/z 91 e m/z 105 na fração trimetilsilanzada de acetato de etila (figura 44), assim como a presença dos álcoois benzílico e fenetílico no hidrolisado desta fração, evidenciam a presença dos glicosídeos: benzil-*O*-glicopiranosídeo (Tr 48.18) e 2-feniletíl-*O*-glicopiranosídeo (Tr 51.43). A comparação destes tempos de retenção com os padrões sintetizados sugerem novamente a presença destes glicosídeos na fração em acetato de etila visto a semelhança dos pesos moleculares das substâncias.

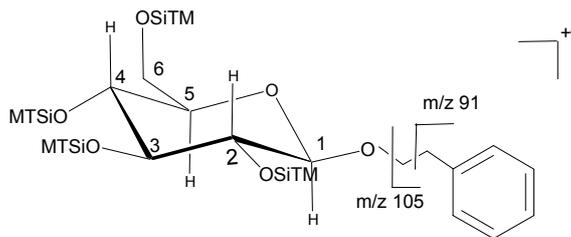


Figura 44: Esquema indicativo dos fragmentos iônicos m/z 91 e m/z 105 evidenciados na fração em acetato de etila da Jaca

Novamente, após a derivatização com BSTFA/piridina e injeção da fração metanol/água (80/20) no CG-EM, vários compostos apresentaram em seus espectros de massa íons característicos de carboidratos trimetilsililados.(m/z 204, 217 e 361), assim como a presença de hexoses trimetilsilanizadas (m/z 435).

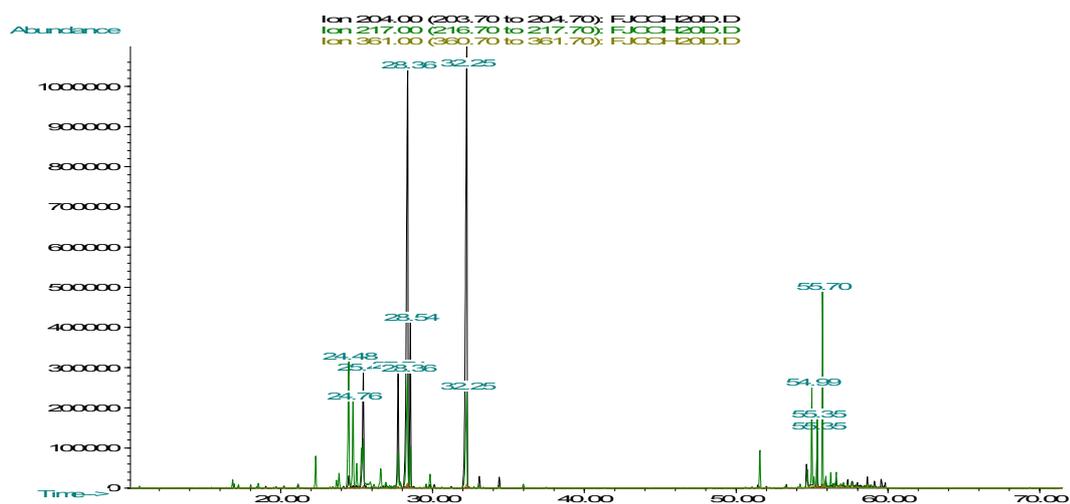


Figura 45: Fragmentograma no modo extração por íon seletivo da fração em metanol/água (80/20) do extrato de jaca após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Observou-se ainda, mesmo após várias lavagens, a presença dos açúcares frutose, glicose e sacarose nesta fração. Estes íons foram detetados novamente na região de tempo de retenção 54 a 57 min, sugerindo a presença de outros carboidratos além dos monossacarídeos e sacarose padrões. Estes íons estão apresentados na tabela 21.

Tabela 21: Fragmentos relativos a fração em MeOH/H₂O do extrato de jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

<i>FRAÇÃO EM MEOH/H₂O (80/20) DA JACA – FJCOH20D</i>		
Tr	Área relativa (%)	Principais fragmentos iônicos (m/z (intensidade relativa)) presentes na fração MeOH/H₂O (80/20) da Jaca - FJCOH20D
24.48	0.77	45 (5), 59(2), 73(70), 89(5), 103(10), 117(10), 147(20), 204(10), 217(100), 437(5),
24.76	7.7	45(10), 59(2), 73(20), 89(5), 103(20), 117(20), 147(20), 204(10), 217(100), 437(5)
25.44	7.5	45(5), 59(2), 73(100), 89(5), 103(2), 117(5), 147(30), 204(100), 217(40), 257(20), 437(10)
27.74	6.70	43(5), 55(10), 73(100), 85(5), 117(5), 132(5), 145(10), 204(100), 217(40)
28.35	33.89	45(5), 73(70), 103(10), 129(15), 147(20), 191(40), 204(100), 217(30), 231(10), 405(5), 435(5)
28.54	9.20	45(5), 55(5), 71(5), 133(20), 117(5), 204(100), 217(20), 305(10), 435(5)
51.56	2.90	45(5), 55(2), 73(30), 91(7), 103(15), 105(8), 117(5), 204(5), 217(100), 361(10), 509(5)
54.70	1.60	43(5), 55(2), 73(60), 103(10), 147(20), 169(20), 204(60), 217(100), 341(5), 437(5)
54.99	6.40	43(5), 73(20), 117(2), 129(5), 133(5), 147(10), 204(2), 217(100), 509(10), 535(5)
55.14	6.70	44(2), 73(70), 91(5), 103(20), 147(20), 204(10), 217(100), 361(20), 437(10)
55.35	4.40	44(2), 57(2), 73(70), 91(5), 105(5), 117(10), 129(10), 147(20), 204(90), 217(100), 231(10), 509(10), 583(5)
55.70	12.30	45(5), 59(2), 73(30), 103(10), 204(5), 217(100), 361(5), 437(5), 481(3), 561(5)

Esta fração foi hidrolisada em meio ácido, gerando um extrato com presença de aroma e apresentando o seguinte perfil (tabela 22) de substâncias pela análise de CGAR-EM:

Tabela 22: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em MeOH/H₂O (80/20) do extrato de jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Picos	SUBSTÂNCIA	IR
1	3-metil-1-butanol	670
2	furfural	815
3	2-etil-hexanol	790
4	ácido benzoico	1160
5	ácido 2-etil-hexanoico	1048
6	álcool fenetílico	1086

A presença dos fragmentos m/z 91 e m/z 105 no tempo de retenção de 51.56 min juntamente com o aparecimento do álcool fenetílico no hidrolisado sugere novamente a presença do 2-feniletil-O-glicopiranosídeo.

Finalmente, a fração metanólica da jaca foi analisada, revelando o fragmentograma apresentado na figura 46.

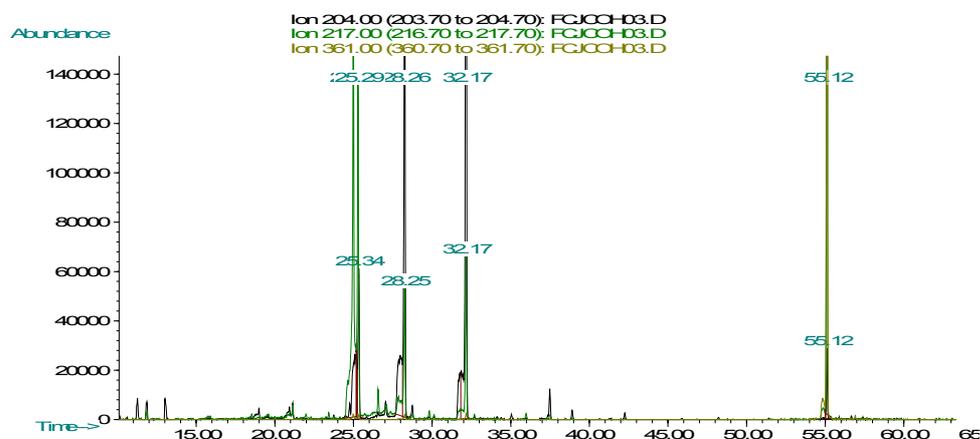


Figura 46: Fragmentograma no modo extração por íons seletivo relativo a fração em metanol do extrato de jaca após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

Algumas substâncias apresentaram íons consistentes com a fragmentação de agliconas alifáticas (m/z 55, 71, 85, 99). Os outros carboidratos apresentaram íons característicos de açúcares livres, cujos tempos de retenção indicaram a presença majoritária de frutose, glicose e sacarose, de acordo com padrões.

Tabela 23: Fragmentos relativos a fração em MeOH do extrato de jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

<i>FRAÇÃO EM METANOL DA JACA</i>		
Tr	Área relativa (%)	Principais fragmentos iônicos (m/z (intensidade relativa)) presentes na fração em metanol da Jaca - FCJCOH
25.29	19.66	45(2), 59(3), 73(100), 89(5), 103(10), 117(5), 147(40), 204(35), 217(100), 437(40), 537(10)
28.26	6.70	45(2), 59(5), 73(100), 89(5), 103(15), 117(10), 191(50), 204(100), 217(40), 306(30), 435(5)
32.13	8.20	45(3), 59(2), 73(70), 89(3), 103(2), 147(30), 191(50), 204(100), 217(30), 435(10)
32.96	39.44	43(3), 55(5), 71(10), 85(10), 117(3), 132(2), 204(100), 217(20)
37.51	tr	43(2), 55(5), 73(50), 117(10), 204(100), 217(20), 305(5)
39.68	tr	43(2), 55(5), 71(3), 103(2), 117(8), 204(100), 217(10), 354(5)
40.82	Tr	43, 55, 71, 103, 117, 132, 204, 217, 341, 356
42.24	tr	43(3), 73(100), 93(20), 117(10), 129(5), 133(5), 147(30), 204(100), 217(20)
55.13	31.00	45(4), 59(3), 73(100), 103(20), 204(2), 217(50), 361(100), 437(10), 481(10)

Uma alíquota da fração em MEOH foi hidrolisada em meio ácido gerando os resultados listados na tabela 24.

Tabela 24: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em MeOH do extrato de Jaca após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Tr	SUBSTÂNCIA	IR
14.48	2-etil-hexanol	790
19.31	ácido 2-etil-hexanóico	1048

A busca de um método mais brando de clivagem dos glicosídeos, a hidrólise enzimática, foi protocolada no planejamento experimental, porém, em função da degradação da enzima β -glucosidase, a mesma não foi efetuada.

Embora tenham sido observados fragmentos consistentes com a presença de O-alkil glicosídeos, não foi possível definir seus esqueletos mesmo com o auxílio da janela cromatográfica gerada com o uso dos padrões sintetizados.

A presença de ésteres e aldeídos nas frações hidrolisadas em meio ácido não se justifica por ligações O-glicosídicas no carbono anomérico. Provavelmente, estas substâncias podem estar sendo geradas durante a hidrólise ácida, com aquecimento (p.ex. furfural a partir de glicose) ou estar sendo liberadas a partir de acetais, originalmente formados entre os dióis e aldeídos comumente encontrados em frutas, biossintetizados a partir de ácidos graxos. Estas substâncias já foram descritas em outros trabalhos do gênero¹²⁶.

4.2.2. MURICI

Somente as frações em acetato de etila e metanol foram investigadas no muruci em função da pouca evidência de precursores glicosilados.

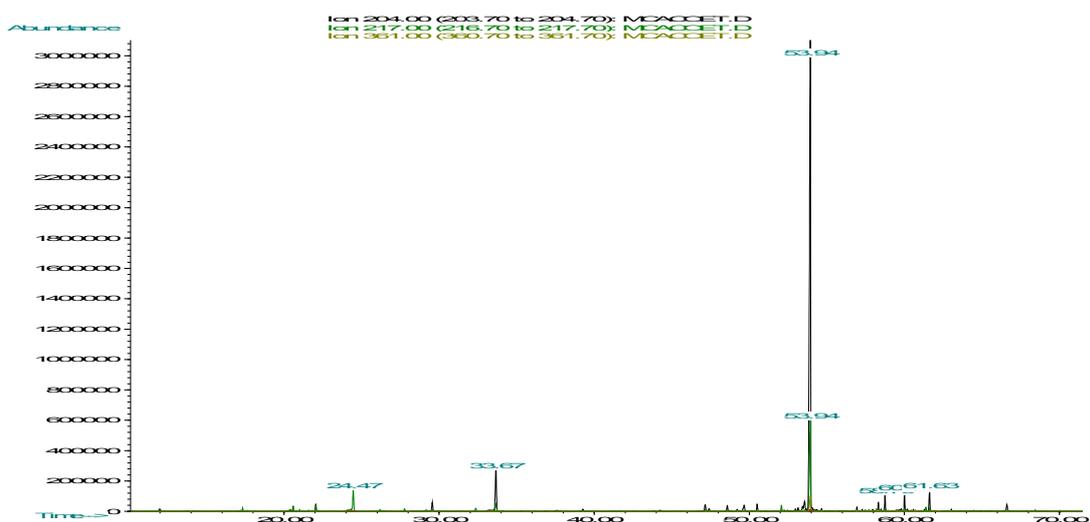


Figura 47: Fragmentograma relativo a fração em acetato de etila do extrato de muruci após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Após derivatização da fração em acetato de etila com BSTFA/piridina e injeção da mesma no CG-MS, a presença dos íons m/z 204 , m/z 217 e m/z 435 confirmaram a existência de carboidratos trimetilsililados. Foram observados os derivados persilanizados de glicose, frutose e sacarose, além de outros possíveis carboidratos, conforme sugerido na tabela 25, o que levou a sua hidrólise ácida na tentativa de investigação das agliconas ligadas a unidades sacarídicas.

Tabela 25: Fragmentos relativos a fração em acetato de etila do extrato de muruci após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

<i>FRAÇÃO EM ACETATO DE ETILA DO MURUCI</i>		
Tr	Area relativa (%)	Principais fragmentos iônicos (m/z) presentes na fração em acetato de etila do muruci
24.47	1.74	45(10), 73(70), 103(5), 133(8), 147(30), 191(8), 217(100), 232(10), 435(2), 450(10)
33.8.17	3.90	55(2), 73(60), 129(20), 147(30), 191(40), 204(100), 217(20), 405(2), 435(5)
53.93	36.75	55(10), 73(40), 129(10), 147(20), 191(8), 204(100), 217(20), 490(2), 535(2), 577(3)
58.76	0.89	43(5), 73(40), 99(10), 129(10), 147(20), 204(100), 217(20), 375(10), 417(2), 467(2), 539(2)
60.00	0.90	43(5), 73(40), 117(5), 147(20), 189(10), 204(100), 243(2), 355(5), 449(2), 503 (2), 532(3), 567(2)
61.63	1.16	43(10), 73(40), 129(20), 147(20), 191(5), 204(100), 217(20), 273(5), 305(5), 319(5), 363(8), 495(5), 582(2)

A hidrólise ácida da fração do muruci em acetato de etila gerou os voláteis apresentados na tabela 26. Cabe ressaltar a presença de aroma no hidrolisado.

Tabela 26: Voláteis liberados após hidrólise ácida da fração em acetato de etila do extrato de muruci após XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos).

Tr	Substâncias Identificadas	IR
18.69	furfural	797
15.26	2-hexanol	855
20.93	5-metil-furfural	928
26.58	álcool benzílico	1000
27.18	álcool fenético	1086
23.47	α-terpineol	1170
18.38	octanoato de etila	1175
33.05	ácido decanóico	1356

Várias destas substâncias foram encontradas na extração por SDE da polpa do muruci. Os álcoois e ácidos carboxílicos observados, após a hidrólise ácida, sugerem a presença dos possíveis precursores glicosilados destas substâncias. Um outro aspecto importante a ser considerado é o aprisionamento de voláteis nas estruturas dos carboidratos, majoritários nestas frações. A literatura^{131,135} descreve este fenômeno para proteínas e derivados fenólicos de origem natural, com base num mecanismo de adsorção, que se daria pela presença de grupos capazes de se ligar por ligações hidrogênio. Com base nesta hipótese, não se pode descartar a possibilidade de artefatos estarem sendo gerados no meio reacional como resultado do meio ácido aplicado aos ésteres adsorvidos.

A seguir é possível observar o fragmentograma relativo a fração em metanol do muruci, analisado após derivatização por CGAR-EM.

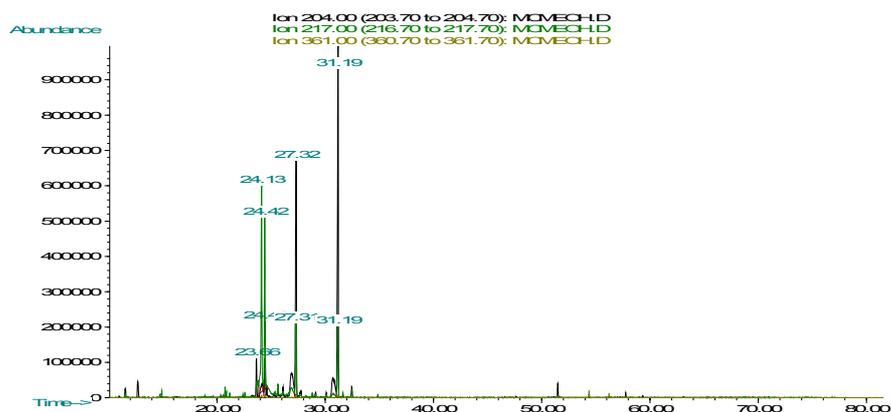


Figura 48: Fragmentograma relativo a fração em metanol do muruci após cromatografia em XAD-2. (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

Evidências da contribuição majoritária de monossacarídeos foram claramente observadas nesta fração. Outros componentes com unidades sacarídicas não foram observados.

4.2.3. Metodologia alternativa proposta para a clivagem de glicosídeos

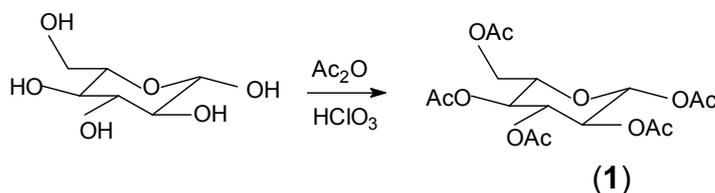
Em função dos inconvenientes da hidrólise ácida abordados, tentou-se investigar um novo método de clivagem para glicosídeos, baseado na reatividade do carbono anomérico frente a reações de substituição nucleofílica. A presença de centros polares, caracterizados pelos grupamentos OH dos açúcares e de grupos relativamente apolares, as O-agliconas dos glicosídeos, tornam o carbono anomérico susceptível a nucleófilos diversos variando os solventes polares. Deste modo, o glicosídeo padrão *n*-hexil- β -D-O-glicosídeo foi submetido a condições de clivagem de tal modo que, após um determinado tempo de reação, seria observada a presença não mais do glicosídeo, mas sim da glicose ligada a um novo radical (no carbono anomérico) e do *n*-hexanol (aglicona anteriormente ligada e responsável pelo aroma).

Inicialmente preparou-se o O- β -D-*n*-hexil glicosídeo pela metodologia de Köenigs-Knorr, a qual é caracterizada pela halogenação do carbono anomérico,

mais comumente bromo e cloro, enquanto todas as outras hidroxilas do açúcar são O-protegidas. A configuração do carbono anomérico do produto halogenado é α (posição axial), devido a maior estabilidade ocasionada pelo efeito anomérico. Na etapa subsequente ocorreu a substituição do halogênio pela aglicona desejada (*n*-hexanol), promovida, preferencialmente, por sais de prata. O procedimento utilizado foi baseado nas referências de Banthorpe¹²⁰, Conchie¹³³ e Dale¹³⁴, cuja modificação em relação ao processo original foi a substituição do óxido de prata por trifluoracetato de prata. Outras modificações como a substituição de MgSO₄ por peneira molecular e de NaHCO₃ por Et₃N também foram feitas nestas sínteses a partir da metodologia de Köenigs-Knorr visando um melhor rendimento, pois em geral os rendimentos descritos na literatura para a síntese de β -glicosídeos são muito baixos.

O glicosídeo padrão (*n*-hexil-O- β -D- glicosídeo) foi obtido de acordo com a metodologia abaixo descrita e sobre a qual serão feitas algumas considerações.

1 – Obtenção do penta-acetato de glicose (1)



A α -D-Glicose peracetilada foi obtida com 80% de rendimento, cujo agente derivatizante foi o anidrido acético em presença de ácido perclórico como catalisador. A caracterização de (1) deu-se por infravermelho em função da presença das bandas intensas em 1248cm⁻¹ e 1742cm⁻¹, características de deformação axial C-O e C=O de éster e eliminação do sinal de OH acima de 3000 cm⁻¹ (espectro no Anexo 2), além da determinação de seu ponto de fusão (PF = 110°C) e pela cromatografia gasosa –espectrometria de massas (CGAR-EM).

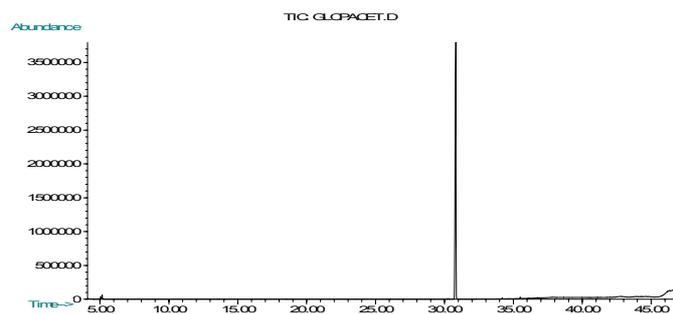
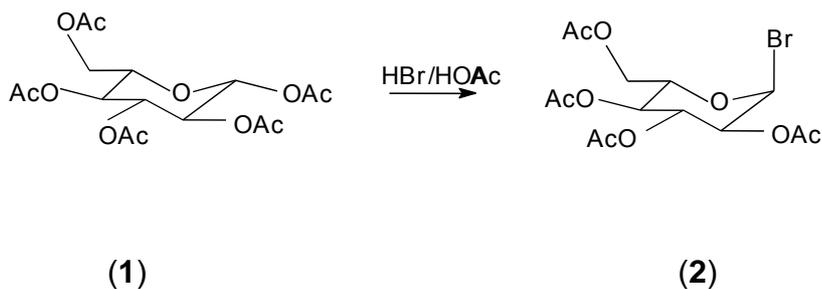


Figura 49: Fragmentograma relativo a glicose penta-acetilada (1)
(DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

2 – Obtenção do α -Bromo-tetra-O-acetil-(D)-glicose (2)



Nesta reação, o produto foi obtido com 65% de rendimento e o anômero α -Br-tetra-O-acetil (D)-Glicose (2) foi favorecido em função do efeito anomérico. Como observado no esquema abaixo, caso o Br se ligasse ao carbono anomérico em posição equatorial (anômero β), a tensão orbitalar e eletrônica seria grande e por isso desfavorecida. Com o bromo volumoso na posição axial (anômero α), estas tensões são minimizadas.

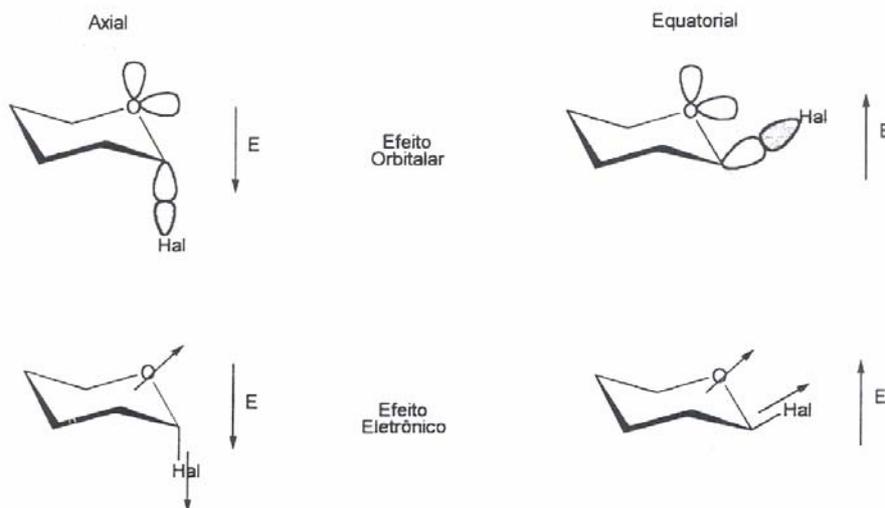


Figura 50: Efeitos orbitalar e eletrônico atuando no Efeito anomérico

O derivado bromado (**2**) foi caracterizado por seu ponto de fusão (73°C), CG-EM com destaque para o fragmento m/z 43 (100)(COCH₃), perda típica de compostos acetilados, além dos fragmentos m/z 81 (típico de M(79) + 2).

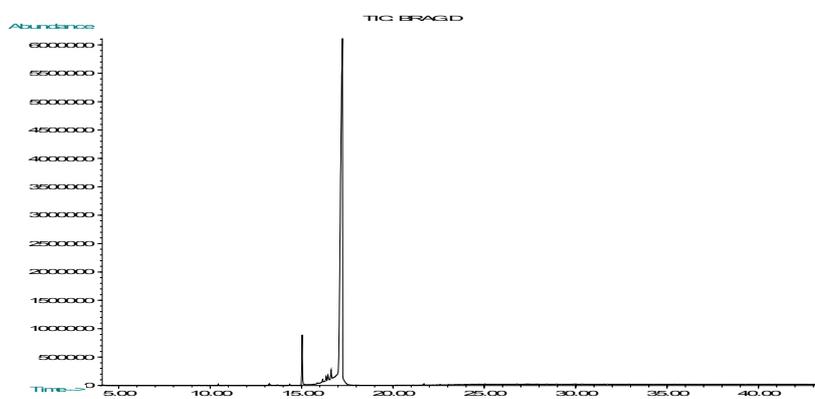
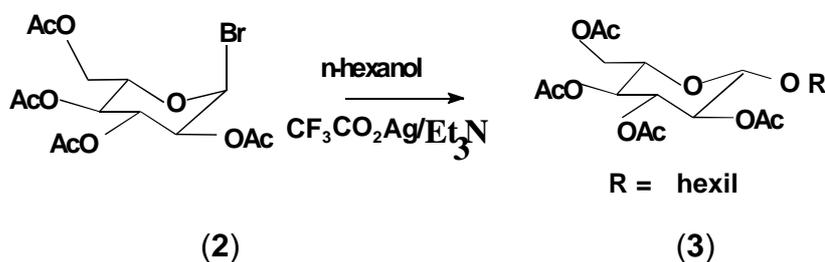


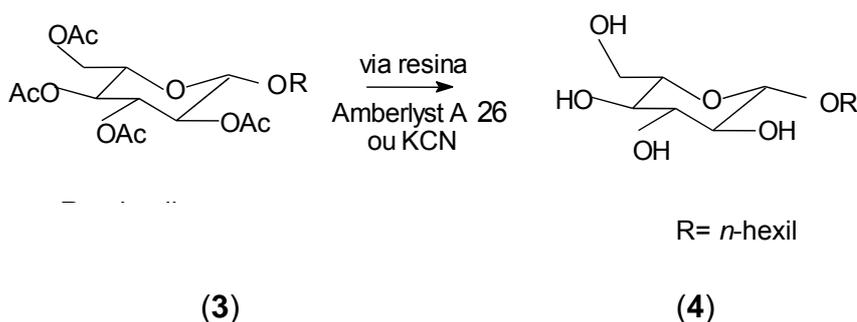
Figura 51 : Fragmentograma relativo ao α -Bromo-tetra-O-acetil-(D)-glicose (**2**) (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μ m, conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

3 – Síntese de *n*-hexil tetra-O-acetil-β-glicopiranosídeo (3)



Inicialmente utilizou-se nesta reação de acoplamento o protocolo determinado por Kőonigs-Knorr, que utilizava éter etílico como solvente reacional. Na tentativa de melhorar o rendimento, utilizou-se o próprio *n*-hexanol como solvente além da utilização não mais de NaHCO₃ e sim de Et₃N ao término da reação, tornando o meio homogêneo. Esta adaptação elevou o rendimento de 20 para 35%. A formação preferencial do β-D-glicopiranosídeo é explicada através do mecanismo de substituição nucleofílica de segunda ordem (S_N2), onde a inversão de configuração entre reagente e produto é observada. O óleo obtido foi submetido a cromatografia em coluna aberta, preenchida com sílicagel e eluída com gradiente hexano/acetato de etila. O glicosídeo acetilado (3) puro foi obtido com a mistura 17% hexano/acetato de etila. O (3) produto foi caracterizado por IV e CG-EM. (Anexo 3)

4 –Obtenção do *n*-hexil -O-β-(D)-glicopiranosídeo (4)



O produto (4) foi obtido com 70% de rendimento e foi caracterizado por IV com bandas características de grupo O-H (3364 cm⁻¹) e C-O (1057 cm⁻¹), com destaque para o aparecimento das bandas relativas ao O-H visto que no IV do produto anterior (3) estava ausente. A análise do produto (4) por CG-EM revelou o fragmento *m/z* 537, fruto da perda de metila no derivado persilanizado com BSTFA/ piridina, que apresenta peso molecular de 552 u. RMN ¹H apresentou um duplete em

4,37ppm ($J=8$ Hz), característico do acoplamento equatorial-axial de H-1 com H-2. e no RMN ^{13}C o sinal em 102.9 ppm confirma a presença do CH-anomérico.

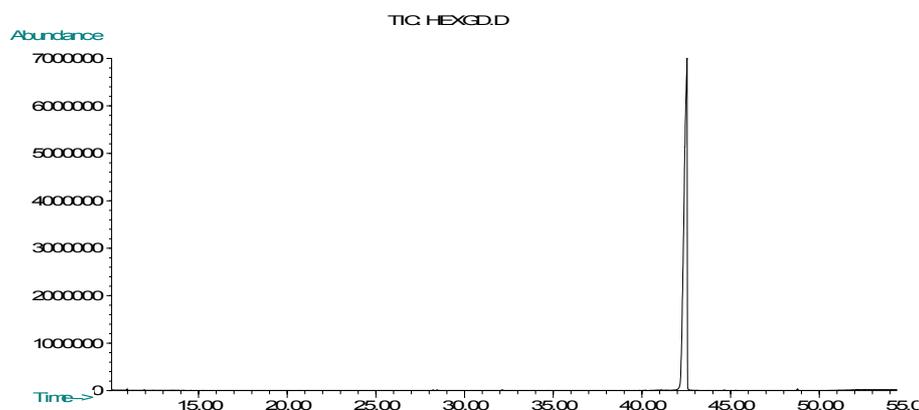


Figura 52: Fragmentograma relativo ao *n*-hexil- β -(D)-glicopiranosídeo trimetilsilanizado (DB-1 - 30 m x 0.25 mm x 0,25 μm conforme item 3.8.1 de materiais e métodos)

De posse do glicosídeo padrão caracterizado (4), foi utilizado iodeto de potássio em presença de DMSO/pentano para o início dos estudos por substituição nucleofílica. De acordo com os resultados obtidos nesta metodologia piloto, outros experimentos seriam feitos variando tanto nucleófilo quanto solvente. Entretanto, após diversos experimentos alterando-se as proporções estequiométricas entre nucleófilo e glicosídeo, tempo de reação (3h, 6h, 9h, até um máximo de 72 h) e temperatura de reação (ambiente e refluxo 60°C), não se observou clivagem do glicosídeo e portanto, liberação da aglicona, e a metodologia proposta foi descartada.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados discutidos anteriormente concluiu-se que:

- A técnica da “headspace” consistiu no método de extração mais apropriado para obtenção do aroma representativo de Jaca.
- Com o uso de técnicas de análise sensorial descritivas e comparativas foram determinadas as seguintes notas de impacto do aroma da Jaca: frutal, doce e “queijo”.
- De acordo com a técnica de diluição de aroma AEDA e da CG-O/EM as substâncias responsáveis pelo aroma da Jaca (aromas de impacto da fruta) foram: butanoato de etila, 3-metil butanoato de etila, butanoato de butila e 3-metil butanoato de butila.
- Foi possível a elaboração de uma essência de Jaca com as substâncias descritas acima, utilizando-se um procedimento alternativo de coleta de picos cromatográficos em CGAR através do “sniffing port”. Esta metodologia mostrou-se de grande importância para o desenvolvimento de novas essências, a partir de um número bastante reduzido de substâncias químicas, o que vai de encontro com a legislação internacional vigente.
- Extração e Destilação Simultâneas (SDE-15min.) foi o método de extração mais conveniente para obtenção do aroma representativo do muruci.
- As notas sensoriais características do muruci, determinadas pelo emprego de técnicas de análise sensorial comparativa e descritiva, foram: frutal, azedo e floral.
- As substâncias responsáveis pelo aroma de muruci, determinadas pela técnica de AEDA em CG-O foram: butanoato de etila, hexanoato de etila, 1-octeno-3-ol, ácido butanóico, ácido hexanóico e álcool fenetílico.
- Observou-se que algumas das substâncias responsáveis pelo aroma destas frutas não eram de composição majoritária, de acordo com CGAR-EM..
- A presença dos glicosídeos 2-fenil-etil-O-glicopiranosídeo e benzil-O-glicopiranosídeo na Jaca foi confirmada em função das evidências apresentadas em seus fragmentogramas (m/z 91, m/z 105), pela presença dos álcoois benzílico e fenetílico no hidrolisado das frações “glicosídicas” e

pelo uso de janelas cromatográficas empregando padrões de glicosídeos sintetizados pelas metodologias de Ficher e Koenigs-Knorr.

- As diversas frações “glicosídicas” das frutas Jaca e Muruci não são potencialmente ricas nestes derivados, sendo o Muruci, comparativamente a Jaca mais pobre nestes precursores glicosilados.
- A investigação dos glicosídeos por CG/EM merece ser revista, por ser uma técnica mais rápida e simples do que a usualmente utilizada. Lavagens exaustivas e purificações sucessivas (por passagem em XAD-2 ou Sephadex LH-20) da fração “glicosídica” podem gerar dados importantes para a consolidação do estudo de precursores glicosilados, possibilitando assim a descoberta de novos aromas (agliconas).

PERSPECTIVAS FUTURAS

Atuar na formulação/aplicação das essências obtidas junto à empresa Vitta Flavor, já que a metodologia desenvolvida neste trabalho gerou dados que vão de encontro com o que a legislação atual exige, ou seja, adição de um menor número de substâncias possíveis para alcançar o atributo sensorial necessário.

A abordagem apresentada no trabalho foi desenvolvida junto aos alunos (IC) da Escola Técnica Federal de Química em projeto intitulado Essência de Frutas – Abordagem em Indústria Alimentícia e Cosmética e foi avaliada junto ao MEC/SEBRAE como concorrente do Prêmio Técnico Empreendedor (2003), sendo premiado na etapa regional (região Sudeste) concorrendo com 250 projetos das várias regiões do País. Está em discussão junto aos órgãos de fomento a transferência desta tecnologia para pequenas empresas.

Investigar com técnicas mais modernas (CG-MS-MS) precursores glicosilados de aroma, a fim de possibilitar uma maior aplicação dos mesmos junto a produtos de tempo de prateleira longo.

Investigar além de precursores glicosilados de aroma, métodos de encapsulamento de voláteis a fim de avaliar o que é mais viável: o uso de precursores de aroma ou dos mesmos encapsulados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Clark, J. E. Taste and Flavor: their importance in food choice and acceptance. *Proceedings of the Nutrition Society*, **57** (4), 639-643, 1998.
2. Middlelekauff, R. D. Changing Food Safety principles applied to flavor ingredients. *Fragrance and Flavor Substances*, september 24-27, 1979.
3. Da Silva, A. P. V., Maia, G. A., Oliveira, G. S. F., Figueredo, R. W., Brasil, I. M. Características de qualidade do suco polposo de cajá (*Spondias lutea* L.) obtido por extração mecânico-enzimática. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **17** (3), 233-236, set-dez, 1997.
4. Gerhardt, R. Indústria de alimentos sofisticada produção de aroma. Folha Online 09/2004.
5. Pachione, R. Aromas. Folha Online – Equilíbrio, 12/2004
6. Santos, A. S. Análise Técnica, econômica e de tendências da indústria brasileira de óleos essenciais. Ed. Papel Virtual , **75**, 2002.
7. Flavor and Fragrance Industry – Top 10. Disponível na Internet no endereço eletrônico: <http://www.leffingwell.com> acessado em 06/2005
8. Consulta a base <http://dii02.isiknowledge.com> acessado em 07/2005
9. Consulta a base de patentes – <http://www.inpi.gov.br> e através da mesma esp@cenet (Banco de Patentes da União Européia) e a USPTO (Banco de Patentes dos E. U. A.) . acessado em 07/2005
10. Acree, T. E., Teranish, R– Instrumental Analysis in the Flavor Industry. in Flavor Science – Sensible Principles and Techniques 170-224, 1990.ACS Professional Reference Book
11. Tressl, R., Holzer, M., Apetz, M.; Biogenesis of volatiles in fruit and vegetables in *Proceedings in. International Symposium on Aroma Research*, Zeist, 41-49, 1975.
12. Parliment, Thomas H., Croteau, R. Biogeneration of Aromas – *ACS Symposium Series – Washington, DC. 1986.*
13. Wilkes, J. G., Conte, E. D., Yongkyoung, K., Holcomb, M., Sutherland, J. B., Miller, D. W. Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. *Journal of Chromatography A*, **880**, 3-33, 2000.
14. Hachenberg, H.; Schmidit, A. P., Gas Chromatographic Headspace Analysis. William Clowes & Sons Limited. 1979.

15. Scheier, P., *Chromatographic Studies of Biogenesis of Plant Volatiles*, New York. 1984.
16. Bicchi, C., Joulain, D. Headspace-Gas Chromatographic Analysis of Medicinal and Aromatic Plants and Flowers. *Flavour and Fragrance Journal*, **5**, 131-145, 1990.
17. Baigrie, B. D., Laurie, W. A. and Mchale, D. Artifact formation during Headspace Analysis. *Progress in Flavour Research*, 577-582, 1984.
18. Chaintreau, A. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity – review. *Flavour and Fragrance Journal*, **16**; 136-148, 200.
19. Pawliszyn, J. New Directions in Sample Preparation for Analysis of Organic Compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, **14**, 113-122, 1995.
20. Yang, X., Peppard, T. Solid-Phase Microextraction for Flavor Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **42**, 1925-1930, 1994.
21. Kataoka, H., Lord, H. L., Pawliszyn, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, **880**, 35-62, 2000.
22. Valente, A. L. P., Augusto, F. Microextração por Fase Sólida. *Química Nova*, **23**, 523-529, 2000.
23. Muller, P. M., Lamparsky, D. *Pefumes Art, Science & Technology*, Elsevier Applied Science, 1991.
24. Boatright, W. L., Lei, Q. Headspace Evaluation of Methanethiol and Dimethyl Trisulfide in Aqueous Solutions of Soy-protein isolates. *Journal of Food Science*, **65**, 819-821, 2000.
25. Heath, H. B., Reineccius, G. *Flavor Chemistry and Technology*. New York: Na AVI Book Nostrand Reinhold Company, **17**, 1989.
26. Coleman, W. M. Automated Purge-and-Trap-Gas Chromatography Analysis of Headspace Volatiles from Natural Products. *Journal of Chromatographic Science*, **30**, 160-163, 1992.
27. Ziegler, E., Ziegler, H. *Flavourings, Production, Composition, Applications and Regulations*. 1998. Editora Wiley-VCH.
28. Esquivel, M.M., Ribeiro, M.A., Bernardo-Gil, M. G. Supercritical Extraction of savory on study of antioxidant activity and extract characterization. *Journal of Supercritical fluids*, **14**, 129-138, 1999.

29. Lawless, H. T. Descriptive analysis of complex odors: reality, model or illusion ? *Food Quality and Preference*, **10**, 325-332, 1999.
30. Coleman III, W. M., Lawrence, B. M. A Comparison of Selected Analytical Approaches to the Analysis of an Essential Oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **12**, 1-8, 1997.
31. Muñoz, A. M. Sensory evaluation in quality control: an overview, new developments and future opportunities. *Food Quality and Preference*, **13**, 329-339, 2002.
32. Grosch, W. Evaluation of the Key odorants of Foods by Dilution Experiments, Aroma Models and Omission. Review . *Chemical Senses*, **26**, 533-545, 2001.
33. Firestein, S. How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, **413**, 211-218, 2001.
34. van Ruth, S. M. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. *Biomolecular Engineering*, **17**, 121-128, 2001.
35. Pollien, P., Ott, A., Montigon, F., Baumgartner, M., Box-Munoz, R., Chaintreau, A. Hyphenated Headspace-Gas Chromatography-Sniffing Technique: Screening of Impact Odorants and Quantitative Aromagram Comparisons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 2630-2637, 1997
36. Lopez, R. M., Libbey, L. M., Watson, B. T., Mcdaniel, M. R. Odor Analysis of Pinot Noir Wines from Grapes of Different Maturities by a Gas Chromatography-Olfactometry Technique (Osme). *Journal of Food Science*, **4**, **57**, 985-994, 1992.
37. Gaffney, B. M., Havekotte, M., Jacobs, B., Costa, L. Charm Analysis of Two Citrus Sinenis Peel Oil Volatiles. *Perfume and Flavorist*, **21**, 1-5, 1996.
38. Grosch, W. Determination of Potent Odorants in Foods by Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) and Calculation of Odour Activity Values (OAVs). *Flavour and Fragrance Journal*, **9**, 145-158, 1994.
39. Sarrazin, C., Le Quéré, J.L., Gretsch, C., Liardon, R. Representativeness of coffee aroma extracts: a comparison of different extraction methods. *Food Chemistry*, **70**, 99-106, 2000.
40. Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., Cacho, J. Chemical Characterization of the Aroma of Grenache Rosé Wines: Aroma Extract Dilution Analysis, Quantitative Determination, and Sensory Reconstitution Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4048-4054, 2002.

41. Ruth, J. H. Odor Thresholds and Irritation Levels of Several Chemical Substances: A Review. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **47**, 03, 1985.A-142-151.
42. Rossiter, K. J. Structure-Odor Relationships. *Chemical Reviews*, **96**, 3291-3240, 1996.
43. Bemelmans, J. M. H. Review of isolation and concentration techniques. *Applied Science*, 79-98, 1979.
44. Hunziker, Chr. Quantitative analysis of flavor by gas chromatography, *Flavors and off Flavors*. Charalambous, G. (Ed.) Elsevier Science, Publishers B. V., Amsterdam, 321-330, 1989.
45. Belitz, G. *Food Chemistry*. 1999. Editora Springer
46. Kolb, B., Ettre, L. S. Theory and Practice of Multiple Headspace Extraction. *Chromatographia*, **11/12**, 32, 1991.
47. Chen, C. C., Kuo, M. C., Hwang, L. S., Wu, J. S. B., Wu, C. M. Headspace components of passion fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **30**, 1211-1215, 1982.
48. Fraga, S. R. G., Rezende, C. M. The Aroma of Brazilian ambarella fruit (*Spondias cytherea* Sonnerat). *Journal of Essential. Oil Research*, **13**, 252-255, 2001.
49. Franco, M. R. B., Shibamoto, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias cytherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitala*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 1263-1265, 2000.
50. Alves, G. L. , Franco, M. R. B., Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds im Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich) *Journal of Chromatography A*, **985**, 297-301, 2003.
51. Kataoka, H., Lord, H. L., Pawliszyn, J. Applications of Solid-Phase Microextraction in Food Analysis. *Journal of Chromatography A.*, **880**, 35-62, 2000.
52. Wardencki, W., Michulec, M., Curylo, J. A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, **39**, 703-717, 2004.
53. Arthur, C. L., Pratt, K., Montlagh, S., Pawliszyn, J. Environmental analysis of organic compounds in water using solid phase micro extraction. *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 741-744, 1992.

54. Fraga, S. R. G., Rezende, C. M. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**, 425-428, 2003.
55. Augusto, F., Valente, A. L. P., Tada, E. S., Rivellino, S. R. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **873**, 117-127, 2000.
56. Reid, L. M., O'Donnell, G. P., Downey, G. Potential of SPME-GC and chemometrics to detect adulteration of soft purées. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 421-427, 2004.
57. Boué, S. M., Shih, B. Y., Carter-Wientjes, C. H., Cleveland, T. E. Identification of volatile compounds in soy bean at various development stages using solid phase-microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 4873-4876, 2003.
58. Ceva-Antunes, P. M. N., Bizzo, H. R., Alves, S. M., Antunes, O. A. C. Analysis of Volatile Compounds of Taperebá (*Spondias mombim* L.) and Cajá (*Spondias mombin* L.) by Simultaneous Distillation and Extraction (SDE) and Solid Phase Microextraction (SPME). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 1387-1392, 2003.
59. Carvalho, L. M. J., Silva, C. ^a B., Godoy, R. L. O., Figueira, J. A. A. & Abadio, F. D. B. Volatile compounds in hydrolyzed pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) perola variety and clarified pasteurized juices obtained by solid-phase microextraction. *Alimentaria*, **39**, 129-132, 2002.
60. Jia, M., Zhang, H. Min, D. B. Optimization of Solid-Phase Microextraction Analysis for Headspace Flavor Compounds of Orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 2744-2747, 1998.
61. Rega, B., Fournier, N., Guichard, E. Solid Phase Microextraction (SPME) of Orange Juice Flavor: Odor Representativeness by Direct Gas Chromatography Olfactometry (D-GC-O). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7092-7099, 2003.
62. Bonino, M., Schellino, R., Rizzi, C., Aigotti, R., Delfini, C. Baiocchi, C. Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. *Food Chemistry*, **80**, 125-133, 2003.

63. Mestres, M., Marti, M. P., Busto, O., Guasch, J. Analysis of low-volatility organic-sulphur compounds in wines by solid-phase microextraction and gas-chromatography. *Journal of Chromatography A*, **881**, 583-590, 2000.
64. Vas, G., Blechschmidt, I., Kovacs, T., Vekey, K., Examination of aroma production kinetics of different commercial wine yeasts in fermenting muscat Ottonel wines with the help of SPME head-space sampling and fast GC analysis. *Acta Alimentaria*, **8**, 133-140, 1999.
65. Chiappini, C. C. J. Caracterização Química e Sensorial do Aroma Produzido por Leveduras Isoladas de Jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) e Aplicação em Mosto de Uva. Tese de Doutorado, UFRJ, 2004.
66. Elmore, J. S., Erbahadir, M. A., Mottram, D. S. Comparison of Dynamic Headspace Concentration on Tenax with Solid Phase Microextraction for the Analysis of Aroma Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45**, 2638-2641, 1997.
67. Radulescu, V., Chiliment, S., a, Oprea, E. Capillary gas chromatography–mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis* *Journal of Chromatography A*, 1027 (2004).
68. Berger, r. G., Drawert, F., Kollmannsberger, S. N., Schraufstetter, B. Novel volatiles in pineapple fruit and their sensory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **33**, 232-235, 1985.
69. Alves S., Jennings, W. G. Volatile composition of certain Amazonian fruits. *Food Chemistry*, **4**, 150-159, 1979.
70. Pollien, P., Ott, A., Fay, L. B., Maignial, L., Chaintreau, A. Simultaneous distillation-extraction: preparative recovery of volatiles under mild conditions in batch or continuous operations. *Flavour and Fragrance Journal*, **13**, 413-43, 1998.
71. O’Riordan, P. J., Delahunty, C. M. Comparison of volatile compounds releases during the consumption of Cheddar cheese with compounds extracted by vacuum distillation using gas chromatography-olfactometry. *Flavour and Fragrance Journal*, **16**, 425-434, 2001.
72. M.M. Esquivel, M.M., Ribeiro, M. A., Bernardo, M.G. Supercritical extraction of savory oil: study of antioxidant activity and extract characterization. *Journal of Supercritical Fluids*, **14** 129–138

73. Wright, D. W., Mahler, K. O., Ballard, L. B. The Application of an Expanded Multidimensional GC System to Complex Fragrance Evaluations. *Journal of Chromatographic Science*, **24**, 60-65, 1985.
74. McLafferty, F. W., Stauffer, D. A., Wesdemiotis, C. Unknown Identification Using Reference Mass Spectra. Quality Evaluation of Databases. *Journal of the American Society of Mass Spectrometry*, **10**, 1229-1240, 1999.
75. Fay, L. B., Yeretian, C. Blank, I. Novel Mass Spectrometry Methods in Flavour Analysis. *Chimia*, **55**, 429-434, 2001.
76. Solina, M.; Baumgartner, P.; Johnson, R.L.; Whitfield, F.B. Volatile aroma components of soy protein isolate and acid-hydrolysed vegetable protein Food Chemistry **90**, 861–873, (2005).
77. Van Ruth, S.M., Buhr, K. Influence of mastication rate on dynamic flavour release analysed by combined model mouth/proton transfer reaction-mass spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, **239**, 187-192, 2004.
78. Meilgaard, M. C.; Civille, G. V.; Carr, B. T. Sensory Evaluation techniques. Boca Raton: CRC Press, Inc.: 1991.
79. Delwiche, J. The impact of perceptual interactions on perceived flavor. **15**, 137-146, 2004.
80. Rouseff, R. L., Lin, J. Characterization of aroma-impact compounds in cold-pressed grapefruit oil, **16**, 457-463, 2001, Flavour and Fragrance Journal.
81. Rowe, D. Gare, N. More Fizz for Your Buck: High-impact Aroma Chemicals. *Perfumer & Flavorist*, **25**, 1-19, 2000.
82. Manual de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária – MAARA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA e Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos – CTAA – RJ. 1994
83. Kraft, P. Bajgrowicz, J. A., Denis C., Fráter, G. Odds and trends: recent developments in the chemistry of odorants. *Angewandte Chemie. Int. Ed.* **39**, 2980-3010. 2000.
84. Muñoz, A. M. Sensory Evaluation in Quality Control: na Overview, New developments and Future Opportunities. *Food and Quality Preference*, **13**, 329-339, 2002.
85. Martens, M. A Phylosophy for sensory science. *Food and Quality Preference*, **10**, 233-244, 1999.

86. Buck, L., Axel, R. A Novel Multigene Family May Encode Odorant Receptors: A Molecular Basis for Odor Recognition. *Cell*, **65**, 175-187, April 5, 1991.
87. Modesta, R. C. D., Gonçalves, E.B., Rosenthal, A. S. e Silva, A.L., Ferreira, C.S. Desenvolvimento do perfil sensorial/instrumental de suco de maracujá. *Ciência Tecnol. Aliment.*, Campinas, **25**(2), 345-352, 2005.
88. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas - Alimentos e bebidas – Análise sensorial – Testes de análise descritiva quantitativa.(ADQ), NBR 14140, 1998.
89. <http://www.wisso.ch/cate/6724.html> acesso em 07/2005
90. Berger, R. G. Enzyme Technology in Aroma Biotechnology, 97-100, 1995. EDITORA Springer.
91. Stahl-Biskup, E., Intert, F., Holthuijzen, J., Stengele, m., Schulz, G. Glycosidically Bound Volatiles – A Review 1986-1991. *Flavour and Fragrance Journal*, **8**, 61, 1993.
92. Morrison, R.T., Boyd, R. N. Organic Chemistry, 1279-1341, 1987.
93. Osorio, C., Duque, C., Fujimoto, Y. C₁₃-Norisoprenoid Glucoconjugates from Lulo (*Solanum quitoense* L.) Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 1641-1645, 1999
94. Boulanger, R., Chassagne, D., Crouzet, J. Free and bound flavour components of amazonian fruits. 1: Bacuri. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 303-311, 1999.
95. Boulanger, R., Crouzet, J. Free and bound flavour components of amazonian fruits. 2: Cupuaçu volatile compounds. *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 251-257, 2000.
96. Young, H., Paterson, V. J. Characterization of bound flavour components in Kiwifruit. *Journal of Science and Food Agriculture*, **68**, 257-260, 1995.
97. Crouzet, J., Boulanger, R. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3- Glycosidically bound components of cupuacu. *Food Chemistry*, **70**, 463-470, 2000.
98. Crouzet, J., Boulanger, R. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): free and bound flavour compounds. *Food Chemistry* **74**, 209-216, 2001
99. Chassagne, D., Boulanger, R. Crouzet, J. Enzymatic hydrolysis of edible *Passiflora* fruit glycosides. *Food Chemistry*, **66**, 281-288, 1999.

100. Schwab, W., Scheller, G., Scheller, P. Glycosidically Bound Aroma Components from Sour Cherry. *Phytochemistry*, **29**, 607-612, 1990.
101. Drider, D.; Janbon, G.; Chemardin, P.; Arnaud, A.; Galzy, P. Enzymatic Hydrolysis of Monoterpene Glycosides of Passion Fruit and Mango with a β -Glucosidase from yeast. *Bioresource Technology*, **49**, 243-246, 1994.
102. Wang, D., Yoshimura, T., Kubota, K., Kobayashi, A. Analysis of Glycosidically Bound Aroma Precursors in Tea Leaves. 1. Qualitative and Quantitative Analyses of Glycosides with Aglycons as Aroma Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 5411-5418, 2000.
103. Le Gall, G., DuPont, M. S., Mellon, F. A., Davis, A. L., Collins, G. J., Verhoeven, M. E., Colquhoun, I. J. Characterization and Content of Flavonoid Glycosides in Genetically Modified Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2438-2446, 2003.
104. Williams, P. J. Hydrolytic Flavor Release in Fruit and Wines through Hydrolysis of Nonvolatile Precursors. in Flavor Science Sensible Principles and Techniques, 287-303, 1993.
105. Voirin, S. G., Baumes, R. L., Gunata, Z. Y., Bittour, S. M., Bayonove, C. L. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine. I. XAD-2 extraction and gas chromatographic-mass spectrometric determination of synthetic glycosides. *Journal of Chromatography*, **590**, 313-328, 1992.
106. Voirin, S. G., Baumes, R. L., Sapis, J., Bayonove, C. L. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine. II. Qualitative and quantitative determination of monoterpene glycosides in grape. *Journal of Chromatography*, **595**, 269-281, 1992.
107. Matteo, J. J., Gentilini, N., Huerta, T., Jiménez, M., Di Stefano, R. Fractionation of glycoside precursors of aroma in grapes and wine. *Journal of Chromatography A*, **778**, 219-224, 1997.
108. Gunata, Y.Z., Bayonove, C. L., Baumes, R.L., Cordonnier, R.E. The aroma of Grapes Extraction and Determination of Free and Glycosidically Bound Fractions of Some Grape Aroma Components. *Journal of Chromatography*, **331**, 83-90, 1985.
109. Williams, P. J., Strauss, C. R., Wilson, B., Massy-westropp, R. A. Use of C₁₈ reversed-phase liquid chromatography for the isolation of monoterpene

- glycosides and Nor-isoprenoid precursors from grape juice and wines. *Journal of Chromatography*, 235 , 471-480, 1982.
110. Dejongh, D. C., Radford, T., Hribar, J. D., Hanessian, S., Bieber, M., Dawson, G., Sweeley, C. C. Analysis of Trimethylsilyl Derivatives of Carbohydrates by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of the American Chemical Society*, **91**, 1728-1740, 1969.
 111. Sweeley, C.C., Bentley, R., Makita, M., Wells, W.W. Gas-Liquid Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives of Sugars and Related Substances, *Journal of the American Chemical Society*, **20**, 1963.
 112. Nagy, S., Shaw, P. E., Wardowski, W. F. Fruits of Tropical and Subtropical Origin – Composition, Properties and Uses. 1990.
 113. Wong, K. C., Lim, C. L. and Wong, L. L. Volatile Flavour Constituents of Chempedak (*Artocarpus plyphema* Pers.) Fruit and Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) from Malaysia. *Flavour and Fragrance Journal*, **7**, 307-311, 1992.
 114. Subburamu, K., Singaravelu, M., Nazar, A. e Irulappan, I. A study on the utilization of Jack Fruit Waste. *Bioresource Technology*, **46**, 86-86, 1992
 115. Laufenberg, G., Kunz, B., Nystroem, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource Technology*, **87**, 167-198, 2003.
 116. Chowdhury, F. A., Raman, M. A., Mian, A. J. Distribution of free sugars and fatty acids in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*). *Food Chemistry*, **60**, 25-28, 1997.
 117. Rahman, A. K.M., Huq, E., Mian, A. J., Chesson A. Microscopic and chemical changes occurring during the ripening of two forms os jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). *Food Chemistry*, **52**, 405-410, 1995.
 118. Maia, J. G. S., Andrade, E. H. A., Zoghbi, M. B. Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). *Food Chemistry*, **85**, 195-197. 2004.
 119. Corrêa, M. P., Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, IBDF, **5**, 1984
 120. Ackermann, E., Banthorpe, D. V., Fordham, W. D., Kinder, J. P., Poots, I. Preparation of New Terpenyl β -D-Glucopyranosides by a modified Königs-Knorr *Liebigs Annalytical Chemistry*, 79-81, 1979.

121. Vogel, A. I. A Text-Book of Practical Organic Chemistry. London Colchester, 1967.
122. Herzig, J., Gottlieb, H. E., Fischer, B. Studies in Sugar Chemistry. 2. A Simple Method for O-Deacylation of Polyacylated Sugars. *Journal of Organic Chemistry*, **51**, 727-730, 1986.
123. Adasch, V., Hoffmann, B. , Milius, W., Platz, G., Voss, G Preparation of alkyl α and β -D-glucopiranosídeos, thremotropic properties and X-ray anaysis. *Carbohydrate Research*, **314**, 177-187, 1998.
124. Wu, P, Kuo, M., Hartman, T.G. Rosen,R.T., Ho, C.T. Free and Glicosidically Bound Aroma Compounds in Pineapple (*Ananas comosus L. Merr.*). *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **39**, 170-172, 1991.
125. Jennings, W., Shibamoto, T. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography, 1980, Academic Press.
126. Pabst, A., Barron, D., Etiévant, Schreires, P. Studies on the Enzymatic Hydrolysis of Bound Aroma Constituents from Raspberry Fruit Pulp. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, **39**, 173-175, 1991.
127. Garcia Esteban, M. Ansorena, D. Ruiz, J. Study of the effect of diffrent fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, **64**, 458-466, 2004.
128. Beltran, G., Aquilera, M. P., Gordon, M. H. Solid phase microextraction of volatile oxidation compounds in oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, **92**, 401-406, 2005.
129. Stashenko, E.E., Martines, J.R. Derivatization and solid-phase microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, **23**, 8, 2004.
130. Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., ling, L. C. Chractionization of Additional Volatile Components of Tomato *Journal of. Agricultural and. Food Chemistry*, **19**, 3, 524-529, 1971.
131. Patitucci, M. L., Veiga, V. F., Pinto, A. C., Zoghbi, M. B. Silva, J. R. Use of high-resolution gas chromatography for detection of terpenes in crude plant extracts. *Química Nova*, **18**,3, 262-266, 1995.
132. Vázquez M. M., García-Argáez, A. N., Bueno, J. L., Espinosa, G., Calderon, J. S. Two isomeric glycoside sesquiterpenes from *Machaeranthea tanacetifolia*. *Phytochemistry*, **48**, 7, 1221-1224. 1998.

- 133.** Conchie, J., Levy, G. A., Marsh, C. A. *Adv. Carbohydr. Chem.*, **12**, 157-160, 1940.
- 134.** Dale, J. K. Preparation of Bromoacetylglucose and Certain Other Bromoacetyl Sugars, **38**, 2187-2188, 1916.
- 135.** Goubet, I, Le Quere, J. L., Voilley, A. J. Retention of Aroma Compounds by Carbohydrates: Influence of Their Physicochemical Characteristics and of Their Physical State. A Review., *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1981-1990, 1998.

ANEXOS

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)