

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA  
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CONTRIBUIÇÃO À QUÍMICA DOS COMPOSTOS  
VOLÁTEIS DE FRUTOS DO NORDESTE:  
*HANCORNIA SPECIOSA* GOMES**

São Cristóvão  
2007

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**CONTRIBUIÇÃO À QUÍMICA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DOS  
FRUTOS DO NORDESTE: *HANCORNIA SPECIOSA* GOMES**

TATIANA KUBOTA

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira  
co-Orientador: Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea

**São Cristóvão**  
**2007**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Kubota, Tatiana

K95c Contribuição à química dos compostos voláteis dos frutos do  
nordeste: *Hancornia Speciosa* Gomes / Tatiana Kubota. - - São  
Cristóvão, 2007.

12 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Núcleo de Pós-Graduação em Química,  
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Federal de  
Sergipe.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira.

Co-Orientador: Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea.

1. Química Orgânica. 2. Produtos Naturais. 3. Compostos voláteis.  
4. *Hancornia speciosa* Gomes, Apocynaceae. I. Título.

CDU 543.544.122

*Às pessoas que me amam incondicionalmente,  
meu pai, minha mãe e minha irmã,  
dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A realização de mais um sonho se concretiza aqui, e agradeço isso a muitas pessoas que estiveram ao meu lado no decorrer dessa caminhada, cada uma teve uma importância especial, pois pude aprender coisas singulares, particular de cada uma delas e assim experimentar uma das aventuras mais emocionantes da vida, que é a sabedoria de crescer e estar sempre crescendo e aprendendo, vivendo!

Primeiramente agradeço aos meus pais, Armando e Vera, por me oferecerem um dos maiores e melhores bens – o estudo. Além do apoio em todos os momentos, o carinho e o amor cedido a mim durante minha vida, por terem abdicado de seus sonhos em prol dos meus, e por serem sempre exemplos de coragem e caráter.

À minha irmã, Daniela, que sempre esteve ao meu lado, e compreendeu que em alguns momentos não pude estar ao seu, pela cumplicidade e amizade.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo, pela confiança, orientação e pelo respeito profissional que foi conquistado no decorrer da realização deste trabalho.

A Prof. Dr<sup>a</sup> Valéria pelo convite para participar do grupo METABIO. A Prof. Dr<sup>a</sup> Samisia pela amizade. Ao Prof. Dr. Péricles pelo empréstimo de vários livros que muito me auxiliaram na confecção desta dissertação.

Aos amigos conquistados no decorrer do curso do mestrado, em especial à Alana, Márcia, Taís e Ana Paula, pela amizade, companheirismo e pelas experiências divididas em vários momentos durante a realização deste curso.

Aos colegas de laboratório, Taís, Larissa, Mônica, Adriana, Kelly, Patrícia, Fabiola, Moacir, Andersson, Rodrigo e Luiz, e um agradecimento especial a Taís, pelos ensinamentos de bancada e pela paciência dedicada a mim durante nossa fase no laboratório.

Às prof<sup>as</sup> Dr. Ledjane Silva Barreto e Iara de Fátima Gimenez, primeiramente por disponibilizar o uso do centrífuga, e também pelo incentivo cedido quando este foi necessário.

Aos Prof. Dr. Sandro e Prof. Dr. Haroldo pela disponibilização de toda estrutura de seu laboratório.

Ao prof. Humberto e ao Florêncio pelo auxílio com a hidrólise enzimática.

Aos técnicos do Departamento de Química: Ednalva, Ismael, Elisa e Ricardo, pela ajuda.

Aos amigos Carlinhos e Alcy, pela amizade sincera dispensada à minha família.

À CAPES pelo auxílio financeiro

À todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

# CURRICULUM VITAE

Março/2007

## DADOS PESSOAIS

Nome Tatiana Kubota

Nome em citações bibliográficas KUBOTA, Tatiana

Sexo feminino

e-mail para contato : tatianakbt@uol.com.br

## FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2005 - Atual Mestrado em Química.  
Universidade Federal de Sergipe, UFS, Sao Cristovao, Brasil  
Título: Contribuição à Química dos Compostos Voláteis de Frutos do Nordeste: Hancornia speciosa Gomes  
Orientador: Prof Dr. Paulo Cesar de Lima Nogueira  
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2000 - 2004 Graduação em Química Licenciatura.  
Universidade Federal de Sergipe, UFS, Sao Cristovao, Brasil

1996 - 2000 Ensino Profissional de nível técnico.  
Centro Federal de Educação Tecnológica de Sergipe, CEFET/SE, Aracaju, Brasil

## ATUAÇÃO PROFISSIONAL

- 1 Companhia de Bebidas das Américas - AMBEV  
**Vínculo institucional**  
1999 - 2000 Vínculo: Estágio , Carga horária: 44 Regime : Integral
- 2 Universidade Federal de Sergipe - UFS  
**Vínculo institucional**  
2002 - 2003 Vínculo: Livre , Enquadramento funcional: Bolsista de Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime : Dedicção Exclusiva  
2003 - 2004 Vínculo: Livre , Enquadramento funcional: Bolsista de Iniciação Científica , Carga horária: 20, Regime : Dedicção Exclusiva  
2005 – Atual Vínculo: Livre , Enquadramento funcional: Bolsista de Pós-graduação , Carga horária: 40, Regime : Dedicção Exclusiva  
2006 - 2006 Vínculo: Livre , Enquadramento funcional: Estagio Docência , Carga horária: 60, Regime : Integral  
Estágio Docente (Bolsista CAPES), Nível de graduação disciplina ministrada: Química orgânica experimental II

## PRÊMIOS E TÍTULOS

2006 Segunda colocada no concurso para professor substituto em Química orgânica, Universidade Federal de Sergipe

## PRODUÇÃO EM C, T & A

### Produção bibliográfica

#### Comunicações e Resumos Publicados em Anais de Congressos ou Periódicos (resumo)

1. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira, NOGUEIRA, Paulo Cesar de Lima  
Constituintes voláteis dos frutos de *Hancornia speciosa* (Apocynacea) In: 29ºReunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006, Águas de Lindoia.  
**29ºReunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** , 2006.
2. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira, ALENCAR, Maíra de Souza  
SPME-HS como técnica de extração de HPA em água e análise por GC-MS In: 28ºReunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas.  
**28ºReunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** , 2005.
3. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira, ALENCAR, Maíra Souza  
ANÁLISE DE HPAS EM ÁGUA POR SPME E CG/MS In: VI Congresso de Iniciação Científica, 2004, São Cristovão.  
**VI Congresso de Iniciação Científica.** , 2004.
4. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira, OLIVEIRA, Carolina Mangieri de  
DETERMINAÇÃO DE HPAS EM SEDIMENTO MARINHO POR CGC/MSD In: 56ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 2004, CUIABÁ.  
**56ª REUNIÃO ANUAL DA SBPC.** , 2004.
5. KUBOTA, Tatiana, LIMA SOBRINHO, L., DOREA, H. S., OLIVEIRA, Carolina Mangieri de  
ANÁLISE DE HPAS EM SEDIMENTO MARINHO POR GC/MS In: 26ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2003, POÇOS DE CALDAS.  
**26ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA.** , 2003.
6. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira  
ANÁLISE DE HPAS EM ÁGUA PRODUZIDA POR SPME In: V CONGRESSODE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2003, SÃO CRISTOVÃO.  
**V CONGRESSODE INICIAÇÃO CIENTÍFICA.** , 2003.
7. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira  
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR SPME-HS PARA ANÁLISE DE HPAS EM ÁGUA DO MAR In: 12º ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 2003, SÃO LUIS.  
**12º ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA.** , 2003.
8. KUBOTA, Tatiana, SANTOS, A. A., LIMA SOBRINHO, L., SANTOS, A. S. M. S. J., BISPO, R. L., LIMA, A. A., DOREA, H. S.  
DETERMINAÇÃO DE HPAS EM ÁGUA DO MAR E SEDIMENTO MARINHO POR CGC/MSD In: XXII ENEQUI ENCONTRO NACIONAL DOS ESTUDANTES DE QUÍMICA, 2003, VIÇOSA.  
**XXII ENEQUI ENCONTRO NACIONAL DOS ESTUDANTES DE QUÍMICA.** , 2003.
9. KUBOTA, Tatiana, DÓREA, Haroldo Silveira, OLIVEIRA, Carolina Mangieri de  
DETERMINAÇÃO DE HPAS EM SEDIMENTO MARINHO POR CGC/MSD In: V CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2003, SÃO CRISTOVÃO.  
**V CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA.** , 2003.

*"A coisa mais bela que o homem pode  
experimental é o mistério.  
É essa emoção fundamental que está na raiz  
de toda ciência e toda arte."*

*Albert Einstein*

“A verdadeira prova de uma existência está justamente em persistir, com espírito independente, na convicção que abraçou e edificar a firme fé e determinação inabalável de concretizar seus propósitos com base no profundo senso de responsabilidade e jamais ser derrotado diante de quaisquer dificuldades, obtendo uma vitória segura contra os problemas, forjando a si próprio, conhecendo bem a própria natureza e procurando saber, de antemão, o que virá acontecer.”

Nitiren Daishonin

## SUMÁRIO

---

Lista de figuras	i
Lista de tabelas	iv
Lista de abreviaturas	vi
Resumo	vii
Abstract	viii

---

<b>CAPITULO I</b>	<b>1</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>2</b>
1.1 Considerações gerais	2
1.2 Olfato	3
1.3 Compostos voláteis	6

---

<b>CAPITULO II</b>	<b>9</b>
<b>2. Métodos de Extração de voláteis</b>	<b>10</b>
2.1 Métodos tradicionais	10
2.1.1 Destilação à vapor	11
2.1.2 Extração com solvente	14
2.1.3 Extração e destilação simultânea	15
2.2 Métodos modernos	16
2.2.1 <i>Headspace</i> estático e <i>headspace</i> dinâmico	17
2.2.1.1 <i>Headspace</i> estático	18
2.2.1.2 <i>Headspace</i> dinâmico	19
2.2.2 Microextração em fase sólida	22
2.2.3 Extração em fase sólida	27
2.3 Compostos ligados glicosidicamente	30
2.4 Métodos de Separação	34
2.4.1 Cromatografia gasosa	34
2.5 Técnicas de identificação	37
2.5.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	37
2.5.2 Índice de retenção (IR)	38

---

<b>CAPITULO III</b>	<b>40</b>
<b>3. <i>Hancornia speciosa</i> Gomes</b>	<b>41</b>

---

<b>CAPITULO IV</b>	<b>43</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>44</b>
4.1 Objetivos gerais	44
4.2 Objetivos específicos	44

---

---

<b>CAPITULO V</b>	45
<b>5. Materiais e métodos</b>	46
5.1 Hidrodestilação	46
5.2 <i>Headspace</i> dinâmico	46
5.3 Microextração em fase sólida	48
5.4 Extração em fase sólida	48
5.5 Hidrólise ácida	49
5.6 Hidrólise enzimática	51
5.7 Análise cromatográfica	53

---

<b>CAPITULO VI</b>	55
<b>6. Resultados e discussão</b>	56
6.1 Hidrodestilação	56
6.1.1 Fruto verde	57
6.1.2 Fruto “de vez”	58
6.1.3 Fruto maduro	60
6.1.4 Polpa industrializada	62
6.2 <i>Headspace</i> dinâmico	65
6.2.1 Fruto verde	65
6.2.2 Fruto maduro	67
6.2.3 Fruto “de vez”	68
6.2.4 Polpa industrializada	69
6.3 Microextração em fase sólida	71
6.3.1 Fruto verde	72
6.3.2 Fruto “de vez”	79
6.3.3 Fruto maduro	85
6.3.4 Polpa industrializada	91
6.4 Extração em fase sólida	98
6.5 Hidrólise ácida	101
6.6 Hidrólise enzimática	104
6.7 Considerações finais	107

---

<b>CAPITULO VII</b>	111
<b>7. Conclusão</b>	112

---

<b>CAPITULO VII</b>	114
<b>8. Referencias</b>	115

---

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Epitélio olfatório, local onde os receptores sensoriais são encontrados.	4
<b>Figura 2.</b> Sistema de hidrodestilação (Clevenger), em escala laboratorial.	12
<b>Figura 3.</b> Destilação por arraste a vapor, em escala laboratorial.	12
<b>Figura 4.</b> Sistema de extração e destilação simultânea utilizado para extração de voláteis em amostra vegetal em escala laboratorial.	15
<b>Figura 5.</b> Esquema das técnicas recentes de amostragem de voláteis	17
<b>Figura 6.</b> Sistema utilizado para extração de voláteis por <i>headspace</i> estático.	18
<b>Figura 7.</b> Sistema de extração de voláteis por <i>headspace</i> dinâmico.	19
<b>Figura 8.</b> Dispositivo da fibra de SPME: (A) posição da fibra retraída na agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo 0,56mm), (B) posição com a fibra exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da seção com recobrimento de 100µm de espessura.	23
<b>Figura 9.</b> Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e o de dessorção do material extraído para análise por GC.	25
<b>Figura 10.</b> Cartucho para extração por SPE.	28
<b>Figura 11.</b> Procedimento para extração por SPE.	28
<b>Figuras 12.</b> Estrutura do Geranyl-β-D-glicopiranosídeo encontrado em <i>Pelargonium odoratissimum</i> .	30
<b>Figura 13.</b> Reação de liberação da aglicona via hidrólise ácida.	31
<b>Figura 14.</b> Estruturas mais comumente encontradas na forma de glicosídeos em plantas.	32
<b>Figura 15.</b> Esquema representativo de um cromatógrafo gasoso.	36
<b>Figura 16.</b> Sistema geral de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.	37
<b>Figura 17.</b> Modelo de espectro de massas obtidos após análise por CG-EM.	38
<b>Figura 18.</b> Fotos de frutos de mangaba.	42
<b>Figura 19.</b> Fluxogramas do procedimento de extração dos voláteis de <i>H. speciosa</i> por <i>headspace</i> dinâmico.	47
<b>Figura 20.</b> Fluxograma do procedimento de extração dos voláteis de <i>H. speciosa</i> por SPE.	49
<b>Figura 21.</b> Fluxograma do procedimento para liberação dos voláteis de <i>H. speciosa</i> via hidrólise ácida.	50
<b>Figura 22.</b> Fluxogramas do procedimento para liberação dos voláteis de <i>H. speciosa</i> via hidrólise enzimática.	52
<b>Figura 23.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do	57

fruto verde de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica de hidrodestilação.	
<b>Figura 24.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto de vez de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica de hidrodestilação.	59
<b>Figura 25.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica de hidrodestilação.	61
<b>Figura 26.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica de hidrodestilação.	63
<b>Figura 27.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	66
<b>Figura 28.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	67
<b>Figura 29.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	68
<b>Figura 30.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> , obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	70
<b>Figura 31.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando o tempo de exposição da fibra: (A) 20 minutos, (B) 30 minutos (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.	73
<b>Figura 32.</b> Gráfico em coluna do tempo de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritário fruto verde.	75
<b>Figura 33.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente; (B) 40°C e (C) 60°C.	76
<b>Figura 34.</b> Espectro de massas do composto não identificado: (A) composto 19 da Tabela 12; (B) composto 18 da Tabela 12.	76
<b>Figura 35.</b> Gráfico em coluna da variação da temperatura de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritários do fruto verde.	78
<b>Figura 36.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando o tempo de exposição da fibra: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos; (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.	79
<b>Figura 37.</b> Gráfico do tempo de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritários do fruto “de vez”.	81
<b>Figura 38.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente, (B) 40°C e (C)	82

60°C.	
<b>Figura 39.</b> Gráfico da variação da temperatura de extração, para os compostos majoritários do fruto “de vez”.	84
<b>Figura 40.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto de maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando-se o tempo extração: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos, (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.	86
<b>Figura 41.</b> Gráfico em coluna do tempo de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritários do fruto maduro.	87
<b>Figura 42.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente; (B) 40°C e (C) 60°C.	88
<b>Figura 43.</b> Gráfico em coluna da variação da temperatura de extração <i>versus</i> área do pico do compostos majoritários do fruto maduro.	90
<b>Figura 44.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando-se o tempo de extração da fibra: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos; (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.	92
<b>Figura 45.</b> Gráfico em coluna do tempo de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritários da polpa industrializada.	93
<b>Figura 46.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente; (B) 40°C e (C) 60°C.	94
<b>Figura 47.</b> Espectro de massas do composto não identificado (composto número 17 da Tabela 21).	95
<b>Figura 48.</b> Gráfico em coluna da variação da temperatura de extração <i>versus</i> área do pico dos compostos majoritários da polpa industrializada.	96
<b>Figura 49.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPE.	99
<b>Figura 50.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPE.	99
<b>Figura 51.</b> Reação geral de liberação das agliconas via hidrólise ácida	102
<b>Figura 52.</b> Cromatograma de íons totais representativo obtidos pela hidrólise ácida do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> .	103
<b>Figura 53.</b> Cromatograma de íons totais representativo dos compostos hidrolisados do fruto verde via hidrólise enzimática.	105
<b>Figura 54.</b> Cromatograma de íons totais representativo da fração livre dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> .	106

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1.</b> Classe dos compostos de aroma	7
<b>Tabela 2.</b> Fibras de SPME disponíveis comercialmente	24
<b>Tabela 3.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de hidrodestilação.	57
<b>Tabela 4.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto “de vez” de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de hidrodestilação.	59
<b>Tabela 5.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de hidrodestilação.	61
<b>Tabela 6.</b> Composição percentual relativa dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de hidrodestilação.	63
<b>Tabela 7.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de <i>headspace</i> dinâmico.	66
<b>Tabela 8.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	67
<b>Tabela 9.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto de vez de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	69
<b>Tabela 10.</b> Composição percentual relativa dos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica do <i>headspace</i> dinâmico.	70
<b>Tabela 11.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de exposição da fibra no <i>headspace</i>	74
<b>Tabela 12.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando a temperatura de extração.	77
<b>Tabela 13.</b> Composição percentual dos compostos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> através de SPME e CG-FID.	79
<b>Tabela 14.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto de vez de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de exposição da fibra no <i>headspace</i> .	81
<b>Tabela 15.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto de vez de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando a temperatura de extração.	83
<b>Tabela 16.</b> Composição percentual dos compostos voláteis de <i>H. speciosa</i> do fruto “de vez” através de SPME e CG-FID.	85
<b>Tabela 17.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de exposição da fibra no <i>headspace</i> .	86
<b>Tabela 18.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis do	89

---

fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando a temperatura de extração.	
<b>Tabela 19.</b> Composição percentual dos compostos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> através SPME e CG-FID.	90
<b>Tabela 20.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de exposição da fibra no <i>headspace</i> .	92
<b>Tabela 21.</b> Composição percentual relativa dos compostos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> obtidos pela técnica de SPME, variando a temperatura de extração.	95
<b>Tabela 22.</b> Composição percentual dos compostos voláteis da polpa industrializada de <i>H. speciosa</i> realizada através de SPME e CG-FID.	97
<b>Tabela 23.</b> Percentagem relativa em área dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> obtidos através de SPE e CG-EM.	100
<b>Tabela 24.</b> Percentagem relativa em área dos voláteis do fruto verde de <i>H. speciosa</i> obtidos através de SPE e CG-EM.	101
<b>Tabela 25.</b> Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de <i>H. speciosa</i> após hidrólise ácida com HCl 0,1mol/L.	103
<b>Tabela 26.</b> Compostos identificados após liberação das agliconas via hidrólise enzimática.	105
<b>Tabela 27.</b> Composição percentual relativa dos voláteis da fração livre do fruto de <i>H. Speciosa</i> no estágio verde.	106
<b>Tabela 28.</b> Principais compostos voláteis majoritários encontrados nos frutos de <i>H. speciosa</i> obtidos pelas técnicas de hidrodestilação, <i>headspace</i> dinâmico e SPME.	108

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>SDE</b>	Extração e destilação simultânea ( do inglês, <i>simultaneous distillation extraction</i> ).
<b>SPME</b>	Microextração em fase sólida (do inglês, <i>solid phase microextraction</i> ).
<b>SPE</b>	Extração em fase sólida (do inglês, <i>solid phase extraction</i> )
<b>CG-EM</b>	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.
<b>CG-FID</b>	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chamas.
<b>CG-O</b>	Cromatografia olfatométrica
<b>PDMS</b>	Polimetilsiloxano
<b>CAR</b>	Carboxen
<b>DVB</b>	Divinilbenzeno
<b>CW</b>	Carbowax
<i>m/z</i>	Razão massa/carga

## RESUMO

O Brasil possui uma diversidade de frutos tropicais apresentando aromas e sabores exóticos que chamam a atenção dos consumidores estrangeiros. Esta enorme variedade de frutos representa uma área promissora para pesquisa em aroma, pois existem muitos frutos com potencial comercial, mas que apresentam apenas importância regional e cujos compostos voláteis ainda não foram caracterizados. A mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes, Apocynaceae) é um destes frutos tropicais que apresentam sabor e aroma exótico. Neste trabalho determinamos, pela primeira vez, a composição química dos compostos voláteis dos frutos de *Hancornia speciosa* Gomes em três estádios de maturação (verde, “de vez” e maduro) e na polpa industrializada, utilizando técnicas de extração tradicionais (hidrodestilação) e modernas (*headspace* dinâmico e SPME). Os resultados obtidos demonstraram que a composição química dos voláteis dos frutos de *Hancornia speciosa* varia a depender do estágio de maturação do fruto e da técnica de extração utilizada. No fruto verde, utilizando a hidrodestilação, os compostos majoritários foram os monoterpenos linalol, óxido de *cis*-linalol e óxido de *trans*-linalol, enquanto pelas técnicas de *headspace* dinâmico e SPME, os voláteis dos frutos verdes foram caracterizados pela presença de álcoois como (3Z)-hexenol e 2-fenil etanol. Já no fruto maduro, há o predomínio de ésteres pelas 3 três técnicas estudadas, sendo acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila os compostos majoritários. No fruto “de vez”, pela técnica da hidrodestilação, os compostos majoritários foram o furfural e os monoterpenos linalol,  $\alpha$ -terpineol e geraniol, mas a extração pelas técnicas de *headspace* dinâmico e SPME os compostos predominantes foram os ésteres acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila. Nas análises da polpa industrializada através de hidrodestilação, os principais componentes encontrados foram o furfural e os ésteres acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila, porém quando utilizamos as técnicas de *headspace* dinâmico e SPME, os voláteis foram caracterizados principalmente pela presença dos ésteres. Além dos compostos voláteis livres, apresentamos os estudos preliminares sobre os compostos ligados glicosidicamente dos frutos de mangaba.

Palavras chaves: Apocynaceae, *Hancornia speciosa* Gomes, compostos voláteis.

## ABSTRACT

Brazil has a natural abundance of tropical fruits with distinctive exotic flavors appealing to the foreign consumer. The enormous diversity of fruits represents a promising area for research on aromas, because many of them have a high market potential, and also many others, are so far only regionally important. However, the flavors and aromas of most of these fruits have not yet been characterized. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes, Apocynaceae) is a Brazilian tropical fruit with an exotic flavor and aroma. In this work, for the first time, was analyzed the chemical composition of the aroma of mangaba fruits at three stages of maturity (immature fruit, intermediate stage, mature fruit), and industrialized pulp by classic (hydrodistillation) and modern (dynamic headspace and SPME) sampling methods. The volatile analyses showed differences of major components according to stage of maturity and volatile extraction method. Thus, volatile composition obtained by hydrodistillation of immature fruits present monoterpenes, such as linalool, *cis*-linalool oxide and *trans*-linalool oxide in a higher relative percentage, while alcohols [mainly (*Z*)-3-hexenol, phenyl ethanol] predominated in the volatile compositions by dynamic headspace and SPME. In the mature fruits, esters, such as 3-methyl-1-butanyl acetate, 3-methyl-3-buten-1-yl acetate, and 3-methyl-2-buten-1-yl acetate predominated by three sampling methods studied. The major components of the fruits at the intermediate stage by hydrodistillation sampling was furfural and monoterpenes, such as linalool,  $\alpha$ -terpineol, and geraniol, while esters, such as 3-methyl-1-butanyl acetate, 3-methyl-3-buten-1-yl acetate, and 3-methyl-2-buten-1-yl acetate predominated by dynamic headspace and SPME sampling. The analyses from industrialized pulp by hydrodistillation showed furfural and esters (3-methyl-1-butanyl acetate, 3-methyl-3-buten-1-yl acetate I and 3-methyl-2-buten-1-yl acetate) as the major components, nonetheless, only esters predominated by dynamic headspace and SPME sampling. Besides free form, we also showed the preliminary investigations on the glycosidically-bound aroma volatile compounds in the mangaba fruit.

Key words: Apocynaceae, *Hancornia speciosa* Gomes, volatile compounds.

# CAPITULO I

---

## Introdução

## 1. Introdução

### 1.1 Considerações Gerais

As diferentes condições climáticas encontradas no extenso território brasileiro levam à grande diversificação de culturas agrícolas nele observadas. Embora a fruticultura represente apenas 5% da área cultivada no país, o Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de frutas – atrás da China e da Índia [1,2].

O comércio internacional de frutas é estimado em 21 bilhões de dólares por ano. Uma iniciativa que ampliou a participação brasileira no mercado internacional de frutas foi o programa *Brazilian fruit* – parceria do Ibraf (Instituto brasileiro de frutas) e da agência de Promoção de Exportações. De 1998, quando o programa foi criado, para 2005, o Brasil aumentou suas vendas de frutas frescas no mercado internacional de 260.000 toneladas para 827.000 toneladas, um crescimento de mais de 200% em volume. Em valores, o salto no período foi de 120 milhões para 440 milhões de dólares [2,3].

Além do aumento das exportações, cresceram as variedades de frutas embarcadas para o exterior e os países de destino das vendas. As principais frutas comercializadas pelo Brasil no exterior em 2005 foram: manga, melão, laranja, uva, mamão papaia, maçã, limão tahiti e banana[3].

Neste cenário, o nordeste brasileiro apresenta uma produção de destaque, podendo ser considerado um grande centro de excelência para a fruticultura. Dentre as regiões produtoras, destacam-se o Pólo Açú/Mossoró, no Rio Grande do Norte que é a maior região produtora de melão do país, enquanto o pólo de Petrolina/Juazeiro firmou-se como grande exportador de manga, banana, coco, uva, goiaba e pinha[4]. Pode-se destacar também o Vale do São Francisco, que em 2004 produziu 300.000 toneladas de manga superando os resultados obtidos em 2003, quando a colheita ficou em 287.000

toneladas. A Bahia, que em 2003 liderou a produção do mamão, com 784.000 toneladas de um total de 1,7 milhão, e em 2004 foi o segundo maior produtor de citrus do País. A produção baiana de laranja em 2004 foi de 783.300 toneladas, enquanto em 2003 havia chegado a 772.000 toneladas. Já o limão alcançou 43.000 toneladas [5].

O estado de Sergipe se destaca na produção de sucos e polpa industrializadas, sendo este um setor que vem recebendo, muitos incentivos para a exportação, tendo como exemplo a Topfruit, que é uma empresa de concentrado de sucos de laranja, maracujá e abacaxi, que no ano de 2005 exportou 70% de sua produção para Europa, Ásia, Canadá e Israel [6].

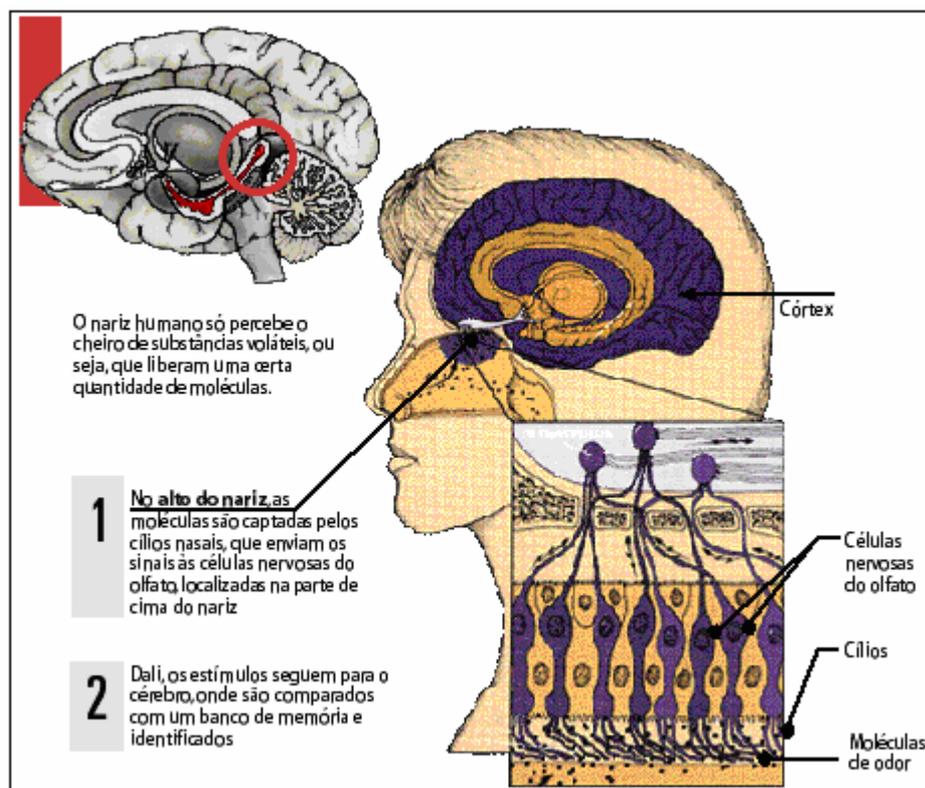
As frutas tropicais exóticas, tais como graviola, açaí, seriguela, cajá, carambola, jaca entre outras, também merecem destaque, pois tem despertado um crescente interesse para consumidores de todo mundo. Frutas que são pouco conhecidas fora dos trópicos apresentam frequentemente importância regional, mas a demanda por sabores novos e exóticos tem atraído a atenção das indústrias de aromas para caracterização dos compostos voláteis dessas frutas[7].

O Brasil, especialmente a região Amazônica e o nordeste brasileiro, apresentam uma diversidade natural de frutas com sabores distintos, muitas das quais consideradas exóticas, apresentando diferentes aroma, que necessitam da caracterização dos seus constituintes voláteis, representando uma área promissora para pesquisa em aroma [7,8].

## **1.2 Olfato**

O olfato é o mais antigo – e um dos mais intrigantes – sentidos desenvolvidos pelo homem, pois somos capazes de detectar no ar, em menos de um segundo, a presença de substâncias em concentrações tão baixas que nenhuma máquina construída pelo homem detectaria[9].

O olfato depende de receptores sensoriais que respondem à presença de certas moléculas na atmosfera, chamados de quimiorreceptores. Nos humanos, estes quimiorreceptores estão localizados no epitélio olfativo – um pedaço de tecido do tamanho de um selo postal, localizado na cavidade nasal (Figura 1)[9].



**Figura 1.** Epitélio olfativo, local onde os receptores sensoriais são encontrados (Figura extraída da referência 10).

Este tecido é recoberto de cílios e uma camada de muco. As moléculas dos compostos voláteis são dissolvidas no muco e, então, interagem com os receptores. Isto ativa uma enzima, a *adenilil ciclase*, que catalisa a conversão de ATP ao AMP cíclico (cAMP). O cAMP ativa um canal nasal de  $\text{Na}^+$ , gerando um potencial de despolarização ao longo da membrana. Este impulso é transmitido pelos nervos olfativos até o cérebro, que, computando outros estímulos sensoriais, interpreta o impulso como um odor – muitas

vezes acionando áreas da memória que relacionam um odor particular com algo já experimentado antes[9].

Uma substância odorante precisa ter certas propriedades para ser capaz de provocar alterações sensoriais: deve apresentar alguma solubilidade em água, pressão de vapor considerável, lipofilicidade, e massa molar não muita elevada até 300 daltons [9].

Muitas teorias tentam explicar como os seres vivos percebem os odores. A primeira delas foi a de Aristóteles no século 4 a.C. que propôs que as substâncias odoríferas emitem uma radiação que é detectada pelo receptor olfativo. Miles & Beck, em 1947, deram suporte a esta teoria afirmando que as abelhas deveriam detectar o cheiro do mel através de um recipiente transparente ao espectro do infravermelho distante, mas como seus resultados nunca foram repetidos, hoje não se dá importância a essa teoria. Outras teorias fora de uso são a teoria da atividade termodinâmica postulada por Gavaudam (1948), a teoria cromatográfica de Mozell (1970) e a teoria de penetração de membrana de Davis (1971), que propõe que a solubilidade e/ou volatilidade do odorante determinam o transporte da molécula da fonte ao receptor, mas não estão necessariamente envolvidas na geração de impulsos nervosos. As teorias de reconhecimento e vibração são aquelas levadas mais a sério, ambas propõe que uma molécula odorante entre em contato com um receptor apropriado ocasionando a geração de um impulso nervoso na célula do receptor. Nas teorias de reconhecimento, o contato se dá pelo reconhecimento molecular de um substrato (o odorante) por uma proteína (o receptor), enquanto nas teorias de vibração, o receptor de alguma maneira sente uma vibração molecular específica ou um grupo de vibrações do substrato[11].

Durante muito tempo, o olfato permaneceu como o mais enigmático dos nossos sentidos. Os princípios básicos para o reconhecimento e a

rememoração dos aproximadamente 10 mil diferentes odores não eram entendidos, mas em 2004 Richard Axel e Linda B. Buck receberam o premio Nobel de medicina por suas descobertas relativas a “receptores de odor e a organização do sistema olfativo”. Eles realizaram uma série de estudos pioneiros e descobriram uma grande família de genes, composta por cerca de mil genes diferentes (3% dos nossos genes), que dão origem a um número equivalente de tipos de receptores olfativos. Esses receptores estão localizados nas células receptoras olfativas, que ocupam uma pequena área na parte superior do epitélio nasal e detectam as moléculas de odor inalados.[12]

Segundo Axel e Buck, cada célula receptora olfativa possui um tipo de receptor de odor, e cada receptor pode detectar um número limitado de substâncias odoríferas. Nossas células receptoras olfativas são, portanto, altamente especializadas para poucos odores. Cada célula envia sinais ao longo de pequenos prolongamentos do tecido nervoso diretamente para a área no cérebro que controla o sentido do olfato, o bulbo olfativo. No entanto cada tipo de célula se conecta com uma área diferente dentro do tecido e de lá a informação é transmitida a outras partes do cérebro, onde informações de vários receptores olfativos é combinada, formando um padrão que é reconhecido como um odor distinto[12].

### **1.3 Compostos Voláteis**

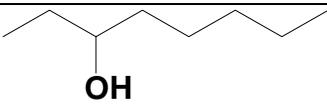
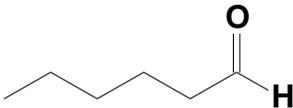
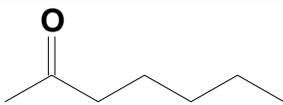
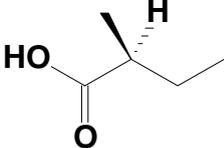
Os aromas tem sido parte da vida do homem há vários séculos. Os egípcios utilizaram material aromático no processo de mumificação dos corpos, na cosmética e na medicina. Também os chineses, indianos, hebreus, árabes, gregos e romanos, ou seja, todos os povos civilizados e primitivos, no decorrer da história, fizeram uso das essências de plantas aromáticas na medicina, culinária e em cerimônias religiosas[13].

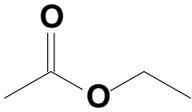
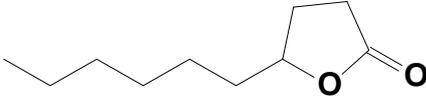
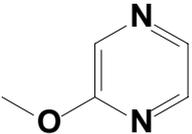
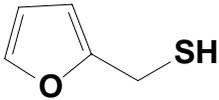
Os aromas são misturas complexas, os quais exercem fortes sensações de odor ainda que presentes em baixas concentrações, sendo, portanto os compostos voláteis os responsáveis pelo aroma percebido em uma matriz [7,14].

As moléculas existentes em aromas apresentam diferentes funções químicas como cetonas, ésteres, ácidos, aldeídos, pirazinas, lactonas, álcoois entre outras [7]. Na tabela 1 estão apresentados algumas moléculas de compostos voláteis com seus respectivos aromas característico.

A percepção do aroma depende do impacto individual de cada um desses compostos, mas geralmente é o resultado do balanço global entre eles. Nenhum constituinte individual é totalmente responsável pelo aroma característico de uma determinada matriz, mas em alguns produtos existem um ou mais componentes que, sozinhos, lembram a qualidade característica de seu aroma, e são chamados de compostos caráter-impacto. Os demais compostos necessários para se obter o sabor pleno são chamados de compostos contribuintes[7].

**Tabela 1.** Classe dos compostos de aroma

Classe	Composto	Estruturas	Aroma característico
Álcoois	3-octanol		Cogumelo
Aldeídos	hexanal		Fruta não amadurecida
Cetonas	2-heptanona		Queijo <i>blue cheese</i>
Ácidos carboxílicos	(S)-(+)-ácido-2-metilbutanóico		Fruta, doce

Ésteres	acetato de etila		Éter, conhaque
Lactonas	$\gamma$ -decalactona		Creme de nozes, pêssego
Pirazinas	2-acetilpirazina		Pipoca
Compostos sulfurados	2-furfurilmetanotiol		Café

Os compostos voláteis podem ser utilizados em diferentes contextos, e dentre suas diversas aplicações, pode-se destacar o seu uso na indústria alimentícia, como por exemplo na caracterização, reconstituição e formulação de aroma com maior fidelidade ao aroma natural de um alimento[7,11].

## CAPITULO II

---

---

### *Métodos de Análise de Voláteis*

## 2. Métodos de Extração de Voláteis

Na análise dos compostos voláteis, a preparação da amostra é considerada a etapa inicial e crucial para obtenção de informações representativas do odor característico de uma matriz, pois qualquer modificação causada na composição dos voláteis da amostra nesta etapa inicial não mais poderá ser corrigida, por mais sofisticados que sejam os instrumentos utilizados nas etapas subseqüentes. No entanto, representar qualitativamente o aroma original de uma determinada matriz é muito complicado, uma vez que os compostos voláteis apresentam diferentes propriedades químicas e estão presentes em quantidades extremamente diminutas, alguns compostos são instáveis, podendo ser oxidados pelo ar, enquanto outros podem ser termolábeis, ou seja, qualquer aumento da temperatura durante o preparo da amostra poderá acarretar em reações químicas, tais como rearranjos, hidrólise, ciclizações, entre outras, as quais podem modificar a composição original da amostra [7, 15-18].

O desenvolvimento e aplicação de uma metodologia para determinação da composição química dos compostos voláteis é uma tarefa desafiadora[8,19], pois a técnica aplicada para isolamento deve ser capaz de isolar os compostos voláteis enquanto limita a formação de artefatos[7]. Dentre as técnicas tradicionais, a hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor são extensivamente aplicados para análise de compostos voláteis de aromas[8]. Dentre as técnicas recentes para análise de voláteis podem-se destacar a microextração em fase sólida e o *headspace* dinâmico.

### 2.1 Métodos Tradicionais

Diferentes técnicas vem sendo empregada para extração de compostos voláteis de aromas, como por exemplo: extração com solvente, destilação à

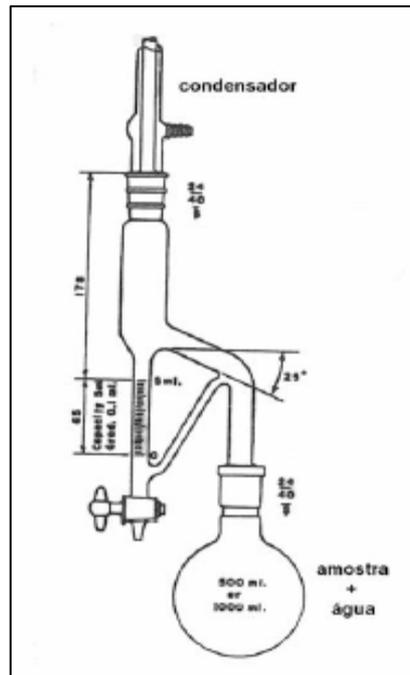
vapor e sistema de extração-destilação simultânea (SDE), que são conhecidas como técnicas tradicionais para extração de compostos voláteis e ainda são extensivamente utilizadas na indústria de aromas para caracterização dos constituintes voláteis devido a simplicidade na operação. No entanto, essas técnicas apresentam uma desvantagem em comum, que é a destruição potencial dos componentes de aroma e ou produção de artefatos [15,16,19]. Abaixo são descritas algumas das técnicas tradicionais para extração de compostos voláteis.

### **2.1.1 Destilação à vapor**

A destilação à vapor e a hidrodestilação são procedimentos tradicionais para o isolamento de compostos voláteis de amostras odoríferas, de alimentos e de determinadas partes de vegetais. Por ser um procedimento simples e direto, eles são ainda aplicados para isolamento dos compostos voláteis[8,11].

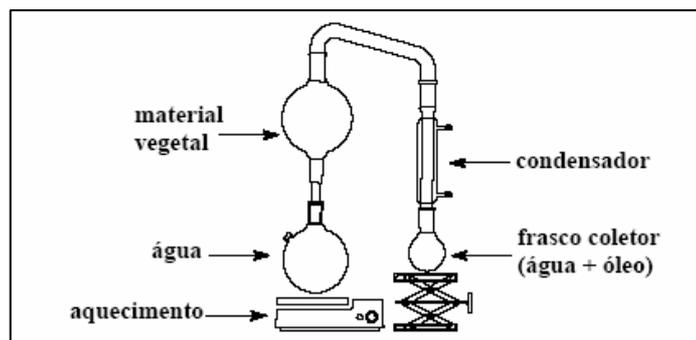
O processo de destilação é usualmente realizada de duas maneiras diferentes:

- Numa delas, hidrodestilação, a matriz a ser extraída é misturada ou suspensa com a água em um recipiente acoplado a um condensador. Depois permite-se o aquecimento até a temperatura de ebulição da água de forma que os compostos voláteis possam ser arrastados pelo vapor, o qual é condensado e recolhido. Posteriormente separa-se a fase orgânica da fase aquosa com auxílio de um solvente orgânico [8,11].



**Figura 2.** Sistema de hidrodestilação (Clevenger), em escala laboratorial.

- No outro procedimento, um fluxo de vapor é passado através do recipiente que contém o material a ser extraído, arrastando os compostos voláteis que após condensação são separados da água por decantação[11].



**Figura 3.** Destilação por arraste a vapor, em escala laboratorial.

A destilação à vapor pode ser feita à pressão atmosférica ou reduzida, mas sempre envolve calor e, portanto perdas ou modificações podem ocorrer na composição dos voláteis. Além disso, o condensado consiste principalmente de água, a etapa subsequente do processo é a aplicação de extração com algum solvente orgânico imiscível em água de baixo ponto de ebulição, para concentrar os compostos voláteis, e assim as impurezas presentes no solvente podem contaminar o isolado gerando artefato[7].

Na literatura podem ser encontrados vários trabalhos que utilizam a destilação à vapor para a extração de compostos voláteis de plantas, como exemplo pode-se citar o trabalho desenvolvido por Ansari e colaboradores [20], que determinaram a composição química dos compostos voláteis de Manga “Qalmi” (*Mangifera indica* L.) através da hidrodestilação e analisaram por CG-EM. Segundo estes autores, os frutos de manga foram caracterizados por uma alta concentração de  $\alpha$ -pineno (34,5%), sabineno (13,9%),  $\beta$ -pineno (12,6%) e limoneno (9,1%).

Um outro trabalho publicado por Msaada e colaboradores[21], que determinaram a composição dos compostos voláteis dos frutos do coentro nos 3 estádios de maturação também pela técnica da hidrodestilação e analisaram por CC-FID e CG-EM. Os resultados mostraram que, no fruto verde o composto majoritário foi o acetato de geranila (46,3%), enquanto no fruto intermediário e maduro, o composto majoritário foi o linalol (76,3% e 88,5%, respectivamente). Neste trabalhos os autores concluíram que a composição química dos compostos voláteis dos frutos de coentro nos diferentes estádios de maturação mudam significativamente, sugerindo que essas diferenças são devido as modificações na metabolismo secundário.

### **2.1.2 Extração com solvente**

A extração com solvente orgânico é um método importante e muito utilizado para o isolamento dos compostos voláteis, foi um dos primeiros métodos utilizados para recuperar compostos de aroma, principalmente em alimentos, sendo usada ainda pelas indústrias de perfumaria e de cosmético [11].

No entanto, os baixos níveis de compostos recuperados aliado ao nível de componentes co-extraídos da matriz restringem o uso da extração direta. Outro problema da técnica, são a formação de emulsões, principalmente se compostos não voláteis estiverem presentes na amostra. Esta técnica utiliza tanto solventes puros quanto misturas, sendo o diclorometano, éter etílico, éter de petróleo, pentano e o hexano os solventes mais utilizados, principalmente por apresentarem um baixo ponto de ebulição, permitindo que os componentes mais sensíveis não sejam destruídos por aquecimento, além da seletividade, permitindo que as substâncias odoríferas sejam removidas primeiro[11,18].

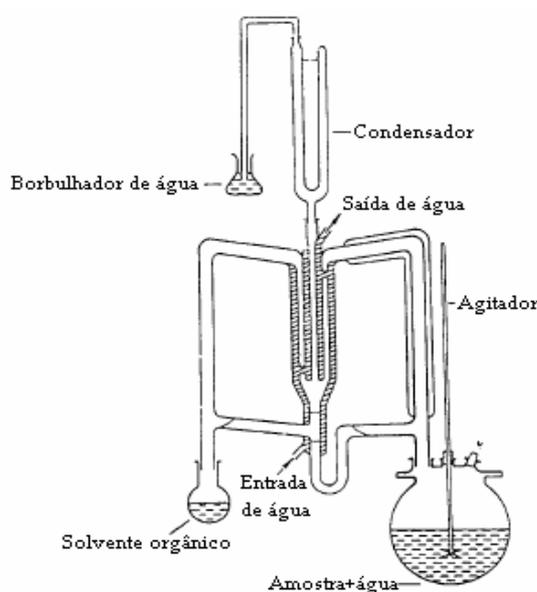
Apesar da sua simplicidade, a tendência moderna é substituir a extração líquido-líquido por outras técnicas, devido a alta pureza dos solventes que são requeridos para análise de traço, a necessidade de redução no ambiente de solventes orgânicos e ao risco a saúde associado a sua manipulação além de não ser aplicada para análise de compostos voláteis em amostras vivas[8].

Dentre os trabalhos encontrados na literatura pode-se citar a extração líquido-líquido para determinar monoterpenos em vinhos, desenvolvido por Lopez e Gomez[22], os quais avaliaram a capacidade de extração de sete solventes: diclorometano, éter-dietílico, freon 11, éter-pentano (1:1), éter-hexano (1:1), pentano e hexano. Os monoterpenos estudados foram:  $\alpha$ -

terpineol, citronelol, nerol e geraniol, pois são usualmente encontrados em amostras de uvas e vinhos. A extração foi realizada com um sistema modelo com os cinco monoterpênos dissolvidos em uma mistura de 12% (v/v) de éter-água. Os solventes que apresentaram os melhores resultados foram o diclorometano e o éter-pentano (1:1, v/v).

### 2.1.3 Extração e destilação simultânea

Essa técnica de extração é realizada com aparelhagem de Likens & Nickerson (Figura 4). Nesse sistema, o isolamento e a concentração dos voláteis são feitas simultaneamente. A amostra e o solvente são colocados, cada um deles, em um balão inserido nas duas extremidades do sistema. Os vapores gerados da amostra e do solvente puro entram em contato íntimo acima do condensador, e após a condensação, escoam para o sifão posicionado no sistema logo abaixo do condensador[7].



**Figura 4.** Sistema de destilação e extração simultânea, utilizado para extração de voláteis em amostra vegetal em escala laboratorial.

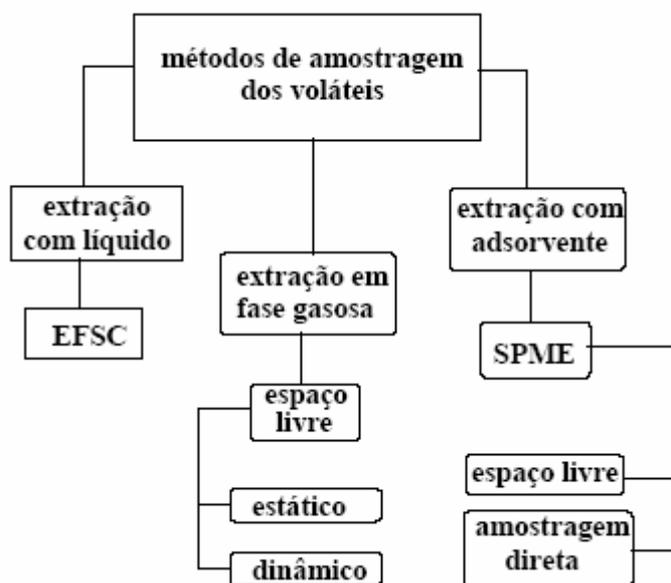
O solvente é imiscível com a água e cada um deles fluxa novamente para os respectivos balões, gerando um processo de extração contínuo. O sistema visa minimizar a degradação dos compostos voláteis de interesse e a formação de artefato através de precauções simples, tais como a redução do tempo de análise e uso de pouca quantidade de solvente orgânico[7].

Na literatura, podem ser encontrados trabalhos que utilizam a extração e destilação simultânea (SDE) para isolamento de voláteis de frutos, podendo-se citar o trabalho desenvolvido por Maia e colaboradores[23], que estudaram os voláteis de duas variedades de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.): “jaca dura” e a “jaca mole”. Os resultados mostraram que os voláteis da “jaca dura” os compostos predominantes foram ésteres tais como isovalerato de isopentila (28,4%) e o isovalerato de butanila (25,6%) e os voláteis da “jaca mole” foram representados principalmente por isovalerato de isopentila (18,3%), acetato de butanila (16,5%), isovalerato de etila (14,4%) e o isovalerato de isopentila (12,9%).

## 2.2 Métodos Modernos

As técnicas de amostragem de voláteis mais recentes utilizam pouco ou nenhum solvente orgânico e, como qualquer método de amostragem, dependem da partição entre os analitos da matriz e uma fase extratora que pode ser um gás, um líquido ou um adsorvente[11].

No esquema da Figura 5, pode-se observar algumas das técnicas recentes mais utilizadas[11]:



**Figura 5.** Esquema das técnicas recentes de amostragem de voláteis.

### 2.2.1 *Headspace* Estático e *Headspace* Dinâmico

Técnicas de amostragem no *headspace* podem ser divididas em[18]:

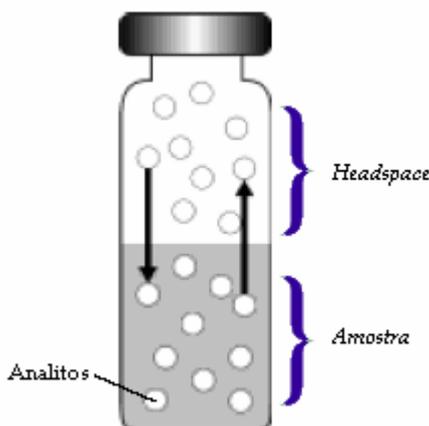
- *Headspace* estático
- *Headspace* dinâmico

Em cada caso, o princípio fundamental é o mesmo: análise da fase gasosa em equilíbrio com a fase líquida ou sólida da amostra. Os métodos que utilizam a amostragem no *headspace* visam minimizar a formação de artefatos e/ou a destruição da fração volátil, representando mais fielmente aroma de uma determinada matriz. Além da alta reprodutibilidade, a técnica mantém a integridade química das moléculas[7,8,18].

### 2.2.1.1 *Headspace* estático

O caminho mais simples para avaliar a composição química de um aroma é a análise direta do *headspace*. No entanto, devido os compostos voláteis estarem presentes em concentrações muito baixas, muitas vezes torna-se inviável a aplicação desta técnica. Todavia, quando instrumentos com limite de detecção adequado são utilizados e, dependendo da concentração do analito, o *headspace* estático pode ser utilizado devido a sua simplicidade[8].

Na análise estática do *headspace*, amostra é fechada em um recipiente, onde o equilíbrio é atingido entre o *headspace* e fase extratora a uma temperatura predeterminada(Figura 6). Os voláteis presentes no *headspace* são retirados através de uma seringa ou um instrumento similar e injetado diretamente no cromatógrafo gasoso[24].



**Figura 6.** Sistema utilizado para extração de voláteis por *Headspace* estático.

Além de fácil e rápido, este método é provavelmente o mais simples, permanecendo até hoje, com a técnica de preparação de amostra livre de solvente mais utilizada, principalmente em análises de campo. A principal

desvantagem é a diluição da amostra acarretando na baixa sensibilidade da análise[11].

### 2.2.1.2 *Headspace* dinâmico

Na análise do *headspace* dinâmico, a amostra é confinada em um recipiente fechado e um gás (geralmente ar purificado) é passado através da amostra. Os voláteis liberados pela amostra são carregados pelo gás e uma armadilha coleta e concentra os compostos voláteis (Figura 7). O procedimento dinâmico, impede o estabelecimento de um estado de equilíbrio, causando uma maior dispersão dos voláteis emitidos pela amostra para o *headspace*, que são constantemente removidos resultando na melhora da sensibilidade. A dessorção dos analitos da armadilha sólida para o cromatógrafo gasoso pode se realizada tanto pela eluição com solvente (dessorção com solvente) ou rápido aquecimento no injetor do cromatógrafo (dessorção térmica)[7,18,24].

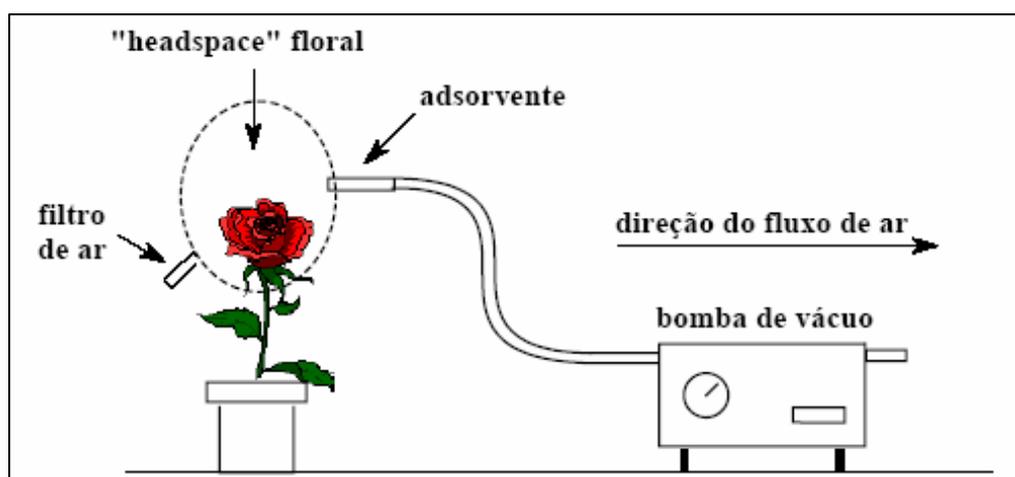


Figura 7. Sistema de extração de voláteis por *headspace* dinâmico[11].

Os detalhes do procedimento encontram-se nos tipos de armadilhas utilizadas, podendo ser criogênica ou com adsorventes. Armadilhas criogênicas utilizam recipientes refrigerados para a captura dos compostos voláteis, podendo coletar água junto com os compostos, o que torna as armadilhas com adsorventes mais convenientes. Adsorventes, como carvão ativo e vários polímeros porosos, Chromsorb 101, 102 e 105, Porapak Q e Tenax GC, podem ser usados para coletar compostos voláteis do *headspace*. Os mais utilizados são o Porapak Q e Tenax, porque adsorvem os compostos voláteis ao mesmo tempo que não adsorvem oxigênio, nitrogênio e principalmente vapor de água, que pode saturar a câmara de injeção, modificar os tempos de retenção, diminuir a vida útil da coluna e interferir nos espectros de massas [11,25].

A concentração dos compostos voláteis em polímeros porosos tem sido largamente empregada na investigação de aromas em alimentos e bebidas. A fase vapor imediatamente acima da amostra aproxima-se significativamente do aroma percebido na matriz, desde que as condições de adsorção/dessorção sejam cuidadosamente padronizadas. Além disso, os compostos voláteis são submetidos simultaneamente ao isolamento e enriquecimento em uma única operação[7].

As principais vantagens desta abordagem encontram-se no fato dos extratos obtidos serem mais limpos, ou seja, conterem um número menor de compostos que naqueles obtidos por extração com solvente ou pelos métodos de destilação; na facilidade em dessorver os voláteis capturados em polímeros adsorventes porosos diretamente na porta da injeção do cromatógrafo a gás (dessorção térmica), além de acondicionar a amostra em recipientes de vários tamanhos de acordo com a necessidade. A técnica preenche ainda alguns requisitos convenientes tais como requerer mínima

manipulação da amostra, envolver isolamento e enriquecimento a temperatura ambiente, permitir otimização das condições de análise, evitar destruição da amostra, apresentar baixo custo e configuração simples. A principal desvantagem desta técnica é a contaminação por compostos de uma análise anterior[7,11].

Na literatura, pode ser encontrado um grande número de informações sobre o uso do *headspace* dinâmico para caracterização química de compostos voláteis, podendo-se citar os trabalhos desenvolvidos por Franco e colaboradores[26], que isolaram os voláteis de três cultivares de manga (Haden, tommy-Atkins e Keitt) oriundos do estado de São Paulo, envolvendo a sucção em polímero poroso Porapak Q. Após análise por CG-FID e CG-EM, os autores perceberam que existem diferenças entre os voláteis nos cultivares de manga, sendo os monoterpenos os compostos dominantes com uma contribuição de pelo menos 95% de cada amostra, em todos os 3 cultivares. O car-3-eno foi o componente majoritários dos cultivares Haden e Keitt, enquanto a Tommy-Atkins mostrou predominância de car-3-eno e  $\alpha$ -pineno.

Soares e colaboradores[27], também utilizaram o *headspace* dinâmico para avaliar o efeito do estágio de maturação na composição química dos voláteis da goiaba branca (*Psidium guajava*) utilizando o Porapak Q. No fruto verde, foi verificado que o maior componente foi o (2E)-hexenal(16,8%) e o (3Z)-hexenal (7,96%). Enquanto o estágio intermediário a proporção relativa do (2E)-hexenal e (3Z)-hexenal decresceram, além da presença de ésteres em baixa proporção. Já no estágio maduro a proporção relativa dos ésteres aumentaram, sendo os majoritários o: acetato de *cis*-3-hexenila (21,8% ) e acetato de *trans*-3-hexenila (17,8%).

Em um outro trabalho com frutos tropicais, Regina e colaboradores[28], estudaram os compostos voláteis de umbu-cajá (*Spondias*

*citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) e cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) através da técnica do *headspace* dinâmico utilizando Porapak Q. No umbu-cajá e no camu-camu identificaram 21 compostos no araçá-boi identificaram 30 compostos. Os voláteis destas 3 frutas foram caracterizados por uma quantidade muito alta de compostos terpênicos. No umbu-cajá os compostos majoritários foram: *cis*- $\beta$ -ocimeno (36%) e  $\beta$ -cariofileno (27%), seguidos do *trans*-ocimeno (7,4%), limoneno (7,1%) e  $\alpha$ -cariofileno (4,5%). No camu-camu, os terpenos alcançaram uma proporção relativa de 98% e o  $\alpha$ -pineno foi o mais predominante (66%) seguido do d-limoneno (24%) e o  $\beta$ -cariofileno(4,6%). Os voláteis do araçá-boi foi caracterizada por uma composição complexa de sesquiterpenos, sendo o germacreno D o maior componente desta fruta (38%). Já cupuassu os ésteres foi a classe de composto predominante e os majoritários foram: butanoato de etila (42,2%) e hexanoato de etila (21,2%).

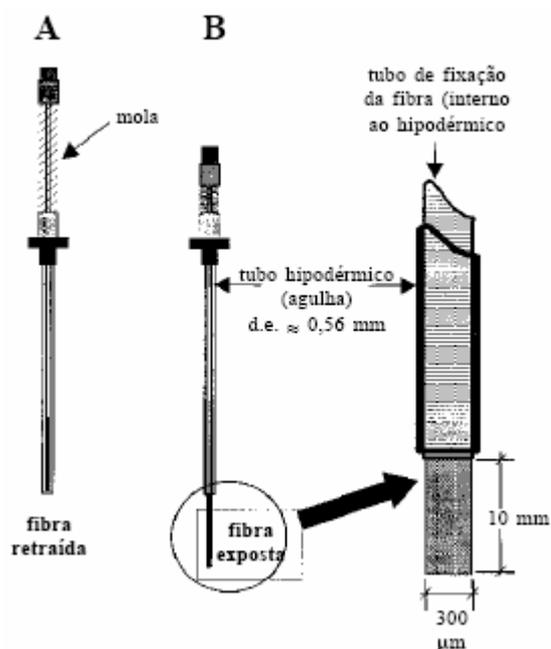
Um outro exemplo do uso do Porapak Q no isolamento de voláteis de frutas por *headspace* dinâmico, foi realizado por Oliveira e colaboradores[29] utilizando a pitanga eles conseguiram detectar 54 compostos dos quais 29 foram identificados, observaram a predominância de monoterpenos, tais como: *trans*- $\beta$ -ocimeno (36,2%), *cis*-ocimeno (13,4%),  $\beta$ -ocimeno (15,4%) e pineno (10,3%).

### 2.2.2 Microextração em fase sólida

Esta é uma nova técnica, introduzida em 1990 por Arthur Pawliszyn [30], chamada de microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), tem como principais vantagens sua simplicidade de manuseio, ser uma técnica livre de solvente, possuir um alto poder de concentração (adequando-se com as sensibilidades dos detectores de CG), ser aplicável a muitos tipos de analitos. A técnica utiliza uma fibra de sílica

fundida (1 – 2 cm) recoberta com um filme fino de um polímero (por exemplo polimetilsiloxano – PDMS, poliacrilato – PA ou carbowax – C<sub>wx</sub>) ou de um sólido adsorvente (por exemplo carvão ativo microparticulado – carboxen) [7,19,31].

As espessuras dos recobrimentos das fibras comerciais variam de 7 $\mu$ m a 100 $\mu$ m e seus volumes de 0,03 $\mu$ L a 0,7 $\mu$ L . As fibras são frágeis, razão pela qual o dispositivo mostrado na Figura 8 foi projetado para que ela possa ser retraída para dentro do tubo hipodérmico durante operações que possam danificá-las (Figura 8A), tais como a de transporte e as de perfurar o septo do frasco de amostra e o do injetor do cromatógrafo[31].



**Figura 8.** Dispositivo da fibra de SPME: (A) posição da fibra retraída na agulha (tubo hipodérmico de diâmetro externo 0,56mm), (B) posição com a fibra exposta. No detalhe são mostradas as dimensões típicas da seção com recobrimento de 100 $\mu$ m de espessura.

As fibras disponíveis comercialmente para CG estão relacionadas na Tabela 2. As sugestões de aplicações desta tabela são necessariamente genéricas, pois as fibras relacionadas foram desenvolvidas para uso geral. As fibras para problemas específicos ainda não são comercializadas[31].

**Tabela 2.** Tipos de fibras de SPME disponíveis comercialmente[31].

Tipo	Composição Química	$L_f/\mu\text{m}^*$	$\Delta T$ (°C)	Aplicação sugerida
Não-polares	Polidimetilsiloxano (PDMS)	100,	200-270°C	Basicamente para compostos apolares. É possível usar com polares
		30,	220-320°C	
Polares	Poliacrilato (PA)	85	220-310°C	Mediamente a altamente polares, como fenóis, pesticidas organofosforados. Cetonas, álcoois. Voláteis de média a alta polaridade
	Carbowax/divinilbenzeno (CW-DVB)	65	200-260°C	
Bipolares	PDMS-DVB	65	200-270°C	Voláteis de não voláteis de baixa a alta polaridade. Voláteis
	Carboxen-PDMS	75	--	

\*Espessura do recobrimento da fibra de SPME

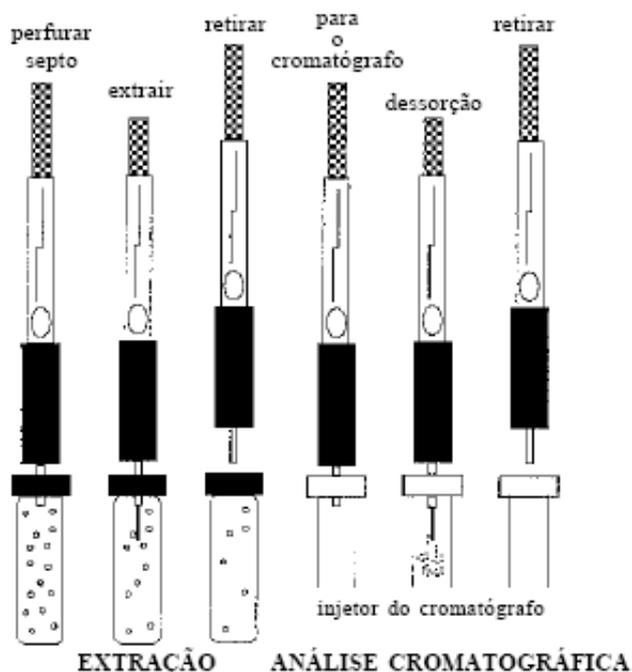
Numa extração por SPME as moléculas do analito tem de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento e, para isto, resistências a transferências de massa devem ser vencidas, até que se estabeleça um equilíbrio de partição do analito, entre a fibra e o meio que a envolve[31].

A extração ocorre mergulhando-se a seção recoberta na amostra (modo direto), ou no seu *headspace*. No modo extração direta, a fibra é inserida diretamente na amostra e os analitos são transportados da amostra para a fase extratora. Para acelerar o processo, emprega-se agitação mecânica a fim de transportar os analitos do meio da solução para a vizinhança da fibra[32].

No modo *headspace*, os analitos têm de ser transportados através da barreira de ar antes de atingirem o recobrimento da fibra. Essa modificação serve, principalmente, para proteger a fibra de possíveis danos provocados por interferentes de elevada massa molecular ou baixa volatilidade presentes

na amostra, como materiais húmicos (amostras ambientais) e proteínas ( amostras biológicas)[32].

Após o processo de extração, a fibra é retirada da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso, onde os analitos são termicamente desorvidos sob fluxo de gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica. As fibras extraem pequenas quantidades de analito, o que facilita sua desorção e subsequente separação cromatográfica. Na Figura 9 esta ilustrado o procedimento utilizado na extração por SPME[31].



**Figura 9.** Uso do amostrador de SPME para o processo de extração e desorção do material extraído para análise por GC.

Os dados obtidos com SPME, demonstram que os resultados dependem muito das condições experimentais e da amostra, o que é refletido na sensibilidade e reprodutibilidade do método analítico[7].

A microextração em fase sólida tem sido considerada um método potencialmente útil para caracterização de compostos voláteis em alimentos e principalmente, como método de rotina para verificar mudanças no aroma durante o seu processamento[7]. Pode-se citar, dentre vários, os trabalhos desenvolvidos por Oliveira e colaboradores[33], que utilizaram a técnica do SPME no modo *headspace* para isolar os voláteis do licor de cupuassu. Os parâmetros utilizados para definição do perfil de extração foram: fibra 100 $\mu$ m PDMS, 75 $\mu$ m CAR-PDMS e 65 $\mu$ m PDMS-DVB, massa da amostra: 0,7, 1,0, 1,2g, temperatura de extração: 25, 35 e 45°C e tempo de equilíbrio: 3, 5 e 10 minutos, temperatura de extração: 10, 20, 30, 45 e 60°C. O perfil definido foi: fibra 75 $\mu$ m CAR-PDMS, massa da amostra: 1,0g, temperatura de extração: 45°C, tempo de equilíbrio: 5 minutos e o tempo de extração: 60 minutos. Os principais compostos identificados foram 3-metil butanal, linalol e várias alquilpirazinas.

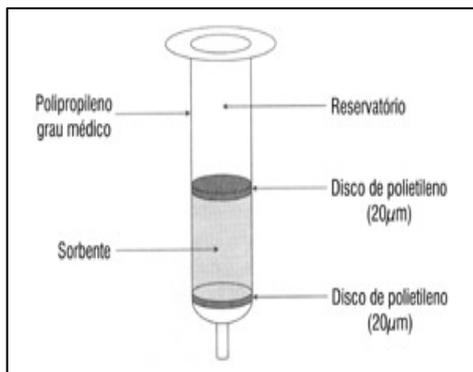
Já Antunes e colaboradores[34], estudaram os compostos voláteis da seriguela (*Spondias purpurea* L.) pela técnica do SPME. Para avaliação dos constituintes voláteis da seriguela foram testados vários tipos de fibra: 50/30 $\mu$ m DVB-CAR-PDMS, 65 $\mu$ m CW-DVB, 75 $\mu$ m CAR-PDMS e 100 $\mu$ m PDMS. A temperatura de extração foi mantida à 25°C e o tempo de equilíbrio foi de 1 hora. Dentre as fibras estudadas a que obteve-se os melhores resultados foi a 50/30 $\mu$ m DVB/CAR/PDMS. Foram identificados 27 compostos, sendo os compostos majoritários hexanal (10,6%), acetato de etila (8,4%), 3-hexen-1-ol (6,8%), 2-hexen-1-ol (5,0%) e *trans* hexenal (5,0%).

Também utilizando SPME no modo *headspace*, Guillot e colaboradores[35], caracterizaram os compostos voláteis de vários cultivares de damasco (Iranien, Orangered, Goldrich, Hargrand, Rouge du Roussillon e A4025) e analisaram por CG-EM e CG-O. Vários estudos sobre os voláteis de

damasco mostraram que existem diferenças na variabilidade e na natureza e concentração dos compostos voláteis a depender do cultivar. Na realização deste trabalho mantiveram constante a temperatura de extração: 40°C, tempo de equilíbrio 40 minutos e tempo de extração 20 minutos e variaram o tipo de fibra: 100µm PDMS, 65µm PDMS/DVB, 75µm CAR/PDMS. Os melhores resultados foram obtidos com a fibra 75µm CAR/PDMS. Nos seis cultivares estudados foram identificados mais de 200 compostos e 23 destes compostos estavam presentes, em proporções diferentes, em todos os cultivares estudados e os mais abundantes foram para o cultivar: Goldrich, (2E)-hexenal (40,1%), Hargrand, acetato de hexenila (45,7%), Orangered, limoneno (20,2%), Iranien, limoneno (21,5%), Rouge du Roussillon, *p*-cimeno (30,5%) e A4025, limoneno (22,8%). Os resultados por CG-O identificaram dez compostos como os responsáveis pelo aroma de damasco e podem ser utilizados para discriminar a variedade do damasco, e são eles: acetato de etila, acetato de hexenila, limoneno, β-ciclocitral, γ-decalactona, 6-metil-5-hepten-2-ona, linalol, β-ionona, mentona e (2E)-hexenal.

### 2.2.3 Extração em fase sólida

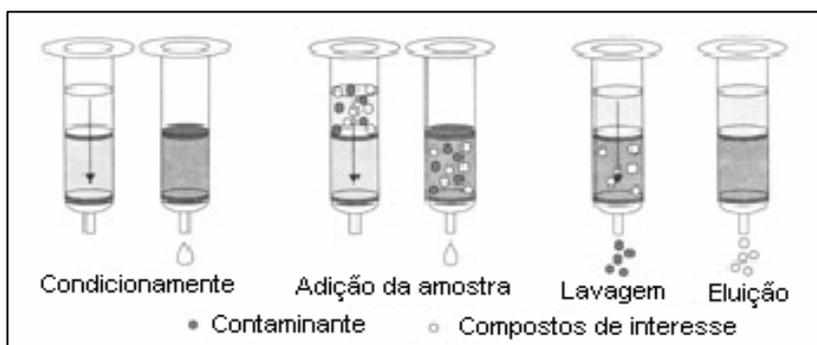
A extração em fase sólida, (SPE, do inglês *solid phase extraction*) é uma técnica de separação líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação de cromatografia líquida de baixa pressão, também conhecida como cromatografia líquida clássica. Do ponto de vista prático, a SPE, em sua forma mais simples e conhecida, comporta-se como uma cromatografia líquida empregando-se uma pequena coluna aberta, usualmente denominada cartucho de extração, a qual contém a fase sólida (denominada fase estacionária em cromatografia) (Figura 10)[32].



**Figura 10.** Cartucho para extração por SPE.

As etapas do procedimento de extração envolvem o condicionamento do cartucho (ou microcoluna), adsorção dos voláteis, a lavagem e a eluição[7].

A solução contendo o analito de interesse é colocada no topo do cartucho e aspirada com pequeno vácuo, ou pressionada levemente com uma seringa ou gás de forma a penetrar no cartucho. Depois de drenada toda a fase líquida, o analito retido no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente, de forma a coletar o analito em concentração já apropriada para análise (Figura 11)[32].



**Figura 11.** Procedimento para extração por SPE.

A fase sólida pode ser representada por vários tipos de materiais contidos em uma microcoluna e, dependendo do tipo de interação, pode ser de fase reversa, de fase normal ou adsorção[7].

O método de extração em fase sólida (SPE) tem sido aplicado na análise de compostos voláteis nos últimos anos, principalmente em análise de bebidas alcoólicas e na análise de aroma de frutas[7].

No entanto, o método aplicado diretamente à amostra, é considerado um método “sujo” em análise de voláteis, porque alguns componentes não voláteis podem ainda ser eluídos juntos com os compostos voláteis, contaminando ou se degradando no injetor do cromatógrafo, dando origem a artefatos[7].

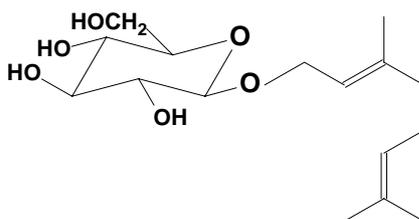
Na literatura podem ser encontrados vários trabalhos que utilizam a técnica do SPE para isolar os voláteis de material vegetal, dentre estes trabalhos pode-se citar os trabalhos desenvolvidos por Maneerat e colaboradores[36], os quais isolaram os voláteis do tomate utilizando como fase estacionária o Porapak Q. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos pela técnica de SDE. O Porapak Q como fase estacionária foi bastante efetivo isolando muitos compostos voláteis de alto e baixo ponto de ebulição. Os extratos obtidos possuíam um aroma agradável e natural de tomate. O método SDE foi menos efetivo para o isolamento dos voláteis de alto ponto de ebulição, além de causar a deterioração de voláteis devido ao aquecimento. Esta técnica apresenta como vantagem a simplicidade de operação e alta eficiência para o isolamento de compostos de muitos materiais não voláteis à temperatura ambiente.

Também utilizando Porapak Q como fase estacionária para SPE, Jiang e colaboradores[37], estudaram os componentes voláteis dos frutos verdes e maduros e do pericarpo seco de pimenta japonesa. Seus resultados mostram

que há uma boa resposta para o isolamento dos compostos com alto e baixo ponto de ebulição sem degradar o aroma da matriz. Os hidrocarbonetos monoterpênicos representaram quase 76% do total dos voláteis no fruto verde e os compostos majoritários foram: d-limoneno,  $\beta$ -fenantreno e mirceno. Em contrapartida os monoterpênicos oxigenados representaram os compostos majoritários no fruto maduro, dentre eles estão: citronelal, geraniol e geranial. No pericarpo seco, a proporção entre os terpenos oxigenados e os hidrocarbonetos monoterpênicos foram equivalentes.

### 2.3 Compostos voláteis ligados glicosidicamente

Os compostos voláteis livres foram extensivamente estudados nos últimos 30 anos. No entanto, eles também podem ser encontrados nas plantas como componentes ligados glicosidicamente. Esses compostos foram encontrados pela primeira vez em 1913 por Bourquelot e Bridel que identificaram o geraniol- $\beta$ -D-glicopiranosídeo em *Pelargonium odoratissimum*[38].

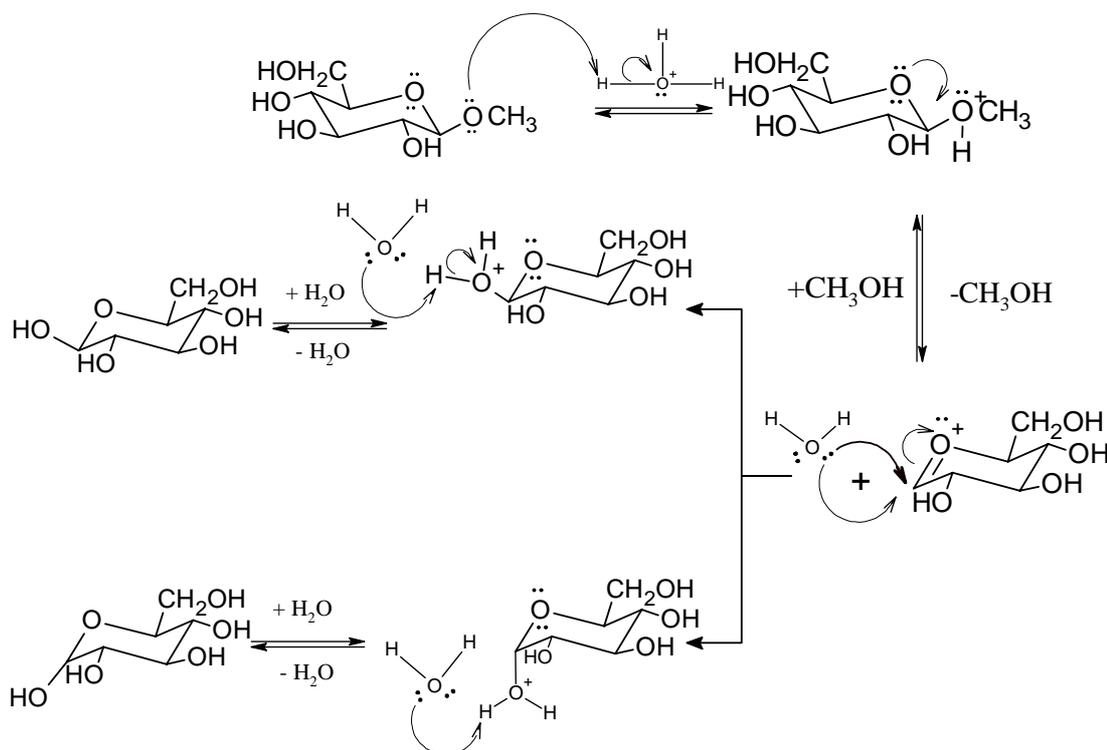


**Figura 12.** Estrutura do Geraniol- $\beta$ -D-glicopiranosídeo encontrado em *Pelargonium odoratissimum*.

Na última década, os constituintes voláteis ligados glicosidicamente começaram a ser estudados, e sua importância foi ressaltada porque estes voláteis ligados em tecidos de frutas, após sua liberação por hidrólise

enzimática, aumentam o rendimento dos compostos voláteis e servem como um mecanismo controlado de liberação dos voláteis, durante o amadurecimento[7].

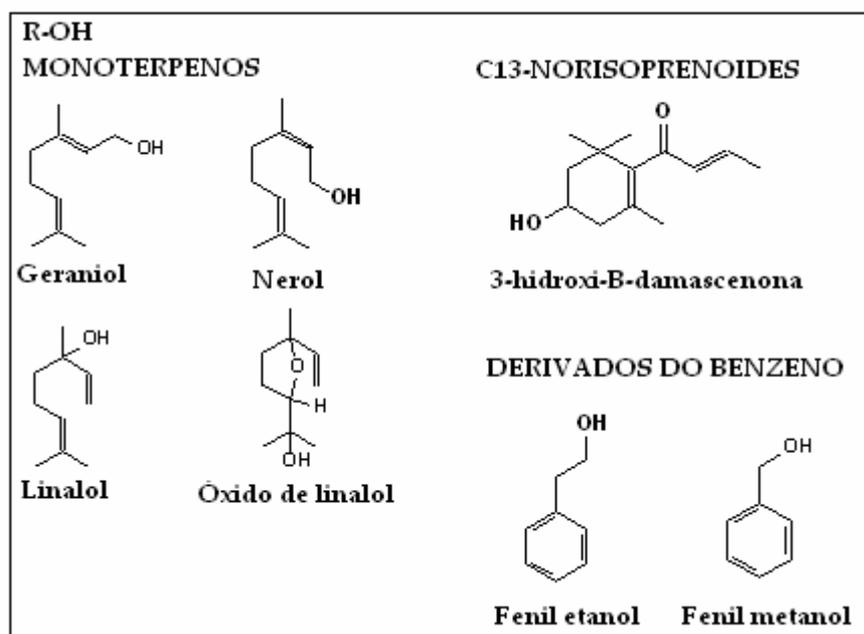
Os aromas glicosilados são uma importante classe de precursores dos compostos voláteis, que estão sendo isolados de frutas como: uva[39-41], morango[42], maracujá[43], manga[44] e abacaxi[45]. Muitos estudos tem demonstrado que os aromas ligados glicosidicamente podem ser considerados a origem do aroma e podem ser liberados, em escala laboratorial, tanto por hidrólise ácida quanto enzimática similarmente às reações químicas que ocorrem durante a maturação do fruto. [40,46-48]. A reação de liberação das agliconas são similares a reação da Figura 11[49].



**Figura 13.** Reação de liberação da aglicona via hidrólise ácida.

As agliconas geralmente são monoterpenos, C<sub>13</sub>-norisoprenóides e derivados do benzeno. Alguns álcoois de cadeia linear também tem sido detectados. As estruturas mais abundantes das agliconas são mostradas na Figura 14[50].

As técnicas utilizadas para o isolamento dos glicosídeos de voláteis vegetais geralmente envolve a retenção seletiva do glicosídeo do extrato aquoso em adsorventes hidrofóbicos: C<sub>18</sub> (fase reversa) ou Amberlite XAD-2. Os glicosídeos recuperados são analisados por diferentes técnicas cromatográficas: CCD, CLAE e CG, analisando-se diretamente o glicosídeo ou a aglicona obtida através de uma hidrólise ácida ou enzimática. Para identificação utiliza-se CG-EM e CLAE-EM/EM[50].



**Figura 14.** Estruturas mais comumente encontradas na forma de glicosídeos em plantas.

A hidrólise ácida depende do pH, da temperatura do meio e da estrutura da aglicona. Glicosídeos de álcoois terciários como linalol, óxidos

de linalol e  $\alpha$ -terpineol são hidrolizados mais rapidamente que os álcoois primários como geraniol e nerol[50].

Na hidrólise enzimática a  $\beta$ -glicosidase é a enzima mais comumente utilizada para hidrólise de  $\beta$ -glicosídeos. Os principais fatores físicos que afetam a ação enzimática são as concentrações relativas da enzima e do substrato, o pH e a temperatura. As enzimas são apenas eficazes ao longo de faixas específicas de pH características da enzima e para a  $\beta$ -glicosidase essa faixa de pH varia de pH 4 – 6. Estas faixas geralmente correspondem ao pH do ambiente no qual a enzima ocorre e fora desta faixa, a enzima pode sofrer desnaturação irreversível com a perda subsequente de atividade. Inicialmente, um aumento da temperatura geralmente resultará num aumento da velocidade de uma reação controlada por enzimas. No entanto, as enzimas são sensíveis à temperatura, e quando esta aumenta além de um certo ponto, a proteína desnatura-se irreversivelmente e a enzima torna-se inativa. Normalmente, a faixa de temperatura de operação de uma enzima corresponderá aproximadamente àquela de seu ambiente normal[50,51].

Na literatura são encontrados vários trabalhos que utilizam a  $\beta$ -glicosidase para realização da hidrólise enzimática destes glicosídeos, podendo-se citar o trabalho desenvolvido por Boulanger e Crouzet[52], que identificaram os componentes do aroma da acerola na forma livre e na forma ligada glicosidicamente. Para o isolamento, utilizaram a resina Amberlite XAD-2 (20-60mesh) e inicialmente, eluíram a fração livre com uma mistura de pentano/diclorometano 2:1 (V/V), concentraram e identificaram por CG-EM, os compostos livres também foram identificados pela técnica do SDE. Na fração livre, identificaram 46 compostos, dos quais 16 foram identificados pela primeira vez na polpa de acerola, os compostos mais abundantes foram os álcoois alifáticos e os mais abundantes foram: 3-metil-3-buten-1-ol, 3-metil

buten-1-ol e 2-metil buten-1-ol. A fração glicosídica foi eluída com metanol, concentrada e então realizada a hidrólise enzimática com a mistura de hemicelulase REG02 e glicosidade em pH=5. Após hidrólise os voláteis foram analisados por CG-EM e dos 42 compostos identificados, 17 já haviam sido identificados na forma livre. Os álcoois foram os compostos mais importantes e o 3-metil-3-buten-1-ol foi o mais abundante.

## 2.4 Métodos de separação

### 2.4.1 Cromatografia gasosa

A cromatografia é um poderoso método de separação que encontra aplicação em vários ramos da ciência. Foi inventada pelo botânico russo Mikhail Tswett no início do século 20. Ele empregou a técnica para separar vários pigmentos de plantas como clorofila e xantofila, passando soluções desses componentes através de uma coluna de vidro empacotada com carbonato de cálcio finamente dividido. As espécies separadas apareciam como bandas coloridas na coluna, o que colaborou para a escolha do nome do método ( em grego *chroma* significa cor e *graphein* significa escrever)[53].

As aplicações da cromatografia cresceram de modo significativo nos últimos cinquenta anos e isto se deve não somente ao desenvolvimento de vários novos tipos de técnicas cromatográficas, mas também à necessidade crescente de melhores métodos para separar misturas complexas[53].

A cromatografia compreende um grupo diversificado e importante de métodos que permitem separar componentes muito semelhantes de misturas complexas, que utilizando outros métodos essas separações seriam inviáveis. A cromatografia pode ser definida como um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, que estão em contato

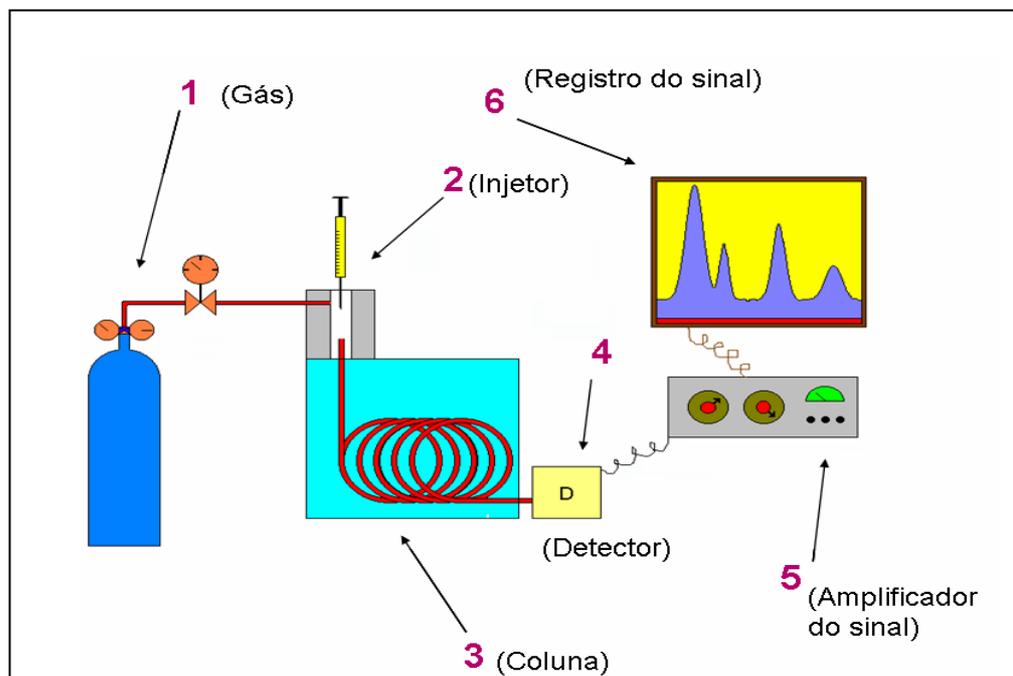
intimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra move-se através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes[53,54].

Dentre os diversos tipos de cromatografia encontrado na literatura, a cromatografia gasosa é utilizada para a separação dos compostos voláteis, obtidos numa etapa do isolamento[7].

Esta técnica é utilizada para a separação dos compostos volatilizáveis. A separação baseia-se na diferente distribuição das substâncias da amostra entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa)[55].

As unidades fundamentais de um sistema de cromatografia gasosa são[56]:

- Gás de arraste;
- Injetor;
- Coluna;
- Controle de temperatura;
- Detector;
- Tratamento e registro dos dados .



**Figura 15.** Esquema representativo de um cromatógrafo gasoso.

Neste processo, a amostra é introduzida, através de um sistema de injeção, em uma coluna contendo a fase estacionária. O uso de temperaturas adequadas no local de injeção da amostra e na coluna possibilita a vaporização destas substâncias que, de acordo com suas propriedades e a fase estacionária, são eluidas por tempos determinados e chegam à saída da coluna em tempos diferentes. O uso de um detector adequado na saída da coluna torna possível a detecção e quantificação destas substâncias (Figura 15)[54].

A cromatografia gasosa é uma técnica com alto poder de resolução, tornando possível, muitas vezes, a análise de centenas de substâncias de uma mesma amostra. Um dos principais motivos que tornam a cromatografia gasosa de uso bastante acentuado é a sua sensibilidade, requerendo apenas quantidades pequenas de amostra, o que em certos casos, é um fator crítico e limita a utilização de outras técnicas[54].

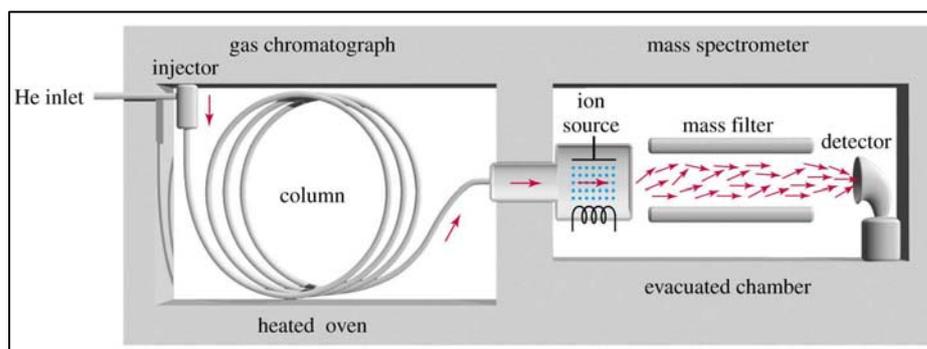
## 2.5 Técnicas de identificação

### 2.5.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

A cromatografia gasosa frequentemente esta acoplada a técnicas seletivas de espectroscopia e eletroquímica, gerando os assim chamados métodos hifenados que dão ao químico ferramentas poderosas para identificação de componentes de misturas complexas[53].

Para provar a identidade dos componentes de uma mistura a cromatografia gasosa geralmente está associada à espectrometria de massas [56](Figura 16)[54].

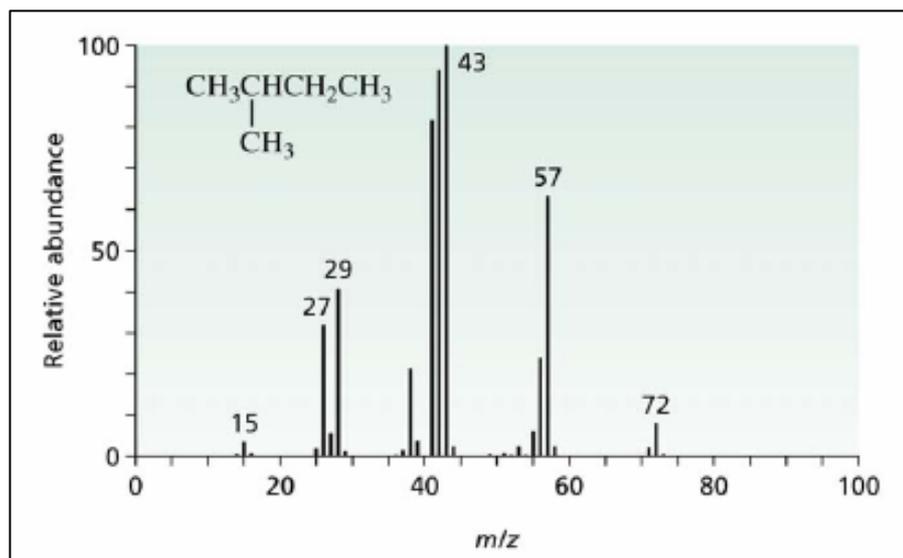
No espectrômetro de massas, no modo impacto de elétrons, as moléculas são bombardeadas com um feixe de elétrons (normalmente 70ev), ionizam-se e quebram-se em muitos fragmentos, alguns dos quais são íons positivos. Cada espécie de íons possui determinado valor da razão da massa/carga, ou valor  $m/z$ [57].



**Figura 16.** Esquema geral de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Analisa-se o conjunto de íons por obter-se um sinal para cada valor de  $m/z$  que estiver representado. A intensidade de cada sinal traduz a abundância relativa do íon que o produz. O pico mais intenso chama-se pico

base e as intensidade de vários picos exprimem-se numa escala relativa, em que se dá o valor 100 ao pico de base. Chama-se espectro de massas ao gráfico ou mesmo tabela em que se mostrem as intensidade relativas dos sinais correspondentes ao vários valores de  $m/z$  o qual é uma característica altamente individualizada dos compostos[57] (Figura 17).



**Figura 17.** Modelo de espectro de massas obtido após análise por CG-EM.

### 2.5.2 Índice de retenção (IR)

Com a tecnologia disponível atualmente, ainda não é possível identificar inequivocamente alguns compostos voláteis pela simples análise de seus espectros de massas. Devido a isso, a utilização de tempos de retenção ainda é uma ferramenta auxiliar útil, principalmente após o surgimento das colunas capilares com fases quimicamente ligadas, o que permitiu a obtenção de tempos de retenção mais reproduzíveis. Portanto, a identificação dos componentes do voláteis através de índice de retenção/espectrometria de massas/busca algorítmica computadorizada tornou-se um processo mais seguro[11].

O sistema de índice de retenção (IR) mais utilizado é aquele baseado na modificação de van den Dool & Kratz para interpolação linear entre padrões. Os padrões utilizados são hidrocarbonetos alifáticos de cadeia linear ou ésteres etílicos de ácidos graxos de cadeia alifática normal, sendo os índices calculados de acordo com a equação 1 [11]:

$$IR = 100i \times \left[ \frac{t_{RX} - t_{RHA}}{t_{RHD} - t_{RHA}} \right] + 100N$$

$t_{RX}$  – tempo de retenção do compostos X

$t_{RHA}$  – tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes do composto (X)

$t_{RHD}$  – tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois do composto (X)

$i$  – diferença entre o número de carbonos que elui antes (HA) e depois (HD)

$N$  – número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes (HA)

Este método é, sem dúvida adequado como uma ferramenta de confirmação de identificação quando associado com CG-EM[11], principalmente quando existem espectros de massas similares quando comparado ao da literatura, no entanto seus índices de retenção são bastante diferentes.

## CAPITULO III

---

*Hancornia speciosa* Gomes

### **3. *Hancornia speciosa* Gomes**

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), pertence a família Apocynaceae, é uma árvore frutífera de clima tropical, nativa do Brasil e encontrada em várias regiões do país, desde os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do nordeste, onde é mais abundante, até os cerrados do centro-oeste [58]. A árvore é de porte médio, possuindo de 2 a 10 m de altura, podendo chegar a até 15 m dotada de copa irregular, tronco tortuoso, bastante ramificado e áspero; ramos lisos e avermelhados. Os frutos são do tipo baga elipsóide ou arredondado, com 2 a 6cm de diâmetro, cor amarela ou esverdeada, com ou sem pigmentação vermelha, polpa branca, mole e fribosa que recobre 2 a 15 sementes. Quando maduro, o fruto tem casca amarelada com manchas avermelhadas, é aromático, saboroso, nutritivo e bastante perecível[59]. Em estágio de maturação verde, apresenta uma alta concentração de látex, que vai diminuindo à medida que o fruto amadurece. Na medicina popular, o látex é usado no tratamento de tuberculose e de desordem gástrica [60].

O fruto da mangabeira é constituído de polpa (77 %), casca (11%) e semente (12%). No entanto, apenas a polpa assume posição de destaque no aspecto comercial apresentando um bom valor nutritivo, com teor protéico (0,7g/100g de polpa)[58]. A quase totalidade dos frutos colhidos no país se dá na forma extrativista, sendo os estados da Paraíba, Bahia e Sergipe os maiores produtores do país[61].

O potencial para o aproveitamento da mangabeira é bastante variado, entretanto, apenas os frutos apresentam um valor comercial significativo. No nordeste, é uma das mais requisitadas produtoras de matéria-prima para a indústria entre as frutas nativas da região, devido aos excelentes aroma e sabor dos seus frutos, sendo utilizada, sobretudo , para fabricação de sucos e polpas congeladas. Além dessas formas, o fruto da mangabeira ainda é

consumido *in natura* e utilizado para a fabricação de doces, compotas, geléias, licores, xarope [58].

O estudo sobre a composição química dos voláteis dos frutos de *H. speciosa* são escassos, e um único estudo foi publicado em 2006 por Sampaio e Nogueira[60], usando a técnica da hidrodestilação para o isolamento dos voláteis. No entanto, esta técnica apresenta como principal desvantagem a utilização de altas temperaturas podendo acarretar degradações ou modificações químicas dos constituintes voláteis [47]. Visando representar mais fielmente o aroma de uma determinada matriz, busca-se a utilização de técnicas que sejam mais brandas, as quais extraem a fração volátil sem necessariamente destruí-la[15]. Desta forma, este trabalho é o primeiro relato sobre a composição química dos voláteis dos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação utilizando, principalmente, as técnicas do *headspace* dinâmico e SPME.



**Figura 18.** Fotos de frutos de mangaba.

## CAPITULO IV

---

### Objetivos

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

Determinar a composição química dos voláteis presentes nos frutos de *Hancornia speciosa* Gomes nos três estádios de maturação: verde, “de vez” e maduro e na polpa industrializada utilizando vários métodos de amostragem.

### 4.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar a composição dos voláteis dos frutos de *H. speciosa* e da polpa industrializada obtidos por diferentes técnicas de extração: hidrodestilação, *headspace* dinâmico, extração em fase sólida e microextração em fase sólida;
- ✓ Comparar a composição química dos voláteis obtidos da polpa industrializada com aqueles do fruto maduro de *H. speciosa*, por diferentes métodos de extração;
- ✓ Estudar os compostos ligados glicosidicamente dos frutos de *H. speciosa* por hidrólise ácida e hidrólise enzimática.

# CAPITULO V

---

## **Materiais e Métodos**

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

Os frutos de *Hancornia speciosa* nos três estádios de maturação foram coletados em pomares na região do Abais, no município de Estância-SE e as polpas industrializadas dos frutos foram adquiridas em supermercados da cidade de Aracaju-SE.

Os compostos voláteis foram extraídos pelas técnicas: hidrodestilação, *headspace* dinâmico, microextração em fase sólida (SPME) e extração na fase sólida (SPE).

A determinação dos compostos voláteis glicosidicamente foi realizada tanto por hidrólise ácida quanto enzimática.

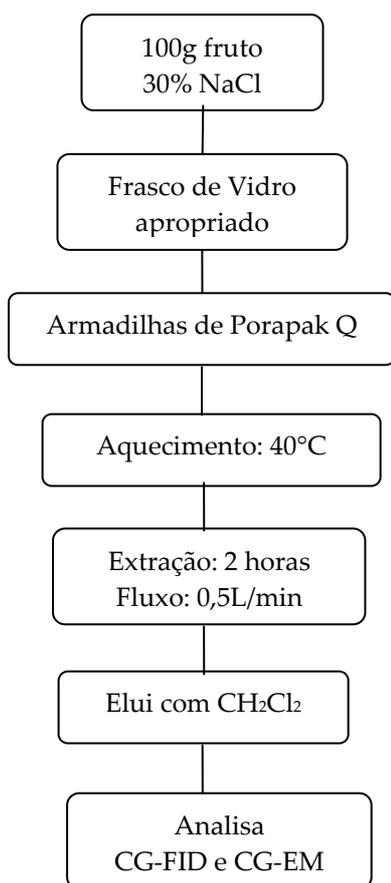
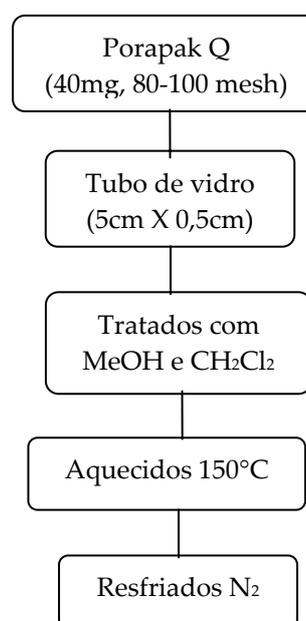
### 5.1 Hidrodestilação[11]

Para realização da hidrodestilação, utilizou-se uma aparelhagem do tipo Clevenger. Neste procedimento, 200g do fruto de *H. speciosa* triturados foram transferidos para balão de fundo redondo (1.000 mL), adicionou-se 500mL de água destilada. Em seguida, o sistema foi aquecido à temperatura de ebulição da água por 3 hora. Os compostos voláteis foram arrastados junto com o vapor de água e posteriormente condensados. Os voláteis foram extraídos da fase aquosa com solvente orgânico ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  3x10mL). A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e cuidadosamente concentrada em fluxo de  $\text{N}_2$  para volume final <0,5mL e posteriormente analisadas em CG-FID e CG-EM.

### 5.2 *Headspace* Dinâmico[11]

Para extração dos compostos voláteis pela técnica de *headspace* dinâmico, 100g de frutos foram triturados e adicionados 30% em peso de NaCl e transferidos para frasco de vidro e em seguida o sistema foi aquecido à 40°C. Porapak Q, (ca 40mg de porapak Q, Supelco 80-100 mesh) colocados

em tubos de vidro ( 5cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro) com extremidades fechadas com lã de vidro silanizada, os quais foram previamente condicionadas com álcool metílico (Merck) e diclorometano (Merck) aquecidos à 150°C sob vácuo e resfriados em fluxo de N<sub>2</sub>, foi usado como adsorvente. Um fluxo de ar atmosférico (0,5mL/min) foi passado através do frasco contendo a amostra, e os voláteis capturados foram eluídos do polímero com 1mL de diclorometano (Merck) e analisados por CG-FID e CG-EM.

**Extração dos voláteis:****Tratamento do adsorvente:**

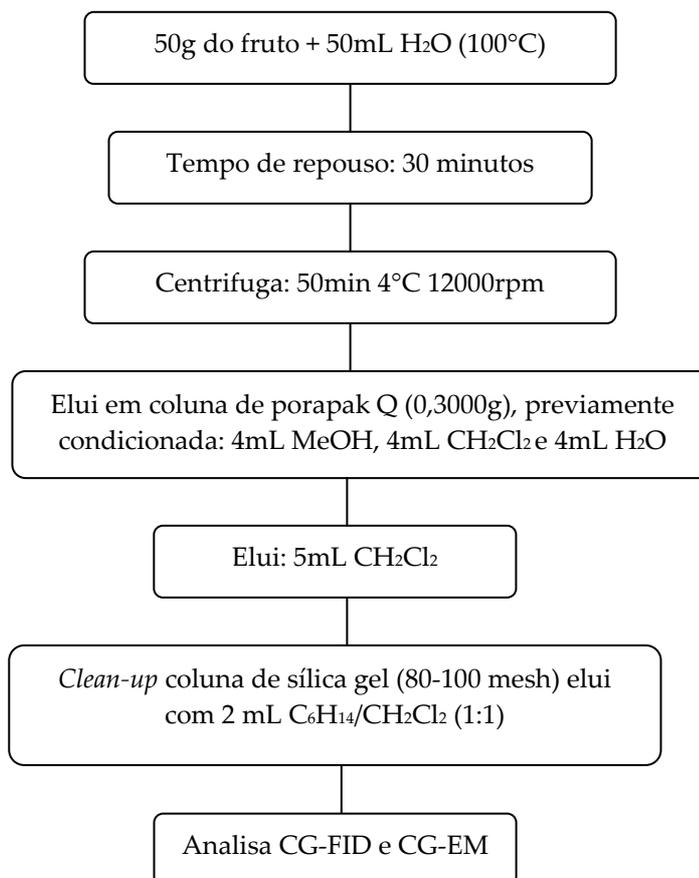
**Figura 19.** Fluxogramas do procedimento de extração dos voláteis de *H. speciosa* por *headspace* dinâmico.

### 5.3 Microextração em fase sólida[11,62]

Em um frasco de 10 mL, foram adicionados: 1,0 g do fruto, 6,0 mL de água destilada e 30% em peso de NaCl. O frasco foi vedado com septo de borracha e aguardou-se por 15 minutos a temperatura ambiente. A fibra SPME, coberta com 100µm PDMS (Supelco) foi exposta no “headspace” por um tempo previamente determinado. Após esse período a fibra foi recolhida e em seguida inserida no injetor do CG-EM, através de “liner” próprio por 4 minutos à 250°C para completa dessorção térmica.

### 5.4 Extração em fase sólida [63]

Inicialmente preparou-se uma infusão de 50g do fruto de *H. speciosa* com 50mL de água destilada à 100°C e aguardou-se 30 minutos, centrifugou-se (Centrifuga – Beckman Coulter) por 5 minutos a 12000rpm à 4°C. Eluiu-se o sobrenadante em coluna (5cm de comprimento e de 0,8cm diâmetro interno) empacotada com porapak Q (ca. 0,3000g, Porapak Q, Supelco 80-100 mesh) previamente condicionada com 4,0 mL de diclorometano, 4,0 mL de álcool metílico e 4,0 mL de água. Os compostos de interesse foram recuperados com 5,0 mL de diclorometano e secos com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Para *clean-up* utilizou-se sílica gel (Merck, 80-100 mesh) e os compostos foram eluídos com mistura de hexano/diclorometano 1:1 e analisado por CG-FID e CG-EM.



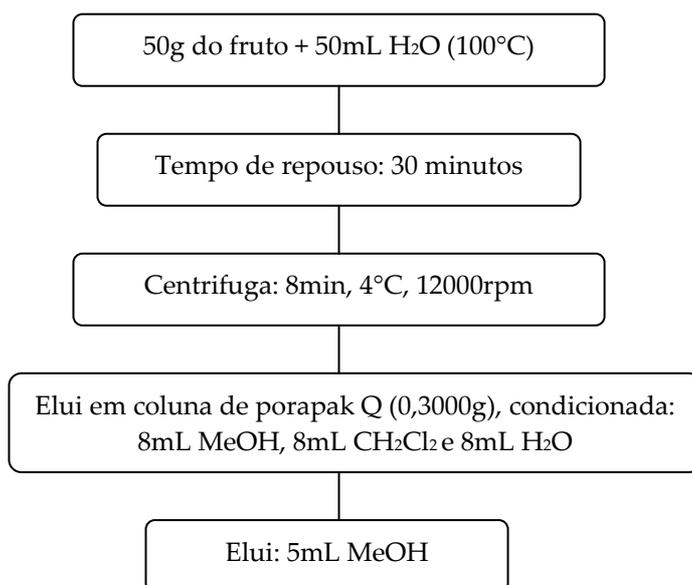
**Figura 20.** Fluxograma do procedimento de extração dos voláteis de *H. speciosa* por SPE.

### 5.5 Hidrólise ácida [43,63]

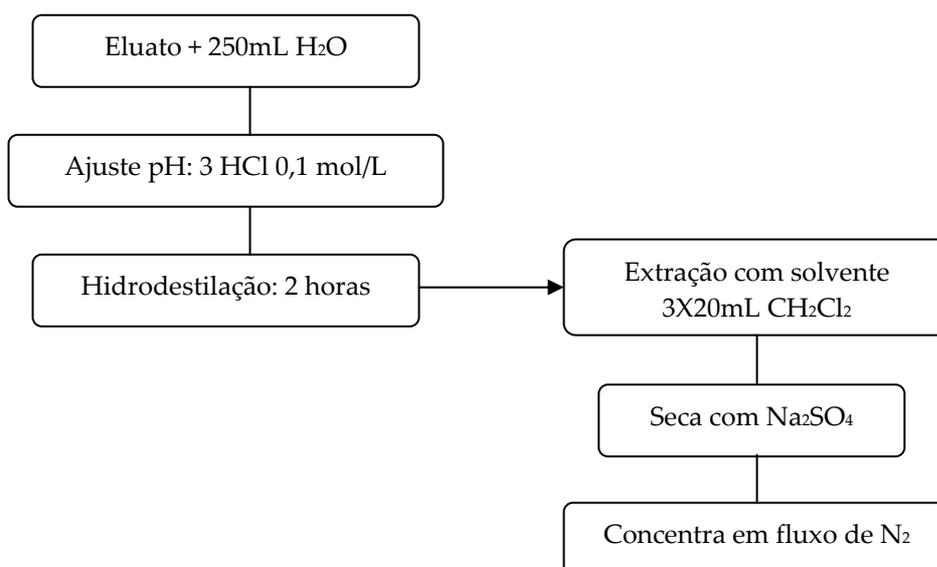
Preparou-se uma infusão de 50g dos frutos de *H. speciosa* com 50mL de água à 100°C. Após 30 minutos, a mistura de fruto e água foram centrifugados ( Centrifuga – Beckman Coulter) por 8 minutos (12000rpm á 4°C). O sobrenadante foi eluido em coluna empacotada com Porapak Q ( ca. 0,3000g, Porapak Q, Supelco 80-100 mesh), previamente condicionada com 8mL de diclorometano, 8mL de metanol e 8mL de água destilada. Os compostos de interesse foram recuperados com 5mL de metanol. Ao eluato, adicionou-se 250mL de água destilada e ajustou-se o pH=3 com solução de HCl 0,1mol/L e realizou-se hidrodestilação por 2 horas. O hidrodestilado foi

extraído com solvente orgânico ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  3x20mL) A fase orgânica foi seca com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e cuidadosamente concentrado em fluxo de  $\text{N}_2$  para volume final <0,5mL (Figura 21) e posteriormente analisados por CG-EM.

#### a) Isolamento da fração ligada



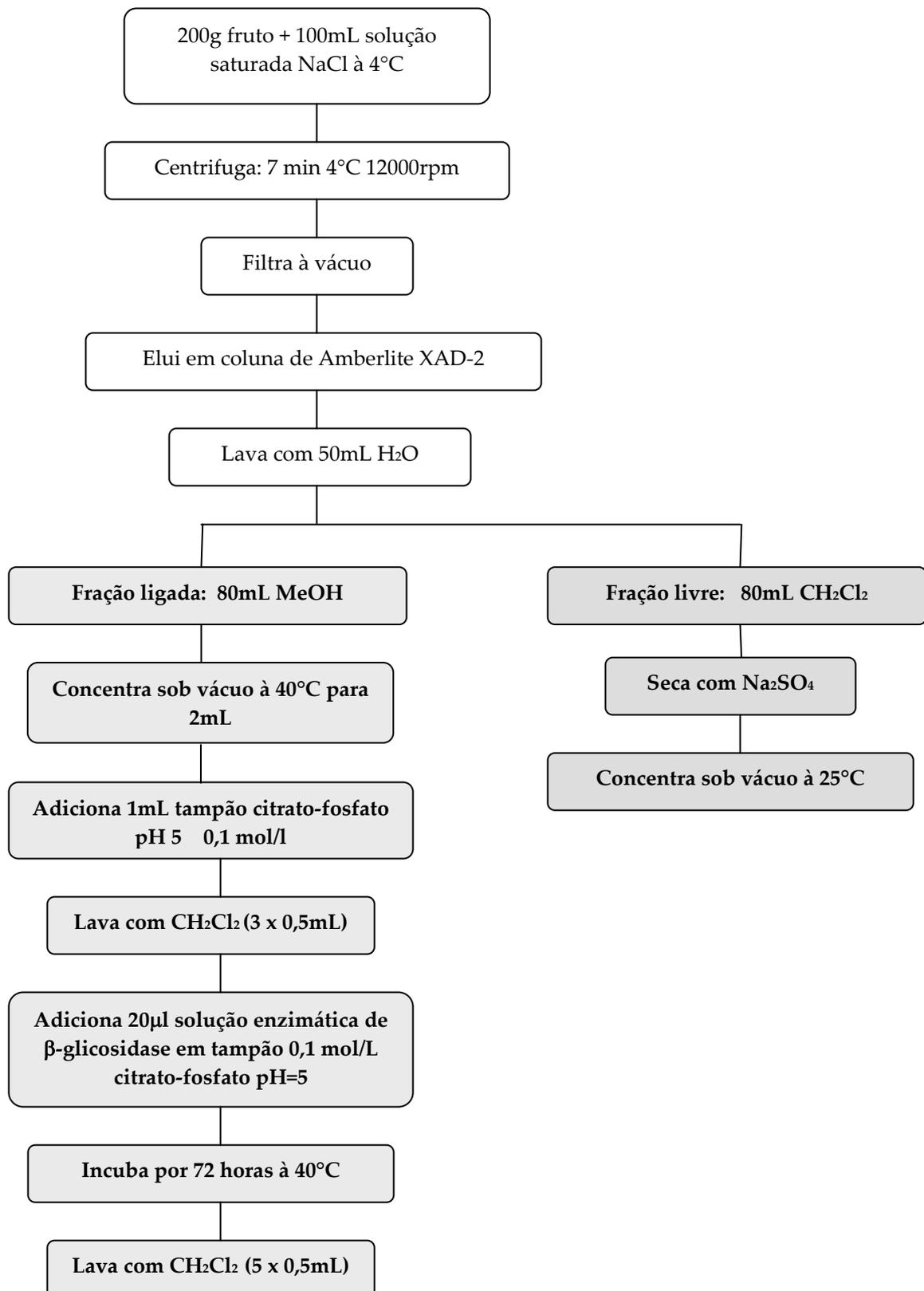
#### b) Hidrodestilação



**Figura 21.** Fluxograma do procedimento para liberação dos voláteis de *H. speciosa* via hidrólise ácida (a) Isolamento da fração ligada; (b) Hidrodestilação.

## 5.6 Hidrólise enzimática [39, 46]

Para realização da hidrólise enzimática, inicialmente condicionou-se a resina Amberlite XAD-2 (Supelco) lavando-a sucessivamente com metanol, acetonitrila e éter dietílico, durante 8 horas cada solvente. Em seguida a resina armazenada em metanol, de acordo com o procedimento de Gunata<sup>[37]</sup>. A Amberlite XAD-2 suspensa em metanol foi transferida para uma coluna de vidro (30cm de comprimento x 1,5 cm de diâmetro interno) a qual foi empacotada com aproximadamente 16 cm de resina. Antes da eluição da amostra, a coluna foi lavada com 25 mL de metanol e 25mL éter dietílico e 50mL de água. Depois elui-se 200mL do suco *H. speciosa*, fluxo de 2mL/min, preparado previamente com 200g de fruto suspenso em 100mL de uma solução saturada de NaCl à 4°C, que foram centrifugados 7min à 4°C e 12000rpm e o sobrenadante filtrado à vácuo. Após eluição do suco de *H. speciosa*, a coluna foi lavada com 50mL de água para eliminação de açúcares, ácidos e outros compostos solúveis em água. A fração livre foi eluída com 80mL de diclorometano, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado em evaporador rotatório à 25°C e em seguida analisadas por CG-EM. A fração ligada glicosidicamente foi eluída com 80mL de metanol, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado em evaporador rotatório à 40°C até volume final de 2mL. Posteriormente, adicionou-se 1mL de solução tampão 0,1mol/L de citrato-fosfato pH=5, lavou-se a mistura com diclorometano (5 x 0,5mL). Subseqüentemente, 20 µL de uma solução enzimática (β-glicosidase 25mg/mL em tampão 0,1 mol/L citrato-fosfato pH=5) foi adicionada à solução contendo a fração ligada, que foi misturada em vortex. O frasco contendo a mistura foi selado e encubado à 40°C por 72 horas. As agliconas liberadas foram extraídas com diclorometano (5 x 0,5mL), concentradas sob leve fluxo de N<sub>2</sub> e analisadas por CG-EM.

**Isolamento da fração livre e fração ligada**

**Figura 22.** Fluxogramas do procedimento para liberação dos voláteis de *H. speciosa* via hidrólise enzimática.

## 5.7 Análise Cromatográfica (CG e CG-EM)

As análises cromatográficas foram realizadas com um cromatógrafo em fase gasosa de alta resolução com detector de espectrometria de massas (CG/EM), modelo QP5050A, Shimatsu, equipado com coluna capilar de sílica fundida ZB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). A programação de temperatura para coluna foi: início a 40°C, mantida por 4 minutos, taxa de crescimento de 10°C/min até 60°C, outra taxa de 4°C/min até 200°C. As temperaturas do injetor e detector foram: 250°C e 280°C, respectivamente. O injetor foi operado no modo split razão 1:30 e volume de injeção 0,5µL. O EM foi operado à 70eV com 0,5 scans/seg e uma varredura de 40-500m/z. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção de amostra com padrão de hidrocarbonetos lineares de C<sub>10</sub> – C<sub>18</sub> (os índices de retenção de 700-999 foram obtidos por extrapolação). A porcentagem de composição de cada componente foi determinada pela área do componente dividida pela área total de todos os componentes isolados na amostra, sob uma mesma condição obtidos por CG-FID, que foi operado sob as mesmas condições descritas para o CG-EM.

A identificação dos compostos foi feita através de índice de retenção (IR)[64] e comparação dos espectros de massas obtidos com banco de espectros NIST e outros espectros da literatura[65].

Para o cálculo do índice de retenção utilizou-se a seguinte fórmula[64]:

$$IR = 100i \times \left[ \frac{t_{RX} - t_{RHA}}{t_{RHD} - t_{RHA}} \right] + 100N$$

$t_{RX}$  – tempo de retenção da amostra X

$t_{RHA}$  – tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes (HA)

$t_{RHD}$  – tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois (HD)

i – diferença entre o número de carbonos que elui antes (HA) e depois (HD)

N – número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes (HA)

# CAPITULO VI

---

---

## Resultados e Discussão

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos voláteis dos frutos e da polpa industrializada de *H. speciosa* foram obtidos através de diferentes técnicas de amostragem e identificados através de CG-FID e CG-EM. As técnicas utilizadas para o isolamento foram principalmente a hidrodestilação, *headspace* dinâmico e SPME. Os resultados foram organizados de acordo com a técnica de extração estudada bem como pelo estágio de maturação do fruto (verde, “de vez”, maduro) e polpa industrializada.

Os estádios de maturação dos frutos de *H. speciosa* foram definidos de acordo com o trabalho de Alves [66]. Desta forma, os frutos verdes eram aqueles que apresentavam a casca verde, os frutos “de vez” apresentavam a casca verde-amarelada e os frutos maduros aqueles com a casca amarela avermelhada.

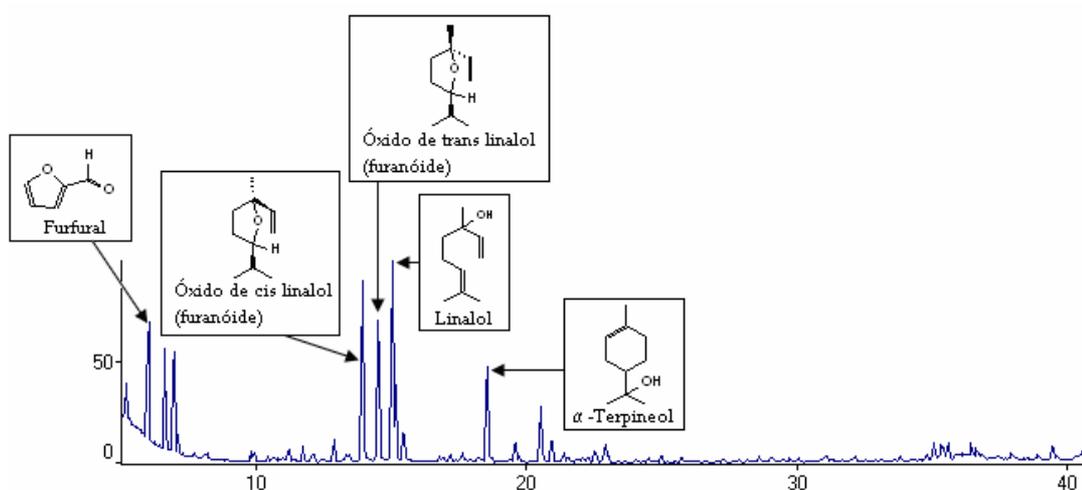
### 6.1 Hidrodestilação

A primeira técnica utilizada para o isolamento dos voláteis dos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação e na polpa industrializada foi a hidrodestilação. Apesar de ser uma técnica que utiliza aquecimento, o que pode gerar artefatos, ela é ainda extensivamente utilizada para determinação de compostos voláteis em material vegetal, pois compreende uma análise de quase todos os compostos voláteis presentes na amostra[7].

Estas análises foram realizadas em quintuplicata e a composição dos voláteis estão apresentadas nas Tabelas 3-6. Nas replicatas realizadas não foi verificado variações significativas na composição dos voláteis, apenas pequenas variações na percentagem relativa de cada componente.

### 6.1.1 FRUTO VERDE

Nas amostras do fruto verde dos 39 compostos identificados (97,8-99,9% do total) (Figura 23, Tabela 3), a classe de compostos mais abundantes foram os monoterpenos oxigenados, sendo os componentes majoritários linalol (13,8-24,6%), óxido de *cis* linalol (9,9-17,3%), óxido de *trans* linalol (7,4-11,1%),  $\alpha$ -terpineol (6,7-12,1%), geraniol (5,0-7,9%) e hotrienol (4,3-7,7%). Outras classes de compostos como aldeídos, representado principalmente pelo furfural (6,0-14,5%), hexanal (4,3-6,0%), (2*E*)-hexenal (0,6-1,4%); álcoois, representados pelo 2-fenil etanol (3,7-15,6%) e (3*Z*)-hexenol (0,4-1,9%) também foram identificados.



**Figura 23.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa*, obtidos pela técnica de hidrodestilação.

**Tabela 3.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de hidrodestilação.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD
1	808	800	Hexanal	4,8	4,3	5,7	4,3	6,0	5,0±0,8
2	834	830	Furfural	11,0	6,0	14,5	6,9	6,0	8,8±3,8
3	849	854	(2 <i>E</i> )-Hexenal	1,2	1,3	1,3	1,4	0,6	1,2±0,3
4	851	859	(3 <i>Z</i> )-Hexenol	0,4	1,9	0,4	0,8	0,5	0,8±0,6
5	859	845 <sup>[60]</sup>	2-Propil furano	0,2	0,1	0,1	0,1	0,7	0,2±0,3
6	863	867	Hexanol	0,3	0,8	0,7	0,8	-	0,5±0,3
7	891	899	Heptanal	tr	tr	tr	tr	tr	tr

8	896	910	2-Acetil furano	0,2	0,2	0,3	0,2	-	0,2±0,1
9	948	956 <sup>[67]</sup>	(2E)-Heptenal	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2±0,1
10	953	961	Benzaldeído	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2±0,04
11	976	978	1-Octen-3-ol	tr	tr	tr	tr	tr	tr
12	994	998 <sup>[67]</sup>	(2E, 4Z)-Heptadienal	0,1	0,1	0,4	0,5	0,2	0,3±0,2
13	1009	1009 <sup>[67]</sup>	(2E, 4E)-Heptadienal	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4±0,05
14	1002	1001	Octanal	tr	tr	tr	tr	tr	tr
15	1041	1043	Benzeno acetaldeído	1,3	0,8	0,9	0,3	0,8	0,8±0,3
16	1056	1060 <sup>[67]</sup>	(2E)-Octenal	0,3	0,3	0,4	-	0,2	0,2±0,1
17	1069	1074	Óxido de <i>cis</i> linalol (furanóide)	13,8	17,3	9,9	13,2	13,7	13,6±2,6
18	1085	1088	Óxido de <i>trans</i> linalol (furanóide)	10,5	13,0	7,4	9,4	11,1	10,3±2,1
19	1099	1098	Linalol	15,3	15,8	18,8	24,6	13,8	17,7±4,3
20	1102	1101 <sup>[68]</sup>	Hotrienol	4,5	7,7	4,3	6,5	6,3	5,9±1,4
21	1104	1101	Nonanal	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2±0,05
22	1111	1110	2-Fenil etanol	15,6	8,1	9,9	3,7	8,7	9,2±4,3
23	1147	1148	Neoisopulegol	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2±0,1
24	1158	1162 <sup>[67]</sup>	(2E)-Nonenal	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1±0,04
25	1168	1174	Óxido de <i>cis</i> linalol (piranóide)	0,2	0,2	0,2	0,1	0,4	0,2±0,1
26	1173	1177	Óxido de <i>trans</i> linalol (piranóide)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,9	0,3±0,4
27	1179	1183	Ácido octanóico	tr	tr	tr	tr	tr	tr
28	1185	1183	<i>p</i> -Cimen-8-ol	2,3	0,5	0,6	0,2	1,0	0,9±0,8
29	1189	1192	Salicilato de metila	0,2	0,2	0,2	0,4	0,6	0,3±0,2
30	1194	1189	$\alpha$ -Terpineol	6,7	10,2	10,0	11,2	12,1	10,0±2,0
31	1150	1158	Nerol	0,9	1,6	1,2	2,4	2,3	1,7±0,7
32	1258	1255	Geraniol	5,2	5,0	6,3	7,9	7,4	6,4±1,3
33	1260	1264	(2E)-Decenal	0,2	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2±0,1
34	1292	1293	(2E, 4Z)-Decadienal	0,9	1,0	1,3	0,9	0,1	0,8±0,4
35	1314	1314	(2E, 4E)-Decadienal	1,0	0,9	1,9	0,9	1,0	1,1±0,4
36	1362	1366 <sup>[67]</sup>	(2E)-Undecanal	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1±0,04
37	1366	1568	Ácido decanóico	0,2	0,2	0,3	0,4	0,6	0,3±0,2
38	1376	1380	$\beta$ -(E)-Damascenona	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2±0,1
39	1566	1568	Ácido dodecanóico	0,8	0,1	1,0	0,9	0,8	0,7±0,3
<b>TOTAL</b>				<b>99,6</b>	<b>99,2</b>	<b>99,8</b>	<b>99,9</b>	<b>97,8</b>	<b>97,8-99,9</b>

IR<sup>C</sup> : índice de retenção calculado

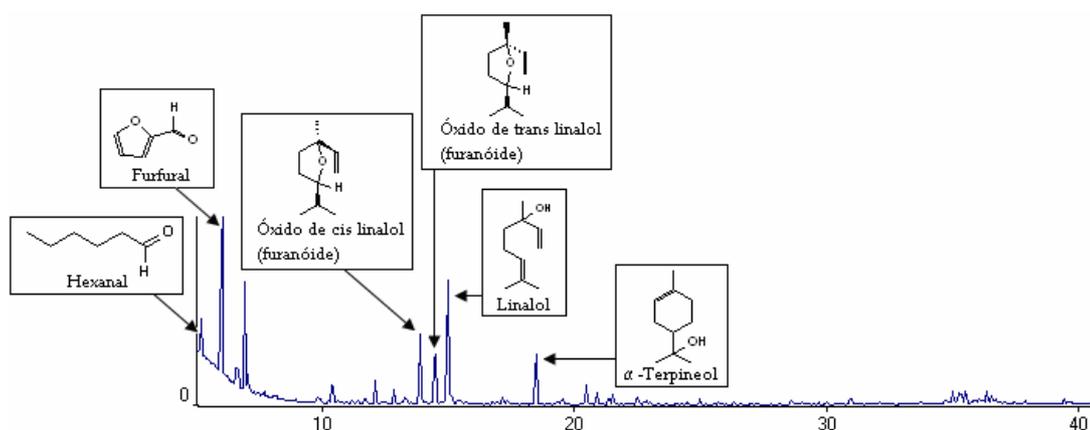
IR<sup>L</sup> : índice de retenção da literatura

tr: traço (<0,1%)

### 6.1.2 FRUTO “DE VEZ”

Na análise da composição química dos voláteis do fruto “ de vez”, foram identificados 34 compostos (Figura 24, Tabela 4) e observou-se a presença dos monoterpenos oxigenados, aldeídos, álcoois e ácido carboxílico.

Os compostos que apresentaram maior abundancia foram o furfural (13,1-45,2%), linalol (10,6-21,9%),  $\alpha$ -terpineol (7,2-11,8%), óxido de *cis* linalol (furanóide) (5,8-10,7%),  $\beta$ -(*E*)-damascenona (6,5-7,8%), óxido de *trans* linalol (furanóide) (3,9-7,4%), hexanal (2,1-8,6%), geraniol (1,9-6,4%), (2*E*, 4*E*)-decadienal (0,6-4,1%) e nerol (0,5-2,8%).



**Figura 24.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica de hidrodestilação.

**Tabela 4.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto de vez de *H. speciosa* obtidos pela técnica de hidrodestilação.

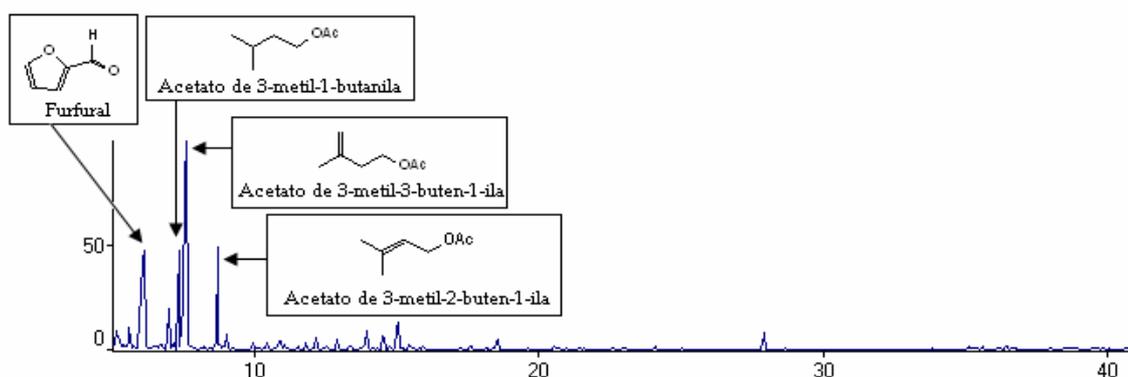
	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD
1	808	800	Hexanal	2,1	4,6	8,6	5,3	7,9	5,7±2,6
2	825	830	Furfural	19,3	45,2	25,1	17,6	13,1	24,1±12,6
3	849	854	(2 <i>E</i> )-Hexenal	0,1	0,8	0,1	0,1	0,1	0,2±0,3
4	851	859	(3 <i>Z</i> )-Hexenol	1,9	1,0	1,4	1,7	2,1	1,6±0,4
5	859	845 <sup>[60]</sup>	2-Propil furano	tr	tr	tr	tr	tr	tr
6	863	867	Hexanol	1,9	0,7	1,2	1,1	1,7	1,3±0,5
7	896	910	2-Acetil furano	0,3	1,4	-	0,2	0,4	0,5±0,5
8	948	956 <sup>[67]</sup>	(2 <i>E</i> )-Heptenal	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2±0,1
9	952	962	5-Metil furfural	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1±0,04
10	953	961	Benzaldeído	0,1	0,3	-	0,1	0,1	0,1±0,1
11	968	-	NI	0,1	0,8	0,1	0,1	0,1	0,2±0,3
12	994	998 <sup>[67]</sup>	(2 <i>E</i> , 4 <i>Z</i> )-Heptadienal	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2±0,1
13	1002	1001	Octanal	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1±0,04
14	1009	1009	(2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- Heptadienal	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2±0,1
15	1011	1008	Acetato de hexenila	0,1	0,1	0,2	0,2	1,2	0,4±0,5
16	1040	1043	Benzeno acetaldeído	0,1	0,4	0,2	0,1	0,2	0,2±0,1
17	1056	1060 <sup>[67]</sup>	(2 <i>E</i> )-Octenal	tr	tr	tr	tr	tr	tr
18	1069	1074	Óxido de <i>cis</i> linalol	10,2	5,8	6,8	10,7	8,1	8,3±2,1

			(furanóide)						
19	1084	1088	Óxido de <i>trans</i> linalol (furanóide)	7,4	3,9	4,8	7,4	5,8	5,9±1,6
20	1098	1098	Linalol	15,8	10,6	15,7	21,9	16,8	16,2±4,0
21	1102	1101 <sup>[68]</sup>	Hotrienol	0,9	0,3	0,9	2,4	0,4	1,0±0,8
22	1103	1098	Nonanal	0,7	0,6	0,4	0,7	0,4	0,6±0,4
23	1157	1162 <sup>[67]</sup>	(2 <i>E</i> )-Nonenal	0,8	0,1	0,4	1,0	0,9	0,6±0,3
24	1163	1166	δ-Terpineol	1,6	0,4	1,1	1,5	0,8	1,1±0,5
25	1168	1174	Óxido de <i>cis</i> linalol (piranóide)	0,4	0,2	0,3	0,4	0,4	0,3±0,1
26	1173	1177	Óxido de <i>trans</i> linalol (piranóide)	0,3	0,1	0,3	0,2	0,5	0,3±0,1
27	1193	1189	α-Terpineol	11,6	7,2	11,7	10,2	11,8	10,5±1,9
28	1222	1228	Nerol	1,8	0,5	1,9	2,8	2,1	1,8±0,8
29	1248	1255	Geraniol	6,4	2,3	5,1	1,9	6,1	4,4±2,1
30	1258	1264	(2 <i>E</i> )-Decenal	0,1	1,0	0,4	0,6	0,9	0,6±0,4
31	1292	1293	(2 <i>E</i> , 4 <i>Z</i> )-Decadienal	0,9	0,1	0,3	0,3	0,4	0,4±0,3
32	1315	1314	(2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- Decadienal	4,1	0,6	1,3	1,1	2,6	1,9±1,4
33	1376	1380	β -( <i>E</i> )-Damascenona	7,3	7,3	8,3	6,5	7,8	7,4±0,7
34	1560	1568	Ácido dodecanoico	0,4	-	0,2	0,3	0,1	0,2±0,1
<b>TOTAL</b>				<b>97,2</b>	<b>97,1</b>	<b>97,5</b>	<b>97,3</b>	<b>93,7</b>	<b>93,7-97,5</b>

NI: Não identificado

### 6.1.3 FRUTO MADURO

A hidrodestilação do fruto maduro permitiu a identificação de 32 compostos ( Figura 25, Tabela 5). A classe de compostos predominantes foram os ésteres, sendo os majoritários: acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (26,7-44,7%), acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (2,6-4,5%), acetato de 3-metil 1-butanila (1,9-4,8%) e acetato de 1-butanila (1,9-3,6%). Entre os aldeídos, os principais foram: furfural (20,2-41,5%) e hexanal (2,1-5,1%). Os monoterpenos também foram identificados no fruto maduro, porém com uma percentagem relativa menor do que aquela apresentada no fruto verde: linalol (1,9-4,8%), óxido de *cis* linalol (1,2-2,8%) e o α-terpineol (0,1-0,4%).



**Figura 25.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa*, obtidos pela técnica de hidrodestilação.

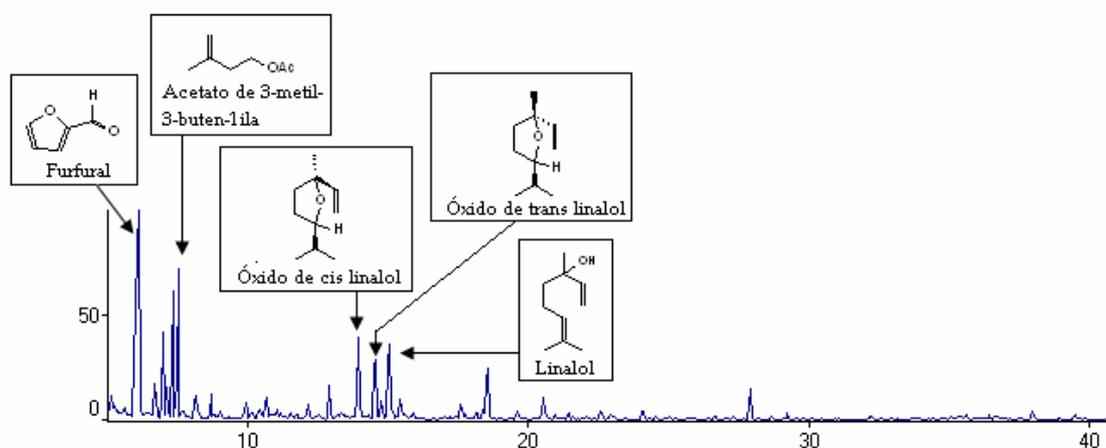
**Tabela 5.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de hidrodestilação.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD
1	800	800	Hexanal	3,7	5,1	2,1	4,6	4,3	3,9±1,5
2	812	812	Acetato de 1-butanila	2,5	2,9	1,9	3,6	2,7	2,7±0,6
3	828	830	Furfural	32,3	27,3	28,1	22,4	20,2	26,1±4,8
4	844	859	(3Z)-Hexenol	0,7	0,6	0,3	0,6	1,0	0,6±0,2
5	852	845 <sup>[60]</sup>	2-Propil furano	2,6	1,2	1,4	0,4	0,7	1,3±0,8
6	857	867	Hexanol	0,4	0,5	0,3	0,5	0,9	0,5±0,2
7	863	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	1,9	3,7	4,1	4,8	2,5	3,4±1,2
8	869	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	31,9	40,1	44,7	42,9	38,7	39,7±4,9
9	904	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	2,6	4,0	4,5	4,2	3,8	3,8±0,7
10	949	962	5-Metil furfural	0,6	0,1	0,2	0,5	0,1	0,3±0,2
11	975	938	Isovalerato de alila	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1±0,04
12	983	987	2-Hidroxi-4-metil-pentanoato de metila	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3±0,04
13	1005	1004	Acetato de (3E)-hexenila	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2±0,04
14	1012	1008	Acetato de hexenila	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2±0,1
15	1021	1024 <sup>[60]</sup>	1,4-Cicloex-2-enadiona	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1±0
16	1041	1043	Benzoacetaldeído	0,9	0,8	0,7	0,6	1,0	0,8±0,2
17	1069	1074	Óxido de <i>cis</i> linalol (furanóide)	1,6	1,2	1,2	1,8	2,8	1,7±0,6
18	1085	1088	Óxido de <i>trans</i> linalol (furanóide)	1,1	0,9	0,8	1,1	1,6	1,1±0,3
19	1094	1091	Benzoato de metila	0,5	-	0,2	0,2	1,5	0,4±0,6
20	1099	1098	Linalol	2,0	2,3	1,9	2,7	4,8	2,7±1,2
21	1104	-	6-Metil-3,5-	0,8	0,6	0,2	0,1	0,6	0,5±0,3

			heptadien-2-ona						
22	1110	1110	2-Fenil etanol	-	0,2	0,3	0,2	0,4	0,2±0,1
23	1159	1162 <sup>[67]</sup>	(2E)-Nonenal	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1±0
24	1169	1170	Benzoato de etila	0,4	1,0	0,2	1,9	0,7	0,8±0,7
25	1190	1190	Salicilato de metila	1,1	0,9	0,8	0,4	2,5	1,1±0,8
26	1194	1189	$\alpha$ -Terpineol	0,4	0,2	0,1	-	0,2	0,2±0,1
27	1223	1228	Nerol	0,2	0,1	0,1	0,1	0,7	0,2±0,3
28	1249	1255	Geraniol	0,8	0,6	0,6	0,9	1,6	0,9±0,4
29	1261	1264	(2E)-Decenal	0,2	0,2	0,2	0,1	0,4	0,2±0,1
30	1349	1356	Eugenol	0,8	0,4	0,3	0,3	0,6	0,5±0,2
31	1376	1380	$\beta$ -(E)-Damascenona	2,4	2,1	1,1	1,2	1,2	1,6±0,6
32	1462	1463	$\gamma$ -Decalactona	1,8	0,9	1,3	1,4	2,4	1,6±0,6
<b>TOTAL</b>				<b>95,2</b>	<b>99,0</b>	<b>98,7</b>	<b>98,2</b>	<b>98,9</b>	<b>95,2-99,2</b>

#### 6.1.4 POLPA INDUSTRIALIZADA

Com relação a composição química dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos por hidrodestilação foi possível identificar 31 compostos (Figura 26, Tabela 6). Observou-se a presença dos ésteres identificados no fruto maduro e dos monoterpenos oxigenados identificados no fruto verde, tais como os óxidos de *cis* e *trans* linalol (furanóide). Os compostos majoritários foram: furfural (26,4-51,7%), hexanal (7,5-16,0%), acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (2,7-6,4%), linalol (2,8-8,2%), óxido de *cis* linalol (furanóide) (2,9-5,7%),  $\alpha$ -terpineol (1,5-5,9%), óxido de *trans* linalol (furanóide) (1,9-6,6%), pentanal (1,9-3,1%), acetato de 3-metil-1-butanila (2,0-3,4%) e heptanol (0,3-8,3%).



**Figura 26.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa*, obtidos pela técnica de hidrodestilação.

**Tabela 6.** Composição percentual relativa dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica de hidrodestilação.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD
1	800	800	Hexanal	7,5	9,1	8,8	16,0	11,3	10,5±3,3
2	807	-	Pentanal	3,1	1,5	2,9	3,5	1,9	2,6±0,8
3	820	812	Acetato de 1- butanila	0,8	0,5	0,1	0,1	0,2	0,3±0,3
4	834	830	Furfural	49,2	50,2	60,9	26,8	32,6	43,9±13,9
5	853	859	(3Z)-Hexenol	1,2	1,5	0,9	2,5	3,1	1,8±0,9
6	860	845 <sup>[60]</sup>	2-Propil furano	2,5	2,0	1,4	0,8	0,2	1,4±0,9
7	865	867	Hexanol	0,8	1,3	0,9	2,8	2,5	1,7±0,9
8	871	876	Acetato de 3-metil- 1-butanila	2,7	2,7	2,0	3,4	2,1	2,6±0,6
9	877	883	Acetato de 3-metil- 3-buten-1-ila	3,8	3,2	2,7	6,4	6,4	4,5±1,8
10	898	910	2-Acetil furano	0,1	0,1	0,1	0,9	0,2	0,3±0,4
11	912	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil- 2-buten-1-ila	0,8	0,8	0,6	0,3	0,5	0,6±0,2
12	950	956 <sup>[67]</sup>	(2E)-Heptenal	0,3	0,5	0,2	0,5	0,1	0,3±0,2
13	953	962	5-Metil furfural	0,7	0,6	0,7	2,7	3,5	1,6±1,4
14	967	969	Heptanol	1,0	1,5	1,3	0,3	2,1	1,2±0,7
15	955	961	Benzaldeído	0,4	0,3	0,2	0,4	0,6	0,4±0,2
16	1011	1009 <sup>[67]</sup>	(2E,4E)- Heptadienal	0,2	0,3	-	-	0,3	0,2±0,1
17	1022	1024 <sup>[60]</sup>	1,4-Cicloex-2- enedione	0,8	0,8	0,8	0,6	0,8	0,8±0,1
18	1043	1043	Benzeno acetaldeído	1,8	1,7	1,8	1,9	1,8	1,8±0,1
19	1070	1074	Óxido de <i>cis</i> linalol (furanóide)	3,7	3,7	2,9	5,7	3,7	4,0±1,0
20	1085	1088	Óxido de <i>trans</i> linalol (furanóide)	2,5	2,3	1,9	3,3	6,6	3,2±1,9
21	1093	1091	Benzoato de metila	0,7	0,6	0,2	0,5	1,3	0,7±0,4

22	1100	1098	<b>Linalol</b>	<b>4,0</b>	<b>4,9</b>	<b>2,8</b>	<b>8,2</b>	<b>2,6</b>	<b>4,5±2,3</b>
23	1081		6-Metil-3,5-heptadien-2-ona	1,6	1,5	0,6	1,3	1,9	1,4±0,5
24	1111	1110	Benzeno etanol	1,0	0,4	0,2	0,2	0,3	0,4±0,3
25	1169	1170	Benzoato de etila	0,8	0,8	0,6	0,5	0,3	0,6±0,2
26	1189	1190	Salicilato de metila	0,8	0,7	0,4	0,6	0,3	0,6±0,2
27	<b>1192</b>	<b>1189</b>	<b>α-Terpineol</b>	<b>2,9</b>	<b>2,9</b>	<b>1,5</b>	<b>5,1</b>	<b>5,9</b>	<b>3,7±1,8</b>
28	1223	1228	Nerol	0,5	0,4	0,3	0,7	0,4	0,5±0,2
29	1255	1255	Geraniol	1,8	1,3	0,9	1,9	1,2	1,4±0,4
30	1261	1261	(2E)-Decenal	0,4	0,4	0,2	0,4	0,7	0,4±0,2
31	1462	1463	γ-Decalactona	0,6	0,8	0,2	0,7	0,9	0,6±0,3
<b>TOTAL</b>				<b>99,5</b>	<b>99,4</b>	<b>99,3</b>	<b>99,3</b>	<b>98,1</b>	<b>98,1-99,5</b>

Comparando os resultados obtidos no desenvolvimento desse trabalho com o trabalho publicado na literatura [60], o qual determinou a composição química dos compostos voláteis dos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação utilizando a técnica da hidrodestilação, notou-se que para o fruto verde, maduro e “de vez” os compostos definidos como majoritários foram os mesmos determinados no desenvolvimento desse trabalho, ocorrendo apenas variações na recuperação de alguns compostos especialmente o linalol, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e furfural, respectivamente.

Essas variações são previsíveis de ocorrer, pois a composição química dos compostos voláteis podem variar de acordo com a época da coleta da amostra, condições climáticas e de solo e o tipo de cultivo, em virtude da influência da temperatura, umidade relativa e a duração total de exposição ao sol[69].

## 6.2 Headspace dinâmico

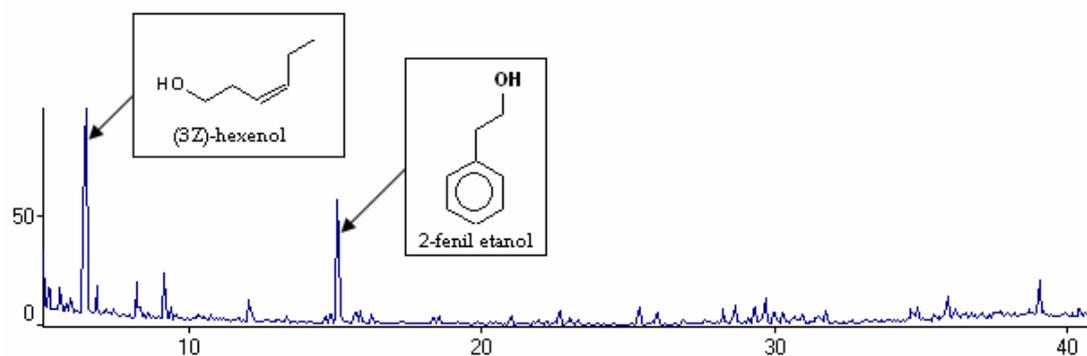
A composição química dos compostos voláteis obtida pela técnica do *headspace* dinâmico nos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação e na polpa industrializada foram realizadas em quintuplicata e os resultados estão apresentados nas Tabelas 7-10.

Nas extrações realizadas por *headspace* dinâmico, houve uma redução no número de compostos quando comparado aos resultados obtidos pela hidrodestilação, o que já era esperado, uma vez que o *headspace* dinâmico é uma técnica de extração mais branda e analisa-se apenas os voláteis presentes no *headspace* produzindo extratos mais limpos. Nas quintuplicatas realizadas não foram observadas variações na composição química dos voláteis apenas pequenas diferenças na recuperação dos compostos.

A armadilha utilizada para a captura dos voláteis foi o polímero poroso Porapak Q, que apresenta como vantagem a pouca retenção de água e boa seletividade na retenção de compostos orgânicos[11].

### 6.2.1 FRUTO VERDE

A composição química dos compostos voláteis do fruto verde esta apresentada na Tabela 7 e na Figura 27. Na composição química dos voláteis do fruto verde foi possível detectar 11 compostos, dos quais 10 foram identificados, com predominância de álcoois e aldeídos, sendo os compostos majoritários o (3Z)-hexenol (29,3-49,3%), o 2-fenil etanol (13,3-40,6%), o (2E)-hexenal (11,0-25,7%) e o hexanal (3,2-6,8%). Embora o linalol, que foi o composto majoritário via hidrodestilação, não tenha sido detectado pela técnica de *headspace* dinâmico, outros monoterpênicos foram identificados, tais como: óxido de *trans* linalol (furanóide)(0,3-2,5%) e o eucaliptol (1,6-1,9%).



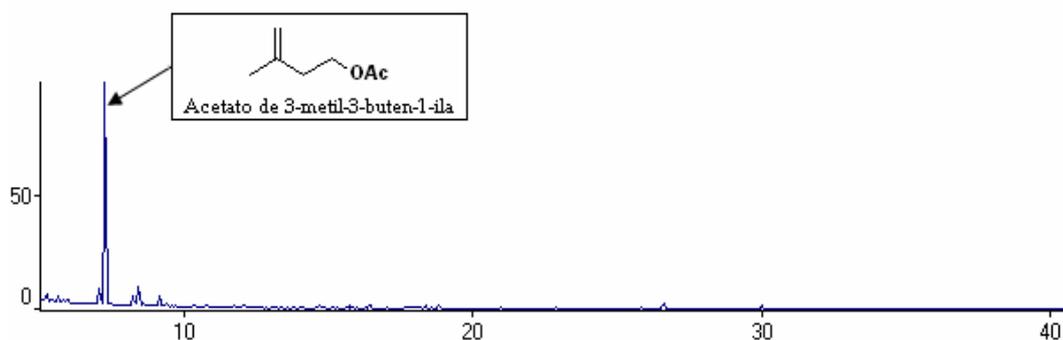
**Figura 27.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

**Tabela 7.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de *headspace* dinâmico.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média±RSD
1	815	800	Hexanal	3,6	3,2	6,8	3,3	4,1	4,2±1,5
2	852	854	(2E)-Hexenal	11,0	13,1	25,7	24,4	13,1	17,5±7,0
3	854	859	(3Z)-Hexenol	41,5	41,2	41,2	38,3	49,3	42,3±4,1
4	866	867	Hexanol	3,2	5,0	5,6	5,4	8,8	5,6±2,0
5	1030	1033	Eucaliptol	1,2	1,9	1,8	1,6	1,9	1,7±0,3
6	1042	1043	Benzeno acetaldeído	0,7	0,8	1,3	1,4	0,9	1,0±0,3
7	1045	1040	(Z)-β-Ocimene	1,2	1,2	0,8	1,7	0,5	1,1±0,5
8	1086	1088	Óxido de <i>trans</i> linalol (furanóide)	1,1	2,5	1,0	0,9	0,3	1,2±0,8
9	1111	1110	2-Fenil etanol	28,4	28,7	13,3	18,3	19,8	21,7±6,7
10	1132	-	NI	2,5	1,2	-	0,8	-	0,9±0,9
11	1205	1204	Decanal	3,5	0,3	0,6	0,6	-	1,0±1,4
<b>TOTAL</b>				<b>97,9</b>	<b>99,1</b>	<b>98,1</b>	<b>96,7</b>	<b>98,7</b>	<b>96-7-99,1</b>

## 6.2.2 FRUTO MADURO

Nas análises do fruto maduro, pela técnica de *headspace* dinâmico foi possível identificar 5 compostos, sendo todos pertencentes a classe dos ésteres, representando 98,7-99,6% do total dos voláteis identificados (Figura 28, Tabela 8). Os compostos majoritários foram o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (78,2-82,3%), acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (8,0-11,2%) e o acetato de 3-metil-1-butanila (5,4-10,1%). Estes ésteres também foram detectados na composição química dos voláteis obtidos por hidrodestilação dos frutos maduros, sendo o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila o compostos com maior abundância em ambas as técnicas.



**Figura 28.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

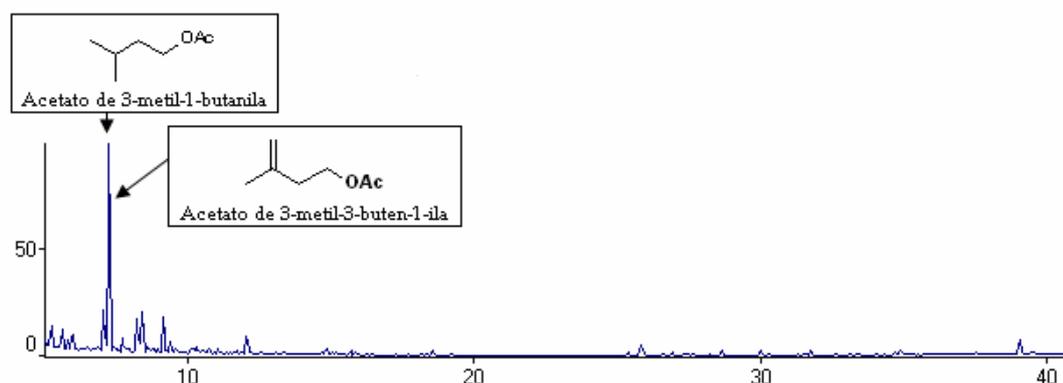
**Tabela 8.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média ± RSD
1	822	812	Acetato de 1-butanila	1,5	1,7	1,8	1,5	2,3	1,8±0,3
2	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	5,4	10,1	9,4	10,1	5,3	8,1 ±2,5
3	878	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	82,3	78,7	78,3	78,2	79,7	79,5±1,7
4	912	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	10,3	8,0	9,7	9,3	11,2	9,7±1,2
5	1012	1008	Acetato de hexenila	0,1	0,2	0,2	0,3	1,1	0,4±0,4
<b>TOTAL</b>				<b>99,6</b>	<b>98,7</b>	<b>99,4</b>	<b>99,4</b>	<b>99,6</b>	<b>98-7-99,6</b>

### 6.2.3 FRUTO “DE VEZ”

No fruto “de vez”, foi possível detectar 11 compostos, dos quais 9 foram identificados (Figura 29, Tabela 9). Nestas análises, foi observado que a composição dos voláteis se assemelha aquela observada para o fruto verde e maduro, pois apresentou na sua composição álcoois como o (3Z)-hexenol, majoritário no fruto verde e os ésteres encontrados no fruto maduro, tais como o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila, acetato de 3-metil-2-buten-1-ila e acetato de 3-metil-1-butanila. No entanto, quando os experimentos foram realizados com os frutos “de vez”, estes apresentavam aparência e textura próxima do fruto maduro, mesmo sendo conservados em *freezer*. Este fator pode ter contribuído para predominância dos ésteres na sua composição, visto que também são os compostos predominantes nos fruto maduro.

Os compostos majoritários foram: acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (41,2-64,9%), acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (12,0-28,9%), hexanal (7,5-9,8%) e acetato de 3-metil-1-butanila (5,0-6,2%).



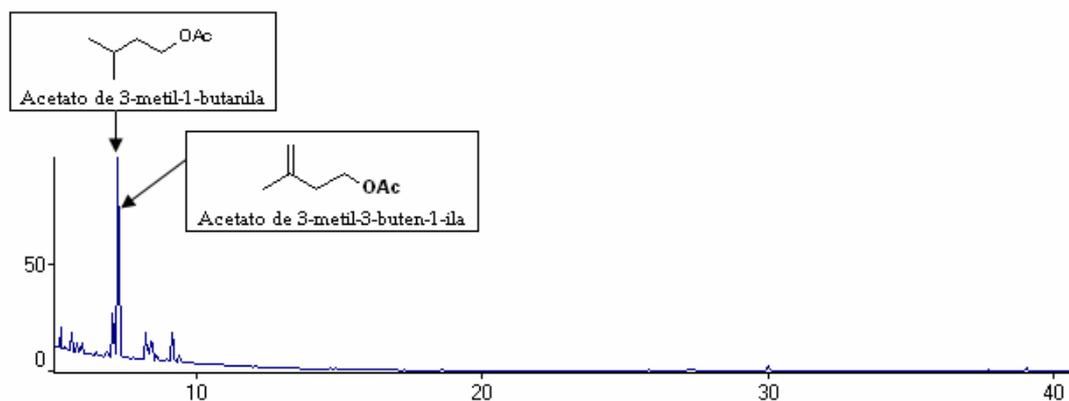
**Figura 29.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

**Tabela 9.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD
1	812	800	Hexanal	7,7	8,6	7,5	9,8	9,0	8,5±0,9
2	854	859	(3Z)-hexenol	-	1,3	3,3	0,6	0,8	1,2±1,3
3	872	876	Acetato de 3-metil-1-butânica	5,0	5,9	5,4	6,2	4,9	5,5±0,6
4	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	51,8	44,0	41,2	64,9	61,9	52,8±10,5
5	913	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	15,4	18,7	28,9	12,8	12,0	17,6±6,8
6	1105	-	NI	1,2	0,7	1,1	0,3	0,4	0,7±0,4
7	1111	1110	2-Fenil etanol	6,9	7,9	3,6	2,3	4,0	5,0±2,3
8	1194	1189	α-Terpineol	0,3	0,4	0,2	0,1	0,1	0,2±0,2
9	1205	1204	Decanal	2,2	4,7	2,0	0,7	1,9	2,3±1,5
10	1259	-	NI	1,6	1,2	1,8	0,4	0,9	1,2±0,5
11	1446	1453	Geranil acetona	1,8	2,0	1,1	0,5	0,8	1,2±0,6
TOTAL				93,9	95,4	96,1	98,6	96,7	93,9-98,6

#### 6.2.4 POLPA INDUSTRIALIZADA

Na composição química dos voláteis da polpa industrializada foram detectados 8 compostos, dos quais 7 foram identificados, com predominância de ésteres (Tabela 10, Figura 30). Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (41,7-67,4%), acetato de 3-metil-1-butânica (7,2-39,5%) e o acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (7,7-22,3%), foram os compostos majoritários. Estes ésteres também foram identificados na composição química dos voláteis obtidos por hidrodestilação da polpa industrializada, mas com recuperações diferentes, (4,5%, 2,6% e 0,6% respectivamente). Além disso, o composto majoritário não foi o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila, mas o furfural com 43,0% do total dos voláteis identificados, o qual não foi identificado pela técnica do *headspace* dinâmico.



**Figura 30.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa*, obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

**Tabela 10.** Composição percentual relativa dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica do *headspace* dinâmico.

IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	4	5	Média± RSD	
1	822	812	Acetato de 1-butanila	0,3	0,7	1,7	0,7	0,8	0,8±0,5
2	849	-	NI	1,2	-	2,5	-	-	0,7±1,1
3	854	859	(3Z)-Hexenol	1,7	1,0	1,2	1,9	0,6	1,3±0,6
4	867	867	Hexanol	1,9	1,0	0,7	1,0	1,9	1,3±0,6
5	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	39,5	12,3	14,3	7,2	20,7	18,8±12,5
6	878	876	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	41,7	64,3	67,4	57,2	48,3	55,8±10,8
7	913	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	13,1	11,6	7,7	22,3	16,2	14,2±5,5
8	1012	1008	Acetato de hexenila	0,4	1,4	0,6	3,5	2,0	1,6±1,2
TOTAL			99,8	92,3	96,1	93,8	90,5	90,5-99,8	

Comparando-se a composição dos compostos voláteis obtidos dos frutos de *H. speciosa*, nos três estádios de maturação e na polpa industrializada pela técnica de *headspace* dinâmico, observa-se que a composição varia, a depender do estágio de maturação estudado, principalmente ao comparar as composições dos estádios verde com a maduro, sendo os compostos predominantes no fruto verde os álcoois e no fruto maduro os ésteres.

Analisando-se a composição química dos compostos voláteis do fruto maduro e da polpa industrializada, observa-se que ambas são representadas principalmente pelos ésteres, sendo o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila o composto majoritário. No entanto, ao compararmos a composição dos voláteis, percebe-se uma pequena variação, pois na polpa industrializada foram identificados alguns álcoois como (3Z)-hexenol (0,6-1,9%) e hexanol (0,7-1,9%) enquanto a composição dos voláteis do fruto maduro é representada exclusivamente pelos ésteres, principalmente pelo acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (78,2-82,3%). Este resultado pode refletir o estágio de maturação em que os frutos de mangaba são processados industrialmente, pois normalmente são colhidos antes da maturação completa do fruto.

### 6.3 Microextração em fase sólida

Nas análises por SPME, a definição dos parâmetros utilizados no processo de extração é um passo fundamental para definição do perfil químico de extração. No desenvolvimento desse trabalho os parâmetros utilizados para definição do perfil de extração foram a variação do tempo e da temperatura de extração. Os tempos estudados foram: 20, 30, 40 e 50 minutos e as temperaturas foram: temperatura ambiente (aproximadamente 30°C), 40 e 60°C. Manteve-se constante os seguintes parâmetros: adição de NaCl (30% em peso), o tempo de equilíbrio ( 15 minutos) e o modo de extração *headspace*. Esses parâmetros foram definidos com base nos trabalhos desenvolvidos por Souza [62].

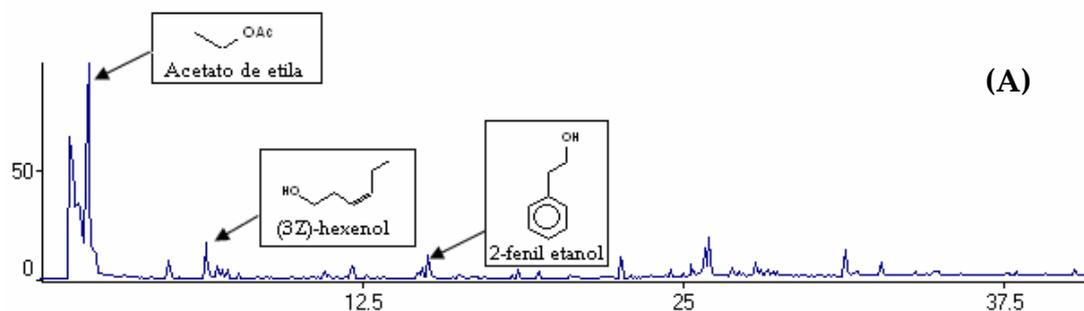
A influência do tempo de extração foi o primeiro parâmetro a ser verificado, enquanto a temperatura de extração foi mantida constante (temperatura ambiente). A definição do tempo de extração ótimo foi avaliada analisando-se os gráficos das Figuras 32, 37, 41 e 45.

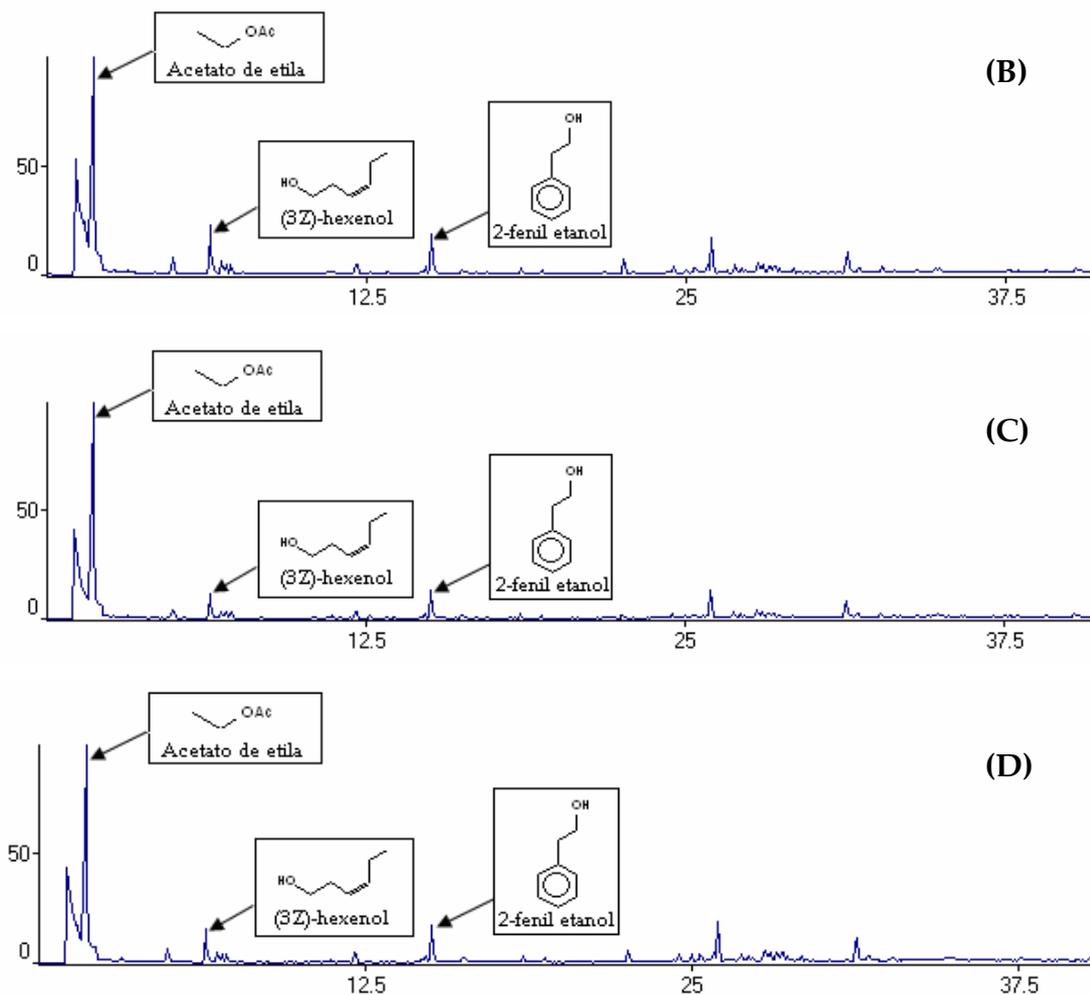
Nas Tabelas 11, 14, 17 e 20, estão apresentadas a composição dos compostos voláteis dos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação e na polpa industrializada obtidas através do SPME variando-se o tempo extração à temperatura ambiente. Estas análises serviram como base para a construção dos gráficos que auxiliaram na definição do melhor tempo de extração.

O segundo parâmetro otimizado foi a temperatura de extração. Nestas análises, manteve-se constante o tempo de extração, definido anteriormente para cada um dos estádios de maturação estudado, e variou-se a temperatura de extração. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 12, 15, 18 e 21, e os gráficos das figuras 35, 39, 43 e 48, mostram a correlação entre a temperatura de extração *versus* a recuperação dos compostos voláteis. Estes resultados foram utilizados como base para definir a temperatura de extração nas análises definitivas.

### 6.3.1 FRUTO VERDE

Nas análises por SPME, foi possível identificar o acetato de etila, um composto que ainda não havia sido identificado pelas técnicas de hidrodestilação e *headspace* dinâmico, em virtude de SPME ser uma técnica livre de solvente (Tabela 11, Figura 31).





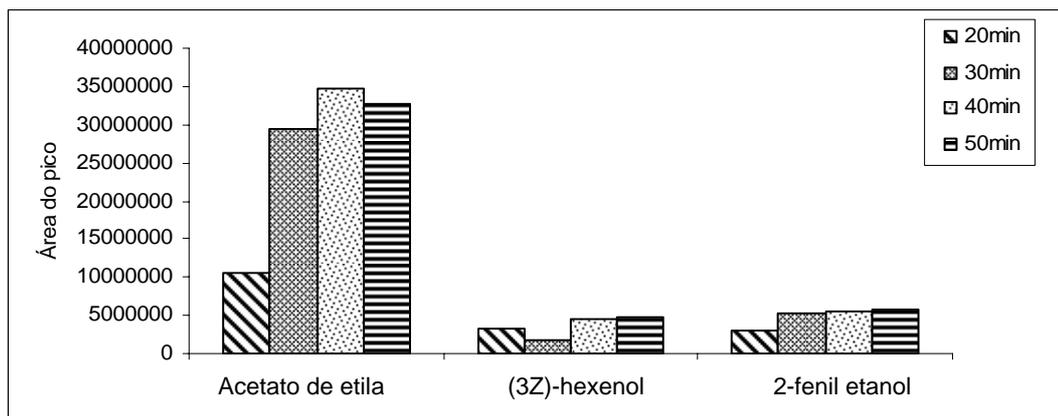
**Figura 31.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se o tempo de extração: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos; (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.

Os compostos utilizados na construção do gráfico da Figura 32 para verificar o efeito do tempo de extração, foram definidos com base nos resultados obtidos na Tabela 11. Os compostos escolhidos foram os que apresentaram uma melhor recuperação, tais como: acetato de etila (27,5-57,2%), (3Z)-hexenol (7,3-8,5%) e 2-fenil etanol (7,9-9,1%).

**Tabela 11.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de extração.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	20 Minutos	30 Minutos	40 Minutos	50 Minutos
1	706	807	Acetato de etila	27,5	51,0	57,2	56,6
2	811	800	Hexanal	5,1	3,3	2,7	2,7
3	854	859	(3Z)-Hexenol	8,5	7,8	7,4	7,3
4	866	867	Hexanol	3,3	2,9	1,8	1,8
5	872	876	Acetato de 3-metil-1- butanila	2,1	1,8	1,8	1,8
6	877	883	Acetato de 3-metil-3- buten-1-ila	2,3	1,7	1,5	1,5
7	1004	1004	Acetato de (3E)-hexenila	1,3	0,7	0,7	0,6
8	1030	1033	Eucaliptol	2,2	0,5	0,5	0,5
9	1034	1040	$\beta$ -(Z)-Ocimeno	0,8	0,6	0,5	0,5
10	1104	1098	Nonanal	1,9	1,2	1,2	1,2
11	1110	1110	2-Fenil etanol	7,9	9,1	9,0	8,9
12	1143	-	NI	0,9	0,6	0,7	0,7
13	1206	1204	Decanal	1,8	1,1	1,1	1,1
14	1374	1376	$\alpha$ -Copaeno	2,2	1,1	1,4	1,4
15	1388	-	NI	1,2	0,6	0,5	0,5
16	1396	-	NI	5,9	2,0	-	0,9
17	1413	-	NI	1,0	1,0	1,4	1,2
18	1418	1422	$\beta$ -Cariofileno	10,0	5,6	6,4	6,3
19	1473	-	NI	4,3	3,2	0,4	-
<b>TOTAL</b>				<b>90,2</b>	<b>95,8</b>	<b>96,2</b>	<b>95,5</b>

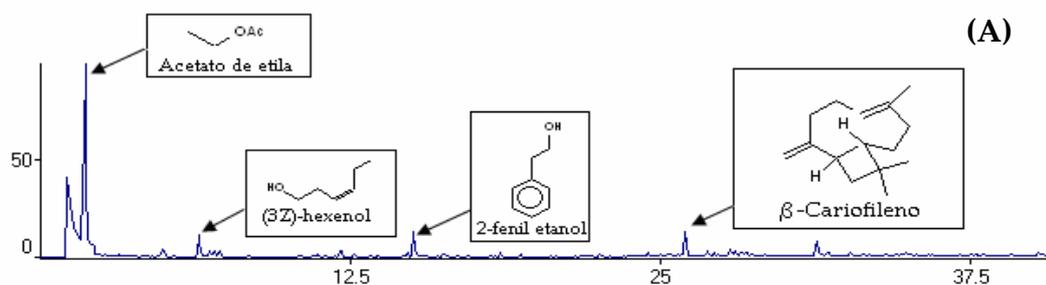
Analisando o gráfico da figura 32, percebe-se que no intervalo de tempo entre 20, 30 e 40 minutos ocorre um aumento na recuperação do acetato de etila e entre 40 e 50 minutos ocorre um pequeno decréscimo, enquanto para o (3Z)-hexenol e 2-fenil etanol ocorre um pequeno acréscimo na área do pico, neste mesmo intervalo de tempo. Baseando-se nesses resultados, definiu-se que 40 minutos é o tempo de extração ótimo para o fruto verde, pois é onde ocorre a melhor recuperação para os compostos analisados.

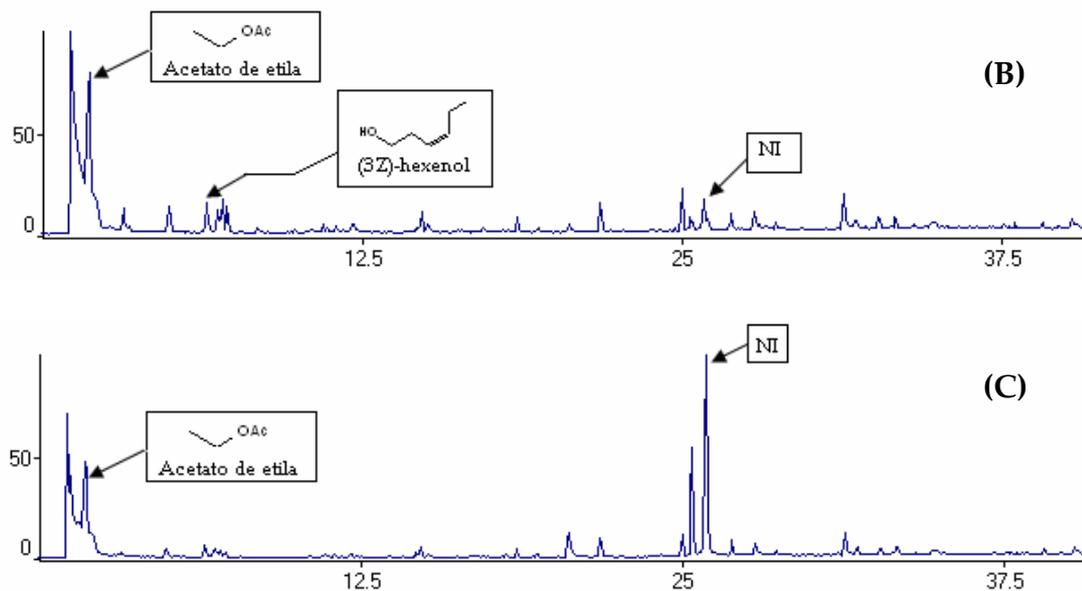


**Figura 32.** Gráfico em colunas do tempo de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto verde.

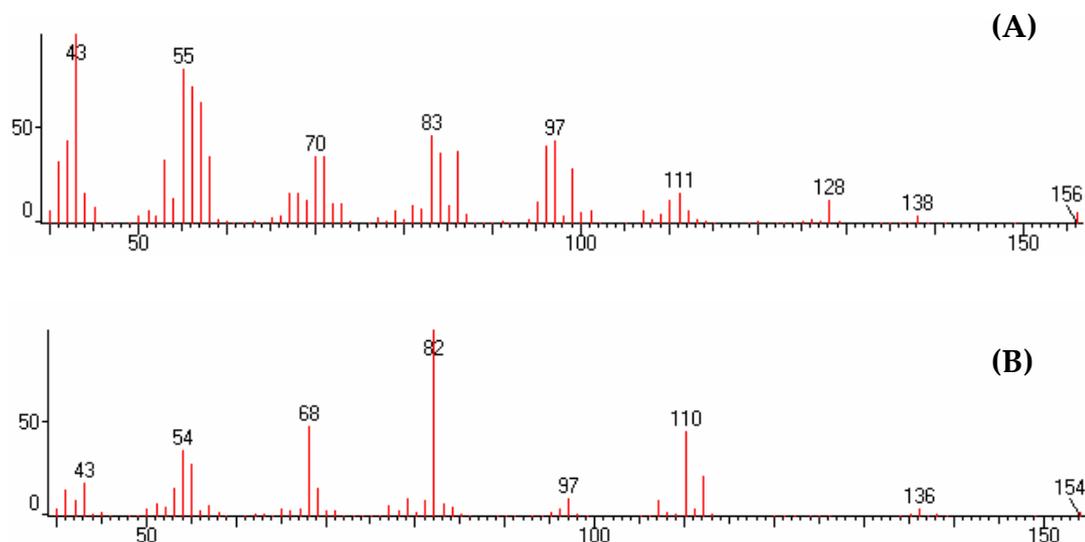
O segundo parâmetro estudado foi a temperatura de extração, e na Figura 33 e na Tabela 12 estão apresentados os resultados obtidos.

Com estas análises pôde-se perceber que há diferenças nas intensidades dos picos dos compostos ao variar a temperatura de extração de temperatura ambiente para 60°C. Na temperatura ambiente, o composto com o pico mais intenso é o acetato de etila, porém a medida que a temperatura passa para 40°C observa-se que o pico de um composto não identificado (composto 19, na Tabela 12) aumenta de intensidade, chegando a ser o mais abundante quando a temperatura atinge 60°C. O espectro de massas deste compostos esta apresentado na Figura 34.





**Figura 33.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente, (B) 40°C e (C) 60°C.



**Figura 34.** Espectro de massas do composto não identificado: (A) composto 19 da Tabela 12; (B) composto 18 da Tabela 12.

Os resultados descritos na Tabela 12, serviram como base para construção do gráfico da Figura 35. O critério utilizado, para construção do gráfico foi a maior abundância em uma das três temperaturas estudadas,

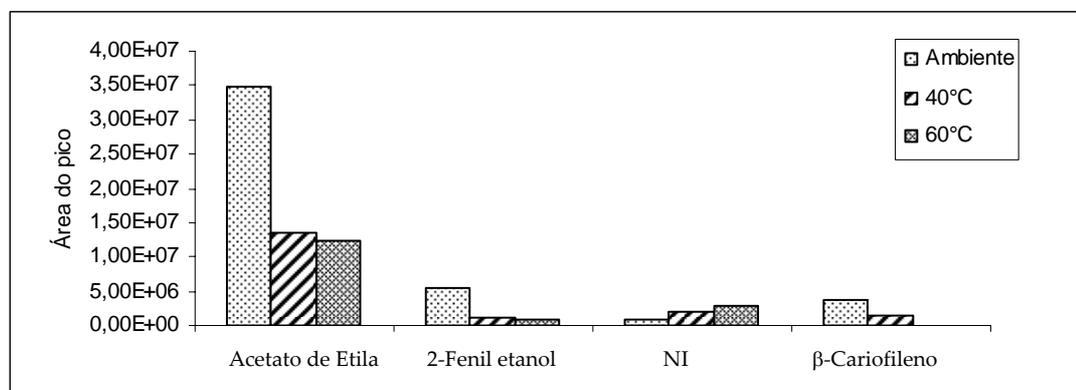
sendo utilizado o acetato de etila(17,4-57,2%), 2-fenil etanol (1,1-9,0%), o composto não identificado (1,4-44,5%) e  $\beta$ -cariofileno (0,1-6,4%).

**Tabela 12.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando-se a temperatura de extração.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	Ambiente	40°C	60°C
1	706	807	Acetato de etila	57,2	31,7	17,4
2	745	745 <sup>[60]</sup>	2,4,5-Trimetil-1,3-dioxolano	-	5,4	0,9
3	810	800	Hexanal	2,7	0,5	2,4
4	854	859	(3Z)-Hexenol	7,4	6,5	2,6
5	866	867	Hexanol	1,8	4,8	1,4
6	862	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	1,8	5,4	1,0
7	878	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	1,5	5,8	1,1
8	913	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	-	1,0	-
9	1004	1004	Acetato de (3E)-hexenila	0,7	0,6	-
10	1030	1033	Eucaliptol	0,5	1,4	0,5
11	1031	1040	$\beta$ -(Z)-Ocimeno	0,5	-	-
12	1104	1098	Nonanal	1,2	2,8	1,4
13	1110	1110	2- Fenil etanol	9,0	3,3	1,1
14	1206	1204	Decanal	1,1	0,3	1,2
15	1261	1264	(2E)-Decenal	-	1,9	-
16	1374	1376	$\alpha$ -Copaeno	1,4	-	-
17	1387	1391	$\beta$ -Elemeno	-	6,6	2,3
18	1398	-	NI	-	-	18,3
19	1413	-	NI	1,4	6,4	44,5
20	1418	1422	$\beta$ -Cariofileno	6,4	4,0	0,1
21	1473	-	NI	0,4	-	-
<b>TOTAL</b>				<b>95,0</b>	<b>88,4</b>	<b>96,2</b>

Os melhores resultados na recuperação dos compostos ao variar a temperatura de extração foi à temperatura ambiente para o acetato de etila, 2-fenil etanol e  $\beta$ -cariofileno, contudo para o composto não identificado (composto 19 na tabela 12), a melhor temperatura de extração foi em 60°C. Diante destes resultados, foi definido como a melhor temperatura para extração dos voláteis do fruto verde a temperatura ambiente, pois nesta

temperatura foi obtido o máximo da recuperação para a maioria dos compostos analisados.



**Figura 35.** Gráfico em coluna da variação da temperatura de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto verde.

Definido o perfil de extração para o fruto verde, que foi tempo de extração de 40 minutos e temperatura de extração à temperatura ambiente, realizou-se análise cromatográfica em um cromatografo gasoso acoplado ao detector de ionização em chamas (FID), a fim de determinar a composição percentual relativa dos compostos identificados.(Tabela 13).

No fruto verde foram detectados 15 compostos, dos quais 14 foram identificados, sendo o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (40,8-46,6%), o composto majoritário. Contudo quando o perfil de extração foi definido, os compostos majoritários foram: acetato de etila, (3Z)-hexenol e 2-fenil etanol. Um fato que pode explicar essa diferença, é que o fruto pode ter amadurecido quando esta análise foi realizada, pois este éster é o composto predominante no fruto maduro e a definição do perfil de extração e a quantificação não foram realizadas na mesma época. No entanto o acetato de etila (6,4-7,8%), (3Z)-hexenol (13,4-16,6%) e o 2-fenil etanol (0,1-1,8%) foram identificados, porém com percentagens menores. Esses compostos também foram determinados no fruto verde pelas técnicas de hidrodestilação e

*headspace* dinâmico. Outros compostos majoritários identificados foram: hexanal (11,4-12,9%), hexanol (7,0-8,1%), acetato de (3*E*)-hexenila (1,2-1,8%).

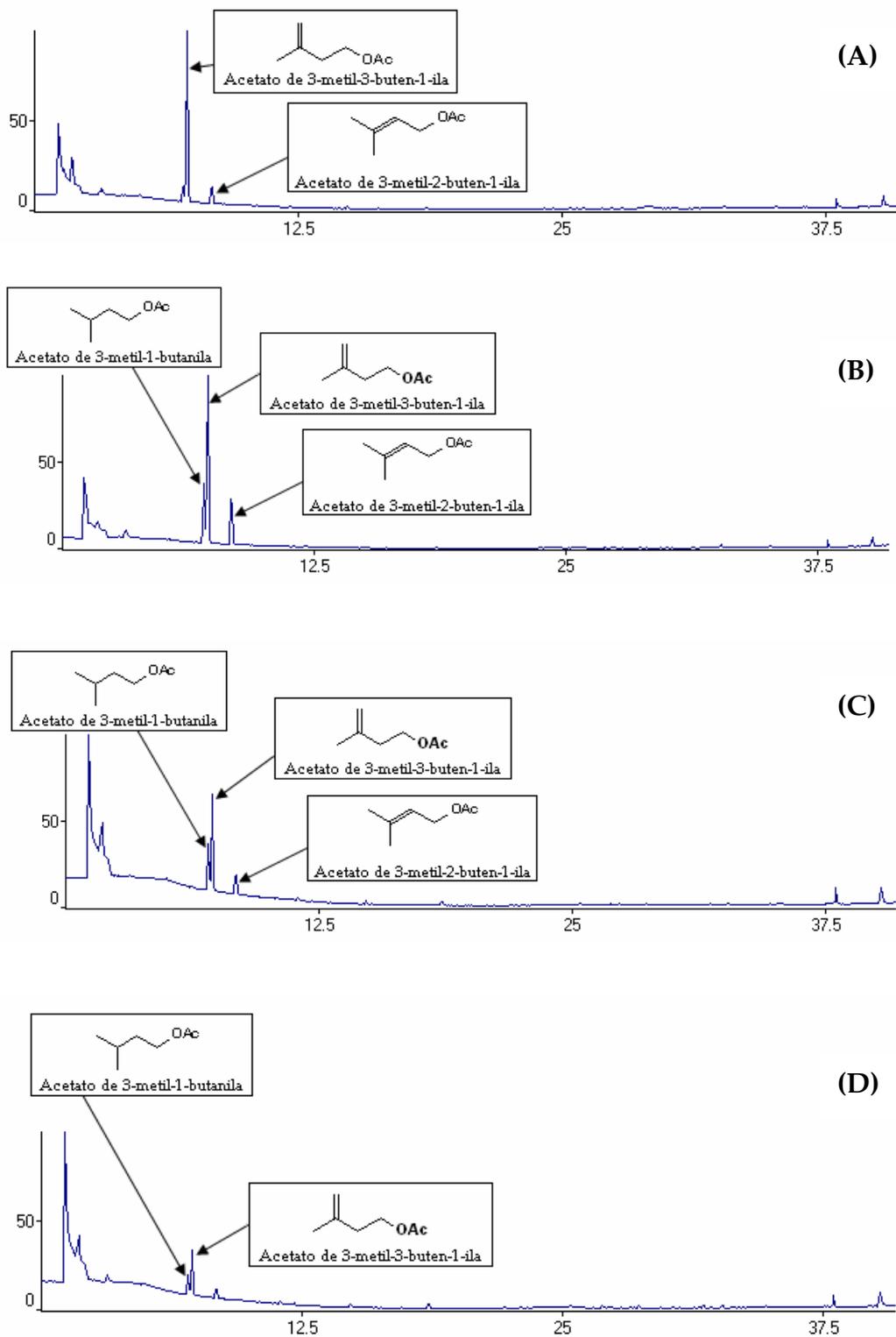
**Tabela 13.** Composição percentual dos compostos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* através de SPME e CG-FID.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	1	2	3	Média±RSD
1	706	807	Acetato de etila	6,5	7,8	6,4	6,9±0,8
2	810	800	Hexanal	11,8	11,4	12,9	12,0±0,8
3	854	859	(3 <i>Z</i> )-Hexenol	13,4	15,6	16,6	15,2±1,6
4	866	867	Hexanol	7,0	7,4	8,1	7,5±0,6
5	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	5,2	4,9	4,5	4,9±0,4
6	878	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	46,6	44,3	40,8	43,9±2,9
7	1004	1004	Acetato de (3 <i>E</i> )-hexenila	1,8	1,7	1,2	1,6±0,3
8	1030	1033	Eucaliptol	1,7	1,0	1,0	1,2±0,4
9	1034	1040	β-( <i>Z</i> )-Ocimeno	tr	tr	tr	tr
10	1104	1098	Nonanal	0,1	0,1	0,1	0,1±0
11	1110	1110	2-Fenil etanol	1,6	1,8	0,1	1,2±0,9
12	1206	1204	Decanal	0,1	0,1	-	0,1±0,06
13	1374	1376	α-Copaeno	0,1	0,3	0,1	0,2±0,1
14	1413	-	NI	0,1	0,1	0,1	0,1±0
15	1418	1422	β-Cariofileno	0,7	0,1	0,1	0,3±0,4
<b>TOTAL</b>				<b>96,7</b>	<b>96,6</b>	<b>92,0</b>	<b>92,0-96,7</b>

### 6.3.2 FRUTO “DE VEZ”

A composição química dos compostos voláteis do fruto “de vez” variando o tempo de extração esta apresentado na Tabela 14 e na Figura 36.

Nestas análises, observa-se uma diminuição na intensidade do pico do acetato de 3-metil-3-buten-1-ila ao variar o tempo de extração de 30 até 50 minutos.



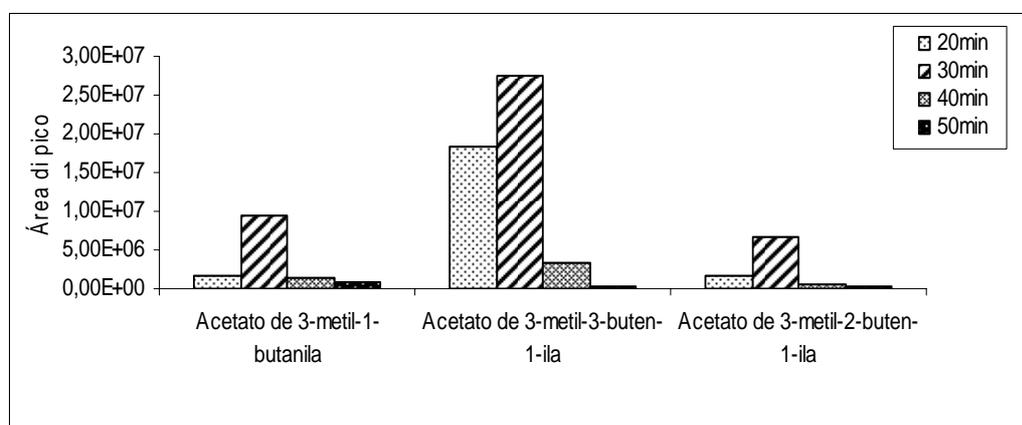
**Figura 36.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto "de vez" de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando o tempo de extração: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos, (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.

Com os dados obtidos na Tabela 14, observou-se que os compostos majoritários no fruto “de vez” foram: acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (45,7-79,3%), acetato de 3-metil-2-butanila (7,3-14,5%) e acetato de 3-metil-1-butanila (7,2-25,1%) e estes foram utilizados para construção do gráfico da Figura 37.

**Tabela 14.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando o tempo de extração.

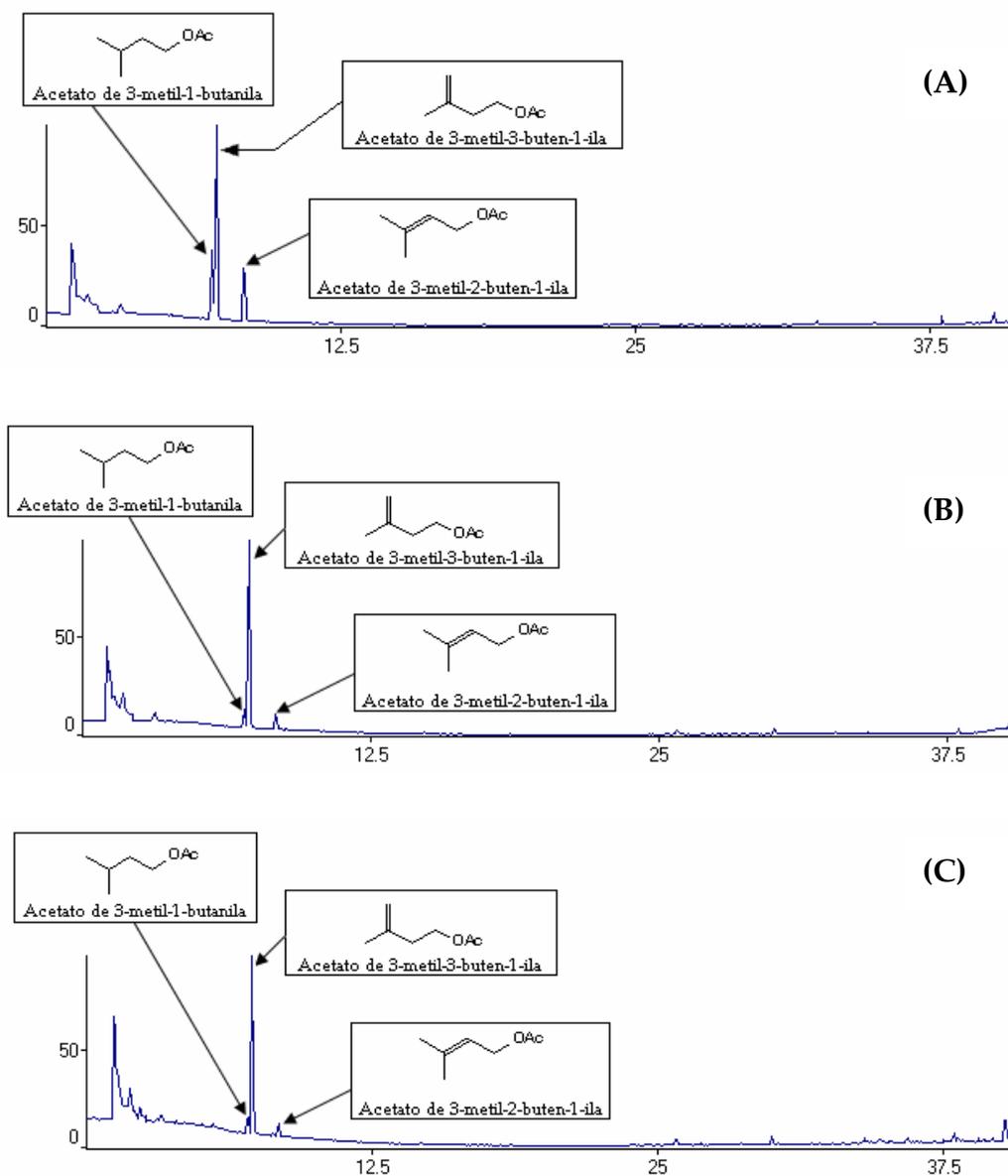
	IR <sup>c</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	20 minutos	30 minutos	40 minutos	50 minutos
1	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	7,2	16,2	25,1	21,6
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	79,3	64,1	52,3	45,7
3	912	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	7,3	14,5	10,6	9,7
4	1012	1008	Acetato de hexenila	1,4	0,9	1,4	2,6
5	1030	1033	Eucaliptol	-	0,7	0,9	2,4
6	1105	-	NI	1,6	0,7	2,3	4,8
7	1206	1204	Decanal	1,7	0,8	2,4	5,7
TOTAL				98,5	97,2	95,0	92,5

O primeiro parâmetro definido foi o tempo de extração. No gráfico da Figura 37 percebe-se que a recuperação dos compostos varia com o tempo de extração, sendo o melhor resultado obtido em 30 minutos, pois obteve-se o máximo da recuperação dos compostos voláteis.



**Figura 37.** Gráfico do tempo de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto “de vez”.

O segundo parâmetro estudado foi a temperatura de extração. Na Figura 38 e na Tabela 15 estão apresentados os resultados obtidos para os voláteis do fruto “de vez”.



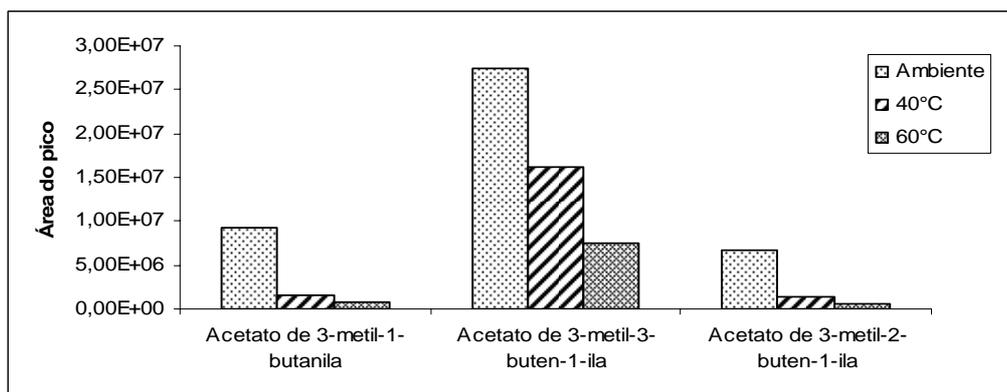
**Figura 38.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente, (B) 40°C e (C) 60°C.

Os resultados apresentados na Tabela 15, foram utilizados para identificar os compostos majoritários, que foram: acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (52,3-81,3%), acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (6,1-10,6%) e acetato de 3-metil-1-butanila (6,8-25,1%) e assim construir o gráfico da Figura 39.

**Tabela 15.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto “de vez” de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando-se a temperatura de extração.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	Ambiente	40°C	60°C
1	871	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	16,2	8,2	6,8
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	64,1	81,3	79,6
3	912	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	14,5	7,1	6,1
4	1011	1008	Acetato de hexenila	0,9	0,5	2,2
5	1030	1033	Eucaliptol	0,7	-	-
6	1100	-	NI	0,7	0,6	1,1
7	1205	1204	Decanal	0,8	0,6	0,9
<b>TOTAL</b>				<b>97,2</b>	<b>98,3</b>	<b>96,7</b>

As temperaturas de extração: temperatura ambiente, 40°C e 60°C foram avaliadas utilizando o tempo de extração definido anteriormente. Baseando-se no gráfico da Figura 39, percebe-se que ocorre um decréscimo na recuperação dos voláteis majoritários quando a temperatura de extração aumenta, sendo na temperatura ambiente onde ocorre os máximos da área dos picos dos compostos analisados, definindo-a como a temperatura ótima para extração dos voláteis do fruto “de vez”.



**Figura 39.** Gráfico em colunas da variação da temperatura de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto “de vez”.

Definido o perfil de extração, que foi: tempo de extração de 30 minutos e temperatura de extração a temperatura ambiente, realizou-se a análise em cromatografo gasoso acoplado ao detector de ionização em chamas (GC-FID), para determinação da composição percentual relativa dos compostos identificados. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados estão apresentados na Tabela 16.

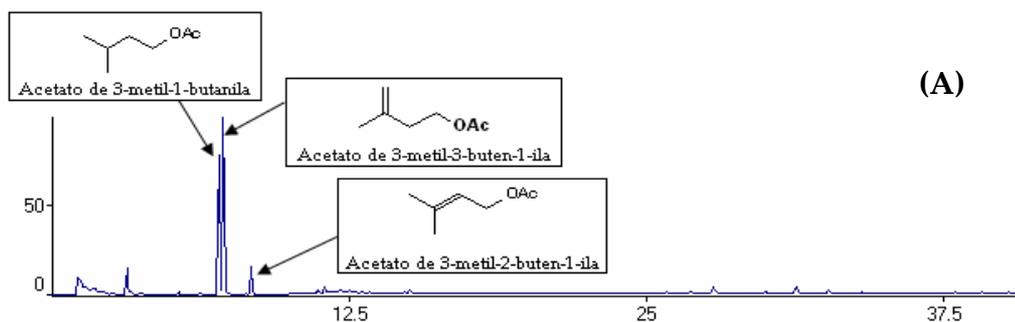
No fruto “de vez” foi possível detectar 6 compostos, dos quais 5 foram identificados, com predominância de ésteres (94,6-97,1%) sendo os compostos majoritários o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (60,0-67,5%), acetato de 3-metil-1-butanila (11,6-21,2%) e o acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (12,8-14,5%). Estes resultados corroboram com os resultados obtidos pelo *headspace* dinâmico, pois os compostos majoritários foram os mesmo ésteres determinados pelo SPME.

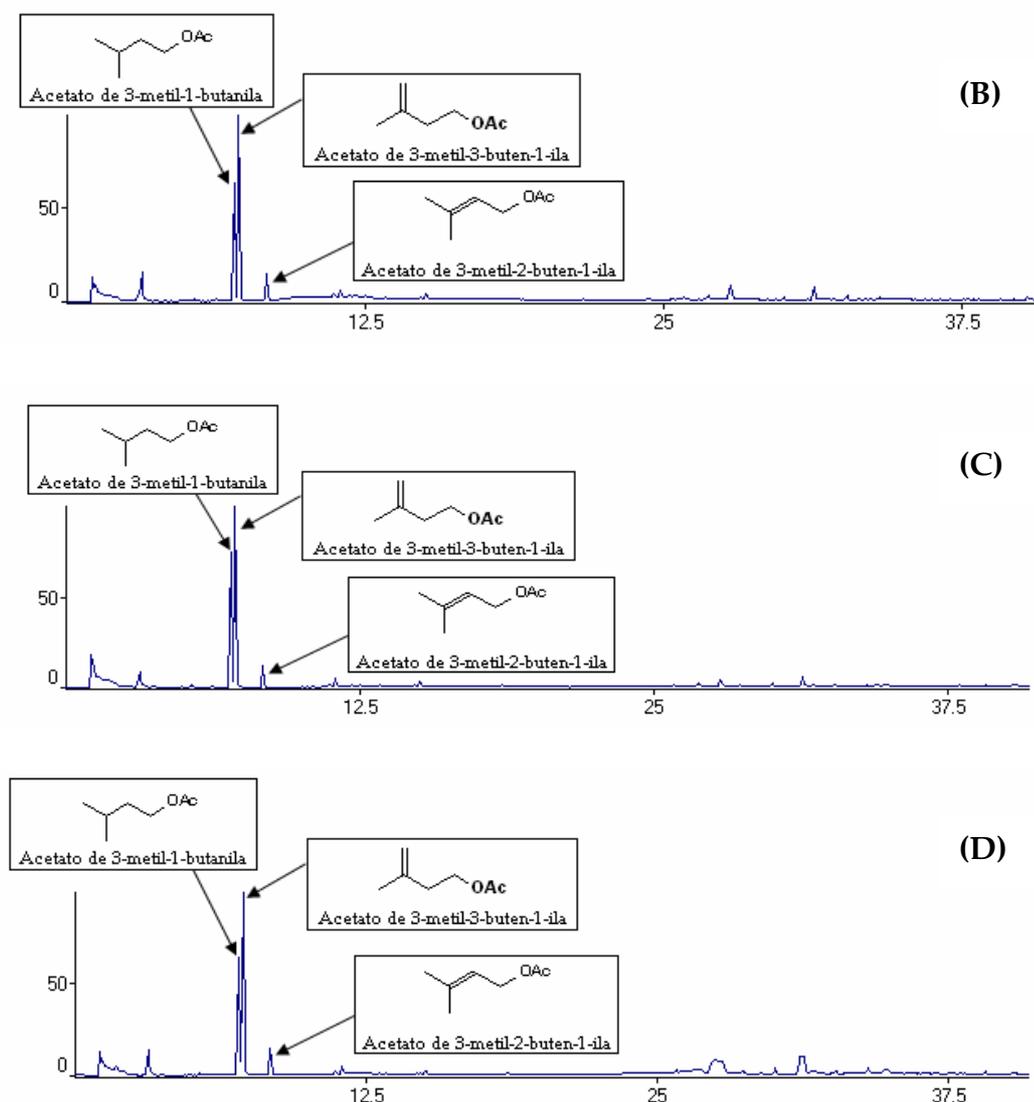
**Tabela 16.** Composição percentual dos compostos voláteis de *H.speciosa* do fruto “de vez” através de SPME e GC-FID.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	Média± RSD
1	872	876	Acetato de 3-metil-1-butânica	11,6	11,6	21,2	14,8±5,5
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	67,5	67,4	60,0	65,0±4,3
3	912	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	12,8	12,8	14,5	13,4±1,0
4	1012	1008	Acetato de hexenila	1,2	2,1	0,8	1,4±0,7
5	1028	-	NI	0,7	0,7	0,2	0,5±0,3
6	1206	1204	Decanal	0,8	0,4	0,4	0,5±0,2
TOTAL				94,6	95,0	97,1	94,6-97,1

### 6.3.3 FRUTO MADURO

Analisando-se os resultados obtidos na Tabela 17, observou-se que os compostos com maior abundância no fruto maduro obtidos pela técnica de SPME variando-se o tempo extração foram: acetato de 3-metil-1-butânica (13,6-49,9%), acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (39,5-78,6%) e o acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (5,2-6,8%), sendo o gráfico da Figura 41 construído baseando-se na área dos picos destes compostos (Figura 40, Tabela 17).





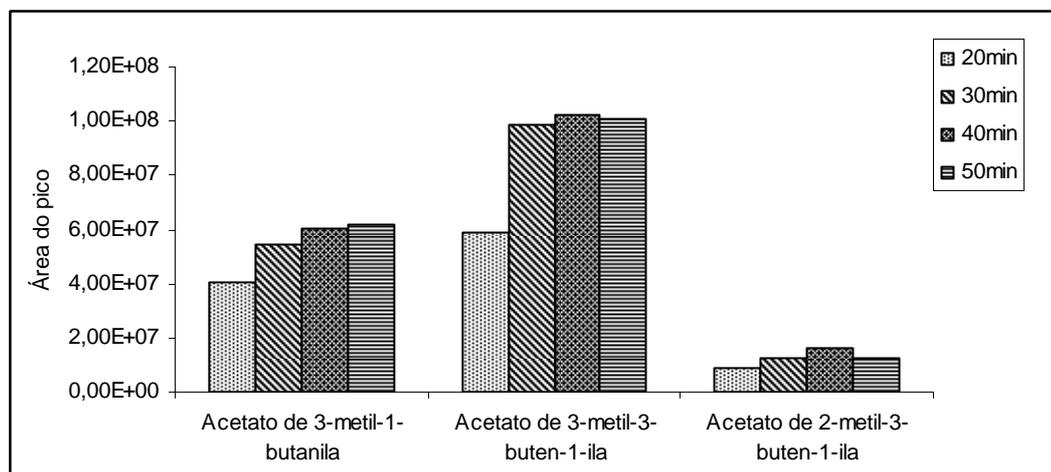
**Figura 40.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto de maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se o tempo extração: (A) 20 minutos; (B) 30 minutos, (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.

**Tabela 17.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando-se o tempo de extração.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	20 Minutos	30 Minutos	40 Minutos	50 Minutos
1	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	49,9	14,7	15,3	13,6
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	39,5	76,3	75,6	78,6
3	913	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-	6,3	6,5	6,8	5,2

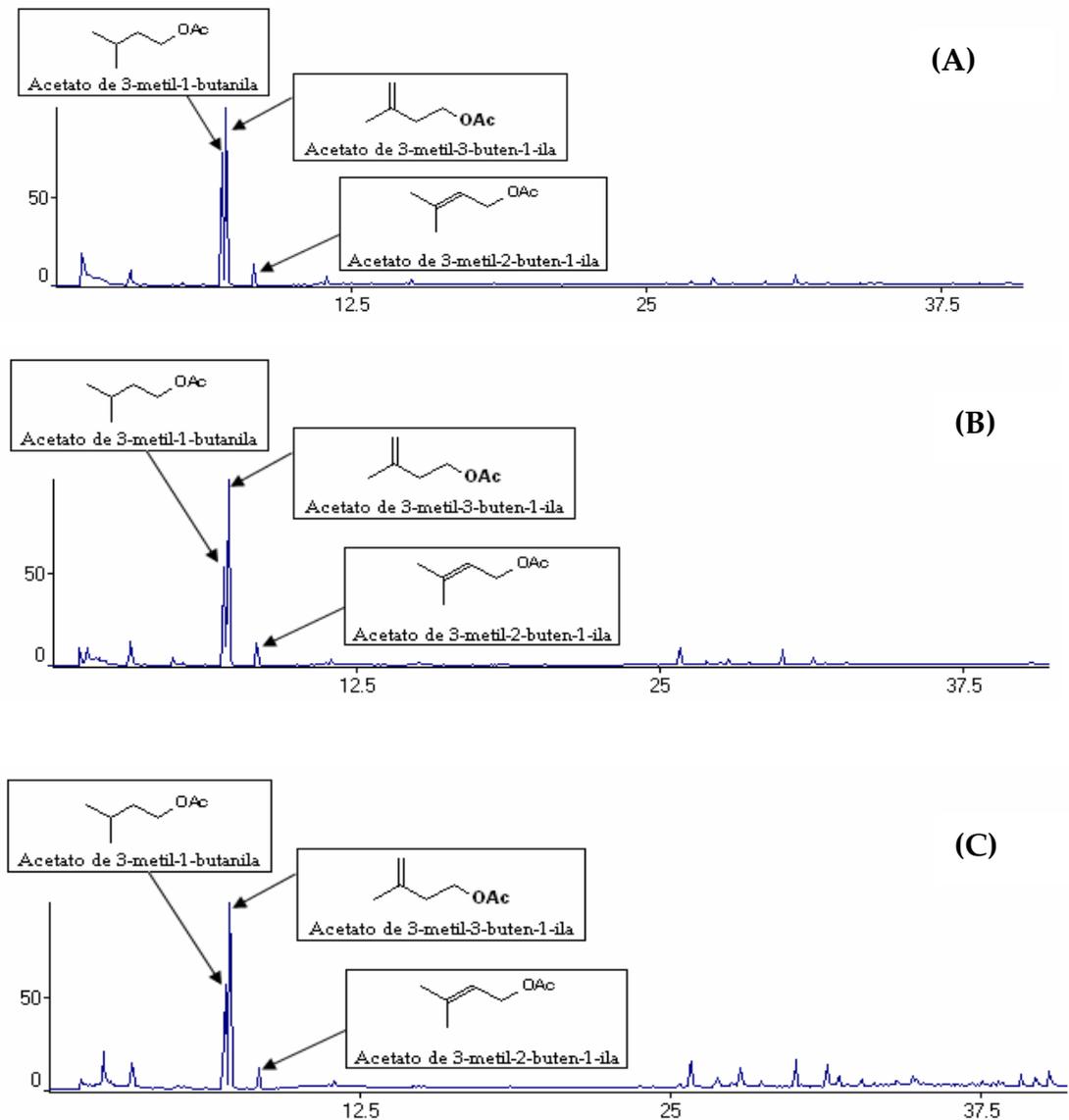
			2-buten-1-ila				
4	1004	1004	Acetato de 3-hexen-1-ol	-	0,1	0,2	0,3
5	1012	1008	Acetato de hexenila	1,7	1,2	1,4	1,0
6	1055	1057	Isobutirato de isopentila	0,4	0,1	0,1	0,1
7	1064	-	NI	0,1	0,1	0,2	0,1
<b>TOTAL</b>				<b>97,9</b>	<b>99,0</b>	<b>99,6</b>	<b>98,9</b>

Pela análise do gráfico da Figura 41, pôde-se perceber que no fruto maduro as respostas obtidas ao variar o tempo de extração da fibra não foram muito distintas, exceto para o intervalo de tempo entre 20 e 30 minutos, quando se observou um aumento mais pronunciado na recuperação do acetato de 3-metil-3-buten-1-ila. Baseando-se nos resultados obtidos no gráfico da Figura 41, o tempo de 40 minutos ficou definido como o tempo ótimo para recuperação dos compostos voláteis no fruto maduro por SPME.



**Figura 41.** Gráfico em colunas do tempo de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto maduro.

O segundo parâmetro estudado foi a temperatura de extração, cujo resultado está apresentado na Figura 42 e Tabela 18.



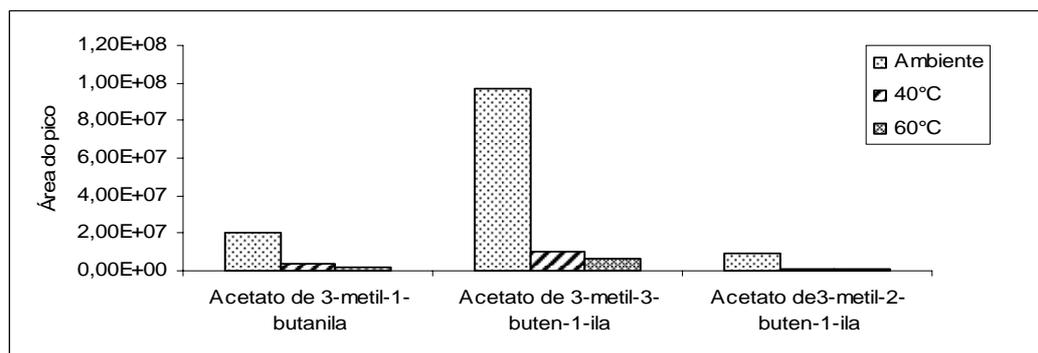
**Figura 42.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) temperatura ambiente; (B) 40°C e (C) 60°C.

Tendo como base os resultados obtidos na Tabela 18, os compostos majoritários foram: acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (57,1-75,6%), acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (5,5-6,8%) e acetato de 3-metil-1-butanila (15,3-19,7%), cujas áreas dos picos foram utilizadas para construção do gráfico da Figura 43.

**Tabela 18.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando-se a temperatura de extração.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	Ambiente	40°C	60°C
1	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	15,3	19,7	18,9
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	75,6	59,6	57,1
3	913	919 <sup>(60)</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	6,8	6,6	5,5
4	1004	1004	Acetato de (3E)-hexenila	0,2	-	-
5	1012	1008	Acetato de hexenila	1,4	1,9	1,6
6	1028	-	NI	-	0,4	0,8
7	1055	1057	Isobutirato de isopentila	0,1	-	-
8	1111	-	NI	-	0,8	1,2
9	1205	1204	Decanal	-	1,3	1,1
10	1445	1453	Geranil acetona	-	2,3	1,6
11	1462	1463	$\gamma$ -Decalactona	-	5,3	9,4
TOTAL				99,4	97,9	97,2

Baseando-se no gráfico da Figura 43, percebe-se que a temperatura de extração interfere na recuperação dos compostos, ocorrendo um decréscimo da área do pico para os compostos avaliados quando a temperatura varia de temperatura ambiente para 40°C e 60°C, obtendo-se uma melhor resposta para recuperações dos ésteres à temperatura ambiente.



**Figura 43.** Gráfico em coluna da variação da temperatura de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários do fruto maduro.

Definido o perfil de extração, que foi: tempo de extração 40 minutos e temperatura de extração à temperatura ambiente, realizou-se a análise cromatográfica CG-FID. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados estão apresentados na Tabela 19.

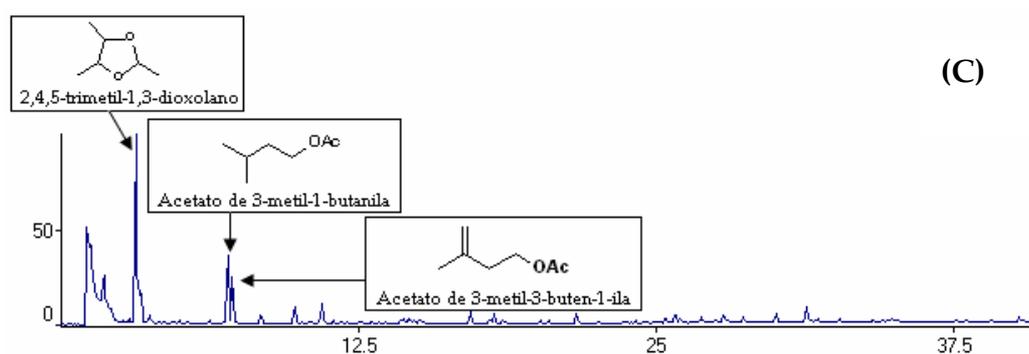
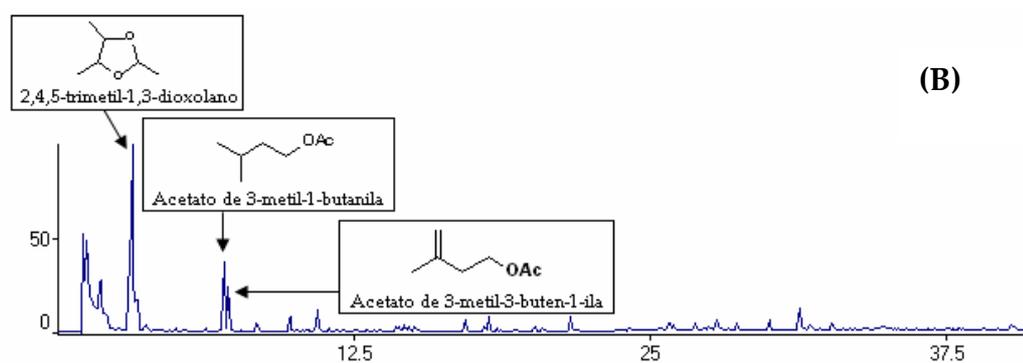
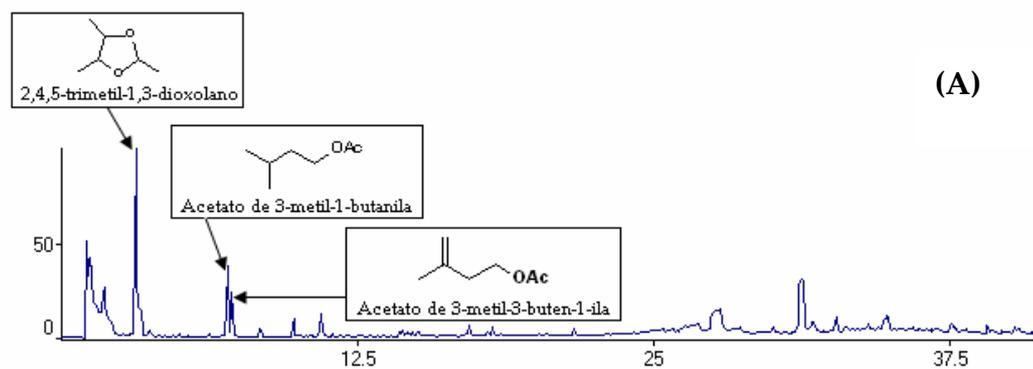
No fruto maduro, foi possível detectar 6 compostos, dos quais 5 foram identificados, com predominância de ésteres (99,7-99,8% do total dos voláteis identificados), sendo os compostos majoritários o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (81,8-82,7%), acetato de 3-metil-1-butanila (6,7-7,8%) e o acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (7,8-8,2%). Estes ésteres também foram determinados pelas técnicas de hidrodestilação e *headspace* dinâmico no fruto maduro.

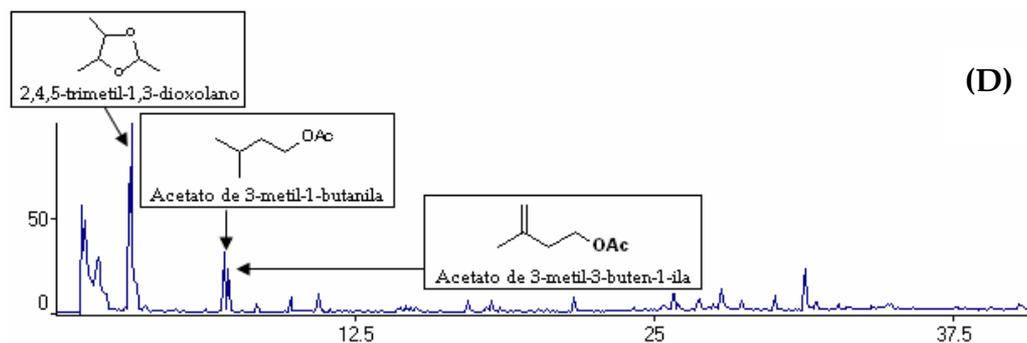
**Tabela 19.** Composição percentual dos compostos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* através SPME e GC-FID.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	Média±RSD
1	872	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	7,7	7,8	6,7	7,4±0,6
2	877	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	81,8	82,9	82,7	82,5±0,6
3	913	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	8,2	8,1	7,8	8,0±0,2
4	1012	1008	Acetato de hexenila	1,8	0,8	2,4	1,7±0,8
5	1055	1057	Isobutirato de isopentila	0,1	0,1	0,1	0,1±0
6	1064	-	NI	0,1	0,1	0,1	0,1±0
<b>TOTAL</b>				<b>99,7</b>	<b>99,8</b>	<b>99,8</b>	<b>99,7-99,8</b>

### 6.3.4 POLPA INDUSTRIALIZADA

A composição dos voláteis da polpa industrializada obtida por SPME variando-se o tempo de extração esta apresentada na Tabela 20 e Figura 44.





**Figura 44.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se o tempo de extração: (A) 20 minutos, (B) 30 minutos, (C) 40 minutos e (D) 50 minutos.

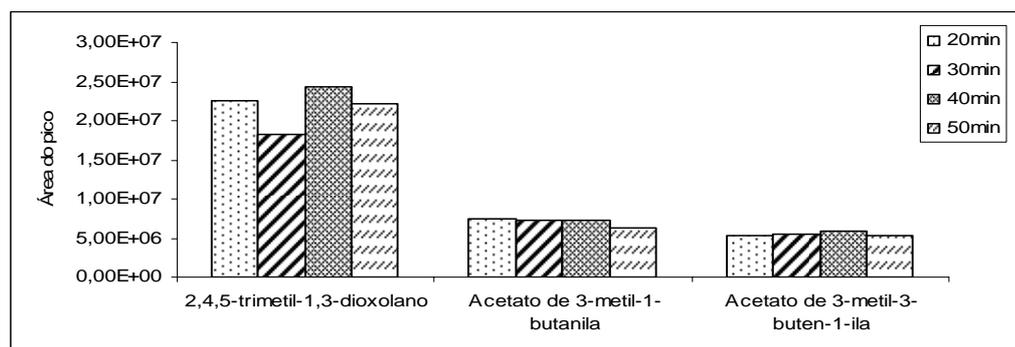
Com base nestes resultados foi observado os compostos majoritários: 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano (35,5-50,2%), acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (5,6-10,8%) e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (0,3-1,7%), cuja área de cada pico foi usada para construção do gráfico da Figura 45 a fim de verificar o efeito do tempo de extração na composição química dos voláteis da polpa industrializada.

**Tabela 20.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME variando-se o tempo de extração.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	20	30	40	50
				minutos	minutos	minutos	minutos
1	747	745 <sup>[60]</sup>	2,4,5-trimetil -1,3-dioxolano	50,2	35,5	43,0	37,8
2	873	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	11,8	14,3	12,7	10,7
3	879	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	5,6	10,8	10,4	9,0
4	914	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	1,7	1,3	0,3	1,4
5	945	-	NI	4,3	3,2	3,2	2,9
6	979	-	NI	4,9	4,2	3,5	3,0
7	1007	1008	Acetato de hexenila	0,8	0,2	1,2	0,7
8	1024	1031	Limoneno	0,6	0,3	0,7	1,0
9	1091	1091	2-nonanona	0,6	0,6	0,5	0,4
10	1094	1091	Benzoato de metila	1,3	1,4	1,0	1,0
11	1099		3,7-Dimetil-1,6-octadien-3-ol	0,5	1,5	1,2	1,2
12	1106	1098	Nonanal	2,0	-	1,5	1,5
13	1113	-	NI	0,7	1,1	0,4	0,2
14	1169	1170	Benzoato de etila	0,4	3,6	0,3	2,8
15	1196	1195	Octanoato de etila	2,4	3,5	2,2	1,9

16	1412	-	NI	3,8	2,4	3,3	4,1
17	1422	1418	$\beta$ -Cariofileno	1,9	0,4	1,3	1,9
18	1463	1463	$\gamma$ -Decalactona	-	2,0	1,7	2,2
19	1473	1473	Dodecanol	-	5,7	4,6	9,2
20	1543	-	NI	5,3	0,4	2,9	3,3
<b>TOTAL</b>				<b>98,8</b>	<b>92,4</b>	<b>95,2</b>	<b>96,2</b>

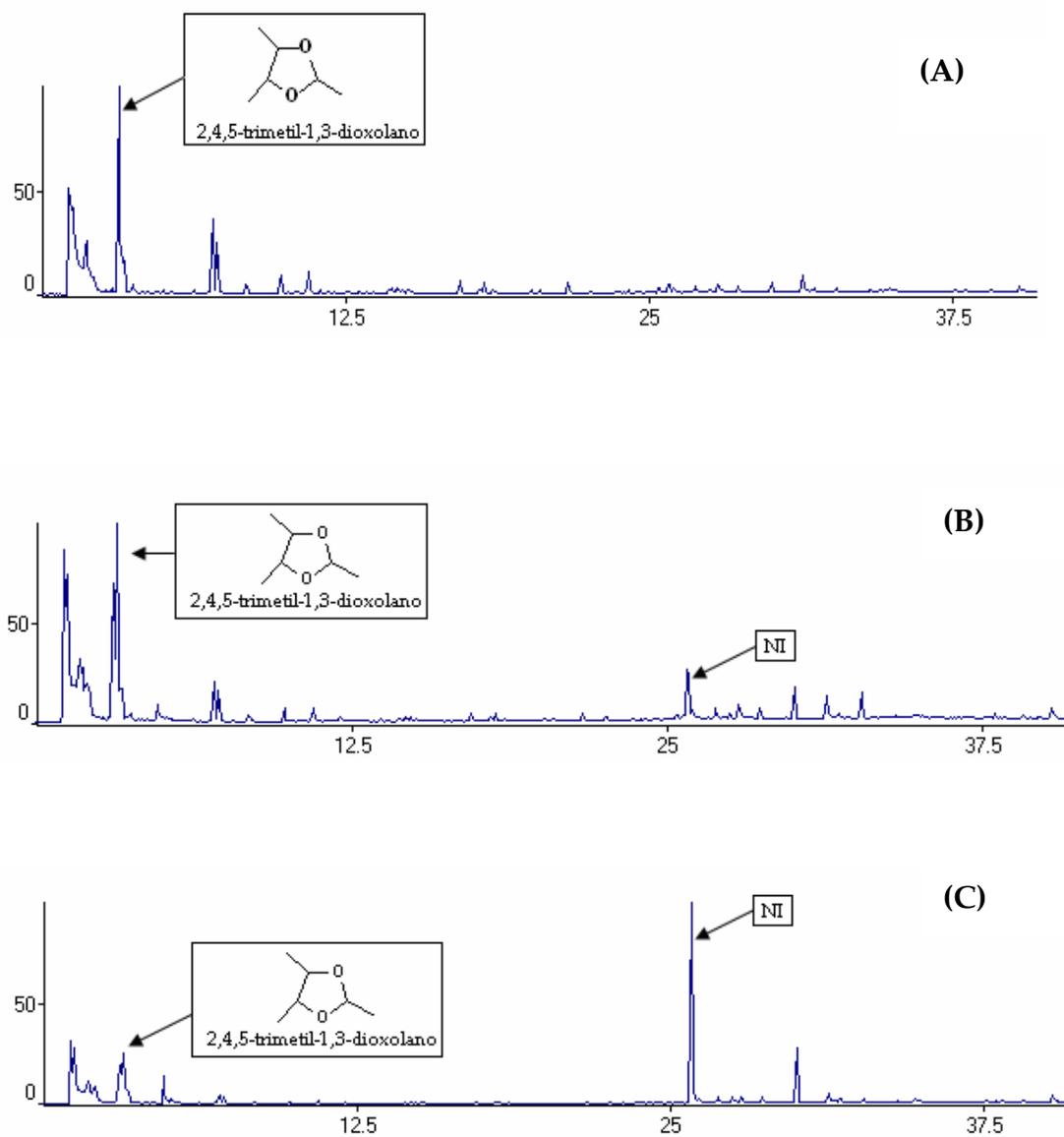
Na polpa industrializada, apesar dos resultados obtidos não apresentarem uma variação significativa para os compostos estudados, foi possível observar que o tempo de 40 minutos foi o tempo ótimo para extração nestas amostras, especialmente para recuperação do 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano e do acetato de 3-metil-3-buten-1-ila.



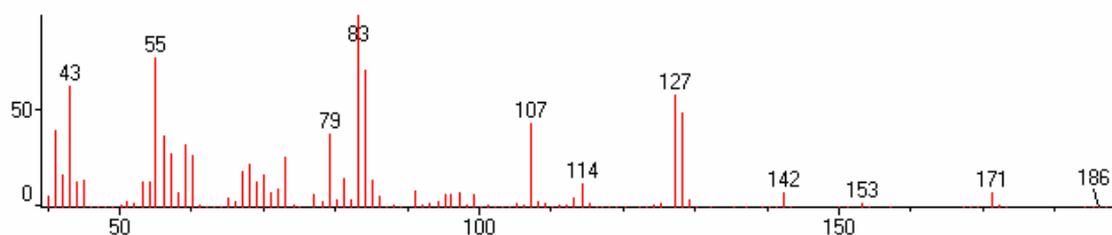
**Figura 45.** Gráfico em coluna do tempo de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários da polpa industrializada.

Com relação à temperatura de extração (Figura 46, Tabela 21), pela análise dos cromatogramas, observa-se que a medida que a temperatura aumenta, a área do pico do 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano, que é o composto majoritário à temperatura ambiente, diminui de intensidade, enquanto a área do pico do composto não identificado (compostos 17 na Tabela 21) aumenta, especialmente quando a temperatura atinge 60°C, tornando-se

composto majoritário. O espectro de massas deste composto esta apresentado na Figura 47.



**Figura 46.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração: (A) ambiente; (B) 40°C e (C) 60°C.



**Figura 47.** Espectro de massas do composto não identificado (composto número 17 da tabela 21).

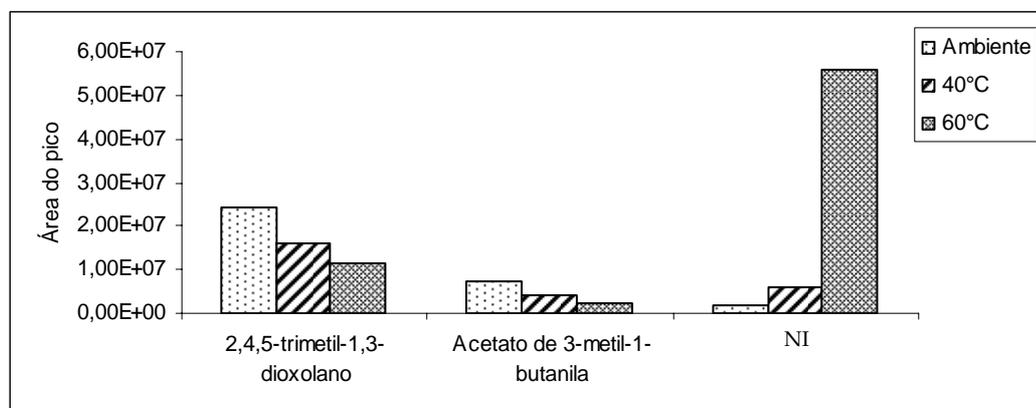
Na polpa industrializada, portanto, a recuperação dos voláteis variaram muito em relação a temperatura de extração. Desta forma, utilizou-se a área dos picos 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano (12,1-43,7%), acetato de 3-metil-1-butanila (2,4-12,9%) e composto não identificado (composto número 17 na Tabela 21) (3,3-60,2%), como parâmetro para construção do gráfico da figura 48.

**Tabela 21.** Composição percentual relativa dos compostos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPME, variando-se a temperatura de extração.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	Temperatura Ambiente	40°C	60°C
1	747	745 <sup>[60]</sup>	2,4,5-trimetil -1,3-dioxolano	43,0	43,7	12,1
2	873	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	12,7	12,9	2,4
3	879	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	10,4	10,6	2,2
4	914	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	0,3	0,1	0,3
5	945	-	NI	3,2	3,3	0,7
6	979	-	NI	3,5	-	-
7	1007	1008	Acetato de hexenila	1,2	3,6	0,2
8	1024	1031	Limoneno	0,7	1,2	0,4
9	1091	1091	2-nonanona	0,5	0,8	-
10	1094	1091	Benzoato de metila	1,0	1,3	0,4
11	1099	-	3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol	1,2	0,4	0,6
12	1106	1098	Nonanal	1,5	-	-
13	1113	-	NI	0,4	-	-
14	1169	1170	Benzoato de etila	0,3	-	-
15	1196	1195	Octanoato de etila	2,2	2,3	-

16	1291	1192	2-decanona	0,3	-	-
17	1412	-	NI	3,3	3,4	60,2
18	1422	1418	$\beta$ -cariofileno	1,3	1,3	-
19	1463	1463	$\gamma$ -Decalactona	1,7	1,8	1,7
20	1473	1473	Dodecanol	4,6	-	-
21	1543	-	NI	2,9	6,2	15,5
<b>TOTAL</b>				<b>96,2</b>	<b>92,9</b>	<b>96,7</b>

Analisando o gráfico da Figura 48, observa-se que na temperatura ambiente o composto com a melhor recuperação foi o 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano, no entanto, quando a temperatura passa de ambiente para 60°C, o composto não identificado (compostos número 17 da tabela 21) passa a ser o composto majoritário. Desta forma, ficou definido que a temperatura ótima de extração seria aquela que a recuperação dos compostos fosse a melhor para a maioria dos compostos, a qual seria a temperatura ambiente.



**Figura 48.** Gráfico em colunas da variação da temperatura de extração *versus* área do pico dos compostos majoritários da polpa industrializada.

Definidos os perfis de extração, realizou-se as análises da polpa industrializada nos parâmetros otimizados através de cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chamas (Tabela 22).

Na polpa industrializada foi possível detectar 19 compostos, dos quais 16 foram identificados, sendo o 2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano (42,5-51,9%) o

composto mais abundante. Os ésteres também foram identificados (47,7% do total dos voláteis identificados) destacando-se o acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (22,9-29,0%) e o acetato de 3-metil-1-butanila (4,9-5,3%). Estes ésteres também foram os compostos com maior abundância verificados pela técnica do *headspace* dinâmico na polpa industrializada.

**Tabela 22.** Composição percentual dos compostos voláteis da polpa industrializada de *H. speciosa* realizada através de SPME e GC-FID.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	1	2	3	Média± RSD
1	747	745 <sup>[60]</sup>	2,4,5-trimetil -1,3-dioxolano	42,5	51,9	48,9	47,8±4,8
2	873	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	17,6	15,5	18,7	17,3±1,6
3	879	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	29,0	22,9	23,6	25,2±3,3
4	914	919 <sup>[60]</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	5,3	4,9	5,3	5,2±0,2
5	945	-	NI	0,1	0,1	0,1	0,1±0
6	1007	1008	Acetato de hexenila	0,2	1,0	0,1	0,4±0,5
7	1024	1031	Limoneno	0,1	0,1	0,2	0,1±0,006
8	1091	1091	2-Nonanona	0,1	-	0,1	0,1±0,06
9	1094	1091	Benzoato de metila	0,9	0,1	0,3	0,4±0,4
10	1101	1103	Isovalerato de isopentila	0,1	0,1	0,1	0,1±0
11	1106	1098	Nonanal	0,6	0,1	0,1	0,3±0,3
13	1169	1170	Benzoato de etila	0,1	0,1	0,1	0,1±0
14	1196	1195	Octanoato de etila	0,7	0,7	0,1	0,5±0,3
15	1412	-	NI	0,1	0,1	0,1	0,1±0
16	1422	1418	β-cariofileno	0,1	0,1	0,1	0,1±0
17	1463	1463	γ-Decalactona	0,1	0,1	0,2	0,1±0,06
18	1473	1473	Dodecanol	0,1	0,2	0,2	0,2±0,06
19	1543	-	NI	0,1	0,2	0,2	0,2±0,06
<b>TOTAL</b>				<b>97,8</b>	<b>98,2</b>	<b>98,5</b>	<b>97,9-98,5</b>

#### 6.4 Extração em fase sólida

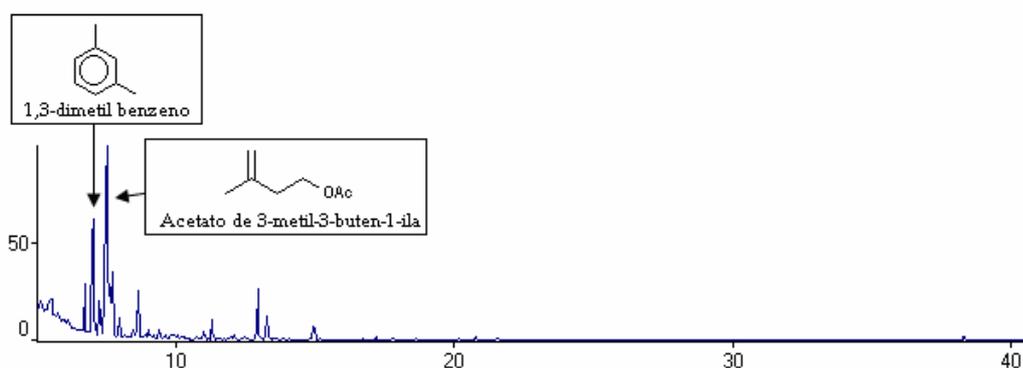
No desenvolvimento desse trabalho testou-se exaustivamente algumas metodologias propostas para extração de voláteis por SPE nos frutos maduros e verde, muitas sem resultados satisfatórios.

Dentre as metodologias testadas, a primeira foi realizada com base nos trabalhos desenvolvidos por Kubota [37] e Hayata [70], que utilizaram como fase sólida o polímero poroso Porapak Q. Nestes procedimentos, inicialmente deixava-se o fruto imerso em metanol e, em seguida, realizava-se a centrifugação com posterior eluição do sobrenadante em coluna de vidro (15cm de comprimento x 0,5cm de diâmetro interno) recheada com o polímero previamente condicionado com solução de metanol (1:9). Depois de eluída a amostra, a coluna era lavada com a solução de metanol (1:9) e água destilada e para dessorção dos voláteis era utilizado diclorometano e a análise realizada por CG-EM. Com este procedimento não foi possível isolar os voláteis presentes nos frutos de *H. speciosa*.

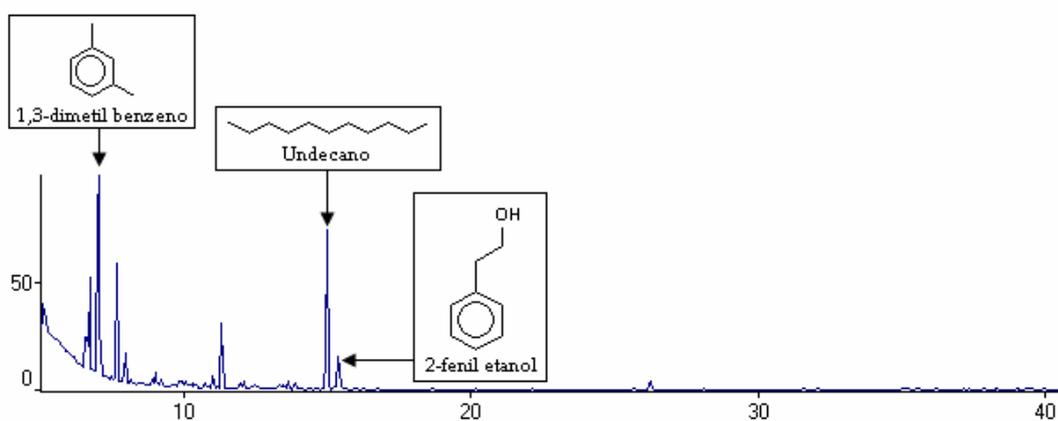
Uma outra metodologia desenvolvida para o isolamento dos voláteis da mangaba por SPE foi realizada com base no trabalho de Radulescu [63]. Desta forma, preparou-se inicialmente uma infusão do fruto com água à 100°C e após 30 minutos, realizou-se a centrifugação com posterior eluição do sobrenadante em coluna de porapak Q, previamente condicionada. A dessorção dos voláteis foi realizada com diclorometano e ao eluato adicionou-se sulfato de sódio anidro, que após filtração foi analisado por CG-EM (ver detalhes desta metodologia no item 5.4).

Os extratos obtidos por este procedimento apresentavam cheiro bastante agradável e adocicado para o fruto maduro e para o fruto verde os extratos possuíam cheiro de “grama cortada”. As análises, por este procedimento, dos frutos verde e maduro de *H. speciosa* estão apresentados nas Figuras 49 e 50, respectivamente.

Analisando-se os cromatogramas, pôde-se observar a presença de vários picos, tanto no cromatograma do fruto maduro quanto do fruto verde, os quais foram atribuídos à compostos interferentes, destacando-se principalmente o 1,3-dimetil benzeno e o etil benzeno. Esse interferentes não estavam presentes na análise do branco dos adsorventes, que era realizado antes do condicionamento do cartucho de extração.



**Figura 49.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPE.



**Figura 50.** Cromatograma de íons totais representativo dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos pela técnica de SPE.

Na Tabela 23 estão apresentados os compostos voláteis identificados pela técnica de SPE no fruto maduro. Assim, dos 17 compostos identificados 4 deles já haviam sido identificados pelas técnicas de SPME, *headspace* dinâmico e hidrodestilação, que foram: acetato de butanila (1,2%), acetato de

de 3-metil-1-butanila (3,1%), acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (44,1%) e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila (4,6%). Os 13 compostos restantes são os compostos interferentes, representando 44,8% do total dos compostos identificados, destes os principais foram o 1,3-dimetil benzeno (17,4%), 1,2-dimetil benzeno (14,3%) e o etil benzeno (3,7%).

**Tabela 23.** Percentagem relativa em área dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* obtidos através de SPE e CG-EM.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	%
1	800	800	Octano	0,8
2	815	-	2,5,5-trimetil hexeno	0,4
3	820	812	<b>Acetato de 1-butanila</b>	<b>1,2</b>
4	861	-	Etil benzeno	3,7
5	854	-	1,3-dimetil benzeno	17,4
6	870	876	<b>Acetato de 3-metil-1-butanila</b>	<b>3,1</b>
7	878	883	<b>Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila</b>	<b>44,1</b>
8	882	-	1,2-dimetil benzeno	6,4
9	900	900	Nonano	1,5
10	919	919 <sup>[60]</sup>	<b>Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila</b>	<b>4,6</b>
11	923	-	3-metil nonano	1,1
12	935	-	4-metil-1-hepteno	1,2
13	958	-	1,2,4-trimetil benzeno	0,9
14	1000	1000	Decano	2,0
15	1044	-	1,2-dimetil benzeno	5,3
16	1052	-	1,2-dimetil benzeno	2,6
17	1100	1100	Undecano	1,5
<b>TOTAL</b>				<b>97,8</b>

Na Tabela 24 estão apresentados os compostos identificados no fruto verde através de SPE. Novamente os compostos interferentes tiveram uma maior predominância nestas análises, sendo o 1,3-dimetil benzeno o mais abundante (33,7%). No fruto verde, dos 12 compostos identificados 3 deles já haviam sido identificados quando as técnicas de hidrodestilação, *headspace*

dinâmico e SPME foram utilizadas, que foram: (2E)-hexenal(3,2%), (3Z)-hexenol (2,9%) e 2-fenil etanol (6,0%).

**Tabela 24.** Percentagem relativa em área dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa* obtidos através de SPE e CG-EM.

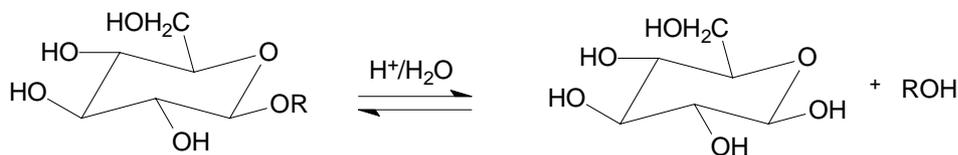
	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	%
1	847	854	(2E)-hexenal	3,2
2	849	859	(3Z)-hexenol	2,9
3	828	-	Etil benzeno	7,3
4	836	-	1,3-dimetil benzeno	33,7
5	858	-	1,2-dimetil benzeno	11,4
6	865	-	NI	2,7
7	900	900	Nonano	1,9
8	958	-	1,2,4-trimetil benzeno	1,4
9	1000	1000	Decano	6,9
11	1100	1100	Undecano	20,2
12	1119	1110	2-fenil etanol	6,0
<b>TOTAL</b>				<b>97,6</b>

Acreditando-se que estes interferentes poderiam ser originados a partir do polímero adsorvente, realizamos um tratamento para o Porapak Q utilizado, eluindo diclorometano e metanol seguido de aquecimento à 150°C, seguindo o procedimento descrito para condicionamento do cartucho de extração utilizado na técnica de *headspace* dinâmico (mais detalhes no item 5.2). Infelizmente, os resultados obtidos não foram diferentes dos descritos sem a limpeza prévia do adsorvente.

## 6.5 Hidrólise ácida

No estudo dos aromas ligados glicosidicamente, inicialmente verificamos a liberação das agliconas via hidrólise ácida utilizando HCl 0,1 mol/L, seguindo o procedimento de Tressi[43] com algumas modificações. A

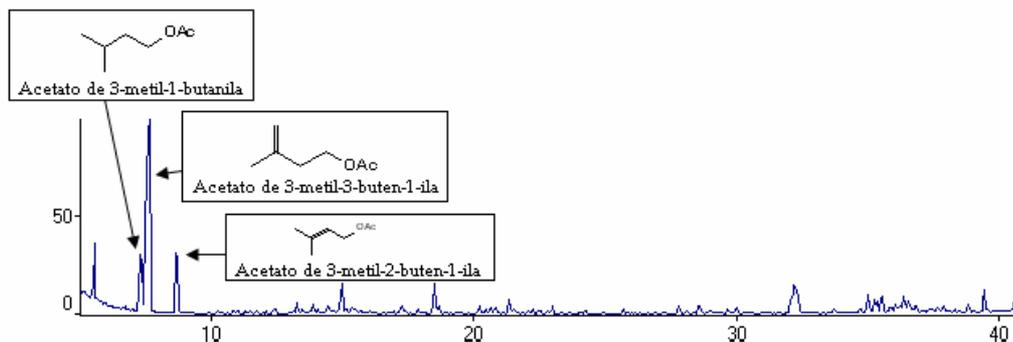
reação geral de liberação das agliconas via hidrólise ácida pode ser observada na Figura 51.



**Figura 51.** Reação geral de liberação das agliconas via hidrólise ácida.

A metodologia desenvolvida, foi aplicada inicialmente para o fruto maduro e para separação da fração ligada glicosidicamente foi utilizado como sólido adsorvente Porapak Q. No entanto, nestas análises foi verificado novamente a presença dos mesmos interferentes encontrados no procedimento através de SPE (1,3-dimetil benzeno, etil benzeno e 2,5,5-trimetil hexeno), sendo que em apenas um dos procedimentos testados esses interferentes não foram detectados.

As análises dos voláteis do fruto maduro obtidos após hidrólise ácida, nos permitiu detectar 23 compostos, dos quais 21 foram identificados, sendo observada a predominância de ésteres tais como: acetato de acetato de 3-metil-3-buten-1-ila (44,3%) e o acetato de 3-metil-1-butanila (8,1%). Também foram identificados monoterpenos oxigenados: óxido de *cis* linalol (piranóide) (0,3%), óxido de *trans* linalol (piranóide) (0,5%), óxido de *cis* linalol (furanóide) (1,2%), óxido de *trans* linalol (furanóide) (1,2%) e linalol (0,4%); e álcoois, representados pelo 2-fenil etanol (0,8%) (Figura 52, Tabela 25).



**Figura 52.** Cromatograma de íons totais representativo obtidos pela hidrólise ácida do fruto maduro de *H. speciosa*.

**Tabela 25.** Composição percentual relativa dos voláteis do fruto maduro de *H. speciosa* após hidrólise ácida com HCl 0,1mol/L.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	%
1	819	812	Acetato de 1-butila	3,4
2	870	876	Acetato de 3-metil-1-butanila	8,1
3	879	883	Acetato de 3-metil-3-buten-1-ila	44,3
4	912	919 <sup>60l</sup>	Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila	4,1
5	952	962	5-metil furfural	0,3
6	1004	1004	Acetato de (3Z)-hexenila	0,3
7	1001	1008	Acetato de hexenila	0,4
8	1011	-	2-etil-1-hexanol	0,2
9	1069	1074	Óxido de <i>cis</i> -linalol (furanóide)	1,2
10	1085	1088	Óxido de <i>trans</i> -linalol (furanóide)	1,2
11	1102	1098	Linalol	0,4
12	1099	-	NI	2,7
13	1110	1110	2-Fenil etanol	0,8
14	1162	1174	Óxido de <i>cis</i> -linalol (piranóide)	0,3
15	1174	1177	Óxido de <i>trans</i> -linalol (piranóide)	0,5
16	1195	1189	$\alpha$ -Terpineol	3,1
17	1204	1204	Decanal	tr
18	1249	1255	Geraniol	0,5
19	1259	-	1-(4-etilfenil)-Etanona	0,7
20	1356	1360	$\gamma$ -Nonalactona	0,4
21	1376	1380	$\beta$ -(E)-Damascenona	tr
22	1462	1463	$\gamma$ -Decalactona	0,8
23		-	NI	11,8
<b>TOTAL</b>				<b>85,5</b>

Diante destes resultados, outros experimentos foram realizados, seguindo o mesmo procedimento, porém os resultados obtidos não foram reprodutíveis, obtendo-se a presença dos interferentes descritos

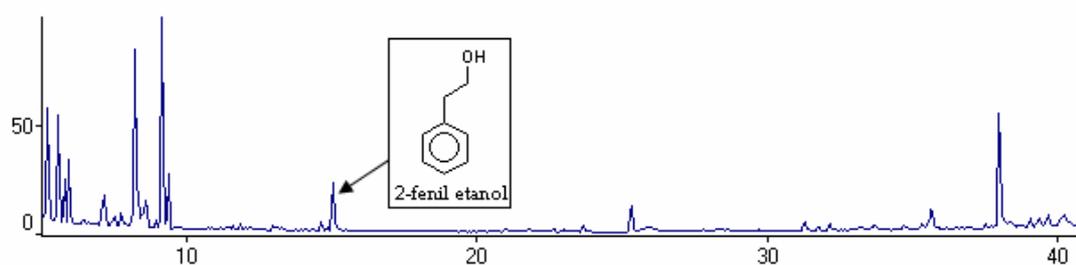
anteriormente. Portanto, como os resultados não foram satisfatórios, a hidrólise ácida não foi realizada para o fruto de mangaba em outros estádios de maturação (verde e “de vez”).

### 6.6 Hidrólise enzimática

O procedimento desenvolvido para determinação dos compostos ligados glicosidicamente via hidrólise enzimática, foi aplicado para os frutos verde e maduro. No entanto, para o fruto maduro os resultados obtidos não foram satisfatórios.

Após hidrólise enzimática foi possível isolar alguns compostos do fruto verde tais como o 2-fenil etanol (6,3%), identificado quando as técnicas de hidrodestilação, *headspace* dinâmico e SPME foram utilizadas, e outros compostos como o eugenol (1,1%), metil eugenol (2,7%) e o miristato de isopropila (5,4%) que só foram identificados após a realização da hidrólise enzimática.

A análise cromatográfica (Tabela 26, Figura 53) mostra vários picos, os quais foram atribuídos a compostos interferentes presentes na amostra, sendo o interferente principal o 2,5,5-trimetil-2-hexeno, e que não fazem parte da constituição dos voláteis liberados via hidrólise enzimática e esses compostos não estão correlacionados à compostos voláteis encontrados em frutas.

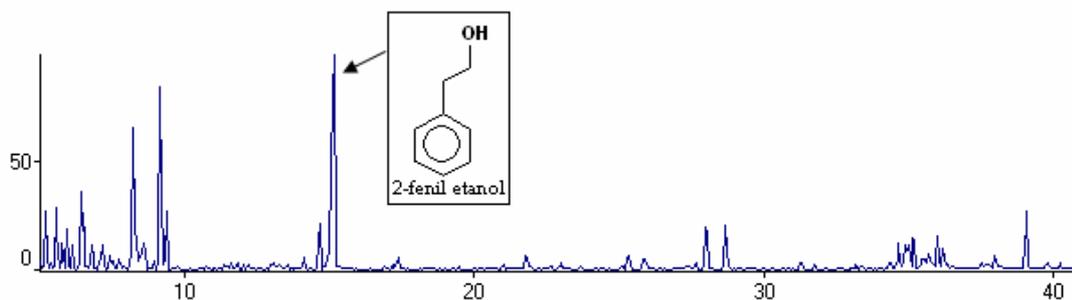


**Figura 53.** Cromatograma de íons totais representativo dos compostos do fruto verde após hidrólise enzimática.

**Tabela 26.** Compostos identificados após liberação das agliconas via hidrólise enzimática.

	IR <sup>C</sup>	IR <sup>L</sup>	Composto	%
1	819	-	2,5,5-trimetil-2-hexeno	5,5
2	829	-	2,5,5-trimetil-2-hexeno	5,4
3	835	-	3,5,5-trimetil-1-hexeno	2,5
4	839	-	2,3,3-trimetil-1-hexeno	3,7
5	873	-	1-butil ciclohexano	0,7
6	875	-	2,2-dimetil-3-deceno	2,5
7	907	-	Ciclopentano-1,2-diol	10,3
8	910	-	2,5-dimetil-3-etil-3-hexeno	3,6
9	919	-	2,3,4-trimetil pentano	3,5
10	921	-	2,3,4-trimetil pentano	17,8
11	945	-	2,3,4-trimetil pentano	3,3
12	1022	-	2,3,4-trimetil hexano	0,6
13	1053	-	5,7-trimetil undecano	0,4
14	1098	-	4,6,8-trimetil nonano	0,9
<b>15</b>	<b>1110</b>	<b>1108</b>	<b>2-fenil etanol</b>	<b>6,3</b>
<b>16</b>	<b>1349</b>	<b>1356</b>	<b>Eugenol</b>	<b>1,1</b>
<b>17</b>	<b>1397</b>	<b>1401</b>	<b>Metil eugenol</b>	<b>2,7</b>
18	1598	-	Tridecano	0,7
19	1609	1611	Tetradecanal	1,1
<b>20</b>	<b>1701</b>	-	<b>NI</b>	<b>5,4</b>
21	1782	1774	Pentadecanal	17,4
<b>TOTAL</b>				<b>95,4</b>

Pelo procedimento desenvolvido, foi possível isolar também a fração livre dos voláteis do fruto verde, e os resultados estão apresentados na Tabela 27 e na Figura 54. Novamente, na análise cromatográfica da fração livre do fruto verde, pôde-se observar os mesmos picos dos interferentes presentes no início da corrida cromatográfica da fração ligada.



**Figura 54.** Cromatograma de íons totais representativo da fração livre dos voláteis do fruto verde de *H. speciosa*.

No entanto, na fração livre dos 28 compostos identificados 8 deles já haviam sido extraídos pelas técnicas de hidrodestilação, *headspace* dinâmico e SPME, que foram: (2*E*)-hexenal (0,6%), (3*Z*)-hexenol (0,4%), benzoacetaldeído (0,5%), óxido de *cis* linalol (furanóide)(0,2%), óxido de *trans* linalol (furanóide) (0,4%), 2-fenil etanol (35,9%), óxido de *cis* linalol (piranoide) (0,4%), óxido de *trans* linalol (piranoide) (0,9%). Além disso, observou-se ainda a presença de vanilina (0,4%), um composto que ainda não havia sido extraído quando as outras técnicas de extração foram utilizadas. Os compostos interferentes na fração livre foram similares aos identificados na fração ligada, mas, o 2-fenil etanol foi o composto majoritário, representando 35,9% do total dos compostos identificados.

**Tabela 27.** Composição percentual relativa dos voláteis a fração livre do fruto de *H. speciosa* no estágio verde.

	IR <sup>c</sup>	IR <sup>l</sup>	Composto	%
1	819	-	2,5,5-trimetil-2-hexeno	2,6
2	829	-	2,5,5-trimetil-2-hexeno	2,5
3	835	-	3,5,5-trimetil-1-hexeno	1,6
4	839	-	2,3,3-trimetil-1-hexeno	0,3
5	852	854	(2 <i>E</i> )-hexenal	3,6
6	854	859	(3 <i>Z</i> )-hexenol	0,4
7	873	-	1-butil ciclohexano	1,1
8	907	-	Ciclopentano-1,2-diol	7,5
9	910	-	2,5-dimetil-3-etil-3-hexeno	2,6
10	919	-	2,3,4-trimetil pentano	2,7

11	921	-	2,3,4-trimetil pentano	tr
12	945	-	2,3,4-trimetil pentano	14,1
13	1021		2,3,4-trimetil hexano	2,8
14	1041	1043	<b>Benzenoacetaldeído</b>	<b>0,5</b>
15	1069	1074	<b>Óxido de <i>cis</i> linalol (furanoide)</b>	<b>0,2</b>
16	1085	1088	<b>Óxido de <i>trans</i> linalol (furanoide)</b>	<b>0,4</b>
17	1098	-	4,6,8-trimetil nonano	0,8
18	1113	1110	<b>2-fenil etanol</b>	<b>35,9</b>
19	1169	1174	<b>Óxido de <i>cis</i> linalol (piranoide)</b>	<b>0,4</b>
20	1174	1177	<b>Óxido de <i>trans</i> linalol (piranoide)</b>	<b>0,9</b>
21	1273		Hexadecano	0,3
22	1295		Nonano	1,7
23	1329		Tetradecano	0,5
24	1391	1391	<b>Vanilina</b>	<b>0,4</b>
25	1397		NI	1,0
26	1479		NI	3,5
27	1499		NI	3,2
28	1782	-	Octadecanal	1,3
<b>TOTAL</b>				<b>92,8</b>

Melhores resultados devem ser obtidos, quando novas metodologias otimizadas forem desenvolvidas para o isolamento dos compostos ligados glicosidicamente de *H. speciosa*.

### 6.7 Considerações finais

Na Tabela 28, estão apresentadas as estruturas dos compostos majoritários obtidos pelas diversas técnicas utilizadas no desenvolvimento deste trabalho.

Os monoterpenos foram os compostos mais abundantes no fruto verde pela técnica de hidrodestilação, destacando-se o linalol, que foi o principal constituinte. Outros monoterpenos também foram identificados tais como o óxido de *cis* linalol, óxido de *trans* linalol e o  $\alpha$ -terpineol, sendo que esses compostos também estavam presentes no fruto “de vez” e na polpa

industrializada, e já foram identificados em outros frutos: uva[71], pitanga[29], damasco[72], pêsego[73] e goiaba[74].

O furfural, isolado pela técnica de hidrodestilação, foi o maior constituinte da polpa industrializada e identificado também no fruto maduro e intermediário, e também já foi isolado de frutos tropicais como o tamarindo[75].

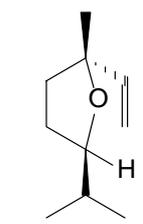
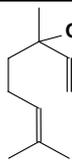
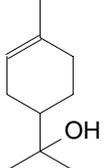
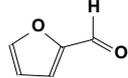
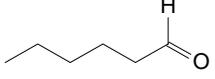
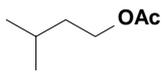
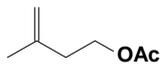
No fruto verde, pela técnica do *headspace* dinâmico, o maior constituinte identificado foi o (3Z)-hexenol e o 2-fenil etanol. O acetato de etila, foi um composto identificado somente pela técnica de SPME, mas é constituinte de outros frutos tais como o cupuassu[76], seriguela[33], umbu-  
caja[28].

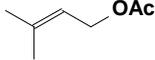
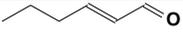
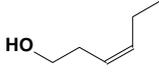
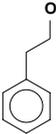
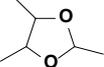
O hexanal, foi uns dos compostos majoritários identificados na polpa industrializada por hidrodestilação e no fruto “de vez” por *headspace* dinâmico.

Os ésteres foram os compostos predominantes no fruto maduro, em todas as técnicas de extração utilizadas. Assim acreditamos que eles sejam os principais compostos responsáveis pelo aroma da mangaba.

**Tabela 28.** Principais compostos voláteis majoritários encontrados nos frutos de *H.speciosa* obtidos pelas técnicas de hidrodestilação, *headspace* dinâmico, SPME.

Estrutura	Estádio de maturação	Técnica de extração/ percentagem relativa
 Óxido de <i>cis</i> linalol	Verde	Hidrodestilação (12,8%)
	“de vez”	Hidrodestilação (9,2%)
	Polpa industrializada	Hidrodestilação (4,0%)

 Óxido de <i>trans</i> linalol	Verde	Hidrodestilação (8,4%)
 Linalol	Verde	Hidrodestilação (17,8%)
	“de vez”	Hidrodestilação (17,3%)
	Polpa industrializada	Hidrodestilação (4,1%)
 α-terpineol	Verde	Hidrodestilação (9,9%)
	“devez”	Hidrodestilação (13,2%)
 Furfural	“de vez”	Hidrodestilação (19,9%)
	Maduro	Hidrodestilação (27,8%)
	Polpa industrializada	Hidrodestilação (43,0%)
 Hexenal	Polpa industrializada	Hidrodestilação (10,6%)
	“de vez”	<i>Headspace</i> dinâmico (8,5%)
 Acetato de 3-metil-3- butanila	“de vez”	<i>Headspace</i> dinâmico (5,5%) SPME (14,8%)
	Maduro	Hidrodestilação (3,4%) <i>Headspace</i> dinâmico (8,2%) SPME (7,4%)
	Polpa industrializada	<i>Headspace</i> dinâmico (18,8%) SPME (17,3%)
 Acetato de 3-metil-3- buten-1-ila	Maduro	Hidrodestilação (38,7%) <i>Headspace</i> dinâmico (79,5%) SPME (82,3%)
	“de vez”	<i>Headspace</i> dinâmico (52,8%) SPME (65,0%)
	Polpa industrializada	Hidrodestilação (4,5%) <i>Headspace</i> dinâmico (55,8%) SPME (25,2%)

 <p>Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila</p>	Maduro	Hidrodestilação (3,8%) <i>Headspace</i> dinâmico (9,7%) SPME (8,0%)
<p>Acetato de 3-metil-2-buten-1-ila</p>	"de vez"	<i>Headspace</i> dinâmico (17,6%) SPME (13,4%)
	Polpa industrializada	<i>Headspace</i> dinâmico (14,2%) SPME (5,2%)
 <p>(2E)-hexenal</p>	Verde	<i>Headspace</i> dinâmico (17,5%)
 <p>(3Z)-hexenol</p>	Verde	<i>Headspace</i> dinâmico (39,9%)
Acetato de etila	Verde	SPME (6,9%)
 <p>Fenil etanol</p>	Verde	<i>Headspace</i> dinâmico (24,2%)
 <p>2,4,5-trimetil-1,3-dioxolano</p>	Polpa industrializada	SPME (47,8%)

## CAPITULO VII

---

**Conclusão**

## 7. Conclusão

- ✓ Os compostos voláteis dos frutos de *H. speciosa* nos três estádios de maturação e na polpa industrializada foram caracterizados pela primeira vez utilizando as técnicas da hidrodestilação, *headspace* dinâmico e SPME.
- ✓ A composição química dos compostos voláteis variaram a depender do estágio de maturação do fruto, sendo que os voláteis dos frutos maduros, “de vez” e da polpa industrializada foram caracterizados principalmente por ésteres, enquanto o fruto verde foi caracterizado pela presença de monoterpenos e álcoois.
- ✓ No fruto verde, pela técnica da hidrodestilação os voláteis foram representados principalmente por monoterpenos oxigenados: linalol, óxido de *cis*-linalol, óxido de *trans*-linalol. Nas técnicas do *headspace* dinâmico e SPME, os álcoois foram os compostos predominantes, destacando-se (3Z)-hexenol e 2-fenil etanol.
- ✓ No fruto maduro, os ésteres foram os compostos predominantes na sua composição química, utilizando as três técnicas de extração estudadas, sendo os principais constituintes: acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila.
- ✓ No fruto “de vez”, utilizando a hidrodestilação, a composição dos voláteis foi caracterizada pela presença de aldeídos furfural e hexanal, os monoterpenos também foram identificados: linalol,  $\alpha$ -terpineol, geraniol, enquanto nas técnicas do *headspace* dinâmico e SPME, estes

compostos não foram identificados e a composição dos voláteis ficou similar ao do fruto maduro, representada principalmente pelos ésteres: acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila.

- ✓ Os voláteis da polpa industrializada também foram caracterizados pela presença de ésteres em sua composição. Novamente os mais abundantes foram: acetato de 3-metil-1-butanila, acetato de 3-metil-3-buten-1-ila e acetato de 3-metil-2-buten-1-ila.
- ✓ Os resultados obtidos com as hidrólises ácida e enzimática não foram satisfatórios para a caracterização dos compostos ligados glicosidicamente dos frutos de *H. speciosa*.
- ✓ De maneira geral, as técnicas de extração utilizadas foram úteis para determinar os compostos voláteis presentes nos frutos e na polpa industrializada de *H. speciosa* podendo ser utilizadas isoladamente ou de forma complementar no estudo de compostos voláteis de acordo com o objetivo que se deseja alcançar.
- ✓ Em nosso estudo foi possível, independente da técnica utilizada, verificar que há diferenças na composição dos frutos de mangaba de acordo com o estágio de maturação estudado, e que a composição dos voláteis da polpa industrializada foi similar a do fruto maduro.

## CAPITULO VIII

---

### Referências

## 8. REFERÊNCIAS

[1] LOPES, D. ; FRAGA, R; REZENDE, C. M. Principais substâncias responsáveis pelo aroma de mangas brasileiras identificadas por cromatografia gasosa de alta resolução/olfatometria/espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 22 , p. 31-36, 1999.

[2] SEIBEL, F. De olho no primeiro bilhão. Revista exame on-line 11/08/2005. Disponível em:  
<[http://portalexame.abril.com.br/degustacao/secure/degustacao.do?COD\\_SITE=35&COD\\_RECURSO=211&URL\\_RETORNO=http://portalexame.abril.uol.com.br/revista/exame/edicoes/0849/economia/m0080053.html](http://portalexame.abril.com.br/degustacao/secure/degustacao.do?COD_SITE=35&COD_RECURSO=211&URL_RETORNO=http://portalexame.abril.uol.com.br/revista/exame/edicoes/0849/economia/m0080053.html)>  
Acesso 15 jan. 2007.

[3] PEREIRA, P. Exportações de frutas em alta. Revista exame on-line 14/06/2006. Disponível em:  
<[http://portalexame.abril.com.br/degustacao/secure/degustacao.do?COD\\_SITE=35&COD\\_RECURSO=211&URL\\_RETORNO=http://portalexame.abril.com.br/revista/exame/edicoes/0869/anuarioagronegocio/m0082617.html](http://portalexame.abril.com.br/degustacao/secure/degustacao.do?COD_SITE=35&COD_RECURSO=211&URL_RETORNO=http://portalexame.abril.com.br/revista/exame/edicoes/0869/anuarioagronegocio/m0082617.html)>  
Acesso em 15 jan. 2007.

[4] FRUTICULTURA. Disponível em:  
<[http://www.embrapa.br/linhas\\_de\\_acao/alimentos/fruticultura/index\\_html/mostra\\_documento](http://www.embrapa.br/linhas_de_acao/alimentos/fruticultura/index_html/mostra_documento)> Acesso em 26 fev. 2007 .

[5] Disponível em  
< <http://www.camara.gov.br/sileg/integras/379492.pdf> > Acesso em 26 fev. 2007.

[6] PAGEL, GEOVANA. Mundo árabe é mercado potencial para fabricante de sucos. Disponível em:  
<<http://www.anba.com.br/noticia.php?id=8248>> . Acesso em 08 mar. 2007.

[7] FRANCO, M. R. B.; **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Varela, 2003.

[8] AUGUSTO, F.; LOPES, A. L.; ZINI, C. A.; Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances. **Trends in Analytical Chemistry**, v.22 , p. 160-168, 2003.

- [9] Químio sensores. QMCWEB 20/11/1999. Disponível em <<http://www.qmc.ufsc.br/qmcweb/exemplar16.html>> Acesso em 10 jan. 2007.
- [10] O olfato. Folha online 30/04/2003. Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/folha/treinamento/5sentidos/te3004200329.shtml>. Acesso em 24 jan. 2007.
- [11] NOGUEIRA, P. C. L.; Contribuição à química dos compostos voláteis e interações com os organismos receptores. **Tese de doutorado** – Unicamp – Campinas 2002, 211p.
- [12] BUCK, L.; AXEL, R. A novel multigene family encode odorante receptors: a molecular basis for odor recognition. **Cell**, v. 65, p. 175-187, 1991.
- [13] CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M. L.; MARQUES, M. C. S.; SHAN, A. Y. V.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A.C.B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. P. S.; Óleos essenciais. **Boletim de extensão** N°62, p. 1-43 Lavras/MG. Disponível em: < <http://www.editora.ufla.br>> Acesso em 10 dez. 2006.
- [14] ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B.; Headspace gás chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Bysonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chrtomatography A**, v. 985, p. 297-301, 2003.
- [15] MAMEDE, M. E. O.; PASTOR, G.M. Study of methods for extraction ol volatile compounds from fermented grape must. **Food Chemistry**, v. 96, p. 586-590, 2006.
- [16] PENNARUM, A. L.; PROST, C.; DAMAIMAY, M. Aroma extracts from oyster crassostetrea gigas: comparison of two extraction methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 299-304, 2002.
- [17] ACREE, T. E.; TERANISHI, R. **Flavor science: sensible principles and techniques**. Washington, D.C., American Chemical Society, 1993.
- [18] MARSILI, R.; **Techniques for analyzing food aroma**. New York, Marcel Dekker Inc., 1997.

- [19] SIDES, A.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19 , p. 322-329, 2000.
- [20] ANSARI, S. H.; ALI, M.; NEHUERUELA, A. V.; ALONSO, J. P. Characterization of volatile constituents of mango "Qalmi" (*Mangifera indica* L.) fruit. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, p.417-417, 2004.
- [21] MSAADA, K.; HOSNI, K.; TAARIT, M. B.; CHAHED, T.; KCHOUK, M. E.; MARZOUK, B.; Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1131-1134, 2007.
- [22] LOPEZ, E.F.; GOMEZ, E.F. Comparasion of solvents for determination of monoterpenos in wine using liquid-liquid extraction. **Chromatographia**, v.52, p. 798-802, 2000.
- [23] MAIA, J.G.S.; ANDRADE, E.H.; ZOGHBI, M.G. Aroma volatiles from two fruit varieties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Food Chemistry**, v. 85, p. 195-197, 2004.
- [24] AGELOPOLUS, N. G.; PICKETT, J. A. Headspace analysis in chemical ecology: effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, p. 1161-1172, 1998.
- [25] COLE, R. A.; The use of porous polymer for the collection of plant volatile. **Journal Science and Food Agriculture**, v. 31, p. 1242-1249, 1980.
- [26] FRANCO, M. R. B.; AMAYA, D.R.; LANÇAS, F. M. Compostos voláteis de três cultivares de manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p.165-169, 2004.
- [27] SOARES, F. D.; PEREIRA, T.; MARQUES, M. O. M.; MONTEIRO, A. R. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. **Food Chemistry**, v.100, p.15-21, 2007.
- [28] FRANCO, M. R.; SHIKAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) and cupuassu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p.1263-1265, 2000.

- [29] OLIVEIRA, A. L.; LOPES, R. B.; CABRAL, F. A.; EBERLIN, M. N.; Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). **Food Chemistry**, v.99, p. 1-5, 2006.
- [30] ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62. p. 2145-2148, 1990.
- [31] VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F.; Microextração em fase sólida. **Química nova**, v. 23, p. 523-530, 2000.
- [32] Lanças, F. M., **Extração em Fase sólida (SPE)** – São Carlos, RiMa, 2004.
- [33] OLIVEIRA, A. M.; PEREIRA, N. R.; MARSAIOLI Jr, A.; AUGUSTO, F. Studies on the aroma of cupuassu liquor by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1025, p.115-124, 2004.
- [34] ANTUNES, P. M. N. C.; BIZZO, H. R.; SILVA, A. S.; CARVALHO, C. P. S.; ANTUNES, O. A. C. Analysis of volatile composition of siriguela (*Spondias purpurea* L.) by solid phase microextraction (SPME). **LWT-Food Science and Technology**, v. 39, p. 437-443, 2006.
- [35] GUILLOT, S.; PEYTAVI, L.; BUREAU, S.; BOULANGES, R.; LEPOUTRE, J. P.; CROUZET, J.; GALINDO, S. S. Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas-chromatography-olfatometry. **Food Chemistry**, v. 96, p. 147-155, 2006.
- [36] MANEERAT, C.; HAYATA, Y.; KOZUKA, H.; SAKAMOTO, K.; OSAJIMA, Y. Application of the porapak Q column extraction method for tomato flavor volatile analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.3401-3404, 2002.
- [37] JIANG, L.; KUBOTA, K. Differences in the volatile components and their odor characteristics of green and ripe fruits and dried pericarp of Japanese pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4197-4203, 2004.

- [38] BOULANGER, R.; CROUZET, J.; Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuacu. **Food Chemistry**, v. 70, p. 463-470, 2000.
- [39] GUNATA, Y. Z.; BAYONE, C. L.; BAUMES, R. L.; CORDONNIER, R. E. The aroma of grapes. I Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grapes aroma components. **Journal of Chromatography**, v. 331, p.83-91, 1985.
- [40] STRAUSS, C. R.; GOODLE, P. R.; WILSON, B.; WILLIAMS, P. J. Application of droplet countercurrent chromatography in the analysis of conjugates forms of terpenoids, phenol and other constituents of grape juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 35, p. 519-524, 1987.
- [41] VOIRIN, S. G.; BAUMES, R. L.; SAPIS, J. V.; BAYONOVA, C. L. Analytical methods for monoterpene glycosides in grape and wine. II Qualitative and quantitative determination of monoterpene glycosides in grape. **Journal of Chromatography**, v. 595, p. 269-281, 1992.
- [42] ROSCHER, R.; HERDERICH, M.; STEFFEN, J. P.; SCHREIER, P.; SCHWAB, W. 2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone-6'-O-malonyl-D-glucopyranose in strawberry fruits. **Phytochemistry**, v. 43, p. 155-159, 1996.
- [43] ENGEL, K. H.; TRESSI, R. Formation of aroma components from nonvolatiles precursors in passion fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, p. 998-1002, 1983.
- [44] SAKHO, M.; CHASSAGNE, D.; CROUSET, J. African mango glycosidically bound volatile compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 883-888, 1997.
- [45] WU, P.; KUO, M. C.; HARTMAN, T. G.; ROSEN, R. T.; HO, C. T. Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Anana comosus* L. Merr). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 170-172, 1991.
- [46] CHYAU, C. C.; KO, P. T.; CHANG, C.; MAU, J. L. Free and glycosidically bound aroma compounds in lychee (*Litti chinensis* Sonn). **Food Chemistry**, v. 80, p. 387-392, 2003.
- [47] LALEL, H. J. D.; SINGH, Z.; TAN, S. C. Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of "Kinsigton Pride" mango

fruit at different stages of maturity. **Post Harvest Biology and Technology**, v. 29, p. 205-218, 2003.

[48] ANATHAKUMARA, A.; VARIYAR, P. S.; SHARNA, A. Estimation of aroma glycosides of nutmeg and their changes during radiation processing. **Journal of Chromatography A**, v. 1108, p. 252-257, 2006.

[49] SOLOMONS, G.; FRYHLE, C.; **Química Orgânica**, v. 2, 7ª edição, Rio de Janeiro: LTC 2002.

[50] GUNATA, Z.; SARRY, J. E.; Plant microbial glycoside hydrolases: volatile release from glycosidic aroma precursors. **Food Chemistry**, v.87, p. 509-521, 2004.

[51] THOMAS, G. **Química Medicinal – uma introdução**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

[52] BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): free and bound flavour compounds. **Food Chemistry**, v. 74, p. 209-216, 2001.

[53] SKOOG, D.A., HOLLER, F.J., NIEMAN, T.A. Princípios de análise instrumental, 5ª edição, Porto Alegre: Bookman, 2002.

[54] COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S., **Introdução a métodos cromatográficos**, 7ª. edição, São Paulo: Unicamp, 1997.

[55] NETO, F. R. A.; NUNES, D. S. S.; **Cromatografia – princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro: Interciência 2003.

[56] LANÇAS, F.M., **Cromatografia em fase gasosa**, 2 edição, São Paulo, v-2, p55-75, 1983.

[57] MORRISON, R. T., BOYD, R.N., **Química Orgânica**, 13 edição, p. 673-677, Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

[58] SOARES, F.P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D.R.G.; PAIVA, P.D.O. Cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). Boletim agropecuário n°67, p.1-12. Disponível em <<http://www.editora.ufla.br>> Acesso em 10 dez. 2006.

- [59] SOUZA, C. S., SILVA, S. A., COSTA, M. A. P. C., DANTAS, A. C. V. L., FONSECA, A. A. , COSTAS, C. A.L.C., ALMEIDA, W. A. B., PEIXOTO, C. P., Mangaba: perspectivas e potencialidades , **Bahia Agrícola** v. 7, 2005.
- [60] SAMPAIO, T. S.; NOGUEIRA, P. C. L., Volatile components of mangaba fruit (*Hancornia speciosa* Gomes) at three stages of maturity . **Food Chemistry** v. 95, p. 606-610, 2006.
- [61] **Emdagro** - Empresa de desenvolvimento Agrícola de Sergipe Aracaju/Sergipe - Cultura da mangabeira - Circular Técnica Número 2 - Jun/94 **Editora Abril** - São Paulo-SP - Guia Rural Plantar. Disponível em: <<http://www.bahia.ba.gov.br/seagri/Mangaba.htm>> Acesso em 15 mai. 2005.
- [62] SOUSA, A. L. D. E. V. R.; VALENTE, A. L. P.; SILVA, M. A. P. Análise de aroma de sapoti (*Acharas Sapota*, L.) pelas técnicas de SPME (microextração em fase sólida) e OSME (cromatografia olfatométrica). In. Reunião Anual da SBQ, Poços de Caldas, 23<sup>a</sup>., 2000, Poços de Caldas. **Anais...** 2000, p. 78-79.
- [63] RADULESCU, V.; CHILIMENT, S.; OPREA, E. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of *Salvia officinalis*. **Journal of Chromatography A**, v. 1027, p. 121-126, 2004.
- [64] VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P.D.J. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p.463-471,1963.
- [65]ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Allured Publishing: Illinois, USA. 1995.
- [66] ALVES, R.E.; CARNELOSSI, M.A.G.; SILVA, S.M.; FIGUEIREDO, R.W. (2003). Colheita e pós-colheita de mangaba. In Simpósio Brasileiro sobre a cultura da mangaba. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros.
- [67] VAN LOON, W.A.M.; LINSSEN, J.P.H.; LIGGER, A.; POSTHUMUS, M.A.; VORAGEM, A.G.J. Identification and olfactometry of French fries flavour extraction mouth condicions. **Food Chemistry**, v. 90, p. 417-425, 2005.

- [68] T. ACREE, H. ARN. Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products. 2004. Disponível em <<http://www.flavornet.org/flavornet.htm>> Acesso 20 fev. 2007.
- [69] SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Farmacognosia – da planta ao medicamento. Editora UFRGS/UFSC, 1999.
- [70] HAYATA, Y.; SAKAMOTO, T.; MANEERAT, C.; LI, X.; KOZUKA, H.; SAKAMOTO, K. Evaluation of aroma compounds contributing to muskmelon flavor in porapak Q extracts by aroma extract dilution analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.3415-3418, 2003.
- [71] PALOMA, E.S.; MAROTO, M.C.D.; COELHO, M.S.P. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. **Talanta**, v. 66, p.1152-1157, 2005.
- [72] GUILLOT, S.; PEYTAVI, L.; BUREAU, S.; BOULANGER, R.; LEPOUTRE, J. P.; CROUZET, J.; GALINDO, S. S. Aroma characterization of various apricot varieties using headspace-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas-chromatography-olfactometry. **Food Chemistry**, v. 96, p.147-155, 2006.
- [73] AUBERT, C.; MILHET, C. Distribution of the volatile compounds in the different parts of a white-fleshed peach (*Prunus persica* L. Batsch). **Food Chemistry**, v. 102, p.375-384, 2007.
- [74] SOARES, F. D.; PEREIRA, T.; MARQUES, M. O.; MONTEIRO, A. R. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. **Food Chemistry**, v.100, p.15-21, 2007.
- [75] CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Screening of tropical fruit volatile compounds using solid-phase microextraction (SPME) fibers and internally cooled SPME fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.8688-8696, 2006.
- [76] 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**, v. 873, p.117-127, 2000.



# 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](#)