

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**COMPOSTOS VOLÁTEIS IMPORTANTES PARA O
AROMA DE JENIPAPO (*Genipa americana* L.) E
MURICI (*Byrsonima crassifolia* L. RICH)**

Gisele Letícia Alves
Engenheira de Alimentos

Profa. Dra. Maria Regina Bueno Franco

Orientadora

Campinas-SP

2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

AL87i Alves, Gisele Letícia
Identificação dos compostos voláteis importantes para o
aroma de jenipapo (*Genipa americana* L.) e murici (*Byrsonima
crassifolia* L. RICH) por CG-EM e CG-OSME / Gisele Letícia
Alves. – Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientador: Maria Regina Bueno Franco
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Murici (*Byrsonima crassifolia* L. RICH) . 2.Jenipapo
(*Genipa americana* L.). 3.Espectrometria de massas.
4.Olfatometria. 5.Aroma. I.Franco, Maria Regina Bueno.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III.Título.

cars-fea

BANCA EXAMINADORA

Dra Deborah H. M. Bastos
membro

Dra Déborah dos Santos Garruti
membro

Dr. João Bosco Faria
membro

Dra Márcia Ortiz M. Marques
membro

Dra. Maria Aparecida A.P. da Silva
membro

Dra. Maria Regina Bueno Franco
membro

Dedico aos meus pais, José e Lúcia, com carinho.

Agradecimentos

A Deus, por guiar meus passos.

À Profa Dra Maria Regina Bueno Franco pela orientação, dedicação, disponibilidade e paciência, que tanto contribuíram para minha formação na área de aroma.

À Profa Dra Maria Aparecida Azevedo da Silva, pela orientação na parte sensorial.

Aos julgadores do teste Osme, pela paciência e colaboração.

À coordenadora de pós-graduação Helena Godoy pelas orientações acadêmicas, mas principalmente pela amizade.

Ao CNPq pela concessão da bolsa.

Ao apoio do Pronex (processo

Aos amigos do laboratório de Análise de Alimentos/ FEA (Betânia, Elenice, Neiva, Jesuí, Rodrigo e Roger) pelo companheirismo e experiência.

Aos amigos de sempre, Fara, Joely, Ana Claudia, Luís, Selma e Daniela.

À minha segunda casa em Campinas (Camila, Elizete, Juliana e Lísia), onde fui tão bem acolhida. Obrigada pelas longas conversas e pelo carinho.

A Deise e Maria Eugenia, compaheiras de nossa “quase república”

À Natália, pela colaboração em várias fases da tese, e pela amizade, companheirismo e alegria.

À Deborah Garruti, pela atenção e esclarecimentos sobre Osme.

Aos funcionários do Departamento de Ciências de Alimentos, pelos serviços prestados.

A Universidade Estadual de Maringá, campus de Umuarama, pelo apoio.

À Kelly e Eliane, pelo apoio e amizade.

Aos meus irmãos (Josi e Miguel), sobrinhos (Rafa e Martina) e avós (Domingos e Geny), por

Especialmente aos meus queridos pais, pela dedicação, colaboração e carinho.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMO GERAL	1
SUMMARY	3
INTRODUÇÃO GERAL	5
CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA	9
1.1 Pesquisa do sabor	11
1.1.1 Métodos de isolamento dos compostos voláteis	11
1.1.2 Separação e identificação de compostos voláteis	14
1.1.3 Cromatografia gasosa-olfatometria	15
1.2 Compostos voláteis de frutas exóticas	18
1.2.1 Bacuri (<i>Platonia insignis</i>)	19
1.2.2 Caju (<i>Anarcadium occidentale</i> L.)	20
1.2.3 Cupuaçu (<i>Theobroma grandiflora</i>)	22
1.2.4 Graviola (<i>Annona muricata</i>)	24
1.2.5 Jenipapo (<i>Genipa americana</i> L.)	25
1.2.6 Murici (<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Rich)	26
1.2.7 Umbu (<i>Spondias tuberosa</i> , Anarcadinaceae)	27
1.2.8 Umbu-cajá (<i>Spondias citherea</i>), araçá-boi (<i>Eugenia stipiata</i>) e camu-camu (<i>Myrciaria dubia</i>)	27
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
CAPÍTULO 2: PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO HEADSPACE DO SUCO DE MURICI E JENIPAPO	35
2.1 INTRODUÇÃO	37
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	38
2.2.1 Matéria prima e preparo das amostras	38
2.2.2 Isolamento dos compostos voláteis	39
2.2.2.1 Escolha do solvente utilizado para eluição dos voláteis do polímero poroso	39
2.2.2.2 Otimização do tempo de coleta dos voláteis das amostras de frutas	40
2.2.3 Análise sensorial dos isolados	40
2.2.3.1 Seleção dos provadores para o aroma de murici	40
2.2.3.2 Seleção dos provadores para o aroma de jenipapo	41
2.2.3.3 Análise do aroma dos isolados	41
2.2.4 Cromatografia gasosa	41
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
2.3.1 Seleção da equipe sensorial	42

2.3.2 Otimização das condições de isolamento dos voláteis	45
2.3.2.1 Escolha do solvente para eluição dos compostos voláteis	45
2.3.2.2 Escolha do tempo de captura	47
2.4 CONCLUSÕES	49
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

CAPITULO 3: HEADSPACE GAS CROMATOGRAPHY-MASS ESPECTROMETRY OF VOLATILE COMPOUNDS IN MURICI (<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Rich)	51
SUMMARY	53
3.1 Introduction	53
3.2. Material and Methods	54
3.2.1 Selection of the raw material and sample preparation	54
3.2.2 Isolation of the volatile compounds	54
3.2.3 Gas chromatography	54
3.2.4 Kovats Indices	55
3.2.5 Gas chromatography-mass spectrometry	55
3.2.6 Assignment of structures	55
3.3 RESULTS AND DISCUSSION	56
3.4 REFERENCES	59

CAPÍTULO 4: IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS IMPORTANTES PARA O AROMA DE MURICI (<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) RICH).....	61
RESUMO	63
SUMMARY	63
4.1 INTRODUÇÃO	64
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	66
4.2.1 Seleção da matéria-prima e preparo da amostra	66
4.2.2 Isolamento dos compostos voláteis	66
4.2.3 Cromatografia gasosa de alta resolução	66
4.2.4 CG-Olfatometria	67
4.2.4.1 Treinamento e seleção dos provadores	67
4.2.4.2 CG-Olfatometria	67
4.2.5 Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM)	69
4.2.6 Determinação dos índices de Kovats	69
4.2.7 Identificação dos compostos	69
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
4.3.1 Identificação dos compostos voláteis do <i>headspace</i> de murici por cromatografia gasosa-espectrometria de massas	70
4.3.2 Importância odorífera dos compostos voláteis do <i>headspace</i> de murici segundo cromatografia gasosa-Osme	75
4.3.3 Grau de consenso da equipe sensorial	83
4.4 CONCLUSÕES	89

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
CAPÍTULO 5: COMPOSTOS VOLÁTEIS DE JENIPAPO (<i>Genipa americana</i> L.)	93
RESUMO	95
SUMMARY	95
5.1 INTRODUÇÃO	96
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	99
5.2.1 Seleção da matéria-prima e preparo da amostra	99
5.2.2 Isolamento dos compostos voláteis	99
5.2.3 Cromatografia gasosa de alta resolução	99
5.2.4 Determinação dos índices de Kovats	100
5.2.5 Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM)	100
5.2.6 Identificação dos compostos	101
5.2.7 Cromatografia gasosa-olfatometria	101
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	103
5.3.1 Composição dos voláteis do <i>headspace</i> do jenipapo determinado por CG-DIC	103
5.3.2 Importância odorífera dos compostos voláteis do jenipapo segundo cromatografia gasosa-Osme	107
5.3.3 Grau de consenso da equipe sensorial de Osme	115
5.4 CONCLUSÕES	120
5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121
CONCLUSÕES GERAIS	125
ANEXOS	127

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Valores individuais de $p_{F \text{ amostra}}$ e $p_{F \text{ repetição}}$ dos provadores que participaram da seleção para compor a equipe sensorial para avaliação do aroma de murici	43
Tabela 2.2: Valores individuais de $p_{F \text{ amostra}}$ e $p_{F \text{ repetição}}$ dos provadores que participaram da seleção para compor a equipe sensorial para avaliação do aroma de jenipapo	44
Tabela 2.3: Intensidade de aroma característico de murici e de jenipapo nos isolados obtidos por duas horas de captura e eluídos com diferentes solventes	45
Tabela 2.4: Intensidade média de aroma de murici e número de picos cromatográficos obtidos em diferentes tempos de captura do <i>headspace</i> de suco de murici e eluição dos voláteis com acetona	48
Tabela 2.5: Intensidade média de aroma de jenipapo e número de picos cromatográficos obtidos em diferentes tempos de captura do <i>headspace</i> de suco de jenipapo e eluição dos voláteis com acetona	48
 Table 1: Volatile compounds (%) of sample murici (<i>Byrsonima crassifolia</i> L. Rich)	 58
 Tabela 4.1: Compostos voláteis odoríferos e não odoríferos identificados no <i>headspace</i> de murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	 72
Tabela 4.2 : Ordenação em valor decrescente de importância odorífera dos compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através do Osme	79
Tabela 4.3: Compostos voláteis importantes para o aroma de murici utilizando-se dois métodos distintos de isolamento e avaliação CG- olfatométrica	82
Tabela 4.4: Médias e desvios padrões de cada pico odorífero com seus respectivos tempos de retenção mínimos (T. Min.), médios (T. I. Max.), máximos (T. Max.), intensidades máximas (I. Max.), áreas médias gerados e tempo de retenção total (T. Total) pela equipe sensorial do efluente cromatográfico do isolado de murici (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	87
 Tabela 5.1: Compostos voláteis presentes em suco de jenipapo (safras de 2001 e 2002) e respectivas porcentagens de áreas relativas em cada safra	 105
Tabela 5.2: Compostos odoríferos do <i>headspace</i> de jenipapo (<i>Genipa americana</i> L.)	109
Tabela 5.3: Ordenação em valor decrescente de importância odorífera dos compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através do Osme	113
Tabela 5.4: Médias e desvios padrões de cada pico odorífero com seus respectivos tempos de retenção mínimos, médios e máximos, intensidades máximas e áreas médias gerados pela equipe sensorial do efluente cromatográfico do isolado de jenipapo (<i>Genipa Americana</i> L.)	119

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Sistema de captura dos compostos voláteis do <i>headspace</i> por sucção	40
Figura 2.2: Modelo da ficha de avaliação utilizada na seleção dos participantes da equipe sensorial de murici e jenipapo	42
Figura 2.3: Médias da intensidade do aroma de murici atribuídos pelos provadores na etapa de seleção para compor a equipe sensorial	43
Figura 2.4: Médias da intensidade do aroma de jenipapo atribuídos pelos provadores na etapa de seleção para compor a equipe sensorial	45
Figura 2.5: Cromatogramas dos compostos voláteis de murici obtidos com diferentes solventes, após 2hs de captura (em coluna DB-Wax)	46
Figura 2.6: Cromatogramas dos compostos voláteis de jenipapo obtidos com diferentes solventes, após 2hs de captura (em coluna DB-Wax)	46
Figura 2.7: Cromatogramas dos compostos voláteis de murici obtidos com diferentes tempos de captura e eluição com acetona (coluna DB-Wax)	47
Figura 2.8: Cromatogramas dos compostos voláteis de jenipapo obtidos com diferentes tempos de captura e dessorção com acetona (coluna DB Wax)	49
 Figura 4.1: Ilustração do sistema Osme de CG-olfatometria	 69
Figura 4.2: Cromatograma (A) e aromagrama (B) dos compostos voláteis de murici	76
Figura 4.3 A: Aromagramas consensuais dos compostos voláteis do <i>headspace</i> do murici dos provadores 1 e 2	84
Figura 4.3 B: Aromagramas consensuais dos compostos voláteis do <i>headspace</i> do murici dos provadores 3 e 4	85
 Figura 5.1: Cromatograma (A) e aromagrama (B) dos compostos voláteis do <i>headspace</i> de jenipapo	 108
Figura 5.2 A: Aromagramas médios dos provadores 1, 2 e 3	116
Figura 5.2 B: Aromagramas médios dos provadores 4 e 5	117

RESUMO GERAL

Os compostos voláteis são responsáveis pelo sabor característico dos alimentos. Eles estão presentes em um amplo intervalo de concentração, possuindo diferentes classes químicas, além de serem termolábeis.

Comumente o sabor de um produto é constituído por centenas de compostos voláteis. Entretanto, somente alguns compostos presentes contribuem efetivamente para o aroma do alimento.

O conhecimento dos compostos importantes que contribuem para o sabor característico do produto permite o desenvolvimento de novas formulações de aroma e para monitorar a qualidade do produto.

O trabalho realizado envolveu o isolamento, a separação por cromatografia gasosa de alta resolução, identificação por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) e a avaliação olfatométrica (Osme) dos compostos voláteis de duas frutas típicas da região nordeste brasileira, o murici (*Byrsonima crassifolia* L Rich)) e o jenipapo (*Genipa americana* L.). O aroma do murici é descrito na literatura principalmente como queijo apresentando notas de cereja e abacaxi, enquanto que o jenipapo é caracterizado por sabor ácido e notas frutais.

Os compostos voláteis foram coletados por sucção em polímero poroso (Porapak Q). Para padronização das condições de isolamento dos compostos voláteis do *headspace*, a fim de se obter um isolado representativo da amostra os compostos voláteis foram isolados em diferentes condições de captura (eluição e tempo de coleta) e analisados por cromatografia gasosa e análise sensorial. As condições ótimas de isolamento dos compostos voláteis de murici foram de duas horas de captura, utilizando-se acetona para dessorção do polímero poroso. Esse mesmo solvente também apresentou maior capacidade de eluição dos compostos voláteis de jenipapo. Estes resultados foram confirmados por análise sensorial. O período de tempo ótimo de isolamento foi de 3 horas.

Foram detectados 47 compostos voláteis presentes no *headspace* de murici por cromatografia gasosa de alta resolução, considerando os três lotes da safra de 2001. Foram identificados 41 compostos por CG-EM, perfazendo aproximadamente 97% de área. A classe química mais abundante foi a dos ésteres (55%) seguida pela dos alcoois (31,5%). Os compostos majoritários foram etanol (28,3%), hexanoato de etila (25,1 %), hexanoato de

metila (5,3%), ácido butanóico (5,1%) e ácido hexanóico (5,1). Foram detectados pela técnica Osme 37 compostos voláteis importantes para o aroma de murici. Os compostos responsáveis pelo aroma de queijo e fermentado, típicos desta fruta, foram os ácidos acético, butírico, hexanóico, o éster butanoato de metila e o ácido 3-metilbutírico, este último apresentando intensidade média. Os compostos que contribuíram com as notas frutais para o aroma de murici foram butanoato de etila, butanoato de butila.

Foram detectados 59 compostos voláteis no *headspace* do jenipapo, considerando as safras de 2001 e 2002, e foram identificados 42 compostos, perfazendo aproximadamente 90 % da área. As amostras foram caracterizadas pelo elevado número de ésteres e álcoois. Os compostos majoritários, nas duas safras estudadas, foram octanoato de metila, 2-heptanona, ácido octanóico, ácido 2-metilbutírico e ácido hexanóico. Foram identificados pela primeira vez em jenipapo vários álcoois, como etanol, 2-metilpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol, hexanol, 2-butoxietanol, 2-nonanol e octanol, assim como alguns compostos carbonílicos como 2-pentanona, 4-metil-2-pentanona, acetofenona, além dos ésteres 2-metilbutanoato de metila, butanoato de metila, 2-metilenobutanoato de metila, (Z)-3-hexenoato de metila, (Z)-3-octenoato de metila, benzoato de metila, 4-decenoato de etila e salicilato de metila, uma lactona (capralactona) e um hidrocarboneto (ciclooctatetreno). Foram determinados pela técnica olfatométrica Osme 27 compostos importantes para o aroma característico de jenipapo. O ácido hexanóico, 2-metilbutírico, uma mistura de 2- e 3-metilbutanol e um composto não identificado (com índice de Kovats 1700) foram responsáveis pelo aroma ácido, de fermentado e queijo e também por notas desagradáveis como chulé. Os compostos 2-metilbutanoato de metila, linalol, octanoato de metila, e um composto não identificado com índice de Kovats 1850 foram responsáveis pelas notas “frutal” e adocicada da fruta.

SUMMARY

The volatile compounds are responsible for the characteristic flavor of food. They are present in a wide interval of concentration, possessing varied chemical structure, beyond of being, generally heating labil.

Usually the flavour of a product is constituted by hundreds of volatile compounds. However, only some compounds efftectively contribute to the overall aroma of the food.

The knowledge of the important compounds contributing so the characteristic flavour of a product (will) allow the development of new aroma formulation and to monitor its quality..

Isolation of the volatile compounds and, separation by high-resolution gas chromatography, identification by gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry evaluation (Osme) were performed for two typical fruits of Brazilian Northeast, the murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich) and the genipap (*Genipa americana* L). The murici aroma is described in the literature as cheese with pineapple and cherry notes, while genipap is characterized by acid flavor and fruity notes.

Headspace volatile compounds were collected by suction on porous polymer (Porapak Q). In order to standard the conditions for the isolation of volatile compounds, with the objective of obtaining a representative aroma of the sample, the volatile compounds were trapped in different conditions. The isolated volatile compounds were then analyzed by gas chromatography and sensory analysis. The best conditions for isolating the volatiles compounds of murici were a period of ttwo hours for the collecting time, acetone was chosen for the elution from the porous polymer. This same solvent showed the best capability of eluting the volatile compounds of genipap. The instrumental results agreed with those obtained by sensory analysis of the different isolation conditions. The best time period for collecting the volatile compounds of genipap was three hours.

Forty-seven volatile compounds, present in the murici headspace, were detected by high-resolution chromatography, of which 41 were identified by gas chromatography-mass spectrometry and Kovats Indices, comprehending 97% of the total area. The most abundant chemical class was that of the esters (55%), followed by alcohols (31,5%). The major compounds were ethanol (28.3%), ethyl hexanoate (25.1%), butanoic acid (5,1%) and hexanoic acid (5,1%). The aromagrams revealed 37 odoriferous volatiles compounds

present in the headspace of fruit. Acetic, butyric and hexanoic acids presented the cheesy and fermented aroma, typical of this fruit. The 3-methylbutyric acid together to an unidentified compound and another not detected by the FID, presenting medium intensities also exhibited cheesy aroma. The esters such as ethyl butyrate, butyl butyrate and hexyl hexanoate were important to the fruity and sweet aroma.

Fifty-nine volatile compounds from the headspace of genipap were detected by high-resolution chromatography, of which 42 compounds were identified, comprehending 90% of total area. Samples were characterized by a high number of esters and alcohols. The major compounds, considering the both harvest (2001 and 2002), were methyl octanoate, 2-heptanone, octanoic acid, 2-methylbutanoate acid and hexanoic acid. Several alcohols were identified for the first time such as ethanol, 2-methylpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-methylbutanol, 3-methylbutanol, 2-heptanol, hexanol, 2-butoxyethanol, 2-nonanol and octanol. Some carbonyl compounds such as 2-pentanone, 4-methyl-2-pentanone, acetophenone, beyond the esters methyl 2-methylbutanoate, methyl 2-methylenebutanoate, methyl (Z)-3-hexenoate, methyl (Z)-3-octanoate, methyl benzoate, ethyl decenoate and methyl salicylate, one lactone, (hexalactone) and one hydrocarbon (1,3,5,7-cyclooctatetraene) were all identified for the first time too. Twenty-seven odorant compounds were determined by the olfactometry technique (Osme) and the hexanoic acid, 2-methylbutyric acid and a mixture of 2-methylbutanol, 3-methylbutanol and an unidentified compound (with 1700 Kovats indices) were responsible for the acid, fermented and cheesy aroma plus the unpleasant notes such as dirty socks. The compounds methyl 2-methylbutanoate, linalool, methyl octanoate, and a unidentified compound (IK 1850) were all responsible for the fruity and sweet notes.

INTRODUÇÃO GERAL

A aceitação e a escolha de um produto alimentício está diretamente relacionada com seu sabor, que é uma resposta integrada a uma mistura complexa de estímulos, particularmente ao aroma e gosto. A percepção do gosto é devida à presença de compostos não voláteis, causando as sensações basicamente descritas como doce, salgado, azedo e amargo e umami. A sensação do aroma é mais abrangente, envolvendo milhares de compostos voláteis, que podem ser percebidos pelo olfato humano. De todos os compostos responsáveis pelo sabor característico dos alimentos, os voláteis são sem dúvida os mais importantes.

O estudo dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma das frutas é um dos principais objetivos da química de alimentos, sendo útil para a caracterização, reconstituição e formulação de aromas, bem como para a classificação da origem das frutas e possíveis mudanças ocorridas durante seu processamento.

As regiões Norte e Nordeste do Brasil possuem uma grande diversidade natural de frutas, com sabores bem distintos. Somente na região amazônica, os registros de CAVALCANTE (1991), apontam 176 espécies produtoras de frutos comestíveis, algumas de importante significado comercial, introduzidas de forma crescente em outros mercados brasileiros, principalmente na forma de sucos e/ou de polpas congeladas.

Adicionalmente, consumidores de todo o mundo estão sendo atraídos por novos sabores, pois tem sido observado um crescente interesse pelas frutas tropicais consideradas exóticas (pouco conhecidas nos mercados consumidores convencionais). Conseqüentemente, tem ocorrido um maior interesse dos pesquisadores em caracterizar os compostos voláteis dessas frutas (FISHER *et al.*, 1995).

O jenipapo (*Genipa americana* L.) é uma fruta comum no Norte e Nordeste brasileiro, cuja polpa suculenta e ácida, porém doce, exala um aroma bastante característico. O jenipapo raramente é consumido in natura, o fruto maduro presta-se muito bem para compotas, cristalizados, sorvetes, refrescos e licores (GOMES, 1982).

O murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) é uma fruta de forma arredondada com 1 a 2 cm de diâmetro de coloração amarelada, polpa carnosa e translúcida que exala um aroma bem característico de queijo. É encontrada no Norte e Nordeste brasileiro é consumida principalmente como suco, geléia, doce e licor (CAVALCANTE, 1991).

Os compostos voláteis presentes em jenipapo e murici da região Norte brasileira foram estudados através da técnica de isolamento de Lickens-Nikerson (análise total) e da técnica olfatométrica AEDA (BORGES & REZENDE, 2000; REZENDE & FRAGA, 2003).

A metodologia de isolamento empregada nos dois trabalhos é uma técnica de Análise Total, e engloba todos os compostos voláteis presentes na amostra. Porém, a destilação-extração simultânea tem sido criticada devido ao uso de calor, que pode causar modificações na composição química original da amostra.

Uma outra abordagem para o isolamento de compostos voláteis da matriz consiste no estudo dos compostos presentes no vapor em equilíbrio no *headspace*, sobre o produto (WEURMAN, 1969).

Dado que o aroma de um alimento não depende apenas da composição total de voláteis presentes no alimento, mas também das interações desses voláteis com a matriz, as informações geradas através da análise do *headspace* podem ser complementares à análise total do alimento. A vantagem da utilização do *headspace* é que os voláteis coletados são qualitativamente e quantitativamente similares àqueles percebidos por nosso senso de olfato (WEURMAN, 1969).

Atualmente, existem várias técnicas olfatométricas que avaliam a importância odorífera dos compostos voláteis para o aroma do alimento. As técnicas olfatométricas de diluição, como CHARM (ACREE *et al.*, 1984) e AEDA (SCHIEBERLE & GROSCH, 1987; ULRICH & GROSCH, 1987) são baseadas em medidas de limiar de detecção para estimar a importância odorífera dos voláteis. Essas técnicas têm sido criticadas (MAARSE, 1991) por causa de sua inconsistência com as leis da psicofísica (FRITJERS, 1978). A técnica de Osme (DA SILVA *et al.*, 1993; MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992) consiste em uma avaliação sensorial de tempo-intensidade, onde diferentes indivíduos avaliam sensorialmente a qualidade e intensidade do odor de cada composto que elui da coluna cromatográfica e é baseada nos conceitos modernos de psicofísica. Essa técnica fornece um aromagrama onde os picos mais altos e/ou com maior área sugerem compostos de maior importância odorífera. Esse aromagrama pode ser diretamente correlacionado com o cromatograma identificando voláteis de maior

impacto no aroma e sabor de alimentos (DA SILVA *et al.*, 1994; MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992).

Visando obter dados sobre a composição e importância odorífera dos compostos voláteis de murici e de jenipapo, foi realizado um estudo onde os isolados representativos dos aromas das amostras foram obtidos por *headspace* dinâmico (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983) e analisados por uma técnica olfatométrica moderna (CG-Osme) complementarmente à técnica de identificação por CG-EM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACREE, T.E.; BERNARD, J.; CUNNIGHAM, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chemistry**, v. 14, p. 273-86, 1984.

BORGES, E.S.; REZENDE, C.M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). **J. Essent. Oil Res.**, v. 12, p. 71-74, 2000.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Fraiha Neto, 1991. 146 p.

DA SILVA, M.A.A.; P., ELDER, V.; LEDERER, C.L.; LUNDHAL, D.S.; MCDANIEL, M.R. Flavor properties and stability of a corn-based snack: relating sensory, gas chromatography and mass spectrometry data. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Shelf-life studies of foods and beverages**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1993. p. 707-738.

DA SILVA, M.A.A.P.; LUNDHAL, D.S.; MCDANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H; VAN DER HEIJ, D.G. (Eds.). **Trends in Flavor Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1994. p. 191-209.

FISCHER, F.N.; HAMMERSCHMIDT, J.E.; BRUNKE, J. A contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflorum* Spreng). **Fruit Processing**, v. 5, p. 61-65, 1995.

FRITJERS, J.E.R. Some psychophysical notes on the use of the odour unit number. **Chem. Senses Flavour**, n. 3, p. 227-233, 1978.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 293-9, 1983.

GOMES, R.P. **Fruticultura Brasileira**. São Paulo: Nobel, 1982. p. 278-281.

MAARSE, H. **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 1-33.

MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBERY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory chromatography approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Flavours and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.

MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBERY, L.M.; WATSON, B.T.; MCDANIEL, M.R. Identification of additional odor- active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 43, p. 90-2, 1992.

REZENDE, C.M.; FRAGA, S.R.G. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **J. Brazilian Chem. Soc.**, v. 14, p. 425-428, 2003.

SANCHES, N.B.; LEDERER, C.L.; NICKERSON, G.B.; LIBBERY, L.M.; MCDANIEL, M.R. Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and unhopped beer. In: Charalambous, G. (Ed.). **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992. p. 403-26.

SHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat an rye bread by aroma extract dilution analysis. **Zeitschrift Lebensmittel Unters Forsshung**, v. 182, p. 111-113, 1987.

ULRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Z. Lebensm Unters. Forsh**, v. 184, p. 277-82, 1987.

WEURMAN, C. Isolation and concentration of volatiles in foods odor research. **J. Agric. Food Chem.**, v. 17, p. 370-384, 1969.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DA LITERATURA

1 Pesquisa do sabor

As frutas do norte e nordeste brasileiro têm despertado grande interesse tanto no mercado nacional como internacional devido ao seu aroma característico e exótico. O aroma típico de frutas, geralmente é o resultado da combinação de um grande número de compostos voláteis, de diferentes classes químicas, ocorrendo em concentrações abaixo de 30 ppm, ou mesmo devido a presença de alguns poucos compostos, denominados compostos de impacto. Mesmo os compostos voláteis que apresentam concentrações em partes por bilhão são capazes de influenciar a característica completa do aroma.

Basicamente quatro etapas básicas estão envolvidas na análise de aromas:

- a) isolamento dos voláteis;
- b) separação por cromatografia gasosa;
- c) identificação por espectrometria de massas;
- d) avaliação sensorial e relação com a composição química.

A presente revisão abordará as etapas descritas acima e a composição de voláteis de frutas consideradas exóticas, especialmente as brasileiras.

1.1.1 Métodos de isolamento dos compostos voláteis

O isolamento dos compostos voláteis da matriz de não voláteis é a etapa inicial da análise do aroma e sabor dos alimentos, e deve ser realizada com cuidado, pois, durante esse procedimento podem ocorrer modificações químicas e enzimáticas dos componentes voláteis e o extrato obtido pode não apresentar o aroma original do produto a ser estudado.

Existem duas abordagens para o isolamento de compostos voláteis, a análise total e a análise de *headspace*. A primeira estuda todos os componentes voláteis do alimento, enquanto a segunda estuda apenas os componentes do vapor em equilíbrio sobre o produto dentro de um sistema fechado e a uma determinada temperatura (WEURMAN, 1969).

Um dos métodos de análise total mais utilizado é o método de NICKERSON & LIKENS (1969), os quais desenvolveram um sistema de destilação e extração simultânea que trouxe a vantagem do uso de pequenas quantidades de solvente orgânico, minimizando a possibilidade de introdução de artefatos e reduzindo o tempo total do processo para uma hora, em relação à destilação e extração subsequente. Algumas modificações foram introduzidas no sistema, para minimizar formação de emulsões em alguns alimentos

(MACLEOD & CAVE, 1975) e proporcionar melhor mistura entre o solvente e o vapor do material destilado (FLATH & FORREY, 1977). Como é utilizado calor durante o processo, algumas transformações químicas podem ocorrer, como a formação de compostos, tais como furano e furfurais (FARKAS *et al.*, 1997; PINO & MARBOT, 2001) e durante a etapa de concentração pode ocorrer ainda a perda de compostos mais voláteis e também a formação de artefatos, provenientes das impurezas presentes no solvente.

A extração líquido-líquido é baseada na partição do analito entre uma fase aquosa e um solvente orgânico imiscível em água, de acordo com a lei de Nernst. Embora ainda seja empregada (FERNANDEZ *et al.*, 2001; VENDRAMINI & TRUGO, 2000), o método apresenta várias desvantagens, como possível formação de emulsão, seletividade da extração em função do solvente utilizado e baixa sensibilidade (LISKA *et al.*, 1989), além da extração de compostos não voláteis.

As alternativas para esses métodos clássicos de análise total são as recentes técnicas de extração em fase sólida (SPE) (JUNK & RICHARD, 1988) e microextração em fase sólida (SPME) (ARTHUR & PAWLISZYN, 1990).

Na extração em fase sólida, a solução contendo os compostos voláteis é adicionada a uma coluna cromatográfica ou a um cartucho com agente adsorvente (geralmente de fase reversa, apolar). Os compostos orgânicos que, geralmente, apresentam regiões apolares em suas moléculas, são adsorvidos na fase estacionária e os componentes polares, como açúcares, não são retidos. Os compostos de interesse são então eluídos com um solvente adequado (FISHER *et al.*, 1995).

Na técnica de microextração em fase sólida (SPME), desenvolvida por ARTHUR & PAWLISZYN (1990) é utilizada uma fibra de sílica fundida de comprimento entre 1 a 2 cm, recoberta com uma fase líquida similar à fase estacionária de uma coluna capilar. A fibra recoberta é imersa diretamente nas amostras aquosas, posteriormente inserida no injetor do cromatografo gasoso onde os compostos serão liberados por dessorção térmica. A técnica tem as vantagens da simplicidade, rapidez e baixo custo, entretanto, é muito dependente das condições do experimento e da matriz do alimento, o que é refletido na sensibilidade e reprodutibilidade do método analítico (YANG & PEPPARD, 1994).

A vantagem dessa técnica, da SPE e da extração líquido-líquido é não utilizar temperatura, entretanto, são técnicas consideradas “sujas”, pois podem extrair compostos não voláteis, o que pode acarretar danos e diminuir a vida útil da coluna cromatográfica.

As técnicas de *headspace* podem ser classificadas em *headspace* estático e dinâmico (KOLB, 1999).

No *headspace* estático, uma alíquota do vapor em equilíbrio com a amostra em um sistema fechado é retirada, a uma determinada temperatura, e imediatamente transferida para o cromatógrafo (KOLB, 1999). Entretanto, a injeção direta de *headspace* de uma amostra de vapor muito diluída produz picos somente para os componentes majoritários que possuem altas pressões de vapor (JENNINGS & FILSOOF, 1977).

A técnica de SPME também pode ser empregada para análise do *headspace* e, tem sido aplicada no isolamento dos compostos voláteis de vários alimentos (AUGUSTO *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2004; YANG & PEPPARD, 1994). Entretanto, os primeiros trabalhos de análise de *headspace* por SPME com fibras, tais como de dimetilpolisiloxano, relataram a absorção seletiva dos compostos voláteis (STEFFEN & PAWLISZYN, 1996). Atualmente têm sido utilizadas fibras mistas, que podem consistir de uma fase líquida e um adsorvente poroso, para uma maior abrangência das diferentes classes químicas (MILLER & STUART, 1999; ROBERTS *et al.*, 2000).

No *headspace* dinâmico, o procedimento é realizado em duas etapas, onde os compostos voláteis do *headspace* são primeiramente isolados e concentrados em uma armadilha (geralmente um polímero) através da passagem de um gás inerte sobre a amostra. Posteriormente, os compostos voláteis são eluídos por um solvente orgânico adequado, ou então dessorvidos termicamente (KOLB, 1999). Os adsorventes mais utilizados em alimentos e bebidas são os polímeros porosos sintéticos como o Tenax, Chromosorb e Porapak (SIDEL *et al.*, 2000), que têm baixa afinidade por água (LISKA *et al.*, 1989). Nesses sistemas, as condições ótimas de coleta dos compostos voláteis são dependentes do tempo de captura e da dimensão da armadilha.

O *headspace* dinâmico é uma das melhores técnicas para estudos de compostos de baixo ponto de ebulição, proporcionando a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de artefatos. Além disso, a fase de vapor imediatamente

acima do alimento aproxima-se significativamente do aroma percebido pelos consumidores, desde que as condições de adsorção/ dessorção sejam padronizadas (MAARSE, 1991).

FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) modificaram a metodologia de SINGLETON & PATEE (1978) para isolar os compostos voláteis de suco de graviola e mamão. Nesse sistema o vapor de *headspace*, em amostras líquidas ou sólidas foi removido continuamente por sucção com subsequente enriquecimento (*trapping*) dos componentes e os compostos voláteis capturados foram dessorvidos com solvente. Desde que seja realizada a devida padronização das condições de captura, esse sistema pode ser usado em diferentes amostras. Os compostos voláteis de várias frutas brasileiras, como manga (FRANCO *et al.*, 2004), maçã (JANZANTTI *et al.*, 2000), umbu (THOMAZINI, 1998), umbu-cajá, camu-camu, araçá-boi e cupuaçu (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000) e caju (GARRUTI *et al.*, 2003) foram isolados utilizando a metodologia de FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983), destacando-se que os extratos obtidos tinham o aroma característico da fruta, conforme avaliação realizada por provadores selecionados.

1.1.2 Separação e identificação de compostos voláteis

A cromatografia gasosa (CG) tem sido uma ferramenta muito útil na separação de compostos voláteis de alimentos, obtidos como uma mistura complexa após a etapa de isolamento.

As colunas capilares de sílica fundida, com grande poder de resolução atingem até 250.000 pratos teóricos, permitindo separações rápidas de misturas consistindo de centenas de componentes e portanto são significativas para a análise de compostos do sabor. Adicionalmente, são muito flexíveis e mecanicamente fortes, facilitando o acoplamento entre cromatógrafo e espectrômetro de massas, pois podem ser introduzidas diretamente na fonte de íons.

A introdução da amostra de maneira inadequada na coluna prejudica sua efetividade (PRETERIOUS & BERTCH, 1983).

Os injetores para cromatografia gasosa que proporcionam a introdução de uma banda estreita na coluna são os denominados “split”, “splitless”, “on column” e “programmed temperature vaporizater” (PTV). Para análise de compostos traços, os

injetores tipo “splitless”, “on column” e PTV “cold splitless” são os mais adequados, sendo geralmente necessária a focalização da amostra na entrada da coluna (GROB, 1994).

No espectrômetro de massas as moléculas são bombardeadas por um feixe de elétrons de alta energia que provoca ionização e a fragmentação. Posteriormente, a mistura de íons que se forma é separada com base nas razões massa/ carga (m/z) e a abundância relativa de cada fragmento iônico é registrada. O resultado da operação aparece num gráfico de abundância iônica contra m/z (SOLOMONS, 1996).

O cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas proporciona excelentes dados para a identificação de compostos (NOVOTNY *et al.*, 1974). Os espectros obtidos são comparados com os de compostos puros de bibliotecas disponíveis comercialmente, como é o caso da National Institute of Standards and Technology (NIST) ou ainda pela injeção de padrão puro (ACREE & TERANISHI, 1993), quando então a identificação é mais confiável, pois os espectros foram gerados em um mesmo instrumento.

1.1.3 Cromatografia gasosa-olfatometria

A técnica de cromatografia gasosa-espectrometria de massas permite a identificação de um constituinte químico, mas pouco informa a respeito do aroma. Diferentes técnicas têm sido propostas para relacionar a composição de voláteis com o aroma, inclusive calculando-se unidades de odor, fracionamento e avaliação do efluente cromatográfico (PIGGOT, 1990).

Recentemente, para determinar a importância odorífera dos compostos voláteis, têm sido empregados métodos de cromatografia gasosa-olfatometria (CG-O), que realizam a avaliação sensorial dos voláteis presentes no efluente da coluna cromatográfica, informando, além da qualidade de odor, o tempo em que cada volátil é percebido no efluente e a intensidade de seu odor.

A primeira técnica de CG-O relatada foi a de CG-*sniffing* (FULLER *et al.*, 1964; GUADAGNI *et al.*, 1964). O equipamento deve dispor de um divisor de fluxo na saída da coluna cromatográfica, que promove a distribuição simultânea do efluente para o detector e para um tubo de sílica fundida desativada, que conduzirá o aroma até o provador. Enquanto o indivíduo cheira o gás contendo os voláteis separados pela coluna e descreve o odor percebido, os compostos eluídos são também detectados e registrados pelo instrumento. A

desvantagem do sniffing é que os julgadores limitam-se a descrever o odor percebido, mas não quantificam a intensidade de cada sensação.

As técnicas modernas de CG-O podem ser classificadas em métodos de diluição, métodos de intensidade e métodos de frequência de detecção.

As técnicas de diluição, CHARM (ACREE *et al.*, 1984) e AEDA (SCHIEBERLE & GROSCH, 1987; ULRICH & GROSCH, 1987) são baseadas em medidas de limiar para estimar a percepção de intensidade do odor.

A técnica Charm (ACREE *et al.*, 1984) é realizada com uma série de diluições do extrato da amostra, apresentadas em diferentes sessões, até que o odor não seja mais percebido pelo julgador. Durante a análise, o provador deverá registrar o início e o final da detecção sensorial de cada composto eluído da coluna. O procedimento para análise quantitativa e qualitativa do efluente do cromatógrafo gasoso combina cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) com o uso de padrões de n-parafinas e uso de coleta computadorizada de dados, produzindo uma medida sem dimensões de intensidade de odor que se chama Charm. O gráfico é obtido pela representação do Charm (C) contra o índice de retenção do composto, onde C é expresso como:

$$C = d^{n-1}, \text{ onde}$$

n= última diluição em que composto foi percebido (número de respostas coincidentes)

d= fator constante de diluição = a_{n-1} / a_n

a_{n-1} = quantidade do composto na penúltima diluição em que foi percebido

a_n = quantidade do composto na última diluição em que foi percebido.

A análise AEDA (Análise das Diluições do Extrato de Aroma) é similar á análise Charm. É também baseada na avaliação sensorial do efluente da coluna cromatográfica de extratos diluídos, que determinam um novo parâmetro, o fator de diluição FD. Compostos com altos valores de FD são os que possuem maior intensidade de aroma. Os resultados são expressos em fatores de diluição plotados contra os índices de retenção de Kovats (ULRICH & GROSCH, 1987).

As vantagens desses últimos dois métodos é que produzem unidades de odor reprodutíveis (ACREE & TERANISHI, 1993). A principal desvantagem é que esses métodos são baseados em medidas de limiar para estimar a percepção de intensidade do

odor. Técnicas baseadas no limiar têm sido criticadas (MAARSE, 1991) por causa de sua inconsistência com as leis da psicofísica (FRITJERS, 1978).

A psicofísica moderna tem sido representada pela lei de Stevens que estabelece que a intensidade do odor de um composto aumenta com a concentração do mesmo conforme a equação:

$$I = K (C-T)^n$$

Onde,

K = Constante de proporcionalidade

T = limiar do composto

n = expoente proporcional ao poder odorífero do composto.

Portanto, compostos com mesmo limiar podem contribuir de maneira diferente para o sabor do alimento.

Métodos de intensidade *a posteriori* são aqueles em que o provador primeiramente sente/ percebe o aroma e a intensidade do composto que elui da coluna e posteriormente associa a sua percepção a uma escala numérica de intensidade, exemplo desse tipo de método é o “Flavor Impact Value” (CASIMIR & WHITFIELD, 1978). A limitação da utilização dessa metodologia é devido a necessidade de treinamento extensivo dos provadores e utilização de padrões externos durante a análise.

A técnica Osme (DA SILVA *et al.*, 1993; MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992), baseia-se nos modernos conceitos de psicofísica. Consiste numa avaliação sensorial de tempo–intensidade, onde o indivíduo avalia sensorialmente os efluentes da coluna cromatográfica, descrevendo a qualidade do odor (floral, ácido graxo, verde, etc), o tempo durante o qual o odor de cada volátil é percebido no efluente cromatográfico e a intensidade do odor de cada composto volátil, através de uma escala de 9 a 15 cm, estruturada ou não (DA SILVA *et al.*, 1994).

Essa técnica fornece um aromagrama onde os picos mais altos e/ou com maior área sugerem compostos de maior importância odorífera, que pode ser diretamente correlacionado com o cromatograma, facilitando a avaliação da importância dos compostos odoríferos (DA SILVA *et al.*, 1993; MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992).

Outro método de avaliação da intensidade do odor dos compostos voláteis que eluem da coluna é o denominado “Finger Span”. Nessa metodologia é utilizado um aparato que utiliza a abertura máxima entre os dedos polegar e indicador para estimar a intensidade do composto com maior resposta odorífera e os demais, de menor intensidade serão avaliados proporcionalmente (GUICHARD *et al.*, 1995; ETIÉVANT *et al.*, 1999).

Um dos primeiros trabalhos de olfatometria baseados na frequência de respostas foi o de LINSSEN *et al.* (1993), que desenvolveram uma técnica chamada análise global olfatométrica (Olfactometry Global Analysis). Como na técnica Osme, os provadores avaliam o extrato não diluído e um aromagrama consensual é construído, onde a frequência de detecção de um composto determinada pela equipe sensorial é relacionada à sua intensidade de odor.

OTT *et al.* (1997), POLLIEN *et al.* (1997) e VAN RUTH *et al.* (1995) desenvolveram uma técnica que também se baseia na frequência de detecção e que permite o tratamento dos dados para uma avaliação quantitativa. Utiliza-se neste caso os conceitos de NIF (*Nasal Impact Frequency*) e de SNIF (*Nasal Impact Frequency*), para o estabelecimento de intervalos de confiança das relações lineares com o logaritmo das concentrações. Uma das vantagens apresentadas foi a boa reprodutibilidade alcançada pela equipe sensorial, utilizando pelo menos seis provadores, que não requerem treinamento (POLLIEN *et al.*, 1997). Porém, uma das críticas é que a interpretação dos dados ainda é baseada em limiares de detecção (*thresholds*).

As técnicas olfatométricas Osme, AEDA e análise global olfatométrica foram avaliadas através de um estudo comparativo dos compostos odoríferos de moluscos (LE GUEN *et al.*, 2000). Os resultados obtidos foram similares e correlacionados; os autores sugerem que a escolha do método olfatométrico depende do objetivo do estudo, da qualidade dos provadores e do tempo necessário para realizar a análise. De acordo com esses autores, a técnica Osme seria indicada para trabalhos onde uma maior precisão é necessária.

1.2 Compostos voláteis de frutas exóticas

Em adição ao consumo de frutas tradicionais como citrus, há um grande crescimento do interesse por frutas exóticas, sendo que esse termo pode ser usado para

frutas “singulares” que não são muito conhecidas ou que apenas recentemente têm sido mais expostas no mercado (YOUNG & PATERSON, 1990). Países como o Brasil, Austrália, Costa Rica e do Oriente (extremo oriente) possuem frutas tropicais em abundância, encontrando-se tanto frutas nativas como cultivadas (BAUER, 2000), que são caracterizadas por seu sabor exótico.

Algumas revisões já foram publicadas sobre a composição de voláteis de frutas tropicais, incluindo YOUNG & PATTERSON (1990) e WINTERHALTER (1991) sendo enfocadas a identificação dos compostos, suas proporções (concentrações) e possíveis contribuições para o aroma. Nos últimos anos, através das técnicas olfatométricas, tem sido possível determinar ainda os compostos odoríferos importantes para o sabor da fruta. No entanto, isto ainda representa um grande desafio aos pesquisadores, face à complexidade encontrada e ao grande número de frutas ainda não caracterizadas.

Na literatura encontram-se alguns trabalhos referentes a frutas brasileiras consideradas exóticas, como araçá-boi, bacuri, caju, camu-camu, cupuaçu, graviola, jenipapo, murici, umbu e umbu-cajá, porém, a maioria deles tem como objetivo apenas a identificação dos compostos voláteis por CG-EM.

1.2.1 Bacuri (*Platonia insignis*)

A bacuri é uma fruta nativa da região amazônica, tem formato arredondado, cor amarela e apresenta um sabor agradável. Com o bacuri é possível fazer doces, geléias, cremes, sucos e compotas. Os compostos voláteis dessa fruta foram primeiramente estudados por ALVES & JENNINGS (1979) que utilizaram a polpa da fruta enlatada e a técnica de Likens-Nickerson. Muitos compostos voláteis não foram identificados. Os compostos que poderiam ser responsáveis pelo aroma de bacuri seriam linalol, 2-heptanona e (Z)-3-acetato de hexenila.

BORGES & REZENDE (2000) estudaram os compostos voláteis de bacuri, provenientes de Belém, e obtiveram alguns resultados semelhantes. Os compostos predominantes foram os compostos terpenicos (hidrocarbonetos, óxidos e álcoois), representando de 60 a 70% da área relativa e os compostos carbonílicos, ésteres e hidrocarbonetos contribuíram com 5 a 8 % da área relativa. Os compostos majoritários foram linalol, óxido *trans* de linalol, ácido 3-metilbutírico, óxido *cis* de linalol e geraniol.

Pela técnica de CG-AEDA foi determinado que os compostos que contribuem para o aroma da fruta são o linalol, contribuindo com notas florais e hexanoato de metila, com notas frutais.

BOULANGER & CROUZET (2001) estudaram as mudanças dos compostos voláteis durante o tratamento térmico do suco de bacuri, utilizando a técnica de extração-destilação simultânea (SDE) realizada em pH 3 (característico da fruta) e pH 7, para simular a composição de voláteis liberados durante o processamento da fruta. Os compostos voláteis livres foram extraídos por extração em fase sólida. Foi observado que, após o tratamento por SDE em pH 3, houve um grande aumento da quantidade de hidrocarbonetos terpênicos e terpenos oxigenados, particularmente linalol, linalol furanóxido, α -terpineol, hotrienol, óxido de nerol, nerol e geraniol e, em menor intensidade, de aldeídos, comparado aos outros dois tratamentos, SPE e SDE com pH 7. Os resultados seriam explicados pela ocorrência de hidrólise das ligações glicosídicas dos compostos precursores. Comparando os resultados de SDE (pH 3) aos obtidos num trabalho prévio, onde foi realizada a hidrólise enzimática dos compostos voláteis ligados do bacuri (BOULANGER *et al.*, 1999), foi observado que outros mecanismos poderiam estar envolvidos na formação dos compostos voláteis durante o tratamento térmico, como o rearranjo de poliois e reações de oxidação. O rearranjo do composto 2,6-dimetiloct-1-ene, 3,7-diol seria o responsável pela formação de linalol e α -terpineol, o linalol furanóxido seria formado pela oxidação do linalol e os aldeídos alifáticos seriam provenientes da oxidação lipídica. O composto 2-acetil-1-pirrolina foi identificado no extrato obtido por SDE (pH 7), sua presença é comum em alimentos submetidos a tratamento térmico e possui odor de pão e pipoca.

1.2.2 Caju (*Anarcadium occidentale* L.)

O caju é um fruto bastante conhecido pela sua castanha (o verdadeiro fruto) e pelo seu pseudofruto, correspondente à polpa comestível, que é bastante fibrosa e succulenta. Seu suco é ácido e adstringente, porém, quando totalmente maduro, o caju pode ser consumido *in natura* ou na forma de suco, geléia e de diversos tipos de doces, refrigerantes e bebidas alcoólicas.

O estudo preliminar sobre a composição de voláteis do pedúnculo do caju foi realizado por MACLEOD & TROCONIS (1982), com frutas da Venezuela. Utilizando a técnica de destilação-extração simultânea (NICKERSON & LIKENS, 1969) com 2-metilbutano, foram detectados 46 picos por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC), dos quais 25 foram identificados por CG-EM e 12 foram parcialmente ou tentativamente caracterizados. O grupo predominante de compostos foi o dos hidrocarbonetos terpênicos (38%), sendo o 3-careno o composto majoritário (24,3%). Foram detectados também 5 aldeídos, que, juntos corresponderam a 26% dos voláteis totais, enquanto os ésteres compreenderam apenas 0,7%. Com base na quantidade dos compostos e seus odores determinado pela técnica de *sniffing*, os autores sugeriram que os compostos importantes para o sabor foram hexanal, limoneno, (*E*)-2-hexenal e benzaldeído. Entretanto, nenhum desses compostos apresentou o aroma característico da fruta.

Em contraste com os resultados de MACLEOD & TROCONIS (1982), usando *headspace* dinâmico para estudar os compostos voláteis do caju brasileiro, MACIEL *et al.* (1986) encontraram os ésteres como compostos majoritários. Foram também identificados álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, terpenos e compostos sulfurados. A avaliação sensorial do efluente cromatográfico, através da técnica de *sniffing*, confirmou que nenhum dos compostos isoladamente apresentou o aroma do caju. Entretanto, os autores atribuíram aos ésteres butanoato de metila, butanoato de etila e isovalerato de etila o aroma doce e frutal, e aos ácidos isobutírico e isovalérico o odor pungente e azedo, sugerindo ainda que os compostos sulfurados também poderiam ser importantes para o aroma do caju.

As diferenças encontradas entre os dois trabalhos poderiam ser atribuídas à variabilidade genética dos materiais procedentes de localidades diferentes (Venezuela e Brasil) e/ou aos métodos de extração (destilação extração simultânea e *headspace*).

Os compostos voláteis na forma livre e ligada do caju brasileiro da variedade *nanum* foram isolados pelas técnicas de destilação-extração e extração em fase sólida utilizando polímero XAD-2 (BICALHO *et al.*, 2000). Foram identificados 62 compostos livres, sendo 40%, ésteres; 20%, terpenos; 14%, hidrocarbonetos; 9%, ácidos graxos; 8%, aldeídos; 3%, álcoois; 3%, lactonas; 1%, cetonas; 1%, fenóis e 1%, isoprenóides.

Em ambos os trabalhos realizados com as frutas brasileiras (BICALHO *et al.*, 2000; MACIEL *et al.*, 1986), independente da técnica de isolamento empregada, a classe de

compostos predominantes foi a dos ésteres. Portanto, as diferenças entre as frutas brasileiras e venezuelanas devem ocorrer devido à procedência ou então à variedade da fruta.

As técnicas de *sniffing* apenas fornecem informações a respeito da descrição da qualidade do odor dos compostos voláteis, enquanto as técnicas olfatométricas permitem determinar a contribuição de cada um dos compostos voláteis no aroma da fruta. GARRUTI *et al.* (2003) estudaram caju brasileiro utilizando as técnicas de *headspace* e olfatometria (Osme). Foram detectados 63 picos, dos quais 49 foram identificados por CG-EM. A classe química mais abundante foi a dos ésteres, predominando os com radical metila e etila e, entre os ácidos carboxílicos saturados, os com cadeia de carbonos de C2 a C6. Os compostos majoritários foram: isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila, 2-metilbutanoato de etila, 2-metil-2-pentenal, hexanal e ácido 2-metilbutírico e um pico não identificado, provavelmente uma mistura cromatograficamente não resolvida. Foram considerados importantes para o aroma do suco de caju os seguintes compostos: ácido 2-metilbutírico, descrito como “fedido”, “chulé”, responsável pelo odor mais intenso da fruta; um pico não identificado, provavelmente um sesquiterpeno, com intenso aroma de caju; os compostos *cis*-3-hexenol, 2-metilpentenal, hexanal, com diferentes notas verdes; e os ésteres isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila, *trans*-2-butenato de etila, descritos como caju, doce e fruta. Alguns compostos de enxofre, reportados por MACIEL *et al.* (1986), não foram detectados por cromatografia gasosa, porém foram percebidos pelos membros da equipe sensorial durante a análise olfatométrica.

1.2.3 Cupuaçu (*Theobroma grandiflora*)

O cupuaçu (*Theobroma grandiflora*) possui um gosto ácido e aroma forte. O primeiro artigo sobre a composição de voláteis do cupuaçu foi o de ALVES & JENNINGS (1979), utilizando a polpa enlatada dessa fruta e a técnica de destilação-extração simultânea com pentano como solvente. Alguns compostos com grande porcentagem de área não foram identificados, sendo que o butanoato e hexanoato de etila foram os compostos majoritários, dentre os identificados. Os ésteres foram os que mais contribuíram para o aroma de cupuaçu, destacando-se o butanoato de etila, acetato de etila e isobutirato de etila.

FISHER *et al.* (1995), estudou a composição de voláteis do suco de cupuaçu provenientes de Belém do Pará utilizando três técnicas, destilação a vácuo, extração em fase sólida e destilação-extração simultânea. O odor de cada extrato foi analisado sensorialmente e os melhores extratos foram submetidos a CG-olfatometria e CG-EM. O isolado obtido por destilação a vácuo foi caracterizado por notas de fruta, doce e caramelo e os compostos de maior impacto odorífero foram hexanoato de etila, 2-metilbutanoato de metila, juntamente com linalol e 3-metilbutanol, em adição ao *cis*-3-hexenol. A extração em fase sólida foi realizada com polímeros (XAD-2 e RP-18) e os compostos voláteis eluídos com éter, obtendo-se um extrato com aroma agradável e doce que continha substâncias de ponto de ebulição mais alto do que os obtidos por destilação. Vários compostos minoritários, como ácido butírico, *cis*-3-hexenal, nicotinato de metila e 5-hidroxi-*trans*-2-metil hexenoato de metila apresentaram forte odor. Também contribuíram para o aroma de cupuaçu o metional, descrito como batata cozida, além de 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-(2H)-furanona, apresentando aroma fruta/caramelo. Foram extraídos das fibras da fruta os ácidos fórmico, acético, propiônico, butírico e 2-metilbutírico, que foram considerados importantes para o aroma “global” do cupuaçu.

O cupuaçu da região amazônica foi estudado por FRANCO & SHIBAMOTO (2000) utilizando uma técnica de *headspace* dinâmico, sendo que 21 compostos voláteis foram detectados e a classe química predominante foi a dos ésteres. Butanoato e hexanoato de etila foram os compostos majoritários com porcentagens de área de 42 e 22%, respectivamente, seguido do ácido hexadecanóico (12%).

Um estudo qualitativo foi realizado sobre os compostos voláteis do *headspace* da polpa congelada comercial de cupuaçu (AUGUSTO *et al.*, 2000), utilizando micro-extração em fase sólida. Os autores estudaram quatro tipos diferentes de fibra, sendo que os resultados indicaram que a classe predominante foi a dos ésteres.

No mais recente trabalho sobre cupuaçu, os compostos voláteis livres e ligados da fruta foram estudados por BOULANGER & CROUZET (2000). Compostos de aroma, como precursores, podem encontrar-se na forma glicosilada e serem liberados durante reações químicas e enzimáticas. Foram obtidos por extração em fase sólida os compostos ligados e, após a hidrólise enzimática, 11,7 mg de aglicona/Kg de polpa foram liberados, que poderiam ser significantes para o aroma de cupuaçu. Foram identificadas 47 agliconas,

sendo que 24 encontravam-se presentes na fração de compostos voláteis livres, entre os quais 4-metilguaiaicol, 4-propilguaiaicol, 2,6-dimetil-octa-1,7-dien-3,6-diol, 2,6-dimetil-oct-7-en-1,6-diol, ácido homovanílico, 2-metil-3-butenol e ácido acético. As agliconas mais importantes quantitativamente foram 3-metilbutanol, 2-feniletanol, linalol, (Z)-2,6-dimetil-octa-1,7-dien-3,6-diol, butanol e hexanol.

1.2.4 Graviola (*Annona muricata*)

A graviola é uma fruta tropical das Américas do Sul e Central e do oeste da Índia, No Brasil, a produção está concentrada nas regiões Norte e Nordeste, de onde grande parte é exportada para outras regiões. O Ceará é o maior produtor brasileiro de graviola.

O fruto é uma baga composta ovóide, cujo peso oscila de 400 g a 10 kg, com média de 2 kg/fruto, constituída por uma polpa branca de sabor agridoce e delicado. Com essa polpa são feitos sucos, sorvetes e compotas. Quando bem maduros, os frutos têm sabor agradável, podendo ser consumidos em pedaços puros ou polvilhados com açúcar.

O primeiro trabalho sobre compostos voláteis de graviola foi realizado com a fruta procedente do Sirilanka (MACLEOD & PIERIS, 1981), utilizando o método de destilação-extração simultânea de Nickerson-Likens e 2-metilbutano como solvente. A separação dos compostos voláteis foi realizada através do uso de coluna empacotada e 44 compostos voláteis foram detectados, porém apenas 24 foram identificados por espectrometria de massas, por impacto de elétrons e ionização química. A classe química predominante foi a dos ésteres, compreendendo 80% da amostra e hexanoato de metila (31%) e 2-hexenoato de metila (27%) foram os compostos mais abundantes. Foram encontrados uma série de ésteres de metila e etila, com cadeia saturada de ácido carboxílico de C4-C8, além de seis enoatos. A avaliação olfatométrica foi feita por *sniffing* e os resultados mostraram que nenhum composto apresentava isoladamente o aroma característico de graviola. Portanto, o aroma final da fruta deveria ser o resultado da combinação dos compostos voláteis presentes, com grande contribuição dos ésteres.

A mudança da composição de voláteis da graviola havaiana durante o amadurecimento foi estudada por Análise Total, através de extração contínua líquido-líquido (ZHANG *et al.*, 1993). Apenas 17 compostos voláteis foram identificados por cromatografia gasosa-espectrometria de massas e os resultados obtidos concordaram com

os do estudo anterior. Os ésteres dominaram a amostra; butanoato e hexanoato de metila, conjuntamente com 2-butenato e 2-hexenoato de metila foram os 4 compostos majoritários.

Um estudo qualitativo foi realizado sobre os compostos voláteis do *headspace* da polpa congelada comercial da graviola brasileira (AUGUSTO *et al.*, 2000), utilizando microextração em fase sólida. Os autores estudaram quatro tipos diferentes de fibra, considerando-se apenas o número de compostos voláteis, os melhores resultados foram obtidos com a fibra de polimetilsiloxano. Foram detectados 10 ésteres, 2 aldeídos, 2 compostos terpênicos e um ácido carboxílico, no *headspace* da fruta, somando-se os resultados das quatro fibras estudadas.

JIROVETZ *et al.* (1998) estudaram o óleo essencial de graviola de Camarões, que foi obtido utilizando-se destilação. Os ésteres dos ácidos alifáticos foram os dominantes, com aproximadamente 51% de área relativa, sendo os compostos majoritários o 2-hexenoato de metila (23,9%), 2-hexenoato de etila (8,6%), 2-octenoato de metila (5,4%) e 2-butenato de metila (2,4%). Foi realizado o *sniffing* e o sabor exótico da fruta foi atribuído aos ésteres e aos monoterpenos, como α -terpineol e linalol.

No mais recente trabalho publicado sobre a composição de voláteis de graviola (PINO *et al.*, 2002), estes foram isolados por destilação/extração simultânea. A fruta cubana apresentou 137,7 mg/kg de compostos voláteis e os componentes majoritários foram acetato de 3-metil-2-butenila (16,7%), octanoato de metila (15,6%), 3-metil-3-buten-1-ol (9,6%) e hexanoato de metila (7,5%). Comparando-se os dados relatados, observa-se que independente da procedência da fruta, os ésteres foram os compostos majoritários.

1.2.5 Jenipapo (*Genipa americana* L.)

O jenipapo é uma fruta comum do Norte e Nordeste brasileiro, que apresenta polpa suculenta e ácida, porém doce e exala um aroma bastante característico (GOMES, 1982). A fruta é consumida na forma de suco, doce cristalizado e licor.

A composição de voláteis de jenipapo foi determinada por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM) (BORGES & REZENDE, 2000). Os voláteis foram isolados por um método de análise total (destilação-extração simultânea de Nickerson-Likens), utilizando diclorometano como solvente e 4 horas de extração. Trinta e cinco

compostos voláteis foram identificados por CG-EM e os compostos majoritários foram os ácidos octanóico (34,1%), 2-metilbutírico (9,1 %), hexanóico (18,2%) e os ésteres 2-metil-2-(*E*)-butenoato de metila (4,1%), octanoato de etila (3,2%) e 2-propilfurano (2,5%). A avaliação dos compostos voláteis, realizada por CG-AEDA, mostrou que os ácidos butírico, 2-metilbutírico e hexanóico foram responsáveis pelas notas pungente e ácida, sendo que a característica frutal foi atribuída à presença dos ésteres 2- e 3-metilbutirato de etila. Somente foi relatada a presença e a importância desses compostos, os autores não apresentaram um aromagrama ou os fatores de diluição dos compostos com menor intensidade de odor.

1.2.6 Murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)

O murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) é uma fruta de forma arredondada com 1 a 2 cm de diâmetro e coloração amarelada, polpa carnosa e translúcida que exala um aroma característico de queijo. É encontrada no Norte e Nordeste brasileiro e é consumida principalmente como suco, geléia, doce e licor (CAVALCANTE, 1991).

Em um estudo prévio, ALVES & JENNINGS (1979) pesquisaram os constituintes voláteis do murici da região Amazônica utilizando o sistema de destilação-extração simultânea de Nickerson–Likens. Foram detectados por cromatografia gasosa 71 compostos voláteis no suco enlatado da fruta, porém apenas 23 foram identificados por CG-EM. Os ésteres prevaleceram, predominando aqueles com radicais etila, como butanoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila, sendo que nenhum desses compostos apresentou aroma característico de murici. O autor relatou que a interação entre os constituintes voláteis da amostra poderia ser responsável pelo aroma característico da fruta.

REZENDE & FRAGA (2003) estudaram os compostos voláteis de murici da região Norte brasileira (Belém - Pará) utilizando um sistema de destilação-extração simultânea e a técnica olfatométrica CG-AEDA (*Aroma Extract Dilution Analysis*). Os compostos majoritários foram hexanoato de etila (15,7%), ácido hexanóico (8,6%), butanoato de etila (7,5%), octanoato de etila (5,7%), ácido butanóico (5,1%), 2-metilpropanol (3,8%) e ácido octanóico (3,5%). Os compostos considerados importantes para o aroma da fruta foram: butanoato e hexanoato de etila, que apresentaram aroma frutal e doce; os ácidos butírico e hexanóico, descritos com odor de ranço e pungente. Embora apresentem uma lista de 20

compostos identificados, os autores não relatam os compostos que apresentaram valores de FD menores, mas que também poderiam contribuir para o aroma da fruta.

1.2.7 Umbu (*Spondias tuberosa*, Anarcadinaceae)

Umbu (*Spondias tuberosa*, Anarcadinaceae) é uma fruta típica do nordeste brasileiro, apreciada devido ao seu sabor ácido e refrescante. Os compostos voláteis do *headspace* do suco de umbu fresco, da fruta congelada e do suco obtido da fruta congelada foram estudados por THOMAZINI (1998), utilizando a técnica de captura em polímero poroso Porapak. Foram detectados por cromatografia gasosa de alta resolução 44 compostos voláteis, dos quais dezesseis foram identificados por espectrometria de massas. Predominaram os compostos voláteis terpênicos, onde os monoterpenos e os sesquiterpenos contribuíram respectivamente com 82,5% e 2,2% de área relativa.

Os compostos α -pineno, α -felandeno, d-limoneno, (*E*)-ocimeno e um composto não identificado foram os majoritários no suco de umbu, sendo d-limoneno o mais abundante.

Foi realizado um teste de *sniffing* a fim de verificar a contribuição dos principais compostos voláteis ao aroma da fruta, sendo que os compostos α -pineno, canfeno, β -mirceno, α -felandreno, d-limoneno, (*E*)-ocimeno e allo-ocimeno apresentaram aroma e portanto, contribuem efetivamente na formação do aroma típico de umbu.

1.2.8 Umbu-cajá (*Spondias citherea*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) e camu-camu (*Myrciaria dubia*)

Recentemente essas três frutas, umbu-cajá de Recife e araçá-boi e camu-camu de Manaus, foram estudadas por FRANCO & SHIBAMOTO (2000) utilizando uma técnica de *headspace* dinâmico.

O umbu-cajá é uma fruta pequena, nativa da região nordeste brasileira, de aproximadamente três centímetros de diâmetro, casca amarela e possui um aroma azedo e refrescante. Foram identificados por cromatografia gasosa de alta resolução vinte e seis compostos no *headspace* do umbu-cajá. Os compostos voláteis predominantes foram os terpênicos (87,5 % área relativa), seguido pelos ésteres, com apenas 5%. Um monoterpeno, *cis*- β -ocimeno (36%) e um sesquiterpeno, β -cariofileno (27%), foram os compostos

encontrados em maior abundância seguidos por *trans*-ocimeno (7,4%), d-limoneno (7,1%) e α -cariofileno (4,5%).

O araçá-boi é uma fruta proveniente da região amazônica, tem forma arredondada (aproximadamente 12 cm de diâmetro), e possui casca amarelada. Sua polpa cremosa e esbranquiçada tem um sabor ácido, podendo ser usada para produção de sucos, sorvetes e sobremesas. Os compostos voláteis do *headspace* da fruta foram caracterizados por uma mistura complexa de sesquiterpenos. Desses compostos predominantes, o germacreno D foi o majoritário (38%).

O camu-camu é uma fruta redonda (2-2,5 cm de diâmetro) com casca vermelha e polpa rosa, consumida na forma de suco por causa de seu sabor ácido, caracterizada por seu alto conteúdo de vitamina C. Os compostos majoritários detectados no *headspace* do camu-camu também foram os terpenos (98%), sendo que o α -pineno foi o composto predominante (66%), seguido pelo d-limoneno (42%). Entre os sesquiterpenos, o β cariofileno (4,6%) foi o mais abundante.

Comentário final:

A finalidade de um estudo sobre a composição de compostos voláteis de uma fruta é principalmente apontar quais desses contribuem efetivamente para o seu aroma característico. Nesse sentido, as técnicas olfatométricas têm desempenhado papel fundamental, sendo possível ordenar relativamente os compostos voláteis mais importantes para o aroma da fruta. Entretanto, todos os esforços podem ser inúteis se o isolado não for representativo da amostra.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACREE, T.E.; BERNARD, J.; CUNNINGHAM, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chemistry**, v. 14, p. 273-86, 1984.

ACREE, T.E.; TERANISHI, R. **Flavor Science: sensible principles and techniques**. Washington: ACS Professional Reference Book. 1993. 351 p.

ALVES, S.; JENNINGS, W.G. Volatile composition of certain Amazonian fruits. **Food Chem.**, v. 4, p. 149-159, 1979.

ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, p. 2145-2148, 1990.

- 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.
- BAUER, K. Tropical fruit flavors: a Flavorist's perspective. **Cereal Food World**, v. 45, p. 204-207, 2000.
- BICALHO, B.; PEREIRA, A.S.; NETO, F.R.A.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anarcadium occidentale*, L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1167-1174, 2000.
- BORGES, E.S.; REZENDE, C.M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). **J. Essent. Oil Res.**, v. 12, p. 71-74, 2000.
- BOULANGER, R.; CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. Free and bound flavour components of Amazonian fruits.1: Bacuri. **Flavour Fragrance J.**, v. 14, p. 303-311, 1999.
- BOULANGER, R.; CROUZET, J. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuaçu. **Food Chemistry**, v. 70, p. 463-70, 2000.
- BOULANGER, R.; CROUZET, J. Changes of volatile compounds during heating of bacuri pulp. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 5911-5915, 2001.
- CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Fraiha Neto, 1991. 146 p.
- CASIMIR, D.J.; WHITFIELD, F.B. Flavour impact values: a new concept for assigning numerical values for potency of individual flavour components and their contribution to overall flavour profile. **Ber. Int. Fruchtsaftunion**, v. 14, p. 325-345, 1978.
- DA SILVA, M.A.A.P.; LUNDHAL, D.S.; M.C. DANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H; Van DER HEIJ, D.G. (Eds). **Trends in Flavor Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1994. p. 191-209.
- DA SILVA, M.A.A. P., ELDER, V.; LEDERER, C.L.; LUNDHAL, D.S.; MCDANIEL, M.R. **Flavor properties and stability of a corn-based snack: relating sensory, gas chromatography and mass spectrometry data**. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed). **Shelf-life studies of foods and beverages**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993. p. 707-738.
- ETIÉVANT, P. X.; CALLEMENT, G.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; COQUIBUS, N. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by finger span method. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 47, p. 1673-1680, 1999.
- FARKAS, P.; SADECKA, J.; KOVAC, M.; SIEGMUND, B.; LETNER, E.; PFANNHAUSER, W. Key odourants of pressure-cooked hen meat. **Food Chemistry**, v. 60, p. 617, 1997.
- FERNADEZ, X.; DUNACH, E.; FELLOUS, R.; LIZZANI-CUVELIER, L.; LOISEAU, M. DOMPE, V.; COZZOLINI, F. GEORGE, G.; ROCHARD, S. SCHIPPA, C. Identification of thiazolidines in guava: stereochemical studies. **Flavour and Fragrance J.**, v. 16, p. 274-280, 2001.

- FISCHER, F.N.; HAMMERSCHMIDT, J.E.; BRUNKE, J. A contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflorum* Spreng). **Fruit Processing**, v. 5, p. 61-65, 1995.
- FLATH, R.A.; FORREY, R.R. Volatile Components of Papaya (*Carica papaya* L., Solo Variety). **J. Agric. Food Chem.**, v. 25, p. 103-109, 1977.
- FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 293-9, 1983.
- FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F.M. Compostos Voláteis de Três Cultivares de Manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 165-169, 2004.
- FRANCO, M.R.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits. Umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1263-1265, 2000.
- FRITJERS, J.E.R. Some psychophysical notes on the use of the odour unit number. **Chem. Senses Flavour**, n. 3, p. 227-233, 1978.
- FULLER, G.H.; STELTENKAMP, R.; TISSERAND, G.A. The gas chromatograph with human sensor: perfumer bocal. Ann. N.Y. Acad. Sci. v.116, p. 11-724, 1964. APUD: ACREE, T.E.; BARNARD, J. Gas-chromatography-olfactometry and Charm Analysis. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D.G. (Eds.). **Trends in Flavor Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1994. p. 211-220.
- GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; JANZANTTI, N.S.; ALVES, G.L. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anarcadium occidentale* L.) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **J. Sci. Food Agric.**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.
- GUICHARD, H.; GUICHARD, E.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; ABBOTT, N. GC sniffing analysis: olfactive intensity measurement by two methods. **Z lebensm Unters Forsch**, v. 201, p. 344-350, 1995.
- GOMES, R.P. **Fruticultura Brasileira**. São Paulo: Nobel, 1982, p. 278-281.
- GROB, K. Injection Techniques in capillary GC. **Analytical Chemistry**, v. 66, p. 1009A-1019A, 1994.
- GUADAGNI, D.G.; OKANO, S.; BUTTERY, R. G.; BURR, H. K. Correlation of sensory and gas liquid chromatographic measurements of apple volatiles. **Food Technol.**, v. 20, p. 1966-9, 1964.
- JANZANTTI, N.S.; FRANCO, M.R.B.; LANÇAS, F.M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 164-171, 2000.
- JENNINGS, W.G.; FILSOOF, M. Comparison of sample preparation techniques analysis. **J. Sci. Food Agric.**, v. 25, p. 440-5, 1977.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; NAGASSOUM, M. B. Essential oil compounds of the *Annona muricata* fresh fruit pulp from Cameroon. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, p. 3719-3720, 1998.

JUNK, G.A.; RICHARD, J.J. Organic in water: solid phase extraction on a small scale. **Anal. Chem.**, v. 60, p. 451-454, 1988.

KOLB, B. Headspace sampling with capillary columns. **J. Chromatogr.**, v. 842, p. 163-205, 1999.

LE GUEN, S.; PROST, C.; DEMAIMAY. Critical Comparison of Three Olfactometric Methods for the Identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1307-14, 2000.

LINSSEN, J.P.H.; JANSSENS, G.M.; ROOZEN, J.P.; POSTHUMUS, M.A. Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. **Food Chemistry**, v. 46, p. 367-371, 1993.

LISKA, I.; KRUPCIK, J.; LECLERCQ, P.A. The use for a solid sorbents for direct accumulation of organic compounds from water matrices - a review of solid-phase extraction techniques. **Journal High Resolution Chromatography**, v. 12, p. 577-590, 1989.

MAARSE, H. **Volatile compounds in foods and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 1-33.

MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBERY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory chromatography approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Flavours and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.

MACLEOD, A.; PIERIS, N. M. Volatile Flavor Components of soursop (*Annona muricata*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 29, p. 488-490, 1981.

MACLEOD, A.J.; CAVE, S.J. Volatile components of eggs. **J. Sci. Food Agric.**, v. 26, p. 351, 1975.

MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile flavor components of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Phytochemistry**, v. 21, p. 2527-30, 1982.

MACIEL, M.I.; HANSEN, T.J.; ALDINGER, S.B.; LABOWS, J.N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **J. Agric. Food Chem.**, v. 34, p. 923-27, 1986.

MILLER, M.; STUART, J.D. Comparison of gas-sampled and SPME-sampled static headspace for the determination of volatile flavor components. **Anal. Chem.**, v. 71, p. 21-23, 1999.

MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBERY, L.M.; WATSON, B.T.; MCDANIEL, M.R. Identification of additional odor - active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 43, p. 90-2, 1992.

NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chromatogr.**, v. 21, p. 1, 1969.

NOVOTNY, M.; MCCONNEL, M.L.; LEE, M.L. Some aspects of high-resolution gas-chromatographic analysis of complex volatile samples. **J. Agric. Food Chem.**, v. 22, p. 765, 1974.

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. **J. Chromatogr. A**, v. 1025, p. 115-124, 2004.

OTT, A.; FAY, L.B.; CAHINTREAU, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, p. 850-858, 1997.

PIGGOT, R.J. Relating sensory and chemical data to understand flavor. **J. Sensory Studies**, v. 4, p. 261-273, 1990.

PINO, J.A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 5880-5882, 2001.

PINO, J.A.; MARBOT, R.; AGUERO, J. Volatile components of wild soursop (*Annona montana* Macf) fruit. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, p. 257-258, 2002.

PRETERIOUS, V.; BERTCH, W. Sample introduction in capillary gas-liquid chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 6, p. 64-7, 1983.

POLLIN, P.; OTT, A.; MONTIGON, F.; BAUMGARTNER, M.; MUNÓZ-BOX, R.; CHAINTREAU, A. Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 2630-2637, 1997.

REZENDE, C.M.; FRAGA, S.R.G. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **J. Brazilian Chem. Soc.**, v. 14, p. 425-428, 2003.

ROBERTS, D.D.; POLLINEN, P.; MILO, C. Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v.48, p. 2430-2437, 2000.

SANCHES, N.B.; LEDERER, C.L.; NICKERSON, G.B.; LIBBERY, L.M.; MCDANIEL, M.R. Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and unhopped beer. In: Charalambous, G. (Ed.). **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992. p. 403-26.

SIDEL, 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.

SINGLETON, J.A.; PATTEE, H.E. **Analysis of food and beverages**. New York: Academic Press, 1978. 359 p..

SHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat an rye bread by aroma extract dilution analysis. **Zeitschrift Lebensmittel Unters Forsshung**, v. 182, p. 111-113, 1987.

SOLOMONS, T.W. **Organic chemistry**. New York: Wiley, 1996. 1066 p.

STEFFEN, A.; PAWLISZYN, J. Analysis of flavor volatiles using headspace solid-phase. **J. Agric. Food Chem.**, v.44, p. 2187-2193, 1996.

THOMAZINI, M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e da polpa congeladas de umbu (*Spondia tuberosa*, Anarcadinaceae).** 1998. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1998.

ULRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Z. Lebensm Unters. Forsh**, v. 184, p. 277-82, 1987.

VAN RUTH, S.M.; ROOZEN, J.P.; POSTHUMUS, M. Instrumental and sensory evaluation of the flavour of dried French beans (*Phaseolus vulgaris*) influenced by storage conditions. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 69, p. 393-401, 1995.

VENDRAMINI, A.L.; TRUGO, L.C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v.71, p. 195-198, 2000.

WEURMAN, C. Isolation and concentration of volatiles in foods odor research. **J. Agric. Food Chem.**, v. 17, p. 370-384, 1969.

WINTERHALTER, P. Fruits IV. In: MAARSE, H. (Ed). **Volatile compounds in foods and beverages.** New York: Marcel Dekker Inc., 1991. p. 389-409.

YANG, X.; PEPPARD, T. Solid phase-microextraction for flavor analysis. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, p. 1925-1930, 1994.

YOUNG, H.; PATERSON, V. The flavour of exotic fruit. In: MORTON I.D.; MACLEOD, A.J. (Eds.). **The food flavours. Part C: The flavour of fruits.** Amsterdam: Elsevier, 1990. p. 281-326.

ZHANG, X.; IWAOKA, W.T.; HAMILTON, R.A.; CHIA, C.L.; TANG, C.S. Identifying volatiles in soursop and comparing their changing profiles during ripening. **HortScience**, v. 28, n.8, p. 817-819, 1993.

CAPÍTULO 2

PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO *HEADSPACE* DO SUCO DE MURICI E JENIPAPO

2.1 INTRODUÇÃO

O sabor de um alimento é uma resposta integrada a uma mistura complexa de estímulos, particularmente relacionada ao aroma e gosto. A percepção do gosto é devida à presença de compostos não voláteis, que causam as sensações descritas como doce, salgado, azedo, amargo e umami. O aroma é uma sensação mais complexa, envolvendo a percepção dos compostos voláteis, que podem ser percebidos pelo olfato humano. A percepção do sabor depende de uma série de respostas sensoriais, mas o fator que têm maior influência é o aroma (SIDEL *et al.*, 2000).

O estudo dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma de frutas é um dos principais objetivos da química de alimentos, sendo útil para a caracterização, reconstituição e formulação de aromas, bem como classificação da origem das frutas e possíveis mudanças ocorridas durante seu processamento, como a formação de aromas desagradáveis (*off-flavor*).

A etapa inicial da análise do aroma e sabor dos alimentos é o isolamento dos compostos voláteis da matriz de não voláteis. Trata-se de uma etapa crucial, visto que o isolado obtido deve apresentar o aroma original do produto estudado. Portanto, as condições empregadas no isolamento devem ser as mais brandas possíveis para evitar reações de oxidação, degradação térmica e outras mudanças químicas e bioquímicas da amostra.

A análise dos compostos voláteis do vapor em equilíbrio sobre o produto, como é percebido apenas pelo olfato, é chamada de análise do *headspace*, e pode ser realizada qualitativa, quantitativa e sensorialmente. As técnicas de *headspace* utilizadas podem ser classificadas em *headspace* estático e dinâmico (KOLB, 1999). Uma técnica muito simples de *headspace* estático é a chamada injeção direta, que consiste na introdução de uma alíquota de vapor em equilíbrio com a amostra, a uma determinada temperatura, diretamente no cromatografo gasoso por meio de uma seringa a gás.

As aplicações de injeção direta são limitadas, pois a amostra de vapor muito diluída produz picos somente para os componentes majoritários, que possuem altas pressões de vapor (JENNINGS & FILSOOF, 1977).

A necessidade da concentração de compostos voláteis importantes para o aroma de alimentos, mas que encontram-se em quantidades traços, levou ao desenvolvimento do

procedimento do *headspace* dinâmico. Nesse procedimento, geralmente utiliza-se um fluxo de gás para remover continuamente os compostos voláteis do *headspace* da amostra, que são capturados e concentrados em uma armadilha (polímero poroso) de onde são posteriormente eluídos por um solvente orgânico adequado, ou então dessorvidos termicamente.

A metodologia de SINGLETON & PATTEE (1978), que envolve uma amostragem de *headspace* por sucção, foi modificada por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) para isolar os compostos voláteis de suco de graviola e mamão. Nesse sistema o vapor do *headspace*, de amostras líquidas ou sólidas, foi removido continuamente por sucção com subsequente enriquecimento (“trapping”) dos componentes e os compostos voláteis capturados foram dessorvidos com solvente. Desde que seja realizada a devida padronização das condições de captura, como tempo e solvente utilizados, esse sistema pode ser usado em diferentes matrizes.

O método de enriquecimento dos vapores do *headspace* em polímero poroso por sucção foi aplicado para estudar várias frutas brasileiras, como umbu (THOMAZINI, 1998), umbu-cajá, camu-camu, araçá-boi e cupuaçu (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000), maçã (JANZANTTI *et al.*, 2000), caju (GARRUTI *et al.*, 2003) e manga (FRANCO *et al.*, 2004), destacando-se que os isolados obtidos tinham o aroma característico da fruta, conforme avaliação realizada por provadores selecionados.

O objetivo deste estudo foi estabelecer as condições de isolamento de compostos voláteis de duas frutas, murici e jenipapo, através de um método de isolamento sem utilizar calor, para possibilitar a obtenção de isolados com aromas representativos das amostras originais. Para isso, as condições de isolamento, tais como tempo de captura da amostra e solvente utilizado para eluição, foram cuidadosamente padronizadas, através de técnicas sensoriais e instrumentais.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Matéria prima e preparo das amostras

Foram estudados em duas safras consecutivas, jenipapo e murici provenientes da região Nordeste brasileira (Ceará). Em cada safra foram adquiridos no comércio local três

lotes de cada fruta, pesando cerca de 2 Kg cada um. Para garantir que as frutas fossem preservadas durante as etapas do estudo, elas foram previamente congeladas (-18°C) e assim mantidas até sua utilização.

Os sucos das frutas foram preparados como descrito a seguir:

Murici: Os frutos permaneceram em água destilada por 30 minutos, em seguida a polpa da fruta foi separada manualmente da semente, diluída na proporção de 1:4 com água destilada (p/p) e subsequentemente, homogeneizada utilizando-se liquidificador.

Jenipapo: Três frutos de cada lote foram descascados, diluídos na proporção de 1:1 (p/p) com água destilada e a solução foi homogeneizada utilizando-se um liquidificador. Posteriormente o suco obtido foi filtrado.

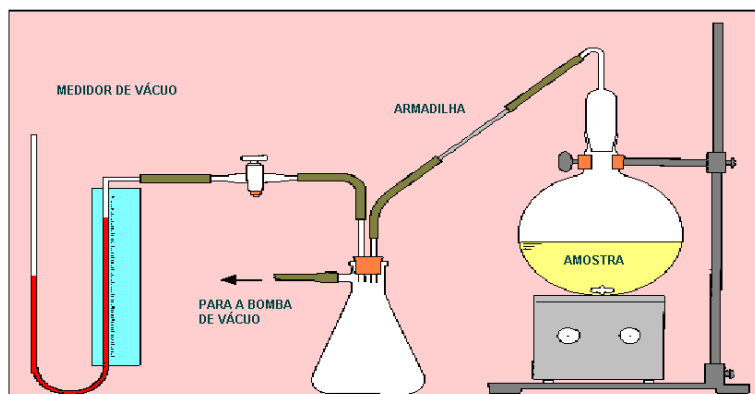
Após a obtenção do suco de cada uma das frutas, foi adicionado 30% (p/p) de NaCl à 300 gramas do suco e a solução obtida foi colocada no balão do sistema de coleta de voláteis.

2.2.2 Isolamento dos compostos voláteis

O isolamento de compostos voláteis foi realizado pelo método de enriquecimento dos vapores de *headspace* em polímero poroso por sucção (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983), utilizando-se o sistema ilustrado na Figura 2.1. A resina utilizada foi Porapak Q, 80-100 mesh (Washer Associates), após condicionamento a 170°C por 48 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra puro a 32 mL/min. Após cada análise, a limpeza do polímero foi feita com solvente e recondicionamento nas mesmas condições, durante 8 horas.

2.2.2.1 Escolha do solvente utilizado para eluição dos voláteis do polímero poroso

Foram realizadas duas capturas dos compostos voláteis de cada suco, por duas horas, sob vácuo de aproximadamente 70 mm Hg. Posteriormente os compostos voláteis foram eluídos com 300 µL de hexano e 300 µL de acetona (solvente grau cromatográfico-Merck). Os dois isolados foram avaliados sensorialmente quanto ao aroma característico da fruta e também por cromatografia gasosa.



Fonte: Garruti, 2001.

Figura 2.1: Sistema de captura dos compostos voláteis do *headspace* por sucção.

2.2.2.2 Otimização do tempo de coleta dos voláteis das amostras de frutas

Os compostos voláteis do jenipapo foram capturados por 1, 2 e 3 horas e os do murici por 1, 2 e 4 horas. A eluição foi realizada utilizando-se 300 μ L do solvente com maior poder de eluição dos compostos voláteis. Os três isolados foram avaliados sensorialmente e por cromatografia gasosa.

2.2.3 Análise sensorial dos isolados

2.2.3.1 Seleção dos provadores para o aroma de murici

Para compor a equipe sensorial foram recrutados alunos de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos – Unicamp, num total de 18 indivíduos de ambos os sexos, na faixa de 25-40 anos. Foi realizada inicialmente uma sessão inicial, para familiarização desses indivíduos com o aroma característico do suco de murici.

Em sessão posterior, os participantes receberam três amostras do suco diluído (1:6; 1:8; 1:12) e avaliaram a intensidade do aroma característico de cada fruta, em três repetições, utilizando a ficha de respostas apresentadas na Figura 2.2.

Aos dados obtidos foi aplicada análise de variância (ANOVA) tendo como fontes de variação amostra e repetição. Foi utilizado o programa estatístico “Statistical Analytical System” (SAS, 1992). Para cada provador, foi computado o nível de significância (p) para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$. Foram selecionados, para compor a equipe sensorial, aqueles que

apresentaram $p_{\text{Famostra}} \leq 0,15$ e $p_{\text{Frepetição}} > 0,05$, segundo metodologia proposta por DAMÁSIO & COSTELL (1991). A equipe final de julgadores constou de 8 indivíduos, dois do sexo masculino e seis do sexo feminino.

2.2.3.2 Seleção dos provadores para o aroma de jenipapo

A seleção de participantes para a avaliação do aroma de suco de jenipapo foi realizada de maneira semelhante à descrita no item 2.2.3.1, sendo que 15 indivíduos participaram da seleção. O suco de frutas foi diluído nas proporções 1:5; 1:25 e 1:50. A equipe final dos julgadores para o aroma de suco de jenipapo, foi composta de 10 julgadores, dois do sexo masculino e 8 do sexo feminino.

2.2.3.3 Análise do aroma dos isolados

Cinco microlitros de cada isolado foram transferidos por meio de uma seringa cromatográfica, a um papel tipo borrão cedido pela empresa IFF Essências e Fragrâncias Ltda, para avaliação de aromas. Após a evaporação do solvente, cada provador atribuiu uma nota ao isolado em relação à intensidade de aroma característico da fruta. O teste foi realizado pelos provadores selecionados, conforme já descrito, utilizando uma escala não estruturada de 9 pontos. A ficha de avaliação está apresentada na Figura 2.2.

2.2.4 Cromatografia gasosa

Os isolados foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução, em cromatografo a gás Varian, modelo 3800, (Walnut Creek, CA) com detector de ionização de chama.

Para separação dos compostos voláteis foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida de 30 metros de comprimento, por 0,25 mm de diâmetro interno e 0,50 μm de espessura de filme, com fase ligada DB-Wax.

As condições cromatográficas para análise dos isolados de murici e jenipapo foram as seguintes:

- ❖ Gás de arraste: hidrogênio a 1,3 mL/min;
- ❖ Injetor: splitless a 200 °C;
- ❖ Detector de ionização de chama (DIC) a 250 °C;

- ❖ Programação de temperatura: temperatura inicial a 50 °C por 10 minutos, elevação até 200 °C a 3 °C/ min e manutenção dessa temperatura por 10 minutos.

Nome: _____		Data: _____	
Por favor, avalie a intensidade do aroma característico de murici e expresse suas impressões utilizando a escala abaixo:			
Amostra	Aroma característico de murici		
_____	Fraca _____	Forte	
_____	Fraca _____	Forte	
_____	Fraca _____	Forte	
Observações: _____			

Figura 2.2: Modelo da ficha de avaliação utilizada na seleção dos participantes da equipe sensorial de murici e jenipapo.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Seleção da equipe sensorial

Os resultados estatísticos obtidos na seleção dos participantes da equipe sensorial são apresentados nas Tabelas 2.1 e 2.2 para os sucos de murici e jenipapo, respectivamente.

Segundo os critérios adotados, os indivíduos 1, 2, 4, 11, 13, 14 e 16 não discriminaram suficientemente as amostras, enquanto os participantes 5, 9, 13 e 16 não apresentaram boa repetibilidade em seus julgamentos. A maioria dos participantes da seleção de provador do suco de murici apresentou bom consenso com a equipe sensorial, ou seja, as médias para as amostras mais concentradas foram maiores do que aquelas das amostras menos concentradas (Figura 2.3). Portanto, baseados na capacidade de discriminação, repetibilidade e consenso com a equipe foram selecionados os participantes 3, 7, 8, 10, 12, 15, 17 e 18.

Tabela 2.1: Valores individuais de $p_{F \text{ amostra}}$ e $p_{F \text{ repetição}}$ dos provadores que participaram da seleção para compor a equipe sensorial para avaliação do aroma de murici.

Participante	$P_F \text{ amostra}$	$P_F \text{ repetição}$
1	0,2873	0,6970
2	0,2244	0,2240
3	0,0495	0,1374
4	0,1741	0,4552
5	0,1104	0,0172
6	0,1931	0,3650
7	0,0480	0,845
8	0,0006	0,4392
9	0,0651	0,0100
10	0,3987	0,4392
11	< 0,0001	0,0320
12	0,0752	0,7284
13	0,3355	0,0461
14	0,2262	0,6042
15	0,6469	0,6305
16	0,1186	0,0143
17	0,0202	0,8148
18	0,099	0,6912

$p_{\text{amostra}} \leq 0,15$ indica julgador com suficiente poder discriminativo; $p_{\text{repetição}} \geq 0,05$ indica julgador com suficiente repetibilidade;

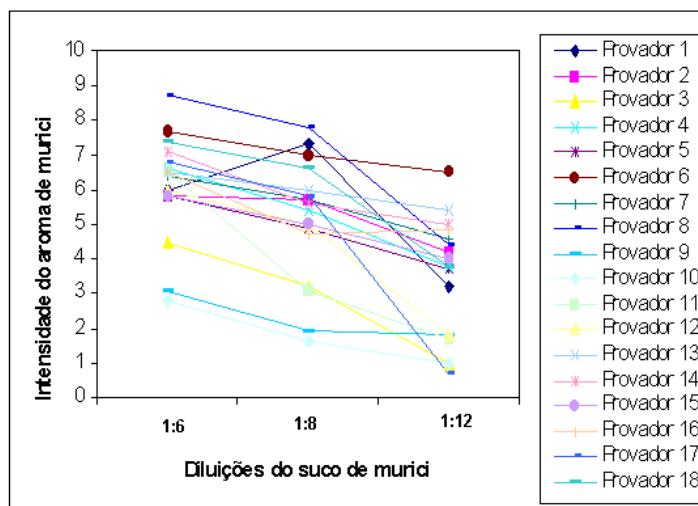


Figura 2.3: Médias da intensidade do aroma de murici atribuídos pelos provadores na etapa de seleção para compor a equipe sensorial.

Os participantes da seleção de provadores do jenipapo mostraram excelente capacidade de discriminar diferenças na intensidade do aroma $p_{\text{amostra}} (p \leq 0,05)$. Porém, não foi observada diferença significativa entre as médias de intensidade de aroma obtida pelo indivíduo 5, embora ele tenha discriminado as amostras. Com relação a repetibilidade, somente os indivíduos 1 e 15 não apresentaram desempenho satisfatórios. Os participantes da seleção de provador do suco de jenipapo apresentaram bom consenso com a equipe sensorial, ou seja, as médias para as amostras mais concentradas foram maiores do que aquelas das amostras menos concentradas (Figura 2.4). Dessa forma, foram selecionados os provadores 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 13 e 14.

Tabela 2.2: Valores individuais de $p_{\text{F amostra}}$ e $p_{\text{F repetição}}$ dos provadores que participaram da seleção para compor a equipe sensorial para avaliação do aroma de jenipapo.

Participante	P amostra	P repetição
1	0,0075	0,0375
2	0,0077	0,8366
3	< 0,001	0,4444
4	0,0001	0,0878
5	0,0593	0,0533
6	0,1965	0,8220
7	0,0044	0,5396
8	0,0041	0,0533
9	0,0518	0,4071
10	0,0247	0,7259
11	0,0001	0,1451
12	0,0155	0,4298
13	0,0019	0,7035
14	0,0003	0,4810
15	<0,0001	0,0145

$p_{\text{amostra}} \leq 0,05$ indica julgador com suficiente poder discriminativo; $p_{\text{repetição}} \geq 0,05$ indica julgador com suficiente repetibilidade;

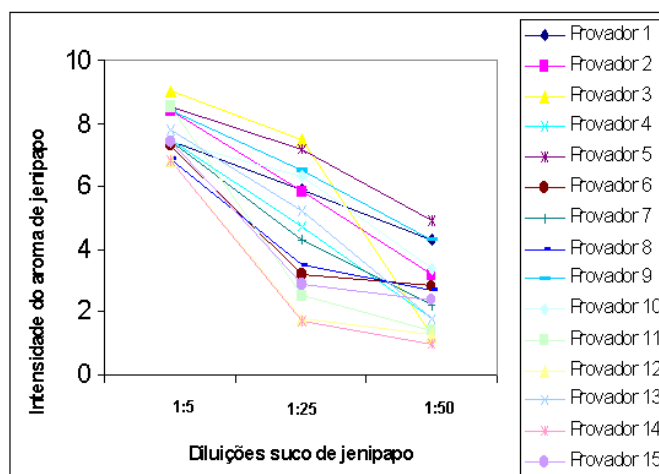


Figura 2.4: Médias da intensidade do aroma de jenipapo atribuídos pelos provadores na etapa de seleção para compor a equipe sensorial.

2.3.2 Otimização das condições de isolamento dos voláteis

2.3.2.1 Escolha do solvente para eluição dos compostos voláteis

Os cromatogramas dos isolados dos compostos voláteis de murici, obtidos após duas horas de captura e eluídos com hexano e acetona (Figura 2.5), apresentaram-se semelhantes, entretanto foi detectado maior número de compostos no isolado de acetona e estes voláteis apresentaram picos com maiores áreas, indicando que este solvente teve maior poder de eluição dos compostos voláteis adsorvidos (Anexo1). Esses resultados instrumentais foram confirmados com os obtidos por análise sensorial (Tabela 2.3), pois a equipe concluiu que os isolados diferiram significativamente entre si ($p \leq 0,05$), sendo que o da acetona apresentou intensidade de aroma característico de murici significativamente maior ($p \leq 0,05$).

Tabela 2.3: Intensidade de aroma característico de murici e de jenipapo nos isolados obtidos por duas horas de captura e eluídos com diferentes solventes.

Solventes	Murici	Jenipapo
	(média intensidade aroma)	(média intensidade aroma)
Acetona	5,56 ^a	5,21 ^a
Hexano	4,58 ^b	4,53 ^a

¹Em uma mesma coluna, médias com letras em comum não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$).

²Escala de intensidade onde 0 = fraco e 9 = forte.

Os isolados de jenipapo apresentaram perfis cromatográficos semelhantes (Figura 2.6) e os resultados da análise sensorial confirmaram esses dados (Tabela 2.3), pois não houve diferença significativa entre os isolados ($p \leq 0,05$), com relação ao aroma, ainda que o isolado de acetona tenha apresentado a maior média de intensidade do aroma característico de jenipapo.

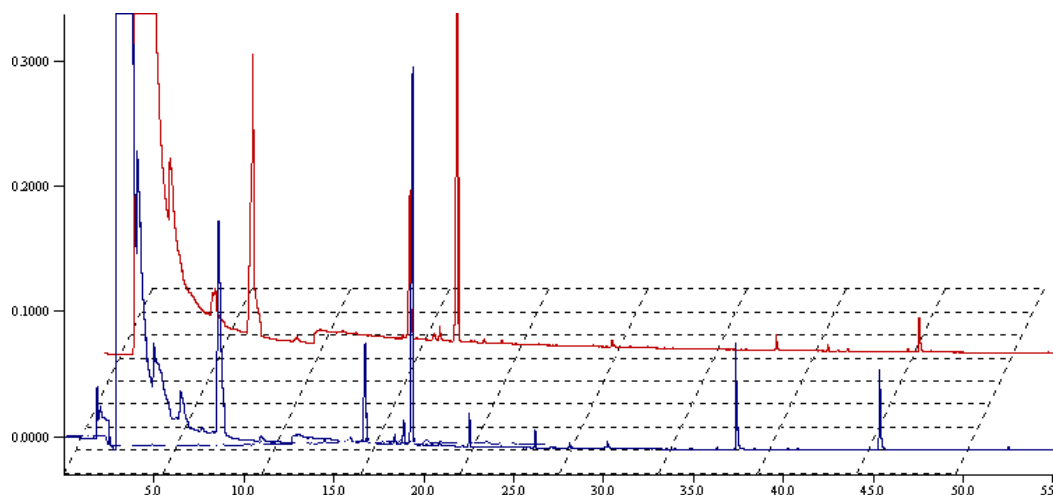


Figura 2.5: Cromatogramas dos compostos voláteis de murici obtidos com diferentes solventes, após 2hs de captura (em coluna DB-Wax) ■ acetona; ■ hexano.

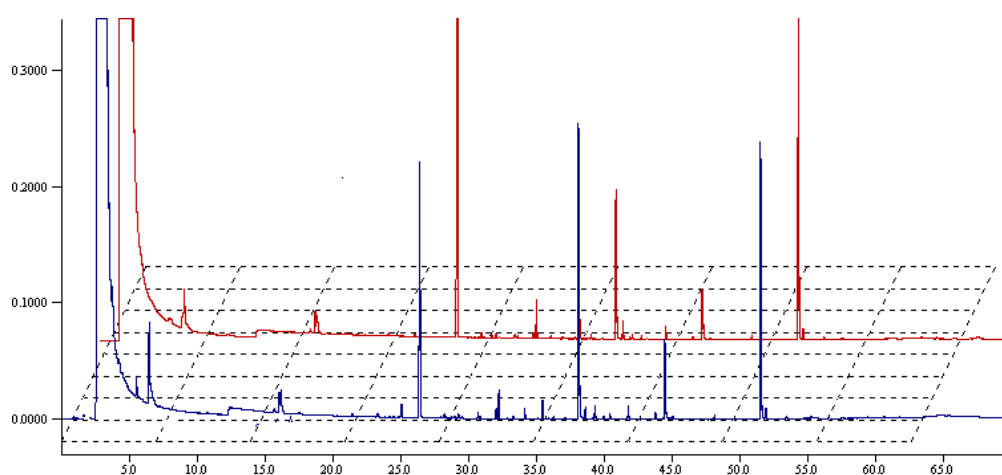


Figura 2.6: Cromatogramas dos compostos voláteis de jenipapo obtidos com diferentes solventes, após 2hs de captura (em coluna DB-Wax) ■ acetona; ■ hexano.

2.3.2.2 Escolha do tempo de captura

Na Figura 2.7 encontram-se os cromatogramas dos compostos voláteis de murici, obtidos após eluição com acetona e período de captura de 1, 2 e 4 horas. Os perfis cromatográficos dos isolados obtidos com 2 e 4 horas foram semelhantes, embora a área dos picos tenham sido maiores neste último (Anexo 2). Os resultados instrumentais foram confirmados pela análise sensorial (Tabela 2.4), pois apesar da equipe não ter observado diferença significativa entre os isolados ($p \leq 0,05$) obtidos em 2 e 4 horas, o isolado capturado em 2 horas apresentou maior média de intensidade de aroma de murici. Verificou-se que, com o tempo de captura de duas horas, o valor da média de intensidade foi de 5,1, em uma escala de nove pontos, onde 0= fraco e 9 = forte, correspondendo a uma intensidade de aroma entre moderado e forte, ou seja, tudo indica que os compostos voláteis odoríferos importantes foram isolados.

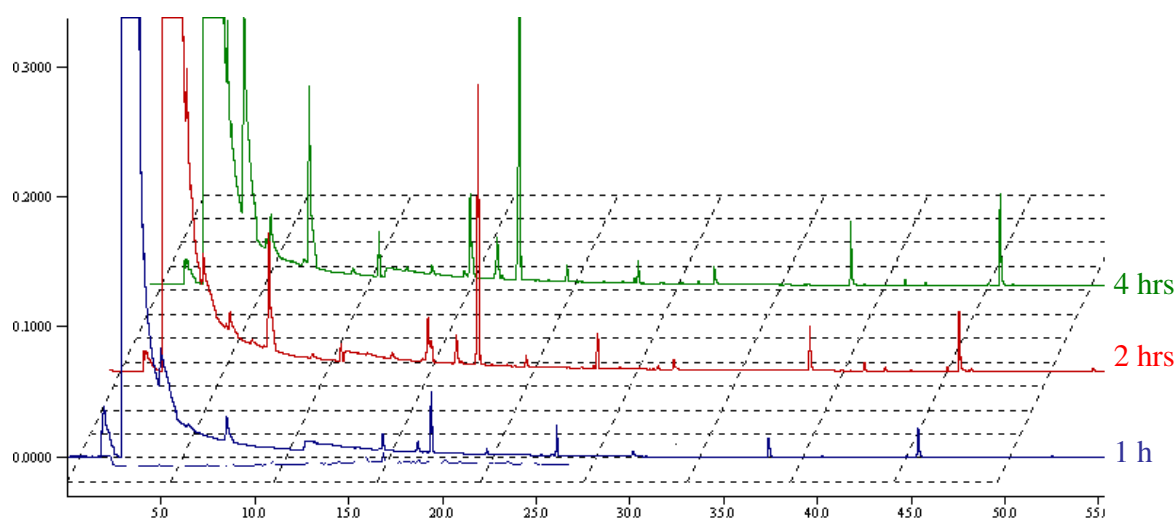


Figura 2.7: Cromatogramas dos compostos voláteis de murici obtidos com diferentes tempos de captura e eluição com acetona (coluna DB-Wax).

Tabela 2.4: Intensidade média de aroma de murici e número de picos cromatográficos obtidos em diferentes tempos de captura do *headspace* de suco de murici e eluição dos voláteis com acetona.

	Tempo (horas)		
	1	2	4
Intensidade do aroma de suco de murici	3,4 ^b	5,1 ^a	4,6 ^a
Número de picos	13	25	26

¹ Numa mesma linha, médias com letras em comum não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. ² Escala de intensidade onde 0 = fraco e 9 = forte.

Os resultados da avaliação sensorial e cromatográfica dos compostos voláteis de jenipapo obtidos após a eluição com acetona, em diferentes tempos de captura, encontram-se na Tabela 2.5. Os isolados apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) com relação à intensidade do aroma característico de jenipapo, observando-se que com o aumento do tempo de captura houve um aumento significativo ($p \leq 0,05$) da intensidade de aroma característico do isolado. Observa-se também, que duas horas de isolamento proporcionaram um isolado que obteve média de intensidade igual a 6,2, em uma escala de nove pontos, onde 0 = fraco e 9 = forte, correspondendo portanto a um aroma de intensidade entre moderado e forte, que dá validade que foram isolados importantes voláteis odoríferos. Pode-se verificar um aumento do número de picos e das áreas dos compostos voláteis presentes com o aumento do tempo de captura. (Anexo 3).

Tabela 2.5: Intensidade média de aroma de jenipapo e número de picos cromatográficos obtidos em diferentes tempos de captura do *headspace* de suco de jenipapo e eluição dos voláteis com acetona.

	Tempo (horas)		
	1	2	3
Intensidade do aroma de suco de jenipapo	3,4 ^b	4,5 ^a	6,2 ^b
Número de picos	15	24	33

¹ Numa mesma linha, médias com letras em comum não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si. ² Escala de intensidade onde 0 = fraco e 9 = forte.

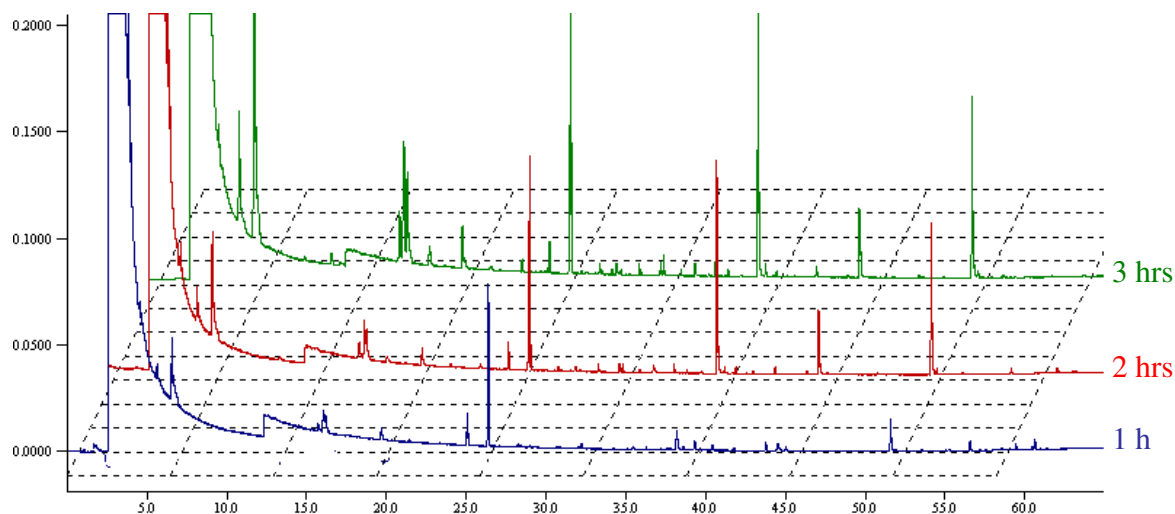


Figura 2.8: Cromatogramas dos compostos voláteis de jenipapo obtidos com diferentes tempos de captura e dessorção com acetona (coluna DBWax).

2.4 CONCLUSÕES

- Para o isolamento dos compostos voláteis de murici em polímero poroso Porapak Q, utilizando-se a técnica de *headspace* dinâmico por sucção, foi estabelecido um período de duas horas de captura, utilizando-se acetona como solvente para eluição dos compostos voláteis do polímero.
- Utilizando-se a mesma técnica de *headspace* dinâmico por sucção e polímero poroso Porapak Q, as condições ótimas determinadas para o isolamento dos compostos voláteis do *headspace* de jenipapo, foram três horas de captura e dessorção dos compostos voláteis com acetona.
- Utilizando-se as condições de isolamento acima descritas, foram obtidos isolados representativos dos aromas característicos das frutas estudadas.
- O emprego de análise sensorial permitiu a avaliação da qualidade e intensidade do aroma dos isolados, auxiliando na padronização do tempo de captura e do solvente para a eluição dos compostos voláteis, e na obtenção de isolado com alta intensidade do aroma característico de murici e de jenipapo.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroq. Tecn. Alim.**, v. 31, p. 165-178, 1991.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 293-9, 1983.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F.M. Compostos Voláteis de Três Cultivares de Manga (*Mangifera indica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 165-169, 2004.

FRANCO, M.R.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits. Umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1263-1265, 2000.

GARRUTI, D.S. Composição dos compostos voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2001. p. 218.

GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; JANZANTTI, N.S.; ALVES, G.L. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anarcadium occidentale* L.) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **J. Sci. Food Agric.**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.

JANZANTTI, N.S.; FRANCO, M.R.B.; LANÇAS, F.M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar Fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 164-171, 2000.

JENNINGS, W.G.; FILSOOF, M. Comparison of sample preparation techniques analysis. **J. Sci. Food Agric.**, v. 25, p. 440-5, 1977.

KOLB, B. Headspace sampling with capillary columns. **J. Chromatogr.**, v. 842, p. 163-205, 1999.

SAS. Statistical Analytical System. **SAS Institute Inc**, SAS Campus Drive, Cary,Caroline, USA, Version 6.12, 1992.

SIDEL, 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.

SINGLETON, J.A., PATTEE, H.E. **Analysis of food and beverages**, New York: Academic Press, 1978. p. 359.

THOMAZINI, M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e da polpa congeladas de umbu (*Spondia tuberosa*, Anarcadinaceae)**. 1998. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 1998.

CAPITULO 3

HEADSPACE GAS CROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY OF VOLATILE COMPOUNDS IN MURICI (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich)

Alves, G. L. and Franco, M. R. B.

Faculdade de Engenharia de Alimentos – Departamento de Ciências de Alimentos.
Universidade Estadual de Campinas, SP, Brazil. CEP 13083- 970 CP 6121 E-mail :
franco@fea.unicamp.br

Trabalho publicado no Journal Chromatography A, v. 985, p. 297-301, 2003.

SUMMARY

Northern and Northeastern Brazil have a natural diversity of fruits, many of which are considered exotic, presenting different flavors and aromas. The enormous diversity of fruits represents a promising area for research on aromas. There is also a great potential for the manufacture of juices, desserts or other processed products. Murici is a typical fruit from these regions presenting a different flavor, reminiscent that of cheese. This fruit is consumed mainly as juice, ice cream or as liquor, quite appreciated by the local population. Headspace volatile compounds of three lots of the fruit proceeding from Ceará (Fortaleza) were collected by suction on Porapak Q for 2 h and desorbed with 300 μ L of acetone. The isolated volatile compounds were separated by high resolution GC. Forty-six volatile compounds were detected, of which 41 were identified by gas chromatography-mass spectrometry and Kovats Indices. The most abundant compounds were ethanol (28.3%) and ethyl hexanoate (25.1%). Butanoic acid (5.1%), hexanoic acid (5.1%) and methyl butyrate (2.8%) were also detected in the headspace of the fruit and confirm its unusual cheese aroma.

Key words: Headspace analysis, *Byrsonima crassifolia*, Fruits; Food Analysis: Volatile organic compounds; Aroma.

3.1 Introduction

Brazil has a great variability of fruits which present exotic flavor, thus having a great economic potential. Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich) is a small round fruit with 1-2 cm in diameter. When ripe it exhibits a yellow coloration, softer pulp and develops a characteristic and unusual cheese aroma. The fruit is found in the Northern and Northeastern regions of the country and is mainly consumed as juice, jellies, confectionery and liquor.

Volatile compounds are responsible for the aroma and flavour of foods. The same fruit, coming from different regions or of different varieties can present a different volatile composition. Volatile compounds of canned murici from the Amazonian region were previously studied by Alves and Jennings ¹. These authors used a modified Nickerson-Likens distillation-extraction unit, and spite of 71 volatile compounds being detected, only

23 of which were identified. The present work aims to characterize the headspace volatile compounds of murici samples from the Northeastern region of Brazil. The headspace volatiles can represent more closely the true aroma of the samples and in this case, fresh fruits were used.

3.2 Material and Methods

3.2.1 Selection of the raw material and sample preparation

Three lots of fresh fruits of ripe murici of 1 kg each were acquired from three different points of the local market of Fortaleza, Ceará. They were previously frozen at -18°C and transported by air to Campinas, SP. Fruits with similar ripening were sampled in two consecutive years, 2000 and 2001.

The three lots were analyzed in duplicate. Fruits were immersed in distilled water for 30 min, the fruit pulp was manually separated from the seed and diluted 1:4 with water (w/w) in a warring blender. After the addition of a (30% w/w) solution of NaCl to 300 g of the obtained juice, the final solution was put in a 1-liter round bottomed flask for collection of the volatile compounds.

3.2.2 Isolation of the volatile compounds

The flask containing the sample solution was connected to a Porapak Q trap which, in turn, was connected to a water aspirator. All tubings and connections were of glass or PTFE. The volatiles were swept to the trap by suction². It was found necessary to monitor the vacuum with a gauge to ensure constant pressure throughout the trapping period. An absolute pressure of 0.64 p.s.i. was used for all samples (1 p.s.i.=6894.76 Pa). Volatile compounds were collected for 2 h and then eluted with 300 µL of acetone (chromatographic grade, EM Science, Merck). The polymer was previously conditioned under a stream of nitrogen at 170°C for 8h.

3.2.3 Gas chromatography

A Varian gas chromatograph, 3800 model (Walnut Creek, CA) equipped with a FID detector was used. Volatile compounds were separated in a DBWax (J&W, Folsom, CA,

USA) fused silica capillary column, 30m x 0.25 mm I.D. and 0.50 μm of film thickness. Chromatographic conditions were: split/splitless injector used in the splitless mode; hydrogen as the carrier gas with a flow of 1.3 mL/min; injector and detector temperatures were of 200 and 250°C, respectively. The column temperature was maintained at 50°C for 10 minutes then increased at a 3°C/min to 200 °C and held for 10 min at this temperature. Two μL of the samples was injected.

3.2.4 Kovats Indices

A solution of alkanes (C7-C19, Polyscience) was prepared and co-injected with the sample under the same conditions as described for the chromatographic analysis. Kovats indices were obtained in two columns with different polarity stationary phases, DBWax and DB1. The apolar column was a fused silica capillary column 30m x 0.25 mm I.D. and 0.50 μm of film thickness (Varian, USA).

The conditions utilized in the analysis with the apolar column DB1 were: splitless injection with a volume of 2 μL ; hydrogen as the carrier gas at a flow of 1.2 ml/min. Injector and detector temperatures were 200°C and 250°C, respectively. The temperature was maintained for 10 minutes at 40 °C, then raised to 110°C at 2°C/min rate, to 200°C at a 5°C/min and held at this temperature for 10 minutes.

3.2.5 Gas chromatography-mass spectrometry

A gas chromatograph GC17A coupled to a mass spectrometer Shimadzu, GC-MS model QP 5000, was used. The interface temperature was 240°C, the ionization voltage was 70 eV and scanning between was 35-350 amu. GC-MS analysis was performed into two columns of different polarities, DBWax and DB1. The conditions of analysis were the same as those of the GC analysis. Helium was utilized as the carrier gas with a flow rate of 1.3 ml/min.

3.2.6 Assignment of structures

Identification of the volatile compounds was carried out by comparison among the mass spectra of standard compounds found in on the instrument library (US National Institute of Standards and Technology, NIST) and the mass spectra of unknown compounds. The

retention indices obtained from two columns of different polarities were also compared with values found in literature. The unknown compound was considered “tentatively identified” when only the mass spectra data were obtained. Compounds were considered positively identified when data were confirmed by the mass spectra of standard pure compounds.

3.3 RESULTS AND DISCUSSION

Forty-six volatile compounds from the headspace of murici were detected by high-resolution gas chromatography, of which 41 were identified. Three volatile compounds were considered tentatively identified and 17 were identified for the first time in murici.

Table 1 presents the volatile composition of the headspace of this fruit in the two consecutive years. The variability demonstrated by the standard deviation was expected and inherent to the analysis of fresh fruits. Kovats indices demonstrated the same elution sequence as demonstrated by the Kovats indices found in the literature in both columns, DBWax and DB1.

The predominant compounds in area percentages were esters (52-56%) followed by alcohols (29-32%). The major compounds were ethanol (28,1%), ethyl hexanoate (25.1%), methyl hexanoate (5,2%), butanoic acid (5,1%) and hexanoic acid (5,1%).

Esters were also the most abundant compounds in the canned Amazonian murici analyzed by Alves and Jennings ¹; ethyl esters such as ethyl butyrate, hexanoate and octanoate were predominant. These authors commented that specific interactions among the volatile compounds could be responsible for the characteristic aroma of this fruit, since no single any compound showed the characteristic aroma of the fruit.

The great variety of ethyl esters and the presence of carbonyl compounds such as 2-pentanone, 2-heptanone and hexanal in the present study, agreed with the previous work. However, in our study, a great number of alcohols, two sulfur compounds, aromatic compounds and fatty acids were also identified. Sulfur compounds, even in very small quantities can have a great influence on the sensorial properties of a food. The ethyl 3-(methylthio)-propanoate detected in murici was previously identified in passion fruit ³ and pineapple ^{4,5}. Teai *et al.* ⁵ claimed that this compound plays a great role in Polynesian

pineapple aroma. Ethyl lactate was also reported in pineapple ^{4,5} and in feijoa ⁶ in low concentrations.

The other sulfur compound (3-methylthiopropanol), was found in wine ⁷⁻¹⁰ and it was described as raw potato ¹¹, sweet soup and meat like ¹².

Among the carbonyl compounds, 3-hydroxybutan-2-one presented the greatest area percentage. This compound was found in several tropical fruits such as cupuaçu ^{13,14}, sapota ¹⁵, cashew-apple ^{16,17}, annona fruits ¹⁸, guava ^{19,20,21,22} and feijoa ⁶. In guava from Japan, it was found as the major compound (81%) ¹⁹. Its aroma was described as slightly musty in sapota ¹⁵. In cashew apples, it was described as slightly sweet ¹⁷.

The presence of ethanol can indicate the occurrence of fermentation. Ethanol was determined in kiwi ²³, in guava as the principal component of the fruit ²⁴ and in mangoes ²⁵. According to these authors, a high concentration of ethanol in mangoes is an indication that the fruits are going bad. In murici, ethanol was detected in high amounts (28,3%) and probably was an indication that fermentation had occurred. The local population usually consumes these fruits in a very ripe stage.

Fatty acids have been detected in several tropical fruits ^{13,16,17,19,21,26}. Isobutanoic and isopentanoic acids contribute to the characteristic pungency of cashew apples ¹⁶. Acetic, propanoic, butanoic and 2-methylbutanoic acids were important compounds contributing to the flavor of cupuaçu ¹³. Butanoic and hexanoic acids have been described in the literature as cheese aroma ^{10,27}.

The characteristic aroma of murici is possibly related to the fatty acids. According to Bauer ²⁸, this fruit possess a goatly cheesy aroma, with pineapple and cherry notes. The presence of ethyl 3-(methylthio)-propanoate in murici can explain the pineapple note. This author stated that this type of fruit, presenting a very unusual aroma similar to that of cheese, would not be accepted on the USA market, although, it could be accepted in yogurts.

The percentages of ethanol, methyl butyrate and ethyl hexanoate were lower in the year of 2002, while the area percentage of butanoic and hexanoic acids, and of ethyl hexanoate increased. The fruits collected in 2002 could therefore present a more intense characteristic cheese aroma.

Table 1: Volatile compounds (%) of sample murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)

Compound	RI ^b	RI ^c	Means or amplitude (n=12)	SD
Ethyl acetate ^{TI}	< 900	<700	Tr	-
Ethanol	946	<700	28,3	7,07
2-pentanone ^a	992	<700	tr-0,44	-
Butanoic acid, methyl ester	1000	725	2,83	2,41
2-butanol	1046	<700	tr-0,2	-
Butanoic acid, ethyl ester	1057	806	17,0	1,13
Hexanal ^a	1100	-	tr-0,99	-
1-propanol, 2-methyl	1122	<700	tr-1,08	-
Isoamyl acetate	1133	882	Tr	-
2-pentanol	1138	700	1,22	0,68
1-butanol	1180	718	tr-0,81	-
Hexanoic acid, methyl ester	1184	1184	5,28	3,43
2-heptanone	1191	1191	Tr	-
Butanoic acid, butyl ester ^a	1205	999	2,24	0,71
1-butanol, 3-methyl	1224	1224	tr-0,27	-
Hexanoic acid, ethyl ester ^a	1229	1000	25,1	4,47
Propanoic acid, 2 methyl, 3 methyl-butyl ester ^{TI}	1234	1059	Tr	-
1-pentanol ^a	1272	-	tr-0,38	-
2-butanone, 3-hidroxy ^a	1292	736	1,15	0,02
Hexanoic acid, propyl ester	1320	-	Tr	-
2-heptanol ^a	1334	906	tr-0,26	-
Ethyl lactate	1349	-	tr-0,138	-
1-hexanol ^a	1362	827	Tr	-
Octanoic acid, methyl ester ^a	1385	1106	Tr	-
3-hexen-1-ol (Z)	1391	-	Tr	-
Hexanoic acid, butyl ester	1399	1194	tr-0,16	-
Butanoic acid, hexyl ester	1425	-	tr-0,42	-
Octanoic acid, ethyl ester ^a	1449	1194	tr-3,43	-
Acetic acid	1474	< 700	tr-0,41	-
Benzaldehyde ^a	1533	969	Tr	-
Ethyl-3-(methylthio) propanoate	1577	-	Tr	-
2 methyl , propanoic acid,	1583	820	Tr	-
Propylene glycol	1597	-	Tr	-
Hexanoic acid, hexyl ester	1614	1367	Tr	-
Butanoic acid	1640	786	5,12	2,4
Acetophenone	1660	1077	Tr	-
3 methyl, butyric acid	1690	-	Tr	-
2,4 dimethylbenzaldehyde	1710	-	nd-0,56	-
1 propanol, 3-(methyl thio)	1730	-	tr-0,29	-
4-ethyl benzaldehyde	1732	1174	Tr	-
NI	-	-	nd-0,47	-
Hexanoic acid ^a	1861	1013	5,1	1,49
NI	-	-	tr-0,2	-
Octanoic acid ^a	> 1900	1180	tr-0,12	-
Phenol, 3 ethyl	> 1900	1176	tr-0,21	-
NI	-	-	Tr	-
Decanoic acid	> 1900	-	Tr	-

TI, compound tentatively identified; SD, standart deviation mean % area murici compounds years, tr traces (mean value below 0,1%); nd, not detected; NI, compound not identified.

^a Compounds positively identified.

^b RI, retention indices on a Carbowax column

^c RI, retention indices on a DB1 column

Acknowledgements

Financial support for this work was provided by Pronex (Programa de Apoio a Núcleos de Excelência) CNPq process nº 662307/1996-8.

3.4 REFERENCES

- [1] S. Alves, W.G. Jennings, Food Chem., 4 (1979), 149.
- [2] M.R.B. Franco; D.B. Rodriguez-Amaya, J. Sci. Food Agric., 34 (1983) 293.
- [3] P. Werkhoff, M. Güntert, G. Krammer, H. Sommer, J. Kaulen. Agric. Food Chem., 46 (1998) 1076.
- [4] K. Umami; Y. Hagi, K. Nakahara, A. Shoji, T. Shibamoto. J. Agric. Food Chem., 40 (1992) 599.
- [5] T. Teai, A. Claude-Lafontaine, C. Schippa, F. Cozzolino, J. Essent. Oil Res., 13 (2001) 314.
- [6] H. Shiota, T. Minami, T. Tsuneya, Koryo, 128 (1980) 35.
- [7] P. Schreier. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 12 (1979) 59.
- [8] T. Herraiz, G. Reglero, P.J. Martin-Alvarez, M. Herraiz, M. D. Cabezudo, J. Sci. Food Agric., 55 (1991) 103.
- [9] A. Lavigne-Delcroix, D. Tusseau, M. Proix, Sci. Aliments, 16 (1996) 267.
- [10] R. López, V. Ferreira, P. Hernández, J.F. Cacho, J. Sci. Food Agric., 79 (1999) 1461.
- [11] C.J. Müller, R.E. Kepner, A.D. Webb, Am. J. Enol. Vitic., 22 (1971) 156.
- [12] A.A. Williams, J. Inst. Brew., 88 (1982) 43.
- [13] N. Fischer, F.J. Hammerschmidt, E.J. Brunke, Fruit Process. 5 (1995) 61.
- [14] M.R. Franco, T. Shibamoto, J. Agric. Food Chem. 48 (2000) 1263.
- [15] A.J. MacLeod, N.G. Troconis, J. Agric. Food Chem. 30 (1982) 515.
- [16] M.I. Maciel, T.J. Hansen, S.B. Aldinger, J.N.J. Labows, J. Agric. Food 34 (1986) 923.
- [17] D.S. Garruti, M.R.B. Franco, M.A.A.P. da Silva, N.S. Janzantti, G.L. Alves, J. Sci. Food Agric., 83 (2003) 1455.
- [18] K.C. Wong, K.H. Khoo, Flavor and Fragrance Journal. 8 (1993) 5.

- [19] O. Nishimura, K. Yamaguchi, S. Mihara, T. Shibamoto, J. Agric. Food Chem., 37 (1989) 139.
- [20] C.C. Chyau, S.Y. Chen, C.M. Wu, J. Agric. Food Chem., 40 (1992) 846.
- [21] J.A. Pino, A. Ortega, J. Essent. Oil Res., 11 (1999) 623.
- [22] H. Idstein, P. Schreier, J. Agric. Food Chem., 33 (1985), 138-143
- [23] H. Young, V. Paterson, J. Sci. Food Agric., 36 (1985) 352.
- [24] A.J. Mac Leod, N.G. Troconis, Phytochemistry 6 (1982) 1339.
- [25] A.J. Mac Leod, C.H. Snyder, J. Agric. Food Chem., 33 (1985) 380.
- [26] A.J. Mac Leod, N.M. Pieris, J. Agric. Food Chem., 31 (1983) 1005.
- [27] M. C. Meilgaard, Tech. Q., Master Brew. Assoc. Am., 12 (1975) 151.
- [28] K. Bauer, Cereal Food World, 45 (2000) 204.

CAPÍTULO 4

IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS IMPORTANTES PARA O AROMA DE MURICI (*Byrsonima crassifolia* (L.) RICH)

G. L. Alves, M. R. B. Franco, M. A. A. P. Da Silva

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências de Alimentos,
Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6121, Campinas (SP)
13083-970, Brasil

RESUMO

O murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich) é uma fruta encontrada nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, que exibe um aroma característico de queijo. Compostos voláteis de três lotes da fruta, procedentes do Ceará (Fortaleza), foram coletados por sucção em Porapak Q por duas horas e desorvidos com 300 µL de acetona. Os compostos voláteis foram então separados por CGAR e identificados por CG-EM. Quatro provadores avaliaram os efluentes do cromatógrafo gasoso usando a técnica olfatométrica “Osme”, para determinar os compostos voláteis importantes para o aroma de murici. Os aromagramas gerados revelaram 37 regiões contendo compostos odoríferos importantes para o aroma da fruta. Os ácidos acético, butírico e hexanóico apresentaram aromas de queijo e ácido, característico do murici. O ácido 3-metilbutírico, juntamente com um composto não identificado e um composto não detectado pelo DIC, com intensidade média, também apresentaram aroma de queijo. Os ésteres butanoato de etila, butanoato de butila e o hexanoato de hexila contribuíram para as notas frutais do murici. Os provadores da equipe sensorial selecionada e treinada geraram dados reprodutíveis e consensuais com relação aos tempos de retenção e aos termos descritores usados para descrever o aroma dos compostos voláteis.

SUMMARY

Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich) is a fruit found in the Northern and Northeastern regions of Brazil, and it exhibits an unusual characteristic cheese aroma. Headspace volatile compounds of three lots of fruits from Ceará (Fortaleza) were collected by suction on Porapak Q for two hours and desorbed with 300 µL of acetone. The isolated volatile compounds were separated by HRCG and identified by GC-MS. Four subjects evaluated the CG effluents using the Osme technique, in order to determine the importance of each compound to the characteristic murici aroma. The aromagrams revealed 37 regions containing odoriferous significant volatiles in the headspace of fruit. Acetic, butyric and hexanoic acids presented the cheese and acid aroma characteristic of murici. The 3-methylbutyric acid together to an unidentified compound and another not detected by the FID, presenting medium intensities and also exhibited cheese aroma. The esters such as ethyl butyrate, butyl butyrate and hexyl hexanoate were important to the fruity and sweet

aroma. The judges that composed the selected and trained sensory panel were reproducible and consensual, with respect to the reported retention time and aroma descriptors of the volatile compounds.

4.1 INTRODUÇÃO

O estudo dos compostos responsáveis pelo aroma de frutas é útil para caracterização, reconstituição e formulação de aromas, bem como classificação da origem das frutas e avaliação de possíveis mudanças ocorridas durante seu processamento (THOMAZINI & FRANCO, 2000).

O murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) é uma fruta de forma arredondada com 1 a 2 cm de diâmetro e coloração amarelada, polpa carnosa e translúcida que exala um aroma característico de queijo. É encontrada no Norte e Nordeste brasileiro e é consumida principalmente como suco, geléia, doce e licor (CAVALCANTE, 1976). BAUER (2000) um experimente “flavorista”, descreveu sensorialmente o aroma de várias frutas tropicais com potencial econômico, entre elas o murici, provado na forma de sorvete. O aroma da fruta foi descrito como sendo de queijo de cabra com notas de abacaxi e cereja.

Em um estudo prévio, ALVES & JENNINGS (1979) pesquisaram os constituintes voláteis do murici da região Amazônica utilizando o sistema de destilação-extração simultânea de Nickerson - Likens e detectaram 71 compostos voláteis no suco de fruta enlatado, porém apenas 23 foram identificados. Os ésteres prevaleceram, predominando aqueles com radicais etila, como butanoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila, sendo que nenhum desses compostos apresentou o aroma característico de murici. O autor relatou que a interação entre os constituintes voláteis da amostra poderia ser responsável pelo aroma característico da fruta.

Mais recentemente, REZENDE & FRAGA (2003) estudaram os compostos voláteis de murici da região Norte brasileira (Belém-Pará) utilizando o sistema de destilação-extração simultânea (SDE) e a técnica olfatométrica CG-AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis). Nesse trabalho, 19 compostos voláteis foram considerados importantes para o aroma de murici, destacando-se entre eles, butanoato e hexanoato de etila, que apresentaram aroma frutal e doce, os ácidos butírico e hexanóico, responsáveis pelas notas pungentes de queijo rançoso, que são típicas de murici, e o 2-etilfenol, com aroma floral.

As análises olfatométricas têm sido muito usadas na pesquisa do sabor, pois permitem a determinação dos compostos odoríferos importantes para o aroma do alimento (LE GUEN *et al.*, 2000). Técnicas de diluições como AEDA, em termos psicofísicos, fundamentam-se na lógica de quanto menor o *threshold* de um composto, maior é o seu poder odorífero. Este conceito é inconsistente com a psicofísica moderna, que se baseia na Lei de Stevens (STEVENS, 1957; STEVENS, 1961; DA SILVA *et al.*, 1994) para prever o impacto odorífero de um composto presente em um meio a uma dada concentração. Por esse motivo, AEDA, embora reconhecidamente uma ferramenta útil na identificação de compostos odoríferos importantes para o sabor e aroma de alimentos, tem sofrido críticas (DA SILVA *et al.*, 1994; DA SILVA *et al.*, 2003).

Alternativamente, MACDANIEL *et al.* (1990) e MIRANDA LOPEZ *et al.* (1992) propuseram uma técnica GC-olfatométrica que, diferentemente de AEDA, não se fundamenta em diluições sucessivas do isolado odorífero. A técnica de Osme (MACDANIEL *et al.*, 1990; Da SILVA, 1992; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992), consiste numa avaliação sensorial de tempo-intensidade do isolado odorífero, onde quatro indivíduos avaliam sensorialmente os efluentes da coluna cromatográfica, descrevendo a qualidade do odor (floral, ácido graxo, verde, etc), o tempo durante o qual o odor de cada composto volátil é percebido no efluente cromatográfico, e a intensidade do seu odor (DA SILVA, 1992). Essa técnica fornece um aromagrama onde os picos mais altos sugerem compostos de maior importância odorífera. O aromagrama pode ser diretamente correlacionado com o cromatograma, facilitando a avaliação da importância dos compostos odoríferos presentes no isolado (MACDANIEL *et al.*, 1990; Da SILVA, 1992; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992).

Evidentemente, muitas pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de comparar diversas técnicas CG-olfatométricas existentes. Em um experimento bastante abrangente, LE GUEN *et al.* (2000) compararam as técnicas Osme, AEDA e a técnica intitulada OGA (LINSSEN *et al.*, 1993) para identificar compostos odoríferos de impacto no aroma e sabor de mariscos. Os resultados obtidos através dos três métodos foram comparados entre si através do coeficiente de correlação de Pearson. Osme foi a técnica que melhor se correlacionou com as outras duas, tendo sido considerada a mais trabalhosa, porém a que apresentou resultados mais precisos. LE GUEN *et al.* (2000) consideraram a técnica de

OGA como a de maior facilidade de uso, notadamente porque os julgadores não necessitam treinamento. De um modo geral, LE GUEN *et al.* (2000) recomendaram a utilização de OGA quando o tempo para obtenção de resultados for um fator importante na pesquisa, entretanto, quando é a precisão dos resultados for um fato crucial, esses autores recomendaram o uso de Osme.

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer a qualidade e a intensidade odorífera dos compostos voláteis que contribuem para o aroma do murici da região Nordeste brasileira utilizando-se a técnica olfatométrica Osme.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Seleção da matéria-prima e preparo da amostra

As amostras de murici provenientes de Fortaleza, Ceará, foram adquiridas no comércio local (janeiro de 2001). As frutas, em estágio adequado de maturação foram previamente congeladas (-18 °C) e posteriormente transportadas via aérea para Campinas, São Paulo.

As frutas foram provenientes da safra de 2001, sendo analisadas em fevereiro, sendo que três lotes de 1 kg da fruta foram adquiridos em três diferentes pontos comerciais. Para preparar o suco, os frutos foram deixados em água destilada por 30 minutos, em seguida a polpa da fruta foi separada manualmente da semente, diluída na proporção 1:4 com água (p/p) destilada e depois homogeneizada utilizando-se um liquidificador. Após a adição de 30% p/p de NaCl a 300 g da suco, e a solução obtida foi colocada no balão do sistema de coleta de voláteis, como descrito por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983).

4.2.2 Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis do murici foram isolados utilizando-se o método de enriquecimento dos vapores de *headspace* em polímero poroso por sucção (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983). Os voláteis do *headspace* foram coletados durante 2 horas e então eluídos com 300 µL de acetona grau cromatográfico (EM Science, Merck). Foi

usado o polímero Porapak Q, 80-100 mesh (Waters), condicionado a 170 °C por 8 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra- puro.

4.2.3 Cromatografia gasosa de alta resolução

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso Varian, modelo 3800 (Walnut Creek, CA.) com detector de ionização de chama (DIC). Os compostos voláteis foram separados em coluna capilar de sílica fundida com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,50 µm de espessura de fase estacionária (DBWax).

Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,3 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 200 °C e 250 °C, respectivamente. A temperatura da coluna foi mantida a 50 °C por 5 minutos, depois programada a 3 °C/min até 200 °C, e mantida nessa temperatura por mais 10 minutos. O injetor utilizado foi tipo *split/splitless*, empregado no modo *splitless* e o volume injetado da amostra foi 2 µL.

4.2.4 CG-Olfatometria

4.2.4.1 Treinamento e seleção dos provadores

Para compor a equipe sensorial foram selecionados alunos de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp. Os julgadores receberam três amostras do suco diluído (1:6, 1:8, 1:12) e avaliaram, em uma escala estruturada de 9 cm, a intensidade do aroma característico da fruta, em três repetições. A escala era ancorada nos extremos esquerdo e direito, nos termos fraco e forte, respectivamente. Aos dados obtidos foi aplicada análise de variância (ANOVA), tendo como fontes de variação amostra e repetição, sendo utilizado o programa estatístico “Statistical Analytical System” (SAS, 1996). Para cada provador foi computado o nível de significância (p) para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$. Foram selecionados para compor a equipe sensorial aqueles que apresentaram $p_{F_{amostra}} \leq 0,30$ e $p_{F_{repetição}} > 0,05$. Foram escolhidos dessa forma 4 julgadores. O treinamento foi realizado em três sessões, onde o julgador foi familiarizado com a análise tempo-intensidade, a utilização da escala não estruturada e as propriedades de cada composto a ser avaliado pela técnica de Osme.

4.2.4.2 CG-Olfatometria

O efluente cromatográfico foi misturado ao ar proveniente de um cilindro, o qual foi previamente purificado e umidificado em carvão ativado. O fluxo do ar foi de 4,0 mL/min. Os compostos separados pela coluna cromatográfica foram carregados pelo ar e fluíram pelo tubo de vidro, onde eram assim submetidos à avaliação dos provadores (Figura 4.1). Para as análises olfatométricas foi utilizado hélio como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min e temperaturas do injetor e do portal de saída da coluna de 200 e 250 °C, respectivamente. As demais condições cromatográficas foram idênticas às especificadas no item 2.3. Foi utilizado injetor *split/splitless* no modo *splitless* e o volume injetado da amostra foi de 2 µL.

Foi adicionado ao isolado um padrão interno (linalol), para corrigir eventuais deslocamento dos odores percebidos em relação aos picos no cromatograma.

Para não causar fadiga sensorial nos provadores, a análise olfatométrica dos compostos voláteis de murici foi realizada em duas sessões distintas de avaliação: uma primeira sessão, correspondendo aos compostos eluídos entre 0 a 28 minutos de tempo de retenção e uma segunda, compreendendo a tempos de retenção entre 29 e 56 minutos. Em cada uma das sessões, a amostra era avaliada em triplicata por todos os provadores. Quatro provadores treinados compuseram a equipe sensorial para análise olfatométrica dos compostos voláteis presentes no *headspace* de murici.

A qualidade de aroma de cada volátil eluído da coluna era verbalmente reportada por cada provador para o analista, que anotava além da qualidade de aroma, o tempo que esse era percebido pelo provador.

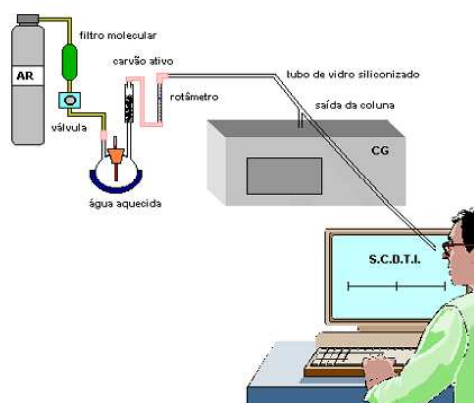
Além de avaliar a qualidade de aroma de cada volátil eluído da coluna cromatográfica, os provadores reportaram também a intensidade de cada volátil odorífero, com a ajuda de um programa de aquisição de dados intitulados SCDTI (Sistema de Coleção de dados Tempo-Intensidade) (CARDELLO, 1996).

Esse programa foi elaborado em ambiente Windows, de forma a facilitar sua operação pelo provador. Através desse programa, os provadores acessaram na tela do computador uma escala estruturada mista de 9 pontos (1=fraco; 4=médio; 9=forte), através da qual, com auxílio de um “mouse”, era possível marcar a intensidade e duração do aroma

correspondente a cada composto odorífero eluído. Este programa foi adaptado para a coleta e armazenamento de dados olfatométricos por um período de aproximadamente uma hora.

Para cada avaliação, a técnica Osme auxiliada pelo programa SCDTI forneceu um aromagrama contendo: i) o pico de odor de cada composto volátil odorífero; ii) o tempo inicial e final que o provador pode sentir o aroma de cada composto no efluente cromatográfico; iii) a intensidade máxima do odor de cada volátil; iv) a área sob cada o pico e v) a qualidade de odor de cada volátil.

A partir das triplicatas de cada provador, foi construído um aromagrama médio de provador, considerando-se apenas os picos reportados por pelo menos duas vezes pelo julgador. Finalmente, um aromagrama representativo da equipe sensorial foi obtido a partir dos odores reportados no aromagrama médio por pelo menos dois julgadores. Os aromagramas médios foram construídos levando-se em consideração o tempo total de análise (56 minutos).



Fonte: GARRUTI, 2001.

Figura 4.1: Ilustração do sistema de Osme de CG-olfatometria.

4.2.5 Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM)

O equipamento usado foi um cromatógrafo gasoso marca Shimadzu modelo CG17A (Kyoto, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas, modelo CG-MS QP5000. A temperatura da interface direta foi de 240 °C, com fonte de ionização por impacto de elétrons a 70 eV e varredura realizada entre 35 e 350 m/z .

As condições de separação empregando-se coluna capilar DB-Wax foram as mesmas utilizadas na análise cromatográfica. O gás de arraste utilizado foi o hélio, com fluxo de 1,3 mL/min.

4.2.6 Determinação dos índices de Kovats

Uma solução de alcanos (C7-C19) (Sigma) foi preparada também utilizando-se acetona como solvente. Foi realizada co-injeção da amostra e mistura de padrões sob as mesmas condições de análise. Os índices de Kovats foram obtidos segundo ETTRE (1964).

4.2.7 Identificação dos compostos

A identificação dos compostos voláteis foi realizada através da comparação dos espectros de massas disponíveis na biblioteca do instrumento (National Institute of Standard and Technology) com os espectros de massas dos compostos desconhecidos.

Para auxiliar a identificação dos compostos, os índices de Kovats obtidos experimentalmente foram comparados aos índices reportados na literatura.

O composto foi considerado “tentativamente identificado” quando a identificação foi baseada somente nos dados de espectrometria de massas. Compostos considerados positivamente identificados foram aqueles confirmados pelos espectros de massas dos padrões puros, obtidos nas mesmas condições de CG-EM, além dos índices de Kovats.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Identificação dos compostos voláteis do *headspace* de murici por cromatografia gasosa-espectrometria de massas

Foram detectados 51 compostos voláteis no *headspace* de murici, sendo 41 identificados e cinco considerados tentativamente identificados. Em um artigo prévio 44 compostos voláteis já tinham sido relatados (ALVES & FRANCO, 2003). Os compostos acetato de butila e 2-feniletanol somente foram posteriormente identificados por CG-EM e índice de Kovats, no presente trabalho.

A Tabela 4.1 apresenta a composição dos voláteis do *headspace* do murici (safra de 2001), bem como os dados olfatométricos de cada composto. Os índices de Kovats obtidos

no presente experimento diferiram ligeiramente daqueles reportados na literatura, uma vez que as condições de temperatura utilizadas nos dois casos eram diferentes. Entretanto, os índices experimentais apresentaram a mesma sequência de eluição dos índices de Kovats obtidos na literatura para a fase líquida DB-Wax.

A Tabela 4.1 mostra que fundamentados na identificação realizada as classes químicas mais abundantes foram os ésteres (54-56%) seguidos pelos alcoois (36-27%). Os compostos majoritários foram etanol (33,4%), hexanoato de etila (22,0%), butanoato de etila (17,9%), hexanoato de metila (7,7%), ácido butanóico (3,4%) e ácido hexanóico (3,4%).

REZENDE & FRAGA (2003) estudaram os compostos voláteis de murici da região Norte brasileira (Belém-Pará), utilizando um sistema de destilação-extração simultânea (SDE). Esses autores encontraram que os compostos majoritários foram hexanoato de etila (15,7%), ácido hexanóico (8,6%), butanoato de etila (7,5%), octanoato de etila (5,7%), ácido butanóico (5,1%), 2-metilpropanol (3,8%), ácido octanóico (3,5%). Os resultados não foram discrepantes aos encontrados no presente trabalho, pois embora REZENDE & FRAGA (2003), tenham utilizado calor durante o processo de extração por SDE, o aquecimento foi realizado por apenas 15 minutos, favorecendo assim a obtenção de um extrato com aroma representativo da amostra.

As diferenças encontradas neste estudo e aquelas reportados por REZENDE & FRAGA (2003) podem ser atribuídas às diferentes técnicas de isolamento utilizadas, *headspace* dinâmico e destilação-extração simultânea e/ou às diferentes regiões geográficas onde as frutas foram obtidas ou ainda a diferentes estádios de maturação. Por exemplo, a presença de etanol, encontrado em nosso estudo como composto majoritário, pode indicar a ocorrência de fermentação da fruta, possivelmente ocorrida durante o transporte e tempo de armazenamento no ponto de venda. Deve ser colocado que a população local consome a fruta muito madura. Em complementação, no trabalho de REZENDE & FRAGA (2003) utilizando SDE, os compostos voláteis foram extraídos com diclorometano e separados em colunas com fase estacionária polar (DB-Wax), na qual etanol e diclorometano possuem índices de Kovats próximos, indicando que estes dois compostos, se presentes, poderiam ter co-eluído, justificando o fato do etanol não ter sido reportado por esses autores, neste caso.

Tabela 4.1: Compostos voláteis odoríferos e não odoríferos identificados no *headspace* de murici (*Byrsonima crassifolia*).

Pico	Composto	I ¹ olfat.	I ² Cromat.	Descrição do odor/ frequência	I Max ³ (cm) (desvio)	% Área Osme ⁴ (desvio)	% área DIC ⁵
1	Acetato de etila ^{TI}	< 900	-	-	-	-	tr
2	Etanol	960	959	Doce (2)	2,02 (0,39)	0,29	33,4
3	2-pentanona ^a	990	1000	Doce (3)/ chocolate, caramelo(2)/ iogurte	4,45 (0,32)	2,26	0,35
4	Butanoato de metila	1003	1010	Verde/fermento lactobacillus/ iogurte/ manteiga/doce	4,70 (0,72)	3,31	4,51
A	Nd	1027	-	Doce (2) /perfume/ ácido	2,73 (1,51)	1,51	-
5	2-butanol	-	1046	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,72
6	Butanoato de etila ^a	1051	1057	Flor(3)/ tuti- fruti (2)/floral/ iogurte/ morango/ éster (2)/ manteiga/doce(4)/ frutal(2)	6,63 (1,62)	6,36	17,90
7 *	Acetato de butila	1079	1077	Xarope (3)/ruim / amêndoa/fruta(2)/ doce/ éster	3,86 (1,18)	1,71	Tr
8	Hexanal ^a	1094	1097	Amêndoa (2)/ flor/ verde/ frutal	4,6 (0,49)	1,22	tr-0,45
9	2-metilpropanol	1136	1129	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,77
10	Acetato de isoamila ^a	1145	1146	Fruta (4)/ doce (2)/tuti-fruti/ amêndoa	3,57 (0,61)	1,06	Tr
11	2-pentanol	-	1165	Não detectado pelo Osme	-	-	0,75
12	1-butanol ^a	-	1186	Não detectado pelo Osme	-	-	0,45
13	Hexanoato de metila	-	1184	Não detectado pelo Osme	-	-	7,71
14	2-heptanona	-	1191	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
B	Nd	1214	-	Perfume (2) /doce/ floral/ caramelo	3,44 (0,83)	1,26	-
15	3-metilbutanol, ^a	1224	1219	-	-	-	tr- 0,27
16	Butanoato de butila	1229	1237	Xarope(3)/ morango (2)/ melão/madeira molhada/ fruta (3) / marolo (3)/ graviola (2)/ bala	6,97 (1,59)	5,63	1,74
17	Hexanoato de etila ^a	1245	1239	Borracha (2)/ estranho/ruim/doce/ perfume	3,80 (2,47)	0,66	22,0
17	Hexanoato de etila ^a	1250	1239	Ruim/ xarope/ ácido graxo	4,53 (1,39)	1,26	22,0
18*	butanoato de isoamila ^{TI}	-	1271	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
19	1-pentanol ^a	1283	1286	Verde (2)/ ferro (2x)/ doce	4,74 (2,27)	1,33	tr
20	3-hidroxi-2-butanona ^a	-	1312	Não detectado pelo Osme	-	-	1,17
21	Hexanoato de propila	-	1320	Não detectado pelo Osme	-	-	Tr
22	2-heptanol ^a	-	1334	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,12
23	Lactato de etila	-	1349	Não detectado pelo Osme	-	-	Tr

Continua...

Tabela 4.1 continuação

24	1-hexanol ^a	-	1362	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,18
25	Octanoato de metila	-	1385	Não detectado pelo Osme	-	-	Tr
26	(Z) 3-hexen-1-ol	-	1391	Não detectado pelo Osme	-	-	Tr
27	Hexanoato de butila	-	1399	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,16
28	Butanoato de hexila	-	1425	Não detectado pelo Osme	-	-	tr- 0,16
29	Octanoato de etila ^a	1440	1446	Filtro solar/ enxofre/ doce/ desagradável	3,12 (0,80)	0,96	tr
30a	Ácido acético	1463	1466	Papinha/ verdura cozida/ milho/ azedo/ casca/fermentado/ sopa	6,93 (2,91)	4,36	0,41
30b	Ácido acético	1465	1466	Papinha/verdura cozida (2)/ fermentado/legume cozido/azedo/batata cozida (4)/ sopa	7,32 (1,24)	8,98	29,3
C	nd	1476	-	Condimentos/ catchup/maionese/ frutal/ azedo	3,04 (0,98)	0,95	-
31	NI ^b	1487	-	Ranço / verde/ suado/ perfex/ floral/ ardido	4,47 (0,80)	0,97	-
32	Benzaldeído ^a	-	1533	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
P	Linalool (padrão interno)	1552	1556	Mamão (7)/doce cítrico/erva cidreira/doce/ fruta/ perfumado	4,89 (1,28)	2,64	-
33	3-(metiltio)-propanoato de etila	-	1577	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
34	Ácido 2-metilpropanóico	-	1582	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
35	Propilenoglicol	-	1597	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
36	Hexanoato de hexila	1615		Floral/ verde/ doce/ frutal	3,90 (2,20)	2,82	tr
D	nd	1617	1605	Azedo/ pano molhado/ ruim/ desagradável/ irritante	3,93 (1,54)	0,92	tr
37	Ácido butírico	1642	1639	Queijo/ fermentado/Vômito (5)/ verde/ ác. graxo/ fermentado/ polvilho azedo	7,11 (1,13)	5,99	3,4
38	Acetofenona		1660	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
39	Ácido 3-metilbutírico	1682	1688	Queijo estragado/ queijo parmesão/ ruim/ azedo/ ác. Graxo	4,65 (1,40)	1,56	tr
40	2,4-dimetilbenzaldeído	1713	1715	Plástico/ limão/doce/ polvilho/ queijo	4,62 (1,31)	6,64	0,43
41	3-mercaptopropanol (metionol)	1745	1754	Milho/ fermentado/ ranço/ sopa perfume/ ácido graxo	3,73 (2,24)	1,65	tr-0,39
42	4-etilbenzaldeído			Não detectado pelo Osme	-	-	-
E	nd	1818	-	Inseto/ desagradável/ perfume/ frutal	3,16 (1,77)	1,12	-
F	nd	1826	-	Maria fedida/ manga podre/ inseto queimado	3,57 (2,33)	0,75	-
43	NI ^b	1834	1850	Fruta / agradável/ tostado/ maria fedida/ mofado/ ruim/limão	3,63 (2,64)	0,86	tr-0,47
G	nd	1859	-	Ácido graxo/ ácido/ doce (2)/ borracha	4,75 (1,15)	1,29	-
44	Ácido hexanóico ^a	1869	1864	Manteiga/ ác. graxo/ doce/flor/caramelo/cachorro	4,95 (2,03)	4,34	3,38

Continua.

				molhado/ madeira molhada/ queijo/ ruim			
45	NI ^b	> 1900	> 1900	Doce/ pano úmido/ agradável/ queijo/agradável/fraco	2,42 (1,43)	0,68	tr-0,2
46	2-feniletanol ^{TI}		> 1900	Não detectado pelo Osme	-	-	tr
47	Ácido octanóico ^a		> 1900	Não detectado pelo Osme	-	-	tr-0,12
H	nd	> 1900	> 1900	Limão/ verde/ floral/ amêndoa/ perfume/ruim/diferente/ tinta	4,52 (1,29)	1,34	-
I	nd	> 1900	> 1900	Doce, azedo, caramelo	3,90 (0,109)	3,54	tr
48	NI	> 1900	> 1900	Perfume, limão, floral, plástico, pipoca doce	4,49 (1,55)	0,75	-
49	3-etilfenol	> 1900	> 1900	Floral (2x) /limão/doce/ ruim/ fermentado/ Maria-fedida	3,47 (1,88)	1,36	-
J	nd	> 1900	> 1900	Tinta/ madeira/ queimado / seco	4,82 (1,08)	1,07	-
50	NI ^b	> 1900	> 1900	Ruim/ estranho/ plástico/ solvente/ borracha/verde/ fruta/ doce	5,75 (1,71)	11,18	tr
51	Ácido decanóico	> 1900	> 1900	Plástico solvente/estrume de vaca /ácido graxo	5,99 (4,25)	4,34	-
L	nd	> 1900	> 1900	Ácido graxo/ doce/ queimado/ perfumado	4,47 (2,31)	1,03	tr

^a, composto positivamente identificado;

NI^b, composto não identificado;

^{TI}, composto tentativamente identificado;

nd, não detectado pelo DIC;

tr, traços (< 0,1)

¹ Índices de Kovats determinados na corrida cromatográfica da amostra que foi submetida a análise cromatográfica;

² Índices de Kovats determinados com os tempos de retenção máximos obtidos na análise olfatométrica.;

³I m_{ax}: intensidade máxima do odor percebido;

⁴ % área sob pico no aromagrama;

⁵ % área do composto no DIC

Número em parênteses é a frequência com que o descritor foi citado.

Foi observado que dos compostos comuns aos dois trabalhos, os de menor pressão de vapor, como os ácidos decanóico, hexanóico e 2-feniletanol, apresentaram maiores porcentagens de área no extrato obtido por destilação-extração simultânea (REZENDE & FRAGA, 2003), enquanto que no extrato obtido por *headspace* dinâmico (Tabela 4.1) encontravam-se em traços ou então não foram detectados, o que está de acordo com os diferentes princípios dos dois métodos de isolamento. Deve ser salientado que a técnica de *headspace* dinâmico proporciona o isolamento/concentração da fase de vapor imediatamente acima do alimento, em decorrência do qual o isolado obtido se aproxima significativamente do aroma percebido pelo nosso olfato (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000; FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; GARRUTI *et al.*, 2003; BASTOS *et al.*, 2003).

4.3.2 Importância odorífera dos compostos voláteis do *headspace* de murici segundo cromatografia gasosa-Osme

O cromatograma dos compostos voláteis do *headspace* de murici e o correspondente aromagrama consensual obtido por CG-Osme estão apresentados na Figura 4.2.

Trinta e seis compostos odoríferos foram detectados pela análise olfatométrica, dos quais 11 não o foram pelo DIC (picos indicados por letras no aromagrama), confirmando que o nariz humano é muitas vezes um detector mais sensível que o detector eletrônico, e portanto, imprescindível em estudos na área de química de aromas. Pela técnica de Osme, quanto maior a intensidade e a área do pico no aromagrama, maior será sua contribuição do composto para o aroma de alimento.

O aromagrama dos compostos voláteis do murici apresentou três regiões distintas, a primeira, com índice de Kovats entre 1000 e 1400, contendo 37,1% do total dos picos odoríferos reportados pelos julgadores sensoriais; a segunda, com índices entre 1400 e 1500, contendo 14,3% dos picos odoríferos detectados pela equipe sensorial; e a terceira com a maior parte dos compostos odoríferos reportados pela equipe (62,8%), com índices de retenção maiores que 1500 (Figura 4.2).

Para cada composto eluído da coluna cromatográfica, os descritores sensoriais, índices de Kovats, médias das intensidades máximas dos picos do aromagrama (I máx) obtidos pela equipe sensorial e porcentagem de áreas dos picos do cromatograma e aromagrama estão apresentados na Tabela 4.1.

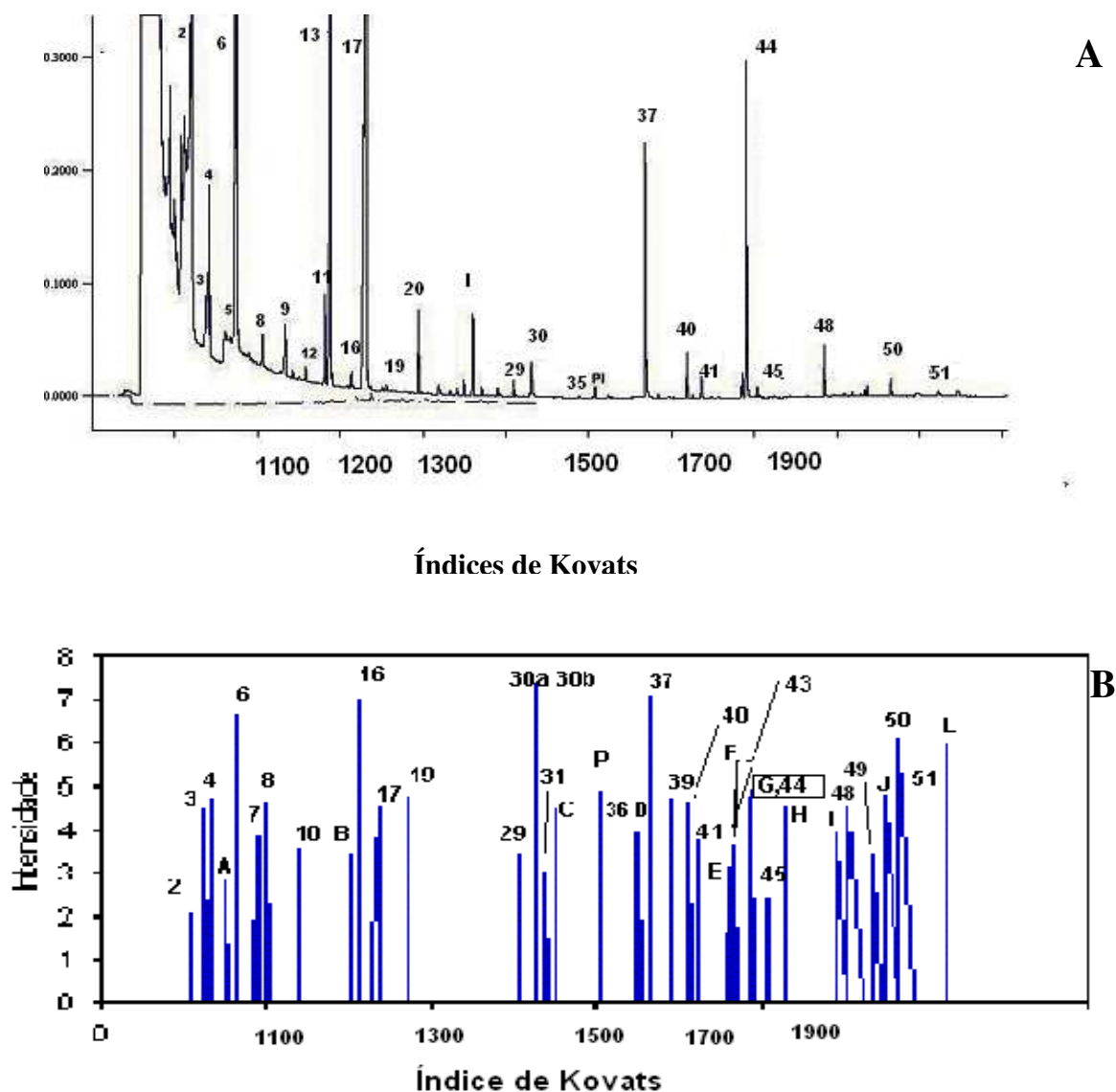


Figura 4.2: Cromatograma (A) e aromagrama (B) dos compostos voláteis de murici.

A Tabela 4.1 e a Figura 4.2 mostram que alguns dos compostos majoritários identificados por ALVES & FRANCO (2003) apresentaram um grande impacto odorífero para o aroma total do murici, quais sejam: butanoato de etila (pico 6), ácido butírico (pico 37) e ácido hexanóico (pico 44). Entretanto, observa-se que compostos detectados apenas em quantidades de traços ou mesmo não detectados pelo DIC como os picos G, 8, 19, 39, 48 e 51 foram percebidos pela equipe sensorial como compostos de moderado a alto impacto odorífero no efluente cromatográfico, obtendo intensidades de aroma que variaram entre 4, 5 e 6 em uma escala de nove pontos. Esses

dados confirmam mais uma vez que apenas o perfil cromatográfico de voláteis não proporciona dados suficientes em relação à importância odorífera dos compostos em alimentos (MIRANDA–LOPEZ *et al.*, 1992).

A Tabela 4.2 lista em ordem decrescente de importância odorífera todos os compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através da técnica de Osme. Analisando-se comparativamente a Tabela 4.2 e a Figura 4.2, pode-se verificar que de forma muito consensual, os compostos de maior impacto odorífero para o aroma de murici, segundo a percepção dos quatro julgadores foram:

- ❖ ácido acético (picos 30 a e 30b): que obteve as maiores médias de intensidade dos provadores, com exceção do julgador 2, e apresentou aroma de verduras/ legumes cozidos, papinha, fermentado e azedo.
- ❖ ácido butírico (pico 37): descrito como queijo, fermentado, ácido graxo e polvilho azedo, composto com maior intensidade média para o julgador 2; os demais julgadores o perceberam como um dos nove compostos voláteis mais importantes para o aroma de jenipapo.
- ❖ butanoato de butila (pico 16): descrito como morango, tuti-fruti e frutal;
- ❖ butanoato de etila (pico 6): descrito como tuti-fruti, éster e frutal;
- ❖ ácido hexanóico (pico 44): descrito como manteiga, queijo, ácido graxo.

Os compostos como 3-etilfenol e o volátil não identificado (pico 50) foram considerados de grande importância odorífera apenas por três e dois provadores, respectivamente. Inversamente, o ácido decanóico (pico 51) foi percebido com alta intensidade por apenas um provador, que contribuiu para a elevação da média no aromagrama consensual (Fig. 42)

Conforme pode ser observado na Tabela 4.1, vários compostos de significância odorífera foram descritos pelos julgadores sensoriais como possuindo aroma de queijo ou fermentado. Este é o caso do ácido acético (picos 30a e 30 b), ácido butírico (pico 37), ácido hexanóico (pico 44), ácido 3-metilbutírico (pico 39), o butanoato de metila, o composto não identificado correspondendo ao pico 31 e o pico não detectado pelo DIC correspondente ao pico D. Possivelmente esses compostos voláteis estão associados à nota de aroma/sabor de queijo de cabra presente em murici, segundo BAUER (2000). O ácido 3-metilbutírico, o composto não identificado e o não detectado pelo DIC (com índices de Kovats de 1487 e 1617, respectivamente), embora tenham intensidade média (4,5-3,9), também apresentaram aroma de queijo. O ácido acético foi responsável por notas tais como azedo e legumes cozidos e alguns outros ácidos graxos foram descritos como desagradável.

Os compostos que apresentaram maior contribuição para o aroma frutal do murici foram butanoato de etila (pico 6), butanoato de butila (pico 16) e hexanoato de hexila (pico 36) (Tabela 4.1). As notas de abacaxi e cereja, também salientadas por BAUER (2000)

como presentes em murici, poderiam ser dadas pela interação dos compostos apresentando notas frutais, doces e florais.

O composto sulfurado 3-(metiltio)-propanoato de etila (pico 33) foi previamente relatado como sendo um composto importante para o aroma de abacaxi (TAKEOKA *et al.*, 1989), o que levou ALVES & FRANCO (2003) a propor que tal composto poderia contribuir para a nota de abacaxi descrita no murici por BAUER (2000). No entanto, como pode ser observado na Tabela 4.1, o composto 3-(metiltio)-propanoato de etila não foi nem mesmo detectado pelos provadores durante a análise olfatométrica, e possivelmente ele não possui impacto no aroma de murici, sendo que o limiar de detecção desse compostos é de 7 ppb (TAKEOKA *et al.*, 1989).

Tabela 4.2 : Ordenação em valor decrescente de importância odorífera dos compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através do Osme.

Julgador 1	Julgador 2	Julgador 3	Julgador 4
Ácido acético (9 ± 0)	Ácido acético (5,92 ± 2,5)	Ácido butírico (7,78 ± 0,784)	Ácido acético (8,56 ± 0,53)
Ácido decanóico (9 ± 0)	Ácido butírico (5,78 ± 1,98)	Butanoato de butila (7,54 ± 1,4)	Ácido butírico (8,29 ± 0,065)
Ácido hexanóico (7,90±2,31)	Ácido hexanóico (5,57±0,60)	Butanoato de etila (7,54 ± 1,39)	Butanoato de butila (8,20 ± 1,39)
Pico 50 ^{NI} (7,68 ± 1,86)	Octanoato de etila (5,35 ± 2,5)	Ácido acético (6,65 ± 1,85)	Butanoato de etila (7,32 ± 0,92)
Butanoato de etila (7,47±1,50)	> 1900 (4,96 ± 0,27)	Pico 50 ^{NI} (5,84 ± 1,2)	Pico 50 ^{NI} (6,10 ± 4,10)
1-pentanol (7,25 ± 1,47)	Butanoato de butila (4,69 ± 0,28)	Butanoato de metila (5,21 ± 0,16)	J (5,63 ± 0,6)
Butanoato de butila (7,05 ± 1,1)	2-pentanona (4,69 ± 0,81)	Ácido hexanóico (4,60 ± 2,53)	IK > 1900 (5,37 ± 3,61)
Ácido butírico (6,59 ± 4,17)	3-etilfenol (4,49 ± 2,99)	2-pentanona (4,24 ± 2,49)	D (5,03± 0,9)
L (6,35± 0,60)	E (4,41 ± 0,09)	H (4,14 ± 0,54)	3-etilfenol (4,62 ± 3,37)
Hexanoato de hexila (6,32±2,77)	IK 1408 (4,41 ± 0,32)	Pico 48 ^{NI} (3,98 ± 0,30)	Pico 31 ^{NI} (3,93 ± 0,01)
Ácido 3-metilbutírico (6,27 ± 0,19)	IK 1358 (4,33 ± 0,92)	Ácido 3-metilbutírico (3,69 ± 1,04)	IK > 1900 (3,93 ± 2,05)
Pico 43 ^{NI} (6,22 ± 0,18)	Hexanal (4,28 ± 0,04)	Acetato de butila. (3,47 ± 0,32)	G (3,93 ± 2,03)
I (5,88 ± 1,42)	Butanoato de etila (4,20 ± 0,28)	Acetato de isoamila (2,92 ± 0,83)	Acetato de isoamila (3,64 ± 2,14)
1383 (5,67 ± 2,03)	1-pentanol (4,18 ± 1,12)	B (2,86 ± 2,43)	Ácido hexanóico (3,26 ± 0,32)
H (5,56 ± 0,42)	Acetato de isoamila (4,15 ± 1,50)	1-pentanol (2,81 ± 0,73)	IK 1068 (3,11 ± 0,31)
2,4-dimetilbenzaldeído (5,5 ± 0,68)	IK 1146 (4,15 ± 0,37)	IK 1666 (2,48 ± 1,08)	Pico 48 ^{NI} (3,11 ± 0,76)
Hexanoato de etila (5,52 ± 0,42)	IK 1287 (4,12 ± 0,16)	C (2,35 ± 1,43)	IK > 1900 (3,01 ± 1,78)
IK 1530 (5,52 ± 5,52)	B (4,03± 0,58)	IK 1482 (2,34 ± 1,43)	Ácido decanóico (2,99 ± 0,06)
IK 1470 (5,52 ± 0,11)	J (4,02 ± 0,25)	IK 1786 (2,14 ± 1,04)	H (2,98 ± 0,18)
Metionol (5,32 ± 0,87)	Ácido 3-metilbutírico (4,01 ± 0,72)	Metionol (2,14 ± 0,91)	Acetato de butila (2,93 ± 0,95)

F (5,22 ± 0,070)		1672 (2,07 ± 0,90)	IK 1071 (2,88 ± 0,04)
Acetato de butila (5,19 ± 0,028)	I (3,98 ± 0,30)	Hexanoato de etila (2,05 ± 1,45)	> 1900 (2,52 ± 0,43)
Pico 31 ^{NI} (5,03 ± 1,08)	G (3,96 ± 0,43)	> 1900 (1,95 ± 0,61)	IK 1830 (2,48 ± 0,61)
IK 1791 (5,00 ± 0,07)	C (3,74 ± 0,71)	F (1,92 ± 0,78)	IK 1027 (2,41 ± 0,10)
Hexanal (4,98 ± 0,67)	IK 1403 (3,75 ± 0,12)	Etanol (1,75 ± 0,37)	Etanol (2,3 ± 0,15)
Butanoato de metila (4,19 ± 0,38)	Pico 43 ^{NI} (3,73 ± 0,24)	IK 1068 (1,72 ± 1,82)	IK > 1900 (1,78 ± 0,38)
IK 1554 (4,05 ± 4,12)	IK 1350 (3,70 ± 1,17)	IK 1508 -54 (1,72 ± 0,96)	A (1,66 ± 0,72)
A (3,75 ± 0,65)	2,4-dimetilbenzaldeído (3,68 ± 1,04)	Hexanoato de hexila (1,42 ± 0,28)	
	IK 951 (3,66 ± 0,62)	NI 45 (1,42 ± 0,57)	
	IK 1245 (3,55 ± 0,65)	IK 1679 (1,38 ± 0,16)	
	Hexanoato de etila (3,55 ± 0,81)	3-etilfenol (1,30 ± 0,68)	
	Pico 50 ^{NI} (3,50 ± 0,14)	IK < 900 (1,19 ± 0,41)	
	Pico 45 ^{NI} (3,44 ± 0,07)	IK 3465 (1,17 ± 0,96)	
	IK 912 (3,15 ± 0,63)	IK 1283 (1,16 ± 0,20)	
	D (2,85 ± 1,2)	IK > 1900 (1,15 ± 1,14)	
	F (1,92 ± 0,65)	IK > 1900 (1,11 ± 0,55)	
		IK > 1900 (1,06 ± 0,70)	
		IK > 1900 (1,06 ± 0,2)	
		NI 43 (0,98 ± 0,18)	
		Octanoato de etila (0,89 ± 0,76)	

↓¹ Em parênteses encontram-se as médias e os desvios padrões dos picos odoríferos de cada provador; ² Os compostos indicados com índices de kovats foram detectados por apenas um provador: ^{NI} Compostos não identificados: Os compostos indicados por letras não foram detectados

Vários compostos não foram detectados pelo DIC e não puderam ser identificados, no entanto, apresentaram contribuição para o aroma de murici, como os picos 31 (ranço, verde, suor, perfex e ardido), D (azedo, pano molhado, ruim, desagradável e irritante), 42 (fruta, agradável, limão, Maria fedida e mofado), J (tinta, madeira queimada e seco) e 48 (plástico, floral e doce). Entre os compostos que apresentaram contribuição sensorial, alguns não puderam ser identificados, quer por estarem em baixas concentrações quer por co-eluírem com outros compostos, como o caso do pico 48, que estava próximo do 3-etilfenol e seu espectro parecia “contaminado” por esse composto. Além disso, tanto o composto não identificado como o 3-etilfenol tiveram descrições contraditórias, como floral e ruim, portanto pode ser devido à proximidade desses dois compostos, visto que o 3-etilfenol é descrito na literatura como desagradável (TAIRU *et al*, 1999)

O hexanoato de etila e o ácido acético apresentaram picos duplos, ou seja, diferentes picos no aromagrama, o que pode ser explicado pela co-eluição desses compostos com outros que não foram identificados por CG-EM, ou então pela mudança da descrição com o aumento da concentração. No caso do hexanoato de etila, o aroma doce inicial mudou para ácido graxo e desagradável. REZENDE & FRAGA (2003), avaliaram por *sniffing* uma solução de hexanoato de etila, a qual apresentou aroma pungente e de queijo. Entretanto, nesse mesmo estudo, quando um extrato contendo o hexanoato de etila foi avaliado sensorialmente por AEDA, esse éster apresentou aroma frutal, ou seja, com as sucessivas diluições do extrato e conseqüente diminuição na concentração do hexanoato de etila, ele passou a ser descrito como possuindo aroma frutal.

REZENDE & FRAGA (2003) estudando o aroma da fruta procedente da região Norte brasileira (Belém do Pará) e utilizando a técnica de destilação-extração simultânea e CG-AEDA, relataram os seguintes compostos como sendo importantes para o aroma de murici, em ordem decrescente: ácido hexanóico (queijo), hexanoato de etila (fruta), 2-feniletanol (floral), ácido butanóico (ranço, queijo), butanoato de etila (fruta, ranço) e 1-octen-3-ol (cogumelo).

A Tabela 4.3 apresenta os voláteis importantes para o aroma de murici segundo o presente estudo, que emprega a técnica de enriquecimento de *headspace* associado à CG-Osme e segundo os resultados reportados por REZENDE & FRAGA (2003), que empregaram SDE associada à AEDA.

Com relação ao éster butanoato de etila e aos ácidos butírico e hexanóico, os resultados foram semelhantes e concordam com o aroma de murici descrito por BAUER (2000).

Tabela 4.3: Compostos voláteis importantes para o aroma de murici utilizando-se dois métodos distintos de isolamento e avaliação GG- olfatométrica.

Isolamento por enriquecimento dos compostos voláteis de headspace e CG_olfatometria por Osme ¹			Isolamento dos compostos voláteis por SDE e CG-olfatometria por AEDA ² .		
Composto	Odor	I máx (desvio)	Composto	Odor	FD
Ácido acético	Verduras/ legumes cozidos, papinha, fermentado.	7,3 (1,2)	Hexanoato de etila	Frutal	256
Ácido butírico	Queijo, fermentado, ácido graxo e polvilho azedo	7,1 (1,1)	Ácido hexanóico	Queijo	256
Butanoato de butila	de Morango, tuti-fruti e frutal.	6,9 (1,6)	2-feniletanol	Floral	256
Butanoato de etila	Tuti-fruti, éster e frutal.	6,6 (1,6)	Butanoato de etila	Frutal, doce	128
Ácido hexanóico	Manteiga, queijo e ácido graxo.	4,9 (2,0)	Ácido butanóico	Queijo	128
			1 octen-3-ol	Cogumelo	64

¹ Condições análise Osme: 4 provadores, 3 repetições, n=12; ² Condições análise AEDA (REZENDE & FRAGA, 2003).

Entre as diferenças encontradas, o composto 1-octen-3-ol, relatado com um FD de 64 por REZENDE & FRAGA (2003), não foi nem mesmo detectado no *headspace* de murici e o 2-feniletanol, que apresentou um FD de 256 no trabalho reportado previamente, foi detectado em traços no *headspace* da fruta no presente estudo e não contribuiu para o aroma. O ácido acético e o butanoato de butila foram detectados somente em nossos estudos e apresentaram grande impacto sobre o aroma do murici do nordeste. Além disso, o composto sulfurado metionol, detectado nas frutas procedentes das duas regiões, só foi considerado um composto odorífero no presente estudo.

4.3.3 Grau de consenso da equipe sensorial

As Figuras 4.3A e 4.3B mostram os aromagramas médios de cada provador que avaliou o efluente cromatográfico do isolado de murici. Observa-se que embora os provadores tenham sido treinados, eles detectaram diferentes números de compostos voláteis. O número de substâncias odoríferas detectadas pelos provadores variou de 27 a 40, sendo que o julgador 3 identificou o maior número de compostos (40 picos) e o julgador 4 foi o menos sensível (27 picos). Os provadores 1 e 2 identificaram 28 e 35 voláteis odoríferos, respectivamente. Esses resultados demonstram a grande variabilidade existente entre indivíduos, mesmo que treinados, com relação às suas sensibilidades em discriminar o aroma de diferentes compostos. A variação individual de detecção de compostos odoríferos é uma característica da percepção olfativa, sendo que muitos fatores podem contribuir para essa variabilidade, como os genéticos, o sexo, ou mesmo a experiência ou familiarização com o composto (BRAND & MILLOT, 2001).

Houve uma grande similaridade entre os resultados gerados pelos julgadores 3 e 4, enquanto o provador 2 caracterizou-se por perceber compostos voláteis na região entre 19 e 25 minutos, e o provador 1 mostrou maior sensibilidade aos compostos que eluem no final da corrida cromatográfica.

Além da diferença no número de picos reportados, os provadores apresentaram variabilidade em relação às intensidades reportadas por cada pico (Figuras 4.3A e 4.3B e Tabela 4.3), porém, mesmo entre provadores treinados com referências de intensidade, há utilização de diferentes porções da escala para expressar uma mesma percepção ocorre com razoável frequência (MEILGAARD *et al.*, 1988; STONE & SIDEL, 1993).

O provador 2 (Figura 4.2 A) expressou a intensidade dos voláteis, utilizando a porção da escala que equivalia a “fraco a moderado” (4,5 a 3,5 cm), sendo que dos 34 voláteis detectados pelo mesmo, vinte e oito obtiveram média de intensidade máxima nessa faixa.. Tal fato pode ser explicado de duas maneiras, ou o provador não diferenciou a intensidade dos voláteis ou teve dificuldades para utilizar a escala. Os provadores 3 e 4, apresentaram aromagramas similares, sendo que os quatro compostos voláteis considerados mais importantes foram os mesmos para ambos.

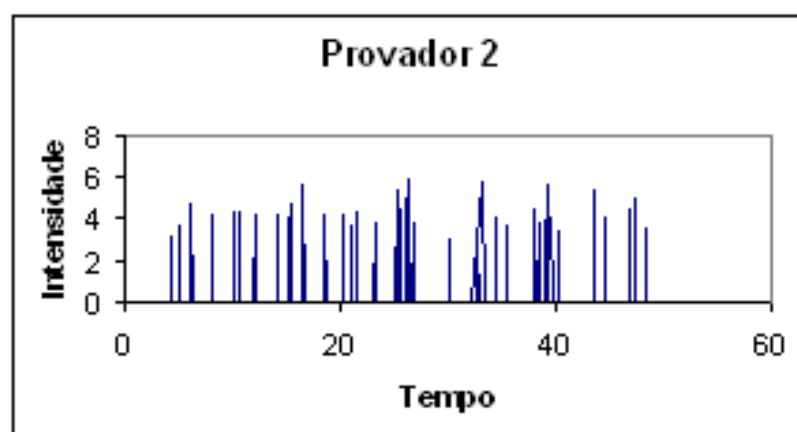
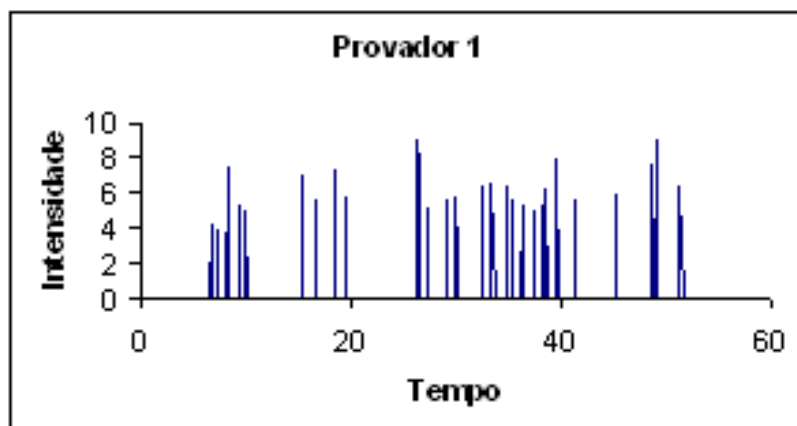


Figura 4.3 A: Aromagramas consensuais dos compostos voláteis do *headspace* do murici dos provedores 1 e 2.

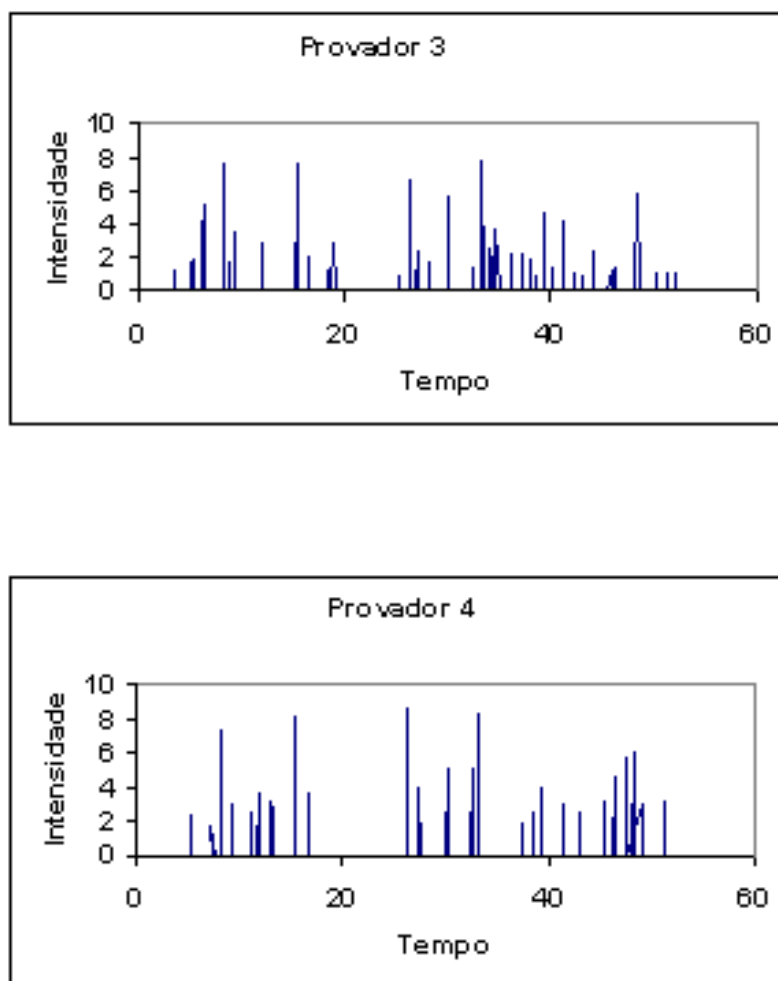


Figura 4.3 B: Aromagramas consensuais dos compostos voláteis do *headspace* do murici dos provadores 3 e 4.

A Tabela 4.2 mostra que houve uma certa divergência entre os julgadores na ordenação dos compostos em função de seus respectivos impactos odoríferos. Como pode ser observado, o ácido acético foi considerado o pico com maior média de intensidade odorífera pelos provadores 1, 2 e 4, enquanto o julgador 3 o ordenou como segundo composto mais importante. O ácido decanóico somente foi detectado pelos provadores 1 e 4, porém, o julgador 1 utilizou o extremo

da escala (9) para mensurar a intensidade desse ácido, e o julgador 4 atribuiu ao ácido decanóico a média de intensidade 2,99, equivalente a fraco numa escala de nove pontos.

Notoriamente, o provador 1 apresentou maiores médias de intensidades para a classe dos ácidos, em relação aos demais julgadores. Esses compostos são conhecidos por estimular o nervo trigeminal, produzindo as sensações de irritação e pungente (SAVIC, 2001). Nesse caso, a maior sensibilidade aos compostos que atuam no nervo trigeminal do provador 1, somadas as sensações olfativas dos compostos em questão, explicariam as diferenças encontradas entre esse julgador e os demais membros da equipe.

Apesar dessas diferenças, os compostos ácido acético, ácido butírico, butanoato de butila e butanoato de etila, foram detectados por todos os julgadores e foram relatados como um dos dez voláteis de maior importância odorífera, por toda equipe sensorial.

A reprodutibilidade de cada julgador pode ser avaliada através dos desvios padrões individuais associados à intensidade máxima dos compostos odoríferos. Esses valores variaram entre 0 e 2,50 cm, para a maioria dos picos detectados pelos provadores. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por pesquisadores que aplicaram a técnica de Osme. Da SILVA *et al.* (1994) verificaram que os desvios individuais da média da intensidade máxima do “conjunto de voláteis” (*pool*) variaram entre 1,45 a 2,07 (escala de 16 pontos). No estudo de GARCIA (2000), que analisou a fração coração do óleo essencial de laranja, de maneira geral, os provadores mostraram variações de desvio padrão entre 0,5 a 1,5 (escala de 9 cm). Portanto, baseando-se nesses relatos, foi considerado que a repetibilidade dos provadores foi comparável à de outros estudos que utilizaram Osme.

A Tabela 4.4 apresenta o tempo inicial e final em que cada composto foi detectado, assim como o tempo que atingiu a intensidade máxima, o tempo total com que foi detectado, a área sob cada pico odorífero. Conforme demonstram os desvios padrões dos citados valores, houve excelente reprodutibilidade com relação ao tempo inicial, final e de intensidade máxima e tempo total associado a cada pico odorífero, porém houve alta variabilidade em relação à área sob cada pico odorífero, possivelmente devido a variação associada à intensidade máxima de percepção do volátil (Tabela 4.4).

Tabela 4.4: Médias e desvios padrões de cada pico odorífero com seus respectivos tempos de retenção mínimos (T. Min.), médios (T. I. Max.), máximos (T. Max.), intensidades máximas (I. Max.), áreas médias gerados e tempo de retenção total (T. Total) pela equipe sensorial do efluente cromatográfico do isolado de murici (*Byrsonima crassifolia*).

Pico	T. Min. (min.) d. p.	T. I. Max. (min) d. p.	T Max. (min.) d. p.	I. Max. (cm) d. p	Área (cm ²) d. p.	T. total (seg) d. p.
2	5,22 0,06	5,23 0,056	5,22 0,042	2,02 0,39	1,84 0,39	1,51 0,15
3	6,17 0	6,20 0,021	6,24 0,042	4,45 0,31	14,54 8,10	6,08 4,33
4	6,46 0,042	6,59 0,18	6,62 0,15	4,70 0,72	21,25 13,61	7,69 2,71
A	7,41 0,014	7,41 0,014	7,60 0,25	2,73 1,51	9,680 0,42	3,49 3,23
6	8,18 0,019	8,22 0,034	8,26 0,89	6,63 1,62	40,82 36,91	9,34 7,81
7	9,31 0,011	9,34 0,011	9,37 0,03	3,86 1,18	10,94 7,55	5,24 3,96
8	10,03 0,021	10,04 0,021	10,07 0,021	4,63 0,49	7,86 0,85	3,87 0,57
10	11,81 0,11	12,03 0,005	12,05 0,006	3,57 0,61	6,78 4,56	3,55 2,29
B	15,12 0,014	15,14 0,014	15,16 0,014	3,44 0,83	8,07 1,15	3,29 0,035
16	15,40 0,025	15,46 0,04	15,49 0,05	6,97 1,59	36,15 21,34	8,18 3,98
17	16,49 0,056	16,51 0,049	16,41 0,049	3,80 2,47	4,25 0,021	2,71 0,72
17	16,67 0,17	16,78 0,007	16,80 0	4,53 1,39	8,11 3,76	3,03 0,91
19	18,54 0,007	18,55 0,007	18,56 0,014	4,74 2,27	8,56 1,92	4,30 0,17
29	25,19 0,03	25,20 0,02	25,22 0	3,12 3,15	6,19 7,40	2,66 2,24
30	26,23 0,03	26,24 0,06	26,27 0,09	6,93 2,91	28,03 27,10	5,29 3,38
30	26,32 0,05	26,38 0,08	26,42 0,10	7,32 1,24	57,63 36,81	13,1 8,40
C	26,75 0,25	26,90 0,25	26,98 0,15	3,04 0,98	6,12 0,42	3,30 0,37
31	27,41 0,042	27,43 0,056	27,44 0,057	4,47 0,795	6,27 1,37	2,63 0,23
P	30,01	30,05	30,10	4,89	16,90	5,88

	0,12	0,11	0,066	1,28	15,18	4,19
36	32,49	32,48	32,53	3,905	18,05	5,00
	0,014	0,021	0,057	3,46	23,29	4,27
D	32,45	32,53	32,75	3,93	5,91	2,44
	0,14	0,028	0,042	1,54	2,47	0,30
37	33,28	33,31	33,34	7,11	38,36	8,12
	0,046	0,052	0,079	1,13	29,96	5,87
39	34,60	34,61	34,62	4,68	10,01	2,78
	0,15	0,16	0,16	1,40	4,51	0,76
40	35,42	35,43	35,68	4,62	42,65	56,0
	0,14	0,035	0,289	1,31	40,87	73,53
41	36,23	36,26	36,27	3,73	10,59	3,91
	0,028	0,028	0,035	2,24	9,631	1,20
E	38,05	38,07	38,20	3,16	7,205	6,53
	0,049	0,064	0,092	1,77	4,76	3,73
F	38,24	38,25	38,26	3,57	4,850	2,29
	0,057	0,042	0,057	2,64	3,804	0,21
43	38,49	38,50	38,56	3,63	5,490	2,33
	0,026	0,025	0,079	2,64	4,42	0,52
G	39,13	39,14	39,14	3,94	8,34	3,31
	0,01	0,01	0,12	0,02	2,24	1,49
44	39,47	39,49	39,59	4,95	27,87	6,99
	0,074	0,0404	0,19	2,03	27,84	3,19
45	40,28	40,30	40,32	2,42	4,275	3,47
	0,035	0,105	0,029	1,43	2,425	0,76
H	41,37	41,37	41,4	4,23	8,620	2,51
	0,057	0,060	0,044	1,29	7,58	1,42
I	44,41	44,44	44,56	3,90	22,74	7,6
	0,13	0,12	0,01	0,11	20,90	5,2
48	45,29	45,30	45,31	4,49	4,84	2,30
	0,11	0,12	0,11	1,96	2,786	0,278
49	46,00	46,35	46,70	3,37	8,69	3,67
	0,20	0,21	0,23	1,88	5,53	0,54
J	47,39	47,45	47,74	4,82	6,85	3,44
	0,049	0,028	0,37	1,08	2,00	1,57
50	48,35	48,46	48,61	5,67	71,79	18,3
	0,17	0,052	0,21	2,09	105,2	24,6
51	48,94	49,13	49,10	5,99	27,90	5,10
	0,1767	0,007	0,021	4,25	35,53	5,23
L	51,16	51,21	51,18	4,71	6,650	2,51
	0,13	0,097	0,13	2,31	4,087	0,404

4.4 CONCLUSÕES

- Foram detectados 51 compostos nos cromatogramas dos compostos voláteis de murici dos três lotes da safra de 2001. Foram identificados 46 compostos perfazendo aproximadamente 97% de área.
- A classe química mais abundante foi a dos ésteres (54-56%) seguida pela dos álcoois (36-27%). Os compostos majoritários foram etanol (33,4%), hexanoato de etila (22,0 %), butanoato de etila (17,9%), hexanoato de metila (7,7%), ácido butanóico (3,4%), ácido hexanóico (3,4%) e um composto não identificado com índice de Kovats maior que 1900 (pico 50).
- Os compostos voláteis de maior importância para o aroma de murici foram: ácido acético, ácido butírico, butanoato de etila, butanoato de butila, e o ácido hexanóico.
- Os compostos responsáveis pelo aroma de queijo e fermentado foram os ácidos acético, butírico, hexanóico, o éster butanoato de metila e alguns compostos com intensidade média de aroma, como o ácido 3-metilbutírico, um composto não identificado com índice de Kovats de 1487 e o composto não detectado pelo DIC com índice de Kovats de 1617.
- Os compostos butanoato de etila, butanoato de butila e hexanoato de hexila contribuíram com notas frutais para o aroma de murici.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, G. L; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**. v. 985, p. 297-301, 2003.

ALVES, S.; JENNINGS, W.G. Volatile composition of certain Amazonian fruits. **Food Chem.**, v. 4, p. 149-159, 1979.

BASTOS, D. H. M.; DA SILVA, M. A. P. A.; FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S.

Composição de Voláteis e Perfil sensorial de Méis de Eucalipto e Laranja produzidos nos Estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 122-129, 2002.

BAUER, K. Tropical fruit flavors: a Flavorist's perspective. **Cereal Food World**, v. 45, p. 204-207, 2000.

BRAND, G.; MILLOT, J.L. Sex differences in human olfaction: Between evidence and enigma. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v.54 B(3), p. 259-270, 2001.

CARDELLO, H. M. A. B. **Caracterização sensorial de aspartame, ciclamato/sacarina 2:1 e extrato de folhas de estévia** (*Stévia rebaudiana* Bertoni): **equivalências em doçura, análise descritiva quantitativa e análise tempo-intensidade**. Campinas, SP. 1996. 237p. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Fraiha Neto, 1976, 146 p.

DA SILVA, M.A.A. Flavor properties and stability of a corn-based snack: aroma profiles by gas chromatography (GC), GC-olfactometry, mass spectrometry, and descriptive sensory analysis. 1992. Thesis (PhD). Oregon State University, Corvallis, O.R.. 1992, 157 p.

DA SILVA, M.A.A.P, SAMPAIO, K.L, BERTOLINI, A.C. **C.G Olfatometria (CGO): Uma revisão**. In:FRANCO, M.R.B. (Ed.) *Aroma e sabor de alimentos. Temas atuais*. São Paulo, Livraria Varela. 2003. p.29-46.

DA SILVA, M.A.A.P.; LUNDHAL, D.S.; MCDANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H; VAN DER HEIJ, D.G. (Eds.). **Trends in Flavor Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1994. p. 191-209.

ETTRE, L. S. **The Kováts retention index system**. *Analytical Chemistry*, v. 36, p. 31A-41A, 1964.

FRANCO, M.R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v. 34, p. 293-9, 1983.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1263-1265, 2000.

FRANCO, M. R. B.; GARRUTI, D. S.; DA SILVA, M. A. A. P. Time and solvent optimization for the trapping of the volatile compounds of cashew juice and wine by suction on Porapak Q. **Revista Cubana de Quimica**, v. 10, p. 273-274, 1998.

FRANCO, Maria Regina Bueno; RODRIGUEZAMAYA, Delia; LANÇAS, Fernando M. Compostos voláteis de três cultivares de manga. *Revista Ciência e Tecnologia*, Campinas, v. 24, n. 2, p. 165-169, 2004.

FRITJERS, J.E.R. Some psychophysical notes on the use of the odour unit number. **Chem. Senses Flavour**, n. 3, p. 227-233, 1978.

GARRUTI, D. S. *Composição de Voláteis e Qualidade de Aroma do Vinho de Caju*. **Tese de Doutorado**. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas. 2001, pp. 218.

GOLDSTEIN, E.B. The chemical senses. In: **Sensation and perception**. Wadsworth Publishing Company. 1989, p. 496-525.

GUICHARD, H.; GUICHARD, E.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; ABBOTT, N.Z. **Lebensm Unters Forsch**, v. 201, p. 344-50, 1995.

LE GUEN, S.L.; PROST, C.; DEMAIMAY. Critical Comparison of Three Olfactometric Methods for the Identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1307-14. 2000

LINSEN, J.P.H.; JANSSENS, G.M.; ROOZEN, J.P.; POSTHUMUS, M.A. Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. **Food Chemistry**, v. 46, p. 367-371, 1993.

MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBERY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory chromatography approach. In: Charalambous, G. (Ed.). **Flavours and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press Inc., 1988. v. 2, 159 p.

MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBERY, L.M.; WATSON, B.T.; MC DANIEL, M.R. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 43, p. 90-2, 1992.

REZENDE, E.S.; FRAGA, S.R.G. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **J. Brazilian Chem. Soc.** v. 14, p. 425-428, 2003.

SANCHES, N.B.; LEDERER, C.L.; NICKERSON, G.B.; LIBBERY, L.M.; MCDANIEL, M.R. Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and unhopped beer. In: Charalambous, G. (Ed.). **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992. p. 403-26.

SAS. Statistical Analytical System. **SAS Institute Inc**, SAS Campus Drive, Cary, Caroline, USA, Version 6.12, 1996.

SAVIC, I. **Processing of odorous signals in humans**. Brain Research Bulletin, v. 54, n. 3, p. 307-312, 2001.

STEVENS, D.S. On the psychophysical law. **The Psychological review**. v. 64, p. 147-153, 1957.

STEVENS, S.S. To honor Fecher and repeal his law. Science. v. 133, p. 80-86, 1961,

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1985. 227 p.

TAKEOKA, G.; BUTTERY, R.G.; FLATH, R.A.; TERANISHI, R.; WHEELER, E.L.; WIECZAREK, R.L.; GUENTERT, M. **Volatile constituents of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.)**. In: Flavor Chemistry: Trends and developments. TERANISHI, R.; BUTTERY, R.G.; SHAHIDI, F. (Eds.). Washington, D. C.: American Chemical Society, 1989. p. 223-237.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M.R.B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, p. 52-59, 2000.

CAPÍTULO 5

COMPOSTOS VOLÁTEIS ODORÍFEROS PRESENTES EM JENIPAPO (*Genipa americana* L.)

G. L. Alves, M.R.B. Franco, M. A. A. P. da Silva

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6121, Campinas (SP) 13083-970, Brasil.

RESUMO

O jenipapo (*Genipa americana* L.) é uma fruta proveniente das regiões Norte e Nordeste do Brasil e é caracterizada pelo seu sabor ácido e pungente. Durante duas safras consecutivas, os compostos voláteis de três lotes de frutas, provenientes de Fortaleza, foram isolados por um método de *headspace* dinâmico. Os compostos voláteis foram separados por cromatografia gasosa de alta resolução e os efluentes cromatográficos foram submetidos à avaliação olfatométrica pela técnica de Osme, em triplicata, com cinco provadores treinados e selecionados. A identificação dos voláteis foi realizada por espectrometria de massas e índices de Kovats como parâmetro complementar. Foram detectados 59 compostos voláteis por cromatografia gasosa de alta resolução, dos quais 42 foram identificados por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. Os compostos octanoato de metila, 2-heptanona, ácido octanóico, ácido 2-metilbutírico, ácido hexanóico foram majoritários nas duas safras estudadas (2001 e 2002). Foram detectados pela equipe sensorial 27 compostos odoríferos, sendo que os compostos voláteis importantes para o aroma característico do jenipapo foram o ácido hexanóico, ácido 2-metilbutírico, a mistura de 2- e 3-metilbutanol e um composto não identificado (com índice de Kovats de 1700), os quais foram responsáveis pelo aroma ácido, fermentado e queijo e também por notas desagradáveis, como chulé. Os compostos 2-metilbutanoato de metila, linalol, octanoato de metila e um composto não identificado com índice de Kovats 1850, foram responsáveis pelas notas “frutal” e adocicada do jenipapo.

SUMMARY

The genipap (*Genipa americana* L) is a fruit from Northern and Northeastern Brazilian region and it is characterized by an acid and pungent flavor. During two consecutive years, volatile compounds of three lots of the fruit proceeding from Fortaleza, were isolated by a headspace dynamic method. The volatile compounds were separated by high-resolution gas chromatography and the CG effluent was submitted to evaluation by the olfactometry technique called Osme, using five selected and trained judges. Identification of the volatile compounds was realized by mass spectrometry and Kovats indices. Fifty-nine volatile compounds of genipap headspace were detected by high-resolution gas chromatography, of which 42 were identified by gas chromatography-mass spectrometry and Kovats indices. The major compounds were methyl

octanoate, 2-heptanone, octanoic acid, 2-methylbutiric acid and hexanoic acid in the two years studied (2001 and 2002). Twenty-seven odoriferous volatile compounds were detected by the sensory panel. Volatile compounds such as hexanoic acid, 2-methylbutanoic acid, the mixture of 3-methylbutanol and 2-methylbutanol, and an unidentified compound (with Kovats indices of 1700) were important compounds for the genipap aroma and were all responsible for the fermented and cheesy aroma and unpleasant notes such as dirty socks. The compounds methyl 2-methylbutanoate, linalool, methyl octanoate and a tentatively unidentified compound (IK 1850) were all responsible for the fruity and sweet notes.

5.1. INTRODUÇÃO

O jenipapo é uma fruta comum do Norte e Nordeste brasileiro, que apresenta polpa suculenta e ácida, porém doce e exala um aroma bastante característico (CAVALCANTE, 1976). A fruta é consumida na forma de suco, doce cristalizado e licor.

A composição de voláteis do jenipapo foi estudada por BORGES & REZENDE (2000) por cromatografia gasosa-espectrometria de massas (CG-EM). Os compostos voláteis foram isolados pela técnica de destilação-extração simultânea de Nickerson-Likens para extração dos compostos voláteis, durante um período de quatro horas. Trinta e cinco compostos voláteis foram identificados por CG-EM e suas respectivas importâncias odoríferas foram avaliadas pela técnica olfatométrica AEDA. Os ácidos butírico, 2-metilbutírico e hexanóico foram responsabilizados pelas notas pungentes e ácidas presentes no sabor das frutas, sendo que a característica frutal foi atribuída à presença dos ésteres 2- e 3-metilbutirato de etila.

Para determinar quais compostos contribuem significativamente para o sabor do alimento é necessário primeiramente obter-se um extrato representativo desse aroma (ABBOTT *et al.*, 1993), para depois ser utilizada uma técnica de CG-olfatometria adequada para a determinação da importância odorífera de cada volátil. A composição do extrato dependerá do procedimento de isolamento dos compostos voláteis (BLANCH *et al.*, 1991; GUICHARD & ISSANCHOU, 1983).

O princípio do sistema de NICKERSON & LIKENS (1969) baseia-se na destilação extração simultânea dos compostos voláteis utilizando-se pequenas quantidades de solvente orgânico, minimizando a possibilidade de introdução de artefatos e reduzindo o tempo total do

processo para uma hora, em relação à destilação e extração subsequente realizadas independentemente. Entretanto, como ainda é utilizado calor durante o processo, algumas transformações químicas podem ocorrer, como a formação de compostos tais como furano e furfurais (FARKAS *et al.*, 1997; PINO & MARBOT, 2001), e durante a etapa de concentração para eliminar o excesso de solvente, pode haver a perda de compostos mais voláteis e também a formação de artefatos.

A técnica de *headspace* dinâmico consiste na remoção contínua do vapor de *headspace* de amostras líquidas ou sólidas por meio de um fluxo de gás (SINGLETON & PATEE, 1978) ou por sucção (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983) com subsequente enriquecimento (*trapping*) dos componentes.

Essa é uma das melhores técnicas para estudos de compostos de baixo ponto de ebulição, proporcionando a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de artefatos (MAARSE, 1991). Além disso, a fase de vapor imediatamente acima do alimento aproxima-se significativamente do aroma percebido pelos consumidores, desde que as condições de adsorção/ dessorção sejam padronizadas.

A eficiência do método de enriquecimento dos vapores de *headspace* em polímero poroso por sucção (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983) pode ser comprovada através de vários trabalhos onde a composição de voláteis de diversas frutas como graviola (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983), caju (FRANCO *et al.*, 1998; GARRUTI *et al.*, 2003), maçã (JANZANTTI *et al.*, 2000), umbu-cajá, camu-camu, araçá-boi e cupuaçu (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000) e murici (ALVES & FRANCO, 2003) foram determinadas utilizando-se a citada técnica, obtendo-se um isolado de aroma bastante representativo da amostra analisada.

Para determinação dos compostos voláteis importantes para o aroma de alimento têm sido empregadas diferentes técnicas de análise olfatométrica (LE GUEN *et al.*, 2000). Técnicas de diluições como AEDA, em termos psicofísicos, fundamentam-se na lógica de quanto menor o limiar de detecção de um composto, maior é o seu poder odorífero. Este conceito é inconsistente com a psicofísica moderna, que se baseia na Lei de Stevens (STEVENS, 1957; STEVENS, 1961; DA SILVA *et al.*, 1994) para prever o impacto odorífero de um composto presente em um meio a uma dada concentração. Portanto, embora AEDA seja uma ferramenta útil na identificação de

compostos odoríferos importantes para o sabor e aroma de alimentos, tem sofrido críticas (DA SILVA *et al.*, 1994) (DA SILVA *et al.*, 2003)

A técnica de Osme (DA SILVA *et al.*, 1994; MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992), baseia-se nos modernos conceitos de psicofísica. Consiste numa avaliação sensorial de tempo–intensidade, onde o indivíduo avalia sensorialmente os efluentes da coluna cromatográfica, descrevendo a qualidade do odor (floral, ácido graxo, verde, etc), o tempo durante o qual o odor de cada volátil é percebido no efluente cromatográfico e a intensidade do odor de cada composto volátil, através de uma escala de 9 a 15 cm, estruturada ou não (DA SILVA *et al.*, 1994). No aromagrama gerado os picos mais altos e / ou com maior área sugerem compostos de maior importância odorífera. Esse aromagrama pode ser diretamente relacionado com o cromatograma, facilitando a avaliação da importância dos compostos odoríferos presentes no isolado (MACDANIEL *et al.*, 1990; Da SILVA, 1992; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; SANCHES *et al.*, 1992).

Evidentemente, muitas pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de comparar diversas técnicas CG-olfatométricas existentes. Em um experimento bastante abrangente, LE GUEN *et al.* (2000) compararam as técnicas Osme, AEDA e a técnica intitulada OGA (LINSEN *et al.*, 1993) para identificar compostos odoríferos de impacto no aroma e sabor de mariscos. Os resultados obtidos através dos três métodos foram comparados entre si através do coeficiente de correlação de Pearson. Osme foi a técnica que melhor se correlacionou com as outras duas, tendo sido considerada a mais trabalhosa, porém a que apresentou resultados mais precisos. LE GUEN *et al.* (2000) consideraram a técnica de OGA como a de maior facilidade de uso, notadamente porque os julgadores não necessitam treinamento. De um modo geral, LE GUEN *et al.* (2000) recomendaram a utilização de Osme quando a precisão for um fator fundamental na pesquisa.

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer a qualidade e a intensidade odorífera dos compostos voláteis que contribuem para o aroma do jenipapo da região Nordeste brasileira, utilizando-se uma técnica de *headspace* dinâmico e a técnica olfatométrica Osme.

Como a metodologia de isolamento utilizada no trabalho anterior (BORGES & REZENDE, 2000) pode favorecer degradação e modificação dos compostos voláteis presentes na

fruta, devido a exposição da fruta ao calor por um longo período de tempo (4 horas), são esperadas diferenças em relação ao perfil de compostos voláteis.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1- Seleção da matéria-prima e preparo da amostra

As frutas estudadas foram obtidas em duas safras consecutivas (2001 e 2002), provenientes do estado do Ceará (Nordeste). Em cada safra foram adquiridos no comércio local de Fortaleza três lotes pesando 2 Kg cada um.

Para as análises, três frutos de cada lote foram descascados, diluídos na proporção de 1:1 com água destilada e a solução obtida foi homogeneizada utilizando-se um liquidificador, e o suco filtrado. Após a adição de 30 % (p/p) de NaCl a 300 g de suco, a solução obtida foi colocada no balão de sistema de coleta de voláteis, descrito por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983).

5.2.2 Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis do jenipapo foram isolados utilizando-se o método de enriquecimento dos vapores de *headspace* em polímero poroso por sucção (FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA, 1983). Os voláteis do *headspace* foram coletados durante 3 horas e então eluídos com 300 µL de acetona grau cromatográfico (EM Science, Merck), condições estas padronizadas de acordo com o Capítulo 2. Para a captura dos voláteis, utilizou-se o polímero Porapak Q, 80-100 mesh (Water), condicionado a 170 °C por 8 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra- puro. Para cada lote, a coleta dos compostos voláteis foi realizada em duplicata.

5.2.3 Cromatografia gasosa de alta resolução

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso Varian, modelo 3800 (Walnut Creek, CA.) com detector de ionização de chama. Os compostos voláteis foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida com fase estacionária polar (DB-Wax) de 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,50 µm de espessura. Hidrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1,3 mL/ min. As temperaturas do injetor e do detector foram, respectivamente, de 200 °C e

250 °C. A temperatura da coluna foi mantida a 50 °C por 10 minutos, depois programada a 3 °C / min até 200 °C, mantendo-se nessa temperatura por 10 minutos.

O injetor utilizado foi do tipo *split/splitless*, empregado no modo *splitless*. Uma alíquota de 2 µL de amostra foi injetada no instrumento.

5.2.4 Determinação dos índices de Kovats

Uma solução de alcanos (C7-C19) (Sigma) foi preparada utilizando-se acetona como solvente. Foi realizada a co-injeção da amostra e da mistura de padrões sob as mesmas condições de análise para obtenção dos índices de Kovats de cada pico cromatográfico.

Para auxiliar a identificação dos compostos, os índices de Kovats foram determinados em duas colunas com fases estacionárias de diferentes polaridades, DB-Wax (30 m x 0,25 mm x 0,50 µm) e DB1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm).

Os parâmetros de análise empregando a coluna apolar foram: hidrogênio utilizado como gás de arraste, sob fluxo de 1,0 mL/ min. As temperaturas de injetor e detector foram de 200°C e 250°C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi mantida a 50 °C por 10 minutos e posteriormente programada a 3 °C/min até atingir 200 °C/min, mantendo-se nessa temperatura por 10 minutos.

5.2.5 Cromatografia gasosa - espectrometria de massas (CG-EM)

O equipamento usado foi um cromatógrafo gasoso Shimadzu modelo CG17A (Kyoto, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas da marca Shimadzu, modelo CG-EM QP5000. A temperatura da interface direta foi de 240 °C, com fonte de ionização por impacto de elétrons de 70 eV. A varredura foi realizada entre 35 e 350 *m/z*.

Os espectros de massas foram obtidos em duas colunas de polaridades diferentes: DB-Wax e DB1. Foram utilizadas as mesmas condições analíticas descritas para a cromatografia gasosa de alta resolução. O gás de arraste foi o Hélio, com fluxo de 1,3 mL/min.

5.2.6 Identificação dos compostos

A identificação dos compostos voláteis foi realizada através da comparação dos espectros de massas obtidos com os disponíveis na biblioteca do instrumento (National Institute of Standard and Technology, NIST).

Para auxiliar a identificação, os valores de índices de Kovats, obtidos experimentalmente, foram comparados aos da literatura.

Os compostos foram considerados “tentativamente identificado” quando a identificação foi baseada somente nos dados de espectrometria de massas. Compostos considerados positivamente identificados foram aqueles confirmados pelos espectros de massas dos padrões puros obtidos nas mesmas condições de CG-EM e pelos Índices de Kovats.

5.2.7 Cromatografia gasosa-olfatometria

Com o objetivo de verificar quais eram os compostos odoríferos presentes no isolado do *headspace* de jenipapo, o efluente cromatográfico foi submetido à avaliação sensorial através da técnica Osme (MACDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992; DA SILVA, 1992).

Foram misturados em um mesmo frasco três isolados dos compostos voláteis de jenipapo (safra 2001), os quais foram concentrados por passagem de nitrogênio ultra-puro. Foi adicionado nesse isolado um padrão interno (isovalerato de etila) para monitorar a equipe sensorial e a localização dos odores percebidos no cromatograma.

As condições cromatográficas foram: gás de arraste hélio, com fluxo de 1,5 mL/min; temperaturas do injetor e do portal de saída do efluente da coluna para o tubo de vidro silanizado foram, respectivamente, de 200 °C e 250 °C. A programação da temperatura da coluna foi otimizada para que a corrida fosse dividida em duas sessões, com tempos menores que 30 minutos, para não causar a fadiga dos provadores. A temperatura inicial da coluna foi mantida a 50°C por 5 minutos, aumentando 3 °C/min até 180 °C e 5 °C/min até 200 °C, mantendo-se nessa temperatura por 10 minutos. Foi utilizado injetor tipo *split/splitless*, no modo *splitless*, sendo injetado 2 µL do isolado.

O efluente cromatográfico foi misturado ao ar proveniente de um cilindro com fluxo de 4,0 L/min, previamente umidificado, aquecido a 28°C e purificado pela passagem em carvão

ativado. Os compostos separados pela coluna cromatográfica foram carregados pelo ar e fluíram rapidamente pelo tubo de vidro, sendo assim submetidos à avaliação dos provadores.

Para compor a equipe sensorial foram selecionados alunos de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp. Os julgadores receberam três amostras do suco diluído e avaliaram a intensidade do aroma característico da fruta, em três repetições. Aos dados obtidos foi aplicada análise de variância (ANOVA) tendo como fontes de variação amostra e repetição. Foi utilizado o programa estatístico “Statistical Analytical System” (SAS, 1992). Para cada provador foi computado o nível de significância (p) para F_{amostra} e $F_{\text{repetição}}$. Foram selecionados para compor a equipe sensorial cinco provadores que apresentaram $p_{F \text{ amostra}} \leq 0,30$ e $p_{F \text{ repetição}} > 0,05$, ou seja, poder discriminativo e reprodutibilidade adequados para os testes sensoriais segundo DAMÁSIO & COSTELL (1991).

Para não causar fadiga sensorial, a análise olfatométrica foi realizada em duas sessões distintas de avaliação: a primeira sessão correspondeu aos compostos eluídos entre 0 a 28 minutos de tempo de retenção e a segunda, compreendeu tempos de retenção entre 29 e 56 minutos. Cada uma das sessões foi realizada em triplicata por todos os provadores. Cada vez que um aroma era percebido, o julgador respondia ao estímulo utilizando uma escala de tempo-intensidade de 0 a 9 cm através do mouse do computador. Simultaneamente, o julgador descrevia verbalmente a qualidade dos odores percebidos ao analista, o qual também anotava o tempo inicial no qual o aroma era percebido.

Os provadores reportaram a intensidade de cada volátil odorífero, com a ajuda de um programa de aquisição de dados, o SCDTI (Sistema de Coleção de Dados Tempo-Intensidade) (CARDELLO, 1996).

Para cada avaliação, a técnica Osme auxiliada pelo programa SCDTI forneceu: i) o pico de odor de cada composto volátil odorífero; ii) a duração da percepção do odor de cada composto volátil, ou seja, o tempo inicial e final que o provador pode sentir o odor no efluente cromatográfico; iii) a intensidade máxima do odor; iv) a área sob o pico e a qualidade do odor: floral, frutal, pútrido, etc. Os tempos correspondentes a intensidade máxima de cada odor percebido foram utilizados para o cálculo dos índices de Kovats odoríferos.

Foi construído um aromagrama médio de cada provador a partir das triplicatas, considerando apenas os picos reportados pelo menos duas vezes pelo mesmo julgador. Um

aromagrama representativo da equipe sensorial foi obtido a partir dos odores reportados no mínimo duas vezes por pelo menos dois julgadores.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Composição dos voláteis do *headspace* do jenipapo

Os compostos voláteis do *headspace* do jenipapo referentes às duas safras estudadas (2001 e 2002) estão apresentados na Tabela 5.1. Nessa tabela encontram-se as porcentagens relativas médias e os índices de Kovats obtidos nas duas colunas de polaridades diferentes (DB-Wax e DB1). Foram detectados 51 compostos voláteis por cromatografia gasosa de alta resolução, dos quais 43 foram identificados por cromatografia gasosa-espectrometria de massas.

Os compostos octanoato de metila, 2-heptanona, ácido octanóico, ácido 2-metilbutírico e ácido hexanóico foram os majoritários nas duas safras estudadas (2001 e 2002). O 2-metilenobutanoato de metila e o 1,3,5,7-ciclooctatetraeno (COT) foram abundantes apenas na primeira safra, na segunda, esses compostos foram detectados com porcentagens de área menores, ou mesmo em traços. Inversamente, o 2-metilbutanoato de metila apresentou maior porcentagem de área relativa (12,59%) no ano de 2002, enquanto em 2001 sua abundância relativa foi de apenas 2,70%.

As amostras foram caracterizadas por um grande número de ésteres e álcoois. Foram identificados 15 ésteres, 8 dos quais saturados com radical metila (C4-C8) e etila (C6-C8), 4 ésteres insaturados (1 tentativamente identificado), além dos ésteres aromáticos salicilato de metila, benzoato de metila e cinamato de metila. Os “enoatos” já foram detectados em diferentes frutas tropicais, como o (Z)-3-hexenoato de metila, que foi detectado em graviola de diferentes países (AUGUSTO *et al.*, 2000; JIROVETZ *et al.*, 1998), goiaba (IDSTEIN & SCHREIER, 1985) e abacaxi (WU *et al.*, 1991; UMANO *et al.*, 1992), sendo que nessa fruta também foi encontrado o (Z)-4-decenoato de metila (TEAI *et al.*, 2001).

Álcoois de cadeia saturada de C2 a C9 foram todos detectados, destacando-se o 2-pentanol (1,05%), 2-heptanol (1,12-0,81%) e 2-nonanol (tr-2,97), os mais abundantes dentre essa classe química.

Vários álcoois foram identificados pela primeira vez em jenipapo: etanol, 2-metilpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol, hexanol, 2-butoxietanol, 2-heptanol, 2-nonanol e octanol, além de alguns compostos carbonílicos como 2-pentanona, 4-metil-2-pentanona e acetofenona. Os ésteres 2-metilbutanoato de metila, 2-metilenobutanoato de metila, (Z)-3-hexenoato de metila, (Z)-3-octenoato de metila, benzoato de metila, (Z)-4-decenoato de metila e salicilato de metila, além de uma lactona, a caprolactona, e um composto da classe dos hidrocarbonetos, o 1,3,5,7-ciclooctatetraeno (COT), também foram relatados pela primeira vez em jenipapo.

Os ácidos, embora presentes em menor número, contribuíram com aproximadamente 22% de área relativa. Os ácidos 2-metilbutírico e hexanóico demonstraram ter importante influência sensorial em várias frutas tropicais, como jenipapo (BORGES & REZENDE, 2000) e caju (MACIEL *et al.*, 1986).

Em seus estudos sobre jenipapo da região Norte brasileira, através da técnica de destilação-extração simultânea, e empregando-se diclorometano na extração dos compostos voláteis por 4 horas, BORGES & REZENDE (2000) identificaram 35 compostos, com predominância dos ácidos carboxílicos e dos ésteres de etila e metila. Os compostos majoritários foram: ácidos octanóico (34,1%), hexanóico (18,2%), 2-metilbutírico (9,1%) e hexadecanóico (2,2%); ésteres 2-metil-(E)-2-butenato de metila (4,1%), octanoato de etila (3,2%); além de 2-propilfurano (2,2%), furfural (2,1%) e ciclohexano (1,7%).

A classe dos ácidos foi a predominante na fruta procedente do Norte do país (BORGES & REZENDE, 2000), a classe dos ésteres foi a mais abundante nas frutas estudadas no presente trabalho; dos 30 ésteres identificados nos dois trabalhos, apenas sete foram comuns.

Estas diferenças encontradas podem ter ocorrido devido à técnica de extração utilizada ou às diferentes procedências das frutas estudadas ou ainda a diferentes estádios de maturação. No trabalho de BORGES & REZENDE (2000) foi identificado o furfural, composto bastante conhecido como resultante do tratamento térmico de frutas e de sucos, ou seja, possivelmente trata-se de um artefato (FARKAS *et al.*, 1997; PINO & MARBOT, 2001). Durante o procedimento de SDE, podem ter ocorrido modificações nos compostos voláteis presentes na amostra, o que já era esperado devido ao fato da destilação-extração ter sido realizada à pressão

atmosférica e tempo prolongado (4 horas). Essa suspeita é ainda maior devido a alta porcentagem de furfural observada.

No Anexo 5, encontram-se as médias da porcentagem de área dos compostos voláteis dos lotes estudados durante as duas safras. Não foi possível quantificar a área relativa do etanol (pico 1), pois, geralmente ele foi detectado na região da cauda do solvente.

O resultado da análise de variância (ANOVA), realizada em cada um dos picos com porcentagem de área relativa maior que traços, mostrou que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os lotes, para os compostos 2-heptanona, 1,3,5,7-ciclooctatetraeno (COT), salicilato de metila e ácido octanóico, no ano de 2001 e na segunda safra, os compostos 2-heptanona e 2-nonanol diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre os lotes.

Entre as safras, os compostos 2-pentanona, 2-metilbutanoato de metila diferiram a 5% de significância. Os compostos 2-metilenobutanoato de metila e COT foram majoritários na primeira safra e na segunda, encontravam-se em menor proporção ou mesmo em traço

Tabela 5.1: Compostos voláteis presentes em suco de jenipapo (safras de 2001 e 2002) e respectivas porcentagens de áreas relativas em cada safra.

Pico	IK exp. DB-Wax	IK exp. DB1	Composto	% área Safr 2001	% área Safr 2002
1	914	-	Etanol		
2	957/ 992	-	2-pentanona	5,48 ^a	1,77 ^b
3	1002/ 1023	< 800	2-metilbutanoato de metila + clorofórmio	2,70 ^b	12,59 ^a
4	1029	-	4-metil-2-pentanona	tr-3,02	tr-1,63
5	1032	-	2-metilpropanol	tr-0,812	tr-0,43
6	1136	-	2-pentanol	1,05	nd
7	1178	-	Butanol	nd -0,24	nd
8	1207	-	NI	nd-1,8	nd
9	1195	-	Hexanoato de metila	tr	nd-0,78
10	1212/1192	-	2-heptanona	11,59 ^a	9,85 ^a
11	1189/1220	861	2-metilenobutanoato de metila ^{TI}	5,45	nd-6,09
12	1216	-	NI	2,24	nd-0,23
13	1237/1249	-	2-metilbutanol + 3-metilbutanol	2,80	-
13 a	1237	-	3-metilbutanol	-	nd-0,55
14	1238/1250	-	Hexanoato de etila	nd	tr

Continua ...

Tabela 5.1 continuação

15	1278/1231	1269	1,3,5,7-ciclooctatetraeno (COT)	8,27	nd-0,66
16	1283/1273	-	(Z)-3-hexenoato de metila	nd-1,64	nd

17	1285/1274	-	1-pentanol	tr-0,71	0,22
18	1297/12305	1032	Heptanoato de metila	Nd-0,20	nd
19	1311/1288	-	3-hidroxi-2-butanona	tr	tr
20	1338/1348	887	2-heptanol	1,12 ^a	0,81 ^a
21	1378/1370	-	Hexanol	tr	nd
22	1404/1404	-	Octanoato de metila	34,08 ^a	24,60 ^a
23	1400	-	NI	nd-0,11	tr
24	1404	-	NI	nd-4,39	nd
25	1440/1424	-	2-butoxietanol	tr-0,36	tr-0,43
26	1438/1446	1097	(Z)-4-octenoato de metila	0,68	tr-0,6
27	1444/1448	1180	Octanoato de etila	0,71 ^a	0,72 ^a
28	1462	-	Ácido acético	nd-1,32	0,35
29	1469/1462	-	Heptanol	tr-1,06	0,37
30	1503	-	3-octenoato de etila ^{TI}	nd	tr
31	1504	-	NI	tr-0,84	0,32
32	1508	-	NI	nd	0,33
33	1534	921	Benzaldeído	tr-0,44	0,88
34	1537/1535	1089	2-nonanol	tr-0,98	2,97
35	1587/1564	-	Linalol	tr	tr-0,39
36	1575	-	Octanol	tr	tr-0,26
37	1578		Ácido 2-metilpropanóico	tr	tr
38	1596	-	Decanoato de metila	tr	tr
39	1637	-	Benzoato de metila	tr	nd-0,26
40	1632/1618	-	(Z)-4-decenoato de metila	1,00	nd-0,41
41	1663/1664	-	Acetofenona	tr-0,19	nd-0,24
42	1684/1685	881	Ácido 2-metilbutírico	5,15 ^a	7,14 ^a
43	1695	-	NI	1,11 ^a	0,78 ^a
44	1714/	-	γ-Caprolactona	tr-1,60	nd-0,56
45	1750	1164	4-etilbenzaldeído	tr-0,72	nd-0,35
46	1755		2-decenol	tr-0,74	nd
47	1789	1200	Salicilato de metila	0,63	nd
48	1794/1792	-	NI	tr-0,79	nd-1,47
49	1846	-	3,4-dimetilacetofenona ^{TI}	tr-0,86	nd
50	1861	1039	Ácido hexanóico	5,69 ^a	5,63 ^a
51	> 1900	-	NI	nd-0,50	nd
52	> 1900	-	Alcool benzílico ^{TI}	tr	nd-0,27
53	> 1900	-	Delta-octalactona ^{TI}	tr	tr
54	> 1900	-	Ácido octanóico	11,33 ^a	9,94 ^a
55	> 1900	1367	Cinamato de metila	nd	0,35
56	> 1900	-	NI	nd	nd-0,38
57	> 1900		3-etilfenol ^{TI}	tr	tr
58	> 1900		Ácido decanóico ^{TI}	tr	tr
59	> 1900	-	NI	nd-0,78	nd-0,19

NI: não identificado; TI: tentativamente identificado; Nd: não detectado; tr: traços; % áreas indicadas com letras diferentes diferiram significativamente (p<0,05) nas duas safras.

5.3.2 Importância odorífera dos compostos voláteis do jenipapo segundo cromatografia gasosa-Osme

As Figuras 5.1 A e B apresentam cromatograma e o aromagrama consensual dos compostos odoríferos de jenipapo, com a mesma numeração utilizada na Tabela 5.1. Foram detectados pela análise olfatométrica 28 compostos odoríferos. Os picos indicados por letras não foram detectados pelo DIC.

O aromagrama (Figura 5.1 B) possui três regiões distintas, a primeira com índice de Kovats menor que 1088, foi caracterizada pela presença de seis compostos odoríferos mais voláteis, sendo que dois deles (picos codificados como 3 e B) apresentaram alta intensidade de aroma. A segunda região situa-se entre os índices de Kovats de 1216 a 1443 e caracteriza-se pela presença de uma série de ésteres. Esta região apresentou 11 compostos odoríferos sendo 5 deles (picos c, 13, 18, 20 e 22) com intensidades de aroma entre moderada e alta. Finalmente, a terceira região, situada entre os índices de Kovats de 1619-1879, foi caracterizada pela presença dos ácidos graxos e apresentou 10 voláteis odoríferos, vários deles percebidos com alta intensidade de aroma, quais sejam, os picos 42, 48 e 50.

Os compostos odoríferos, seus descritores de aroma, intensidade máxima, porcentagens de área e índices de Kovats determinados através da técnica de Osme encontram-se na Tabela 5.2.

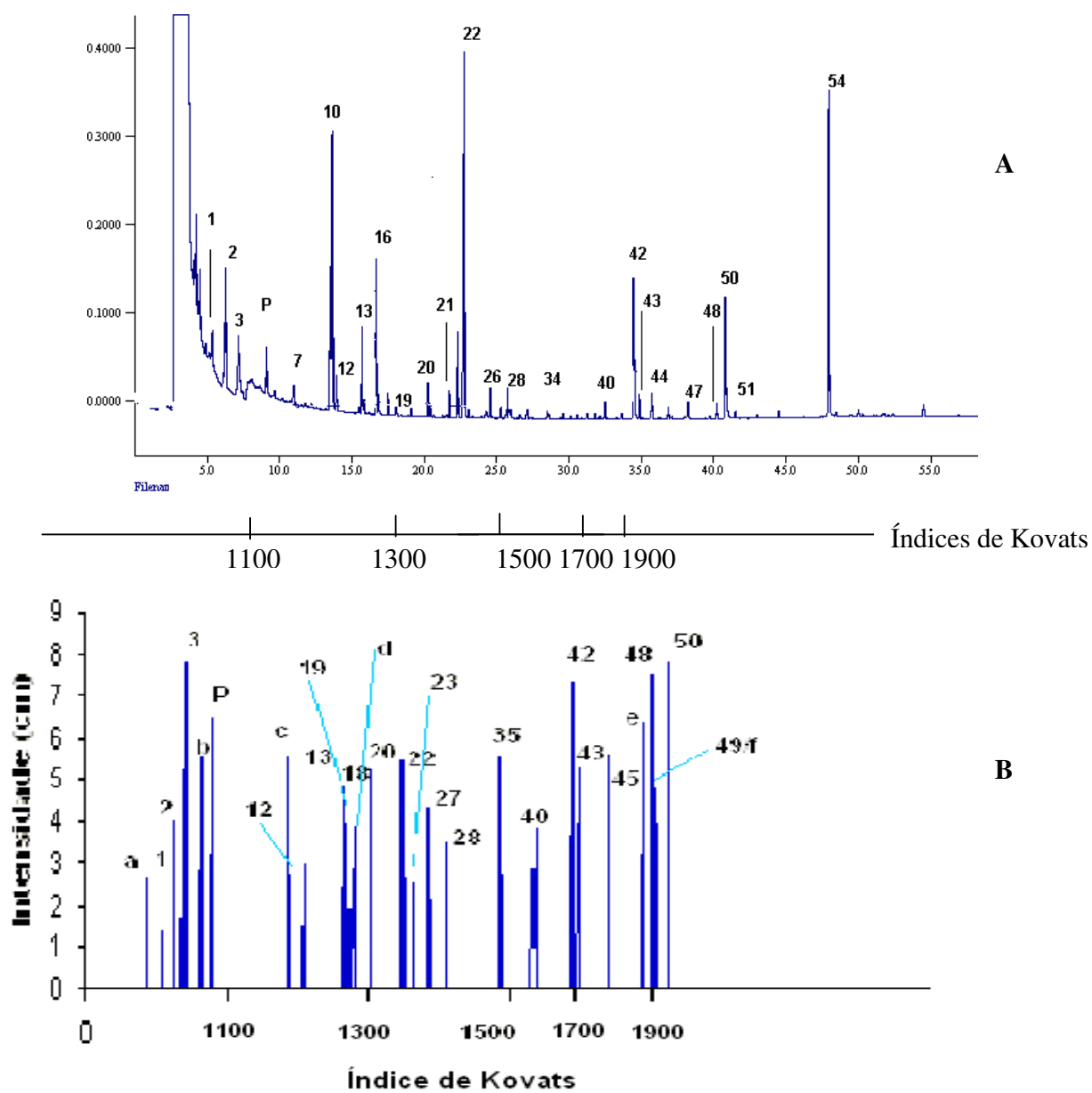


Figura 5.1: Cromatograma (A) e aromagrama (B) dos compostos voláteis do *headspace* de jenipapo.

Tabela 5.2 : Compostos odoríferos do *headspace* de jenipapo (*Genipa americana* L.).

Pico	IK exp ¹	Composto	Descritores	T ret. (desvio) ²	Intensidade (cm) ³ (desvio)	Área ⁴ (desvio)
a	< 1000	nd	Floral (3x); doce	4,35 (1,625)	2,60 (0,95)	4,55 (2,83)
1	< 1000	Etanol	Flor; frutal (3x); doce (2x); verde	5,48 (1,380)	2,85 (0,16)	12,89 (8,51)
2	< 1000	2-pentanona	Amêndoa; doce (5x); frutal (2x); floral	6,14 (0,375)	3,50 (1,58)	28,05 (39,15)
3	1023	2-metilbutanoato de metila	Floral (4x); frutal; danone; padrão; doce (3x); guaraná; madeira; tuti-fruti (2x);	7,04 (0,366)	6,95 (1,23)	74,90 (71,76)
3	1025	2-metilbutanoato de metila + clorofórmio	Doce (2x); tuti-fruti (3x);	7,11 (0,099)	7,73 (1,72)	93,42 (61,70)
b	1066	nd	Floral (2x); frutal (8x); doce (8x);	8,32 (0,218)	5,51 (1,04)	22,90 (9,48)
P	1088	Padrão	Padrão (4x); xarope; doce (3x); frutal (3x); guaraná (2x); jenipapo; doce (3x)	9,05 (0,1849)	6,45 (1,62)	51,43 (30,21)
c	1216	nd	Plástico; queijo; agradável; madeira molhada; queimado; ruim; verde; casca de árvore; estranho.	14,26 (0,155)	5,57 (1,62)	32,27 (16,35)
12	1246	NI	Chá; frutal (2x); verde; doce; flor	15,34 (0,046)	2,96 (0,16)	9,50 (4,87)
13a	1249	3-metilbutanol	Queijo; xarope; cachorro molhado; banana podre; ácido graxo; ruim	15,50 (0,0)	5,13 (2,28)	25,86 (16,02)
18	1314	Heptanoato de metila	Bala; floral; verde (2x); folha	18,27 (0,077)	4,89 (0,50)	23,34 (2,48)
19	1321	3-hidroxi-2-butanona	Doce; rápido; sabonete; floral; verde (2x); chá; desagradável; folha úmida; madeira;	18,56 (0,031)	3,91 (2,23)	17,27 (17,43)
d	1331	nd	Floral; fermentado; doce; amêndoa; verde; madeira; ruim; fedido.	19,04 (0,030)	3,77 (0,71)	15,28 (11,63)
20	1355	2-heptanol	Amêndoa; flor (3x); doce (5x)- (Maria mole); ruim; cítrico; madeira molhada; coco(2x)	20,16 (0,114)	5,16 (2,41)	15,29 (9,42)
22	1399	Octanoato de metila	Frutal (2x); doce (2x) ; coco; sabão coco; plástico queimado; flor	22,49 (0,251)	5,41 (0,25)	64,56 (66,89)
23	1412	NI	Fermentado; solvente; verde; estranho; doce; floral	23,31 (0,182)	3,06 (1,17)	5,65 (3,88)
27	1432	Octanoato de etila	Doce (5x); coco (2x); doce (maria mole); flor (2x); frutal (2x)	24,39 (0,086)	4,34 (1,36)	25,15 (20,85)

Continua ...

Tabela 5.2 continuação

28	1443	Ácido acético	Ácido acético (2x); vinagre (2x); terra; estranho; ruim	25,5 (0,103)	3,48 (1,08)	8,70 (5,56)
35	1619	Linalol	Perfume; frutal (2x); floral; verde	29,41 (0,068)	5,70 (0,43)	35,28 (20,57)
40	1685	(Z)-4-decenoato de metila	Doce (2x); caramelo; flor	31,8 (0,933)	3,05 (1,70)	18,74 (25,72)
42	1685	Ácido 2-metilbutírico	Fedido (3x); chulé (2x); pano de chão (2x); mofo (2x); queijo (2x); queijo casca (2x); doce	34,42 (0,056)	7,21 (0,44)	43,76 (29,07)
43	1700	NI	Amêndoa; cachorro molhado; borracha; queijo; ácido graxo	35,04 (0,06)	5,29 (0,06)	9,84 (5,68)
45	1767	4-etilbenzaldeído	Mofo; estranho; rosa; verde + ácido	37,08 (0,171)	5,64 (3,89)	145,12 (193,51)
e	1842	nd	Mofo; doce (2x); fedido; irritante.	39,77 (0,854)	6,39 (0,07)	18,18 (9,59)
48	1850	NI	Doce; menta; perfume; floral; agradável	40,1 (0,035)	7,51 (1,58)	37,71 (34,31)
49	1852	3,4-dimetilacetofenona	Floral; cítrico; fruta (2x); maçã cozida; doce	40,19 (0,07)	4,72 (1,32)	38,24 (19,67)
f	1856	Nd	Menta; borracha; chá mate; doce; guaraná	40,32 (0,052)	3,95 (4,49)	52,16 (72,59)
50	1879	Ácido hexanóico	Mofo; pano molhado; queijo (3x); fedido	41,27 (0,102)	6,63 (1,41)	87,03 (29,71)

NI: não identificado; TI: tentativamente identificado; nd: não detectado; ¹ índices de Kovats experimentais coluna DB-Wax; ² Médias dos tempos de retenção de intensidade máxima do odor percebido; ³ Média da intensidades máximas do odor percebido; ⁴ Área sob o pico no aromagrama. Número em parênteses é a frequência com que o descritor foi citado.

Pela técnica de Osme, quanto maior a intensidade e a área do pico no aromagrama, maior será a contribuição do composto para o aroma e sabor do alimento.

A Tabela 5.3 lista em ordem decrescente de importância odorífera todos os compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através da técnica de Osme. Assim, analisando-se em conjunto a Tabela 5.3 e a Figura 5.1, pode-se verificar que de forma consensual, os compostos voláteis de maior impacto para o aroma de jenipapo, segundo a percepção dos cinco julgadores foram:

- ❖ 2- metilbutanoato de metila (pico3): descrito como doce, tuti-fruti, floral e frutal, foi considerado como composto mais importante para o jenipapo pelos provadores 1 e 3, sendo considerado um dos 7 compostos voláteis mais importantes pelos outros três julgadores.
- ❖ Ácido 2-metilbutírico (pico 42): descrito como chulé, mofo e queijo, foi listado como o segundo composto volátil mais importante pelos provadores 2 e 4 e foi considerado entre os 5 compostos de maior intensidade pelos demais provadores.
- ❖ Linalol (pico35): detectado por todos os provadores, sendo listado como um dos onze compostos de maior importância odorífera, sendo descrito como perfume, frutal, floral e verde;
- ❖ Composto não detectado pelo DIC (IK= 1216) (pico c): as descrições variaram de madeira molhada, ruim, queijo a verde e casca de árvore, não foi detectado pelo provador 1.
- ❖ Composto não identificado (IK= 1850) (pico 49): descrito como doce, floral, agradável e menta; detectado somente por três provadores, porém, apresentou intensidade entre 4,80 a 7,24, que equivalia à moderada a alta na escala de nove pontos.
- ❖ Ácido hexanóico (pico 50): composto descrito principalmente como queijo, porém, não foi detectado pelo provador 4.

O composto não detectado pelo DIC (IK=1842) (pico e) foi considerado de grande importância odorífera apenas por dois provadores. O 4-etilbenzaldeído e o 2- heptanol também foram percebidos com alta intensidade somente pelos provadores 1 e 3, o que

contribuiu para a elevação da média desses compostos no aromagrama consensual (Fig. 5.1).

O suco de jenipapo foi descrito como característico de “pêra azeda”, damasco e ácido isovalérico (ácido 3-metilbutírico) (BAUER, 2000). Os ácidos graxos de cadeia pequena (até 10 C) estão presentes em várias frutas tropicais, possuem baixo limiar e aroma característico de queijo, ranço, fermentado e “azedo” (BAUER, 2000). Portanto, é possível que a presença dos ácidos hexanóico e 2-metilbutírico, além do composto não detectado pelo DIC com índice de Kovats de 1216 e o não identificado com índice de Kovats de 1700, juntamente com a mistura de 2-metilbutanol e 3-metilbutanol, seja responsável por essa nota ácida, fermentada, característica dessa fruta. Além disso, esses compostos foram os que apresentaram descrições de aromas desagradáveis como chulé e ruim.

O ácido 2-metilbutírico é também um dos ácidos que caracteriza o aroma de cupuaçu (FISCHER *et al.*, 1995). Na avaliação do aroma de caju, foi descrito como tendo aroma desagradável, forte e “chulé”, sendo considerado um dos picos de maior importância odorífera (GARRUTI *et al.*, 2003).

Os compostos 2-metilbutanoato de metila, o composto não detectado com índice de Kovats 1850, linalol e o octanoato de metila foram responsáveis pelo aroma frutal e adocicado de jenipapo.

O éster 2-metilbutanoato de metila, no presente estudo, co-eluiu com clorofórmio, por isso os provadores sentiram dois picos consecutivos e de aroma semelhantes, pois ambos são descritos na literatura como “frutal” e “floral” (MACLEOD & TROCONIS, 1982; HAYATA *et al.*, 2003). Na safra de 2002, o 2-metilbutanoato de metila teve uma maior porcentagem de área e diferiu significativamente da safra de 2001. A fruta na segunda safra provavelmente apresentou um aroma mais floral e frutal, pois este éster foi considerado um dos compostos de maior impacto odorífero do jenipapo, como determinado por CG-Osme.

BORGES & REZENDE (2000), atribuíram aos ácidos butírico, 2- e 3-metilbutírico e hexanóico o aroma pungente do jenipapo e as notas frutais, à presença dos ésteres 2- e 3-metilbutanoato de etila, sendo que esses compostos mostraram um mesmo valor de FD (2^8). Os autores não relataram a presença de outros compostos voláteis que apresentassem valores de FD menores.

Tabela 5.3: Ordenação em valor decrescente de importância odorífera dos compostos voláteis detectados por cada um dos julgadores através do Osme.

Julgador 1	Julgador 2	Julgador 3	Julgador 4	Julgador 5
2-metilbutanoato de metila (8,21 $\pm$ 1,11)	Ácido hexanóico (7,42 $\pm$ 0,29)	2-metilbutanoato de metila (8,96 $\pm$ 0,06)	c (7,24 $\pm$ 2,45)	Pico 49 ^{NI} (8,6 $\pm$ 0,45)
2-heptanol (7,81 $\pm$ 0,12)	Ác. 2-metilbutírico (6,9 $\pm$ 0,0)	4-etilbenzaldeído (8,39 $\pm$ 0,04)	Ác. 2-metilbutírico (7,11 $\pm$ 2,54)	Ácido hexanóico (8,07 $\pm$ 1,31)
IK 1408 (7,63 $\pm$ 1,40)	IK 1585 (6,9 $\pm$ 0,22)	Ác. 2-metilbutírico (7,93 $\pm$ 0,67)	b (6,89 $\pm$ 1,47)	2-metilbutanoato de metila (7,8 $\pm$ 0,96)
Ác. 2-metilbutírico (6,82 $\pm$ 2,42)	3-metilbutanol (6,74 $\pm$ 0,48)	Octanoato de metila (7,95 $\pm$ 0,27)	Pico 49 ^{NI} (6,39 $\pm$ 1,06)	IK > 1900 (7,4 $\pm$ 2,26)
e (6,44 $\pm$ 1,11)	2-heptanol (6,62 $\pm$ 1,26)	f (7,13 $\pm$ 0,37)	IK > 1900 (6,16 $\pm$ 3,20)	Ácido 2-metilbutírico (7,28 $\pm$ 1,33)
b (6,32 $\pm$ 1,33)	c (6,57 $\pm$ 0,39)	Pico 49 ^{NI} (5,87 $\pm$ 4,39)	2-metilbutanoato de metila (5,71 $\pm$ 1,54)	e (6,34 $\pm$ 0,01)
Ácido hexanóico (5,67 $\pm$ 0,76)	2-metilbutanoato de metila (6,29 $\pm$ 0,27)	Octanoato de etila (5,30 $\pm$ 1,52)	Linalol (5,71 $\pm$ 0,43)	Linalol (6,34 $\pm$ 0,01)
2-pentanona (5,65 $\pm$ 0,88)	e (6,31 $\pm$ 0,42)	Ácido hexanóico (5,37 $\pm$ 1,88)	> 1900 (5,73 $\pm$ 3,11)	IK 1810 (5,66 $\pm$ 0,38)
Pico 43 ^{NI} (5,33 $\pm$ 0,09)	3-hidroxi-2-butanona (5,87 $\pm$ 0,63)	Heptanoato de metila (5,27 $\pm$ 2,96)	> 1900 (5,04 $\pm$ 5,38)	> 1900 (8,6 $\pm$ 0,45)
IK 1867 (5,15 $\pm$ 0,18)	Linalol (5,80 $\pm$ 0,84)	Linalol (4,92 $\pm$ 2,6)	3,4-dimetilacetofenona (3,79 $\pm$ 4,32)	> 1900 (5,64 $\pm$ 3,50)
Linalol (5,08 $\pm$ 0,18)	3,4-dimetilacetofenona (5,65 $\pm$ 0,84)	d (5,05 $\pm$ 1,41)	IK 1121 (3,78 $\pm$ 1,26)	2-heptanol (5,59 $\pm$ 1,19)
Pico 23 ^{NI} (4,22 $\pm$ 1,77)	IK 1245 (5,58 $\pm$ 0,89)	4-(Z)-decenoato de etila (4,92 $\pm$ 2,60)	Octanoato de etila (3,38 $\pm$ 1,62)	Pico 42 ^{NI} (5,25 $\pm$ 1,43)
3-hidroxi-2-butanona (3,50 $\pm$ 0,59)	IK 1195 (4,86 $\pm$ 1,02)	c (4,86 $\pm$ 1,30)	IK 1095 (3,35 $\pm$ 2,40)	B (4,46 $\pm$ 1,39)
IK > 1900 (3,44 $\pm$ 0,18)	b (4,83 $\pm$ 1,28)	3-hidroxi-2-butanona (4,39 $\pm$ 0,12)	Etanol (2,97 $\pm$ 0,52)	D (4,35 $\pm$ 0,89)
IK>1900 (3,42 $\pm$ 0,84)	Ácido acético (4,58 $\pm$ 0,60)	d (4,34 $\pm$ 1,43)	d (2,89 $\pm$ 0,45)	Etanol (3,64 $\pm$ 0,61)
IK>1900 (3,42 $\pm$ 0,34)	Heptanoato de metila (4,53 $\pm$ 0,48)	2-heptanol (4,28 $\pm$ 1,43)	Octanoato de metila (2,89 $\pm$ 2,26)	c (3,58 $\pm$ 0,13)

Continua ...

Tabela 5.3 continuação

a (3,32 ± 0,07)	IK < 900 (3,23 ± 1,54)	IK 1494 (3,61 ± 1,32)	2-pentanona (2,68 ± 1,02)	3-metil-2-butanol (3,51 ± 0,13)
IK 1737 (2,78 ± 0,52)	Pico 12 ^{NI} (2,84 ± 3,30)	Pico 12 ^{NI} (3,08 ± 0,05)	4-(Z)-decenoato de etila (2,66 ± 3,00)	IK > 1900 (3,44 ± 0,45)
IK > 1900 (2,28 ± 0,24)	2-pentanona (2,03 ± 1,81)	Etanol (2,74 ± 1,06)	Ácido acético (2,42 ± 1,04)	Ácido acético (3,43 ± 0,13)
IK 1154 (2,10 ± 0,68)	IK < 1900 (1,35 ± 0,24)	IK < 1900 (2,72 ± 0,94)	IK 1494 (2,27 ± 2,01)	Pico 23 ^{NI} (3,10 ± 1,02)
IK > 1900 (1,87 ± 1,1)	IK < 900 (1,24 ± 0,18)		IK 1512 (2,16 ± 2,05)	a (3,07 ± 1,21)
(Z)-4-decenoato de metila (1,58 ± 0,07)			IK > 1900 (1,95 ± 0,48)	IK 1390 (2,64 ± 0,84)
			Pico 23 ^{NI} (1,85 ± 0,751)	IK 1549 (2,57 ± 3,18)
			IK > 1900 (1,77 ± 1,40)	
			IK > 1900 (1,71 ± 2,07)	
			IK > 1900 (1,59 ± 0,07)	
			2-heptanol (1,52 ± 0,31)	
			a (1,51 ± 0,33)	
			3-hidroxi-2-butanona (1,47 ± 0,78)	
			IK 1534 (1,43 ± 0,70)	
			f (0,77 ± 0,14)	

^{NI}: composto não identificado; compostos identificados por letras não foram detectados pelo DIC; Compostos identificados pelos índices de Kovats somente foram detectados por um provador; em parênteses estão os desvios padrões da intensidade dos compostos voláteis detectados somente por um provador.

Em relação ao aroma típico de queijo os resultados foram similares nos dois trabalhos, porém os ácidos butírico e o 3-metilbutírico reportados como importante para o aroma de jenipapo por BORGES & REZENDE (2000), não foram detectados no presente estudo. Em relação á nota frutal, apenas o octanoato de metila foi identificado na fruta estudada por BORGES & REZENDE (2000), porém este composto não foi relatado como importante para o aroma da fruta no trabalho citado.

As diferenças observadas em relação aos compostos voláteis de maior importância odorífera, nos dois trabalhos, podem ter ocorrido devido à procedência da fruta e/ou às diferentes técnicas de isolamento dos voláteis e olfatométricas. Essas diferenças foram observadas principalmente em relação aos compostos que contribuem para o aroma floral/frutal das frutas.

5.3.3 Grau de consenso da equipe sensorial de Osme

As Figuras 5.2 A e 5.2 B mostram os aromagramas médios de cada provador que avaliou o efluente cromatográfico do isolado de jenipapo, observa-se que os julgadores detectaram diferentes números de compostos voláteis. O número de compostos odoríferos detectados pelos provadores variou de 20 a 31, sendo que o julgador 4 identificou 31 picos odoríferos, ou seja, o maior número de compostos, e os julgadores 2 e 3 foram os menos sensíveis e detectaram 20 voláteis odoríferos. Os provadores 1 e 5 identificaram 22 e 23 voláteis odoríferos, respectivamente. Observou-se que, embora os provadores tenham percebido diferentes números de compostos, os aromagramas apresentaram um perfil semelhante, contendo três regiões distintas: a primeira onde encontram -se os compostos mais voláteis, a segunda com tempo de retenção entre 15 e 25 minutos e a terceira, onde se encontram os compostos menos voláteis, parcialmente percebidos pelos provadores 2 e 3.

Além da diferença no número de picos reportados, os provadores apresentaram variabilidade em relação às intensidades reportadas para cada pico (Figuras 5.2 A e 5.2 B) (Tabela 5.2). Mesmo entre provadores treinados com referências de intensidade, há utilização de diferentes porções na escala para expressar uma mesma percepção (MEILGAARD *et al.*, 1987; STONE & SIDEL, 1985).

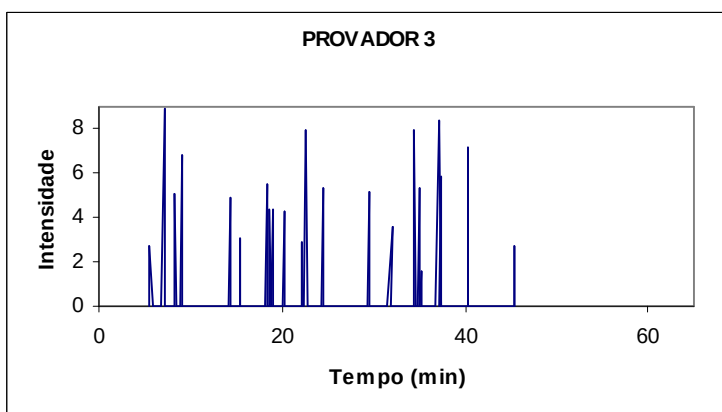
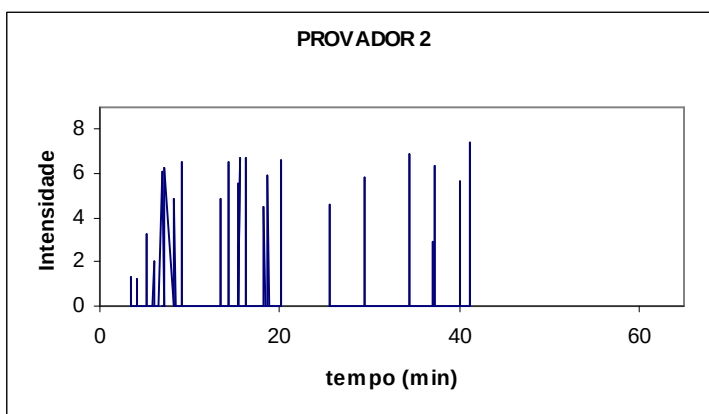
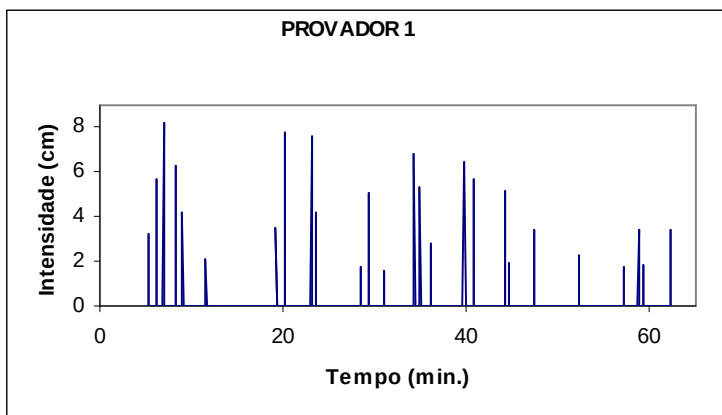


Figura 5.2 A: Aromagramas médios dos provadores 1, 2 e 3.

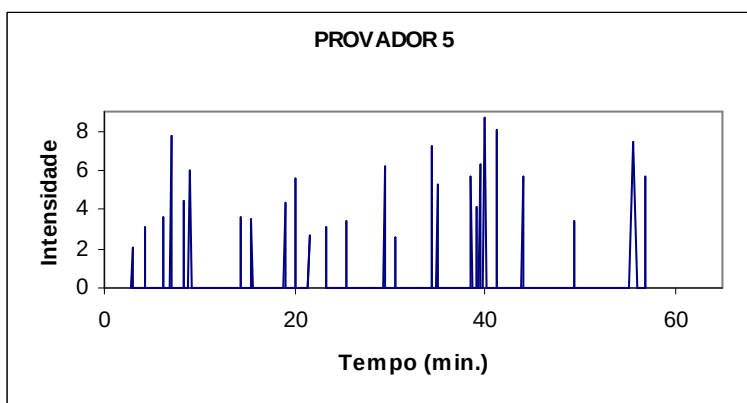
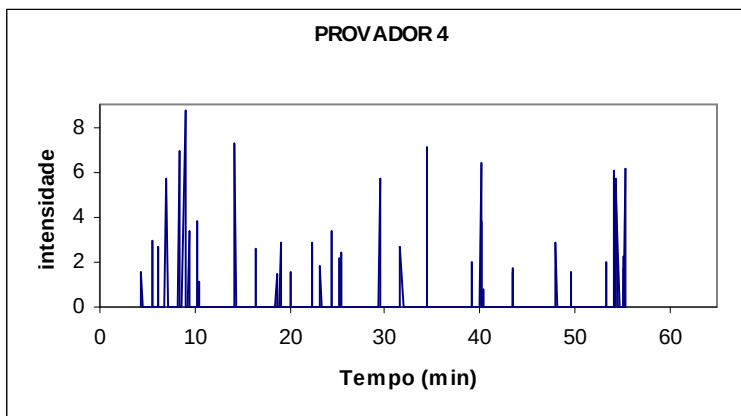


Figura 5.2 B: Aromagramas médios dos provadores 4 e 5.

Os provadores 1, 4 e 5 perceberam alguns voláteis odoríferos no final da corrida (Figuras 5.2 A e 5.2 B) entretanto, esses compostos foram percebidos em diferentes tempos de retenção, ou seja, foram reportados por apenas um julgador, dessa forma, não constam no aromagrama consensual gerado pela equipe de provadores. Os compostos detectados somente por um provador estão indicados pelos seus índices de Kovats, e alguns foram mensurados com intensidade média a moderada pelo julgador. As diferenças de sensibilidade observadas entre os provadores podem ser devido a vários fatores, como idade, sexo ou conhecimento do composto. Por exemplo, têm sido mostradas diferenças em relação à sensibilidade e reconhecimento de odores entre sexos, sendo que essas diferenças são mais pronunciadas para determinados compostos odoríferos (BRAND & MILLOT, 2001).

A Tabela 5.3 mostra que houve uma certa divergência entre os julgadores na ordenação dos compostos em função de seus respectivos impactos odoríferos. Como pode ser observado, o 2-metilbutanoato de metila foi listado como o composto de maior importância odorífera pelos provadores 1 e 3, enquanto o provador 2 considerou o ácido hexanóico com maior intensidade média. Os provadores 3 e 4 consideraram o composto não detectado (c) e o composto não identificado de índice de Kovats 1840, respectivamente, como os de maior potência odorífera. O ácido hexanóico foi listado como um dos dez compostos voláteis de maior importância odorífera, porém o provador 4 não detectou esse composto.

Apesar dessas diferenças, a Tabela 5.3 mostra que o composto 2-metilbutanoato de metila, o ácido 2-metilbutírico e o linalol foram listados como um dos 10 compostos mais importantes por todos os provadores. Já os compostos não detectados c e f, com índices de Kovats de 1216 e 1850, respectivamente e o ácido hexanóico, foram percebidos com intensidade que equivalia de moderada a forte, por pelo menos dois provadores.

A reprodutibilidade de cada julgador pode ser avaliada através dos desvios padrões individuais associados à intensidade máxima dos compostos odoríferos. Esses valores encontraram-se entre 0,5 e 1,5, para a maioria dos picos detectados pelos provadores. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por pesquisadores que utilizaram a técnica Osme. A fração coração do óleo essencial de laranja foi avaliada por 4 provadores e esses apresentaram desvios padrões da média de intensidade máxima entre 0,5 a 1,5 (escala de 9 cm) (GARCIA, 2000). Da SILVA *et al.* (1994), verificaram que os desvios padrões individuais do “conjunto de voláteis” variaram entre 1,45 a 2,07 (escala de dezesseis pontos). Portanto, baseando-se nesses relatos, pode-se considerar que a repetibilidade dos provadores foi comparável à de outros estudos que utilizaram Osme.

A Tabela 5.4 mostra as médias e os desvios padrões dos valores obtidos dos tempos de retenção inicial e final em que cada composto foi detectado, assim como o tempo em que atingiu a intensidade máxima, e a área sob o pico. Os baixos valores dos desvios padrões dos tempos em que o aroma era percebido, mostram que houve excelente repetibilidade da equipe sensorial em relação a esse parâmetro. Porém, houve alta variabilidade em relação à área sob o pico, possivelmente associada à intensidade e tempo de percepção de cada composto volátil.

Tabela 5.4: Médias e desvios padrões de cada pico odorífero com seus respectivos tempos de retenção mínimos, médios e máximos, intensidades máximas e áreas médias gerados pela equipe sensorial do efluente cromatográfico do isolado de jenipapo (*Genipa Americana L.*).

Pico	T inicial ²		T I máx ³		T final ⁴		Intensidade		Área	
	min	dp	min	dp	min	dp	Min	dp	min	dp
a	4,33	0,07	4,35	0,07	4,36	0,07	2,60	0,95	4,54	2,83
1	5,45	0,06	5,48	0,07	5,59	0,24	2,85	0,16	12,89	8,51
2	6,06	0,13	6,14	0,02	6,14	0,02	3,50	1,58	28,05	139,6
3a	6,75	0,12	7,04	0,02	7,08	0,06	6,95	1,23	74,76	95,81
3b	6,90	0,18	7,11	0,07	7,16	0,05	7,73	1,72	74,90	61,70
b	8,28	0,02	8,32	0,02	8,35	0,04	5,51	1,04	22,9	9,48
P	8,80	0,16	9,05	0,02	9,06	0,14	6,45	1,62	51,43	30,21
c	14,51	0,02	14,26	0,02	14,35	0,11	5,57	1,62	32,27	16,35
12	15,32	0,02	15,34	0,01	15,39	0,01	2,96	0,16	9,50	4,87
13a	15,47	0,03	15,50	0	15,53	0,01	5,13	2,28	25,86	16,02
18	18,25	0,03	18,27	0,01	18,31	0,03	4,89	0,50	23,34	2,48
19	18,54	0,02	18,56	0,01	18,78	0,05	3,91	2,23	17,27	17,43
d	18,91	0,22	19,04	0,01	19,11	0,09	3,77	1,02	15,28	11,63
20	20,13	0,03	20,16	0,02	20,16	0,03	5,16	2,41	15,29	9,42
22	22,38	0,03	22,49	0,25	22,61	0,26	5,41	3,58	71,57	93,03
23	23,36	0,12	23,31	0,04	23,39	0,06	3,06	1,17	5,65	3,88
27	24,35	0,03	24,39	0,02	24,43	0,05	4,34	1,36	25,15	20,85
28	25,48	0,03	25,50	0,02	25,51	0,02	3,48	1,08	8,70	5,56
35	29,38	0,01	29,41	0,02	29,47	0,06	5,70	0,43	35,28	20,57
40	31,56	0,03	31,80	0,20	32,04	0,05	3,05	1,70	18,74	25,72
42	34,35	0,04	34,42	0,01	34,43	0,03	7,21	0,44	43,76	29,07
43	34,84	0,05	35,04	0,02	35,04	0,03	5,29	0,06	9,84	5,68
45	36,77	0,06	37,08	0,06	37,21	0,21	5,64	3,86	145,1	193,1
e	39,48	0,13	39,77	0,33	39,52	0,07	6,39	0,07	18,18	9,59
48	40,05	0,03	40,10	0,01	40,15	0,03	7,51	1,58	37,71	34,21
49	40,16	0,03	40,19	0,03	40,21	0,04	4,72	1,32	38,24	19,67
f	40,3	0,04	40,32	0,02	40,33	0,03	3,95	4,49	52,16	72,59
50	41,04	0,03	41,27	0,04	41,19	0,04	6,63	1,31	87,03	29,71

¹ Média das observações feitas por pelo menos 2 julgadores;

² Tempo de retenção inicial = quando o julgador começou a perceber o aroma;

³ Tempo de retenção máximo = tempo correspondente à intensidade máxima do aroma percebido;

⁴ Tempo de retenção final = tempo em que o julgador deixou de sentir o aroma.

5.4 CONCLUSÕES

- Foram detectados 59 compostos voláteis presentes no *headspace* do jenipapo (safras de 2001 e 2002) por cromatografia gasosa de alta resolução. Foram identificados 43 compostos voláteis por cromatografia gasosa-espectrometria de massas, perfazendo aproximadamente 90% de área.
- Entre as safras de 2001 e 2002, apenas os compostos 2-pentanona e 2-metilbutanoato de metila diferiram significativamente. Os compostos 2-metilenobutanoato de metila e ciclooctatetraeno foram os majoritários apenas na primeira safra, na segunda, foram detectados em menores proporções ou ainda em quantidade de traços.
- As amostras foram caracterizadas pelo elevado número de ésteres e álcoois. Foram identificados 14 ésteres, sendo 8 saturados de metila (C4-C8) e etila (C6-C8), 4 insaturados (um tentativamente identificado), além dos ésteres aromáticos salicilato de metila, benzoato de metila e cinamato de metila. Os álcoois de cadeia saturada, de C2 a C8, foram todos detectados, excetuando-se propanol.
- Os compostos majoritários nas duas safras foram octanoato de metila, 2-heptanona, ácido octanóico, ácido 2-metilbutírico e ácido hexanóico.
- Com exceção da 2-heptanona, todos os compostos majoritários nas duas safras, foram também importantes para o aroma da fruta. Entretanto, outros compostos com baixa porcentagem de área, ou que não foram detectados pelo detector de ionização de chama, também apresentaram importância odorífera.
- Vários álcoois foram identificados pela primeira vez em jenipapo, como etanol, 2-metilpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol, hexanol, 2-butoxietanol, heptanol, 2-nonanol e octanol, assim como alguns compostos carbonílicos (2-pentanona, 4-metil-2-pentanona e acetofenona), os ésteres 2-metilbutanoato de metila, 2-metilenobutanoato de metila, (Z)-3-hexenoato de metila, (Z)-3-octenoato de metila, benzoato de metila, (Z)-4-decenoato de metila e salicilato de metila, uma lactona (caprolactona) e um composto da classe do hidrocarboneto (COT).
- Os compostos voláteis importantes para o aroma característico do jenipapo, determinados pela técnica Osme, foram o ácido hexanóico, 2-metilbutírico, a mistura não resolvida de 2- e 3-metilbutanol, além de um composto não identificado com índice de Kovats de 1700, os quais foram responsáveis pelo odor ácido, fermentado e de queijo

e também por notas desagradáveis, como chulé. Os compostos 2-metilbutanoato de metila, linalol, octanoato de metila e um composto não identificado com índice de Kovats 1850, foram responsáveis pelas notas frutal, de perfume e adocicada do jenipapo.

5.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, N.; ETIEVANT, P.; LANGLOIS, D.; LESSCHAEVE, I.; ISSANCHOU, S. Evaluation of the representativeness of the odor of beer extracts prior to analysis CG eluate sniffing. *J. Agric. Food Chem.*, v. 41, p. 777-780, 1993.

ALVES, G. L; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). *Journal of Chromatography A*, v. 985, p. 297-301, 2003.

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. *J. Chromatography A*, v. 873, p. 117-127, 2000.

BAUER, K. Tropical fruit flavors: a Flavorist's perspective. *Cereal Food World*, v. 45, p. 204-207, 2000.

BLANCH, G.P.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; TABERA, J. A comparison of different extraction methods for the volatile components of grape juice. *J. Chromatographic Science*, v. 29, p. 11-15, 1991.

BRAND, G.; MILLOT, J.L. Sex differences in human olfaction: Between evidence and enigma. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, v.54 B(3), p. 259-270, 2001.

BORGES, E.S.; REZENDE, C.M. Main aroma constituents of genipap (*Genipa americana* L.) and bacuri (*Platonia insignis* M.). *J. Essential Oil Research*, v. 12, p. 71-74, 2000.

CAVALCANTE, P.B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: Fraiha Neto, 1976. 146 p.

CARDELLO, H. M. A. B. **Caracterização sensorial de aspartame, ciclamato/sacarina 2:1 e extrato de folhas de estêvia (Stévia rebaudiana Bertoni): equivalências em doçura, análise descritiva quantitativa e análise tempo-intensidade. 1996. 237 p.** Tese (Doutorado)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas Campinas, SP.1996.

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. *Rev. Agroq. Tecn. Alim.*, v. 31, p. 165-178, 1991.

DA SILVA, M.A.A. **Flavor properties and stability of a corn-based snack: aroma profiles by gas chromatography (GC), GC-olfactometry, mass spectrometry, and descriptive sensory analysis. 1992. Thesis (PhD). Oregon State University, Corvallis, O.R.. 1992, 157 p.**

DA SILVA, M.A.A.P; LUNDHAL, D.S.; MCDANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new-GC olfactometry technique. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D. G. (Eds.). **Trends in Flavour Research**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1994. p. 191-209.

DA SILVA, M.A.A.P, SAMPAIO, K.L., BERTOLINI, A.C. CG Olfatometria (CGO): Uma Revisão. In: FRANCO, M.R.B.(Ed.) **Aroma e Sabor de Alimentos. Temas atuais**. São Paulo, Livraria Varela, 2003. p. 29-46.

FARKAS, P.; SADECKA, J.; KOVAC, M.; SIEGMUND, B.; LETNER, E.; PFANNHAUSER, W. Key odourants of pressure-cooked hen meat. **Food Chemistry**, v. 60, p. 617, 1997.

FISCHER, N.; HAMMERSCHIMDT, F.J.; BRUNKE, E.J.A. Contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflora* Spreng). **Fruit Process**, v. 3, p.61-65, 1995.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 34, p. 293-299, 1983.

FRANCO, M.R.B.; GARRUTI, D.S.; DA SILVA, M.A.A.P. Time and solvent optimization for the trapping of the volatile compounds of cashew juice and wine by suction on Porapak Q. **Revista Cubana de Quimica**, v. 10, p. 273-274, 1998.

FRANCO, M.R.B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitala*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1263-1265, 2000.

GARCIA, L. V. **Efeito do óleo essencial de laranja no aroma e sabor do suco concentrado congelado: a contribuição do consumidor. 2000. 158 p.** Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; JANZANTTI, N.S.; ALVES, G.L. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anarcadium occidentale* L.) juice by the Osme gas chromatography/olfactometry technique. **J. Sci. Food Agric.**, v. 83, p. 1455-1462, 2003.

GUICHARD, E.; ISSANCHOU, S. Extraction of volatile compounds from raspberry by different methods. Application of principal component analysis to gas chromatographic data. **Sciences des Aliments**, v. 3, p. 427-438, 1983.

HAYATA, Y.; SAKAMOTO, T.; MANEERAT, C.; LI, X.; KOZUKA, H.; SAKAMOTO, K. Evaluation of aroma compounds contributing to muskmelon flavor in porapack Q by aroma extract dilution analysis. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 3415-3418, 2003.

IDSTEIN, H.; SCHREIER, P. Volatile constituents from guava (*Psidium guajava*, L) fruit. **J. Agric. Food Chem.**, v. 33, p. 138-143, 1985.

JANZANTTI, N.S.; FRANCO, M.R.B.; LANÇAS, F.M. Identificação de compostos voláteis de maçãs (*Malus Domestica*) cultivar fuji, por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, p. 164-171, 2000.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; MARTÍN, B.N. Essential oil compounds of the *Annona muricata* fresh fruit pulp from Cameroon. **J. Agric. Food Chem.**, v.46, p. 3719-3720, 1998.

LE GUEN, S.; PROST, C.; DEMAIMAY, M. Critical comparison of three olfactometric methods for the Identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 1307-1314, 2000.

NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chromatogr.**, v. 21, p. 1, 1969.

LINSSSEN, J.P.H.; JANSSENS, G.M.; ROOZEN, J.P.; POSTHUMUS, M.A. Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. **Food Chemistry**, v. 46, p. 367-371, 1993.

MAARSE, H. Introduction. In: MAARSE, H. (Ed.). **Volatile compounds in food and beverages**. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 1-39.

MACDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.). **Flavors and Off-Flavors**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 23-36.

MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile compounds of sapodilla fruit (*Achras sapota* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v.30, p. 515-517, 1982.

MACIEL, M.I.; HANSEN, T. J.; ALDINGER, S. B.; LABOWS, J. N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **J. Agric. Food Chem.**, v.34, p. 923-927, 1986

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press Inc., 1987. v. 2, 159 p.

MIRANDA-LOPEZ, R., LIBBEY, B. T., WATSON, B. T.; MCDANIEL, M. R. Identification of odor-active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Viticult.**, v. 43, p. 90-92, 1992.

NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chromatogr.**, v. 21, p. 1, 1966.

PINO, J.A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **J. Agric. Food Chem.**, v. 49, p. 5880-5882, 2001.

SANCHES, N.B.; LEDERER, C.L.; NICKERSON, G.B.; LIBBERY, L.M.; MCDANIEL, M.R. Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and unhopped beer. In: Charalambous, G. (Ed.). **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1992. p. 403-26.

SAS. Statistical Analytical System. **SAS Institute Inc**, SAS Campus Drive, Cary,Caroline, USA, Version 6.12, 1996.

SINGLETON, J.A., PATEE, H.E. **Analysis of food and beverages**, New York: Academic Press, 1978. 359 p.

STEVENS, D.S. On the psychophysical law. **The Psychological review**. v. 64, p. 147-153, 1957.

STEVENS, S.S. To honor Fecher and repeal his law. *Science*. v. 133, p. 80-86, 1961,

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. New York: Academic Press, 1985. 227 p.

TEAI, T.; CLAUDE-LAFONTAINE, A.; SCHIPPA, C.; COZZOLINO, F. Volatile compounds in fresh pulp of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) from French Polynesia. **J. Essent. Oil Res.**, v. 13, 314-318, 2001.

UMANO, K.; HAGI, Y.; NAKAHARA, K.; SHOJI, A.; SHIBAMOTO, T. Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 599-603, 1992.

WU, P.; KUO, M.C.; HARTMAN, T.G.; ROSEN, R.T.; HO, C.T. Free and glycosidically bound aroma compounds in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, p. 170-172, 1991.

CONCLUSÕES GERAIS

- As condições de isolamento dos compostos voláteis de jenipapo e murici, utilizando-se a técnica de *headspace* dinâmico por sucção em polímero poroso (Porapak Q), foram padronizadas obtendo-se dessa forma um isolado representativo da amostra. Os isolados foram avaliados por análise instrumental e sensorial. As condições ótimas de isolamento dos compostos voláteis de murici foram de duas horas de captura, utilizando-se acetona para dessorção do polímero poroso (Porapak Q). Esse mesmo solvente também apresentou maior capacidade de eluição dos compostos voláteis de jenipapo, resultado confirmado pela análise sensorial. O tempo de isolamento foi de 3 horas.

Foram detectados por cromatografia gasosa de alta resolução 51 compostos voláteis do *headspace* de murici, considerando as safras de 2001 e 2002. Foram identificados 41 compostos, perfazendo aproximadamente 97 % de área. Os compostos majoritários foram etanol (33,4%), hexanoato de etila (22,0 %), butanoato de etila (17,9%), hexanoato de metila (7,7%), ácido butanóico (3,4%) e ácido hexanóico (3,4%).

- Os compostos voláteis importantes para o aroma de murici: foram o ácido acético, ácido butírico, butanoato de butila, , butanoato de etila e ácido hexanóico. Os compostos responsáveis pelo aroma de queijo e fermentado foram os ácidos acético, butírico, hexanóico e o éster butanoato de metila. Os compostos butanoato de etila, butanoato de butila e contribuíram com notas frutais para o aroma de murici.

- Foram detectados 59 compostos voláteis presentes no *headspace* do jenipapo (safras de 2001 e 2002). Foram identificados 42 compostos voláteis por cromatografia-espectrometria de massas e índices de Kovats, perfazendo aproximadamente 90 % de área. Os compostos majoritários, nas duas safras foram octanoato de metila, 2-heptanona, ácido octanóico, ácido 2-metilbutírico e ácido hexanóico.

- Vários álcoois foram identificados pela primeira vez em jenipapo, tais como etanol, 2-metilpropanol, 2-pentanol, butanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 2-heptanol,

hexanol, 2-butoxietanol, heptanol, 2-nonanol e octanol, assim como alguns compostos carbonílicos (2-pentanona, 4-metil-2-pentanona, acetofenona), os ésteres 2-metilbutanoato de metila, 2-metilenobutanoato de metila, (Z)-3-hexenoato de metila, (Z)-3-octenoato de metila, benzoato de metila, (Z)-4-decenoato de metila e salicilato de metila, além de uma lactona (caprolactona) e um composto da classe dos hidrocarbonetos 1,3,5,7-ciclooctatreno (COT).

- Os compostos voláteis importantes para o aroma característico do jenipapo, determinados pela técnica de Osme, foram os ácidos hexanóico e 2-metilbutírico, uma mistura não resolvida de 2- e 3-metilbutanol, além de um composto não identificado (com índice de Kovats de 1700), os quais foram responsáveis pelo odor ácido, fermentado e de queijo e também por notas desagradáveis, como chulé. Os compostos 2-metilbutanoato de metila, linalol, octanoato de metila e um composto não identificado (IK 1500) foram responsáveis pelas notas “frutal”, e adocicada do jenipapo.

Anexo 1: Área dos picos dos compostos voláteis do *headspace* de murici capturados, durante duas horas, em polímero poroso Porapak Q e eluídos com acetona e hexano.

Pico	Área (Acetona)	Área (Hexano)
1	852.098	-
2	15.189	97.403
3	1.985.525	-
4	49.148	-
5	1.050.810	875.386
6	41.777	62.775
7	33.214	48.770
8	16.692	-
9	73.602	-
10	98.517	7.719
11	202.875	338.874
12	11.290	25.551
13	24.939	30.602
14	1.075.168	1.326.908
15	169.753	13.086
16	15.848	-
17	65.787	-
18	13.943	21.492
19	37.580	-
20	306.792	50.398
21	41.782	-
22	20.177	-
23	25.776	-
24	218.648	149.419
25	11.989	-
26	17.449	-
27	22.976	-
28	140.708	-

Anexo 2: Área dos picos dos compostos voláteis do *headspace* de murici capturados em polímero poroso (Porapak Q), por diferentes períodos de tempo e eluídos com acetona.

Pico	Área 1 hora	Área 2 horas	Área 4 horas
1	70.3613	411.671	2.743.807
2	-	22.645	49.296
3	31.112	161.920	284.219
4	-	-	115.292
5	217.492	873.885	1.234.227
6	40.798	19.163	108.221
7	-	82.653	170.540
8	-	24.097	20.482
9	-	-	13.670
10	79.471	202.238	53.215
11	-	153.793	34.633
12	-	166.152	474.565
13	47.259	15.491	248.296
14	-	-	17.059
15	261.727	1.342.191	1.506.679
16	16.421	49.902	65.710
17	-	11.069	15.386
18	93.185	121.741	77.964
19	-	8.607	8.374
20	-	13.590	11.246
21	23.663	35.085	69.494
22	71.792	167.919	236.843
23	-	26.270	18.027
24	-	12.748	10.115
25	115.895	218.697	321.570
26	5.753	11.318	20.785
27	-	14.767	-

Anexo 3: Área dos picos dos compostos voláteis do *headspace* de jenipapo capturados em polímero poroso (Porapak Q), em diferentes períodos de tempo e eluídos com acetona.

Pico	Área (1 hora)	Área (2 horas)	Área (4 horas)
1	14.932	15.326	43.483
2	24.570	64.609	336.587
3	141.087	69.475	1.209.342
4	-	288.172	30.491
5	-	30.085	33.979
6	22.214	48.935	130.125
7	53.187	95.846	310.962
8	60034	102.264	289.287
9	-	-	66.639
10	31.476	46.230	92.895
11	-	-	15.410
12	-	-	26.830
13	-	-	7.026
14	69.860	57.333	63.720
15	318.096	427.450	826.091
16	-	-	19.978
17	-	-	9.981
18	-	-	26.782
19	-	13.223	20.632
20	-	16.487	26.194
21	8.313	15.053	34.063
22	-	18.528	9.795
23	-	17.489	27.952
24	-	-	27.170
25	-	-	11.478
26	41.657	450.960	586.042
27	-	10.074	20.407
28	18.670	13.699	11.384
29	-	15.135	21.326
30	-	175.732	190.613
31	75.260	313.464	368.333
32	-	-	10.583
33	19.473	11.564	-
34	18.858	10.672	15.830

Anexo 4: Fragmentos de íons dos compostos voláteis de murici por CG-EM e índices de Kovats da literatura.

Pico	Composto	IK Lit.	M/Z (Intensidade relativa) ¹
1	Acetato de etila ^{TI}	875	43 (100) 45 (16) 42 (10) 41 (8) 61 (7) 57 (7) 70 (5) 44 (4)
2	Etanol	929	45 (100) 46 (38) 43 (25) 42 (10) 41 (4) 58 (2) 47 (1) 55 (1)
3	2-pentanona ^a	992	43 (100) 41 (20) 74 (14) 71 (13) 39 (11) 59 (6) 86 (5) 87 (3)
4	Butanoato de metila	987	43 (100) 74 (42) 41 (34) 71 (30) 42 (18) 39 (18) 59 (16) 87 (8)
5	2-butanol	1003	45 (100) 41 (23) 59 (14) 44 (12) 43 (10) 57 (7) 42 (7) 55 (7)
6	Butanoato de etila ^a	1028	43 (100) 71 (58) 41 (39) 88 (26) 45 (25) 39 (19) 60 (17) 73 (13)
7	Acetato de butila	1070	43 (100) 56 (39) 60 (27) 70 (24) 73 (23) 41 (17) 44 (15) 38 (13)
8	Hexanal ^a	1108	44 (100) 41 (84) 43 (58) 56 (57) 57 (37) 39 (35) 45 (19) 55 (12)
9	2- metilpropanol	1099	43 (100) 41 (83) 42 (72) 39 (26) 44 (11) 74 (8) 55 (6) 38 (5)
10	Acetato de isoamila ^a	1110	43 (100) 55(30) 70 (25) 41 (18) 71 (14) 42 (14) 61 (8) 69 (6)
11	2- pentanol	1118	45 (100) 43 (27) 44 (15) 55 (13) 41 (11) 39 (9) 42 (6) 70 (2)
12	1-butanol ^a	1148	41 (100) 56 (88) 43 (72) 42 (44) 39 (27) 55 (18) 44 (10) 40 (8)
13	Hexanoato de metila	1183	43 (100) 74 (86) 41 (34) 59 (25) 42 (22) 39 (21) 87 (21) 55 (19)
14	2-heptanona	1192	43 (100) 58 (45) 41 (12) 39 (10) 71 (10) 59 (8) 42 (10) 104 (5)
15	3-metilbutanol ^a	1205	41 (100) 42 (89) 55 (86) 43 (72) 39 (47) 57 (24) 45 (23)
16	Butanoato de butila	1215	71 (100) 43 (94) 41 (76) 56 (71) 89 (48) 39 (28) 42 (21) 57 (19)
17	Hexanoato de etila ^a	1229	43 (100) 88 (60) 41 (51) 42 (42) 60 (40) 70 (29) 55 (27) 45 (26)
18	Isobutirato de isopentila ^{TI}	-	43 (100) 71 (68) 70 (65) 41 (42) 55 (40) 39 (20) 89 (11) 69 (7)
19	1-pentanol ^a	1255	42 (100) 41 (62) 44 (48) 70 (36) 81 (34) 43 (30) 55 (24) 38 (22)
20	3-hidroxi-2-butanona ^a	1293	45 (100) 43 (77) 42 (10) 44 (10) 88 (7) 46 (3) 73 (2) 41 (2)
21	Hexanoato de propila	1298	43 (100) 41 (61) 99 (58) 117 (46) 61 (44) 39 (35) 73 (34) 60 (31)
22	2-heptanol ^a	1294	45 (100) 43 (25) 44 (23) 41 (18) 55 (16) 39 (8) 42 (8)
23	Lactato de etila	1325	45 (100) 43 (10) 75 (4) 44 (4) 46 (3) 42 (2) 47 (2) 55 (1)
24	1-hexanol ^a	1360	56 (100) 43 (78) 41 (65) 42 (52) 55 (50) 39 (25) 69 (25) 57 (10)
25	Octanoato de metila	1381	74 (100) 43 (65) 41 (41) 87 (30) 55 (26) 57 (23) 59 (21) 39 (18)
26	(Z)-3-hexen-1-ol	1391	41 (100) 67 (46) 39 (29) 82 (27) 71 (23) 55 (22) 53 (15) 56 (11)

Continua ...

Anexo 4 continuação

27	Hexanoato de butila	1405	56 (100) 43 (76) 41 (73) 99 (37) 117 (31) 60 (28) 55 (23) 39 (23)
28	Butanoato de hexila	1410	43 (100) 41 (53) 56 (45) 71 (45) 89 (28) 55 (21) 42 (19) 69 (16)
29	Octanoato de etila ^a	1423	88 (100) 41 (66) 43 (54) 57 (52) 60 (42) 55 (37) 70 (34) 61 (31)
30	Ácido acético	1450	43 (100) 45 (92) 60 (44) 42 (25) 41 (9) 57 (5) 46 (4,0) 39 (2,0))
31	NI ^b	-	46 (100) 45 (88) 44 (49) 43 (10) 60(5) 47 (1) 48 (1) 42 (1)
32	Benzaldeído ^a	1521	77 (100) 106 (90) 105 (83) 51 (72) 50 (44) 78 (23) 38 (18) 39 (17)
33	3-(metiltio)-propanoato de etila	1572	74 (100) 61 (88) 75 (47) 47 (36) 45 (32) 148 (28) 41 (27) 55 (25)
34	ácido 2-metilpropanóico	1582	43 (100) 41 (53) 39 (23) 73 (22) 45 (19) 42 (15) 57 (9) 37 (7)
35	Propilenoglicol	1561	45 (100) 43 (26) 44 (9) 47 (9) 57 (8) 39 (6) 41 (6) 42 (4)
36	Hexanoato de hexila	1606	43 (100) 56 (53) 41 (48) 117 (37) 42 (34) 99 (31) 55 (29) 84 (26)
37	Ácido butírico	1634	60 (100) 42 (36) 41 (34) 45 (25) 43 (25) 39 (24) 73 (23) 55 (11)
38	Acetofenona	1685	77 (100) 105 (96) 51 (60) 43 (30) 120 (24) 50 (23) 78 (12) 106 (9)
39	ácido 3-metilbutírico	1689	60 (100) 41 (53) 43 (37) 45 (34) 74 (20) 87 (17) 42 (16) 39 (16)
40	2,4-dimetilbenzaldeído ^a		134 (100) 133 (73) 105 (78) 91 (65) 119 (65) 51 (56) 77 (55) 39 (46)
41	3-mercaptopropanol (metionol)	1723	61 (100) 57 (93) 58 (85) 47 (81) 106 (68) 45(65) 49 (60) 41 (58)
42	4-etilbenzaldeído ^a	1732	134 (100) 133 (76) 105 (74) 91 (67) 119 (63) 51 (54) 77 (53) 39 (49)
43	3,4-dimetilacetofenona	-	133 (100) 43 (54) 105 (38) 77 (32) 79 (29) 51 (27) 148 (25) 103 (21)
44	Ácido hexanóico ^a	1850	60 (100) 41 (42) 73 (34) 43 (28) 39 (24) 45 (24) 42 (23) 55 (18)
45	NI	-	133 (100) 43 (44) 77 (32) 79 (31) 105 (28) 51 (22) 148 (20) 39 (19)
46	2-feniletanol ^{II}	1859/ 1887	91 (100) 92 (55) 65 (27) 39 (25) 122 (20) 51 (13) 77 (9) 63 (8)
47	Ácido octanóico ^a	1965/ 1924	60 (100) 43 (60) 41 (55) 73 (51) 55 (32) 39 (24) 42 (21) 45 (21)
48	NI	-	
49	3-etilfenol (2) ^{II}	2150/2028	107 (100) 122 (28) 77 (25) 39 (19) 51 (9) 65 (7) 108 (7) 63 (6)
50	NI	-	103 (100) 122 (33) 77 930) 39 (23) 51 (19) 65 (16) 53 (15) 63 (14)
51	Ácido decanóico	2125	60 (100) 41 (81) 43 (76) 73 (64) 55 (52) 57 (44) 45 (37) 42 (22)

^IM/Z = massa/ carga: ^a; compostos confirmados com padrões; ^{II}: compostos tentativamente identificados; NI: compostos não identificados

Anexo 5: Porcentagem de área relativa média dos compostos dos lotes de jenipapo das safras de 2001 e 2002

Pico	Safr 2001						Safr 2002					
	Lote		Lote 2		Lote 3		Lote 1		Lote 2		Lote 3	
	% área	C.V.	% área	C.V.	% área	C.V.	% área	C.V.	% área	C.V.	% área	C.V.
2	5,98 ^a	8,67	5,86 ^a	18,46	4,59 ^a	7,18	2,05 ^a	17,92	1,65 ^a	18,84	1,59 ^a	18,82
3	2,89 ^a	0,06	3,00 ^a	37,88	2,21 ^a	12,68	13,66 ^a	2,07	8,36 ^a	14,04	15,72 ^a	13,53
4	2,67	0,85	tr-3,02	-	2,39	30,95	nd-0,32	-	1,63	46,73	nd	-
5	nd	-	nd-0,58	-	tr-0,81	-	nd-0,43	-	tr-0,24	-	nd	-
6	1,16 ^a	32,83	0,89 ^a	63,19	0,37 ^a	33,17	nd	-	Nd	-	nd	-
7	nd	-	nd-2,4	-	nd	-	nd	-	Nd	-	nd	-
8	1,85	10,91	0,62	15,68	nd	-	nd	-	Nd	-	nd	-
9	nd	-	nd-0,38	-	nd	-	nd-0,51	-	0,73	10,29	tr-0,41	-
10	5,58 ^b	4,81	17,74 ^a	12,91	6,23 ^b	5,95	17,34 ^a	10,47	10,61	7,26 ^{ab}	6,82 ^b	21,77
11	5,10 ^a	5,97	4,58 ^a	25,58	6,20 ^a	2,23	nd	-	3,69	6,91	6,09	9,13
12	2,92 ^a	5,80	1,71 ^a	70,65	2,09 ^a	21,71	0,227	34,5	nd-0,23	-	0	-
13a	2,48 ^a	32,44	2,28 ^a	44,27	3,62 ^a	35,6	nd	-	nd	-	nd	-
13b	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	0,55	8,17	nd-0,38	-
14	nd	-	tr	-	nd	-	nd	-	tr	-	nd	-
15	5,01 ^b	0,69	13,28 ^a	7,83	6,52 ^b	30,41	0,665	2,87	nd	-	nd-0,21	-
16	nd	-	tr-0,52	-	nd-1,64	-	nd	-	nd	-	nd	-
17	Tr-0,44	-	0,29	27,32	tr-0,71	-	0,805	2,71	0,610	8,68	0,36	31,4
18	nd	-	nd-0,20	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
19	nd	-	tr	-	tr	-	nd	-	nd	-	nd	-
20	0,97 ^a	19,54	1,03 ^a	33,4	1,37 ^a	21,37	0,82 ^a	36,83	0,99 ^a	5,10	0,60 ^a	4,11
21	tr	-	tr	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
22	28,75 ^a	29,9	20,01 ^a	13,84	25,14 ^a	39,00	45,26 ^a	9,34	34,21 ^a	3,66	22,75 ^a	35,58
23	nd	-	nd-0,11	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
24	nd	-	nd-4,39	-	tr-0,36	-	nd	-	nd	-	nd	-
25	tr	-	nd	-	tr-0,36	-	tr-0,36	-	0,43	13,38	tr	-
26	0,74 ^a	18,7	0,50 ^a	13,70	0,82 ^a	30,9	tr-0,36	-	0,20	2,81	0,22	5,45
27	0,66 ^a	38,7	0,54 ^a	42,26	0,941 ^a	44,3	0,73 ^a	2,42	0,87 ^a	24,0	0,57 ^a	43,4
28	1,32	31,6	0,33	20,4	nd-0,39	-	0,47 ^a	2,41	0,44 ^a	13,2	0,15 ^a	43,2

Continua ...

Anexo 5 continuação

29	tr	-	0,70	12,08	1,06	60,45	0,43 ^a	1,64	0,33 ^a	10,45	0,24 ^a	13,66
30	nd	-	nd	-	nd	-	tr	-	tr	-	nd	-
31	nd	-	tr-0,17	-	0,84	56,6	0,43	2,64	0,33	19,4	0,24	30,4
32	nd	-	nd	-	nd	-	0,24	59,4	0,37	37,6	0,34	12,8
33	nd	-	nd	-	tr-0,44	-	0,77 ^a	1,64	0,91 ^a	2,85	0,77 ^a	38,4
34	0,98	0,14	0,59	29,71	tr	-	1,85 ^b	0,349	2,10 ^b	9,75	4,98 ^c	10,08
35	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	0,39	31,3	0,26	5,12
36	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr-0,26	-	tr	-
37	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
38	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
39	tr	-	tr	-	tr	-	0,18	6,51	0,26	0,54	nd	-
40	1,02 ^a	0,36	1,14 ^a	47,84	0,97 ^a	0,36	0,48 ^a	17,04	0,42 ^a	11,75	0,34 ^a	31,96
41	tr	-	tr-0,19	-	nd	-	0,24	16,6	nd-0,21	-	nd	-
42	6,20 ^a	34,2	2,55 ^a	47,95	6,71 ^a	51,72	2,99 ^a	49,87	7,36 ^a	35,96	13,36 ^a	51,42
43	1,23 ^a	6,33	0,98 ^a	43,07	1,11 ^a	25,60	0,88 ^a	13,09	1,00 ^a	5,88	0,48 ^a	24,9
44	Tr-1,60	-	tr-0,95	-	1,11	53,62	nd-0,39	-	nd-0,55	-	0,56	0,62
45	Tr-0,72	-	tr-0,46	-	tr-0,62	-	nd	-	nd-0,35	-	0,27	39,92
46	Tr-0,74	-	nd	-	tr	-	tr	-	nd	-	tr	-
47	0,80 ^a	9,94	0,41 ^b	11,71	0,74 ^a	8,02	nd	-	nd	-	1,42	4,91
48	Tr-0,76	-	0,40	8,28	tr-0,79	-	nd	-	nd	-	nd	-
49	Nd-0,86	-	tr-0,59	-	tr-0,79	-	nd	-	nd-0,35	-	nd-0,41	-
50	6,62 ^a	23,40	3,04 ^a	31,10	7,22 ^a	44,83	2,37 ^a	32,18	7,19 ^a	34,79	7,49 ^a	50,12
51	Nd-0,50	-	nd-0,27	-	tr-0,036	-	nd	-	nd	-	nd	-
52	tr	-	tr	-	tr	-	nd-0,27	-	nd	-	tr	-
53	tr	-	tr	-	tr	-	nd	-	nd	-	tr	-
54	12,26 ^a	8,54	10,22 ^b	15,95	11,50 ^{ab}	9,27	5,56	3,72	12,4	7,22	11,8	25,3
55	tr	-	nd	-	tr	-	tr	nd-0,39	0,38	0,52	0,37	3,80
56	Nd-0,07	-	tr-0,456	-	nd-1,22	-	nd	-	nd-0,35	-	nd	-
57	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-	nd	-	tr	-
58	tr	-	nd	-	tr	-	nd	-	nd	-	tr	-
59	Nd-0,78	-	0,33	12,58	nd-0,45	-	nd	-	nd	-	nd-0,19	-

% áreas indicadas com letras diferentes diferiram significativamente (p<0,05) nas duas safras.

Anexo 6: Fragmentos de íons dos compostos voláteis de jenipapo por CG-EM e os índices de Kovats da literatura.

Pico	Composto	IK DIC	M/Z (Intensidade relativa)
1	Etanol	929	45 (100) 46 (42) 44 (19) 43 (13) 42 (12) 58 (3) 57 (3) acima 40
2	2-pentanona	992	43 (100) 44 (19) 41 (17) 39 (10) 58 (9) 42 (8) 45 (7,0) 86 (4,5)
3	2-metilbutanoato de metila	1000	57 (100) 41 (86) 88 (51) 39 (29) 56 (25) 59 (25) 55 (14) 8 (12)
3b	Clororofórmio	1010	83 (100) 47 (51) 84 (32) 35 (29) 48 (26) 49 (15) 72 (6) 36 (4)
4	4-metil-2-pentanona	1030	43 (100) 41 (30) 58 (33) 44 (30) 39 (18) 57 (10) 56 (13) 42 (8)
5	2-metilpropanol	1054	43 (100) 41 (91) 42 (166) 39 (33) 44 (8) 38 (165) 45 (5,0) 55 (3,59)
6	2-pentanol	1118	45 (100) 44 (25) 43 (25) 41 (13) 55 (10) 39 (9) 42 (3) 46 (30)
7	Butanol	1178	41 (100) 56 (87) 43 (66) 42 (38) 39 (23) 44 (16) 55 (16) (57) 8.0
8	NI	-	43 (100) 55 (59) 41 (52) 81 (36) 71 (36) 69 (26) 84 (24) 111 (22)
9	Hexanoato de metila	1183	43 (100) 41 (54) 88 (52) 42 (44) 60 (37) 55 (29) 70 (26) 45 (25)
10	2-heptanona	1192	43 (100) 58 (43) 41 (16) 39 (11) 74 (10) 39 (9,6) 42 (9,5) 71 (7,3)
11	2-metilenobutanoato de metila ^{TI}	-	55 (100) 39 (38) 83 (31) 53 (19) 114 (17) 54 (17) 59 (14) 43 (11)
12	NI	-	41 (100) 39 (63) 56 (54) 68 (36) 67 (28) 40 (26) 55 (21) 53 (21)
13	2-metilbutanol + 3-metil butanol	1213	41 (100) 57 (52) 56 (50) 55 (42) 42 (39) 43 (30) 39 (30) 70 (25)
13 ^a	3-metilbutanol	1213	41 (100) 56 (61) 57 (59) 55 (28) 39 (27) 42 (6) 70 (22) 43 (18)
14	Hexanoato de etila	1245	43 (100) 41 (54) 88 (52) 42 (44) 60 (37) 55 (29) 70 (26) 45 (25)
15	Ciclooctatetraeno (COT) ^a	1253	104 (100) 51(79) 78 (75) 103 (47) 50 (38) 77 (35) 39 (32) 52 (24)
16	(Z)-3-hexenoato de metila	1251	41 (100) 39 (43) 68 (40) 74 (36) 59 (32) 43 (27) 69 (24) 55 (18)
17	1-pentanol	1272	42 (100) 41 (71) 35 (56) 70 (24) 39 (23) 43 (19) 57 (14) 56 (12)
18	Heptanoato de metila	1297	43 (100) 74 (93) 41 (43) 55 (24) 59 (24) 87 (22) 39 (20) 42 (18)
19	3-hidroxi-2-butanona	1293	43 (100) 42 (9) 45 (5) 41 (5) 74 (4) 44 (3) 37 (3) 83 (2)
20	2-heptanol	1294	45 (100) 43 (18) 41 (16) 55 (15) 44 (10) 39 (8) 42 (5) 56 (5)
21	Hexanol	1360	56 (100) 43 (72) 41 (67) 42 (56) 55 (53) 39 (23) 69 (21) 57 (9)
22	Octanoato de metila	1381	74 (100) 43 (69) 41 (52) 55 (35) 87 (28) 57 (25) 59 (22) 39 (22)
23	NI	-	41 (100) 67 (47) 39 (37) 55 (29) 42 (24) 82 (16) 43 (11) 57 (11)
24	NI	-	59 (100) 55 (62) 41 (45) 43 (28) 83 (26) 53 (13) 39 (13) 44 (11)

Continua ...

Anexo 6 continuação

25	2-butoxietanol	1440	57 (100) 41 (59) 45 (56) 39 (12) 56 (12) 87 (10) 43 (9) 44 (7)
26	(Z)-4-octenoato de metila	-	74 (100) 41 (74) 55 (69) 43 (64) 67 (52) 39 (49) 82 (43) 59 (27)
27	Octanoato de etila	1443	88 (100) 41 (83) 43 (66) 57 (65) 55 (54) 60 (51) 61 (39) 42 (36)
28	Ácido acético	1450	43 (100) 45 (92) 60 (46) 42 (25) 41 (8) 44 (7) 57 (2) 40 (2)
29	Heptanol	1475	41 (100) 43 (83) 56 (82) 55 (67) 42 (61) 70 (60) 69 (32) 39 (28)
30	3-octenoato de metila ^{TI}	-	55 (100) 41 (91) 59 (57) 74 (54) 39 (54) 43 (43) 54 (36) 82 (35)
31	NI	-	57 (100) 55 (86) 74 (52) 43 (50) 39 (44) 83 (43) 41 (41) 53 (21)
32	NI	-	46 (100) 45 (83) 44 (39) 43 (5) 47 (2) 60(2) 42 (1) 36 (1)
33	Benzaldeído	1501	77 (100) 51 (74) 106 (62) 105 (60) 50 (46) 39 (26) 52 (21) 78 (16)
34	2-nonanol	1484	45 (100) 41 (19) 43 (19) 55 (12) 69 (11) 44 (9) 56 (7) 57 (7)
35	Linalol	1537	41 (100) 43 (91) 71 (68) 55 (62) 39 (37) 93 (37) 69 (30) 80 (19)
36	Octanol	1553	41 (100) 56 (82) 55 (73) 43 (72) 42 (60) 69 (36) 70 (34) 57 (30)
37	Ácido 2-metilpropanóico	1582	43 (100) 41 (54) 39 (20) 73 (19) 45 (17) 42 (14) 44 (11) 55 (5) 38 (5)
38	Decanoato de metila	1581	74 (100) 43 (53) 41 (40) 87 (37) 55 (27) 59 (15) 39 (14) 42 (11)
39	Benzoato de metila	1626	105 (100) 77 (94) 51 (66) 50 (32) 136 (26) 39 (12) 44 (9) 38 (8)
40	(Z)-4- decenoato de metila	-	41 (100) 74 (72) 55 (68) 43 (56) 39 (43) 54 (43) 69 (36) 67 (35)
41	Acetofenona	1627	77 (100) 105 (78) 51 (60) 50 (28) 43 (28) 120 (22) 39 (14) 78 (10)
42	Ácido 2-metilbutírico	1668	41 (100) 74 (87) 57 (63) 39 (36) 45 (23) 56 (19) 87 (17) 73 (16)
43	NI	-	79 (100) 41 (79) 39 (53) 67 (53) 55 (35) 108 (26) 93 (25) 53 (22)
44	γ-Caprolactona	1745	85 (100) 42 (38) 57 (36) 56 (32) 55 (22) 39 (20) 41 (18) 70 (14)
45	4-etilbenzaldeído	1733	41 (100) 67 (87) 45 (84) 43 (83) 55 (65) 54 (50) 39 (46) 68 (46)
46	(E)-2-decenol	1792	41 (100) 67 (87) 45 (84) 43 (83) 55 (65) 54 (60) 39 (46) 68 (46)
47	Salicilato de metila	1754/ 1791	120 (100) 92 (82) 39 (77) 65 (42) 152 (30) 64 (29) 63 (28) 121 (25)
48	NI	-	91 (100) 39 (59) 65 (49) 120 (43) 51 (29) 63 (24) 50 (19) 38 (17)
49	3,4- dimetilacetofenona ^{TI}	-	133 (100) 43 (51) 79 (35) 77 (34) 105 (34) 51 (29) 39 (24) 148 (21)
50	Ácido hexanóico	1761/ 1719	60 (100) 41 (44) 55 (35) 39 (33) 73 (30) 43 (27) 45 (23) 42 (21)
51	NI	-	133 (100) 43 (48) 77 (31) 105 (30) 79 (30) 51 (26) 39 (23) 148 (19)
52	Alcool benzílico ^{TI}	1822/ 1855	79 (100) 77 (63) 108 (53) 51 (51) 107 (37) 50 (32) 39 (28) 53 (16)
Continua ...			
Anexo 6 continuação			
53	Delta-octalactona ^{TI}	1929	42 (100) 43 (59) 55 (55) 41 (55) 99 (48) 71 (44) 39 (32) 70 (28)

54	Ácido octanóico	1965/ 1924	60 (100) 41 (45) 43 (43) 73 (35) 55 (27) 39 (24) 45 (20) 42 (17)
55	Cinamato de metila	2051	131 (100) 103 (91) 51 (88) 77 (77) 50 (35) 162 (35) 102 (24) 52 (20)
56	NI	-	133 (100) 43 (51) 79 (35) 77 (34) 105 (34) 51 (29) 39 (24) 148 (21)
57	3-etilfenol ^{TI}	2150/ 2028	107 (100) 77 (38) 122 (37) 39 (34) 51 (14) 53 (10) 65 (9) 94 (9)
58	Ácido decanóico	2125	74 (100) 43 (53) 41 (40) 87 (37) 55 (27) 59 (15) 39 (14) 42 (11)
59	NI	-	133 (100) 43 (91) 51 (72) 105 (56) 77 (55) 50 (45) 148 (19) 76 (18)

¹M/Z = massa/ carga: ^a; compostos confirmados com padrões; ^{TI}: compostos tentativamente identificados; NI: compostos não identificados.