

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

COMPOSTOS VOLÁTEIS DE SUCOS PROVENIENTES
DA FRUTA E DA POLPA CONGELADAS DE UMBU
(*Spondias tuberosa*, Anacardinaceae)

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Marcelo Thomazini aprovada pela Comissão Julgadora em 07 de agosto de 1998.

Campinas, 07 de agosto de 1998.

MARCELO THOMAZINI

QUÍMICO


Prof.ª Dra. MARIA R.B. FRANCO
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, sob orientação da professora doutora Maria Regina Bueno Franco, para a obtenção do título de mestre em Ciências de Alimentos.



1998

BANCA EXAMINADORA



DRA. MARIA REGINA BUENO FRANCO

ORIENTADOR

DRA. MARIA APARECIDA A. P. DA SILVA

MEMBRO



DRA. MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

MEMBRO



DRA. DÉLIA RODRIGUEZ-AMAYA

MEMBRO

*À JOSÉ FRANCISCO, MARIA LUIZA,
MÁRCIA E LUCIANA.*

"Quando um homem começa a pensar que finalmente achou um método, seria melhor que iniciasse um minucioso exame de si próprio, para verificar se alguma parte de seu cérebro não está adormecida."

Henry Ford

AGRADECIMENTOS

É oportuno declarar os mais sinceros agradecimentos às pessoas que contribuíram para o mérito do trabalho de tese, em especial, à professora doutora Maria Regina Bueno Franco, pela orientação ilustre. Igualmente agradeço à professora doutora Maria Aparecida da Silva, pela cooperação nos experimentos sensoriais. Pela obtenção dos primeiros espectros de massas, devo agradecer à doutora Márcia Ortiz Mayo Marques, pesquisadora do Instituto Agronômico de Campinas. Meus reconhecimentos à professora Márcia Ferreira, do Instituto de Química, pela disposição e colaboração na análise estatística dos dados. Da mesma forma, cumprimento à poeta Lúcia Cavalcanti, pelo intermédio constante na obtenção das amostras de umbu, à bibliotecária Creusa Kasumi Nomura pela padronização das referências bibliográficas, à secretaria de pós-graduação e a todos os alunos e professores do Departamento de Ciência de Alimentos da FEA, pela cordialidade e respeito mútuo. Gostaria de agradecer também, os ensinamentos sempre atuais da professora Délia, os professores da banca examinadora, pelas sugestões e correções na elaboração da tese, e ainda, o indispensável auxílio financeiro concedidos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pelo Programa de Apoio aos Núcleos de Excelência (Pronex). Agradecimentos efusivos também não poderiam faltar à equipe de "narizinhos" (Danielle, Fabiana, Gisele, Kity, Lia e Rose) e aos provadores da análise sensorial, pela amizade, interesse e disponibilidade.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	I
ÍNDICE DE FIGURAS	II
RESUMO	IV
SUMMARY	VI
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA	4
3.1 METODOLOGIA DA PESQUISA DO SABOR	4
3.1.1 ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	4
3.1.2 SEPARAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	8
3.1.3 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	12
3.1.4 ANÁLISE SENSORIAL	16
3.1.4.1 CROMATOGRAFIA GASOSA - OLFATOMETRIA	16
3.1.4.2 ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA	19
3.2 COMPOSTOS VOLÁTEIS DE FRUTAS DO NORTE E NORDESTE DO BRASIL	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 MATÉRIA-PRIMA E PREPARO DA AMOSTRA	23
4.2 AMOSTRAGEM	23
4.3 PADRONIZAÇÃO DO ISOLAMENTO DO COMPOSTOS VOLÁTEIS	23
4.3.1 ANÁLISE INSTRUMENTAL	24
4.3.2 ANÁLISE SENSORIAL	25
4.3.2.1 SELEÇÃO DE PROVADORES	25
4.3.2.2 PADRONIZAÇÃO DO TEMPO DE CAPTURA	26
4.4 SEPARAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO	26
4.5 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	26

4.6 ANÁLISE SENSORIAL	27
4.6.1 AVALIAÇÃO SENSORIAL DE EFLUENTES CROMATOGRÁFICOS: "SNIFFING" ...	27
4.6.2 ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA	27
4.6.2.1 SELEÇÃO DOS PROVADORES	27
4.6.2.2 LEVANTAMENTO DE DESCRITORES SENSORIAIS	28
4.6.2.3 SELEÇÃO DE PROVADORES	29
4.6.2.4 PERFIL SENSORIAL DAS AMOSTRAS	29
4.6.3 TESTES DE ACEITAÇÃO	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 PADRONIZAÇÃO DO ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO	32
5.1.1 ESCOLHA DO SOLVENTE DE ELUIÇÃO	32
5.1.2 ESCOLHA DO TEMPO DE CAPTURA	34
5.2 PADRONIZAÇÃO DO ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS POR ANÁLISE SENSORIAL	37
5.2.1 SELEÇÃO DE PROVADORES	37
5.2.2 ANÁLISE SENSORIAL DOS ISOLADOS OBTIDOS EM DIFERENTES TEMPOS DE CAPTURA	38
5.3 PORCENTAGENS RELATIVAS DOS PICOS REPRESENTATIVOS DOS DIFERENTES SUCOS DE UMBU	40
5.3.1 SUCO DA FRUTA FRESCA	40
5.3.2 SUCO DA FRUTA CONGELADA	43
5.3.3 SUCO DA POLPA CONGELADA	46
5.3.4 COMPARAÇÃO DAS PORCENTAGENS RELATIVAS ENTRE OS SUCOS DA FRUTA CONGELADA E DA POLPA CONGELADA	48
5.4 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	51
5.5 PORCENTAGENS RELATIVAS DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS	55
5.6 ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA	57

5.6.1 TERMINOLOGIA DESCRITIVA DE SUCO DE UMBU	57
5.6.2 SELEÇÃO DE PROVADORES	60
5.6.3 EXPLORAÇÃO DOS DADOS SENSORIAIS POR ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	64
5.7 PERFIL SENSORIAL DAS AMOSTRAS	68
5.7.1 ACEITAÇÃO DOS SUCOS DE UMBU	69
5.8 CROMATOGRAFIA GASOSA-OLFATOMETRIA: "SNIFFING"	72
5.9 RELAÇÕES ENTRE AS INFORMAÇÕES INSTRUMENTAIS E SENSORIAIS	73
6. CONCLUSÕES	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
8. ANEXO 1. ESPECTROS DE MASSAS E ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS EM UMBU	82

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1. Níveis de significância (p) de F amostra, F repetição e médias de intensidades de aroma característico de umbu obtido por provadores nos testes de seleção	37
TABELA 2. Intensidades de aroma característico de umbu nos isolados obtidos em diferentes tempos de captura	39
TABELA 3. Porcentagens de área dos compostos voláteis do suco da fruta fresca	41
TABELA 4. Porcentagens de área dos compostos voláteis do suco da fruta congelada	44
TABELA 5. Porcentagens de área dos compostos voláteis do suco da polpa congelada	47
TABELA 6. Comparação das porcentagens de áreas relativas dos compostos voláteis presentes nos sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu	49
TABELA 7. Compostos voláteis presentes no suco de umbu (<i>Spondias tuberosa</i>)	53
TABELA 8. Fragmentos de íons dos compostos voláteis analisados por CGEM	54
TABELA 9. Porcentagens relativas dos compostos voláteis identificados nos sucos de umbu	55
TABELA 10. Termos sensoriais descritivos dos sucos de umbu obtidos pelo método rede	57
TABELA 11. Terminologia descritiva e materiais de referências selecionados para ADQ	58
TABELA 12. Nível de significância (p) para F amostra, em cada descritor sensorial, para cada provador	61
TABELA 13. Nível de significância (p) para F repetição, em cada descritor sensorial, para cada provador	62
TABELA 14. Médias da equipe e dos provadores para cada descrito sensorial	63
TABELA 15. Nível de significância (p) para F amostra-provador, para cada descritor	64
TABELA 16. Informação projetada nas componentes principais	65
TABELA 17. Intensidades médias dos descritores sensoriais dos sucos de umbu	68
TABELA 18. Razões citadas pelos provadores na avaliação da preferência do sabor dos sucos de umbu. A frequência de citações está entre parênteses	70
TABELA 19. Qualidade do aroma atribuído aos compostos voláteis de umbu	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Ilustração da técnica de isolamento dos compostos voláteis presentes no "headspace" da amostra	24
FIGURA 2. Ficha para a seleção dos provadores aptos a compor a equipe sensorial	25
FIGURA 3. Ficha para levantamento de descritores sensoriais	28
FIGURA 4. Ficha utilizada em teste de aceitação do sabor das amostras	30
FIGURA 5. Ficha utilizada em teste de aceitação da aparência das amostras	31
FIGURA 6. Cromatograma dos compostos voláteis de umbu após eluição com (A) 300 µl de acetona e (B) 300 µl de n-hexano	33
FIGURA 7. Comparação dos cromatogramas dos compostos voláteis de umbu obtidos após captura por 0,5 e 1 hora	35
FIGURA 8. Comparação dos cromatogramas dos compostos voláteis de umbu obtidos após captura de 2 e 3 horas	36
FIGURA 9. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco de umbu fresco. Coluna capilar SE-54 mantida inicialmente por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min	40
FIGURA 10. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco da fruta congelada de umbu. Coluna capilar SE-54 mantida inicialmente por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min	43
FIGURA 11. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco da polpa congelada de umbu. Coluna capilar SE-54 mantida inicialmente por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min	46
FIGURA 12. Ficha de avaliação sensorial descritiva de sucos de umbu	59
FIGURA 13. Exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu pelos componentes principais (PC1 x PC2)	66
FIGURA 14. Exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu pelos componentes principais (PC1 x PC3)	66

FIGURA 15. Representação 3-D da exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu
pelos componentes principais (PC1xPC2xPC3) 67

FIGURA 16. Descritores sensoriais dos respectivos sucos de umbu 69

FIGURA 17. Histograma de distribuição das notas para a aparência dos sucos de umbu 71

FIGURA 18. Histograma de distribuição das notas para o sabor dos sucos de umbu 71

RESUMO

As regiões norte e nordeste do Brasil possuem uma grande diversidade natural de frutas, muitas delas exóticas, as quais raramente deixam de apresentar sabores e aromas distintos bastantes apreciados. A enorme diversidade e praticamente a ausência de estudos sobre a composição de voláteis da maioria dessas frutas representam uma área promissora para a pesquisa de aromas no país. Há um grande potencial para o desenvolvimento de sucos, sobremesas e polpas congeladas de frutas, algumas já crescentemente introduzidas em outros mercados brasileiros.

Os compostos voláteis, responsáveis pelo sabor e aroma dos alimentos, são termolábeis e qualquer aumento de temperatura durante o processamento pode ocasionar perdas ou modificações significativas na composição de voláteis, resultando em produtos que não mais apresentam o sabor característico. Dessa forma, conhecer os compostos voláteis responsáveis pelo aroma de frutas permite apontar as etapas críticas do processamento e contribuir na obtenção de produtos de boa qualidade organoléptica.

O trabalho realizado envolveu o isolamento, separação, identificação e análise sensorial dos compostos voláteis de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiacaceae), fruta autêntica das regiões áridas e semi-áridas do nordeste brasileiro, bastante apreciada devido ao sabor ácido e refrescante. Os compostos voláteis foram coletados por sucção em polímero poroso (Porapak Q) por um tempo de duas horas e posteriormente eluídos com 300 µl de solvente n-hexano. O isolado obtido foi analisado por cromatografia gasosa de alta resolução utilizando uma coluna capilar de fase ligada (SE-54) com temperatura programada e detetor de ionização de chama. Foram detectados e separados quarenta e quatro picos, dos quais dezesseis foram identificados por espectrometria de massas e índices de retenção de Kováts como alfa-pineno, canfeno, beta-pineno, beta-mirceno, alfa-felandreno, 3-careno, (+)-2-careno, d-limoneno, (E)-ocimeno, ocimeno, alo-ocimeno, alfa-copaeno, trans-cariofileno, alfa-cariofileno, alfa-muuroleno e delta-cadineno. Uma identificação positiva de alfa-pineno, beta-pineno, d-limoneno e (E)-ocimeno foi realizada por co-cromatografia com os respectivos padrões puros. Os

hidrocarbonetos monoterpenos e sesquiterpenos predominaram entre os compostos voláteis identificados respectivamente com 82,5% e 2,2% de área relativa.

Um teste olfatométrico ("sniffing") foi realizado afim de verificar a contribuição dos principais compostos voláteis ao aroma da fruta. Um aroma de fruta e menta foi percebido para alfa-pineno, um cheiro doce para canfeno, perfume para beta-pineno, frutado e doce para beta-mirceno, estranho e queimado para alfa-felandreno, suave para d-limoneno, manga verde e fruta para (E)-ocimeno, e uma nota perfumada para alo-ocimeno.

Nove atributos sensoriais também foram estabelecidos para os sucos da fruta congelada e da polpa congelada por análise descritiva quantitativa e avaliados em triplicata por uma equipe de oito provadores selecionados e treinados. A análise estatística multivariada apontou três componentes principais explicando 91% da variabilidade entre os respectivos sucos. Um gráfico "aranha" foi construído afim de visualizar o perfil sensorial das amostras, evidenciando um "aroma característico de umbu" mais intenso no suco da polpa congelada. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os sucos quanto ao aroma ácido, aroma doce, gosto ácido, sabor característico de umbu, gosto amargo e adstringência. Os testes de aceitação indicaram preferências significativas ($p < 0,05$) da aparência e do sabor do suco da fruta congelada.

SUMMARY

North 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 a great potential for the development of juices, desserts and frozen pulps of fruits, some already introduced in markets of other regions in Brazil.

Volatile compounds, responsible for the flavor and aroma of food, are thermolabile and any increase in temperature during processing can cause losses or significant modifications in its composition, resulting in products which are lacking in characteristic flavor. Thus, knowledge of important volatile compounds contributing to the aroma of fruits will allow location of critical stages of processing.

Isolation, separation and identification of volatile compounds and sensory analysis of samples of umbu juices were performed. Umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae) is a typical fruit of the arid and semi-arid areas of Northeastern Brazil, quite appreciated for its acid and refreshing flavor. Volatile compounds were collected by suction on Porapak Q for two hours and desorbed with 300 μ l of n-hexane. The isolated volatile compounds were analyzed by HRGC using a capillary column (SE-54) and temperature programming. Forty-four peaks were detected, of which sixteen were identified by mass spectrometry and Kováts retention indices: α -pinene, canfene, β -pinene, β -mircene, α -felandrene, 3-carene, (+)-2-carene, d-limonene, (E)-ocimene, ocimene, allo-ocimene, α -copaene, trans-cariofilene, α -cariofilene, α -muurolene and δ -cadinene. A positive identification of α -pinene, β -pinene, d-limonene and (E)-ocimene was accomplished by co-chromatography with standard compounds. Monoterpenes and sesquiterpenes predominated among identified volatile compounds, with 82,5% and 2,2% of relative areas, respectively.

A GC-Olfatometry test (sniffing) was accomplished to verify the contribution of volatile compounds to the total aroma of the fruit. The "fruity and mint" aroma was perceived for α -pinene, "sweet" for canfene, "perfumed" for β -pinene, "fruity and sweet" for β -mircene, "stranger and burnt" for α -felandrene, "pleasant"

for d-limonene, "green mangoes" and "fruity" for (E)-ocimene, and "perfumed" note for allo-ocimene.

Nine sensorial attributes were also established for juices of the frozen fruit and of the frozen pulp by QDA (Quantitative Descriptive Analysis). Juices were evaluated in triplicate by eight selected and trained panelists. Multivariate statistical analysis (PCA) extracted three principal components explaining 91% of the variability between juices. "Spider graphic" was also built for visualizing sensorial profile of samples, demonstrating a more intense "characteristic aroma of umbu" in the juice of frozen pulp. There was no significant difference ($p < 0,05$) between juices in relation to acid aroma, sweet aroma, acid flavor, characteristic flavor, bitter flavor and astringency attributes. The acceptance test showed significant preference ($p < 0,05$) for appearance and flavour of juice of frozen fruit.

1. INTRODUÇÃO

A indústria de sabores e aromas na última década cresceu em torno de 6% ao ano, ultrapassando sucessivos recordes de faturamento. Somente em 1995, quase 10 bilhões de dólares foram comercializados pelas principais indústrias do ramo (HARTMANN, 1996). Cerca de 90% dessa produção foi consumida pelos mercados norte-americano, europeu e sul asiático, onde os sabores foram empregados em bebidas, petiscos, confeitos, laticínios, pães e outros produtos.

De fato, o sabor é um dos atributos decisivos na aceitação e escolha de alimentos e bebidas. A impressão deixada pelo sabor de um alimento reúne tanto a percepção dos estímulos químicos recebidos pelo olfato e paladar, como dos estímulos físicos recebidos pela visão, audição e tato. Embora a aparência do alimento exerça uma forte influência na qualidade e na intensidade do sabor característico, o gosto e o aroma são as principais sensações envolvidas.

A sensação do gosto é atribuída à presença de compostos não voláteis nos alimentos, tais como açúcares, ácidos e sais, determinando os quatro gostos básicos conhecidos como doce, salgado, amargo e ácido. A sensação do aroma é muito mais complexa e está baseada na composição de dezenas ou centenas de compostos voláteis representantes de várias classes químicas com diferentes naturezas físico-químicas.

O aroma típico de frutas, por exemplo, resulta geralmente da combinação de um grande número de ésteres ocorrendo em concentrações abaixo de 30 ppm, ou até mesmo resultado da presença de alguns ésteres, denominados compostos de impacto. Mesmo os compostos voláteis que apresentam concentrações em partes por bilhão são capazes de influenciar a característica completa do aroma.

Principalmente os aromas provenientes de frutas tropicais tem despertado bastante interesse das indústrias de alimentos para o desenvolvimento de novas bebidas e sobremesas. Nesse contexto, as regiões norte e nordeste do Brasil possuem uma grande diversidade natural de frutas, muitas delas exóticas, as quais raramente deixam de apresentar sabores característicos bastantes apreciados.

Somente na região amazônica, os registros de CAVALCANTE (1976) apontam pelo menos 120 espécies produtoras de frutos comestíveis, algumas de importante significado comercial, crescentemente introduzidas em outros mercados brasileiros geralmente sob a forma de sucos ou de polpas congeladas.

Um estudo dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma de frutas constitui um dos objetivos principais da química de alimentos, sendo útil na caracterização, reconstituição e formulação de aromas, assim como na classificação da origem das frutas. A importância dessa investigação pode ainda ser reforçada quando observamos perdas ou modificações significativas do aroma devido ao processamento industrial, resultando em produtos que não mais apresentam o sabor original, conferido aos alimentos pelos compostos voláteis. Obviamente, busca-se contornar essas mudanças indesejáveis com uma reformulação do processo, investigando quais são as etapas responsáveis pelas perdas dos compostos voláteis importantes às características originais do aroma.

No presente trabalho, o umbu foi a fruta estudada devido à ausência de relatos na literatura sobre sua composição de voláteis (FSTA, 1998). Umbu ou imbu (*Spondias tuberosa*), é uma fruta autêntica das regiões áridas e semi-áridas do nordeste brasileiro, bastante apreciada pela população local devido ao sabor ácido e refrescante, sendo consumida principalmente na forma de sucos, sorvetes ou misturada com leite e açúcar. A fruta pertence à família Anacardiaceae, onde englobam-se a ciriguela (*Spondias purpurea*), cajá (*Spondias lutea*) e cajá-mirim (*Spondias mombim*). Quando madura possui forma oval, cerca de três centímetros de diâmetro, coloração verde-amarelada e aproximadamente 58 % do peso em polpa.

2. OBJETIVOS

Os objetivos do trabalho foram:

1. Caracterizar os compostos voláteis da fruta congelada e da polpa congelada de umbu;
2. Determinar as características sensoriais dos sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu;
3. Estabelecer a qualidade odorífera dos principais compostos voláteis contribuintes ao aroma de umbu;
4. Relacionar as informações sensoriais e instrumentais.

3. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

3.1 Metodologia da Pesquisa do Sabor

A revisão apresentada é uma contribuição ao estudo dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma de alimentos, particularmente de frutas. Basicamente quatro etapas fundamentais estão envolvidas na análise de aromas: isolamento dos compostos voláteis, separação por cromatografia gasosa de alta resolução, análise sensorial e identificação dos compostos voláteis. As relações entre as informações instrumentais e sensoriais, quando efetuadas, permitem caracterizar o perfil do aroma estudado, investigar a perda de compostos voláteis importantes durante o processamento industrial e averiguar a manutenção da qualidade do aroma em alimentos.

3.1.1 Isolamento dos Compostos Voláteis

Antes da introdução da amostra em um instrumento analítico, técnicas de preparação da amostra devem incluir etapas de isolamento e enriquecimento do(s) analito(s) de interesse, visando basicamente a eliminação dos interferentes e o ajuste da concentração acima do limite detectável.

Mesmo com toda a sofisticação e desenvolvimento dos instrumentos analíticos nas últimas duas décadas, o olfato humano possui uma sensibilidade maior que os detetores disponíveis para a maioria dos compostos, e muitas vezes, um cheiro percebido pelo nariz pode não ser detectado por um instrumento (CHARALAMBOUS, 1984).

Várias técnicas de isolamento e pré-concentração envolvem procedimentos nem sempre específicos e condições de análise bruscas e demoradas. Praticamente, isso favorece a degradação e a perda de compostos de interesse, assim como a introdução de artefatos e contaminações inesperadas. Essas considerações são pontos críticos em análises químicas de compostos traço, particularmente para os compostos voláteis presentes em frutas, geralmente abaixo

de 30 partes por milhão. Para contornar esses problemas, duas abordagens para o isolamento dos compostos voláteis podem ser empregadas.

A primeira abordagem, denominada análise total, compreende uma análise de todos os compostos voláteis presentes no alimento, realizada frequentemente pelo emprego da unidade de destilação-extração simultânea desenvolvida por NICKERSON & LIKENS (1966). O sistema proposto visa minimizar a degradação dos compostos voláteis de interesse e evitar a introdução de artefatos através de precauções simples, tais como redução do tempo de análise e uso de pouca quantidade de solvente orgânico. No entanto, devido ao emprego de calor, perdas ou modificações significativas na composição de voláteis podem ocorrer, assim como os artefatos presentes no solvente podem contaminar o isolado.

A segunda abordagem envolve uma análise do "headspace", uma escolha que vem oferecendo resultados significativos e reprodutíveis de uma forma simples e eficiente (VENEMA, 1990). Nessa técnica, o estudo de uma amostra (líquida ou sólida) é substituída pela análise da fase gasosa em equilíbrio com a fase líquida ou sólida da amostra.

Dois tipos diferentes de análise do "headspace" são comumente empregados: "static headspace" e "dynamic headspace". Em "static headspace" a amostra é mantida em um recipiente fechado até que se atinja um equilíbrio termodinâmico dos compostos voláteis entre a fase líquida e a fase gasosa. Uma alíquota da fase gasosa é recolhida e injetada no cromatógrafo gasoso. Devido às pressões parciais significativamente menores do que a pressão parcial do vapor de água, os analitos de interesse estão em concentrações geralmente baixas, necessitando de um volume de injeção maior, procedimento contrário à prática cromatográfica.

Em "dynamic headspace" há uma coleta contínua dos compostos voláteis, realizada por um sistema a vácuo (FRANCO & AMAYA, 1983) ou pela passagem de um gás inerte (SINGLETON & PATTEE, 1978). Uma armadilha, recheada com materiais adsorventes, coleta e concentra os compostos voláteis. Nesses sistemas, as condições ótimas de coleta dos compostos voláteis são dependentes do tempo de captura e da dimensão da armadilha. Posteriormente, os compostos voláteis são

eluídos da armadilha por um solvente orgânico adequado, evitando seletividade, ou então são dessorvidos termicamente.

Certos polímeros porosos sintéticos, como Tenax, Chomosorb e Porapak, adsorvem os compostos voláteis de interesse, ao mesmo tempo que não adsorvem oxigênio, nitrogênio e principalmente vapor de água, substância que pode saturar a câmara de injeção, modificar os tempos de retenção, diminuir a vida útil da coluna e interferir na obtenção de espectros de massas (LISKA et alii, 1989).

Motivos especiais têm tornado a análise por "dynamic headspace" largamente empregada na investigação de aromas em alimentos e bebidas. A fase de vapor imediatamente acima do alimento aproxima-se significativamente do aroma percebido pelos consumidores, desde que as condições de adsorção / dessorção sejam cuidadosamente padronizadas. Além disso, os compostos voláteis são submetidos simultaneamente ao isolamento e ao enriquecimento em uma única operação.

Adicionalmente, a técnica consegue atrair a atenção dos analistas preenchendo alguns requisitos convenientes:

- ☞ mínima manipulação da amostra;
- ☞ isolamento e enriquecimento de voláteis a temperatura ambiente;
- ☞ permite otimizar as condições de análise;
- ☞ evita a destruição da amostra;
- ☞ permite estudos qualitativos e quantitativos;
- ☞ possibilita a dessorção on-line no cromatógrafo;
- ☞ custo baixo e configuração simples;

A técnica permite ainda estudar os compostos voláteis produzidos nos diferentes estágios da maturação de frutas e vegetais, assim como verificar em quais etapas do processamento de alimentos há perda de compostos voláteis de interesse.

Particularmente para estudos de compostos com baixos pontos de ebulição, a análise do "headspace" se destaca como um dos melhores métodos disponíveis. Além de fornecer reprodutibilidade, a técnica confere a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de artefatos. Dessa forma, os voláteis retidos e colecionados a partir do "headspace" podem representar e caracterizar fielmente o aroma de uma fruta.

Com o intuito de aumentar a participação dos componentes voláteis na composição do "headspace", alguns sais podem ser adicionados à solução em estudo (WEURMAN, 1969). O procedimento pouco tem contribuído para diferenciar uma distribuição geral dos componentes, embora confira sensibilidades diferentes para certas classes de compostos, como álcoois e aldeídos, implicando em discriminação (POLL & FLINK, 1984). Weurman (1969) infere ainda que "se o procedimento analítico alterar a distribuição dos componentes voláteis entre o alimento e o "headspace", então os resultados obtidos podem não refletir o aroma do alimento".

No entanto, recomenda-se a adição de sal para a prevenção e inibição das transformações enzimáticas sobre os compostos voláteis durante a operação de amostragem. Há liberação de enzimas após o rompimento das células, provocando rápidas mudanças no aroma da fruta: ésteres e ácidos carboxílicos são hidrolisados, lipoxigenases degradam ácidos graxos, monoterpenos sofrem rearranjos, etc. (MAARSE, 1991).

A análise do "headspace" da fruta não depende apenas da concentração e da pressão de vapor dos compostos voláteis presentes, mas de todos os componentes da matriz da fruta, principalmente lipídeos, carboidratos e proteínas, os quais exercem influência na estabilidade e liberação dos compostos responsáveis pelo sabor (ROOS et alii, 1997). Certas substâncias com pontos de ebulição elevado, mas importantes para a descrição do aroma, ainda podem ser discriminadas. Portanto, há uma relação entre os compostos voláteis presentes no "headspace" e os compostos voláteis totais, dependente da matriz do alimento. Desse modo, as informações provenientes da análise do "headspace" podem ser somadas e complementadas à análise total do alimento.

3.1.2 Separação de Compostos Voláteis

A pesquisa na área de aromas envolve a separação de um grande número de substâncias de interesse ocorrendo em concentrações baixíssimas e pertencentes a variadas classes de compostos com diferentes naturezas físico-químicas, implicando no desenvolvimento e na aplicação de metodologias ou técnicas bastantes seletivas, sensíveis e eficientes.

O primeiro grande auxílio na pesquisa de aromas veio com a introdução da cromatografia gasosa em 1952 por JAMES e MARTIN. Apoiada nessa tecnologia, centenas de trabalhos foram publicados até meados de 1960, vários deles empenhados na análise de aromas (BRAITHWAITE, 1985).

Os cromatógrafos gasosos utilizavam colunas empacotadas de tamanhos pequenos e diâmetros grandes, as quais foram gradualmente substituídas por colunas capilares de tamanhos maiores e diâmetros pequenos, feitas de metal, de vidro e depois de sílica fundida.

As colunas capilares de metal e vidro não são totalmente inertes e podem interagir com os solutos da amostra devido a presença de sítios catalíticos atribuídos principalmente aos íons ferro e alumínio em colunas de metal, e aos metais alcalinos e grupos silanóis em colunas de vidro. A eliminação de contaminantes foi praticamente solucionada com a introdução das colunas capilares de sílica fundida, obtidas a partir de tetracloreto de silício sintético. Por ser termicamente resistente, mecanicamente forte e muito flexível, a coluna de sílica fundida tem facilitado a instalação e o interfaciamento entre cromatógrafos e espectrômetros de massas (SANDRA & BICCHI, 1987).

Quando comparado com as colunas empacotadas, as colunas capilares oferecem maior capacidade de resolução, alta eficiência e menor tempo de análise, devido ao maior comprimento, menor diâmetro e pequena espessura da fase estacionária.

Diferentes tipos de colunas capilares como WCOT (wall coated open tubular), SCOT (support coated open tubular), PLOT (porous layer open tubular) e FSOT

(fused silica open tubular) podem ser empregadas em cromatografia gasosa. Características intermediárias como comprimento, diâmetro interno e eficiência estão presentes nas colunas SCOT, mas a maior eficiência é fornecida pela WCOT, onde uma fase líquida imobilizada (fase ligada), geralmente polidimetil siloxano ou polietileno glicol, recobre internamente a parede da coluna capilar. Tais fases ligadas apresentam baixa volatilidade, estabilidade térmica e inatividade química.

Recentemente, ênfase tem sido dada à separação por cromatografia gasosa capilar de compostos voláteis enantiômeros, onde as ciclodextrinas modificadas são utilizadas como fases estacionárias quirais devido à alta enantioseletividade ou habilidade em reconhecer os centros quirais de substratos, particularmente de hidrocarbonetos. A mais nova investigação cita 230 diferentes fases estacionárias quirais, várias prontamente disponíveis no comércio (KOPPENHOEFER et alii, 1994).

Com a introdução da amostra na coluna cromatográfica, dois fenômenos acontecem: separação dos compostos e alargamento de banda, ambos envolvidos com os conceitos de resolução. A resolução é definida, para a separação de dois picos adjacentes, como a razão da diferença dos tempos de retenção (Δt_r) pelo valor médio das larguras das bases (π). Em termos práticos Δt_r está relacionado com a afinidade dos solutos pela fase estacionária, determinando a seletividade da coluna, e π está relacionado com o fenômeno do alargamento de banda, apontando se a coluna é eficiente. Portanto, é a natureza dos solutos que determina a resolução e a seletividade necessárias para a separação.

A divisão do comprimento da coluna cromatográfica (L) pelo número de pratos teóricos (N) determina a altura equivalente de um prato teórico (AEPT). Assim, para um determinado comprimento de coluna, quanto maior o número de pratos teóricos menor será a altura equivalente de um prato teórico e maior a eficiência. A equação de Golay (1), adaptada de Van Deemter, é usada para expressar a eficiência das colunas capilares, onde contribuem a difusão longitudinal da fase móvel (B) e a resistência à transferência de massa em ambas as fases (C).

$$AEPT = B / u + C \times u \quad (1)$$

Para condições ótimas de análise ajusta-se a velocidade linear do gás de arraste (u) para obter o menor valor de altura equivalente a um prato teórico. De acordo com SANDRA (1989), a velocidade linear do gás de arraste é proporcional à difusividade do gás. Dessa forma o hidrogênio é a melhor escolha para cromatografia gasosa de alta resolução, conferindo um tempo de análise menor e um amplo intervalo de velocidade linear ótima. Gás hélio é a segunda melhor opção para o gás de arraste. Cautela especial deve ser tomada para análises que envolvam altas temperaturas, devido à expansão e aumento da viscosidade dos gases e a consequente diminuição da velocidade linear do gás de arraste (GROB & TSCHUOR, 1990).

Na prática, colunas capilares de fase ligada são comumente utilizadas em cromatógrafos gasosos de modo a fornecer um elevado número de pratos teóricos e oferecer máxima eficiência. Como a resolução é proporcional à raiz quadrada do número de pratos teóricos, a separação é praticamente baseada na pressão de vapor dos solutos (SANDRA & BICCHI, 1987). Uma mudança controlada da temperatura no forno da coluna cromatográfica permite otimizar a separação dos inúmeros compostos, acelerar a análise e facilitar a identificação e a quantificação. As temperaturas iniciais são baixas permitindo a separação dos compostos com baixos pontos de ebulição, aumentando-se controladamente para resolver os compostos com pontos de ebulição maiores.

No entanto, a excelente performance das colunas capilares pode ser praticamente arruinada com a forma de introdução da amostra no processo cromatográfico, a qual deve ser realizada rapidamente sem provocar perdas ou decomposição dos compostos (PRETORIUS & BERTSCH, 1983). A quantidade de amostra suportada pelas colunas capilares, determinada pela quantidade de fase líquida ou mais precisamente pelo volume efetivo de um prato teórico, não deve ser ultrapassada. Ao mesmo tempo, deve-se garantir que os compostos sejam detectados preferencialmente na faixa linear de resposta do detetor (BERTSCH & JENNINGS, 1981).

Os injetores para a cromatografia gasosa, responsáveis pela introdução de uma banda estreita da amostra na coluna, sem alteração da composição original,

compreendem os tipos "split", "splitless", "on-column" e "programmed temperature vaporizer" (PTV). Para análise de compostos traços, os injetores tipo "splitless", "on-column" e mais recentemente "PTV cold splitless" são os indicados, geralmente envolvendo efeitos de focalização da amostra na entrada da coluna capilar (GROB, 1994).

Algumas considerações básicas sobre a transferência da amostra para a coluna capilar foram reunidas por JENKINS e JENNINGS (1983). Para os injetores tipo "splitless" a utilização de hidrogênio como gás de arraste permite um maior fluxo de gás e garante uma transferência satisfatória e efetiva da amostra, viabilizando um menor período "splitless", reduzindo a discriminação de solutos com pontos de ebulição elevado e minimizando a diluição da amostra no gás de arraste. O efeito de solvente beneficia os solutos promovendo uma condensação parcial do solvente e uma focalização dos solutos na entrada da coluna. Após a evaporação do solvente, tem efetivamente início o processo cromatográfico.

Como a introdução de amostras líquidas em regiões quentes potencializa a decomposição térmica ou discriminação de compostos com pontos de ebulição elevados, devido uma termostatização exata somente na parte central do insersor em injetores vaporizantes e uma diminuição sucessiva da temperatura em direção ao septo e o início da coluna, o injetor tipo "on-column" é a melhor opção para a análise de compostos voláteis termolábeis, permitindo a introdução direta da amostra sobre a coluna cromatográfica sem uma vaporização prévia. Devido à flexibilidade da coluna capilar de sílica fundida, a entrada da coluna é mantida fora do sistema cromatográfico a temperatura ambiente, enquanto o restante da coluna é mantida no forno a temperaturas maiores. Após a injeção da amostra a temperatura ambiente, a coluna capilar é empurrada para dentro do forno, iniciando o processo cromatográfico.

Segundo JENKINS e JENNINGS (1983), para injetores tipo "on-column" as injeções até 2 μ L devem ser feitas rapidamente, evitando a diluição da amostra e da fase estacionária. O ponto de injeção na coluna deve estar abaixo do ponto de ebulição do solvente, e imediatamente após o ponto de injeção, a coluna deve ser

aquecida entre 5-10°C acima do ponto de ebulição do solvente, mas significativamente abaixo dos pontos de ebulição dos solutos.

A possibilidade da dissolução da fase estacionária e a permanência de compostos não voláteis na coluna são as duas desvantagens do injetor "on-column" (SANDRA & BICCHI, 1987). Por esses motivos, os injetores tipo PTV operando em "cold splitless" também tem sido utilizados na transferência total da amostra para a coluna, apresentando vantagens como vaporização seletiva e reprodutibilidade quantitativa equivalente ao injetor "on-column" (HERRAIZ et alii, 1989).

3.1.3 Identificação dos Compostos Voláteis

As colunas capilares utilizadas em cromatografia gasosa suportam pequenas quantidades de amostra e necessitam de detetores bastantes sensíveis que respondam rapidamente, constituindo-se nas principais desvantagens

Os detetores para a cromatografia gasosa capilar com aplicações na análise de aromas incluem detetores por ionização em chama, os detetores por condutividade térmica e os analisadores de massas.

Os detetores por ionização em chama continuam sendo largamente empregados para a análise de compostos voláteis presentes em alimentos e bebidas. Uma chama, alimentada por hidrogênio, ar sintético e nitrogênio (suplemento), ioniza as moléculas orgânicas, promovendo sinais elétricos, os quais são amplificados, convertidos em voltagens e registrados. Respondem praticamente ao fluxo de massa de carbonos efetivos (ligados a átomos de hidrogênio ou carbono) em função do tempo, conferindo alta sensibilidade e boa estabilidade da linha de base. As vazões de hidrogênio, nitrogênio e ar sintético na proporção de 1:1:10 oferecem a melhor sensibilidade, linearidade e estabilidade quando hidrogênio é usado como gás de arraste na coluna capilar a uma velocidade linear igual a 1,0 ml por minuto (SANDRA & BICCHI, 1987).

O princípio de operação dos detetores por condutividade térmica (DCT) está baseado na velocidade de perda do calor, medida dependente da composição dos gases que circundam um corpo quente. O DCT não destrói a amostra sendo muito

útil para o estudo de compostos voláteis responsáveis pelo aroma de alimentos, desde que a coluna capilar permaneça a temperatura constante. Porém, o DCT apresenta uma sensibilidade menor, além da resposta ser alterada com a mudança de temperatura no forno cromatográfico (CHARALAMBOUS, 1984).

O avanço maior na identificação de compostos voláteis foi iniciado com a associação de cromatógrafos gasosos a espectrômetros de massas. A união dessas duas poderosas técnicas de análise química introduziu uma ferramenta eficaz na separação e na identificação de compostos provenientes de misturas complexas. O emprego dessa técnica foi tão conveniente e útil em análise de aromas que a lista de compostos voláteis identificados cresceu acentuadamente a partir da década de 1970. Atualmente, números acima de 6600 compostos voláteis estão presentemente identificados em alimentos e bebidas, agrupados em hidrocarbonetos, compostos oxigenados, nitrogenados e sulfurados (BOELEN et alii, 1995).

Os espectrômetros de massas fornecem boa estabilidade e sensibilidade para análise de compostos voláteis. As moléculas no estado gasoso são bombardeadas, sob vácuo (10^{-8} atm), por um fluxo de elétrons produzidos por filamentos de tungstênio ou rênio. O impacto dos elétrons (70 eV ou 1600 Kcal/mol) com as moléculas produz fragmentos de íons, os quais são encaminhados para um analisador de massas. Os três analisadores de massas frequentemente citados compreendem o filtro de massa quadrupolar, o "time of flight" (TOF) e ion trap (SOLOMONS, 1996).

O filtro de massa quadrupolar consiste de quatro eletrodos metálicos e cilíndricos, onde são aplicados voltagens DC (corrente direta) e RF (radiofrequência). Cada voltagem DC e RF aplicada permite a transmissão de íons com determinada relação massa / carga. Variando as voltagens do quadrupolo é possível variar a faixa de íons com relação massa / carga transmitida. Por ser compacto, robusto e mais barato, tem sido um analisador de massas extensamente usado (MILLER & DENTON, 1986).

Uma relação matemática existente entre o "tempo de vôo" e a relação massa / carga fundamenta a separação e detecção dos fragmentos no "time of flight" (TOF).

Os fragmentos ionizados são altamente acelerados dentro de um tubo oco, encontram defletores ("desaceleradores") e são novamente acelerados em direção ao detetor.

No "íon trap", os fragmentos de íons são coletados e mantidos em órbitas distintas de acordo com sua relação massa / carga (McLUCKEY et alii, 1994). Uma desestabilização de cada órbita pela varredura de radiofrequências e a detecção do respectivo fragmento, permite análises por monitoramento de íons seletivos (SIM) ou monitoramento de reações seletivas (SRM), caracterizando uma maior sensibilidade, seletividade e versatilidade entre os analisadores de massas atuais.

Após a separação no analisador de massas, os fragmentos de íons são detectados em um dinodo com a superfície do cátodo recoberta com berílio e cobre, estabelecendo ganhos de corrente próximos a 10^7 .

As características dos espectros de massas obtidos são usadas na identificação e confirmação de uma grande variedade de compostos orgânicos, onde as relações massa / carga obtidas podem ser transformadas em informação estrutural a partir de estudos sobre os mecanismos de fragmentação dos compostos (McLAFFERTY, 1994).

Com o desenvolvimento dos sistemas de análise de dados por computadores, os cromatogramas e espectros de massas podem ser armazenados para pós-processamento. A incorporação de softwares habilita o computador a rastrear e ajustar as condições instrumentais ótimas durante toda a análise cromatográfica, facilita os cálculos, processa os dados experimentais e confronta com as bibliotecas de dados inseridas no sistema, informando rapidamente os possíveis resultados com certo grau de certeza.

Mesmo assim, o conhecimento das características de retenção são frequentemente necessárias, quando compostos diferentes apresentam espectros de massas semelhantes. A própria IOFI (International Office of the Flavor Industry) reconhece que somente dados de cromatografia gasosa - espectrometria de massas são insatisfatórios para uma identificação positiva do composto. Embora permita uma identificação tentativa, em alguns casos é necessário informações adicionais

de espectroscopia no infravermelho, ressonância magnética nuclear e padrões puros (JOULAIN, 1994).

Os parâmetros cromatográficos utilizados para a identificação dos compostos são baseados nos tempos de retenção. Na prática, os tempos de retenção auxiliam na identificação, mas não são fatores conclusivos devido à dependência direta das condições operacionais, dificultando a reprodução do valor. Outros compostos podem ainda possuir igual perfil cromatográfico.

Um sistemático índice de retenção, proposto por Kováts, permite expressar o tempo de retenção dos compostos de interesse em uma escala uniforme, construída a partir de padrões de alcanos em isotermas definidas para uma determinada fase estacionária (ETTRE, 1964).

Os índices de retenção têm auxiliado na identificação dos compostos, comparando a ordem de eluição experimental com a ordem de eluição indicada na literatura. Os cálculos podem ser obtidos graficamente plotando o logaritmo do tempo de retenção corrigido versus o número de átomos de carbonos do respectivo alcano multiplicado por 100, ou pela fórmula representada a seguir:

$$I_a^b = 100N + 100n \left[(\log t_r'(x) - \log t_r'(N)) / (\log t_r'(N+n) - \log t_r'(N)) \right]$$

- I_a^b = índice de retenção de Kováts na fase estacionária **a** e na temperatura **b**
- $t_r'(N)$ = tempos de retenção corrigidos dos alcanos com átomos de N carbono
- $t_r'(N+n)$ = tempos de retenção corrigidos dos alcanos com átomos de N+n carbono
- $t_r'(x)$ = tempo de retenção corrigido do composto desconhecido entre N e N+n

3.1.4 Análise Sensorial

3.1.4.1 Cromatografia Gasosa - Olfatometria

Juntamente com o emprego de técnicas como cromatografia gasosa e espectrometria de massas, não pode ser esquecido que a análise instrumental deve estar combinada ou até suportada por avaliações sensoriais do alimento, afim de produzir resultados significativos e expressivos. Deve-se verificar e certificar uma semelhança entre o aroma do alimento e o aroma presente no isolado, garantindo sempre a melhor descrição da composição química do aroma em estudo.

A avaliação sensorial é essencial em análise de aromas de alimentos. A partir da separação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa, uma avaliação sensorial, realizada por técnicas olfatométricas, pode indicar realmente quais os compostos voláteis odoríferos, não necessariamente característico, do aroma investigado. De fato, nem todos os picos do cromatograma representam compostos voláteis odoríferos, assim como a intensidade dos picos não é indicativo da contribuição efetiva do composto para a descrição do aroma. A associação da cromatografia gasosa com a olfatometria (GC-O) traz ainda uma economia de trabalho, pois prioriza a identificação de compostos voláteis importantes ao aroma do alimento.

A olfatometria, baseada nos estudos de tempo-intensidade, mede a velocidade, duração e intensidade percebida de um estímulo sensorial. A percepção do gosto e do aroma em alimentos, por exemplo, é um fenômeno dinâmico, sujeito a mudanças perceptíveis na intensidade e na duração com o tempo de contato das substâncias químicas com a cavidade buconasal (CLIFF & HEYMANN, 1993).

A percepção de um estímulo está envolvida com a definição de limiar ("threshold"), compreendido como a quantidade determinada de um estímulo no qual ocorre uma transição ou mudança da sensação. Segundo a norma brasileira 12806, definida pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993), há quatro tipos de limiares:

1. limiar de detecção: intensidade mínima de um estímulo necessária para provocar uma sensação;
2. limiar de diferença: menor diferença perceptível na intensidade de um estímulo;
3. limiar de reconhecimento: intensidade mínima percebida de um estímulo necessária para identificar a sensação;
4. limiar terminal: intensidade mínima de um estímulo, abaixo da qual nenhuma sensação é percebida. Esta definição é contrária a norma internacional ISO 5492/3, ou seja, acima de uma determinada intensidade, não há aumento na percepção do estímulo, ocorrendo frequentemente aversão.

Uma relação entre a intensidade percebida (I) e a concentração do estímulo (C) é descrita por uma função exponencial dada por $I = k.C^n$, onde k está envolvido com o número de provadores, e n informa o comportamento dos provadores a um dado estímulo (STEVENS, 1957). Baseado nessa relação, provadores com limiares abaixo da média (sub-limiares), não necessariamente apresentam maior acuidade sensorial. A determinação dos valores de limiares não traduzem o grau de acuidade sensorial de um indivíduo a um dado estímulo, sendo erroneamente utilizados para selecionar provadores ou expressar a intensidade relativa de uma substância.

Quando um estímulo é percebido com o decorrer do tempo, há inicialmente um aumento da percepção, seguida de um patamar de máxima intensidade e depois uma diminuição tendendo à extinção da percepção. Portanto, a percepção da intensidade é uma função do tempo e da concentração do(s) composto(s) avaliado(s).

"Sniffing", AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis), CHARM e OSME são conhecidas técnicas olfatométricas baseadas na olfação dos compostos eluídos da coluna cromatográfica. Na análise por "sniffing", um divisor posicionado na saída da coluna cromatográfica promove a distribuição do fluxo do efluente para um tubo de sílica fundida desativada e para o detetor de ionização de chama. O tubo de sílica permite a comunicação com o ambiente externo e a olfação do efluente por provadores, enquanto os picos são simultaneamente detectados e registrados pelo

integrador. Os provadores utilizam suas próprias palavras para descrever a qualidade odorífera dos compostos voláteis eluídos.

As análises olfatométricas por AEDA, CHARM e OSME são mais recentes, e permitem determinar tanto a qualidade como a intensidade odorífera dos compostos voláteis, indicando o grau de contribuição de cada composto volátil ao aroma.

Em AEDA (SCHIEBERLE e GROSCH, 1987) e CHARM (ACREE et alii, 1984) várias corridas cromatográficas são necessárias para estabelecer uma diluição do isolado original que represente a mínima resposta odorífera, abaixo disso odores não são mais percebidos. Os resultados em AEDA são expressos em valores FD ("Flavor Dilution") e plotados contra os índices de retenção de Kováts para a obtenção do aromagrama, termo introduzido em 1962 por TERANISHI e BUTTERY.

A determinação do limiar por AEDA e CHARM visa simplificar a metodologia para estabelecer o potencial relativo de cada composto odorífero presente no isolado. Ambos são semelhantes às unidades de odor, proposta por GUADAGNI (1966), definida como a razão da concentração do composto pelo seu limiar.

Tal conceito tem sido criticado por FRIJTENS (1979). O autor deduz que as medidas propostas por GUADAGNI (1966) são baseadas em considerações contraditórias à presente teoria da percepção de aromas. O emprego da unidade de odor assume que há uma relação linear entre a intensidade percebida do composto e a sua concentração, ou seja, compostos voláteis com a mesma concentração apresentariam iguais respostas odoríferas. Essa consideração mostra-se inválida pela lei de STEVENS, que prediz uma relação logarítmica entre as variáveis. Isso implica que a intensidade relativa de dois compostos com o mesmo limiar, não necessariamente estejam na mesma concentração. Portanto, ordenar a importância odorífera dos compostos voláteis aplicando AEDA ou CHARM, implica também na quantificação destes compostos.

Recentemente Mc-DANIEL e colaboradores (1990) desenvolveram uma nova metodologia para ordenar a importância odorífera dos compostos voláteis, aplicando os conhecimentos de SELKE (1972) aos modernos conceitos de análise sensorial descritiva. A técnica, denominada OSME (do grego $\delta\mu\eta$ = cheiro), permite aos

providores uma avaliação direta da qualidade e da intensidade dos compostos odoríferos eluidos da coluna cromatográfica, evitando as várias diluições necessárias em AEDA e CHARM. Dessa forma, promove um menor tempo de análise e fornece um aromagrama correspondente ao cromatograma.

3.1.4.2 Análise Descritiva Quantitativa

A análise descritiva quantitativa é uma metodologia sensorial capaz de identificar, descrever e quantificar todas as propriedades sensoriais de um alimento, fornecendo informações completas sobre a aparência, aroma, sabor e textura. Permite, por exemplo, relacionar as características sensoriais com determinadas substâncias presentes no alimento ou mesmo alterações nas variáveis do processamento industrial. Outras aplicações incluem os estudos sobre o efeito do armazenamento, monitoramento da vida de prateleira, desenvolvimento e comparação de produtos, controle de qualidade e correlações com as informações analíticas (STONE e SIDEL, 1996).

O procedimento inicial para análise descritiva quantitativa envolve uma pré-seleção de provedores aptos a detectar diferenças entre duas amostras-teste semelhantes aos produtos a serem avaliados. Testes discriminativos como triangular ou duo-trio podem ser aplicados e estabelecer uma avaliação sensorial entre duas amostras com características distintas. Ambos os testes discriminativos envolvem a apresentação de duas amostras iguais e uma diferente e possuem semelhante avaliação dos resultados, mas a probabilidade de acerto ao acaso ou indecisão do provador é maior no teste duo-trio, e a fadiga sensorial é menor no teste triangular. Um erro psicológico ou erro de simetria também está envolvido no teste triangular devido à codificação das 3 amostras. Há uma tendência do provador responder a amostra posicionada no centro. Esse erro é evitado no teste duo-trio esclarecendo ao provador qual é a amostra padrão, tornando o teste mais apto quando um certo produto é bem conhecido pelos provedores (O'MAHONY, 1986).

Os termos descritores ou atributos podem ser obtidos por descrição entrecruzada ou método rede (MOSKOWITZ, 1988), onde os provedores descrevem comparativamente as similaridades e diferenças entre as amostras a serem

avaliadas. Todos os termos descritores são listados e a equipe sensorial reunida, moderada pelo líder, procura selecionar e definir a terminologia dos termos descritores característicos das amostras.

Uma etapa criteriosa da análise descritiva quantitativa envolve a apresentação de amostras e materiais de referência para cada termo descritor, visando o treinamento da equipe e a elaboração da ficha de avaliação sensorial. Todos os provadores devem compreender a definição dos termos descritores e memorizar as respectivas referências para melhorar a precisão dos resultados.

Após a elaboração da ficha de avaliação definitiva, os provadores são selecionados observando o poder de discriminação, a repetibilidade e a concordância com a equipe sensorial. Avalia-se também a qualidade da seleção dos provadores, embora seja natural que diferentes provadores registrem notas em diferentes regiões da escala utilizada (POWERS et alii, 1984).

Posteriormente à análise sensorial final, as notas de cada provador para cada termo descritor são tabuladas, e a matriz de dados original é explorada por análise da variância, teste de comparação de médias e técnicas de análise estatística multivariada.

3.2 Compostos Voláteis de Frutas do Norte e Nordeste do Brasil

A enorme diversidade de frutas existentes nas regiões Norte e Nordeste do Brasil e praticamente a ausência de estudos sobre a composição de voláteis da maioria dessas frutas, representam uma área promissora para a pesquisa de aromas. Há um grande potencial para o desenvolvimento de sucos, polpas congeladas e sobremesas provenientes de frutas de várias famílias como Myrtaceae, Solonaceae, Rubiaceae e Anarcadinaceae.

A publicação de ALVES e JENNINGS (1974) contribuiu com o estudo de compostos voláteis de quatro frutas da região amazônica, utilizando a unidade de destilação-extração simultânea de NICKERSON e LIKENS (1966). Em bacuri (*Platonia insignis*, Guttiferae), 12 compostos voláteis foram identificados por espectrometria de massas e índices de retenção, predominando os álcoois linalol,

óxido cis-linalol e óxido trans-linalol. Do total de 26 compostos voláteis identificados em murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae), os ésteres de etila, hexanal e cetonas foram os majoritários. Em taperebá ou cajá (*Spondias lutea*, Anacardiaceae), foram separados e detectados 53 compostos voláteis, dos quais 6 foram identificados como 2-hepteno, ocimeno, benzoato de metila, benzoato de etila, octanoato de etila e cinamato de etila. Em cupuaçu (*Theobroma grandiflora*, Sterculiaceae), uma fruta de sabor intenso, prevaleceram os ésteres butanoato de etila e hexanoato de etila, entre os 11 compostos voláteis identificados. Segundo os autores, os aromas característicos dessas frutas foram atribuídos a uma resposta integrada de um grande número de compostos voláteis.

Os compostos voláteis de cajá (*Spondias lutea*, Anacardiaceae) também foram isolados por destilação e extração com solvente diclorometano. Após uma concentração por aquecimento e fracionamento em coluna de sílica gel, os isolados foram analisados por cromatografia gasosa - espectrometria de massas, evidenciando uma abundância de 3-hidroxi ésteres alifáticos (ALLEGRENE & BARBERI, 1992).

SCHIPPA et alii (1993) analisaram os compostos voláteis presentes em acerola (*Malpighia puniceifolia*), proveniente do Brasil, utilizando extração direta com solvente clorado e concentração da fase orgânica. Setenta e cinco compostos voláteis foram identificados, englobando 2 hidrocarbonetos, 4 cetonas, 4 lactonas, 8 aldeídos, 9 ácidos, 18 álcoois e 30 ésteres. Para os autores, um composto volátil identificado como 4-oxo-isoflavanona, provavelmente originou-se da biodegradação de carotenóides. Outro composto volátil, produto da degradação do ácido ascórbico, foi identificado como 3-hidroxi-2-pirone. No entanto, o álcool 3-metil-3-butenol e seus respectivos ésteres, foram os compostos voláteis majoritários e contribuintes significativos para o aroma de acerola.

MONTEIRO (1995) utilizou CO₂ supercrítico para extrair os compostos voláteis da casca do fruto do bacuri (*Platonia insignis*, Guttiferae). Nove compostos foram identificados entre monoterpenos, sesquiterpenos e ácidos.

FISCHER et alii (1995) estudaram os compostos voláteis de cupuaçu (*Theobroma grandiflora*, Sterculiaceae) por destilação, extração em fase sólida (RP-18) e destilação-extração simultânea (SDE). Foram identificados 2 compostos voláteis aromáticos, 5 aldeídos e cetonas, 8 álcoois, 18 ésteres e 20 ácidos. Alguns compostos voláteis identificados possuíam forte aroma de fruta, como o crotonato de metila e o hexanoato de etila. Ao linalol foi atribuído um odor floral, notas verdes foram atribuídas ao 3-cis-hexenal e um aroma de chocolate foi sentido para 3-metil-butanol. Os autores ressaltaram a importância do acompanhamento sensorial na padronização dos procedimentos de isolamento dos compostos voláteis. Aroma de frutas e flores foram percebidas no isolado de cupuaçu obtido por extração em fase sólida, mas um cheiro de pão fresco foi sentido para o isolado obtido por destilação-extração simultânea. O 2-acetil-1-pirrolina foi o composto volátil responsável pelo cheiro de pão.

Até a presente data, não há nenhum trabalho na literatura (FSTA, 1998) sobre o estudo de compostos voláteis de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiacaceae).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matéria-Prima e Preparo da Amostra

As frutas e as polpas congeladas de umbu (*Spondias tuberosa*) foram adquiridas no comércio de Recife (Pernambuco, Brasil), refrigeradas e encaminhadas via aérea para o Laboratório de Análise de Alimentos da FEA / UNICAMP. Os sucos foram preparados na proporção 1:5 em água e a presença de sólidos solúveis monitorada em um refratômetro (grau Brix = 1,0).

4.2 Amostragem

Durante a safra de umbu de 1996 foram coletados três lotes da fruta congelada e três lotes da polpa congelada, cada lote pesando cerca de 2 kg. Uma porção de 100g foi retirada de cada lote e encaminhada para análise em duplicata. Um lote da fruta fresca, pesando 2 kg, da safra de 1997 foi igualmente estudado.

4.3 Padronização do Isolamento dos Compostos Voláteis

Os isolados dos compostos voláteis do "headspace" do suco da fruta foram obtidos conforme proposto por FRANCO e RODRIGUEZ-AMAYA (1983). Uma massa igual a 300 g do suco da fruta contendo 30% de NaCl em peso, foi colocada num balão de fundo redondo (1000 ml) mantido à temperatura ambiente e sob agitação moderada. Acoplado ao frasco, havia uma armadilha (vidro silinizado) contendo Porapak Q (80-100 mesh). O conjunto foi ligado a um sistema a vácuo com pressão absoluta constante, monitorada por um vacuômetro. Os compostos voláteis foram coletados na armadilha por sucção em quatro diferentes tempos. Em seguida, com auxílio de uma seringa "gás tight", os compostos voláteis foram eluídos do polímero poroso com 300 µl de solvente orgânico (grau cromatográfico) para um tubo resfriado à 0°C. Alíquotas provenientes dos mesmos isolados, obtidos em diferentes condições de solvente orgânico e tempo de captura, foram analisados por cromatografia gasosa (item 4.3.1) e análise sensorial (item 4.3.2) afim de se otimizar e padronizar o isolamento dos compostos voláteis do "headspace".

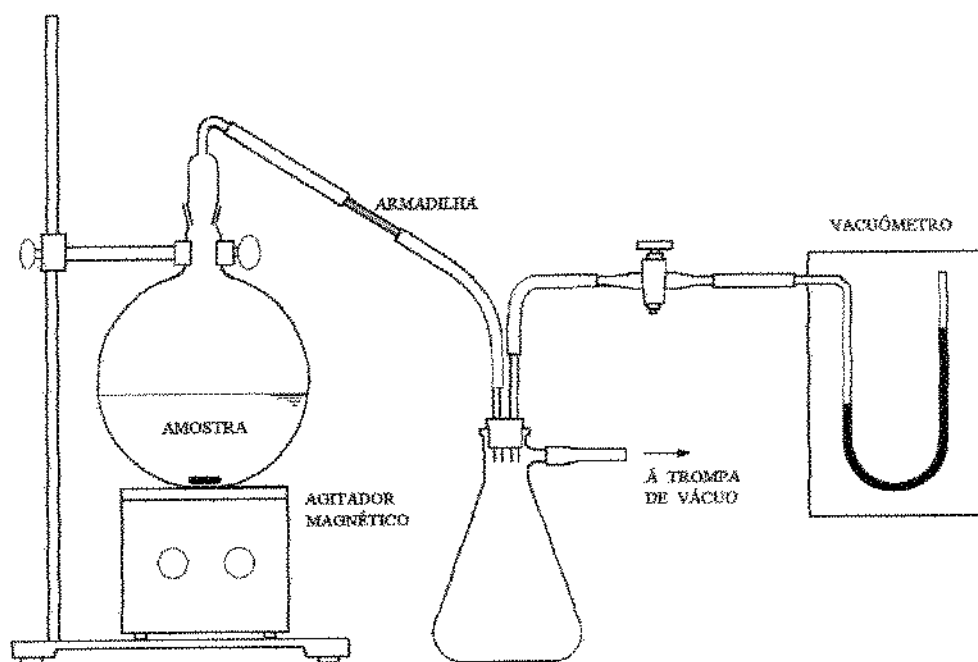


Figura 1. Ilustração da técnica de isolamento dos compostos voláteis presentes no "headspace" da amostra.

4.3.1 Análise Instrumental

Acetona (Carlo Erba, grau cromatográfico) e n-hexano (Carlo Erba, grau cromatográfico) foram utilizados separadamente para eluição dos compostos voláteis do suco de umbu capturados em armadilhas de Porapak Q por um tempo de duas horas. Os isolados obtidos foram confrontados quanto à capacidade de eluição dos compostos voláteis observando a quantidade e proporção dos picos nos respectivos cromatogramas. Um volume de 2 μ l foi recolhido dos isolados para a injeção no cromatógrafo a gás Varian, modelo 3300, equipado com injetor tipo splitless à 200°C (período splitless de 30 seg.), coluna capilar SE-54 (50 m x 0,32 μ m x 0,22 mm), detetor de ionização em chama à 250°C e integrador Varian modelo 4290. Um branco também foi analisado afim de verificar a pureza do solvente e do polímero poroso. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 1,0 ml / min e o nitrogênio como gás suplementar.

4.3.2 Análise Sensorial

4.3.2.1 Seleção de Provadores

Quinze provadores foram avaliados quanto à capacidade de discriminação da intensidade do aroma característico de suco de umbu. Três amostras, diluídas em água, de suco de umbu (1:2, 1:30 e 1:50) foram apresentadas a cada um dos provadores juntamente com uma ficha (figura 2) para a avaliação da intensidade do aroma característico umbu presente em cada amostra. Cada amostra, contendo 30 ml, foi codificada com números de três dígitos e oferecida aos provadores em cálices, tipo tulipa, envolvidos em papel alumínio e tampados com vidro de relógio. A avaliação sensorial foi efetuada em cabines individuais sob luz vermelha. O teste foi realizado em triplicata para todos os provadores. O conjunto de dados de cada provador foi tratado por análise da variância, estabelecendo-se os valores dos níveis de significância (p) de Famostra e Frepetição. Provadores que mostraram consenso com a equipe sensorial e apresentaram p para Famostra $\leq 0,30$ e para Frepetição $> 0,05$ foram selecionados para julgar sensorialmente a intensidade do aroma característico de suco de umbu.

Nome	Data
Por favor, avalie o odor de cada amostra codificada e quantifique, utilizando as escalas abaixo, a intensidade do aroma característico de suco de umbu	
Amostra	
_____	_____
	Fraco Forte
_____	_____
	Fraco Forte
_____	_____
	Fraco Forte

Figura 2. Ficha para seleção dos provadores aptos a compor a equipe sensorial.

4.3.2.2 Padronização do Tempo de Captura

Isolados dos compostos voláteis foram obtidos em quatro diferentes tempos de captura: 0,5, 1,0, 2,0 e 3,0 horas. Os provadores selecionados avaliaram sensorialmente a intensidade do aroma característico de umbu em cada isolado em quatro repetições. As diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as intensidades de aroma em cada isolado foram verificadas utilizando análise da variância com teste de Tukey ($p < 0,05$). O tempo de captura que produziu o isolado com maior intensidade de aroma característico de umbu foi considerado apropriado.

4.4 Separação por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

Os compostos voláteis dos diferentes sucos de umbu foram isolados nas condições padronizadas conforme o item 4.3. Um volume de 2 μL , dos respectivos isolados, foi recolhido para a injeção no cromatógrafo gasoso Varian, modelo 3300, equipado com injetor tipo splitless à 200°C (período splitless de 30 seg.) e coluna capilar com fase líquida SE-54 (50 m x 0,32 μm x 0,22 mm), mantida inicialmente à 50°C por 10 minutos e aquecida até 180°C à 3°C por minuto. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a 50 cm / seg. e o nitrogênio como gás suplementar. O detetor de ionização de chama à 250°C, foi alimentado com fluxos de H_2 , N_2 e ar sintético ultra-puros na proporção relativa de 1:1:10. Os cromatogramas foram registrados no integrador Varian, modelo 4290, programado com atenuação 16, velocidade do papel a 0,5 cm / seg. e área de integração mínima de 5000 ua.

4.5 Identificação dos Compostos Voláteis

A identificação dos compostos voláteis foi realizada por espectrometria de massas, índice de retenção de Kováts e co-eluição com os padrões puros disponíveis. Os espectros de massas foram obtidos no CGEM Shimadzu, modelo QP-5000, equipado com injetor tipo splitless à 200°C (período splitless de 30 seg), coluna capilar CBP1 (50m x 0,25 μm x 0,22mm) mantida a 50°C por 10 minutos e aquecida até 180°C à 3°C por minuto, interface direta a 230°C, fonte de ionização por feixe de elétrons a 70 eV e varredura entre 35 a 350 m/z.

Os índices de retenção de Kováts foram obtidos no cromatógrafo gasoso equipado com detetor de ionização de chama. A temperatura da coluna capilar SE-54 (50 m x 0,32 μ m x 0,22 mm) foi elevada de 80°C até 200°C à 2°C por minuto. Os cálculos foram obtidos graficamente plotando o logaritmo do tempo de retenção corrigido dos padrões de alcanos C10, C12, C14, C16 e C18 versus o número de átomos de carbonos dos respectivos padrões de alcanos, multiplicado por 100. A equação da curva foi utilizada para calcular os índices de retenção de Kováts dos compostos voláteis do suco de umbu.

4.6 Análise Sensorial

4.6.1 Avaliação Sensorial de Efluentes Cromatográficos: "GC-Sniffing"

Um divisor posicionado na saída da coluna cromatográfica promoveu a distribuição do fluxo do efluente entre um tubo de sílica fundida desativada e o detetor de ionização de chama. O tubo de sílica permitiu a olfação dos compostos voláteis por provadores previamente selecionados (item 4.3.2.1), enquanto os picos eram simultaneamente detectados e registrados pelo cromatógrafo.

4.6.2 Análise Descritiva Quantitativa

Sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu foram submetidos a uma avaliação sensorial por análise descritiva quantitativa (STONE et alii, 1974). O método compreendeu os procedimentos a seguir.

4.6.2.1. Seleção dos Provadores

Foi aplicado um teste triangular servindo-se aos provadores as amostras combinadas duas a duas em quatro repetições. Provadores com 75% de acerto em suas respostas foram selecionados para a etapa de levantamento de termos descritivos.

4.6.2.2 Levantamento de Descritores Sensoriais

Foi solicitado aos provadores anteriormente selecionados, descreverem com seu próprio vocabulário, as semelhanças e diferenças entre duas amostras de sucos de umbu, utilizando a ficha ilustrada na figura 3.

Nome	Data
Por favor, avalie comparativamente as amostras e descreva as similaridades e diferenças entre elas quanto a aparência, aroma, sabor e textura.	
Amostras _____ e _____	
Similaridades e Diferenças	
Aparência	
Aroma	
Sabor	
Textura	

Figura 3. Ficha para levantamento de descritores sensoriais.

Os descritores sensoriais citados individualmente pelos provadores foram discutidos pela equipe e consensualmente selecionados e definidos pelos provadores. A intensidade de cada descritor sensorial selecionado foi avaliada em cada amostra através de uma ficha de avaliação construída em escala não-estruturada de 9,0 cm (0,0 = fraco e 9,0 = forte). A ficha de avaliação elaborada foi empregada no treinamento dos provadores, seleção dos provadores e avaliação final das amostras. Os materiais de referência dos extremos de intensidade de cada descritor sensorial selecionado, também foram definidos de forma consensual.

4.6.2.3 Seleção de Provadores

Na etapa da seleção, os provadores avaliaram as amostras de suco de umbu em três repetições, utilizando a ficha de avaliação sensorial previamente elaborada. Os dados obtidos de cada provador foram submetidos a uma análise da variância afim de se verificar a habilidade discriminatória de cada provador, sua repetibilidade e coerência com a equipe sensorial. Provadores que apresentaram um nível de significância (p) para $F_{amostra} \leq 0,30$ e para $F_{repetição} > 0,05$, e consenso com a equipe, foram selecionados a julgar sensorialmente os descritores que caracterizam o suco de umbu.

4.6.2.5 Perfil Sensorial das Amostras

Os provadores definitivamente selecionados foram solicitados a avaliarem sensorialmente as amostras em três repetições usando a ficha de avaliação elaborada. Os dados foram submetidos a análise da variância com fontes de variação (amostra, provador, amostra-provador), teste de Tukey ($p < 0,05$) para comparação de médias, gráfico aranha e análise de componentes principais, utilizando-se do programa SAS (1989).

4.6.3. Testes de Aceitação

O grau de aceitação das amostras em função da aparência e do sabor dos sucos da polpa congelada e da fruta congelada foram avaliados sensorialmente por 30 provadores não treinados, consumidores potenciais do produto, utilizando a fichas mostradas nas figuras 4 e 5. Os dados foram submetidos a análise da variância e as respectivas médias comparadas por teste de Tukey ($p < 0,05$).

Nome: _____	Data: _____
1. Por favor, prove o suco de umbu e utilize a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou não do SABOR da amostra. 9 Gostei muitíssimo 8 Gostei muito 7 Gostei moderadamente 6 Gostei ligeiramente 5 Nem gostei / Nem desgostei 4 Desgostei ligeiramente 3 Desgostei moderadamente 2 Desgostei muito 1 Desgostei muitíssimo Amostra _____ _____ Nota _____ _____	
2. Por favor, cite o que você mais gostou ou menos gostou em cada amostra. Amostra _____ + Gostei _____ - Gostei _____ Amostra _____ + Gostei _____ - Gostei _____	

Figura 4. Ficha utilizada em teste de aceitação do sabor das amostras.

Nome:		Data:	
Por favor, utilize a escala abaixo para avaliar o quanto você gostou ou desgostou da APARÊNCIA de cada suco.			
9 Gostei muitíssimo			
8 Gostei muito			
7 Gostei moderadamente			
6 Gostei ligeiramente			
5 Nem gostei / Nem desgostei			
4 Desgostei ligeiramente			
3 Desgostei moderadamente			
2 Desgostei muito			
1 Desgostei muitíssimo			
Amostra	_____	Nota	_____
	_____		_____

Figura 5. Ficha utilizada em teste de aceitação da aparência das amostras

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Padronização do Isolamento dos Compostos Voláteis por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução

5.1.1 Escolha do Solvente de eluição

Acetona e n-hexano foram separadamente empregados para a eluição dos compostos voláteis da armadilha de Porapak Q. A figura 6 reproduz os cromatogramas obtidos dos isolados eluídos respectivamente com esses solventes. As proporções relativas dos compostos voláteis foi mantida em ambos isolados, fornecendo um perfil cromatográfico idêntico com pequenas variações nas intensidades de alguns picos, indicando que os dois solventes podem ser igualmente utilizados para a eluição dos compostos voláteis de umbu. Devido aos artefatos provenientes da acetona, n-hexano foi selecionado como o solvente orgânico mais apropriado para a eluição dos compostos voláteis de interesse.

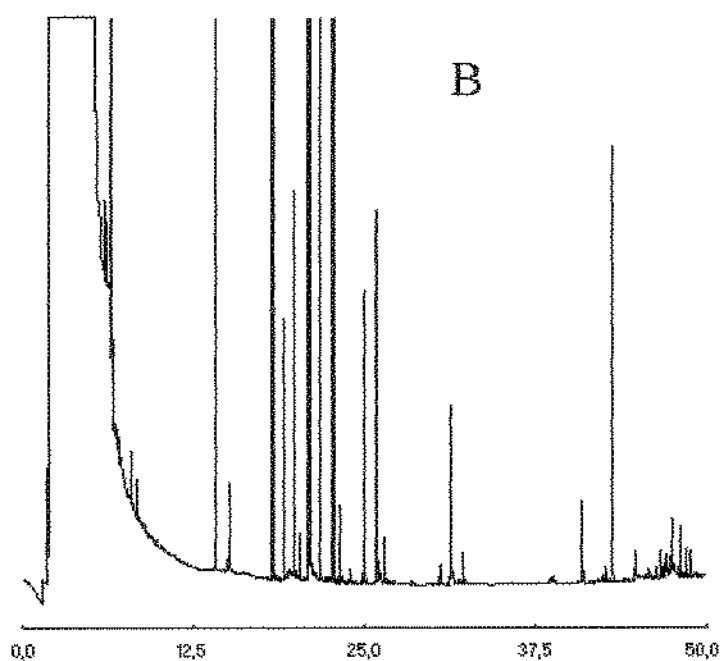
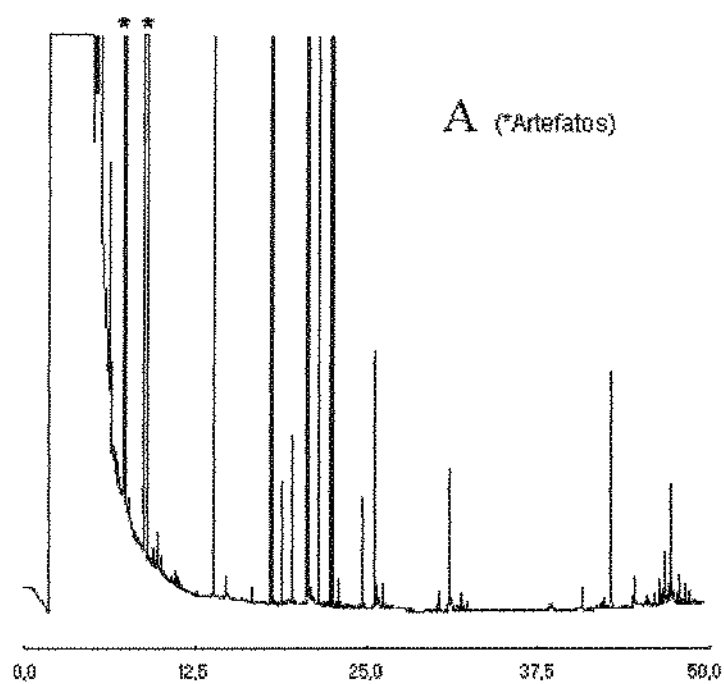


Figura 6. Cromatogramas dos compostos voláteis de umbu após eluição com (A) 300 µL de acetona e (B) 300 µL de hexano.

5.1.2 Escolha do Tempo de Captura

Os cromatogramas das figuras 7 e 8 apresentam o perfil dos compostos voláteis obtidos após os tempos de captura de 0,5, 1, 2 e 3 horas. Foram observadas nítidas diferenças entre os cromatogramas com um aumento do tempo de captura, evidenciados tanto pela quantidade de picos como pela intensidade relativa dos picos presentes.

As pequenas setas acima dos picos dos cromatogramas das figuras 7 e 8 indicam aumento (↑) ou diminuição (↓) da área do pico. Com o aumento do tempo de captura de 0,5 hora para 1,0 hora, observou-se um aumento da área dos compostos eluindo no final do cromatograma, ou seja, dos compostos voláteis de maior ponto de ebulição. O fato do primeiro pico no cromatograma de 1,0 hora ter diminuído um pouco em relação ao de 0,5 hora, não indica uma passagem do composto pelo polímero poroso, pois dessa forma, seria esperada uma diminuição deste composto nos demais cromatogramas com tempos de captura de 2,0 e 3,0 horas. Evidentemente isto não ocorreu, e a pequena variação na área deste pico nos cromatogramas da figura 7 pode ser explicada devido à dificuldade na reprodução do mesmo volume injetado de 2,0 µL das amostras.

Apesar deste erro experimental, as figuras 7 e 8 evidenciam claramente um aumento das áreas dos compostos voláteis de maior ponto de ebulição com o aumento do tempo de captura. Isto pode ser observado para os cromatogramas obtidos com tempos de captura de 0,5 h, 1,0 h e 2,0 h. Para o cromatograma obtido com 3,0 horas de captura, algumas modificações acentuadas nas áreas dos respectivos picos assinalados demonstram alterações na composição original de voláteis, o que poderia acarretar uma descaracterização do aroma do isolado de umbu obtido com esse tempo de captura. Dessa forma, pela análise instrumental pode-se sugerir um tempo de captura ótimo igual a 2,0 horas. Para verificar se de fato ocorreu alguma alteração no aroma característico de umbu, todos os isolados obtidos nos diferentes tempos de captura foram submetidos à avaliação sensorial.

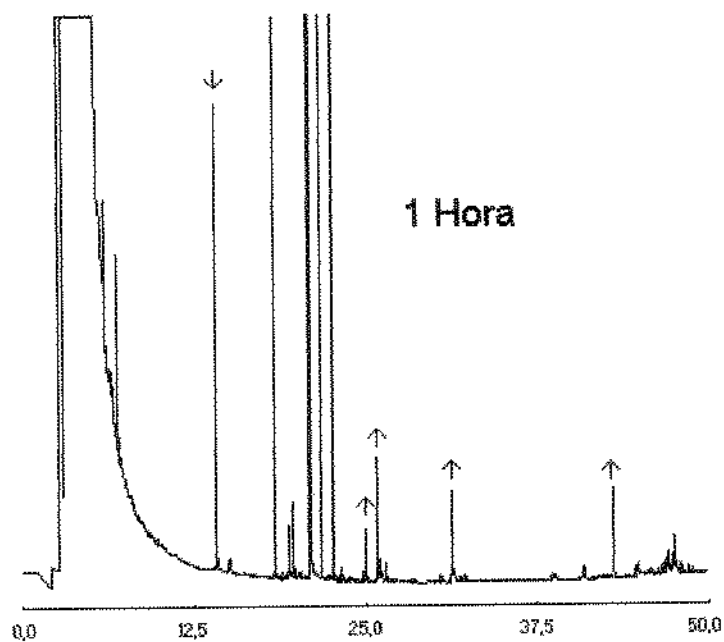
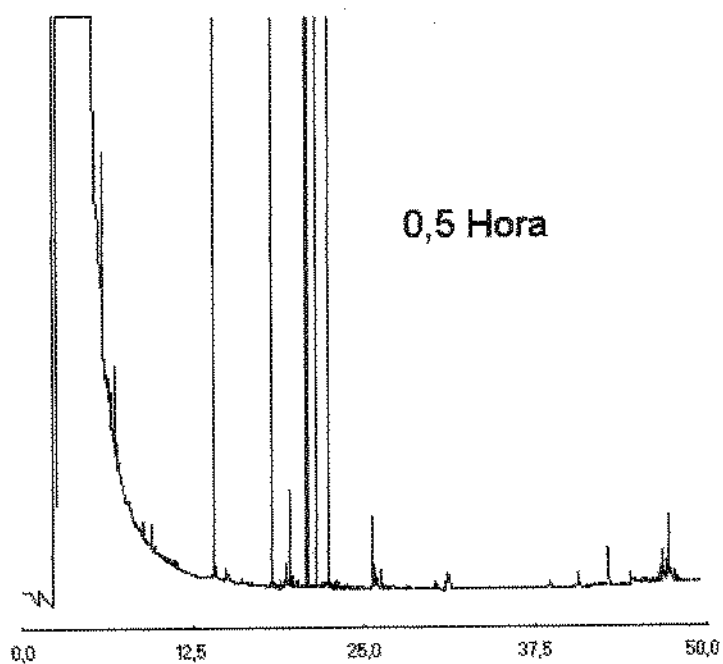


Figura 7. Comparação dos cromatogramas dos compostos voláteis de umbu obtidos após captura por 0,5 e 1 hora. As pequenas setas acima dos picos do cromatograma indicam aumento (↑) ou diminuição (↓) da área do pico.

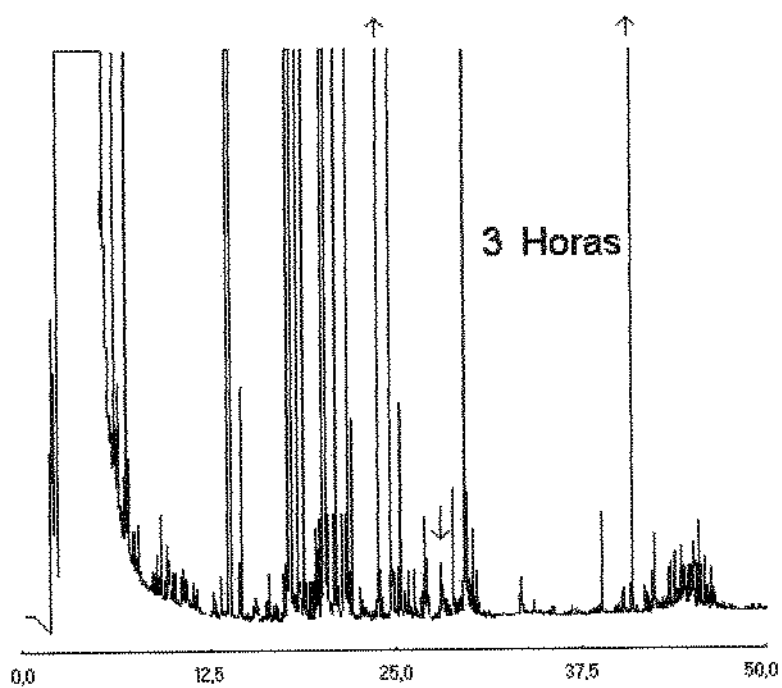
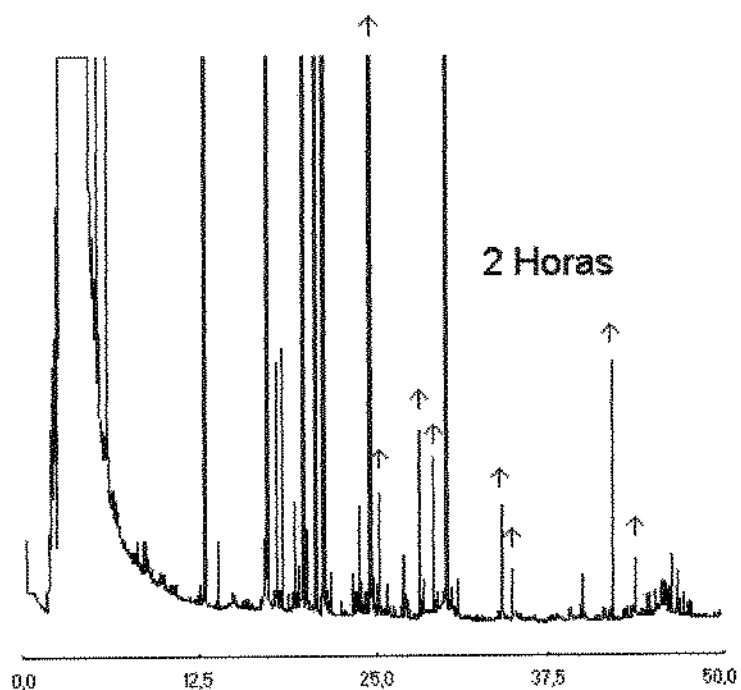


Figura 8. Comparação dos cromatogramas dos compostos voláteis de umbu obtidos após captura por 2 e 3 horas. As pequenas setas acima dos picos dos cromatogramas indicam aumento (↑) ou diminuição (↓) da área do pico.

5.2 Padronização do Isolamento dos Compostos Voláteis por Análise Sensorial

5.2.1 Seleção dos Provadores

A tabela 1 apresenta os parâmetros utilizados para selecionar os provadores capacitados a otimizarem as condições de captura dos compostos voláteis presentes no "headspace" do suco de umbu (*Spondias tuberosa*).

Tabela 1. Níveis de significância (p) de $F_{amostra}$, $F_{repetição}$ e médias de intensidades de aroma característico de umbu obtido por provadores nos testes de seleção

Provadores ²	Nível de Significância (p)		Média dos Provadores ¹		
	F amostra	F repetição	Suco 1:2	Suco 1:5	Suco 1:10
1	0,343	0,025	5,57	6,20	5,20
2	0,115	0,870	2,53	2,63	1,17
3	0,221	0,334	6,83	4,93	3,97
4	0,396	0,972	6,67	4,60	3,33
5	0,001	0,033	5,40	1,77	1,80
6	0,050	0,729	6,43	5,13	1,43
7	0,649	0,442	7,23	8,10	7,00
8	0,011	0,333	4,20	3,00	0,83
9	0,197	0,311	3,37	4,07	0,80
10	0,061	0,016	7,07	6,40	5,17
11	0,282	0,114	3,43	4,60	2,50
12	0,205	0,347	4,47	3,23	1,67
13	0,008	0,116	6,60	2,93	0,90
14	0,017	0,289	4,90	4,57	1,83
15	0,029	0,888	5,43	5,27	2,43
Média da equipe ³			5,33 A	4,51 B	2,67 C

1. Médias de quatro repetições utilizando escala não estruturada de 9,0 cm (0 = fraco e 9,0 = forte).

2. Os provadores selecionados estão grifados.

3. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

De acordo com a tabela 1 provadores 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, e 15 apresentaram níveis de significância (p) para $F_{amostra} \leq 0,30$. Entres os citados, os provadores 5 e 10 mostraram um baixo índice de repetibilidade das notas atribuídas ao aroma característico de umbu. Afim de refinar a seleção da equipe sensorial

foram registradas as médias de cada provador e a média da equipe sensorial para cada amostra de suco. Confrontando os valores tabelados foi observado uma discordância dos provadores 2, 9 e 11 com a equipe sensorial. Portanto, os provadores 1, 2, 4, 5, 7, 9, 10 e 11 foram eliminados. Dessa forma, baseado no poder de discriminação das amostras, na repetibilidade das notas e na concordância com a equipe sensorial, os provadores 3, 6, 8, 12, 13, 14 e 15 foram escolhidos para julgar sensorialmente o aroma característico de umbu.

O consenso entre os provadores selecionados foi confirmada por uma análise da variância contendo a interação amostra-provador. Um nível de significância (p) para $F_{\text{amostra-provador}} > 0,05$ indicou ausência de interação entre as fontes de variação.

5.2.2 Análise Sensorial dos Isolados com Diferentes Tempos de Captura

A equipe sensorial selecionada e treinada (item 5.2.1), avaliou a intensidade do aroma dos isolados coletados em diferentes tempos. Conforme indicam os dados da tabela 2, foi estabelecido um tempo de captura ótimo igual a 2,0 horas, o qual apresentou uma intensidade de aroma característico de umbu, superior e significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos isolados capturados em 0,5, 1,0 e 3,0 horas.

Tabela 2. Intensidades de aroma característico de umbu nos isolados obtidos em diferentes tempos de captura.

Tempo de captura (h)	Intensidade média do aroma ^{1,2}
0,5	1,42 ^d
1	2,51 ^c
2	4,56 ^a
3	3,80 ^b

1. Médias de quatro repetições utilizando escala não-estruturada de 9,0 cm (0 = fraco e 9,0 = forte).

2. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

A amostra-referência utilizada no extremo "fraco" da escala corresponde aroma ao aroma do suco da polpa congelada de umbu 1:10 em água, e a do extremo "forte" corresponde ao aroma da polpa de umbu descongelada, sem adição de água. Como os isolados avaliados pelos provadores foram obtidos a partir do suco de umbu 1:5 em água, a média de aroma obtida para o tempo de captura de 2,0 horas, indicou um isolado fidedigno e representativo do aroma da fruta. Nota-se que a média 4,56 foi muito próximo ao ponto central da escala sensorial.

Portanto, foi estabelecido um tempo de captura ótimo igual a duas horas e n-hexano foi selecionado como solvente adequado para a eluição dos compostos voláteis adsorvidos em Porapak Q, o que conferiu ao isolado obtido nestas condições, um aroma característico de umbu.

5.3 Porcentagens Relativas dos Compostos Voláteis Presentes no "Headspace" de Diferentes Sucos de Umbu

5.3.1 Suco da Fruta Fresca

Quarenta e quatro compostos voláteis presentes no "headspace" do suco de umbu foram separados e detectados por cromatografia gasosa de alta resolução. O cromatograma dos compostos voláteis do suco da fruta fresca está apresentado na figura 9. A tabela 3 mostra as porcentagens médias de área dos compostos voláteis do lote estudado da safra de 1997.

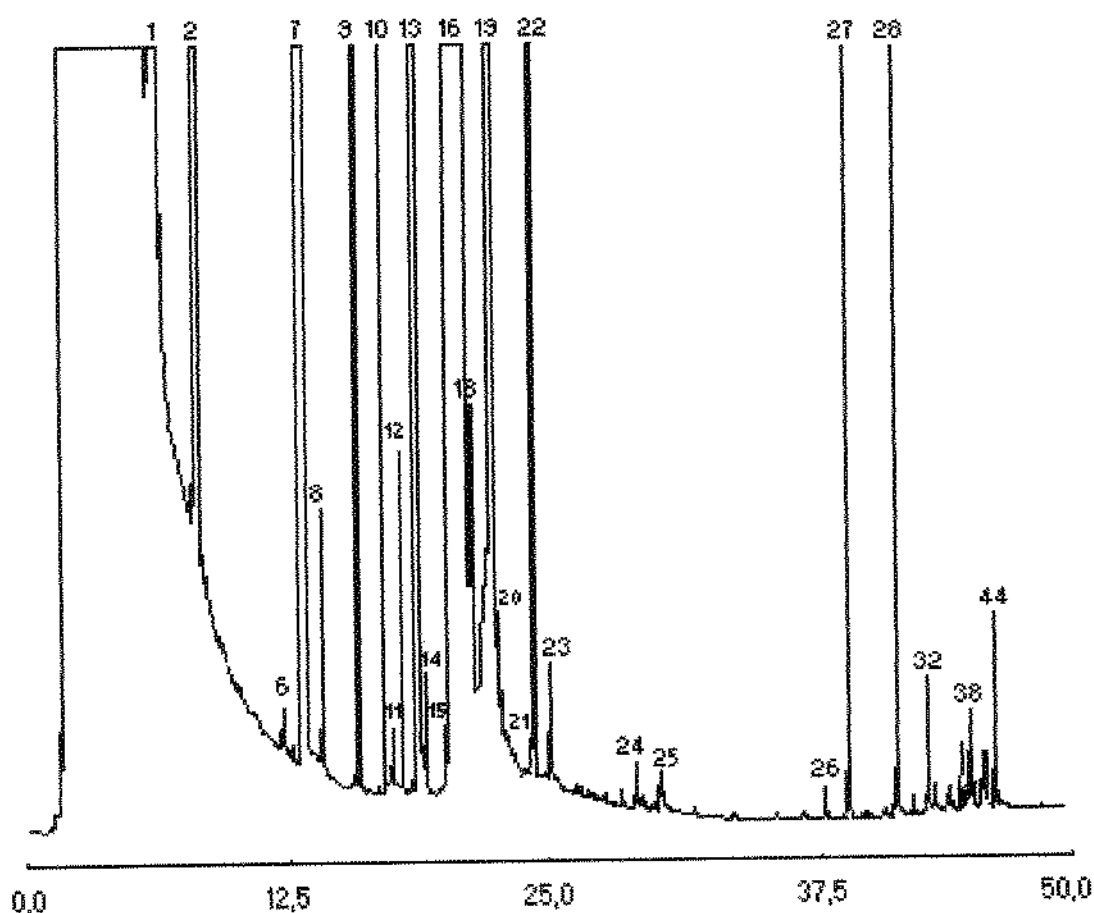


Figura 9. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco de umbu fresco (*Spondias tuberosa*). Coluna capilar SE-54 mantida por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min.

Tabela 3. Porcentagens de área dos compostos voláteis do suco da fruta fresca.

Pico	% área ± desvio padrão ¹	Pico	% área ± desvio padrão ¹
1	0,62 ± 0,01	23	0,18 ± 0,02
2	0,25 ± 0,07	24	traço
3	5,65 ± 0,64	25	traço
4	0,28 ± 0,02	26	traço
5	0,52 ± 0,08	27	1,05 ± 0,20
6	1,26 ± 0,15	28	1,03 ± 0,19
7	16,4 ± 1,3	29	traço
8	0,22 ± 0,04	30	traço
9	2,42 ± 0,01	31	0,15 ± 0,02
10	1,06 ± 0,01	32	0,03 ± 0,01
11	0,59 ± 0,16	33	0,06 ± 0,01
12	0,48 ± 0,02	34	0,08 ± 0,01
13	6,20 ± 0,14	35	0,08 ± 0,02
14	0,10 ± 0,01	36	traço
15	0,63 ± 0,02	37	traço
16	50,9 ± 1,1	38	0,06 ± 0,01
17	traço	39	traço
18	0,54 ± 0,53	40	traço
19	9,05 ± 0,48	41	traço
20	0,05 ± 0,01	42	traço
21	traço	43	0,16 ± 0,15
22	1,83 ± 0,10	44	0,20 ± 0,02

1. Duplicatas.

A soma das porcentagens da área dos picos 3, 7, 9, 13, 16 e 19 representaram em média, 90% da porcentagem total das áreas, onde o pico 16 contribuiu com 50% e o pico 7 com 16% de área relativa, sendo, portanto, considerados picos majoritários. Os picos 6, 10, 22, 27 e 28, com porcentagens de área em torno de 1%, somaram em média, 6% da porcentagem total das áreas. Vinte picos com porcentagens da área abaixo de 1% somaram em média 5% da porcentagem total das áreas e os outros treze picos restantes foram detectados como traço.

O cromatograma obtido do suco da fruta fresca, proveniente do único lote analisado da safra de umbu de 1997, apresentou um perfil cromatográfico semelhante aos cromatogramas obtidos nas análises dos sucos da fruta congelada e da polpa congelada dos lotes procedentes da safra de 1996.

5.3.2 Suco da Fruta Congelada

O cromatograma característico dos compostos voláteis do suco da fruta congelada de umbu, obtido nos 3 lotes analisados, está apresentado na figura 10. A tabela 4 indica a porcentagem relativa dos compostos voláteis de umbu nos 3 lotes estudados durante a safra de 1996.

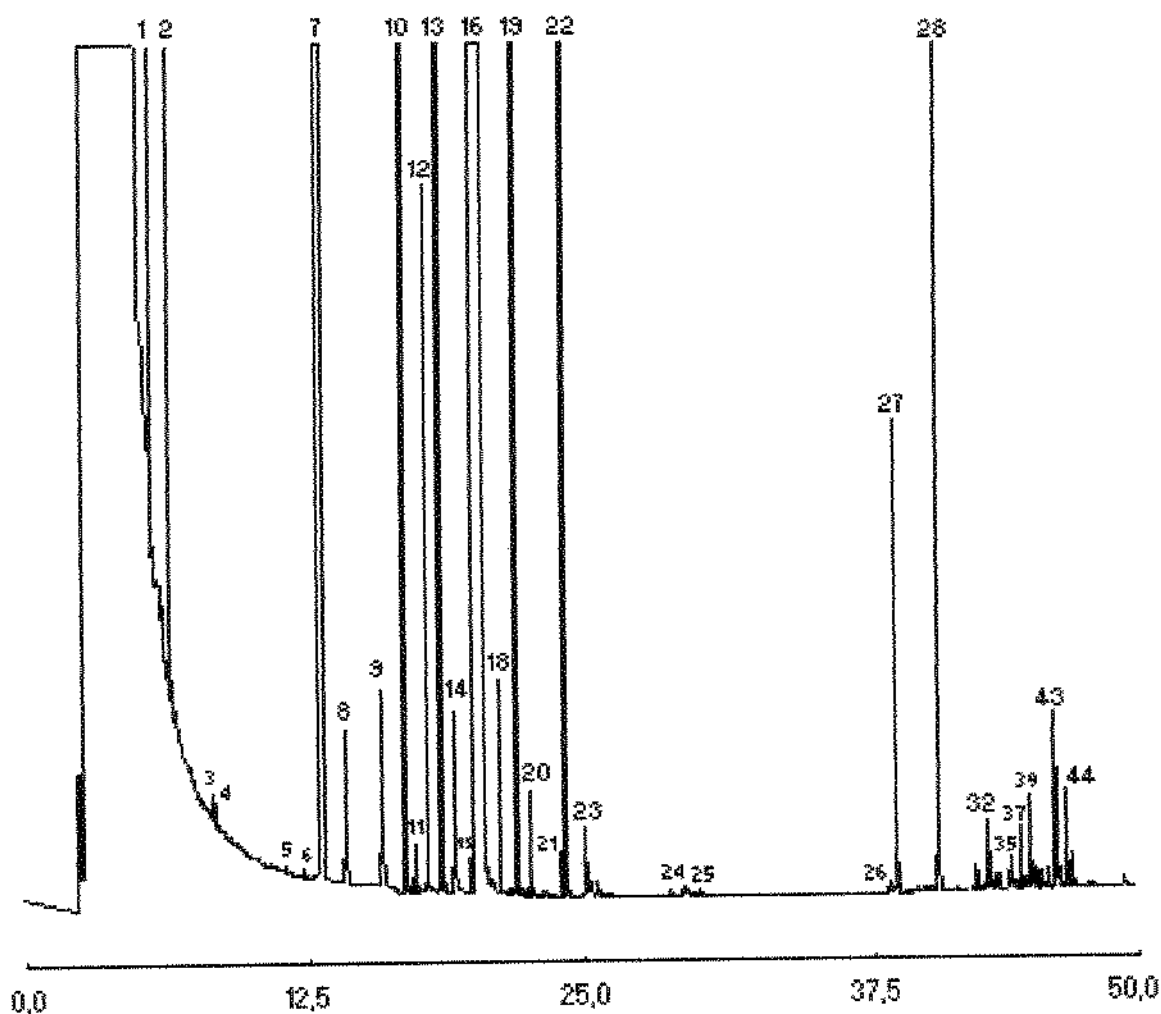
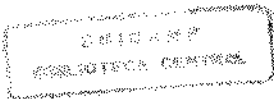


Figura 10. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco da fruta congelada de umbu (*Spondias tuberosa*). Coluna capilar SE-54 mantida por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min.

Tabela 4. Porcentagens de área dos compostos voláteis do suco da fruta congelada.

Porcentagem de área $\pm$ desvio padrão ¹				
Pico	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média ou Amplitude
1	0,56 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,17
2	1,50 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,01	2,17 $\pm$ 0,02	1,34 $\pm$ 0,92
3	traço	traço	traço	---
4	traço	traço	traço	---
5	traço	traço	traço	---
6	traço	traço	traço	---
7	7,85 $\pm$ 0,05	15,00 $\pm$ 0,20	7,48 $\pm$ 0,05	10,11 $\pm$ 4,23
8	0,14 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,02
9	0,17 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,20 $\pm$ 0,04	0,16 $\pm$ 0,05
10	1,76 $\pm$ 0,01	1,71 $\pm$ 0,01	2,11 $\pm$ 0,07	1,86 $\pm$ 0,22
11	0,05 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,06
12	0,91 $\pm$ 0,01	0,65 $\pm$ 0,01	1,92 $\pm$ 0,01	1,16 $\pm$ 0,67
13	5,97 $\pm$ 0,01	11,2 $\pm$ 0,20	22,90 $\pm$ 0,10	13,40 $\pm$ 8,60
14	0,16 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01	0,51 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,08
15	0,04 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,03
16	72,10 $\pm$ 0,10	60,00 $\pm$ 0,40	45,8 $\pm$ 0,02	59,30 $\pm$ 13,16
17	não detectado	não detectado	traço	não detectado - traço
18	0,15 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,12
19	4,62 $\pm$ 0,01	3,05 $\pm$ 0,01	7,79 $\pm$ 0,01	5,15 $\pm$ 2,41
20	0,07 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,02
21	traço	0,06 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,04
22	1,60 $\pm$ 0,01	3,05 $\pm$ 0,10	6,15 $\pm$ 0,03	3,60 $\pm$ 2,30
23	0,05 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,03
24	traço	traço	traço	---
25	traço	traço	traço	---
26	traço	traço	traço	---
27	0,48 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,01	0,40 $\pm$ 0,01	0,42 $\pm$ 0,05
28	1,00 $\pm$ 0,01	0,75 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,01	0,84 $\pm$ 0,14
29	traço	traço	traço	---
30	traço	0,55 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,55
31	0,08 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01
32	traço	0,02 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,02
33	traço	0,02 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,02
34	0,06 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,03
35	traço	0,03 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,03
36	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	traço	0,05 $\pm$ 0,01
37	traço	0,03 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,03
38	0,12 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,03
39	traço	0,03 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,03
40	traço	0,04 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,04
41	traço	0,03 $\pm$ 0,01	traço	traço -- 0,03
42	não detectado	0,04 $\pm$ 0,01	não detectado	não detectado - 0,04
43	0,20 $\pm$ 0,01	0,46 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,17
44	0,12 $\pm$ 0,01	0,34 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,12

1. Duplicatas.



Os picos 7, 13, 16, 19 e 22 perfizeram em média 90% da porcentagem total das áreas e foram os principais picos observados nos cromatogramas dos 3 lotes. O pico 16 foi o majoritário em todos os cromatogramas, mas em dois lotes os picos 16, 7, 13, 19 e 22 apresentaram áreas relativas maiores. No outro lote, o pico 16, apesar de ser majoritário, apresentou uma média menor de área relativa. O pico 13 apresentou a segunda maior área relativa, seguido respectivamente pelos picos 19, 7 e 22.

A análise estatística univariada mostrou que os lotes diferiram entre si. Em um dos lotes, o pico 16 foi significativamente maior do que nos demais. Em outro lote, os picos 13, 14, 19 e 22 apresentaram áreas relativas significativamente maiores. Os demais picos não mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) de áreas entre os lotes da fruta congelada estudados.

5.3.3 Suco da Polpa Congelada

As porcentagens relativas de áreas dos compostos voláteis do suco da polpa congelada de umbu são mostrados na tabela 5. A figura 11 apresenta o cromatograma característico do suco da polpa congelada de umbu, obtido nos 3 lotes estudados.

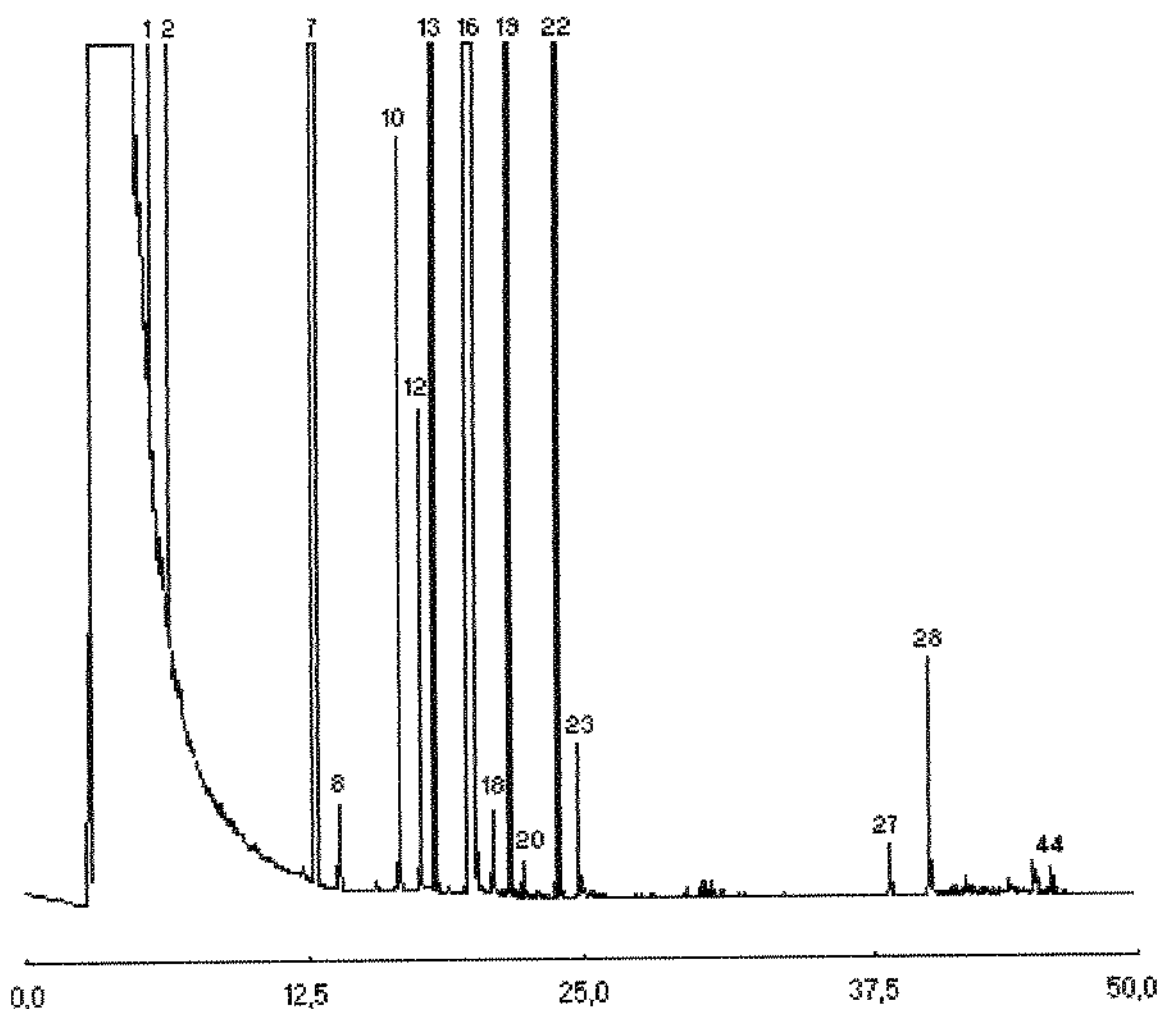


Figura 11. Cromatograma característico dos compostos voláteis do suco da polpa congelada de umbu (*Spondias tuberosa*). Coluna capilar SE-54 mantida por 50°C a 10 minutos e aquecida até 180°C a 3°C / min.

Tabela 5. Porcentagens de área dos compostos voláteis da polpa congelada de umbu.

Porcentagem de área $\pm$ desvio padrão¹

Pico	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média ou Amplitude
1	0,68 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,01	0,44 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,14
2	1,51 $\pm$ 0,01	1,18 $\pm$ 0,05	1,61 $\pm$ 0,01	2,43 $\pm$ 1,51
3	não detectado	traço	0,23 $\pm$ 0,01	traço -- 0,23
4	não detectado	0,35 $\pm$ 0,18	0,06 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,13
5	não detectado	traço	0,95 $\pm$ 0,01	traço -- 0,95
6	traço	traço	traço	---
7	9,03 $\pm$ 0,13	7,65 $\pm$ 0,01	9,58 $\pm$ 0,05	8,75 $\pm$ 0,99
8	0,15 $\pm$ 0,02	traço	0,14 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02
9	traço	traço	0,69 $\pm$ 0,05	traço -- 0,69
10	2,07 $\pm$ 0,01	2,15 $\pm$ 0,01	2,25 $\pm$ 0,04	2,15 $\pm$ 0,90
11	traço	traço	0,69 $\pm$ 0,03	traço -- 0,69
12	1,33 $\pm$ 0,05	2,10 $\pm$ 0,03	1,13 $\pm$ 0,03	1,52 $\pm$ 0,51
13	10,00 $\pm$ 0,10	10,00 $\pm$ 0,20	11,40 $\pm$ 0,10	10,45 $\pm$ 0,81
14	0,27 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,03
15	0,57 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,01	0,67 $\pm$ 0,02	0,53 $\pm$ 0,16
16	64,80 $\pm$ 0,20	58,7 $\pm$ 0,10	61,40 $\pm$ 0,10	61,60 $\pm$ 3,06
17	não detectado	não detectado	não detectado	não detectado - traço
18	0,21 $\pm$ 0,01	traço	0,25 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,02
19	5,21 $\pm$ 0,01	5,97 $\pm$ 0,01	5,58 $\pm$ 0,06	5,59 $\pm$ 0,38
20	traço	traço	0,12 $\pm$ 0,01	traço -- 0,12
21	traço	traço	0,07 $\pm$ 0,01	traço -- 0,07
22	2,99 $\pm$ 0,02	3,81 $\pm$ 0,01	3,45 $\pm$ 0,05	3,41 $\pm$ 0,41
23	0,42 $\pm$ 0,04	0,96 $\pm$ 0,04	0,51 $\pm$ 0,02	0,51 $\pm$ 0,02
24	traço	0,34 $\pm$ 0,01	traço	traço - 0,34
25	não detectado	não detectado	não detectado	---
26	traço	traço	traço	---
27	0,15 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	0,21 $\pm$ 0,09
28	0,76 $\pm$ 0,06	1,09 $\pm$ 0,03	0,64 $\pm$ 0,01	0,83 $\pm$ 0,23
29	não detectado	traço	traço	não detectado - traço
30	não detectado	traço	traço	não detectado - traço
31	traço	traço	0,06 $\pm$ 0,01	traço -- 0,06
32	não detectado	não detectado	traço	não detectado - traço
33	não detectado	não detectado	traço	não detectado - traço
34	traço	traço	traço	---
35	não detectado	não detectado	traço	não detectado - traço
36	traço	traço	traço	---
37	não detectado	não detectado	traço	não detectado - traço
38	traço	traço	0,06 $\pm$ 0,01	traço -- 0,06
39	não detectado	não detectado	traço	---
40	traço	traço	0,08 $\pm$ 0,01	traço -- 0,08
41	traço	traço	traço	---
42	não detectado	não detectado	não detectado	---
43	0,10 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01
44	traço	traço	0,56 $\pm$ 0,01	traço -- 0,56

1. Duplicatas.

Os picos 16, 13, 7, 19 e 22 apresentaram maior porcentagem relativa, respectivamente em ordem decrescente, nos 3 lotes estudados da polpa congelada de umbu. A soma das áreas relativas desses cinco picos, resultaram em média 90% da porcentagem total das áreas.

Na comparação entre os lotes da polpa congelada de umbu, um dos lotes apresentou áreas significativamente menores ($p < 0,05$) para os picos 2, 7, 15 e 16, e também áreas significativamente maiores ($p < 0,05$) para os picos 19, 22, 23, 27 e 28.

5.3.4 Comparação das Porcentagens Relativas Entre os Sucos da Fruta Congelada e da Polpa Congelada

As porcentagens médias de áreas dos 44 compostos voláteis apontaram variações entre os sucos obtidos do mesmo lote e variações entre sucos obtidos de lotes diferentes, fatos observados para a fruta congelada e para a polpa congelada provenientes da safra de umbu de 1996. As medidas mostraram uma variação maior nos sucos da fruta congelada, indicado pelo coeficiente de variação médio igual a 36%. O suco da polpa congelada apresentou lotes mais homogêneos e um coeficiente de variação médio igual a 28%.

Para o suco da fruta fresca, apenas um único lote da safra de 1997 foi estudado, o que estabelece uma média pouco representativa da amostra, e consequentemente inviabiliza uma comparação estatística confiável frente aos dados dos sucos da fruta congelada e da polpa congelada. Portanto, a análise estatística foi aplicada apenas às porcentagens relativas dos sucos da fruta congelada e da polpa congelada, conforme mostram os dados da tabela 6.

Tabela 6 . Comparação das porcentagens de áreas relativas dos compostos voláteis presentes nos sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu.

Picos ²	Média ± Desvio Padrão ¹	
	Suco da Fruta Congelada	Suco da Polpa Congelada
1	0,53 ± 0,17	0,60 ± 0,14
2	1,34 ± 0,92	2,43 ± 1,51
7	10,11 ± 4,23	8,75 ± 0,99
10	1,86 ± 0,22	2,15 ± 0,90
8	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,02
12	1,16 ± 0,67	1,52 ± 0,51
13	13,40 ± 8,60	10,45 ± 0,81
14	0,30 ± 0,08	0,29 ± 0,03
15	0,06 ± 0,03	0,53 ± 0,16
16	59,30 ± 13,16	61,60 ± 3,06
18	0,23 ± 0,12	0,23 ± 0,02
19	5,15 ± 2,41	5,59 ± 0,38
22	3,60 ± 2,30	3,41 ± 0,41
23	0,06 ± 0,03	0,51 ± 0,02
27	0,42 ± 0,05	0,21 ± 0,09
28	0,84 ± 0,14	0,83 ± 0,23
43	0,27 ± 0,17	0,11 ± 0,01

1. Duplicatas.
2. Picos selecionados mostraram diferença significativa entre os sucos (p<0,05).

Para os cromatogramas dos sucos da fruta congelada e da polpa congelada, as áreas relativas de maior abundância, em ordem decrescente, foram observadas para os picos 16, 13, 7, 19 e 22, os quais abrangiram cerca de 90% da porcentagem total de área nos respectivos cromatogramas. Quando comparados, nenhum dos picos majoritários apresentaram diferenças significativas (p<0,05) entre os suco da fruta congelada e da polpa congelada. No entanto, o suco da polpa congelada

apresentou áreas relativas maiores dos picos 15 e 23, significativamente diferentes ($p < 0,05$) dos respectivos picos no suco da fruta congelada. Da mesma forma, a área do pico 27 foi relativamente maior no suco da fruta congelada e significativamente diferente ($p < 0,05$) do suco da polpa congelada. Na tabela 6 não foram incluídos os picos detectados como traço.

5.4 Identificação dos Compostos Voláteis

Os dados de espectrometria de massas, o cálculo dos índices de retenção de Kováts e a co-eluição de padrões puros disponíveis, foram utilizados para apontar a identidade dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma da fruta.

Os espectros de massas obtidos nesse estudo, foram comparados com os espectros de massas da biblioteca de dados da National Institute of Standards and Technology (NIST), confirmando as fragmentações características das classes de compostos monoterpenos e sesquiterpenos (Anexo 1).

A perda dos grupos metila ($M \rightarrow 121^+ + 15$) e isopropila ($M \rightarrow 93^+ + 43$) foram favorecidas em compostos monoterpenos cíclicos, originando respectivamente os íons 121^+ e 93^+ provenientes da fragmentação do íon molecular 136^+ . O íon 93^+ também foi formado a partir do íon 121^+ (BUDZIKIEWICZ et alii, 1967).

Com exceção do d-limoneno, os íons 121^+ e 93^+ , apresentaram uma alta abundância relativa para a maioria dos monoterpenos cíclicos como alfa-pineno, beta-pineno, canfeno e alfa-felandreno. O íon 91^+ também presente, correspondente ao íon tropílio ($C_7H_7^+$), originou-se da perda de 2 átomos de hidrogênio do íon 93^+ . Para o alfa-felandreno o íon 93^+ se destacou como o pico base, provavelmente devido à estabilidade oferecida pelo grupo isopropila na posição alílica às 2 duplas ligações da estrutura do anel (RYHAGE & SIDOW, 1963).

Para o d-limoneno, uma unidade de isopreno conferiu um pico base com relação $m/z = 68$. Outras relações massa / carga como 136^+ , 121^+ , 93^+ , 79^+ e 67^+ também encontraram-se fortemente pronunciados no espectro de massas do composto (Anexo1).

Ambos os monoterpenos bicíclicos 3-careno e (+)-2-careno apresentaram um mesmo perfil de fragmentação, porém com intensidades relativas diferentes para alguns íons, permitindo uma identificação tentativa.

Os monoterpenos alicíclicos, correspondentes aos picos 12, 19, 21 e 23 e respectivamente identificados como beta-mirceno, beta-trans-ocimeno, ocimeno e alo-ocimeno apresentaram estruturas bastantes similares. A fragmentação no beta-

mirceno foi facilitada devido à ruptura da ligação alílica responsável pela união das duas unidades de isopreno, resultando na formação do íon 69^+ . O pico base no beta-mirceno é dado por $m/z = 41$ ($C_3H_5^+$) oriundo de rearranjos. Embora todos sejam trienos, o íon molecular 136^+ foi muito mais intenso no alo-ocimeno devido à presença de duplas conjugadas. As estruturas dos compostos ocimeno e beta-trans-ocimeno foram fragmentadas mais facilmente devido à ausência da extensão da conjugação por uma dupla ligação. O pico base para ocimeno e para trans-beta-ocimeno aparecem em $m/z = 93$ e para alo-ocimeno em $m/z = 121$.

Os picos 43 e 44, não identificados, apontaram espectros de massas que indicam possivelmente para estruturas de sesquiterpenos. A complexidade das estruturas e a própria similaridade dos espectros de massas aumentam o grau de dificuldade da interpretação, devido sobretudo à ausência de fragmentações direcionadas e às mudanças ligeiras nas intensidades relativas dos fragmentos.

Baseado na ordenação dos índices de retenção de Kováts e na concordância entre os espectros de massas experimentais e da literatura (NIST) os compostos voláteis alfa-pineno, canfeno, beta-pineno, beta-mirceno, alfa-felandreno, 3-careno, (+)-2-careno, d-limoneno, beta-trans-ocimeno, ocimeno, alo-ocimeno, alfa-copaeno, trans-cariofileno, alfa-cariofileno, alfa-muroleno e delta-cadineno foram identificados no aroma de umbu. A identificação dos compostos voláteis alfa-pineno, beta-pineno, d-limoneno e beta-trans-ocimeno foram positivamente confirmadas por co-cromatografia com os respectivos padrões puros.

A tabela 7 apresenta o nome dos compostos voláteis identificados e a tabela 8 resume os dados obtidos nos espectros de massas.

Tabela 7. Compostos voláteis presentes no suco de umbu (*Spondias tuberosa*).

Pico	IR ¹		Nome do Composto	
	Exp	Lit	Usual	IUPAC
7	971	942	alfa-pineno	2,6,6-trimetil-biciclo 3.1.1 hept-2-eno
10	1006	954	canfeno	2,2-dimetil-3-metileno-biciclo 2.2.1 heptano
11	1009	981	beta-pineno	6,6-dimetil-2-metileno-biciclo 3.1.1 heptano
12	1011	986	beta-mirceno	7-metil-3-metileno-1,6-octadieno
13	1015	1002	alfa-felandreno	2-metil-5-(1-metil etil)-1,3-ciclohexadieno
14	1019	1013	3-careno	3,7,7-trimetil-biciclo 4.1.0 hept-3-eno
15	1027	---	(+)-2-careno	3,7,7-trimetil-biciclo 4.1.0 hept-2-eno
16	1031	1030	d-limoneno	1-metil-4-(1-metil etenila)-ciclohexeno
19	1037	1038	(E)-ocimeno	3,7-dimetil-(E)-1,3,6-octatrieno
21	1056	----	ocimeno	3,7-dimetil-1,3,7-octatrieno
23	1064	----	alo-ocimeno	2,6-dimetil-2,4,6-octatrieno
27	1183	1398	alfa-copaeno	1,3-dimetil-8-(1-metil etil)-triciclo (4.4.0.0) dec-3-eno
28	1200	1428	trans-cariofileno	4,11,11-trimetil-8-metileno-biciclo 7.2.0 undec-4-eno
32	1212	1459	alfa-cariofileno	2,6,6,9-tetrametil-1,4,8-cicoundecatrieno
35	1225	1491	alfa-muroleno	1,2,4a,5,6,8a-hexaidro-4,7-dimetil-1-(1-metil-etil)-nafataleno
39	1228	1524	delta-cadineno	1,2,3,5,6,8a-hexaidro-4,7-dimetil-1-(1-metil-etil)-naftaleno
43	1234	---	não identificado	-----
44	1238	---	não identificado	-----

1. Índice de Kováts experimental (Exp) e da literatura (Lit) obtidos em coluna capilar apolar.

Tabela 8. Fragmentos de íons dos compostos voláteis analisados por CGEM.

Pico	Nome Usual	M / Z (Intensidade relativa) ¹
7	alfa-pineno	93 (100) 92 (47) 91 (45) 77 (31) 79 (25) 136 (15) 94 (14) 121 (13)
10	canfeno	93 (100) 121 (78) 79 (39) 67 (38) 107 (31) 91 (27) 136 (25) 77 (22)
11	beta-pineno	93 (100) 69 (34) 91 (23) 79 (23) 77 (20) 94 (14) 80 (12) 92 (11)
12	beta-mirceno	93 (100) 69 (81) 91 (21) 79 (17) 77 (16) 92 (14) 67 (12) 80 (12)
13	alfa-felandreno	93 (100) 91 (45) 77 (31) 92 (31) 136 (18) 94 (7) 79 (5) 78 (4)
14	3-careno	93 (100) 91 (43) 136 (35) 77 (32) 121 (25) 79 (21) 92 (21) 105 (10)
15	(+)-2-careno	93 (100) 121 (84) 136 (75) 91 (45) 79 (40) 77 (32) 105 (25) 107 (15)
16	d-limoneno	68 (100) 93 (86) 67 (72) 79 (33) 94 (31) 136 (28) 91 (23) 92 (22)
19	(E)-ocimeno	93 (100) 92 (44) 91 (41) 79 (35) 77 (31) 80 (16) 105 (15) 53 (10)
21	ocimeno	93 (100) 91 (45) 80 (43) 79 (42) 77 (32) 92 (27) 105 (17) 121 (14)
23	alo-ocimeno	121 (100) 105 (49) 136 (46) 79 (36) 91 (32) 77 (24) 93 (22) 119 (12)
27	alfa-copaeno	119 (100) 105 (87) 161 (70) 93 (45) 91 (29) 81 (29) 120 (23) 92 (19)
28	trans-cariofileno	69 (100) 93 (94) 133 (74) 91 (71) 79 (67) 105 (50) 55 (40) 81 (39)
32	alfa-cariofileno	93 (100) 80 (37) 121 (22) 92 (19) 147 (19) 77 (16) 107 (15) 91 (14)
35	alfa-muroleno	105 (100) 93 (53) 161 (52) 81 (41) 107 (33) 91 (30) 133 (30) 79 (26)
39	delta-cadineno	161 (100) 119 (80) 105 (75) 134 (66) 91 (37) 81 (37) 204 (36) 162(23)
43	não identificado	161 (100) 105 (93) 133 (70) 91 (67) 93 (65) 204 (53) 107 (52) 119 (51)
44	não identificado	161 (100) 122 (84) 107 (71) 105 (51) 93 (44) 91 (43) 81 (43) 121 (38)

1. M / Z = relação massa / carga.

5.5 Porcentagens Relativas dos Compostos Voláteis Identificados

A tabela 9 faz uma comparação das porcentagens relativas dos compostos voláteis identificados e resume os resultados e discussão das análises cromatográficas dos sucos de umbu estudados.

Tabela 9. Porcentagens relativas dos compostos voláteis identificados nos sucos.

Pico	Nome Usual	% Médias de Áreas nos Sucos de Umbu ¹		
		Fruta Fresca	Fruta Congelada	Polpa congelada
7	alfa-pineno	16,40	10,11	8,75
10	canfeno	1,06	1,86	2,15
11	beta-pineno	0,59	0,10	0,69
12	beta-mirceno	0,48	1,16	1,52
13	alfa-felandreno	6,20	13,40	10,45
14	3-careno	0,10	0,30	0,29
15	(+)-2-careno	0,63	0,06	0,53
16	d-limoneno	50,90	59,30	61,60
19	(E)-ocimeno	9,05	5,15	5,59
21	ocimeno	traço	3,60	traço -- 0,07
23	alo-ocimeno	0,18	0,06	0,51
27	alfa-copaeno	1,05	0,42	0,21
28	trans-cariofileno	1,03	0,84	0,83
32	alfa-cariofileno	0,03	traço -- 0,02	traço
35	alfa-muroleno	0,08	traço -- 0,03	traço
39	delta-cadineno	traço	traço -- 0,03	traço

1. Duplicatas

Alfa-pineno, alfa-felandreno, d-limoneno, (E)-ocimeno e um composto não identificado (pico 22) foram os compostos voláteis majoritários nos sucos de umbu, sendo d-limoneno o mais abundante. Pela análise estatística univariada nenhum dos compostos voláteis majoritários apresentaram diferença significativa entre os sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu.

No entanto, (+)-2-careno e alo-ocimeno apresentam áreas maiores no suco da polpa congelada e significativamente diferente das respectivas áreas do suco da

fruta congelada. Alfa-copaeno apresentou uma área maior no suco da fruta congelada e significativamente diferente ($p < 0,05$) da respectiva área do suco da polpa congelada.

Ocimeno mostrou uma grande variação no "headspace" de cada suco, apresentando áreas relativas médias de 0,07% e 3,60% respectivamente na polpa congelada e na fruta congelada. Variações menores também foram observadas para alfa-cariofileno, alfa-muroleno e delta-cadineno.

5.6 Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

5.6.1. Terminologia Descritiva de Suco de Umbu

A tabela 10, apresenta 32 termos sensoriais percebidos pelos provadores na avaliação comparativa entre aparência, aroma, sabor e textura das amostras de sucos de umbu. Dentre estes, apenas 9 termos foram selecionados e definidos consensualmente pelos provadores, como atributos sensoriais característicos dos sucos de umbu. A terminologia dos atributos sensoriais e a ficha de avaliação elaboradas pela equipe sensorial estão apresentadas na tabela 11 e figura 12, respectivamente.

Tabela 10. Termos sensoriais descritivos dos sucos de umbu obtidos pelo Método de Rede (KELLY (1955) citado por MOSKOWITZ (1988)).

TERMOS DESCRITIVOS GERADOS ¹			
APARÊNCIA	AROMA	SABOR	TEXTURA
cor amarela (9)	ácido (5)	azedo (5)	viscosidade (2)
cor clara (4)	doce (2)	ácido (9)	adstringência (4)
cor amarelo-verde (2)	cítrico (1)	fruta (8)	fruta verde (1)
precipitado (1)	fruta (6)	amargo (3)	partículas (3)
presença de sólidos (2)	frutado (1)	umbu (3)	corpo (1)
brilho (1)	umbu (3)	refrescante (1)	
transparência (1)	agradável (3)	bom (1)	
turvado (3)	fruta verde (1)		
homogêneo (6)	adocicado (1)		
	mato (1)		
	suave (3)		

1. O número de vezes em que os atributos foram citados está entre parenteses.

Tabela 11. Terminologia descritiva e materiais de referências selecionados para ADQ.

APARÊNCIA	REFERÊNCIAS
<u>Cor</u> : intensidade da cor amarela	forte: precipitado do suco de abacaxi em repouso fraco: sobrenadante do suco de abacaxi em repouso
<u>Homogeneidade</u> : presença de única fase, ausência de partículas em suspensão	baixa: precipitado do suco de abacaxi em repouso alta: sobrenadante do suco de abacaxi em repouso
AROMA	
<u>Ácido</u> : aroma azedo típico de fruta cítricas	forte: suco de limão diluído em água 1:5 fraco: suco de limão diluído em água 1:20
<u>Característico de umbu</u> : aroma característico da polpa da fruta madura	forte: suco da polpa de umbu diluída em água 1:1
<u>Doce</u> : aroma adocicado, açucarado	forte: mel diluído em água 1:1 fraco: mel diluído em água 1:10
SABOR	
<u>Ácido</u> : gosto associado à solução aquosa de ácido cítrico	forte: solução aquosa de ácido cítrico 0,20% fraco: solução aquosa de ácido cítrico 0,05%
<u>Característico de umbu</u> : sabor típico da polpa da fruta madura	forte: polpa da fruta madura
<u>Amargo</u> : gosto associado à solução aquosa de cafeína	forte: solução aquosa de cafeína 0,08%
TEXTURA	
<u>Adstringência</u> : sensação de amarração na boca, presença de tanino, fruta verde.	forte: banana verde

Nome _____ Data _____ Amostra _____

Por favor, avalie a intensidade dos seguintes descritores sensoriais no suco de umbu utilizando as escalas abaixo.

APARÊNCIA

COR AMARELA

fraca forte

HOMOGENEIDADE

baixa alta

AROMA

ÁCIDO

fraco forte

DOCE

fraco forte

UMBU

nenhum forte

SABOR

ÁCIDO

fraco forte

UNBUL

nenhum forte

AMARGO

nenhum forte

TEXTURA

ADSTRINGÊNCIA

nenhuma alta

Figura 12. Ficha de avaliação sensorial descritiva de sucos de umbu.

5.6.2 Seleção de Provadores

Onze provadores foram selecionados considerando-se o poder de discriminação dos mesmos com relação às amostras (tabela 12), repetibilidade das notas (tabela 13) e consenso com a equipe sensorial (tabela 14).

Provadores que apresentaram um nível de significância para $F_{amostra} < 0,30$ foram considerados suficientemente discriminativos para compor a equipe sensorial. A tabela 12 indicou os provadores 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 com habilidade discriminatória.

Na tabela 13, observou-se um nível de significância (p) para $F_{repetição}$ inferior a 5% para a grande maioria das notas atribuídas pelos provadores para cada atributo, assinalando uma boa repetibilidade da equipe sensorial.

Consultando a tabela 14, observou-se que não houve discordâncias acentuadas entre as médias de cada provador e as médias da equipe sensorial. Dessa forma, dez provadores mostraram-se aptos a avaliar sensorialmente as amostras de suco de umbu. Com a indisponibilidade dos provadores 7 e 9, a equipe sensorial ficou composta com 8 provadores para a avaliação do perfil sensorial das amostras.

Tabela 12. Nível de significância (p) para F amostra, em cada descritor sensorial, para cada provador.

<i>Provadores</i>	<i>Descritores Sensoriais</i>								
	<i>COR</i>	<i>HOM</i>	<i>ACI</i>	<i>DOC</i>	<i>UMBU</i>	<i>IDO</i>	<i>SUM</i>	<i>AMA</i>	<i>ADS</i>
1	0.037	0.0010	0.028	0.12	0.027	0.028	0.035	0.157	0.224
2	0.014	0.022	0.060	0.062	0.0041	0.78	0.097	0.84	0.62
3	0.065	0.0031	0.81	0.39	0.16	0.053	0.34	---	0.028
4	0.0005	0.29	0.067	0.031	0.91	0.21	0.54	0.0062	0.0002
5	0.0079	0.025	0.003	0.24	0.83	0.92	0.27	0.053	0.071
6	0.0045	0.0051	0.049	0.42	0.14	0.93	0.45	0.26	0.038
7	0.11	0.18	0.37	0.29	0.39	0.22	0.11	0.074	0.31
8	0.001	0.043	0.056	0.77	0.17	0.096	0.32	0.057	0.53
9	0.046	0.009	0.013	0.13	0.087	0.12	0.19	0.67	0.25
10	0.0007	0.016	0.034	0.096	0.028	0.088	0.012	0.16	0.56
11	0.019	0.58	0.45	0.72	0.63	0.41	0.98	0.43	0.23

1. Níveis de significância (p) para F > 0,30 estão grifados.

2. Legenda:

- cor = cor amarela

doc = aroma doce

sum = sabor característico de umbu
- hom = homogeneidade

umbu = aroma característico de umbu

ama = gosto amargo
- aci = aroma ácido

ido = gosto ácido

ads = adstringência

Tabela 13. Nível de significância (p) para F repetição, em cada descritor sensorial, para cada provador.

Provadores	Descritores Sensoriais								
	<i>COR</i>	<i>HOM</i>	<i>ACI</i>	<i>DOC</i>	<i>UMBU</i>	<i>IDO</i>	<i>SUM</i>	<i>AMA</i>	<i>ADS</i>
1	0.74	0.20	0.33	0.97	0.65	0.33	0.27	0.50	0.86
2	0.19	0.26	0.22	0.67	0.041	0.96	0.098	0.84	0.13
3	0.35	1.00	0.41	0.91	0.81	0.46	0.22	---	0.10
4	0.57	0.45	0.65	0.82	0.74	0.47	0.98	0.022	0.013
5	0.40	0.19	0.005	0.066	0.060	0.47	0.61	0.50	0.83
6	0.31	0.11	0.0075	0.50	0.95	0.97	0.96	0.58	0.14
7	0.14	0.50	0.37	0.85	0.70	0.39	0.58	0.75	0.56
8	0.88	0.49	0.81	0.88	0.45	0.12	0.36	0.25	0.31
9	0.44	0.25	0.14	0.35	0.29	0.50	0.30	0.50	0.48
10	0.50	0.94	0.68	0.055	0.19	0.72	0.10	0.53	0.18
11	0.37	0.50	0.32	0.82	0.40	0.74	0.95	0.65	0.45

1. Níveis de significância (p) para $F < 0,05$ estão grifados.

2. Legenda:

cor = cor amarela

doc = aroma doce

sum = sabor característico de umbu

hom = homogeneidade

umbu = aroma característico de umbu

ama = gosto amargo

aci = aroma ácido

ido = gosto ácido

ads = adstringência

Tabela 14: Médias da equipe e dos provadores para cada descritor.

			Provadores										
Descritor	A	E	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
COR	1	6.81	7.20	5.27	7.33	7.47	7.40	6.67	3.00	6.23	7.60	3.60	7.67
	2	3.05	4.30	2.10	5.50	1.63	2.27	1.43	2.03	0.70	3.57	6.97	3.07
HOM	1	3.57	5.47	5.33	2.10	2.67	1.50	3.13	0.60	0.43	5.93	0.93	7.70
	2	3.25	3.50	1.33	4.20	4.93	0.80	1.50	0.47	3.27	7.17	4.50	7.60
ACI	1	3.51	3.87	0.90	1.47	6.20	1.80	3.10	1.90	4.83	1.07	7.63	5.57
	2	3.32	5.77	1.90	1.40	3.10	2.93	3.90	2.33	0.80	3.13	5.00	6.23
DOC	1	2.86	3.87	0.67	3.03	2.57	3.87	0.13	1.77	4.57	2.20	6.37	2.43
	2	3.35	2.93	1.47	3.83	5.30	4.73	0.20	1.00	3.83	3.80	6.80	3.00
UMBU	1	3.81	3.97	1.20	5.43	3.93	5.03	1.07	3.20	1.23	2.40	7.33	7.10
	2	4.23	6.57	2.10	5.17	4.07	5.17	2.33	2.67	0.63	3.87	6.43	7.50
IDO	1	3.45	3.33	2.00	4.20	6.17	2.97	2.70	1.27	1.07	1.43	7.70	5.13
	2	2.92	6.53	2.37	1.67	3.73	2.87	2.40	0.47	0.77	0.20	5.43	5.66
SUM	1	4.50	5.67	2.73	6.77	2.57	5.80	3.17	3.97	1.37	3.30	7.10	7.07
	2	4.15	6.57	1.57	6.53	4.10	5.13	2.23	2.90	0.90	2.40	6.20	7.10
AMA	1	0.53	0.07	1.57	0.00	1.47	0.00	0.17	0.27	0.23	0.13	1.30	0.60
	2	0.59	0.60	1.83	0.00	0.63	0.97	0.63	0.47	0.37	0.10	0.60	0.37
ADS	1	1.72	4.50	2.00	0.70	4.23	1.53	1.93	1.03	0.57	0.27	1.53	0.67
	2	2.55	6.13	2.23	1.10	6.70	3.80	0.77	0.40	3.30	0.73	1.70	1.13

1. Descritores selecionados discriminam as amostras ($p < 0,05$).

2. Legenda:

A = amostras (1 = suco da polpa congelada, 2 = suco da fruta congelada)

E = médias da equipe sensorial

cor = cor amarela

doc = aroma doce

sum = sabor característico de umbu

hom = homogeneidade

umbu = aroma característico de umbu

ama = gosto amargo

aci = aroma ácido

ido = gosto ácido

ads = adstringência

Valores de níveis de significância (p) para F amostra-provador $\leq 0,05$, indicariam uma possível interação entre as fontes de variação, amostras e provadores. Neste caso, os resultados revelariam uma discordância entre os provadores com relação a que amostra(s) mostra(m) maior intensidade do descritor avaliado. A tabela 15, evidencia que, em nenhum descritor sensorial o nível de significância (p) de F amostra-provador foi menor que 0,05, e assim, o conjunto de dados, considerado como sendo de alto consenso, foi submetido a análise de componentes principais e ANOVA com testes de Tukey.

Tabela 15. Níveis de significância (p) para F amostra-provador, para cada descritor.

Descritor	p	Descritor	p	Descritor	p
cor amarela	0,09	aroma doce	0,73	sabor de umbu	0,63
homogeneidade	0,17	aroma de umbu	0,92	gosto amargo	0,12
aroma ácido	0,12	gosto ácido	0,31	adstringência	0,06

5.6.3 Exploração dos Dados Sensoriais por Análise dos Componentes Principais

O uso da análise de componentes principais com um pré-processamento adequado dos dados possibilita visualizar o comportamento das amostras e das variáveis em dimensões compreensíveis, selecionando variáveis importantes na construção dos componentes principais e úteis na caracterização dos sucos. Esse procedimento pode fornecer uma alta concentração e explicação da informação com uma máxima filtragem de erros. Dependendo do tipo de pré-processamento podemos ainda mascarar ou evidenciar a presença de amostras anômalas responsáveis pela piora ou distorção da explicação da informação.

No presente estudo, os dados foram centrados na média e escalados pela variância de modo a evitar que os componentes principais expressem um comportamento médio da variação do conjunto de dados.

Conforme a tabela 16, a análise dos dados apontou 91% da explicação da variação entre os dois sucos, projetada em 3 componentes principais, onde os dois primeiros contribuem com 86% da informação. A variação do conjunto de dados

poderia ser suficientemente descrita por dois componentes principais, cada um representando a informação contida em cada suco. No entanto, um terceiro componente principal foi considerado necessário para permitir uma caracterização mais nítida das amostras do suco da polpa congelada e do suco da fruta congelada de umbu.

Tabela 16. Informação projetada nos componentes principais.

Componente Principal	% Variância	% Variância acumulada
1	79,20	79,20
2	6,96	86,16
3	5,04	91,20
4	3,58	94,78
5	1,90	96,68

Os descritores de maior importância são representados pelos vetores maiores e próximos a cada eixo. Observando as figuras 13 e 14, podemos indicar os descritores sensoriais contribuintes na formação dos componentes principais que caracterizam os sucos da polpa congelada e da fruta congelada.

Aroma característico de umbu, sabor característico de umbu, aroma ácido e gosto ácido são os descritores majoritários na construção dos componentes principais 1 e 2, assim como a cor amarela e homogeneidade compõem praticamente o componente principal 3. Desse conjunto de descritores, apenas cor amarela e homogeneidade estão melhor direcionados às amostras: a intensidade da cor amarela sobressai nas amostras do suco da polpa congelada e as amostras do suco da fruta congelada são mais homogêneas. No suco da polpa congelada, o aroma característico de umbu foi mais intenso.

Os descritores aroma de umbu e sabor de umbu, assim como aroma ácido e gosto ácido foram os termos sensoriais mais próximos entre si. Dessa forma, possuem um comportamento similar de distribuição e fornecem praticamente a mesma informação ao sistema.

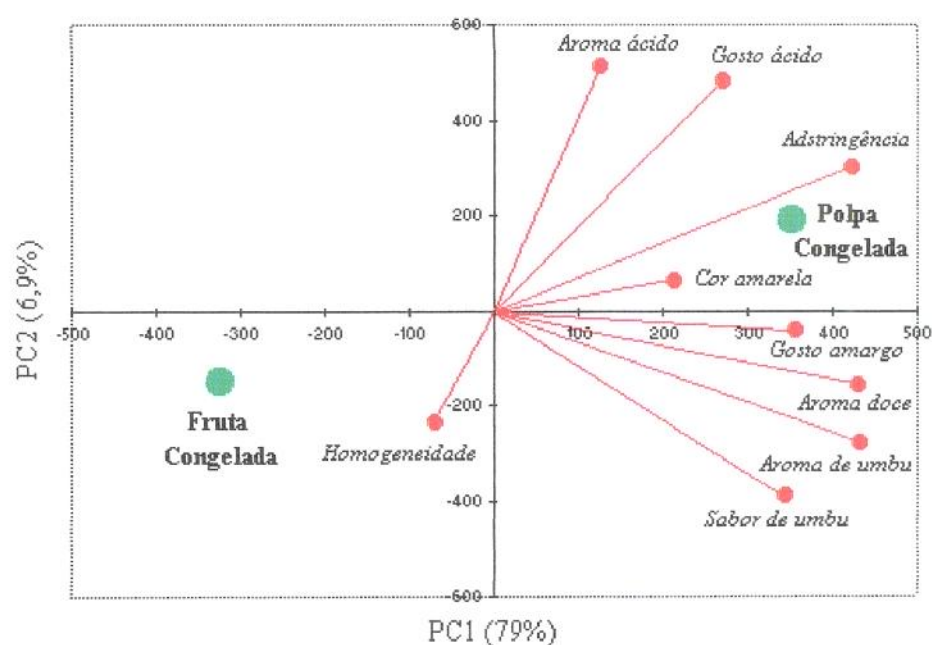


Figura 13. Exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu pelos componentes principais (PC1 x PC2).

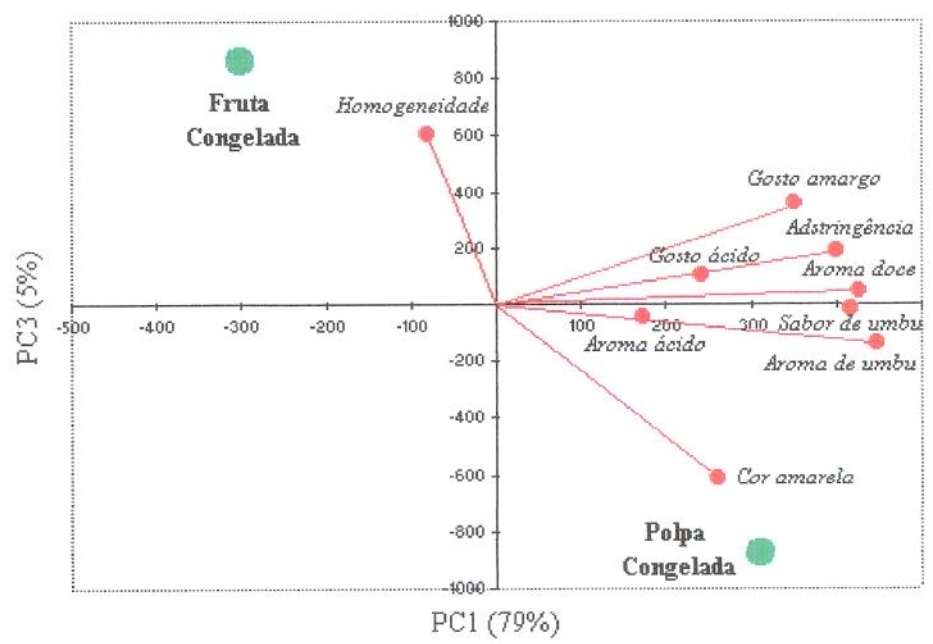


Figura 14. Exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu pelos componentes principais (PC1 x PC3).

O perfil das amostras, em 3 dimensões, na figura 15, mostra uma baixa dispersão entre as replicatas, evidenciando boa repetibilidade e boa concordância da equipe sensorial.

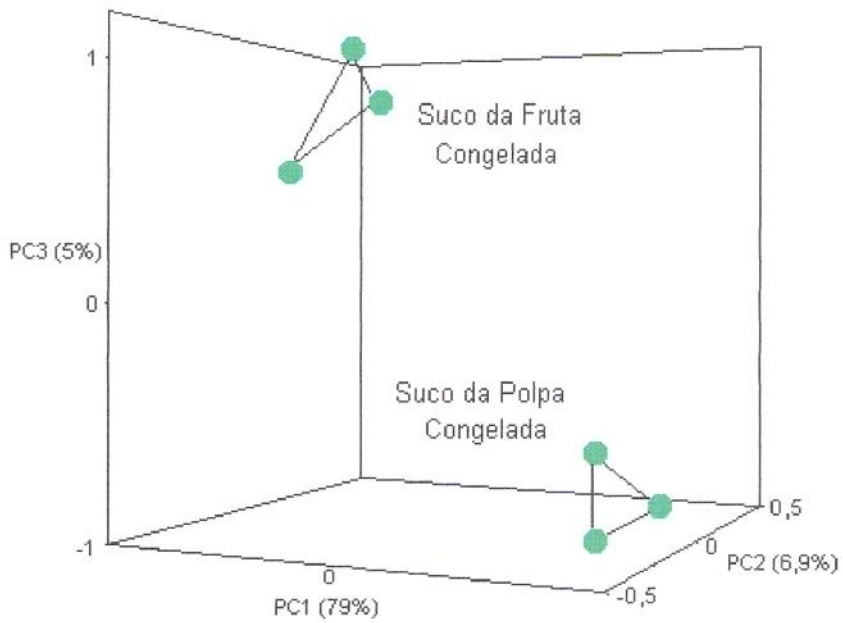


Figura 15. Representação 3-D da exploração dos dados sensoriais dos sucos de umbu pelos componentes principais (PC1xPC2xPC3).

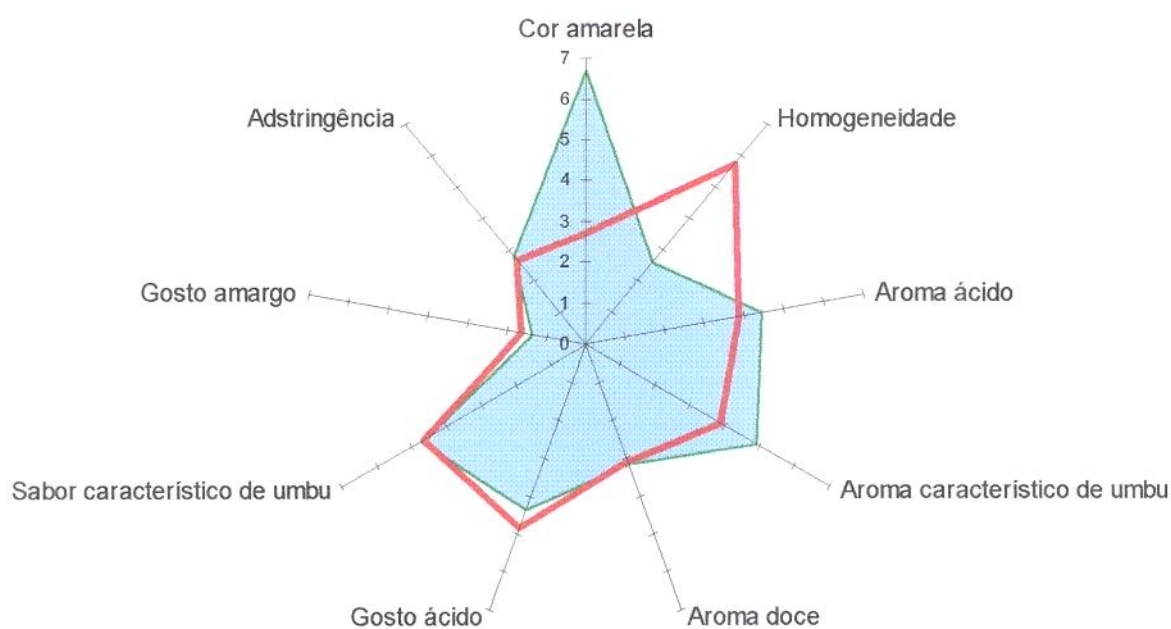
5.7 Perfil Sensorial das Amostras

As médias dos respectivos descritores sensoriais (tabela 17) avaliados foram graficados afim de comparar visualmente o perfil sensorial das amostras do suco de umbu. As informações contidas na figura 16, indicam as tendências descritas pela análise dos componentes principais. O suco da fruta congelada apresenta uma menor intensidade de cor amarela e menor aroma característico de umbu, mas confere maior homogeneidade. Nas amostras do suco da polpa congelada é evidente uma maior intensidade da cor amarela e uma baixa homogeneidade. Os atributos aroma ácido, aroma doce, gosto ácido, sabor característico de umbu, gosto amargo e adstringência não mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras.

Tabela 17. Intensidades médias dos descritores sensoriais dos sucos de umbu.

ATRIBUTO SENSORIAL	SUCOS DE UMBU ¹	
	POLPA CONGELADA	FRUTA CONGELADA
Cor amarela	6,70 a	2,70 b
Homogeneidade	2,70 b	5,60 a
Aroma doce	3,10 a	3,00 a
Aroma característico de umbu	4,90 a	3,90 b
Aroma ácido	4,40 a	4,80 a
Gosto ácido	4,40 a	3,90 a
Sabor característico de umbu	4,70 a	4,60 a
Gosto amargo	1,40 a	1,60 a
Adstringência	2,80 a	2,70 a

1. Letras diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$).



■ Suco da Polpa Congelada ■ Suco da Fruta Congelada

Figura 16. Descritores sensoriais dos respectivos sucos de umbu.

5.7.1 Aceitação dos Sucus de Umbu

Os histogramas de distribuição das respostas sensoriais e as razões da preferência citadas pelos consumidores para cada suco de umbu são apresentados a seguir. Além de auxiliarem na visualização dos dados podem acrescentar informações úteis na avaliação da aparência e do sabor das amostras.

A figura 17 sugere que o suco da fruta congelada possui uma melhor aparência do que o suco da polpa congelada, uma vez que 80 % das notas atribuídas para a aparência do suco da fruta congelada situa-se entre "gostei moderadamente" e "gostei muito". A média das notas para aparência do suco da fruta congelada foi significativamente diferente ($p < 0.05$) da média das notas para aparência do suco da polpa congelada. A figura 17 mostra ainda uma distribuição das notas de aceitação global em torno da média para o suco da fruta congelada, evidenciando uma tendência de alta aceitação do suco da fruta congelada, o que não ocorre para o suco da polpa congelada.

O sabor do suco da fruta congelada também apresentou uma média maior e significativamente diferente ($p<0,05$) da média do suco da polpa congelada. Esse argumento encontra explicação nas razões citadas pela grande maioria dos provadores do teste de preferência (Tabela 18). O sabor da fruta e a acidez foram as principais razões pelas quais os provadores mais gostaram do suco da fruta congelada. Para o suco da polpa congelada, o sabor da fruta e acidez também foram razões pelas quais os provadores gostaram da amostra, porém citações como sabor residual foram descrições marcantes pelas quais os provadores não gostaram do suco da polpa congelada. Nota-se que o sabor residual não foi um atributo mencionado pelos provadores da análise descritiva quantitativa, realizada 2 meses antes do teste de aceitação. Portanto, o sabor residual, não apreciado pelos provadores, provavelmente foi desenvolvido durante este período e influenciou negativamente o sabor do suco da polpa congelada. Apesar disto, a média de aceitação de sabor para a polpa congelada foi igual a 5,17, enquanto o suco da fruta congelada, mais preferido pelos provadores, apresentou uma média de 6,33, o que mostra a aceitação dos dois produtos estudados pelos provadores. Para o sabor do suco da fruta congelada, a figura 18 revela uma concentração maior das notas em torno da média, apontando boa concordância entre os provadores.

Tabela 18. Razões citadas pelos provadores na avaliação da preferência do sabor dos sucos de umbu. A frequência de citações está entre parenteses.

	RAZÕES CITADAS	
	MAIS GOSTOU	MENOS GOSTOU
SUCO DA POLPA CONGELADA	sabor da fruta (11)	sabor residual (6)
	gosto ácido (5)	sabor velho / passado (2)
	sabor cítrico (3)	gosto ácido (1)
	sabor agradável (3)	sabor estranho (1)
		sabor diferente (1)
SUCO DA FRUTA CONGELADA	sabor da fruta (12)	gosto ácido (4)
	gosto ácido (7)	sabor forte (2)
	aroma da fruta (4)	gosto doce (1)
	sabor suave (2)	
	sabor refrescante (1)	
	sabor consistente (1)	

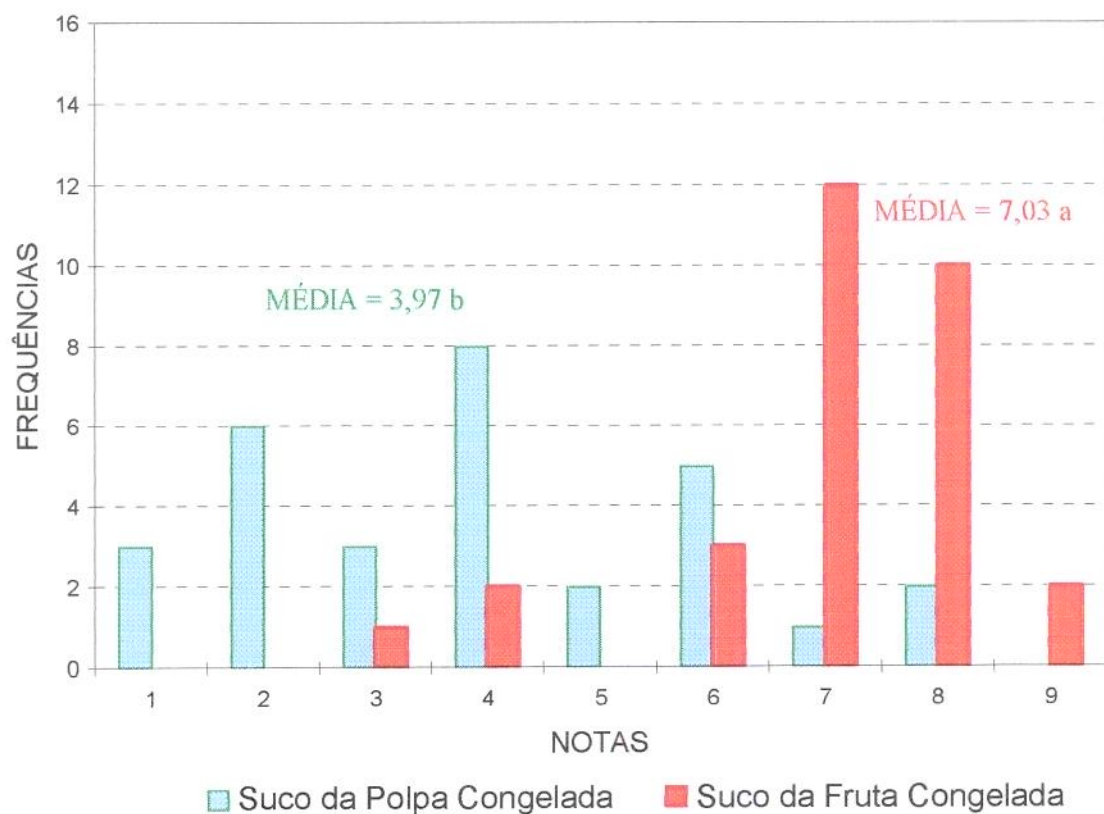


Figura 17. Histograma de distribuição das notas para a aparência dos sucos de umbu

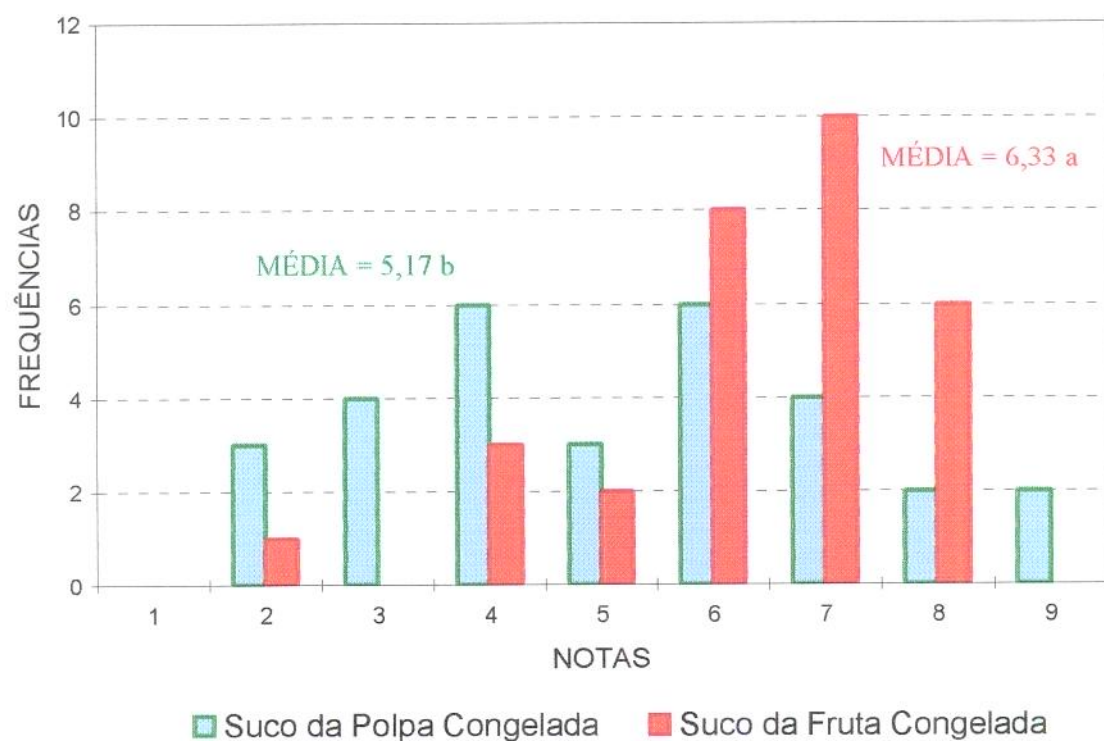


Figura 18. Histograma de distribuição das notas para o sabor dos sucos de umbu.

5.8 CG-Olfatometria: "Sniffing"

Afim de reconhecer quais picos registrados no cromatograma apresentam aroma, foi realizado um teste olfatométrico, conforme o procedimento 4.6.1 em material e métodos. Provadores selecionados descreveram com suas próprias palavras a qualidade do aroma do composto volátil eluído da coluna cromatográfica. Oito picos apresentaram aroma perceptível e estão presentes nos três sucos de umbu estudados.

Tabela 19. Qualidade do aroma atribuído aos compostos voláteis de umbu.

PICO	COMPOSTO VOLÁTIL	DESCRITORES SENSORIAIS	
		EXPERIMENTAL ¹	LITERATURA ²
7	alfa-pineno	fruta (4), menta (1)	pinho, menta, terebentina
10	canfeno	doce (2), chiclete (1)	-----
11	beta-pineno	perfumado (3)	madeira, terebentina
12	beta-mirceno	fruta (1), doce (2)	fruta, laranja, agradável
13	alfa-felandreno	estranho (2), queimado (1)	medicinal, roupa, aneto
16	d-limoneno	bom (2), suave (2)	cítrico, agradável, limão
19	(E)-ocimeno	manga verde (1), fruta (1)	agradável
23	alo-ocimeno	perfume (2)	-----

1. O número de citações em seis replicatas está entre parenteses.

2. Fontes: FURIA e BELLANCA (1971); BOELENS et alii (1993); MOSCIANO et alii (1994).

Na tabela 19, as comparações com as respectivas descrições sensoriais da literatura deve considerar três fatores importantes: (a) os provadores podem descrever a mesma sensação com palavras diferentes, (b) a descrição sensorial depende da concentração do composto volátil, (c) a qualidade odorífera depende da configuração absoluta dos compostos voláteis enantiômeros.

Para o composto alfa-pineno foi percebido um aroma de "fruta e menta" e descrito na literatura como "aroma de pinho, menta e terebentina". Um cheiro "doce" foi sentido para canfeno, uma "nota perfumada" para beta-pineno, e um "aroma

frutado e doce" para beta-mirceno. Para alfa-felandreno o aroma foi descrito como "estranho e queimado" e caracterizado por BOELEN et alii (1993) como "aroma de aneto e medicinal". Um cheiro "bom e suave" foi sentido para d-limoneno e os termos "cítrico, agradável e limão" foram citados por FURIA e BELLANCA (1971). "Manga verde e fruta" foram as descrições dadas para (E)-ocimeno, e um "aroma perfumado" foi anotado para alo-ocimeno.

5.9 Relações entre as Informações Instrumentais e Sensoriais

A análise descritiva quantitativa foi realizada para as amostras de sucos da fruta congelada e da polpa congelada de umbu. O suco da polpa congelada apresentou um "aroma característico de umbu" maior e significativamente diferente ($p < 0,05$) do suco da fruta congelada, mas não houve diferença significativa ($p < 0,05$) para o sabor característico de umbu entre os sucos.

A única diferença significativa ($p < 0,05$) entre os compostos voláteis odoríferos foi observada para o alo-ocimeno, descrito como "aroma perfumado" por dois provadores que avaliaram o efluente cromatográfico. Isso explicaria a fraca intensidade de "perfume" no aroma de umbu, estando em concordância com a análise descritiva quantitativa, onde os provadores não mencionaram o atributo "perfumado", mas podem tê-lo incorporado ao "aroma característico de umbu".

A partir da relação entre as informações instrumentais e sensoriais, o aroma típico de umbu resultou da contribuição de vários compostos voláteis odoríferos. Os compostos voláteis percebidos na olfatometria e identificados como α -pineno, canfeno, β -pineno, β -mirceno, α -felandreno, d-limoneno, (E)-ocimeno e alo-ocimeno, são importantes contribuintes ao aroma típico dessa fruta. Destes compostos, o alo-ocimeno, descrito como "perfumado", encontrou-se em maior quantidade no suco da polpa congelada da fruta.

6. CONCLUSÕES

1. Um tempo de duas horas de coleta dos compostos voláteis do "headspace" de umbu e eluição com 300 µl de solvente n-hexano foram as condições ótimas estabelecidas para a obtenção de um isolado com aroma característico da fruta.

2. Foram detectados 44 compostos voláteis no "headspace" de umbu por cromatografia gasosa de alta resolução, dos quais 16 foram identificados por espectrometria de massas e índices de retenção de Kováts como alfa-pineno, canfeno, beta-pineno, beta-mirceno, alfa-felandreno, 3-careno, (+)-2-careno, d-limoneno, (E)-ocimeno, ocimeno, alo-ocimeno, alfa-copaeno, trans-cariofileno, alfa-cariofileno, alfa-muuroleno e delta-cadineno. Foi a primeira vez na literatura que estes compostos voláteis foram relatados em umbu (*Spondias tuberosa*).

3. Predominaram os compostos voláteis terpênicos, onde os monoterpenos e os sesquiterpenos contribuíram respectivamente com 82,5% e 2,2% de área relativa.

4. Alfa-pineno, alfa-felandreno, d-limoneno, (E)-ocimeno e um composto não identificado foram os majoritários nos sucos de umbu, sendo d-limoneno o mais abundante.

5. Alfa-felandreno, 3-careno, (E)-ocimeno e um composto não identificado mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os lotes da fruta congelada. Na polpa congelada, apenas um dos lotes apresentou variações significativas ($p < 0,05$) para alfa-pineno, (+)-2-careno, d-limoneno, (E)-ocimeno, alo-ocimeno, alfa-copaeno, trans-cariofileno e outros dois compostos não identificados. Porém, os lotes da polpa congelada foram mais homogêneos que os lotes da fruta congelada de umbu.

6. Os sucos da fruta congelada e da polpa congelada diferiram significativamente ($p < 0,05$) quanto aos compostos alo-ocimeno, (+)-2-careno e alfa-copaeno.

7. Alfa-pineno, canfeno, beta-pineno, beta-mirceno, alfa-felandreno, d-limoneno, (E)-ocimeno e alo-ocimeno apresentaram aroma no teste de olfatometria e, portanto, contribuem efetivamente na formação do aroma típico de umbu;

8. A análise descritiva quantitativa apresentou um "aroma característico de umbu" mais intenso para o suco da polpa congelada, o qual diferiu significativamente ($p < 0,05$) do aroma do suco da fruta congelada.

9. Consumidores potenciais de suco de umbu preferiram significativamente ($p < 0,05$) a aparência e o sabor do suco da fruta congelada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACREE, T.E.; BARNARD J.; CUNNINGHAM D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, v.14, p. 273-286, 1984.
- ALLEGRONE, S.; BARBERI, M. Identification of volatile components of caja fruit (*Spondias lutea*) and chiral analysis of 3-hidroxy-aliphatic esters. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 7, n. 6, p. 337-342, 1992.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *Análise sensorial dos alimentos e bebidas*. Terminologia, ABNT, NBR 12806, Rio de Janeiro, 1993.
- BOELEN, M.H. Trends in aroma research and gas chromatography-olfactometry. *Perfumer & Flavorist*, v. 20, n. 1, p. 1-5, 1995.
- BEE, K.R.; PELL R.J. The use of chemometrics tools may lead to an unconventional solution. *Today's Chemistry at Work*, v. 3, n. 1, p. 21-25, 1994.
- BERTSCH, W.; JENNINGS, W.G.; KAISER, R.E. *Recent advances in capillary gas chromatography*. Hüthig, NY, 1981, 592 p.
- BRAITHWAITE, A.; SMITH, F.J. *Chromatographic methods*. 4 th, Chapman and Hall, NY, 1985, 414 p.
- BUDZIKIEWICZ, H.; DJERASSI, C.; WILLIAMS, D.H. *Mass spectrometry of organic compounds*, Holden-Day, San Francisco, 1967, 690 p.
- CAVALCANTE, P.B. *Frutas comestíveis da amazônia*, 2ª edição, Fraiha Neto, Belém, 1976, 146 p.
- CHARALAMBOUS, G. *Analysis of foods and beverage*. Academic Press, NY, 1984, p 93-113.
- CLIFF, M.; HEYMANN, H. Time-intensity evaluation of oral burn. *Journal of Sensory Studies*, v.8, n. 3, p. 201-211. 1993

- DAMÁSIO, M.H. & COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos*, v. 31, n 2, p. 165-178, 1991.
- DAVIES, N.W. Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on metil silicone and carbowax 20M phases. *Journal of Chromatography*, v.1, n 503, p.1-24, 1990.
- ETTRE, L.S. The Kováts retention index system, *Analytical Chemistry*, v.36, n. 8, p. 31A-41A, 1964.
- FISCHER, N.; HAMMERSCHIMDT, F.J.; BRUNKE, E.J. A contribution to the analysis of the flavor of cupuaçu fruit (*Theobroma grandiflora*) *Fruit processing*, v. 5, n. 3, p. 61-65, 1995.
- FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on porapak Q by suction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 34, n. 4, p. 293-299, 1983.
- FRIJTERS, J.E.R. Some psychophysical notes on the use of the odour unit number. In D.G. Land; Nursten H.E. *Progress in flavour research*, Applied Science, 1979, p. 47-51.
- FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY ABSTRACTS. *International Food Information Service*. Database, FSTA, CD-Rom 1969-1989 / 1990-1998.
- HARTMANN, H. Scent and Taste. *Perfumer & Flavorist*, v. 21, n. 2, p. 21-23, 1996.
- HERRAIZ, M.; REGLERO, G.; HERRAIZ, T. Evaluation of PTV injector for quantitative analysis of volatile at low concentrations. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 12, n. 7, p. 442-446, 1989.
- INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. *Sensory analyses. Vocabulary*, part 3, ISO 5492/3, Switzerland, 1979.
- JENKINS, R.; JENNINGS, W. Considerations of the sample introduction process. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 6, p 228-231, 1983.

- JENNINGS, W.; SHIBAMOTO, T.; *Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography*. Academic Press, NY, 1980.
- JOULAIN, D. Modern analysis methodologies: use and abuse. *Perfumer & Flavorist*, v. 19, n. 2, p. 5-17, 1994.
- GUADAGNI, D.G.; BUTTERY R.G.; HARRIS J. Odor intensities of hop oil components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 17, p. 142-144, 1966.
- GROB, K. Injection Techniques in capillary GC. *Analytical Chemistry*, v 66, n. 20, p.1009A-1019A, 1994.
- GROB, K.; TSCHUOR, R. Optimal carrier gas velocities at high temperatures in capillary CG. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 13, p.193-195, 1990.
- KOPPENHOEFER, B.; BEHNISCH, R.; EPPERLEIN, U.; HOLZSCHUH, H.; BERNREUTHER, A.; PIRAS, P.; ROUSSEL, C. Enantiomeric odor differences and gas chromatographic properties of flavors and fragrances. *Perfumer & Flavorist*, v 19, n. 5, p. 1-19, 1994.
- LISKA, I.; KRUPCIK, J.; LECLERCQ, P.A. The use of solid sorbents for direct accumulation of organic compounds from water matrices - A review of solid-phase extraction techniques. *Journal of High Resolution Chromatography*, v.12, n. 9, p.577-590, 1989.
- MAARSE, H. *Volatile compounds in foods and beverages*. New York, Marcel Dekker, 1991, p. 1-33.
- MARCHELLI, R.; DOSSENA, A.; PILLA, G. The potential of enantioselective analysis as a quality control tool. *Trends in Food Science & Technology*, v.7, n. 4, p. 113-119, 1996
- McDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON B.T., MICHEALS N.J.; LIBBEY L.M. (1990). In Charalambous, G. (Ed.). *Flavors and off-flavors*, Elsevier, NY, p. 23-36.

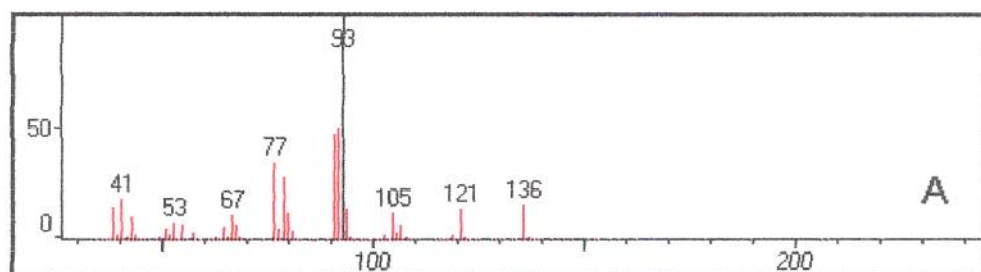
- McLAFFERTY, F.W.; TURECEK, F. *Interpretation of mass spectra*. 4th, University Science Books, CA.,1993, 371 p.
- McLUCKEY, S.A.; BERKEL, G.J.V.;GOERING, D.E.; GLISH, G.L. Ion trap mass spectrometry of externally generated ions. *Analytical Chemistry*, v. 66, n. 13, p.689A-696A, 1994.
- MILLER, P.E.; DENTON, M.B. The quadrupole mass filter: basic operating concepts. *Journal of Chemical Education*, v. 63, n. 7, 617-622, 1986.
- MONTEIRO, A.R. *Extração dos compostos voláteis da casca do fruto do bacuri (*Platonia insignis*) com CO₂ líquido*. Tese de mestrado, UNICAMP, 1995, 66p.
- MORTON, I.D.; MacLEOD A.J. *Food flavours: introduction*. Elsevier, Amsterdam, 1982, part A, p. 15-48.
- MOSKOWITZ, H.R. *Applied sensory analysis of foods*. CRC Press, Boca Raton, 1988. 382 p.
- MOSKOWITZ, H.R. Product testing and sensory evaluation of foods. Food & Nutrition Press, Inc., Westport, Connecticut, 1983, 31-33.
- NARAIN, N; BORA, S.P.; HOLSCHUH, H.J.; VASCONCELOS, M.A.S. Variation in physical and chemical composition during maturation of umbu fruits. *Food chemistry*, v. 44, n. 3, 1992, p. 255-259.
- NICKERSON, G.B.; LIKENS S.T.; Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. *Journal of Chromatography*, v. 21, p.1, 1966.
- O'MAHONY, M. *Sensory Evaluation of Food. Statistical Methods and Procedures*. Marcel Dekker, NY, 1986, 487 p.
- POLL, L.; FLINK J.M. Aroma analysis of apple juice: influence of salt addition on headspace volatile composition as measured by gas chromatography and corresponding sensory evaluations. *Food Chemistry*, v. 13, n. 3, p.193-207, 1974.

- POWERS, J.J.; CENCIARELLI, S.; SHINHOLSER, K.; El uso de programas estadísticos generales en la evaluación de los resultados sensoriales. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos*, v. 24, n. 4, p.469-484, 1984.
- PRETORIUS, V.; BERTSCH, W. Sample introduction in capillary gas-liquid chromatography. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 6, p 64-67, 1983.
- RIZZOLO, A.; POLESELLO A. Use of headspace capillary gc to study the development of volatile compounds in fresh fruit. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 15, n. 7, p. 472-479, 1989.
- ROOS, K.B.; GODSHALL, M.A.; WIDDER, S.; FISCHER, N.; BLUMENTHAL, M.M.; LELAND, J.V.; The chemistry of flavor interactions. *Food Techonology* v.51, n. 1, p.59-80, 1997.
- RYHAGE, R; SYDOW, E. Mass spectrometry of terpenes. *Acta Chemical Scandinavia*, v.17, n. 7, p 2025-2035, 1963.
- SANDRA, P. Sample introduction in capillary gas chromatography. Hüthig, NY, vol 1, 1985, 265 p.
- SANDRA, P. Resolution - Column efficiency. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 12, n. 5, p 273-277, 1989.
- SAS. Software Release 6,08. *SAS Institute*. Cary, NC, USA, 1989.
- SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat and bread by aroma extract dilution analysis. *Zeitschrift Lebensmittel Unters Forschung*, v. 182, n. 2, p.111-113, 1987.
- SCHIPPA, C.; GEORGE, G.; FELLOUS, R. Les Constituants de l'arôme de l'acérola, ou cerise des antiles, sont très variés toutefois, le 3-méthyl but-3-én-1-ol et ses esters sont largement majoritaires. *Parfums Cosmétiques Arômes*, n. 113, p. 81-84, 1993.

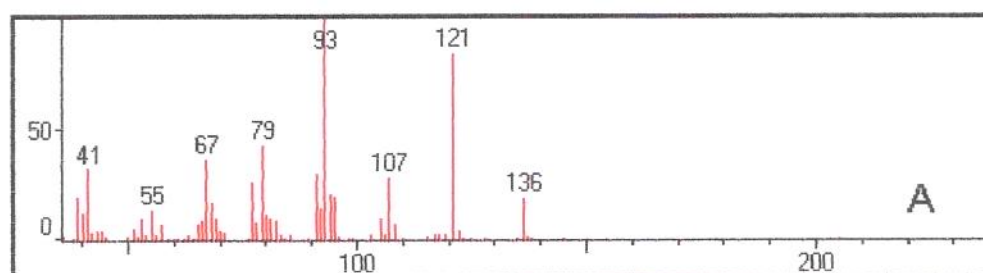
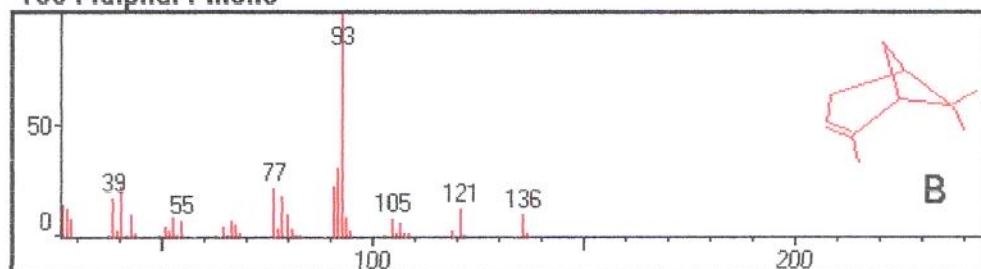
- SELKE, E.; W.K. ROHWEDER e H.J. DUTTON. A micromethod to generate and collect odor constituents from heated cooking oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 49, n. 11, p.636-640, 1972.
- SINGLETON, J.A.; PATTEE, H.E. (1978). Charalambous, G. (Ed.). *Analysis of food and beverages*, Academic Press, NY, p.359.
- SOLOMONS, T.W. G. *Organic chemistry*, 6 th, Wiley, NY, 1996, 1066 p.
- SOMOGYI, P.L. The flavour and fragrance industry: serving a global market. *Chemistry & Industry*, v. 4, n. 4, p. 170-173, 1996.
- STEVENS, S.S. On the psychophysical law. *The Psychological Review*, v. 64, 153-181, 1957.
- STONE, H.; SIDEL J.; OLIVER S.; WOOLSEY A.; SINGLETON R.C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, v. 28, n. 11, p. 24-34, 1974.
- TAYLOR, A.J.; MOTTRAM, D.S. 8th Weurman Flavour Research Symposium, *Trends in Food Science & Technology*, v. 7, n. 11, p.373-376, 1996.
- VENEMA, A. The usefulness of the headspace analysis-gas chromatography technique for the investigation of solid samples. *Journal of High Resolution Chromatography*, v. 13, p. 537-539, 1990.
- VITENBERG, A.G.; IOFFE B.V.; BORISOV V.N. Aplication of phase equilibria to gas chromatografic trace analysis. *Chromatographia*, v. 7, n. 10, p. 610-619, 1974.
- WEURMAN, C. Isolation and concentration of volatiles in foods odor research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 17, n. 2, p. 370-384, 1969.

ANEXO 1

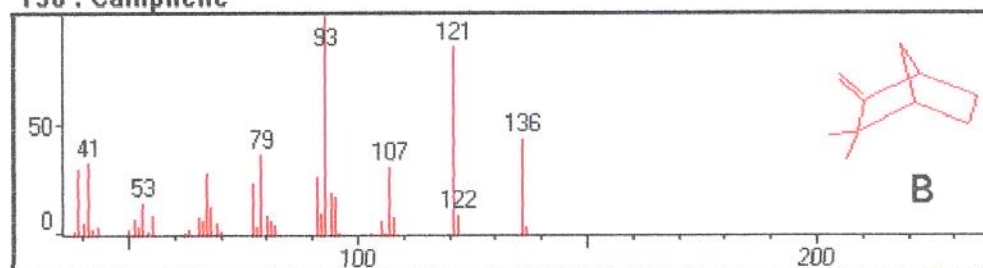
ESPECTROS DE MASSAS E ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE UMBU



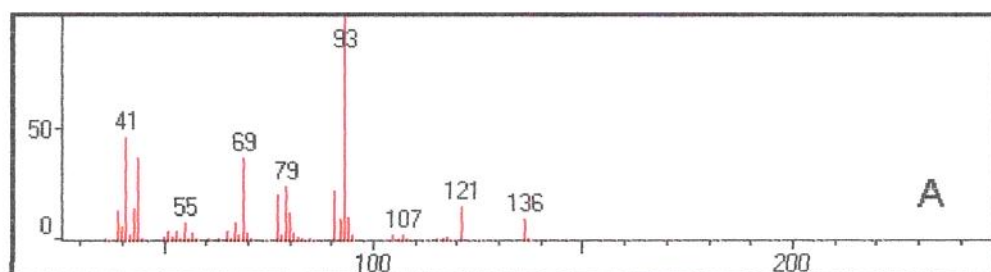
136 : α -Pinene



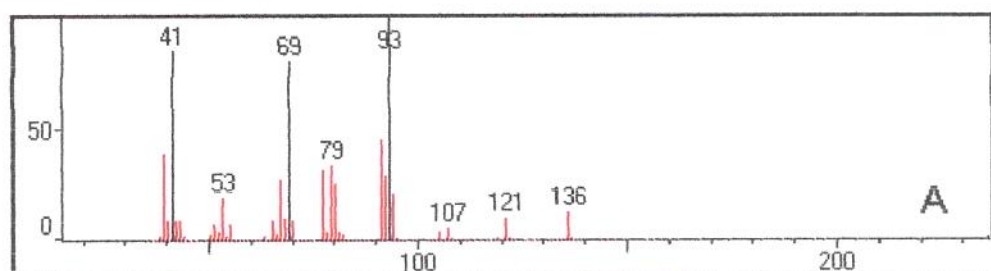
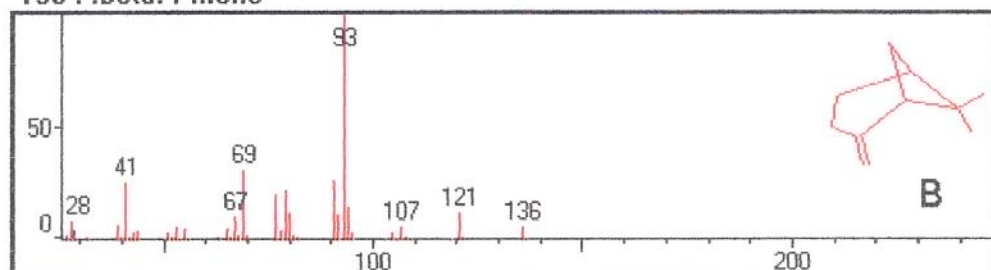
136 : Camphene



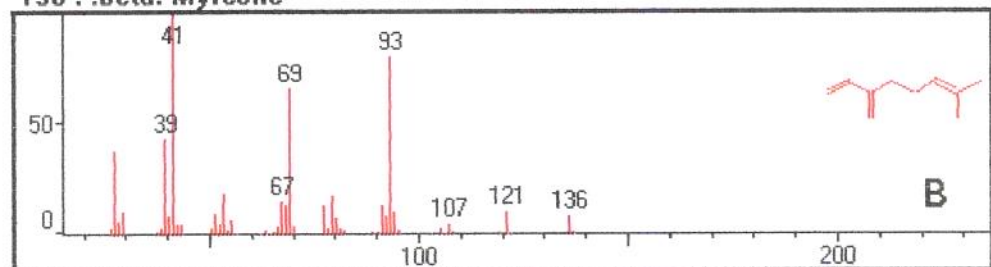
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



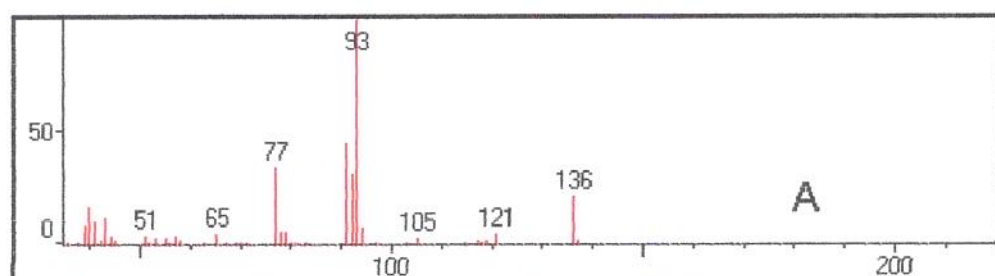
136 : β -Pinene



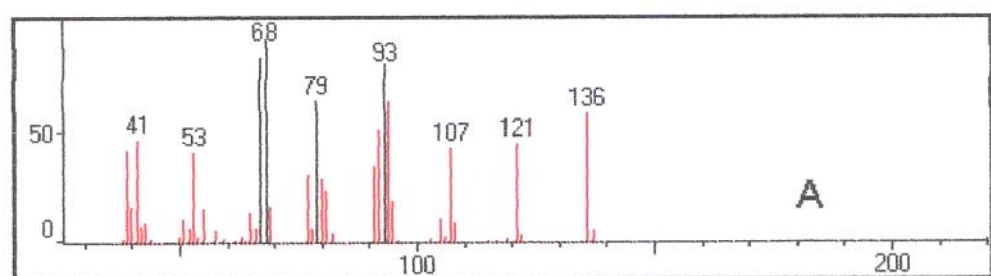
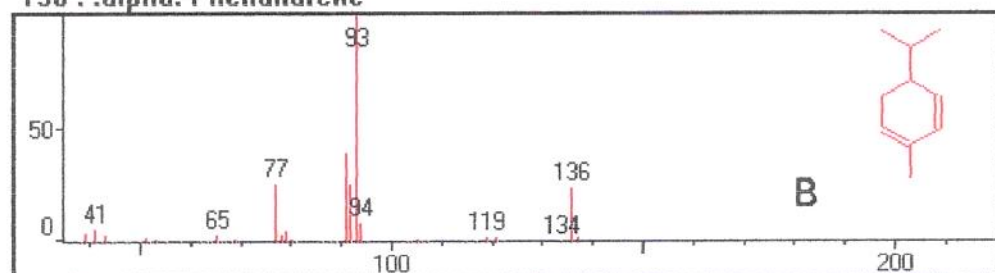
136 : β -Myrcene



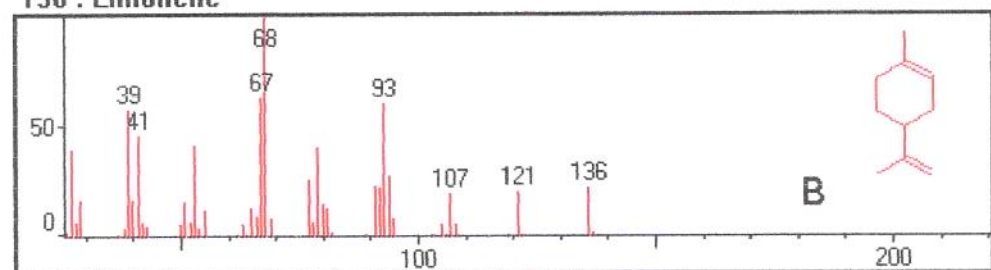
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



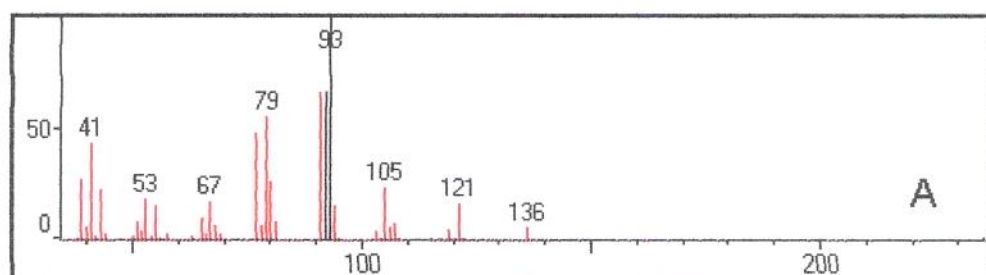
136 : α -Phellandrene



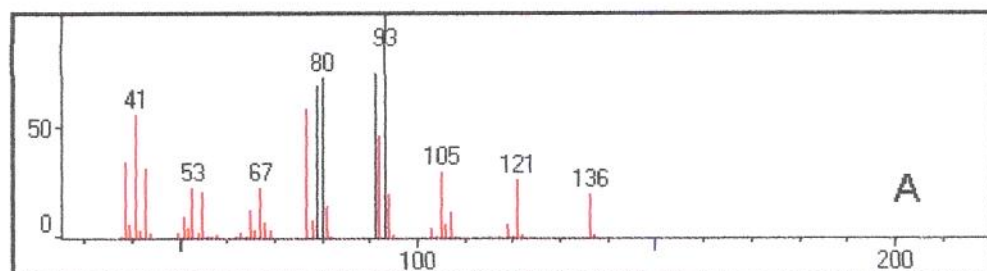
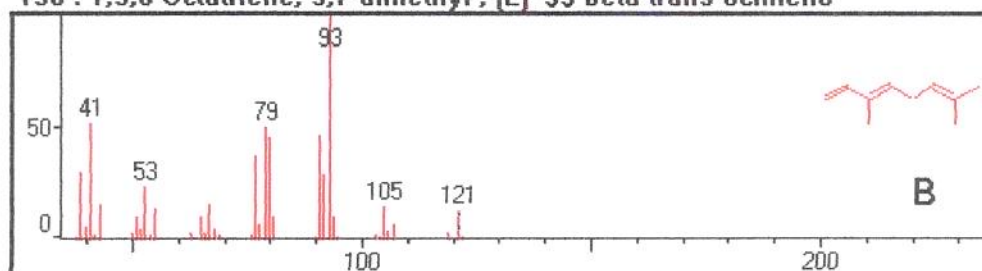
136 : Limonene



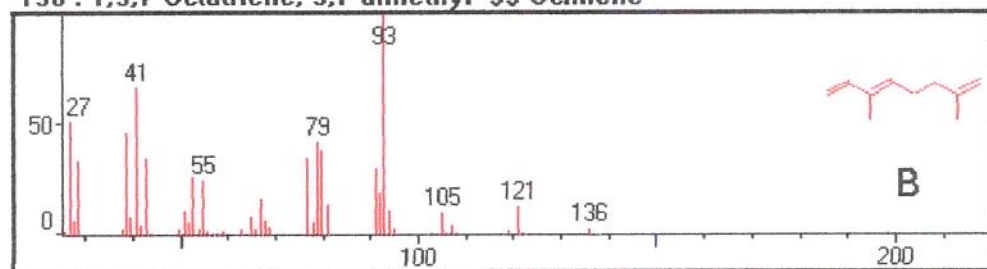
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



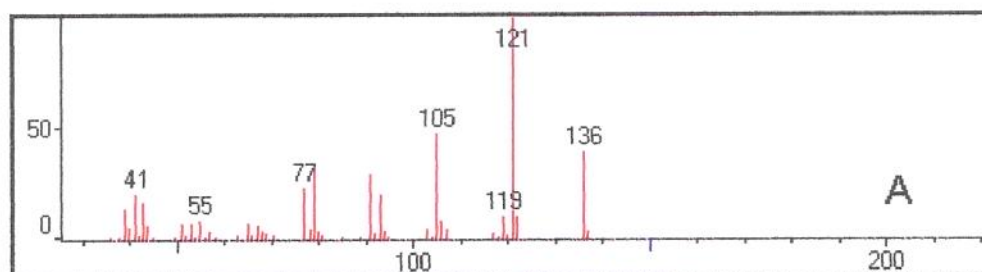
136 : 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-, beta-trans-ocimeno



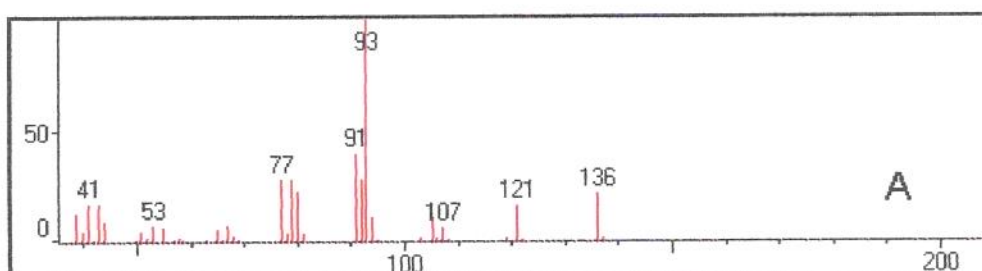
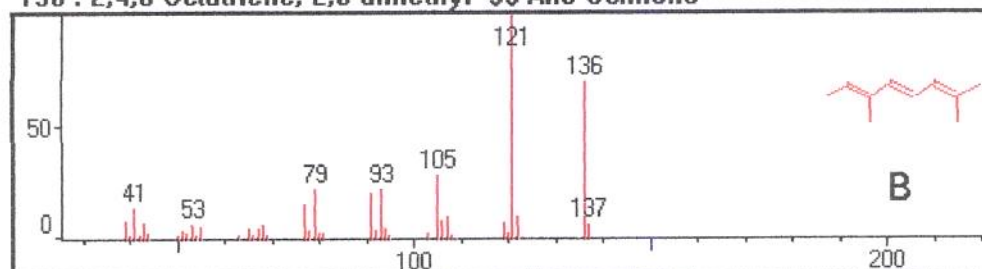
136 : 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, Ocimene



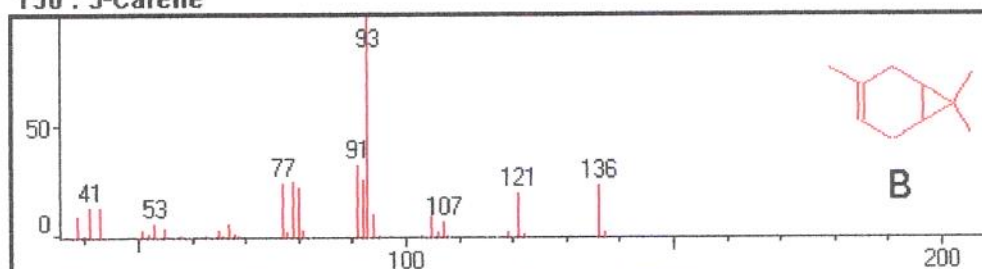
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



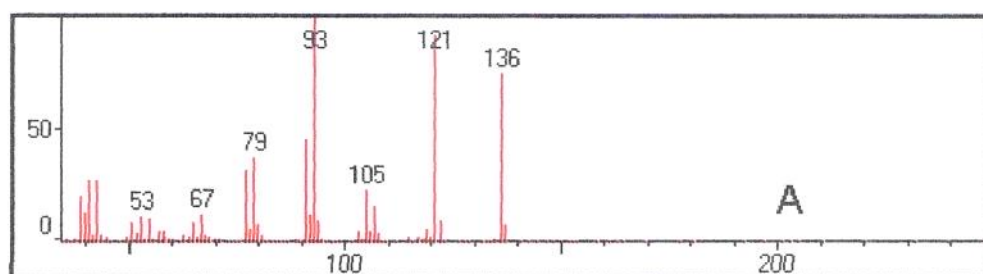
136 : 2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl- α -Allo-Ocimene



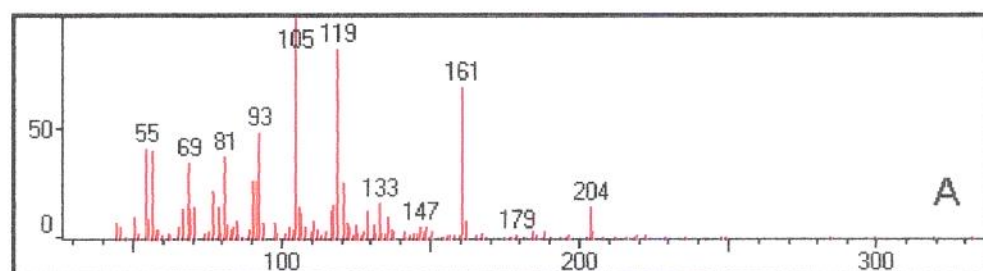
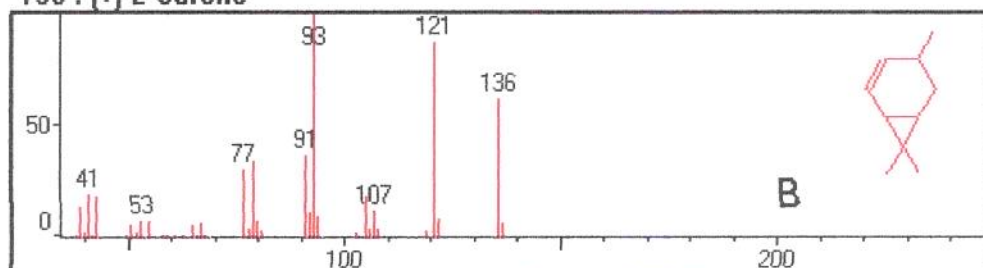
136 : 3-Carene



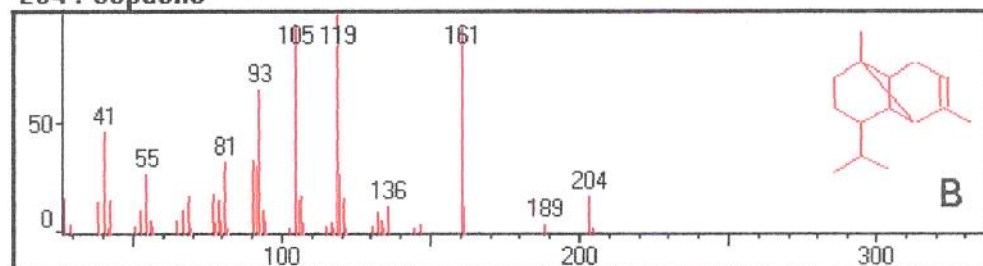
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



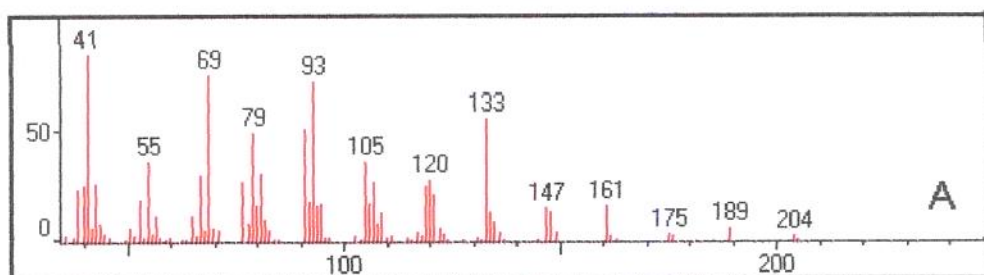
136 : (+)-2-Carene



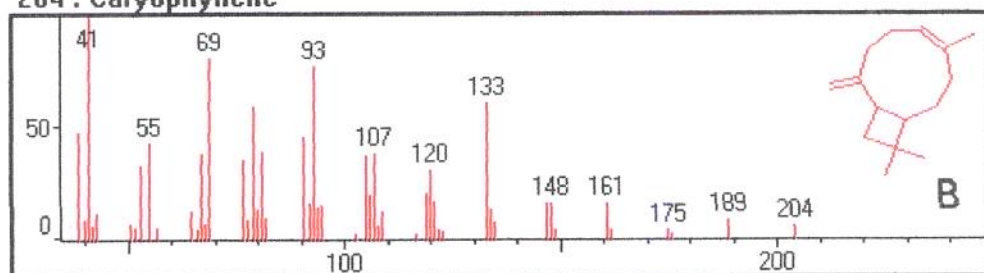
204 : Copaene



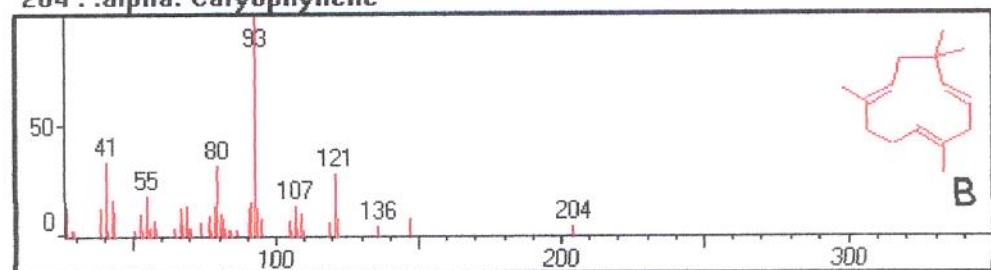
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



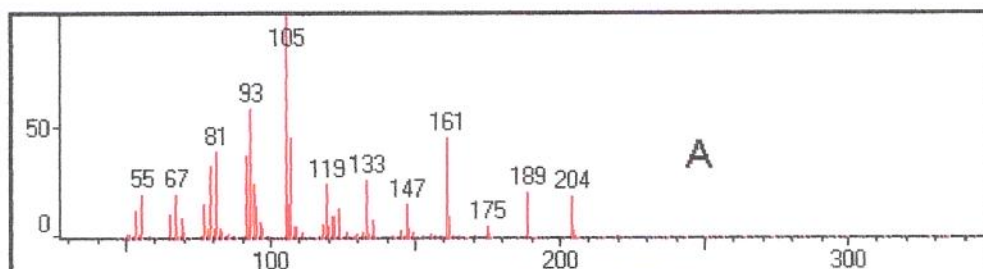
204 : Caryophyllene



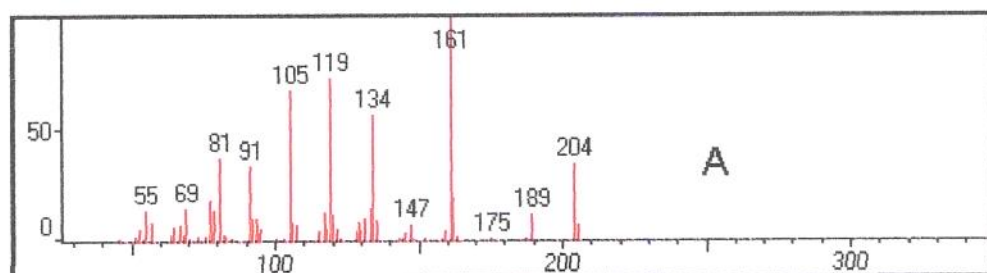
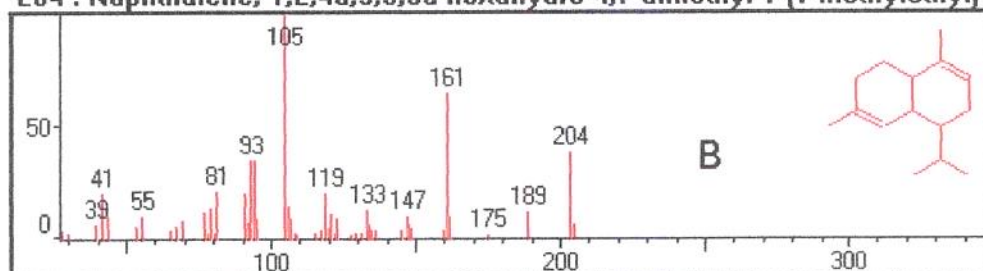
204 : .alpha.-Caryophyllene



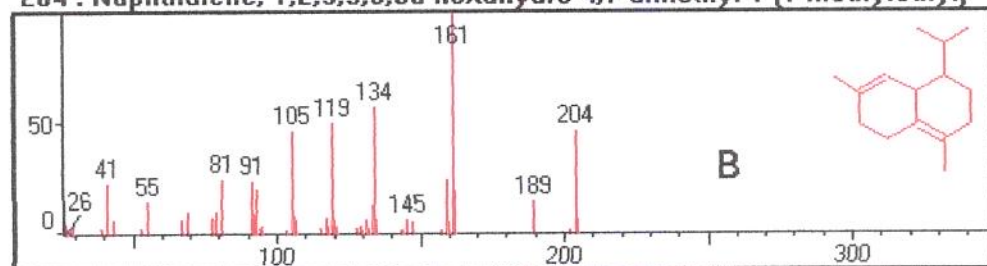
Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



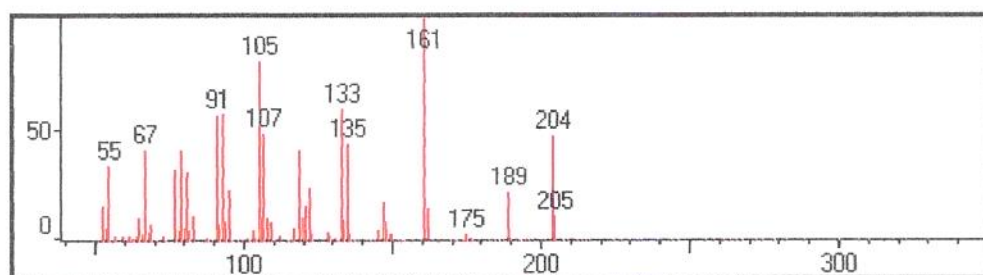
204 : Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-[1-methylethyl]



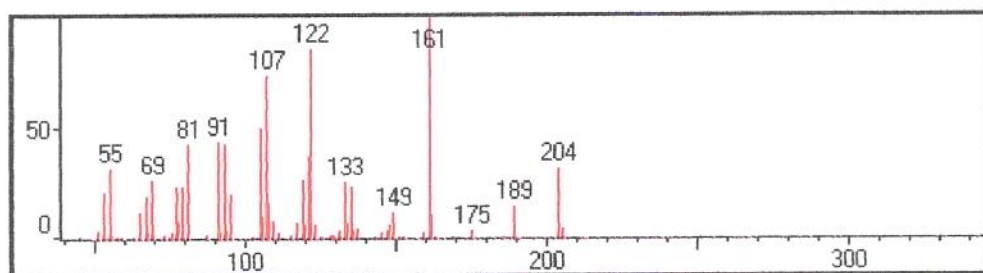
204 : Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-[1-methylethyl]



Espectros de massas: (A) obtido nesse estudo, (B) obtido da literatura (NIST).



Pico 43



Pico 44

Espectros de massas de compostos desconhecidos obtidos nesse estudo.