



YESENIA MENDOZA GARCÍA

**PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA POR GC-MS
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

**SETE LAGOAS
2016**

YESENIA MENDOZA GARCÍA

**PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA POR GC-MS
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São João Del-Rei, Campus Sete Lagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini
Coorientadores:
Prof. Dr. Júlio Onésio Ferreira Melo
Dra. Mayara Neves Santos Guedes

**SETE LAGOAS
2016**

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G216p García, Yesenia Mendoza.
 PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA POR GC-MS
 UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA / Yesenia
 Mendoza García ; orientador José Carlos Moraes
 Rufini; coorientador Júlio Onésio Ferreira Melo. --
 Sete Lagoas, 2016.
 57 p.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
 Ciências Agrárias) -- Universidade Federal de São
 João del-Rei, 2016.

 1. Compostos voláteis. 2. Frutos tropicais. 3.
 Malpighia emarginata. 4. Aroma. 5. HS/SPME - GC/MS.
 I. Rufini, José Carlos Moraes, orient. II. Melo,
 Júlio Onésio Ferreira, co-orient. III. Título.

YESENIA MENDOZA GARCÍA

**PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA POR GC-MS
UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São João Del-Rei, Campus Sete Lagoas, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias, área de concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini

Coorientadores:

Prof. Dr. Júlio Onésio Ferreira Melo

Dra. Mayara Neves Santos Guedes

Sete Lagoas, 07 de julho de 2016.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo – UFMG

Profa. Dra. Maria José Nunes de Paiva – UFSJ

Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini – UFSJ

(Orientador)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

YESENIA MENDOZA GARCÍA – Filha de Romulo Mendoza Claudio e Lucía García Flores, nasceu em 25 de setembro de 1991 na congregación Javier Rojo Gómez, município de Tlapacoyan, estado de Veracruz-México. Iniciou o curso de Engenharia Agrônômica no Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván, em agosto de 2009 e o concluiu em dezembro de 2013. Durante o último ano do curso de graduação, foi estagiária na fazenda experimental do Instituto Nacional de Pesquisa Florestal, Agrícola e Pecuária (INIFAP) de Ixtacuaco-VER, onde atuou no setor de Fruticultura, sob a orientação do MSc. Sergio Alberto Curti Díaz, desenvolvendo o trabalho “Diminuição do impacto negativo do HLB em citros, usando altas densidades de plantação”. Em agosto de 2014, iniciou o mestrado na área de Produção Vegetal no programa de Pós-graduação da Universidade Federal de São João Del Rei, do *Campus* Sete Lagoas-MG, como bolsista do Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CONACYT) – México, sob a orientação do Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini e coorientação do Prof. Dr. Júlio Onésio Ferreira Melo e a Dra. Mayara Neves Santos Guedes.

Posso ter defeitos, viver ansiosa e ficar irritada algumas vezes, mas não esqueço de que minha vida é a maior empresa do mundo. E que posso evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar autor da própria história.

É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma.

É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida.

Ser feliz é não ter medo dos próprios sentimentos. É saber falar de si mesmo. É ter coragem para ouvir um “não”. É ter segurança para receber uma crítica, mesmo que injusta.

(Augusto Cury)

Aos meus pais, Lucía e Romulo, pelo amor, apoio, confiança e segurança que sempre me deram. Aos meus irmãos, Blanca Ivette e Yiovanni, porque sempre acreditaram em mim, e a meu único amor Bricio, que foi o impulsor e o exemplo a seguir na minha conquista.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a força e a coragem para correr atrás dos meus sonhos, graças por ser meu guia em todo o momento.

Aos meus amados pais, por permitirem-me fazer esta viagem tão longe deles. Obrigada, por todas as ligações atendidas. A meu pai, por todos os seus ensinamentos e sabedoria transmitida. A minha mãe, por todos os seus conselhos e pelas suas reprimendas quando foram necessárias. Obrigada, papai, porque sem vocês não seria nada do que eu sou agora.

À minha irmã, por ter se tornado meu confidente e a melhor das amigas. A meu irmão que sempre me fez rir nos momentos mais difíceis, obrigado pela confiança que ambos depositaram em mim.

A todos os meus familiares que me apoiaram, direta ou indiretamente, graças aos meus avós, tios, primos e os menores da casa, meus sobrinhos, que de alguma forma ajudaram-me a conseguir chegar a mais de um dos meus objetivos na vida.

Ao meu único e grande amor Bricio Guerrero Espinosa, por me incentivar desde o primeiro momento a voar tão longe dele, obrigada pela confiança depositada em mim, por toda sua compressão e paciência, mas, sobretudo, pelo seu amor puro e sua presença constante durante todo esse tempo, obrigada por tudo, meu amor.

Ao meu amigo, colega e irmão por opção, Ramiro Rosas Hernández, que mesmo tomando caminhos distintos, sempre lembra-se de mim com uma mensagem, obrigada porque você sempre esteve ao meu lado, mesmo ficando a mais de 7000 km de distância.

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CONACYT), pela bolsa outorgada e pela oportunidade de continuar com meus estudos, por meio do convênio com o Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras (GCUB).

Ao programa da Pós-graduação em Produção Vegetal – UFSJ, pela formação acadêmica e pela oportunidade de realizar o mestrado, apesar das minhas dificuldades.

Ao Prof. Dr. José Carlos Moraes Rufini, por sua disponibilidade em me orientar desde o início, obrigada pela paciência e amizade outorgada.

Ao Prof. Dr. Júlio Onésio Ferreira Melo, por ter me ajudado imensamente durante todo esse tempo e por se tornar um amigo e pai para mim, sou muito grata por ter conhecido você e toda a sua família.

Ao Prof. Dr. Amauri Geraldo de Souza, pelas sugestões na qualificação e por me atender sempre que precisava de sua valiosa ajuda, muito obrigada por todos os seus ensinamentos.

À UFMG, por ter disponibilizado o equipamento GC-MS, para a realização das análises, em especial ao Prof. Dr. Rodinei Augusti pela ajuda outorgada.

Ao grupo de estudos em fruticultura (GEFrut) e grupo de estudos em química (GEQUI), em especial aos meus companheiros e amigos da graduação, João da Luz Silva Vieira, Gustavo Hernandez Bueno, Rafael Resende e Silvimar Guimarães.

À secretária da Pós-graduação, Carla Oliveira Melo, não só pela ajuda constante em cada um dos meus tramites realizados dentro da faculdade, mas principalmente pela amizade e o privilégio de ter conhecido você no momento mais difícil ou oportuno da minha vida.

Ao meu amigo Alejandro Sandria Díaz, pela ajuda incondicional, pela amizade, companheirismo e por todos os momentos compartilhados.

Ao meu companheiro e colega Aarón Martinez Gutierrez, pelo ano de convivência que compartilhamos quando ninguém sabia se iria dar certo.

Ao produtor Pedro, por disponibilizar-me os frutos de acerola.

Aos membros da banca examinadora, por terem aceitado o meu convite e por todas as sugestões e correções dadas pra a melhoria do meu trabalho.

A todos os professores que participaram e contribuíram para a minha formação, desde o início até a pós-graduação.

Aos meus verdadeiros companheiros de Pós-graduação, Martha Cristina Pereira Ramos, Júnia de Paula Lara, Matheus Pena Campos e Adriano Gonçalves de Campos, pela ótima convivência, apoio e ajuda que sempre me deram, mas, sobretudo, pela amizade sincera e solidariedade.

Às minhas queridas amigas, Mayara Neves Santos Guedes e Ingrid Thabata Silva Viana agradeço, porque sempre estiveram presentes nos bons e maus momentos da minha longa caminhada. Obrigada, Mayara, pela ajuda incondicional, tornou-se para mim o meu braço direito e esquerdo em todo momento. Obrigada, Ingrid, por todas aquelas conversas, desabafos e por me incentivar a seguir lutando. Meu mais sincero agradecimento, por todas as experiências compartilhadas, pelo carinho e a cumplicidade que jamais esquecerei.

E, finalmente, a todos aqueles que não foram citados, mas que colaboraram de uma forma ou de outra para a realização do meu mestrado.

Muito Obrigada!!!

LISTA DE ABREVIATURAS

- CAR/PMDS:** Carboxen/polidimetilsiloxano
- COVs:** Compostos orgânicos voláteis
- CW/DVB:** Carbowax/divinilbenzeno
- DVB/CAR/PDMS:** Divinilbenzeno/carboxen/ polidimetilsiloxano
- EI:** Impacto de elétrons
- ELL:** Extração líquido-líquido
- ESL:** Extração sólido-líquido
- eV:** Elétron-volt
- GC:** Cromatografia gasosa
- GC-MS:** Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas
- HS:** Headspace
- HS-SPME:** Microextração em fase sólida no modo *headspace*
- m/z:** Razão massa/carga
- MG:** Minas Gerais
- MS:** Espectrometria de massas
- NIST:** Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (*National Institute of Standards and Technology*)
- PA:** Poliacrilato
- PDMS/DVB:** Polidimetilsiloxano/divinilbenzeno
- rpm:** Rotações por minuto
- RSI:** Intensidade Padrão Relativo (Relative Standard Intensity)
- S/N:** Sinal/ruído
- SDE:** Extração de destilação simultânea
- SPM:** Extração em fase sólida (Solid Phase Extraction)
- SPME:** Microextração em fase sólida (Solid Phase Microextraction)
- UFMG:** Universidade Federal de Minas Gerais
- UFSJ/CSL:** Universidade Federal de São João Del-Rei/Campus Sete Lagoas
- µm:** Micrômetro

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1- Compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados em frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburú’ através de três fibras de microextração em fase sólida (SPME)..... 15

ARTIGO 1

Tabela 1- Planejamento fatorial (2^3) com triplicata do ponto central.....26

Tabela 2- Número de compostos orgânicos voláteis (COVs) extraídos por diferentes fibras de SPME.....28

Tabela 3- Condições experimentais e respostas obtidas para a extração dos compostos orgânicos voláteis de acerola, por HS-SPME e GC-MS.29

Tabela 4- Compostos orgânicos voláteis extraídos de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), usando fibras de diferentes polaridades, mediante HS-SPME/GC-MS.31

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1-** Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburú’ extraídos pela fibra de poliacrilato (PA)..... 17
- Figura 2-** Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburú’ extraídos pela fibra divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (PDMS/DVB). 18
- Figura 3-** Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburú’ extraídos pela fibra divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS).
..... 19

ARTIGO 2

- Figura 1-** Estruturas químicas dos compostos orgânicos voláteis majoritários de acerola. 30
- Figura 2-** Diagramas de Pareto das fibras (A): polidimetilsiloxano/divinilbenzeno, (B): carbowax/divinilbenzeno, (C): poliacrilato, (D): divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano, (E): carboxen/polidimetilsiloxano. 35

SUMÁRIO

RESUMO	I
ABSTRACT	II
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS	5
ARTIGO 1 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS EM FRUTOS DE ACEROLEIRA ‘BRS-366 JABURÚ’	10
Resumo	10
Abstract.....	10
Introdução.....	11
Material e métodos	12
Resultados e discussão	14
Conclusões.....	19
Referências	20
ARTIGO 2 – AVALIAÇÃO DE FIBRAS DE SPME PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA	23
Resumo	23
Abstract.....	23
Introdução.....	24
Material e métodos	25
Resultados e discussão	28
Conclusões.....	37
Referências	38
CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
ANEXOS	42

PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA POR GC-MS UTILIZANDO MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

RESUMO – O Brasil possui uma abundância natural de frutas tropicais, que ainda precisa ser estudada quanto à composição de seus constituintes voláteis, responsáveis pelo aroma e sabor que chamam a atenção dos consumidores. Além disso, muitos dos frutos apresentam uma alta potencialidade comercial, contudo, poucas são as pesquisas direcionadas à identificação e caracterização desses constituintes, dentre as quais destaca-se a acerola (*Malpighia emarginata* D.C). Atualmente, para o estudo desses compostos, são utilizadas várias técnicas que permitem a extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) de frutos, alimentos e bebidas. No entanto, a microextração em fase sólida (SPME) vem se destacando, em decorrência da não utilização de nenhum solvente para a extração desses compostos, minimizando a perda de analitos durante o processo de extração. Nesse sentido, objetivou-se, neste trabalho, identificar os COVs presentes em frutos de acerola e avaliar a eficiência de cinco diferentes fibras de SPME para a determinação das melhores condições de extração. Foram colhidos frutos de acerola, durante a safra de 2014, obtidos de um plantio localizado no município de Jequitibá-MG. Para a extração dos COVs, foi empregado o método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME). Para a separação e identificação dos COVs, foi utilizada a cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massas (GC-MS). Foram avaliadas cinco fibras de SPME de diferentes polaridades: PA, CW/DVB, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS e CAR/PMDS), com o fim de comparar a eficiência de extração de cada uma das fibras, de acordo ao número de compostos orgânicos voláteis extraídos. O delineamento experimental empregado foi o planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central. As variáveis investigadas foram: tempo de extração (20, 30, 40 min), temperatura de extração (25, 45, 65°C) e agitação (0, 50, 100 rpm). Foram gerados Diagramas de Pareto para avaliar a influência das variáveis mais significativas para a otimização da extração dos COVs presentes nos frutos de acerola. Os resultados obtidos demonstraram que a composição dos frutos de acerola ficou formada, principalmente pelas classes químicas: cetonas, álcoois, ésteres, fenilpropanoides, aldeídos, terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. Verificou-se que a fibra polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) foi a que maior número de COVs extraiu, com destaque para os compostos, 2-etil-hexanol, 1-octadecanol, benzaldeído, ácido acético e hexadecano. Para a extração do maior número de compostos orgânicos voláteis (COVs), as condições investigadas ficaram da seguinte forma: tempo de extração (20 min), temperatura de extração (65 °C) e sem agitação.

Palavras-chave: Frutos tropicais. *Malpighia emarginata*. HS-SPME. GC-MS. Aroma.

PROFILE OF VOLATILE COMPOUNDS OF ACEROLA BY GC-MS USING SOLID-PHASE MICROEXTRACTION

ABSTRACT – Brazil presents a natural abundance of tropical fruit that have yet to be studied concerning the composition of their volatile constituents, responsible for the aroma and flavor that attract the attention of the consumers. In addition, many of the fruits present high commercial potential. However, there are few researches are directed at the identification and characterization of these constituents, among which the acerola (*Malpighia emarginata* D.C) is highlighted. Currently, to study these compounds, many techniques that allow the extraction of volatile organic compounds (VOCs) of fruits, food and beverages are used. However, solid-phase microextraction (SPME) has gained prominence given that it uses no solvents for extracting these compounds, minimizing the loss of analytes during the extraction process. In this sense, the objective of this work was to identify the VOCs present in acerola fruits and evaluate the efficiency of five different SPME fibers for determining the best extraction conditions. Acerola fruits were collected during the harvest of 2014, obtained from a crop located at the municipality of Jequitibá, Minas Gerais, Brazil. For extracting the VOCs, we employed the headspace solid-phase microextraction method (HP-SPME). For separating and identifying the VOCs, we used gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). We evaluated five SPME fibers with different polarities: PA, CW/DVB, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS and CAR/PDMS, in order to compare the extraction efficiency of each fiber according to the number of volatile organic compounds extracted. The experimental design employed was a 23 factorial planning with triplicate of the central point. The investigated variables were: time of extraction (20, 30 and 40 min), extraction temperature (25, 45 and 65oC) and agitation (0, 50 and 100 rpm). Pareto diagrams were generated to evaluate the influence of the variables most significant for optimizing VOC extraction of the acerola fruits. The results showed that the composition of the acerola fruits was formed especially by chemical classes: ketones, alcohols, esters, phenylpropanoids, aldehydes, terpenes, carboxylic acids and hydrocarbons. The polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) fiber was presented the highest number of VOCs extracted, with prominence of compounds 2-ethylhexanol, 1-octadecanol, benzaldehyde, acetic acid and hexadecano. For the extraction of a higher number of VOCs, the evaluated conditions were as follows: time of extraction (20 min), extraction temperature (65oC) and no agitation.

Keywords: Tropical fruits. *Malpighia emarginata*. HS-SPME. GC-MS. Aroma.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil possui a mais rica biodiversidade quanto à flora e fauna. É o terceiro maior produtor mundial de frutas, apenas atrás da China e Índia, sendo a região do Nordeste responsável pela maior parte da produção de frutas tropicais, dentre as quais destacam-se o abacaxi, o abacate, a banana, o caju, o coco, o mamão, a manga, o maracujá, a uva, a goiaba e a acerola (ABUD e NARAIN, 2009; ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2015).

A acerola, fruto da aceroleira, também conhecida como cereja das Antilhas ou cereja dos Barbados, tem a sua origem na região compreendida ao sul do México, América Central e Norte da América do Sul, é pertencente à família Malpighiaceae e gênero *Malpighia*, cientificamente conhecida pelos termos *Malpighia glabra* L., *Malpighia puniceifolia* L., e *Malpighia emarginata* D. C. (MEZADRI, 2006; MEZADRI et al., 2008).

Em decorrência da sua rusticidade e resistência, a acerola pode ser propagada naturalmente e com facilidade por toda parte do mundo. Trata-se de uma planta de clima tropical, porém adapta-se bem em regiões de clima subtropical e, até mesmo, em regiões semiáridas. É resistente a temperaturas entre 25°C e 27°C, mas desenvolve-se melhor em temperaturas médias de 26°C com chuvas entre 1200 e 2000 mm. É cultivada principalmente em escala comercial em Porto Rico, Havaí, Jamaica e Brasil (MEZADRI et al., 2008; CAETANO, 2010).

Quanto ao amadurecimento dos frutos, estes apresentam diferentes tonalidades de cor, que vão do amarelo ao vermelho intenso ou roxo, no que se refere ao sabor, este pode variar do levemente ácido a muito ácido (ADRIANO, 2011). A maturação envolve muitas mudanças metabólicas na síntese e degradação de inúmeros compostos (CORRÊA et al., 2000).

As principais mudanças que ocorrem na maturação são o aumento de volume, o desenvolvimento das sementes, mudanças de cor, mudanças da taxa respiratórias, da textura, produção de etileno, alteração na permeabilidade nos tecidos, mudanças químicas nos carboidratos, ácidos orgânicos, proteínas, fenólicos, pigmento e pectina, e produção de substâncias voláteis e outras substâncias na casca (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Segundo Araújo (1994), a acerola após a colheita sofre alterações na cor, aroma, sabor e textura. Esse fato pode ser explicado por condições de armazenamento, temperatura, entre outros, podendo levar a uma possível degradação dos compostos ativos.

Com o amadurecimento do fruto ocorre também um aprimoramento das características sensoriais, onde são desenvolvidos sabores e odores específicos, em conjunto com o aumento

da doçura, redução da acidez e da adstringência. Desse modo, o fruto torna-se mais macio, colorido e aceitável para o consumo (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

No caso das frutas, o aroma se desenvolve no quarto período de amadurecimento pleno, durante o qual o metabolismo muda para catabolismo de pequenas quantidades de lipídios (ácidos graxos), proteínas (aminoácidos) e carboidratos, os quais são enzimaticamente convertidos em compostos voláteis (NARAIN et al., 2004).

Os compostos voláteis formados durante as transformações bioquímicas da maturação são responsáveis pelo aroma típico, tendo grande importância na aceitação das frutas, sendo as frutas climatéricas mais aromáticas que as não-climatéricas, em decorrência da ação do etileno no estímulo rápido das reações de síntese (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

No entanto, a acerola por possuir modelo climatérico de respiração apresenta problemas de comercialização in natura, chegando a atingir de 15 a 40% de perdas pós-colheita (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

O grande interesse dos agricultores na acerola deve-se, principalmente, ao elevado teor de ácido ascórbico, sendo amplamente utilizada na alimentação humana e na fabricação de produtos farmacêuticos, além de atender ao mercado de polpa processada e fruta in natura (MORAES FILHO et al., 2014).

Além do elevado teor de vitamina C, a acerola também é rica em vitamina A (caroteno), vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina) e vitamina B5 (ácido pantoténico). Apresenta também sais minerais de grande importância para o organismo humano, tais como: cálcio, fósforo e ferro, assim como proteínas (TANAKA, 2007).

Por ser uma alternativa viável para o mercado e pela grande potencialidade para industrialização, a acerola pode ser consumida na forma de suco, licor, soft drink, bombons, goma de mascar, néctares, purê, sorvetes, cobertura de biscoitos e refrigerantes, compotas, geleias, como alimentos dietéticos, na forma de alimentos nutracêuticos, como comprimidos ou cápsulas, empregados como suplemento alimentar, chás, bebidas para esportistas, barras nutritivas e iogurtes (CARPENTIERI-PÍOLO et al., 2002). No entanto, entre os produtos mais novos encontram-se os xampus, cremes e sabonetes (RITZINGER e RITZINGER, 2011; LIMA et al., 2012).

Apesar da grande variedade de produtos derivados, a acerola ainda precisa ser estudada quanto à composição de seus constituintes voláteis, pois são eles os responsáveis pelo aroma e sabor característico da fruta. Os aromas exercem fortes sensações de odor ainda

em baixas concentrações, sendo, portanto os compostos voláteis responsáveis pelo aroma percebido em uma matriz (ALVES e FRANCO, 2003; FRANCO, 2003).

A sensação do aroma envolve um grande número de substâncias voláteis, as quais apresentam um considerável impacto econômico, como parâmetro de qualidade dos alimentos e do consumidor. A função dos voláteis nas frutas como um sinal de maturação e como um atrativo para os organismos dispersores das sementes é justificada pelo fato de algumas substâncias serem especificamente formadas em frutos maduros, estando ausentes nos tecidos vegetativos e em frutos imaturos (RIU-AUMATEL et al., 2004; GOFF e KLEE, 2006).

Atualmente, o aroma apresenta-se como um dos atributos de qualidade mais pesquisados, em razão das inúmeras sensações olfativas geradas pelas distintas moléculas de uma fruta, sendo sua intensidade influenciada por diversos fatores pré e pós-colheita, bem como ponto de maturação, manipulação e outros fatores (MARTINS et al., 2010).

O aroma é dado pela presença de compostos voláteis que impressionam os receptores olfativos, ou seja é uma sensação bem mais complexa, pois o olfato pode discriminar entre um sem número de compostos (THOMAZINI e FRANCO, 2000).

Os compostos voláteis responsáveis pelo aroma são, em sua maioria, substâncias termolábeis, sujeitos a rearranjos, ciclizações, oxidações, quando submetidos a qualquer aumento de temperatura. Se o estudo dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor das frutas tropicais é útil na caracterização e classificação da origem das frutas, sua importância é ainda maior quando perdas ou modificações do aroma ocorrem, em razão do processamento industrial, resultando em produtos que não mais apresentam o sabor original (THOMAZINI e FRANCO, 2000).

Esses compostos podem ser derivados de aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos e carotenoides, os quais constituem um grupo heterogêneo de compostos com cadeia linear, ramificada, aromática e heteroaromática, apresentando grupos químicos diferentes, como hidroxila, carbonila, carboxila, éster, lactona, amina e funções tiol (PINHO et al., 2009)

As metodologias usadas para o estudo desses compostos, incluem uma fase de enriquecimento (concentração), a qual ocorre previamente ou em simultâneo com a fase de extração, seguidas de uma etapa de identificação e quantificação, normalmente realizadas por instrumentos de cromatografia gasosa (COIMBRA et al., 2007). A avaliação desses compostos compreende três etapas: isolamento, separação por cromatografia de alta resolução e identificação (RIU-AUMATELL, 2005; FERREIRA, 2007).

O isolamento dos analitos pode ser realizado com ou sem o uso de solventes, sendo que os COVs podem ser identificados e quantificados pelo uso de diferentes técnicas

(LORRAIN et al., 2006). Entre as metodologias que utilizam solvente encontram-se a extração líquido-líquido (ELL), extração sólido-líquido (ESL) e a extração e destilação simultâneas (SDE), as quais realizam várias etapas até a obtenção dos analitos, impedindo a detecção dos compostos mais voláteis, que normalmente coeluem com o solvente, tendo assim a desvantagem de usar solventes orgânicos (LINSKENS e JACKSON, 1997).

No entanto, já existem processos que dispensam o uso de solventes orgânicos como: a extração em fase gasosa (headspace), extração em membrana e extração em solventes (micro-extração em fase sólida –MEFS) ou em inglês solid phase micro-extraction (SPME), sendo esta última uma das técnicas analíticas mais aplicada atualmente para a detecção de COVs responsáveis pelo aroma de frutos como de alimentos (DAMASCENO, 2007).

A microextração em fase sólida (SPME) é uma técnica de extração e pré-concentração simultânea de compostos voláteis e semivoláteis, a qual vem sendo utilizada por inúmeros autores para análise de substâncias voláteis em alimentos. Para a separação e identificação desses compostos, são utilizados instrumentos de cromatografia gasosa (GC) acoplada à espectrometria de massa (MS) respectivamente, sendo precedida pela técnica de SPME, metodologia que tem sido muito usada para estudar a composição dos COVs (HAWTHORNE et al., 1992; YANG e PEPPARD, 1994; PELUSIO et al., 1995; MESTRES et al., 2000; MARENGO et al., 2001; ROCHA et al., 2001; BONINO et al., 2003; ROCHA, 2013).

A SPME depende de alguns parâmetros que garantem a eficácia na extração dos componentes, dentre os quais estão: o volume da amostra e do headspace, tipo e espessura da fase extratora (ou revestimento polimérico), adição de sal, pH da solução, assim como da temperatura de extração e agitação (FRANCO e JANZANTTI, 2004).

A cromatografia gasosa (GC) permite separar compostos voláteis em amostras complexas. O cromatógrafo gasoso é um instrumento usado para a aplicação dessa técnica, o qual usa uma corrente de gás quimicamente inerte (fase móvel) que transporta os componentes da mistura a analisar na forma de gás ou de vapor e passa por meio de uma fase estacionária acondicionada a uma coluna. A separação dos compostos em estudo resulta das propriedades físicas e químicas e da interação com o material do interior da coluna (BÉLANGER et al., 1997; TRANCHIDA et al., 2014).

A técnica de espectrometria de massas (MS) consiste na ionização de um composto, seguida pela separação de seus íons na base massa/carga (m/z) e o registro na forma de um espectro do número de íons que corresponde a cada “unidade” de m/z . Os espectrômetros de massas são muito úteis na análise de compostos cujo espectro de massas é conhecido e na análise de compostos de estruturas completamente desconhecidas (SILVERSTEIN et al.,

2006). Contudo, a pesquisa de COVs recebeu grande impulso, em decorrência da introdução do sistema GC-MS.

Portanto, diante do exposto, objetivou-se, neste trabalho, identificar os compostos orgânicos voláteis (COVs) de frutos de aceroleira, assim como a avaliação das diferentes fibras de SPME utilizadas durante o estudo para a determinação das melhores condições de extração.

REFERÊNCIAS

ABUD, A. K. S.; NARAIN, N. Incorporação da farinha de resíduo do processamento de polpa de fruta em biscoitos: uma alternativa de combate ao desperdício. **Braz. J. Food Technol.**, v. 12, n. 4, p. 257-265, 2009.

ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R. M. Qualidade de fruto da aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 541-545, 2011.

ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, n. 1, p. 297-301, 2003.

ANUARIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul - RS: Editora Gazeta Santa Cruz, 104 p., 2015.

ARAÚJO, P. S. R.; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

BEHLING, A.; MAFRA, C.; COLOMBO, R.; BAMBERG, R. **Cultura da Acerola**. Frederico Westphalen: Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

BONINO, M.; SCHELLINO, R.; RIZZI, C.; AIGOTTI, R.; DELFINI, C.; BAIOCCHI, C. Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with CG-ITMS. **Food Chemistry**, v. 80, p. 125-133, 2003.

CAETANO, P. K. **Processamento Tecnológico e Avaliação Energética de Geléia de Acerola**. 2010. 94f. Tese (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Campus de Botucatu, SP.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V. A. L. É. R. I. A.; PRETE, C. E. C.; Gonzalez, M. N.; POPPER, I. O. Novas cultivares de acerola (*Malpighia emarginata* DC): UEL 3-Dominga, UEL 4-Lígia e UEL 5-Natália. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 124-126, 2002.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. (Ed.). Lavras: UFLA, 2005.

COIMBRA, M. A.; ROCHA, S. M.; BARROS, A. S. Methodologies for improved quality control assessment of food products. In: *Advances in Food Diagnostics*, F, Toldrá e L. Nollet (Eds). Blackwell Publishing, Iowa, USA, 2007. Cap 2, p. 11-47.

CORRÊA, A. D.; ABREU, C. M. P.; SANTOS, C. D.; RIBEIRO, L. J. Constituintes químicos da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante a maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, n.1, p. 130-135, 2000.

DAMASCENO, F. C. **Microextração em fase sólida no modo headspace aplicada ao estudo de substâncias voláteis de plantas infestadas por galhas foliares entomógenas**. 2007, 143 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

FERREIRA, P. R. D. S. J. **Volatile composition of Vitis vinifera L. Fernão-Pires variety from Bairrada Appellation: 1. Comparison with other major white grape varieties; 2. Development of methodologies of analysis**. 2007. 235p. Tese (Doutorado) Universidade de Aveiro, Aveiro.

FERREIRA, R. M. de A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A. de; QUEIROZ, R. F. Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n.2, 2009.

FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 246p.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Varela, 2004. Cap. 1, p. 17-27.

FRANZÃO, A. A.; MELO, B. **A cultura da aceroleira**, 2005.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUZA, H. M. Acerola: Produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **R. Bras. Agrociência, Pelotas**, v. 12, n 4, p. 395-400, 2006.

GOFF, S. A.; KLEE, H. J. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value? **Science**, v. 311, n. 5762, p. 815-819, 2006.

GONZAGA NETO, L.; SOARES, J. M.; **Acerola para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: MAARA-SDR, EMBRAPA-SPI, 1994, 43 p.

HAWTHORNE, S. B.; MILLER, D. J.; PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. L. Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers. **Journal of Chromatography A**, v. 603, n. 1, p. 185-191, 1992.

JUNQUEIRA, K. P.; PIO, R.; VALE, M. R. do; RAMOS, J. D. **Cultura da acerola**. Lavras, MG: UFLA, 2004. 27p.

LIMA, R. M. T.; FIGUEIREDO, R. W. D.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M. D.; FIGUEIREDO, E. A. T. D.; RODRIGUES, C. S. Estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola pasteurizadas e não-pasteurizadas de cultivo orgânico. **Ciência Rural**, v. 42, n. 2, p. 367-373, 2012.

LINSKENS, H.F.; JACKSON, J.F. **Plant volatile analysis**. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1997, 52–154 p.

LORRAIN, B.; BALLESTER, J.; THOMAS-DANGUIN, T.; BLANQUET, J.; MEUNIER, J. M.; LE FUR, Y. Selection of potential impact odorants and sensory validation of their importance in typical Chardonnay wines. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 11, p. 3973-3981, 2006.

MARENGO, E.; ACETO, M.; MAURINO, V. Classification of Nebbiolo-based wines from Piedmont (Italy) by means of solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 943, p. 123-137, 2001.

MARTINS, C. R.; FARIA, J.; ROMBALDI, C. V.; FARIAS, R. Qualidade Sensorial de Maças produzidas em diferentes sistemas de produção. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, p. 91-99, 2010.

MESTRES, M.; BUSTO, O.; GUASH, J. Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 569-581, 2000.

MEZADRI, T.; VILLANO, D.; FERNANDEZ-PACHON, M.; GARCÍA-PARRILLA, M.; TRONCOSO, A. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282-290, 2008.

MEZADRI, T.; FERNANDEZ-PACHON, M.S.; VILLANO, D. El fruto de la acerola: composición y posibles usos alimenticios. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, v.56, n.2, p.101-109, 2006.

MEZADRI, T.; FERNANDEZ-PACHON, M.S.; VILLANO, D. El fruto de la acerola: composición y posibles usos alimenticios. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.56, n.2, p.101-109, 2006.

MORAES FILHO, F. C.; OLIVEIRA, E. L.; ARAUJO NOBREGA, E. M. M.; OLIVEIRA, J. A.; & CORREIA, R. T. P. Secagem convectiva da acerola (*Malpighia emarginata* DC.): aplicação de modelos semiteóricos. **Holos**, v. 1, p. 86-95, 2014.

NARAIN, N.; ALMEIDA, J. N.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S.; BRITO, E.S. Compostos voláteis dos frutos maracujá (*Passiflora edulis* forma flavicarpa) e de cajá (*Spondias mombin* L) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 24, n.2, p. 212-216, 2004.

PELUSIO, F.; NILSSON, T.; MONTANARELLA, L.; TILIO, R.; LARSEN, B.; FACCHETTI, S.; MADSEN, J. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 43, p. 2138-2143, 1995.

PINHO, P. G.; GONÇALVES, R. F.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, D. M.; SEABRA, R. M.; ANDRADE, P. B.; SOTTOMAYOR, M. Volatile composition of *Catharanthus roseus* (L.)

G. Don using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 49, n. 3, p. 674-685, 2009.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Cultivo tropical de fruteiras: Acerola. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte- MG, v.32, n.264, p.17-25, set./out. 2011.

RIU-AUMATELL, M. **Caracterización de compuestos volátiles en bebidas derivadas de fruta**. 2005. 136p. Tese (Doctorat) - Universitat de Barcelona, Espanha.

RIU-AUMATELL, M.; CASTELLARI, M.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; GALASSI, S.; BUXADERAS, S. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. **Food Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 627-637, 2004.

ROCHA, S. M.; SALVADOR, Â. C.; MARTINS, C.; BARBOSA, C.; SANTOS, M.; PETRONILHO, S. Microextração em fase sólida e cromatografia de gás: Uma combinação de elevado potencial. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 4, p. 284-300, 2013.

ROCHA, S.; RAMALHEIRA, V.; BARROS, A.; DELGADILLO, I.; COIMBRA, M. A. Headspace solid phase microextraction (SPME) analysis of flavour compounds in wines. Effect of the matrix volatile composition in the relative response factors in a wine model. **J. Agric. Food Chem.** v. 49, p. 5142-5151, 2001.

SCHULTZ, A. R. **Introdução ao estudo da botânica sistemática**. 3. (Ed.). Porto Alegre: Globo, 1968. v. 2.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2006. 490 p.

SOUZA, M. J. H.; GUIMARÃES, M. C. A.; GUIMARÃES, C. D. L.; FREITAS, W. S.; OLIVEIRA, A. M. S. Potencial agroclimático para a cultura da acerola no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 2, 2006.

TANAKA, D. L. **Influência da desidratação por spray drying sobre o teor ácido ascórbico no suco de acerola (*Malpighia spp.*)**. 2007. 56f. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Campus de Araraquara – SP.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Bol. SBCTA**, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.

TRANCHIDA, P. Q.; FRANCHINA, F. A.; DUGO, P.; MONDELLO, L. Comprehensive two-dimensional gas chromatography-mass spectrometry: Recent evolution and current trends. **Mass spectrometry reviews**. 2014.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 195-198, 2000.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. D. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 92-94, 2003.

YANG, X.; PEPPARD, T. Solid-phase microextraction for flavor analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 9, p. 1925-1930, 1994.

ARTIGO 1 – COMPOSTOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS EM FRUTOS DE ACEROLEIRA ‘BRS-366 JABURÚ’

RESUMO – Nos alimentos, o sabor e o aroma são características muito importantes, assim, neste trabalho, objetivou-se identificar os compostos orgânicos voláteis (COVs) do cultivar de acerola “BRS-366 Jaburú”, para o qual foi utilizado o método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME). Para a separação e identificação dos COVs foi empregado um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS). Foram avaliadas três fibras, Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB), 65 µm, Divinilbenzeno/Carboxen/ Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 50/30 µm e Poliacrilato (PA), 85 µm para comparar a extração dos seus componentes. Trinta e três compostos voláteis foram identificados, sendo classificados em oito classes químicas: ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, hidrocarbonetos, fenilpropanóides e terpenóides. As áreas dos picos de cada um dos compostos extraídos foram expressas em porcentagem para indicar a concentração relativa de cada um deles, dos quais destaca-se o acetato de etila por ser responsável pelas notas aromáticas frutais. Assim, a fibra de PDMS / DVB foi a melhor, pois permitiu extrair um maior número de compostos voláteis.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata*. Aroma. *Headspace*. Microextração em fase sólida. Cromatografia gasosa-espectrometria de massas.

VOLATILE COMPOUNDS IDENTIFIED IN FRUITS BARBADOS CHERRY ‘BRS-366 JABURÚ’

ABSTRACT – In foods, the flavor and aroma are very important features, so the main purpose of this study was to identify volatile organic compounds (VOCs) cultivar acerola "BRS-366 quark", for which we used the microextraction method in phase solid headspace (HS-SPME). For the separation and identification of VOCs employed was a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GC-MS). Three fibers were evaluated, Polydimethylsiloxane / Divinylbenzene (PDMS / DVB), 65 micrometres Divinylbenzene / Carboxen / Polydimethylsiloxane (DVB / CAR / PDMS) 50/30 m and polyacrylate (PA) 85 uM to compare the extraction of its components. Thirty-three volatile compounds were identified and classified into eight chemical classes: carboxylic acids, alcohols, aldehydes, ketones, esters, hydrocarbons, phenylpropanoids and terpenoids. The peak areas of each of the extracted compounds were expressed as percentages to indicate the relative concentration of each of which stands out the ethyl acetate by being responsible for the fruity aroma notes. Thus, the fiber PDMS / DVB was the best as possible to extract a greater number of volatile compounds.

Keywords: *Malpighia emarginata*. Aroma. *Headspace*. Solid-phase microextraction. Gas chromatography-mass spectrometry.

Introdução

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), também conhecida como “Cereja das Antilhas” ou “Cereja dos Barbados”, é originária da América Central (ARAÚJO e MINAMI, 1994), sendo principalmente cultivada nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil; pertencente à família Malpighiaceae, a qual compreende cerca de 71 gêneros e 1.250 espécies (ROBERTSON 1972; JUDD et al., 1999).

No Brasil, existem mais de 42 variedades de acerolas cultivadas, cujas principais são: Apodi (BRS-235), Cabocla, Cereja (BRS-236), Frutacor (BRS-238), Okinawa, Oliver, Rochinha (BRS-237), Rubra e Sertaneja (FIGUEIREDO-NETO, 2014), e mais recentemente a cultivar “BRS-366 Jaburu”.

Atualmente, as informações a respeito da variedade “BRS-366 Jaburu” são muito escassas, isso se deve ao amplo domínio do mercado brasileiro, exercido por outras cultivares. No entanto, apesar da pouca informação existente na literatura, a acerola vem se destacando como principal cultivar plantada pela cadeia produtiva local para exportação de vitamina C.

A variedade “BRS-366 Jaburu” apresenta elevada quantidade de vitamina C, produz em média 100 quilos de fruta por planta ao ano, o que representa uma produtividade de cerca de 57 toneladas por hectare por ano. Trata-se de uma planta que tem sete ciclos produtivos ao longo do ano, além de apresentar boa adaptação, tanto para a colheita mecanizada, como para a manual (EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL, 2012).

O fruto de aceroleira caracteriza-se pelo seu sabor agradável e destaca-se por seu reconhecido valor nutricional, como fonte de vitamina C, vitamina A, ferro, cálcio e vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina), pela sua elevada capacidade de aproveitamento industrial, é consumido tanto “in natura” como industrializado (FERREIRA et al., 2009).

No entanto, como é uma fruta climatérica, a acerola, após a colheita sofre alterações rápidas na cor, aroma, sabor e textura (ARAÚJO, 1994). O sabor é um fator decisivo na escolha e aceitação de alimentos e bebidas, que são percebidos pelo sentido do paladar e do olfato, portanto, a demanda por sabores, tem atraído a atenção das indústrias de aromas para a identificação de compostos voláteis, os quais são responsáveis pelo sabor característico das frutas, justificando a importância que estes desempenham também na qualidade dos frutos e de seus produtos derivados (THOMAZINI e FRANCO, 2000; FRANCO, 2003; NARAIN et al., 2004).

Os compostos voláteis responsáveis pelo aroma são, em sua maioria, substâncias termolábeis, sujeitos a rearranjos, ciclizações, oxidações, quando submetidos a qualquer aumento de temperatura. Para a separação analítica e identificação dos COVs, são utilizados instrumentos de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), sendo precedida por uma operação de extração, por meio do método de microextração em fase sólida (SPME), o qual tem sido utilizado por inúmeros autores para análise de substâncias voláteis em alimentos (HAWTHORNE et al., 1992; YANG e PEPPARD, 1994; PELUSIO et al., 1995; THOMAZINI e FRANCO, 2000).

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar os compostos orgânicos voláteis (COVs) da acerola BRS-366 Jaburú.

Material e métodos

Amostragem

Foram utilizados frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburú’, obtidos de um plantio localizado a 19°13'42" de latitude Sul e 44°02'17" de longitude Oeste, com 644 m de altitude em Jequitibá-MG, Brasil. O clima da região é do tipo Cwa, (clima temperado quente ou clima tropical de altitude), com inverno seco e verão quente, segundo a classificação climática de Köppen.

Foram colhidos 100 frutos diretamente da planta em estágio de maturação “de vez” (FRANÇA e NARAIN, 2003), durante a safra de 2014. Os frutos foram colocados em sacos de polietileno e transportados em caixas térmicas de isopor para o Laboratório de Produção Vegetal da UFSJ/CSL. Após a coleta, os frutos foram selecionados, eliminando aqueles estragados e higienizados com água corrente para a eliminação das impurezas.

Em seguida, os frutos foram processados com o auxílio de um mixer marca Quick Mixer, descartando apenas as sementes para o preparo das amostras, sendo armazenadas em freezer a -18°C até o momento das análises. Todas as análises foram feitas em duplicata.

Microextração em fase sólida (SPME)

Para a extração dos compostos voláteis, foi utilizado o método de SPME, no qual foram avaliadas três fibras: uma fibra polar de Poliácrlato (PA), 85 µm e duas fibras semipolares, Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB), 65 µm e

Divinilbenzeno/Carboxen/ Poldimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 50/30 μm . As fibras foram condicionadas de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante (Anexo 1).

Para as análises de SPME, pesaram-se 2,0 g da polpa do fruto, que foram colocadas em frascos de *headspace* com capacidade de 20 mL, sendo lacrados com lacre de alumínio e septo de borracha. Posteriormente, o frasco de *headspace* de 20 mL foi colocado em um bloco de alumínio e aquecido a 60 °C em agitador magnético, com agitação de 100 rpm. Após 10 minutos de aquecimento, a fibra de SPME (PA, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS) montada num *holder* foi exposta à fase gasosa acima da polpa de acerola (modo *headspace*), durante um tempo de 5 min e, em seguida, o *holder*, contendo a fibra foi retirado e inserido manualmente no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa, expondo a fibra com 5 min para a dessorção dos COVs extraídos (BELO, 2009).

Cromatografia gasosa - espectrometria de massa (GC-MS)

As amostras de acerola ‘BRS-366 Jaburu’ foram analisadas, por meio de um sistema de cromatografia gasosa (Trace GC Ultra) acoplado a detector de espectrômetro de massas (Polaris Q) da Thermo Scientific (San Jose, CA), com analisador do tipo “*ion-trap*”, instalado no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química - UFMG.

As condições de análises das amostras foram: temperatura do injetor 250 °C; injeção modo *splitless*, tempo de dessorção 5 min; temperatura do injetor, 200°C; temperatura da interface, 275°C. O aquecimento da coluna foi com temperatura programada: iniciou-se a 40°C permanecendo por 5 minutos e depois com uma taxa de aquecimento de 2,5°C/min até 125°C e depois 10°C/min até 245°C, temperatura na qual manteve-se a isoterma por 3 minutos (BELO, 2009).

O detector foi mantido no modo de varredura (*full scan*, de 50 a 650), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons (EI), com energia de 70 eV. A coluna cromatográfica utilizada foi a coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano), contendo as seguintes dimensões: 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de filme (Agilent Technologies INC, Alemanha), específica para análise por espectrometria de massas.

Identificação e correlação dos compostos voláteis detectados

Para a identificação dos compostos voláteis detectados foi baseada na relação massa-carga (m/z) correspondente a cada pico gerado pelo cromatograma total de íons de cada amostra analisada, sendo comparados com os espectros de massa obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), o qual uso uma energia de 70 eV, com a faixa de varredura (*full scan*, de 50 a 650 m/z).

Para tal, compararam-se os espectros de massa dos analitos encontrados, com os dados de espectros de massa obtidos da biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*), usando como ferramenta auxiliar os dados registrados na literatura para a confirmação dos compostos voláteis presentes nos frutos de acerola.

Foram selecionados os picos que apresentaram nos cromatogramas uma relação de S/N (sinal/ruído) maior que 50, considerando um nível de similaridade (RSI) superior a 500. O índice RSI, consiste em um fator numérico de comparação entre um composto desconhecido e compostos da biblioteca NIST.

Os valores da intensidade dos picos obtidos e da relação S/N, foram retirados do programa Xcalibur 1.4 da Thermo Electron Corporation e transferidos para o Microsoft Office Excel 2013, programa no qual foi feita a seleção dos picos, de acordo com a relação S/N (BELO, 2009).

Resultados e discussão

As fibras de microextração em fase sólida (SPME), PA, PDMS/DVB e DVB/CAR/PDMS, foram avaliadas quanto à capacidade de extração, de acordo ao maior número de compostos orgânicos voláteis (COVs) isolados da polpa de acerola.

Foram identificados um total de 33 COVs, por meio das três fibras de SPME, dos quais, 27 foram extraídos pela fibra PA, 22 pela fibra DVB/CAR/PDMS e, 29 pela fibra PDMS/DVB, sendo avaliadas mediante cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

Os compostos detectados foram classificados em diferentes classes químicas: ácidos carboxílicos, álcoois, terpenóides, fenilpropanóides, aldeídos, cetonas, ésteres e hidrocarbonetos, tal como se mostra na Tabela 1.

De acordo com o número de compostos extraídos pertencentes a cada classe, os ácidos carboxílicos (7), álcoois (7) e terpenóides (6), foram os mais abundantes. No entanto, ao analisar a porcentagem de área relativa, os compostos mais abundantes foram os álcoois, aldeídos, ésteres, fenilpropanóides e terpenóides, isto foi para todas as fibras analisadas.

Foram identificados dezenove compostos comuns entre as três fibras: ácido tetradecanoico, ácido hexadecanoico, ácido nonanoico, ácido dodecanoico, álcool benzílico, 1-tetradecanol, 1-butanol, furfural, acetofenona, miristato de isopropilo, hexadecanoato isopropílico, etilbenzeno, anetol, eugenol, vanilina, terpinoleno, *p*-cimeno, timol e isopreno.

Tabela 1- Compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados em frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburu’ através de três fibras de microextração em fase sólida (SPME).

Pico	Compostos	% de área		
		PA	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS
Ácidos carboxílicos				
1	Ácido tetradecanoico ^{a,b}	1.40	1.72	1.91
2	Ácido hexadecanoico ^{a,b,d}	0.73	1.30	0.83
3	Ácido nonanoico ^a	1.19	0.59	3.43
4	Ácido decanoico ^a	0.88	1.17	-
5	Ácido dodecanoico ^{a,b}	0.78	1.38	1.72
6	Ácido heptanoico ^c	0.89	-	-
7	Ácido octadecanoico ^b	0.55	-	-
Álcoois				
8	2-etil-hexanol ^a	-	10.30	-
9	Álcool benzílico	1.61	2.66	0.93
10	2-Metil-3-butanol-2-ol ^a	1.34	-	-
11	1-Octadecanol ^{a,b}	-	1.19	-
12	1-Tetradecanol ^a	10.11	2.13	5.44
13	1-Butanol ^a	6.44	2.42	4.80
14	3-metil-1-butanol ^{d,f}	-	-	11.87
Aldeídos				
15	Furfural ^{a,d}	0.51	15.39	7.49
16	Benzaldeído ^a	-	2.94	6.44
Cetonas				
17	Acetofenona ^{a,b,d}	1.25	1.48	2.18
18	Ciclohexanona ^a	-	1.98	-
Ésteres				
19	Acetato de etila ^{a,b,e}	29.32	26.02	-
20	Miristato de isopropilo	0.69	1.22	2.22
21	Hexadecanoato isopropílico ^a	4.65	1.38	1.29
Hidrocarbonetos				
22	Etilbenzeno ^a	3.99	1.08	4.66
23	Heptadecano ^b	0.90	2.65	-
24	<i>m</i> -Xileno ^a	1.11	0.92	-
Fenilpropanóides				
25	Anetol	0.76	2.01	0.93
26	Eugenol ^b	10.59	2.69	20.41

27	Vanilina ^b	0.79	0.67	9.95
			Terpenóides	
28	Terpinoleno ^a	10.50	3.50	1.58
29	<i>p</i> -Cimeno ^a	2.20	1.30	4.21
30	Timol	0.62	1.16	2.44
31	Terpinen-4-ol ^a	3.75	1.18	-
32	α -Terpineno ^a	-	3.16	1.93
33	Isopreno	2.32	3.43	3.25
	Total de compostos	27	29	22

Fibras de microextração em fase sólida: Poliacrilato (PA), com 85 μ m, Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB) com 65 μ m e Divinilbenzeno/Carboxen/ Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) com 50/30 μ m. As letras indicam compostos que já foram identificados por outros autores: ^(a) Pino & Marbot, 2001; ^(b) Vendramini & Trugo, 2000; ^(c) Boulanger & Crouzet, 2001; ^(d) Bicas et al., 2011; ^(e) Carasek & Pawliszyn, 2006; ^(f) Pinto, 2006. (-) Compostos não detectados.

Nas Figuras 1, 2 e 3, se apresentam os cromatogramas obtidos para cada uma das fibras, as quais mostraram comportamentos distintos na detecção dos compostos voláteis da acerola ‘BRS-366 Jaburu’. Das três fibras avaliadas, apenas as fibras PA e DVB/CAR/PDMS extraíram o menor número de compostos voláteis.

Na Figura 1, pode-se observar que a fibra de poliacrilato (PA), apresentou picos cromatográficos com maior abundância de área relativa, que se referem aos compostos: acetato de etila (29.32%), terpinoleno (10.50%), eugenol (10.59%) e hexadecanoato isopropílico (4.65%), sendo as classes de maior abundância os álcoois, ésteres e terpenóides. Do mesmo modo, os picos cromatográficos estão apresentados por uma numeração, a qual faz referência a Tabela 1, onde encontram-se em listados segundo a classificação de cada um dos compostos orgânicos voláteis (COVs).

Segundo Boulanger Crouzet (2001), os álcoois e os ésteres são os principais compostos que contribuem para o sabor e aroma típico da acerola. No entanto, Vendramini e Trugo (2000), os compostos que contribuem para o aroma de acerola são os ésteres, álcoois e cetonas, com destaque para o acetato de etila, 1-octadecanol e acetofenona, sendo responsável pelas notas aromáticas afrutadas, compostos que também foram identificados neste estudo.

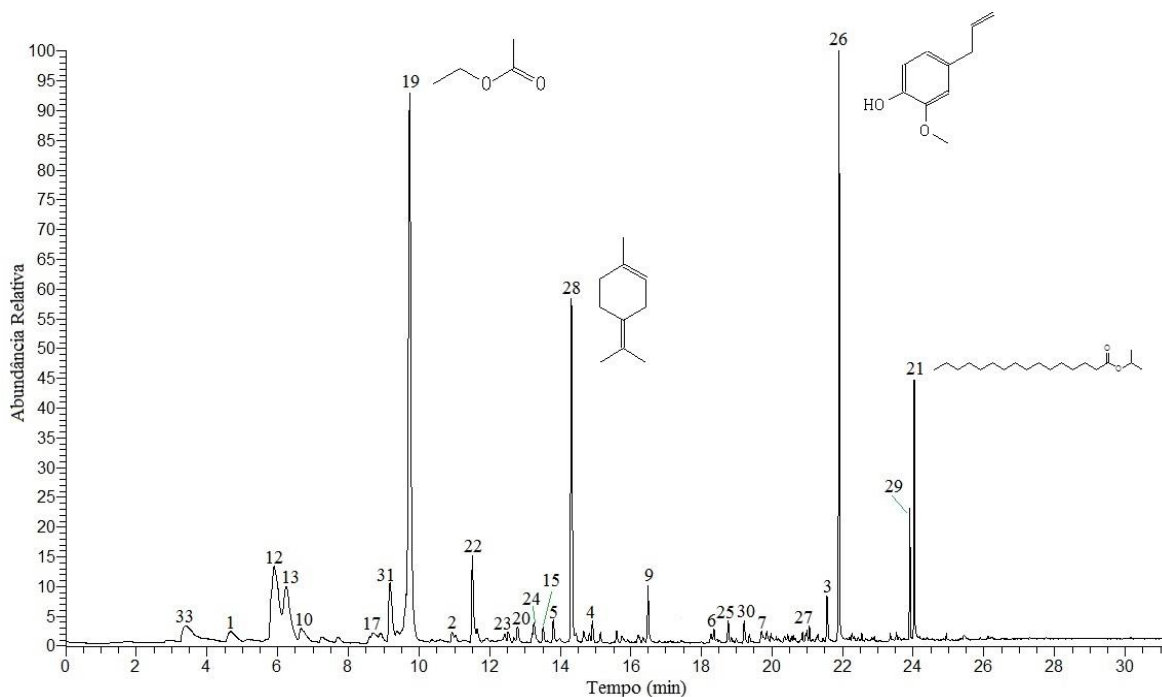


Figura 1- Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburu’ extraídos pela fibra de poliacrilato (PA).

A abundância de ésteres em frutas é bastante comum e relatada por vários autores em estudos dos perfis voláteis de diversas frutas, como cajá, graviola, cupuaçu, maçã, banana, uva e acerola e, normalmente, esta classe está envolvida com as notas de aromas frutais da fruta (AUGUSTO et al., 2000; PINO e MARBOT, 2001; JANZANTTI et al., 2003; NASCIMENTO JUNIOR et al, 2008; YANG et al., 2009).

Na Figura 2, apresenta-se o perfil cromatográfico da fibra PDMS/DVB, a qual possui uma cobertura semipolar, de dupla fase, composta de divinilbenzeno com o polímero líquido polidimetilsiloxano. No cromatograma, pode-se observar os picos dos compostos que a fibra conseguiu extrair, a qual conseguiu extrair o maior número de compostos voláteis em relação as demais fibras. Os picos majoritários referem-se aos compostos: acetato de etila, furfural, e 2-etil-hexanol, esses compostos são apresentados na Tabela 1.

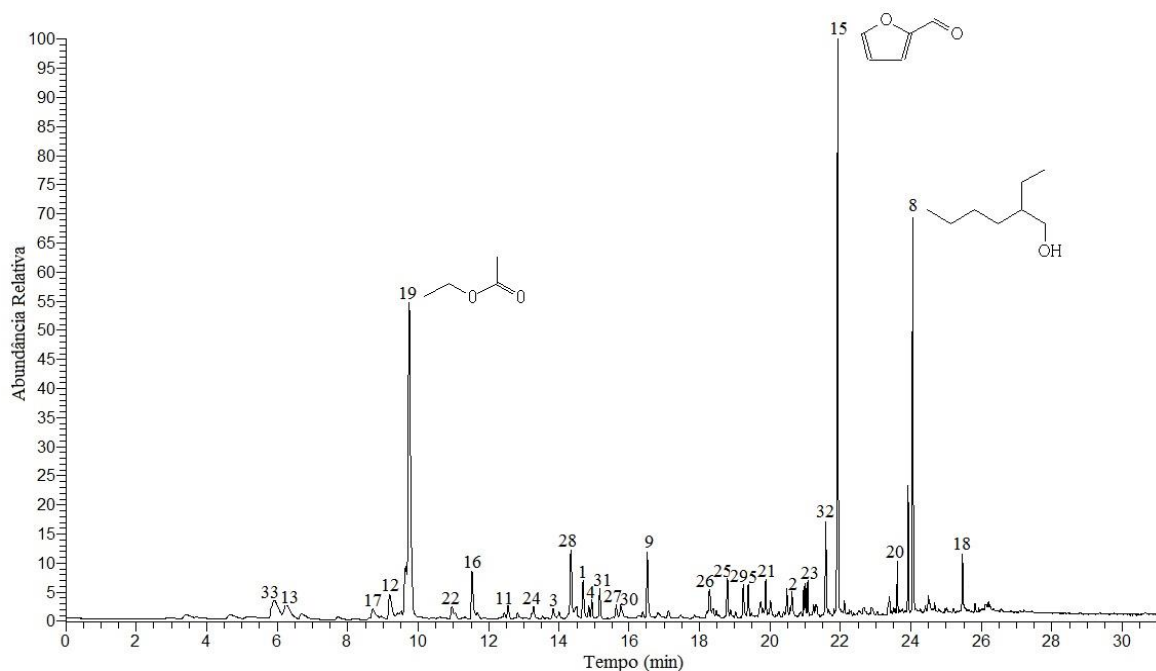


Figura 2- Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburu’ extraídos pela fibra divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (PDMS/DVB).

Uma das principais classes de compostos identificados foram os ésteres, tendo na sua composição o 28.62% da área relativa. Os álcoois são colocados como a segunda maior classe (18.7%), seguido pelos aldeídos (18.33%), terpenos (13.73%), ácidos carboxílicos (6.16%), fenilpropanóides (5.37%), hidrocarbonetos (4.65%), cetonas (3.46%) e 1% como compostos não identificados. De todos os compostos identificados pela fibra PDMS/DVB, apenas 4 foram detectados de acordo a comparação da biblioteca NIST, o miristato de isopropilo, anetol, isopreno e timol.

Do mesmo modo, na Figura 3, é apresentado o cromatograma para a fibra DVB/CAR/PDMS, nota-se que foi a fibra apresentou o menor número de picos cromatográficos, no entanto, conseguiu extrair compostos pertencentes à classe dos fenilpropanóides com maior abundância de área relativa. Os três principais picos que aparecem no cromatograma estão relacionados com os compostos eugenol (20.41%), vanilina (9.95%) e furfural (7.49%).

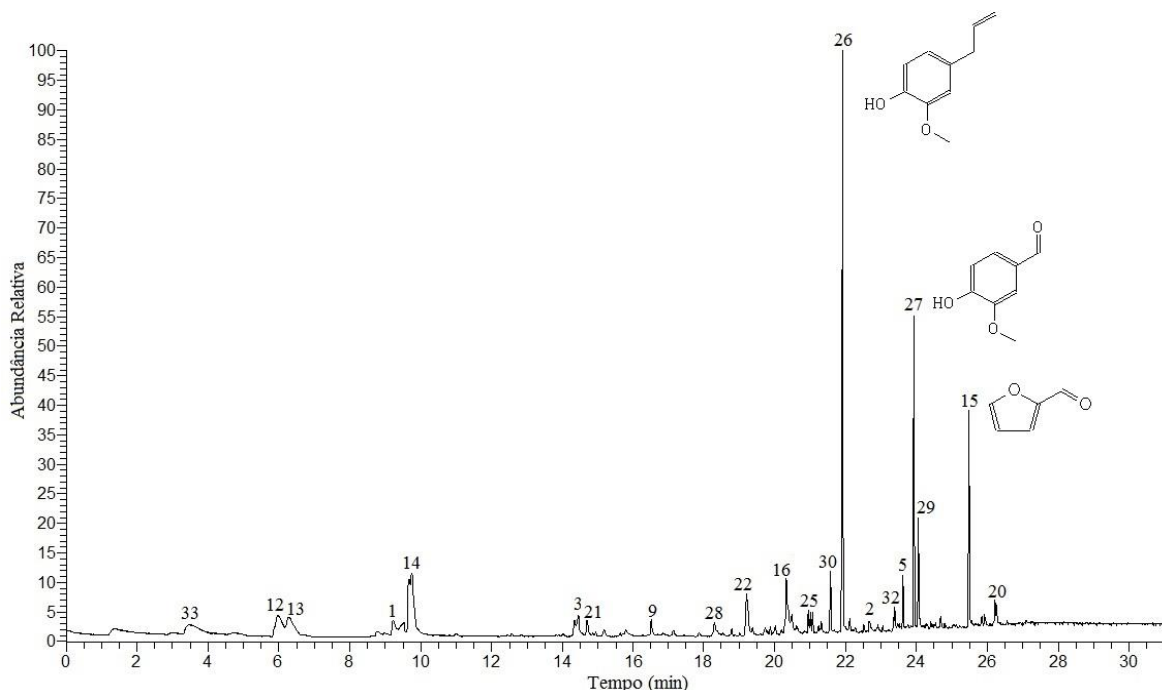


Figura 3- Cromatograma do perfil de compostos voláteis de frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburu’ extraídos pela fibra divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS).

Algumas das classes químicas mencionadas neste estudo fornecem um sabor e aroma característico, proporcionando, assim, as notas afrutadas à acerola, como no caso dos fenilpropanoides e ésteres, que dão os aromas afrutados (CHRISTENSEN et al., 2007); terpenóides, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos, que dão os aromas florais, limão, doce, herbáceo, frutado e amadeirado (TAMURA et al., 2001) e aldeídos, que dão aos frutos notas frescas, verde, cítrico, flores, sabão e oleosa (ROUSSEFF e PEREZ-CACHO, 2007), por mencionar alguns.

As fibras PA e PDMS/DVB, conseguiram a extração do acetato de etila, composto pertencente à classe dos ésteres. Segundo Carasek e Pawliszyn (2006), os compostos responsáveis pelo aroma e sabor dos frutos de acerola pertencem à classe dos ésteres, no entanto, estes autores não identificaram o acetato de etila.

Conclusões

O método de microextração em fase sólida (SPME) permitiu identificar trinta e três compostos voláteis, mediante a utilização das fibras PA, PDMS/DVB e DVB/CAR/PDMS, sendo possível determinar o perfil dos compostos voláteis emitidos pelos frutos de aceroleira ‘BRS-366 Jaburu’.

A maioria dos compostos identificados foram encontrados em todas as fibras, porém, com concentração (% área) diferentes.

Foi possível identificar novos compostos voláteis, por meio da técnica de SPME, como é o caso do miristato de isopropilo, anetol, isopreno e timol, compostos identificados pela primeira vez na polpa de acerola.

A maior extração dos compostos voláteis, obteve-se com a fibra PDMS/DVB, a qual extraiu um total de 29 compostos voláteis, portanto, os compostos que determinam o perfil volátil da acerola são os álcoois, aldeídos, ésteres, fenilpropanoides e terpenóides, por apresentar a maior concentração de área relativa no cromatograma, assim como a maior intensidade de picos no espectro de massa.

Referências

ARAÚJO, P.S.R.; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994, 81p.

AUGUSTO, F.; VALENTE, A. L. P.; TADA, E. S.; RIVELLINO, R. S. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 873, p. 117–127, 2000.

BELO, R. F. C. **Caracterização de genótipos de pequiheiro (*Caryocar brasiliense* camb.) pelo perfil cromatográfico de voláteis**. 2009. 125 p. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG.

BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, G. M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n.7, p. 1843-1855, 2011.

BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): Free and bound flavour compounds. **Food Chemistry**, v. 74, n.2, p. 209-216, 2001.

CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Screening of tropical fruit volatile compounds using solid-phase microextraction (SPME) fibers and internally cooled SPME fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.23, p. 8688-8696, 2006.

CHRISTENSEN, L. P.; EDELENBOS, M.; KREUTZMANN, S. **Fruits and vegetables of moderate climate**. In: Flavours and fragrances, Springer Berlin Heidelberg. p. 135-187, 2007.

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. **Avaliação dos impactos sociais, economicos e ambientais da adoção da tecnologia clone de acerola BRS 366 (Jaburu)**. Relatório final do ano 2014/2015. Fortaleza: Agroindústria Tropical, 2015. 23p. Disponível em http://bs.sede.embrapa.br/2014/relatorios/agroindustria-tropical_2014_acerola.pdf. Acesso em 15 de maio. 2015.

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. **Cultivar Acerola BRS 366 Jaburú.**

Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 2 p. Disponível em

<<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77673/1/CGL12001.pdf>>. Acesso em 24 maio. 2015.

FERREIRA, R. M. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; QUIROZ, R. F.; FILHO, F. S. T. P. Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde**. Mossoró, v. 4, n.2, p. 13-16, 2009.

FIGUEIREDO-NETO, A.; REIS, D. S.; ALVES, E.; GONÇALVES, E.; DOS ANJOS, F. C.; FERREIRA, M. Determinação de vitamina C e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em petrolina-PE. **Nucleus**, v. 11, n. 1, p. 83-92, 2014.

FRANÇA, V. C.; NARAIN, N. Caracterização química dos frutos de três matrizes de acerola (*Malpighia emarginata*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 157-160, 2003.

FRANCO, M. R. B. Aromas de frutas tropicais: acerola, cupuaçu, bacuri, jenipapo, umbu- cajá, aracá-boi, camu-camu, umbu e murici; **Aroma e sabor de alimentos: Tema atuais**. São Paulo, Editora Varela, 2003, p. 87-89.

HAWTHORNE, S.; MILLER, D.; PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused silica fibers. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 603, p. 185-191, 1992.

JANZANTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji. **Cienc. Tecnol. Aliment**, v. 23, p. 523-528, 2003.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A. & STEVENS, P. F. **Plant systematics, a phylogenetic approach**. Sinauer Assoc., Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA. 1999.

NARAIN, N.; ALMEIDA, J. N.; GALVÃO, M, S.; MADRUGA, M. S.; BRITO, E.S. Compostos voláteis dos frutos maracujá (*Passiflora edulis* forma flavicarpa) e de cajá (*Spondias mombin* L) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 24, n.2, p. 212-216, 2004.

NASCIMENTO, R. J. S. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Rev. Bras. Frutic**, Jaboticabal – SP, v. 30, n. 2, p. 498-502, 2008.

PELUSIO, F.; NILSSON, T.; MONTANARELLA, L.; TILIO, R.; LARSEN, B.; FACCHETTI, S.; MADSEN, J. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, DC v. 43, p. 2138-2143, 1995.

PINO, J. A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.12, p. 5880-5882, 2001.

PINTO, L. G. C. **Efeito do processamento sobre o perfil sensorial e os constituintes voláteis do suco**. 2006. 102 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE.

ROUSEFF, R.; AND PEREZ-CACHO, P.R. **Citrus Flavour**. In: Flavours and Fragrances. Chemistry, Bioprocessing and Sustainability; R.G Berger, Ed.; Springer-Verlag: Berlin, p. 117-134, 2007.

TAMURA, H.; BOONBUMRUNG, S.; YOSHIZAWA, T.; AND VARANYANOND, W. The volatile constituents in the peel and pulp of a green thai mango, Khieo Sawoei cultivar (*Mangifera indica* L.). **Food Sci. Technol. Res** v. 7, n.1, p. 72-77. 2001.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim SBCTA**, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n.2, p. 195-198, 2000.

YANG, C. et al. Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1106-1114, 2009.

YANG, X.; PEPPARD, T. Solid-phase microextraction for flavor analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, D.C., v. 42, p. 1925-1930, 1994.

ARTIGO 2 – AVALIAÇÃO DE FIBRAS DE SPME PARA A EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ACEROLA

RESUMO – Foram isolados compostos orgânicos voláteis (COVs) de frutos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D. C.), por meio de diferentes fibras SPME. Para a sua extração, utilizou-se o método de microextração em fase sólida no modo de *headspace* (SPME-HS), sendo identificados por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (GC-MS). Portanto, objetivou-se, neste trabalho avaliar a eficiência das fibras SPME e determinar assim as melhores condições para a extração dos COVs da acerola. As condições investigadas foram: tempo de extração (20, 30 e 40 min), temperatura de extração (25, 45 e 65 °C) e agitação (0, 50 e 100 rpm). Das fibras avaliadas, a que maior número de COVs extraiu, foi a polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), com um total de 44 compostos, sendo a maioria destes pertencentes às classes dos terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. De acordo com as condições investigadas, o maior número de compostos se obteve com um tempo de extração (20 min), uma temperatura de extração (65 °C), e em ausência de agitação. Foram considerados os compostos cumeno, o-xileno, timol, *m*-cimeno, *o*-cimeno, 2-metil-1,3-butadieno, anetol, 3-buten-2-ona e éster metil octadecanóico como responsáveis pelo perfil volátil da acerola, os quais estiveram presentes em todas as fibras SPME.

Palavras-chave: Aroma. Frutos tropicais. *Malpighia emarginata*. GC-MS. Microextração em fase sólida.

EVALUATION SPME FIBERS FOR EXTRACTION THE VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS OF ACEROLA

ABSTRACT – Volatile organic compounds (VOCs) were isolated from acerola fruits (*Malpighia emarginata* D.C.), by means of different SPME fibers. For the extraction, the headspace solid-phase microextraction method was used, identifying the VOCs by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The objective of this work was to evaluate the efficiency of SPME fibers and determine the best conditions for extracting VOCs from acerola fruits. The investigated conditions were: time of extraction (20, 30 and 40 min), extraction temperature (25, 45 and 65°C) and agitation (0, 50 and 100 rpm). Of the evaluated fibers, polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) extracted the highest number of VOCs, with a total of 44 compounds, with most belonging to the terpene, carboxylic acids and hydrocarbons. According to the investigated conditions, most compounds were obtained with a time of extraction of 20 min, extraction temperature of 65°C, and no agitation. Compounds cumene, o-xylene, thymol, m-cymene, o-cymene, 2-methyl-1,3butadiene, anethol, 3-buten-2-on and methyl octadecanoic ester as responsible for the volatile profile of acerola, which were present in all SPME fibers.

Keywords: Aroma. Tropical fruits. *Malpighia emarginata*. GC-MS. Solid-phase microextraction.

Introdução

A aceroleira (*Malpighia emarginata* D. C.) é originária das Antilhas, Norte da América do Sul e América Central, sendo cultivada amplamente no Brasil, Porto Rico, Cuba e Estados Unidos. Pela sua capacidade de aproveitamento industrial e, em decorrência de seu elevado teor de vitamina C, tem atraído o interesse de fruticultores, podendo ser comercializada “in natura” ou industrializada na forma de iogurtes, doces, biscoito, bolo, sorvetes e refrescos (SILVA et al., 2013)

No Brasil, essa frutífera é cultivada comercialmente, desde meados dos anos 80, com destaque para o Nordeste do país, onde a cultura tem sido melhor adaptada, em razão das condições de clima e solo (FREITAS et al., 2006; RITZINGER e RITZINGER, 2011). O fruto é uma drupa carnosa, de tamanho, forma e peso variáveis, trata-se de um fruto climatérico, o qual pode apresentar diferentes tonalidades, que vão do amarelo ao vermelho intenso ou roxo, critério principal para caracterizar o amadurecimento do fruto (ADRIANO et al., 2011).

A acerola apresenta-se atrativa pelo seu sabor agradável, o qual varia do levemente ácido ao muito ácido. A aceitação do fruto deve-se diretamente ao sabor, fator decisivo entre as sensações do gosto e do aroma, dados pelos compostos voláteis e não voláteis presentes nos alimentos (THOMAZINI e FRANCO, 2000; JUNQUEIRA et al., 2004; FERREIRA et al., 2009).

Os compostos não voláteis são atribuídos à sensação proveniente do gosto, classificada em quatro categorias básicas: doce, salgado, azedo e amargo. Já, os compostos voláteis são responsáveis pela sensação do aroma, uma classe bem mais complexa, pois o olfato humano pode discriminar entre um sem número de compostos (THOMAZINI e FRANCO, 2000). O aroma é um dos atributos de qualidade mais pesquisados, em razão as inúmeras sensações olfativas geradas pelas distintas moléculas dos frutos (MARTINS et al., 2010).

O aroma típico da acerola resulta da combinação de um grande número de substâncias voláteis responsáveis pelo odor despedido pela fruta, os quais são representados por diversas classes químicas, com diferentes propriedades físico-químicas, tais como os ésteres, ácidos, cetonas, aldeídos, álcoois e terpenos, que são utilizados em quantidades mínimas, para a formação dos aromas dos alimentos (THOMAZINI e FRANCO, 2000; FIB, 2015).

Atualmente, muitos são os métodos de extração utilizados para a análise dessas substâncias, tendo destaque a Microextração em Fase Sólida (SPME), técnica que proporciona uma extração mais rápida dos compostos, pois requer menor volume de amostra, além de não

precisar de solvente orgânico, podendo ser utilizada em extração direta e *headspace* (CANUTO et al., 2011; CAMPOS et al., 2015), sendo esta última a mais usada para a análise dos compostos dos frutos (PAWLISZYN et al., 1997; KATAOKA et al., 2000).

Para as análises de separação e identificação desses compostos, são utilizados instrumentos de cromatografia gasosa (CG) acoplado a espectrometria de massas (MS), sendo precedidas pela técnica de SPME, a qual é constituída da extração dos compostos voláteis pela fibra e transferência do material da fibra para o injetor de um cromatógrafo (CANUTO et al., 2011; GARRUTI et al., 2011).

A quantidade de analitos extraídos pela fibra pode ser afetada pelo tipo de revestimento utilizado, as condições de extração (temperatura e tempo), e agitação da amostra. O tipo de revestimento da fibra é uma das principais características a escolher, se deseja alcançar uma boa seletividade de analitos, pois de acordo com o revestimento, serão obtidos diferentes tipos de compostos químicos (PENALVER et al., 1999).

Desse modo, objetivou-se, neste trabalho, avaliar a eficiência das diferentes fibras de SPME para a extração dos compostos voláteis de acerola, e determinar as melhores condições de extração, para definir o perfil volátil característico da acerola.

Material e métodos

Fibras de SPME

Foram avaliadas cinco fibras SPME com diferentes polaridades para a extração dos compostos orgânicos voláteis, duas fibras polares: Poliacrilato (PA), 85 µm e Carbowax/Divinilbenzeno (CW/DVB), 65 µm e três fibras semipolares: Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB), 65 µm e Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS), 50/30 µm, Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PMDS), 75 µm.

Equipamentos

As análises foram realizadas por um cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra) acoplado a detector de espectrômetro de massas (Polaris Q) da Thermo Scientific (San Jose, CA), com analisador do tipo “*ion-trap*”, com injetor *split/splitless*, no modo *splitless*, instalado no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química – UFMG

Foi utilizado como gás de arraste, o hélio, a um fluxo constante de 1mL/min. As condições de análise cromatográficas foram: temperatura do injetor 250°C, tempo de dessorção 5 min, temperatura da fonte de íons 200°C, temperatura da interface 275°C.

Foi utilizada a coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano), contendo as seguintes dimensões: 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme (Agilent Technologies INC, Alemanha). O aquecimento da coluna foi com temperatura programada, iniciou-se a 40°C permanecendo por 5 minutos e depois com uma taxa de aquecimento de 2,5°C/min até 125°C e depois 10°C/min até 245°C, temperatura na qual manteve-se a isoterma por 3 minutos (BELO, 2009).

Delineamento experimental

Foi empregado o planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central (NETO, 2003). Utilizou-se o efeito das variáveis dependentes: tempo de extração (t), temperatura de extração (°C) e agitação (rpm) para a extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) da acerola (Tabela 1). Para a realização do planejamento fatorial, utilizou-se o *software* STATISTICA na versão 10.0. Foi utilizado o número dos COVs capturados por ensaio como resposta para a otimização dos fatores avaliados.

Tabela 1- Planejamento fatorial (2^3) com triplicata do ponto central.

Variáveis	Níveis		
	(-)	0	(+)
Tempo de extração (min)	20	30	40
Temperatura de extração (°C)	25	45	65
Agitação (rpm)	0	50	100

Preparo das amostras

Para o preparo das amostras, foram utilizados frutos maduros e sadios de acerola, obtidos de uma variedade desconhecida, localizada no município de Sete Lagoas – MG, a 761 m de altitude, com coordenadas geográficas de 19° 27' 57" de latitude e 44° 14' 48" de longitude, da safra 2014.

Aproximadamente 100 frutos foram selecionados em estádio de maturação vermelha (VENDRAMINI e TRUGO, 2000). Após a coleta, os frutos foram conduzidos em sacos de polietileno para o Laboratório de Produção Vegetal da UFSJ/CSL, onde foram higienizados com água corrente para a eliminação das impurezas.

Em seguida, os frutos foram processados com auxílio de um mixer marca Quick Mixer, descartando apenas as sementes para o preparo das amostras, sendo armazenadas em freezer a -18°C até o momento das análises.

Extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs)

Antes do uso das fibras SPME (PA, CW/DVB, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS), estas foram condicionadas no cromatógrafo, de acordo com os tempos e temperaturas recomendadas pelo fabricante para cada tipo de fibra (Anexo 1).

Foi utilizado o método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) para a extração dos compostos orgânicos voláteis, para o qual foram retiradas as amostras do freezer, utilizando apenas 2,0 g da polpa de acerola, a qual foi pesada e colocada em frascos de *headspace* com capacidade de 20 mL, lacrados com lacre de alumínio e septo de borracha (BELO, 2009).

Os frascos de *headspace* foram submetidos a diferentes tempos de extração (20, 30 e 40 min), diferentes temperaturas de extração (25, 45 e 65 °C) e diferentes agitações (0, 50 e 100 rpm), com o objetivo de determinar as condições ideais para atingir o equilíbrio de partição dos analitos entre a amostra e a fibra no modo *headspace*, as quais originam maior recuperação dos compostos orgânicos voláteis após a análise cromatográfica.

Depois de que os frascos foram submetidos às diferentes condições, a fibra SPME foi introduzida no modo *headspace* para a absorção dos analitos e, em seguida, exposta à fase gasosa. Após o tempo de extração, foi inserida no injetor do cromatógrafo a 250°C, por 5 min para a dessorção dos compostos orgânicos voláteis extraídos (BELO, 2009).

Identificação dos compostos orgânicos voláteis

Os picos presentes nos cromatogramas foram selecionados, de acordo com aqueles que apresentaram uma relação de S/N (sinal/ruído) maior que 50, assim como comparados com os dados obtidos pela biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*), considerando um nível de similaridade (RSI) superior a 500 (GARCIA et al., 2016).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) foram identificados, por meio da relação massa-carga (m/z) correspondente a cada pico gerado pelo cromatograma de íons totais de cada amostra analisada, sendo comparados com os espectros de massa obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), o qual uso uma energia de 70 eV, com a faixa de varredura (*full*

scan, de 50 a 650 m/z) (GARCÍA et al., 2016). Para a confirmação dos COVs, realizou-se uma comparação dos compostos obtidos com os já relatados na literatura.

Os valores da relação S/N, assim como da intensidade dos picos obtidos, foram retirados do programa Xcalibur 1.4 da Thermo Electron Corporation e transferidos para o Microsoft Office Excel 2013, programa no qual foi feita a seleção dos picos, de acordo com a relação S/N (BELO, 2009).

Resultados e discussão

Otimização das condições de extração das fibras por HS-SPME

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados no presente estudo, foram extraídos mediante diferentes tempos de extração, temperaturas de extração e diferentes agitações, conforme se apresenta na Tabela 1, referente ao planejamento fatorial utilizado. Para a separação e identificação desses compostos, utilizou-se um cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massas (GC-MS).

Os resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central, são apresentados na Tabela 2, onde a resposta analisada foi o número dos COVs extraídos para cada uma das fibras estudadas e ensaios realizados. Observa-se que o número de compostos extraídos, de acordo com as condições propostas pelo delineamento experimental, oscilou entre os 13 e 37 COVs.

Tabela 2- Número de compostos orgânicos voláteis (COVs) extraídos por diferentes fibras de SPME.

Ensaio	Variáveis			Resposta				
	A	B	C	CAR/PDMS	CW/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA	PDMS/DVB
01	20	25	0	24	22	20	22	25
02	40	25	0	26	22	23	26	26
03	20	65	0	23	16	22	35	33
04	40	65	0	18	17	18	29	24
05	20	25	100	21	18	16	23	17
06	40	25	100	21	21	27	34	29
07	20	65	100	15	20	28	34	24
08	40	65	100	24	18	13	29	24
09 ^a	30	45	50	19	25	28	37	21
10 ^a	30	45	50	19	20	24	32	21
11 ^a	30	45	50	23	17	27	30	20

A: tempo de extração (min), B: temperatura de extração (°C), C: agitação (rpm).

^a: triplicata do ponto central.

As melhores condições obtidas para a eficiência de cada uma das fibras de SPME são apresentadas na Tabela 3. Observe-se que das cinco fibras avaliadas, três apresentaram condições de extração similares (CW/DVB, DVB/CAR/PDMS e PA), enquanto que para as outras duas (CAR/PDMS e PDMS/DVB), as condições de extração apresentaram comportamentos distintos para a extração dos COVs de acerola.

Tabela 3- Condições experimentais e respostas obtidas para a extração dos compostos orgânicos voláteis de acerola, por HS-SPME e GC-MS.

Fibras de SPME	Resposta		
	Tempo de extração t (min)	Temperatura de extração T (°C)	Agitação (rpm)
CAR/PDMS	40	25	0
CW/DVB	20	25	0
DVB/CAR/PDMS	20	25	0
PA	20	25	0
PDMS/DVB	20	65	0

De acordo ao número de compostos extraídos e condições experimentais estudadas, a fibra que apresentou melhor eficiência na extração de COVs de acerola, foi a fibra com revestimento de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), pois conseguiu extrair o maior número de compostos nas seguintes condições: menor tempo de extração (20 min), temperatura máxima de extração (65°C), sem necessidade de expor a amostra a uma agitação (0 rpm).

Segundo Batista (2010), a agitação não influencia na capacidade de extração da fibra, o que minimiza o tempo necessário para que seja atingido o equilíbrio dos analitos entre a fibra e a amostra e/ou *headspace*.

Assim, com o aumento da temperatura de extração pode-se melhorar a sensibilidade em relação aos compostos com maior peso molecular, ao mesmo tempo em que pode prejudicar a extração dos compostos de menor peso molecular.

Compostos orgânicos voláteis de acerola

No presente estudo, foram identificados 51 compostos orgânicos voláteis presentes em frutos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D. C.), 17 dos quais foram relatados pela primeira vez na literatura e 26 comuns entre todas as fibras, tais compostos foram: 3-buten-2-ona, acetofenona, álcool benzílico, éster de formiato de isopropila, anetol, eugenol, benzaldeído, furfural, 2-metil-1,3-butadieno, *m*-cimeno, *o*-cimeno, *p*-cimeno, terpinen-4-ol, terpinoleno,

timol, α -terpineno, ácido decanóico, ácido dodecanóico, ácido heptanóico, ácido hexadecanóico, ácido nonanóico, ácido tetradecanóico, cumeno, etilbenzeno, m-xileno e o-xileno.

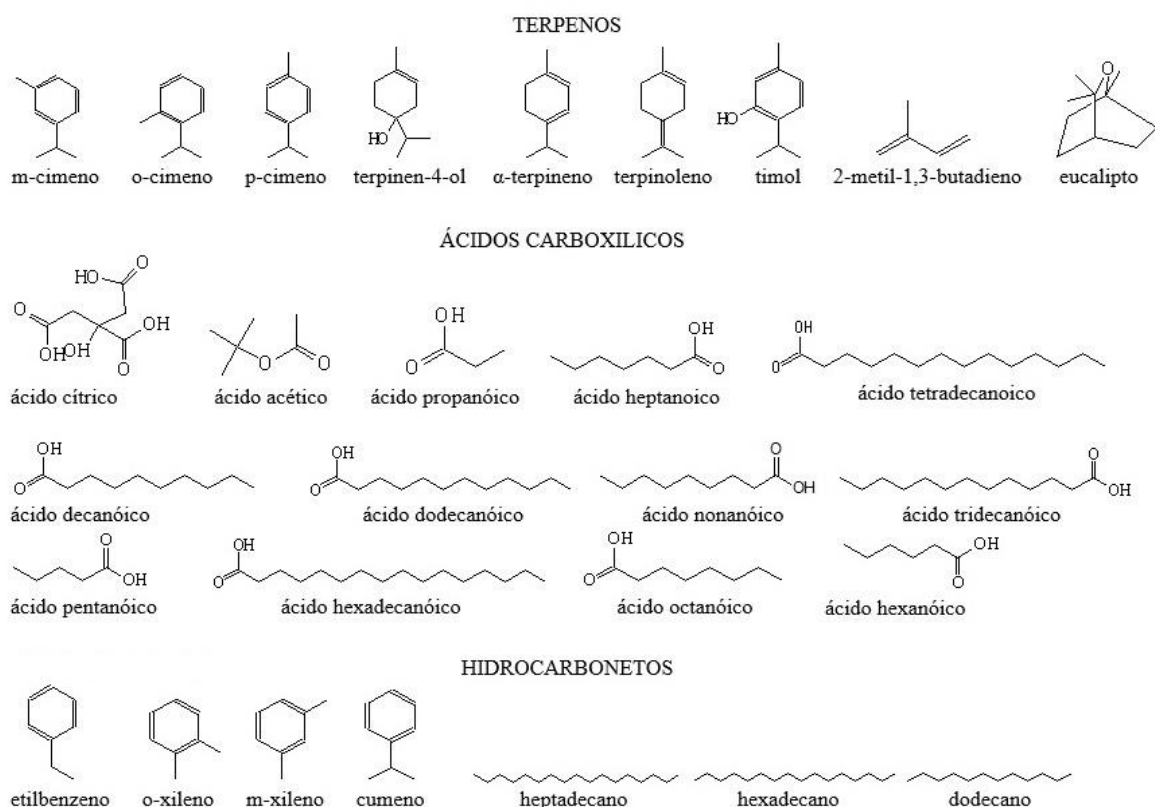


Figura 1- Estruturas químicas dos compostos orgânicos voláteis majoritários de acerola.

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) extraídos foram classificados em oito diferentes classes químicas: cetonas, álcoois, ésteres, fenóis, aldeídos, terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos. Para a extração desses compostos, foi utilizado o método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME). Foram utilizadas fibras SPME com diferentes polaridades, as quais, na sua maioria, extraíram compostos pertencentes às classes dos terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos, cujas estruturas químicas estão demonstradas na Figura 1.

Eficiência das fibras SPME

Foram extraídos 33 compostos orgânicos voláteis, empregando a fibra CAR/PMDS, 39 mediante a fibra CW/DVB, 43 com a fibra DVB/CAR/PDMS, 41 com a fibra PA e 44 com a fibra PDMS/DVB, como se mostra na Tabela 4.

Tabela 4- Compostos orgânicos voláteis extraídos de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), usando fibras de diferentes polaridades, mediante HS-SPME/GC-MS.

Nº.	Compostos orgânicos voláteis	Fibras de SPME				
		CAR/PDMS	CW/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA	PDMS/DVB
CETONAS						
1.	3-Buten-2-ona	X	X	X	X	X
2.	Acetofenona ^(1,3,4,6,7)	X	X	X	X	X
3.	Ciclohexanona ^(1,4,7)		X	X		X
ÁLCOOIS						
4.	1-Octadecanol ^(4,6,7)		X			X
5.	1-Tetradecanol ^(4,7)			X	X	X
6.	2-Butanol ^(1,7)	X	X	X		X
7.	2-etil-1-hexanol ⁽⁷⁾	X		X	X	X
8.	2-Metil-3-buten-2-ol ^(1,7)		X	X		X
9.	3-Metil-1-Butanol ^(1,2,3,7)		X		X	
10.	Álcool bencílico ^(1,2,7)	X	X	X	X	X
ÉSTERES						
11.	Acetato de 3-metil-1-butanol ^(1,2)		X			
12.	Éster metil octadecanóico	X	X	X	X	X
13.	Éster de formiato de isopropila	X				
14.	Acetato de etila ^(1,4,5,6,7)	X	X	X		X
15.	Miristato de isopropila ⁽⁷⁾		X	X	X	X
16.	Palmitato de isopropilo ^(4,7)	X	X		X	X
FENILPROPANOIDES						
17.	Anetol ⁽⁷⁾	X	X	X	X	X
18.	Etil vanilina			X		
19.	Eugenol ^(1,6,7)	X	X	X	X	X
20.	Vanilina ^(1,6,7)		X	X	X	X
ALDEÍDOS						
21.	Benzaldeído ^(1,4)	X	X	X	X	X
22.	Furfural ^(1,3,4)	X	X	X	X	X
TERPENOS						
23.	2-Metil-1,3-Butadieno ⁽⁷⁾	X	X	X	X	X
24.	Eucaliptol		X	X	X	X
25.	m-Cimeno	X	X	X	X	X
26.	o-Cimeno	X	X	X	X	X
27.	p-Cimeno ^(1,4,7)	X	X	X	X	X
28.	Terpinen-4-ol ^(1,4,7)	X	X	X	X	X
29.	Terpinoleno ^(1,4,7)	X	X	X	X	X
30.	Timol ⁽⁷⁾	X	X	X	X	X

31. α -Terpineno ^(1,7)	x	x	x	x	x
ÁCIDOS CARBOXILICOS					
32. Ácido acético ⁽¹⁾			x		x
33. Ácido cítrico			x	x	
34. Ácido decanóico ^(1,4)	x	x	x	x	x
35. Ácido dodecanóico ^(1,4,6,7)	x	x	x	x	x
36. Ácido heptanóico ^(1,2,6,7)	x	x	x	x	x
37. Ácido hexadecanóico ^(1,3,4,6,7)	x	x	x	x	x
38. Ácido hexanóico ^(1,2,4)		x			x
39. Ácido nonanóico ^(1,4,7)	x	x	x	x	x
40. Ácido octanóico ^(1,4)	x			x	
41. Ácido pentanóico ⁽⁴⁾			x	x	x
42. Ácido propanóico			x	x	x
43. Ácido tetradecanóico ^(1,4,6,7)	x	x	x	x	x
44. Ácido tridecanóico		x	x	x	x
HIDROCARBONETOS					
45. Cumeno	x	x	x	x	x
46. Dodecano			x	x	x
47. Etilbenzeno ^(4,7)	x	x	x	x	x
48. Heptadecano ^(1,6)	x			x	
49. Hexadecano ⁽⁷⁾			x	x	x
50. m-Xileno ^(1,4,7)	x	x	x	x	x
51. o-Xileno	x	x	x	x	x
Total de compostos	33	39	43	41	44

Os números referem-se aos compostos que foram detectadas por outros autores: ¹Franco & Janzantti, 2005; ²Boulanger & Crouzet, 2001; ³Bicas et al., 2011; ⁴Pino & Marbot, 2001; ⁵Carasek & Pawliszyn, 2006; ⁶Vendramini & Trugo, 2000; ⁷García et al., 2016.

Entre as fibras de SPME avaliadas, a fibra semipolar polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) foi melhor em comparação com às outras fibras, pois extraiu o maior número de COVs de frutos de acerola. Já, a fibra carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), extraiu o menor número de compostos dentre as classes, isso deve-se a baixa polaridade que a fibra apresenta em relação às demais fibras.

No entanto, a fibra CAR/PDMS foi capaz de extrair, três dos compostos não extraídos pela fibra PDMS/DVB, pertencentes a determinadas classes químicas: hidrocarbonetos (heptadecano), ácidos carboxílicos (ácido octanóico) e ésteres (éster de formiato de isopropila).

Segundo Carasek e Pawliszyn (2006), a fibra composta pelos componentes líquido (PDMS) e sólido (DVB e/ou CAR), apresenta melhor eficiência na extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs) de frutos tropicais, entre os quais se destaca a acerola. A fibra

PDMS/DVB, apresenta uma mistura de polímeros sólidos porosos de DVB com líquido polimérico PDMS, a qual apresenta eficácia para a extração de moléculas entre 2 e 12 átomos de carbono, pois moléculas superiores a C₁₂, são de difícil dessorção, embora possuam alta capacidade de adsorção (PARREIRA e CARDEAL, 2005).

O revestimento com DVB apresenta uniformidade no tamanho dos poros, resultado em uma menor discriminação da adsorção de compostos com pesos molares diferentes (PAWLISZYN, 1997). A combinação desses dois polímeros (PDMS e DVB), proporciona melhor retenção de analitos menores, que apenas com a utilização do polímero PDMS, além disso, o polímero DVB possui maior afinidade para analitos mais polares (POLO et al., 2007).

A fibra CW/DVB é uma mistura de partículas de divinilbenzeno com a fase líquida carbowax (PARREIRA e CARDEAL, 2005). Na Tabela 2, pode-se observar que a fibra apresentou maior afinidade por compostos polares, em comparação com a fibra de poliácrlato (PA), a qual extraiu o menor número de compostos, embora apresentem a mesma polaridade.

Os compostos polares: ciclohexanona, 1-octadecanol, 2-butanol, 2-metil-3-buten-2-ol, acetato de 3-metil-1-butanol, acetato de etila e ácido hexadecanoico, foram extraídos pela fibra CW/DVB, tais compostos não foram isolados pela fibra PA. O polímero CW é relativamente polar, mas quando é combinado com o polímero DVB, sua polaridade aumenta, por isso é indicada por ser a mais adequada para extrair analitos polares (POLO et al., 2007).

Vendramini e Trugo (2000), estudando a fração volátil da acerola, em três diferentes estádios de maturação, identificaram 37 compostos voláteis presentes no fruto. No estádio de maturação vermelha detectaram compostos pertencentes às classes dos ácidos carboxílicos, fenilpropanoides, álcool, ésteres e cetonas. Segundo os autores, esses compostos fazem parte das características do flavor da acerola, especialmente os ésteres, álcoois e cetonas, os quais também foram detectados no presente estudo.

Franco e Janzantti (2005), verificaram que os compostos obtidos por dois métodos, extração em fase sólida (SPE) e extração de destilação simultânea (SDE), ésteres, álcoois e cetonas, foram as principais classes de compostos detectados em frutos maduros de acerola, considerando o acetato de etila como composto fortemente importante em relação ao sabor da fruta. Já, os compostos que estiveram presentes durante as três etapas de maturação, foram o ácido hexadecanóico, ácido octadecanóico e o ácido tetradecanóico, os quais também foram detectados no presente estudo.

Em geral, a maioria dos trabalhos científicos onde foram avaliados os compostos orgânicos voláteis de acerola, concordam dizendo que os álcoois e os ésteres são as principais classes químicas que caracterizam os frutos da aceroleira, os quais participam diretamente no

aroma fresco e frutado, sendo o aroma a qualidade principal de toda fruta (BOULANGER e CROUZET, 2001; PINO e MARBOT, 2001).

Entretanto, outros trabalhos têm relatado os monoisoprenoides e as cetonas como compostos fortemente relacionados com o sabor dos frutos de acerola (VENDRAMINI e TRUGO, 2000; FRANCO e JANZANTTI, 2005). No entanto, os álcoois, aldeídos, ésteres, fenilpropanoides e terpenóides foram recentemente relatados como principais classes químicas que caracterizam o perfil volátil dos frutos de acerola (GARCÍA et al., 2016).

Avaliação da eficiência de extração das fibras de SPME

Foram gerados Diagramas de Pareto para cada uma das fibras testadas, os quais envolvem as variáveis independentes investigadas: tempo de extração (min), temperatura de extração (°C) e agitação (rpm), assim como a interação entre elas. Cada um dos Diagramas de Pareto mostra na forma de barras horizontais a interação entre as variáveis, considerando um limite de confiança de 95%, representado pela linha vertical que secciona o diagrama. Observa-se que nenhum dos Diagramas de Pareto foram significativos, pois as barras não ultrapassam a linha que representa $p=0.05$, pelo que as variáveis investigadas não tiveram influência pra extração dos compostos voláteis (Figura 2).

Os efeitos obtidos das interações das variáveis investigadas podem ser interpretados da seguinte forma, quando os valores fossem positivos, estes demonstraram um aumento na resposta, ou seja, a variável seguiu em direção ao seu nível máximo, enquanto que, para os valores negativos, estes indicaram maiores respostas em direção ao nível inferior da variável analisada (MARTENDAL, 2007; MONTGOMERY, 2009).

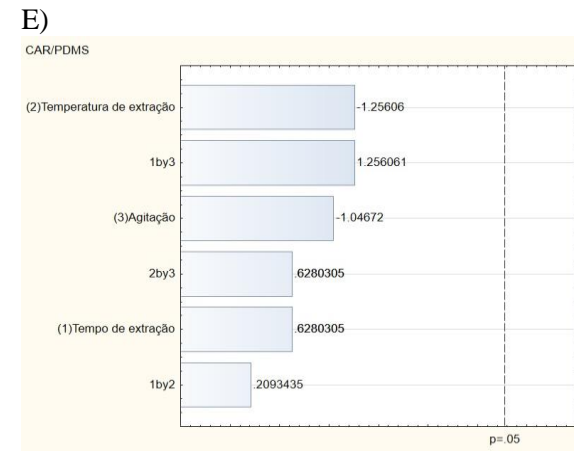
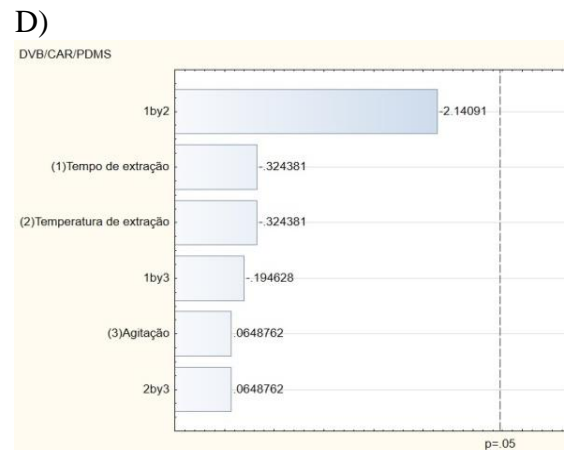
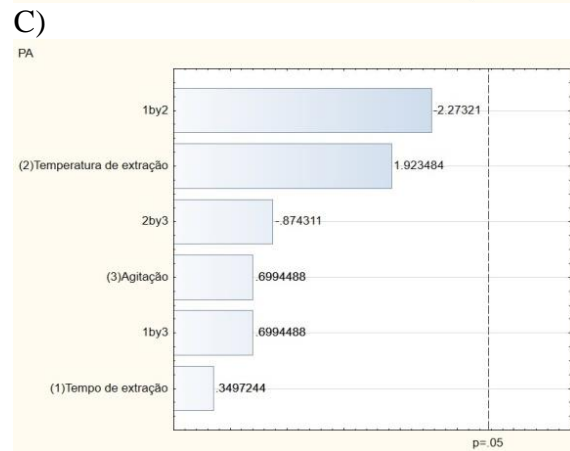
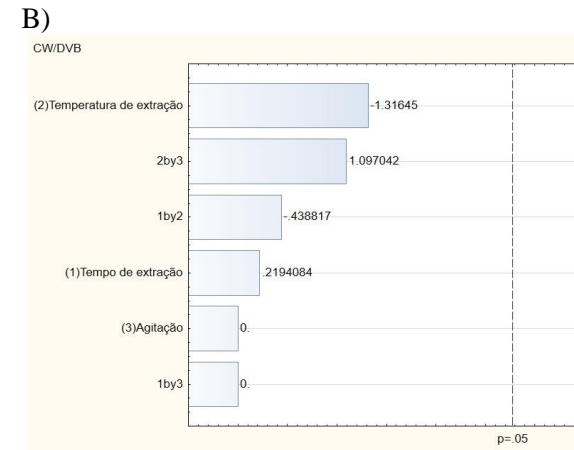
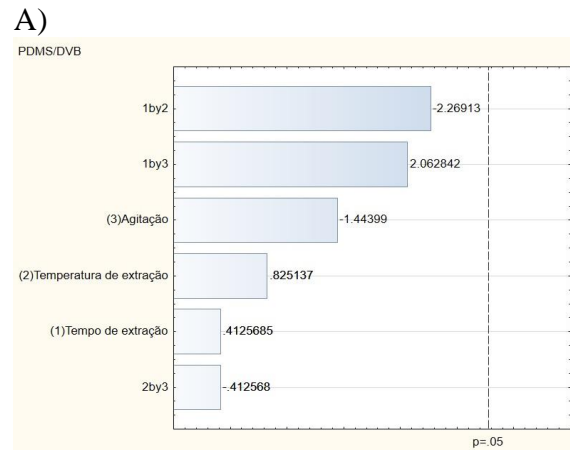


Figura 2- Diagramas de Pareto das fibras (A): polidimetilsiloxano/divinilbenzeno, (B): carbowax/divinilbenzeno, (C): poliacrilato, (D): divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano, (E): carboxen/polidimetilsiloxano.

De acordo com o Diagrama de Pareto, apresentado na Figura 2A, pode-se observar que a interação entre o tempo e a temperatura de extração, influenciaram positivamente. Seu efeito positivo associa-se com o maior número de compostos voláteis extraídos, ou seja, quanto maior é o aumento da temperatura, maior será o número de compostos. O tempo de extração não teve influência na extração dos compostos. Constatou-se, então, à temperatura de extração como a principal condição para a extração dos compostos voláteis de acerola mediante a utilização da fibra polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB).

Na Figura 2B, se mostra o Diagrama de Pareto para a fibra carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB), e a interação das variáveis mais significativas, observa-se que a temperatura de extração influenciou mais que o tempo de extração e a agitação, a qual tendeu para menores valores de extração (valores negativos), o qual indica que o maior número de compostos orgânicos voláteis (COVs) extraídos é atingido para os menores valores de temperatura, resultado contrário do qual se obteve com a fibra PDMS/DVB a qual precisou do incremento maior de temperatura para a extração do maior número de COVs.

Com base na interação das variáveis mais significativas, nota-se que a temperatura de extração em combinação com o tempo de extração, obteve melhor resposta para a extração dos COVs, pois os valores foram negativos, ou seja, o maior número de compostos é obtido com tempos e agitações inferiores dos valores investigados, isso apenas para a fibra CW/DVB.

As fibras DVB/CAR/PDMS e PA, apresentaram as mesmas condições em resposta à extração dos compostos voláteis (Tabela 4). Os Diagramas de Pareto apresentados nas Figuras 2C e 2D, demonstraram que a interação entre as variáveis, tempo de extração e temperatura de extração, foram as mais relevantes, pois tenderam para menores valores de extração. Contudo, nenhuma dessas variáveis tiveram efeito significativo, pois as barras não ultrapassam a linha que representa $p=0.05$, o mesmo acontece com a variável agitação já que não houve influência na extração dos voláteis, tendo apresentado valores positivos.

No entanto, para a fibra com revestimento de poliacrilato (PA) (Figura 2C), observa-se que as variáveis, quando são analisadas separadamente, estas apresentam comportamentos distintos que quando há interação das duas. No caso da temperatura de extração, observa-se que quanto maior são os valores a tendência a ser mais significativa é maior, o mesmo ocorre com o tempo de extração.

Já, na Figura 2D, é todo o contrário, nota-se que quanto mais diminui o tempo de extração e a temperatura de extração, a fibra divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano

atinge o maior número de compostos orgânicos voláteis, pois a barra horizontal tende a ser mais significava, no entanto não chega a ultrapassar a linha divisória do $p=0.05$.

Portanto, a fibra DVB/CAR/PDMS extraiu ligeiramente um maior número de compostos com relação à fibra PA, a qual é usada para compostos polares em meio aquoso, por ser uma fibra mais hidrofílica. Contudo, o comportamento de ambas as fibras foi semelhante (Tabela 2).

Na Figura 2E, está apresentado o Diagrama de Pareto representativo da fibra CAR/PDMS. Trata-se de uma fibra de dupla fase, a qual apresenta partículas porosas ativadas do carboxen misturadas ao polímero líquido polidimetilsiloxano.

O Diagrama de Pareto demonstra em barras horizontais de cima para baixo, a interação das condições mais significativas. Observa-se que a temperatura de extração é a variável mais representativa, sendo, portanto, o fator mais importante para a extração dos compostos orgânicos voláteis (COVs), seguida pela interação do tempo de extração e agitação e, assim, sucessivamente, de acordo com a ordem na qual ocorreram os efeitos de cada condição avaliada. No entanto, pode-se observar que nenhuma das variáveis investigadas foram significativas.

A fibra com esse tipo de revestimento, possui uma capacidade de retenção elevada, em razão do efeito mútuo da adsorção e da distribuição na fase estacionária, sendo uma fibra medianamente polar, podendo ser utilizada para a extração de voláteis de baixo peso molecular, assim como de analitos mais polares (KATAOKA et al., 2000).

Conclusões

O uso das técnicas de HS-SPME e GC-MS são eficientes para a extração dos compostos voláteis em frutos de acerola.

As fibras de SPME avaliadas, permitiram extrair juntamente um total de 51 compostos voláteis, dos quais 26 foram comuns entre si.

Foram considerados os compostos pertencentes às classes dos terpenos, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos, como principais constituintes de acerola.

A temperatura influenciou levemente na extração dos compostos voláteis, já que se teve uma variação de temperatura de uma fibra para outra, no entanto, nenhuma das variáveis investigadas foram significativas.

A fibra PDMS/DVB apresentou melhor eficiência nas condições de extração: temperatura de extração de 65 °C, tempo de extração de 20 min, sem agitação.

Referências

ADRIANO, E.; LEONEL, S.; EVANGELISTA, R. M. Qualidade de fruto da aceroleira cv. Olivier em dois estádios de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, p. 541-545, 2011.

ARAÚJO, P. S. R.; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

BATISTA, P. F. **Qualidade, Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Frutas Produzidas no Submédio do Vale do São Francisco**. 2010. 162f. Tese (Mestrado em Agronomia: Fitotecnia, Área de concentração: Agricultura Tropical). Universidade Federal Rural do Semi-Árido em Mossoró – RN.

BELO, R. F. C. **Caracterização de genótipos de pequi (Caryocar brasiliense camb.) pelo perfil cromatográfico de voláteis**. 2009. 125 p. Tese (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG.

BICAS, J. L.; MOLINA, G.; DIONÍSIO, A. P.; BARROS, F. F. C.; WAGNER, R.; MARÓSTICA, M. R.; PASTORE, G. M. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n.7, p. 1843-1855, 2011.

BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): Free and bound flavour compounds. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 209–216, 2001.

CAMPOS, C. D.; CAMPOS, R. P.; SILVA, J. A.; JESUS, D. P.; ORLANDO, R. M. Sample preparation assisted by electric fields: fundamentals, advances, applications, and trends. **Química Nova**, v. 38, n. 8, p. 1093-1106, 2015.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. DOS S.; MAGALHARES, H. C. R. **Microextração em fase sólida: métodos analíticos práticos para extração de compostos voláteis de frutas**. 2011. 3 p. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 166).

CARASEK, E.; PAWLISZYN, J. Screening of tropical fruit volatile compounds using solid-phase microextraction (SPME) fibers and internally cooled SPME fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.23, p. 8688-8696, 2006.

EMBRAPA AGROINDÚSTRIA TROPICAL. **Cultivar Acerola BRS 366 Jaburú**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 2 p. Disponível em <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77673/1/CGL12001.pdf>>. Acesso em 24 maio. 2015.

FERREIRA, R. M. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; QUEIROZ, R. F. Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 4, n.2, 2009.

FIB (Food Ingredients Brasil). “Dossiê: aromas”, 2015. Disponível em <<http://www.revista-fi.com>>. Acesso 27 fev. 2016.

- FRANÇA, V. C.; NARAIN, N. Caracterização química dos frutos de três matrizes de acerola (*Malpighia emarginata*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 157-160, 2003.
- FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 246p.
- FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma of minor tropical fruits. **Flavour and fragrance journal**, v. 20, n. 4, p. 358-371, 2005.
- FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e Produtos - Revisão bibliográfica. **R. Bras. Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 395-400, 2006.
- GARCIA, Y. M.; GUEDES, M. N. S.; RUFINI, J. C. M.; SOUZA, A. G.; AUGUSTI, R.; MELO, J. O. F. Volatile compounds identified in Barbados Cherry 'BRS-366 Jaburú, **Scientific Electronic Archives**, v. 9, p. 67-73, 2016.
- GARRUTI, D.S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de cajú**. 2001. 218f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- HAWTHORNE, S. B.; MILLER, D. J.; PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. L. Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers. **Journal of Chromatography A**, v. 603, n. 1, p. 185-191, 1992.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A. & STEVENS, P. F. Plant systematics, a phylogenetic approach. Sinauer Assoc., Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA. 1999.
- JUNQUEIRA, K. P.; PIO, R.; VALE, M. R.; RAMOS, J. D. **Cultura da aceroleira (*Malpighia glabra* L.)**. Lavras: UFLA, 2004. 27 p.
- KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, n. 1-2, p. 35–62, 2000.
- MARTENDAL, E. **Aplicação de planejamento fatorial fracionário e boxbehnken para otimização de extração com microgota para determinação de tricloroanisol e tribromoanisol de amostras de vinho por cromatografia a gás**. 2007. 44 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- MARTINS, C. R.; FARIA, J.; ROMBALDI, C. V.; FARIAS, R. Qualidade Sensorial de Maçãs produzidas em diferentes sistemas de produção. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, p. 91-99, 2010.
- MONTGOMERY, D. C. **Introdução ao controle estatístico da qualidade**. 4 (Ed.). Rio de Janeiro: LTC, 2009.
- NARAIN, N; ALMEIDA, J. N; GALVÃO, M, S, MADRUGA, M. S; BRITO, E.S. Compostos voláteis dos frutos maracujá (*Passiflora edulis* forma *flavicarpa*) e de cajá

(*Spondias mombin* L) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 24, n.2, p. 212-216, 2004.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: Aplicações na Ciência e na Indústria, 2 (Ed.). Campinas: Ed. Unicamp, 2003. p. 401.

PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction: Theory and Practice. Wiley-VCH, New York, 1997. p. 256-269.

PELUSIO, F.; NILSSON, T.; MONTANARELLA, L.; TILIO, R.; LARSEN, B.; FACCHETTI, S.; MADSEN, J. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 43, p. 2138-2143, 1995.

PENALVER, A.; POCURULL, E.; BORRULL, F.; MARCE, R. M. Trends in solid-phase microextraction for determining organic pollutants in environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 8, p. 557-568, 1999.

PEREIRA, F.V; CARDEAL, Z.L. Amostragem de compostos orgânicos voláteis no ar utilizando a técnica de microextração em fase sólida. **Química Nova**, v.39, p. 5979-5990, 2005.

PINO, J. A.; MARBOT, R. Volatile flavor constituents of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.12, p. 5880-5882, 2001.

POLO, M.; GARCIA-JARES, C.; LLOMPART, M.; CELA, R. Optimization of a sensitive method for the determination of nitro musk fragrances in waters by solid-phase microextraction and gas chromatography with micro electron capture detection using factorial experimental design. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 388, n. 8, p. 1789-1798, 2007.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Cultivo tropical de fruteiras: Acerola. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte- MG, v.32, n.264, p.17-25, set./out. 2011.

ROBERTSON, K. R. The Malpighiaceae in the southeastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum**, 1972. v. 53, n.2, p. 101-112.

SILVA, M. L. S.; MENEZES, C. C.; PORTELA, J. V. F.; SILVA ALENCAR, P. E. B.; CARNEIRO, T. B. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 170-173, 2013.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Bol. SBCTA**, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, n.2, p. 195-198, 2000.

YANG, X.; PEPPARD, T. Solid-phase microextraction for flavor analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 9, p. 1925-1930, 1994.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho, mostrou-se promissor para a extração de compostos orgânicos voláteis (COVs) que nunca antes foram identificados em frutos de aceroleira, além de que utiliza um método simples e eficaz, o qual pode ser aplicado em outros tipos de frutos, e mesmo até para quantificar os constituintes em muitas das diferentes variedades de acerola, pelo que se torno uma linha de pesquisa relevante, em razão da existência de poucos trabalhos.

Podem ser necessárias adequações metodológicas de acordo com o fruto que se quer analisar, portanto, a metodologia apresentada, neste estudo, torna-se uma ferramenta eficiente para avaliar o melhoramento genotípico de várias frutas que ainda não foram estudadas, quanto à composição de seus constituintes voláteis.

Os métodos de microextração em fase sólida e de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (SPME/GC-MS), mostraram-se eficientes para a extração e identificação dos compostos voláteis de frutos de acerola (*Malpighia emarginata* D. C.), técnica que pode ser utilizada para o análise de outros frutos de interesse.

As fibras de SPME testadas foram eficientes para a extração dos COVs, destacando-se a fibra com revestimento polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), por ter extraído o maior número de compostos com as melhores notas aromáticas o que caracterizou o perfil volátil dos frutos.

ANEXOS

ANEXO 1. Condições recomendadas para o acondicionamento de fibras SPME segundo às instruções do fabricante.

Revestimento da fibra	Espessura do filme	Polaridade	Temperatura de operação recomendada (°C)	Tempo de condicionamento (h)	Estado físico	Aplicações
PA	85 µm	Polar	220-300	1	Líquido	Semivoláteis, polares
CW/DVB	65 µm	Polar	200-260	0.5	Sólido- Líquido	Polares, álcoois
CAR/PDMS	75 µm	Semipolar	250-310	1	Sólido- Líquido	Gases, compostos de baixo peso molecular
PDMS/DVB	65 µm	Semipolar	200-270	0.5	Sólido- Líquido	Voláteis, aminas e compostos nitroaromáticos
DVB/CAR/PDMS	50/30 µm	Semipolar	230-270	1	Sólido- Líquido	Compostos leves e polares