

CAPÍTULO 33

ESTUDO METABOLÔMICO DE COMPOSTOS FIXOS E VOLÁTEIS EM DE POLPA DE Eugenia brasiliensis (GRUMIXAMA) POR PAPER SPRAY PS/MS E MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA SPME-GC/MS

METABOLOMIC STUDY OF FIXED AND VOLATILE COMPOUNDS IN PULP
OF *Eugenia brasiliensis* (GRUMIXAMA) BY PAPER SPRAY PS/MS AND
SOLID PHASE MICROEXTRACTION SPME-GC/MS

Ana Luiza Coeli Cruz Ramos

Douglas Dellaretti Mendes

Mauro Ramalho Silva

Henrique de Oliveira Prata Mendonça

Rodinei Augusti

Raquel Linhares Bello Araújo

Inayara Cristina Alves Lacerda

Júlio Onésio Ferreira Melo

Resumo

A *Eugenia brasiliensis* conhecida como grumixama é um fruto nativo da biodiversidade brasileira e possui sabor e aroma característicos, compostos bioativos com propriedades antioxidantes e característica saudável. Considerando que o mercado consumidor visa a à procura de produtos com apelo natural e funcional, este estudo teve como objetivo caracterizar a polpa de grumixama traçando o perfil químico e de compostos orgânicos voláteis deste fruto. Para isto foram realizadas análises de caracterização do perfil químico que, consistiu na obtenção de *fingerprints* empregando-se o *paper spray* PS/MS e a extração dos compostos orgânicos voláteis por meio de microextração em fase sólida (SPME) utilizando fibra PDMS/DVB e posterior separação e identificação por CG-MS. Em relação ao perfil químico da polpa foram listados por PS/MS 45 compostos, destacando-se os flavonóides, compostos fenólicos, carotenoides, açúcares, catequina e derivados da quercetina. Foram identificados 19 compostos voláteis orgânicos todos eles pertencentes à classe dos terpenos, sendo 94,7% sesquiterpenos e 5,3% monoterpenos, compostos estes que são responsáveis por diversas características sensoriais dos frutos. Os resultados demonstraram que a associação entre a atividade antioxidante já relatada na literatura promovida pelos bioativos e os COVs da polpa da grumixama tornam este fruto promissor para aceitação no mercado podendo ser adicionada em diversos produtos aumentando seu valor nutricional e funcional.

Palavras chave: Myrtaceae, compostos orgânicos voláteis, cereja brasileira.

Abstract

E *Eugenia brasiliensis*, known as grumixama, is a fruit native to Brazilian biodiversity and has a characteristic flavor and aroma, bioactive compounds with antioxidant properties, and a healthy characteristic. Considering that the consumer market is looking for products with natural and functional appeal, this study aimed to characterize the grumixama pulp by tracing the chemical profile and volatile organic compounds of this fruit. For this purpose, characterization analyses of the chemical profile were carried out, consisting of obtaining fingerprints using PS / MS paper spray and the extraction of volatile organic compounds through solid-phase microextraction (SPME) using PDMS / DVB fiber and later separation and identification by CG-MS. Regarding the chemical profile of the pulp, 45 compounds were listed by PS / MS, with emphasis on flavonoids, phenolic compounds, carotenoids, sugars, catechins, and quercetin derivatives. Nineteen volatile organic compounds were identified, belonging to the terpene class, 94.7% sesquiterpenes and 5.3% monoterpenes, compounds responsible for several sensory characteristics of the fruits. The results showed that the association between the antioxidant activity already reported in the literature promoted by bioactives and the VOCs of the grumixama pulp makes this fruit promising for acceptance in the market and can be added in several products, increasing its nutritional and functional value.

Key-words: Myrtaceae, volatile organic compounds, Brazilian cherry



1. INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae é uma das mais importantes da flora brasileira, apresentando potencial e significativo interesse econômico para o Brasil. Cerca de 50% de todas as espécies pertencentes a essa família são endêmicas do Bioma Mata Atlântica e, a maioria pertence aos gêneros *Eugenia*, *Campomanesia*, *Psidium* e *Myrciaria* (DE ARAÚJO et al., 2019). A grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), comumente conhecida como cereja brasileira, pertence à esta família e é um fruto proveniente das árvores das florestas brasileiras distribuídas nas regiões sul e sudeste do país (FLORES et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2015), tendo presença significativa no bioma da Mata Atlântica (PELLIS, 2019).

No Brasil, a produção comercial pode ser encontrada principalmente na região do “Vale do Paraíba”, no estado de São Paulo (TEIXEIRA; HASSIMOTTO; LAJOLO, 2018). Seu fruto possui compostos químicos, como antocianinas, fenilpropanóides, flavonoides, elagitaninos, polifenóis, carotenóis, açúcares, vitaminas (MACHADO et al., 2017; SILVA et al., 2014) entre outros, que devido à importância nutricional e funcional necessitam de serem identificados adequadamente. Estudos mostram a caracterização e o potencial destes compostos presentes nas folhas, cascas, semente, polpa e extrato bruto da grumixama (DE ARAÚJO et al., 2019; FLORES et al., 2012; INFANTE et al., 2016; MAGINA et al., 2010; SIEBERT et al., 2017).

Uma característica marcante em algumas variedades de grumixama é a coloração roxa, sendo esta um atributo importante que indica a presença de pigmentos antocianínicos. Em outros frutos da mesma família, como o jamelão (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), (BANERJEE; DASGUPTA; BRATATI, 2005), pitanga (*Eugenia Uniflora*), jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) O. Berg) e jambo (*Syzygium malaccense*) são encontrados estes pigmentos e já bem caracterizados. As antocianinas possuem ação antioxidante capaz de reduzir radicais livres provocando efeitos positivos sobre a manifestação de diversas patologias, como câncer e aterosclerose (CARDOSO; LEITE; PELUZIO, 2011) e por isso, há uma crescente busca por fontes ainda não exploradas desses compostos a fim de reduzir o desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidativo do organismo humano (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLUCKE, 2005).

Para uma caracterização mais detalhada do fruto, a identificação é realizada empregando-se cromatografia líquida de alta eficiência, dessorção / ionização a laser assistida por eletropulverização (ELDI), espectrometria de massa de ionização por eletropulverização por dessorção (DESI-MS) e *paper spray* (FLORES et al., 2012; REYNERTSON et al., 2008; SIEBERT et al., 2017; SILVA et al., 2014, 2019a; TEIXEIRA et al., 2015), no qual o *paper-spray* (PS/MS) vem se destacando, por permitir uma análise detalhada com a identificação de diversas substâncias presentes em matrizes complexas possibilitando obter a impressão digital da amostra em amplas faixas de massa (SILVA et al., 2019a).

A grumixama, também possui características como adstringência, sendo tradicionalmente utilizados para a produção de geleias, tortas e licores (FLORES et al., 2012). O aroma dos frutos é uma das características mais apreciadas pelos consumidores e este deve-se à presença de ácidos carboxílicos, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres e terpenos, que são os principais representantes dos compostos orgânicos voláteis (COVs) (BICAS et al., 2011; SILVA et al., 2019b). Sabendo-se que o conjunto de COVs é específico para cada espécie e variedade de frutos, e é o responsável pela formação do aroma peculiar (EL HADI et al., 2013), torna-se necessário ampliar os estudos sobre a caracterização destes frutos. Vários métodos de extração dos COVs podem ser utilizados tais como a destilação a vácuo, destilação e concentração simultânea dos voláteis, análises do *headspace* estático e dinâmico (QUEIROGA et al., 2005), e dentre estes destaca-se a microextração em fase sólida no modo *headspace* (HP-SPME) (GARCÍA et al., 2019). Este último é um método de extração vantajoso por ser rápido, simples, sem a utilização de solvente, porém sensível, fornecendo assim resultados suficientes para uma ampla faixa de concentrações e analitos (MERKLE; KLEEBERG; FRITSCH, 2015). A microextração é realizada por meio da utilização de uma fibra extratora podendo ser de diferentes polaridades, sendo a eficiência da extração relacionadas à polaridade dos compostos presentes na amostra. Estudos mostram que a fibra semipolar Polidimetilsiloxano/ Divinilbenzeno (PDMS/DVB) é uma das que apresentam melhores resultados na extração de compostos como os terpenóides (FRANCISCO et al., 2020; GARCÍA et al., 2019), uma das principais classes responsáveis pelo *flavor*. A detecção dos voláteis extraídos é realizada por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS).

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização das polpas do fruto de grumixama, traçando o seu perfil químico, utilizando a técnica de espectrometria de massa por ionização ambiente em *paper-spray* (PS-MS) e a extração dos COVs por HP-SPME com a separação e identificação por cromatografia gasosa acoplada a de espectrometria de massa (GC-MS).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

As polpas congeladas de grumixama da marca "Sítio do Bello" foram adquiridas no comércio localizado na cidade de São Paulo – Brasil (23° 27' 53,94" sul e 45° 42' 31,88" oeste), no mês de dezembro de 2018. Foram utilizadas aproximadamente 500 gramas de polpas do mesmo lote e maduras com mesmo grau de maturação, segundo informações do fabricante, as quais permaneceram sob temperatura de congelamento de -18 °C e ao abrigo da luz até o momento do uso.



2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção dos extratos da polpa

Os extratos da polpa foram obtidos conforme metodologia descrita por Silva et al., (2019a) com adaptações. Foram pesados 0,5 gramas da amostra, previamente homogeneizada, em seguida adicionou-se 1 mL da solução de metanol a 50% e a amostra foi agitada em agitador do tipo *vórtex* por 20 segundos e prosseguiu com incubação da mesma durante 1 hora em temperatura ambiente (25 °C) e ao abrigo de luz. Após o tempo de incubação, a amostra foi centrifugada durante 15 minutos a 4 °C com rotação de 15000 x *g* em centrífuga. Em seguida o sobrenadante foi recolhido em um balão volumétrico de 5 mL. No mesmo *eppendorf* repetiu-se a extração, desta vez utilizando acetona a 70%. Novamente foi realizada agitação e ressuspensão, prosseguindo com a incubação e centrifugação conforme citado acima. O sobrenadante foi transferido para o mesmo balão volumétrico (5 mL) e seu volume completado com água deionizada. Os extratos foram armazenados em temperatura de congelamento até o momento do uso para as análises do perfil químico PS/MS.

2.2.2 Perfil químico da polpa de grumixama por *paper spray* – MS

A análise do perfil químico das amostras foi conduzida empregando-se o espectrômetro de massas LCQ Fleet (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte de ionização ambiente por *paper spray* e foi realizada em triplicatas nos modos de ionização positivos e negativos (CAMPELO et al., 2020; SILVA et al., 2019a). Para a realização das análises, 2 µL das amostras e 40 µL de metanol foram aplicadas no triângulo de papel cromatográfico acoplado ao equipamento, e a fonte de voltagem foi ligada para aquisição dos dados (Figura 1). As condições instrumentais das análises foram: voltagem da fonte PS-MS igual a + 4 kV (modo positivo) e - 3 kV (modo negativo); voltagem do capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de 275 °C; voltagem das lentes do tubo de 120 V; faixa de carga massa de 100 a 1000 *m/z* nos modos positivo e negativo. Os íons foram fragmentados usando energia de colisão de 15 a 45 eV.

Os resultados referentes aos espectros de massas obtidos foram processados utilizando o *software Xcalibur* versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Os espectros PS-MS médios dos modos positivo e negativo foram determinados utilizando Excel, 2016 (Microsoft, Redmond, WA, EUA). Para a tentativa de identificação dos compostos realizou-se a comparação das razões massa carga de dados da literatura com os sinais instrumentais obtidos e a subsequente fragmentação por meio da espectrometria de massas sequencial (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2020; RAMOS et al., 2020).

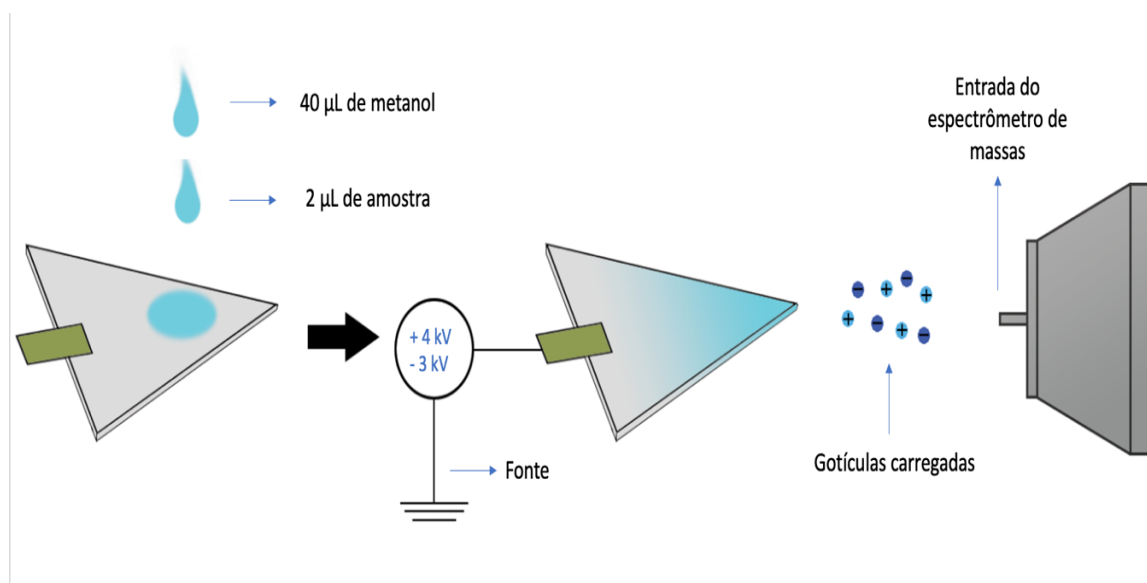


Figura 1. Diagrama do processo de ionização por *paper spray*
 Fonte: Autores (2021)

2.2.3 Perfil de compostos voláteis

A extração dos compostos orgânicos voláteis foi realizada por meio do método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) conforme descrito por García et al., (2019) utilizando a fibra Polidimetilsiloxano/ Divinilbenzeno semi-polar (PDMS/DVB). Os COVs extraídos foram separados e identificados no cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra) acoplado a um espectrômetro de massa (Polaris Q) (GC-MS), com analisador do tipo "ion-trap".

Pesou-se 2,0 g de polpa *in natura* em frascos de *headspace* com capacidade de 20 mL e fechados com lacre de alumínio. Em seguida, os frascos foram pré-aquecidos em chapa aquecedora sem agitação por 5 minutos. Após esse tempo, a fibra PDMS/DVB foi inserida no frasco e exposta a amostra por 10 minutos. Em sequência a mesma foi removida do frasco e inserida manualmente no CG-MS a uma temperatura no injetor de 250 °C, por um tempo de dessorção de 5 minutos, temperatura da fonte de íons de 200 °C e interface de 275 °C. O gás de arraste utilizado foi o hélio com uma vazão de 1 mL.min⁻¹, e os COVs foram separados usando uma coluna capilar (HP-5ms) fenil a 5% e metilpolisiloxano a 95% (30 mx 0,25 mm x 0,25 µm; Agilent Technologies Inc., Alemanha). Inicialmente, a coluna foi mantida a 40 °C por 5 min e, em seguida, a temperatura foi aumentada a uma taxa de 2,5 °C min⁻¹ até 125 °C, seguida de um aumento de 10 °C.min⁻¹ até 245 °C e mantida por 3 min. A aquisição dos dados ocorreu no modo de varredura completa por ionização por impacto eletrônico (EI) e potência de 70 eV com um intervalo de 50 a 300 *m/z*.

A identificação dos compostos voláteis foi baseada na relação massa-carga (*m/z*) dos fragmentos de íons da amostra analisada, mediante cada espectro de massa na faixa de 50 a 300 *m/z*. Utilizando o *software* Xcalibur versão 2.1 (Ther-

mo Scientific, San Jose, CA, EUA), realizou-se uma comparação dos espectros de massas correspondente a cada pico observado no cromatograma com os dados obtidos pela biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*) (GARCÍA et al., 2020), considerando nível de similaridade (reverso índice de pesquisa, RSI) maior que 600.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Perfil químico

Os espectros do perfil químico da amostra de polpa de grumixama nos modos positivo e negativo estão apresentados nas Figuras 2 e 3 respectivamente. Por meio da tentativa de identificação foi possível listar 45 compostos na polpa de grumixama através do *PS-MS*, sendo que no modo de ionização positivo foram 18 compostos e 27 compostos no modo negativo. Estes possíveis compostos identificados, estão representados na Tabela 1 para o modo positivo de ionização e na Tabela 2 para o modo negativo de ionização. Foram encontrados flavonoides (46%) seguido de compostos fenólicos (27%) e outros compostos (27%) que incluem, açúcar e carotenoides (Figura 4).

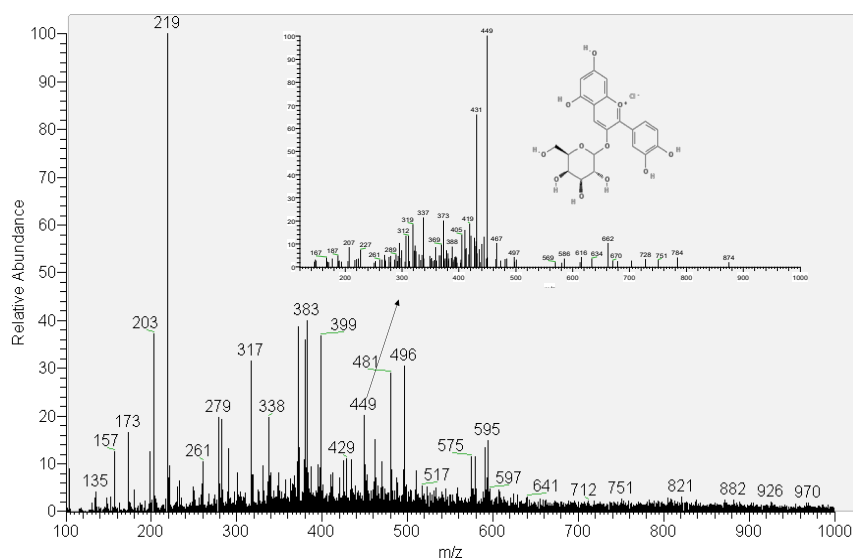


Figura 2. Representação de PS modo positivo – MS da amostra de polpa de Grumixama.
Fonte: RAMOS et al. (2020)

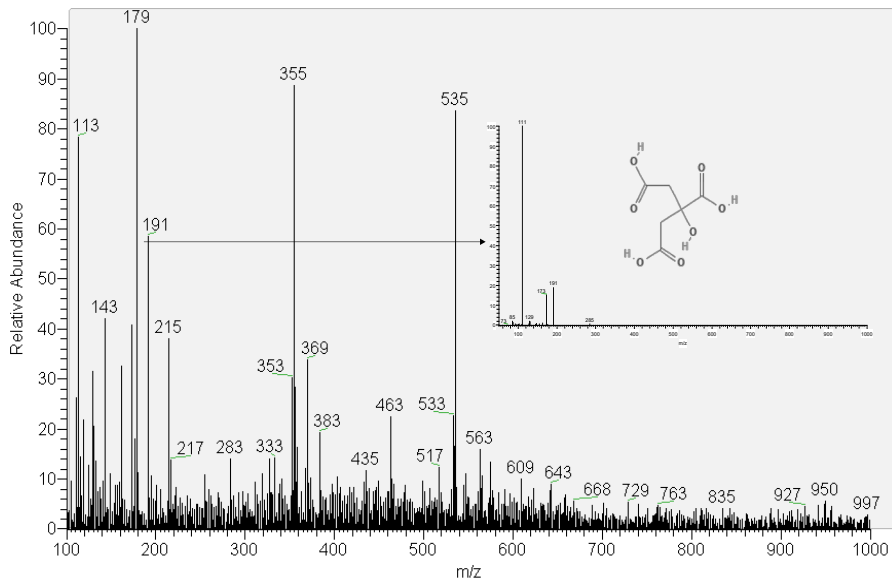


Figura 3. Representação de (a) PS modo negativo – MS da amostra de polpa de grumixama.
 Fonte: RAMOS et al. (2020)

n°	Tentativa de identificação	CAS	ID	Fórmula	m/z [] ⁺	MS/MS	Referência
Compostos fenólicos							
1	Éster de galoil-glicose	-	[M+Na] ⁺	-	355	263 233	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)
2	Ácido dihidrossinápico	14897-78-0	[2M+Na] ⁺	C ₁₁ H ₁₄ O ₅	475	457	(PAUDEL et al., 2013)
Flavonoide							
3	Cianidina 3-galactósido	27661-36-5	[M - 162] ⁺	C ₂₁ H ₂₁ ClO ₁₁	449	287	(TEIXEIRA et al., 2015)
4	Catequina	18829-70-4	[M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	291	273	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
5	Diosmetina	520-34-3	[M + H - CO3] ⁺	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	301	286	(WANG et al., 2017)
6	Kaempferol rhamnoside	20196-89-8	[M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	433	415	(LEE; JOHNSON; TALCOTT, 2005)
7	Myricetin rhamnoside	17912-87-7	[M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	465	447	(LEE; JOHNSON; TALCOTT, 2005)
8	Quercetina-monoglucuronida	-	-	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₃	479	435 303	(MASCHERPA et al., 2012)
9	Miricetina-glucósido	19833-12-6	[M + H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	481	335	(MASCHERPA et al., 2012)
10	Miricetina-3-glcA	15648-86-9	[M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	495	319	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
11	5- piranopelargonidina-3-O-glucósido	-	[M] ⁺	-	501	295	(KAJĐŽANOSKA; GJAMOVSKI; STEFOVA, 2010)
12	Syringetin-3-glc	40039-49-4	[M+H] ⁺	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	509	481	(STEFOVA; IVANOVA, 2011)
Outros compostos							
13	Triptofano	73-22-3	[M+H] ⁺	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	205	188	(KOSINSKA et al., 2013)
14	Ácido licanico	623-99-4	[M + H - 2H ₂ O] ⁺	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	293	257	(WANG et al., 2017)
15	Sacarose	57-50-1	-	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	365	203	(GUO et al., 2017)
16	Gomphrenin	17008-59-2	[M+H] ⁺	C ₃₀ H ₃₇ N ₂ O ₁₈ ⁺	551	389	(GARCÍA-CRUZ et al., 2017)
17	All-trans-zeaxantina All-trans-luteína	144-68-3 127-40-2	[M+H-18] ⁺	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	569	551	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011; SILVA et al., 2014)
18	6'-O-malonyl-2-descarboxy-isobetanin	-	[M + H] ⁺	-	593	345 507	(GARCÍA-CRUZ et al., 2017)

Tabela 1. Perfil químico da amostra de polpa de grumixama por PS-MS no modo positivo.
Fonte: RAMOS et al. (2020)

n°	Tentativa de identificação	CAS	ID	Fórmula	m/z []	MS/MS	Referência
Compostos fenólicos							
19	Ácido ferulol málico	-	[M-H] ⁻	C ₁₄ H ₁₄ O ₈	309	291	(SPÍNOLA; PINTO; CASTILHO, 2015)
20	Hexosídeo do ácido p- coumarico	-	[M-H] ⁻	-	325	145, 163	(KAJDŽANOSKA; GJAMOVSKI; STEFOVA, 2010)
21	Ácido cafeoil-2-hidro-etano-1,1,2-tricarboxílico	-	[M-H-44] ⁻ [M-H-2x44] ⁻	-	339	295 251	(BEN SAID et al., 2017)
22	Ácido cafeico-3-glucósido	24959-81-7	[M-H-2H ₂ O] ⁻²	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	341	305	(WANG et al., 2017)
23	Di-hidro-cafeoil-O-glucoside	-	([M-H] ⁻ - glc.)	-	343	181	(EL-SAYED et al., 2017)
24	Ácido 4-O-cafeoil quínico (ácido criptoclorogenico)	905-99-7	-	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	353	353	(HUANG et al., 2017)
25	Ácido cafeoil-gluconico	-	([M-H] ⁻ - Caf.)	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₁	371	209	(EL-SAYED et al., 2017)
26	Derivados do ácido cafeico	-	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₁₆ O ₁₁	443	245 443	(HUANG et al., 2017)
27	Hidroxi-metoxifenil-O- (O-galoi) -hexose	-	[M-H] ⁻	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₂	453	169, 313	(ABU-REIDAH et al., 2015)
28	Tinosposídeo A	-	[M-H] ⁻	C ₂₇ H ₃₅ O ₁₁	535	517	(JIAO et al., 2018)
Flavonoide							
29	Kaempferol	520-18-3	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285	241, 217, 213, 197	(BEN SAID et al., 2017)
30	Luteolina	491-70-3	[M-H] ⁻	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285	285, 267, 241, 217, 213,197	(EL-SAYED et al., 2017)
31	Taxifolina	480-18-2	[M-H-H ₂ O] ⁻ [M-H-H ₂ O-44] ⁻ [M-H-CO-58-18] ⁻	C ₁₅ H ₁₂ O ₇	303	285 241 199 125	(CHEN et al., 2016)
32	Galocatequina	970-73-0	[M-H-CO] ⁻ [CHO] ⁻ 753	C ₁₅ H ₁₄ O	305	137, 261	(WANG et al., 2017)

33	Éter dimetílico de quercetina	4382-17-6	[M-H] ⁻	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	329	314	(BEN SAID et al., 2017)
34	quercetina 3-glucósido	482-35-9	[M-H] ⁻	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463	301/151	(TEIXEIRA et al., 2015).
35	Hexosídeo de quercetina	482-35-9	[M-H-162] ⁻	-	463	301	(SILVA et al., 2014)
36	3', 4-Di-hidroxi-5,6-dimetoxi-7-O-glucósido	-	[M-H] ⁻	-	491	473	(GOUVEIA; CASTILHO, 2010)
37	Quercetina acetil-hexósido	-	[M-H] ⁻	-	505	301	(BEN SAID et al., 2017)
38	Di-glucósido de di-hidro-miricetina	-	[M-H-162] ⁻	-	643	481	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)
39	Metil-di-hidro-miricetina glucoside	-	[M-H]	-	657	477	(FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011)

Outros compostos

40	Ácido cítrico	77-92-9	[M-H-H-O-COOH-OH] ⁻	C ₆ H ₈ O ₇	191	173, 111	(SILVA et al., 2019a; WANG et al., 2017)
41	Ácido palmítico	57-10-3	[M-H-H-O] ⁻	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	255	237	(WANG et al., 2017)
42	Sacarose	57-50-1	[M+HCOO] ⁻	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	387	341	(GABBANINI et al., 2010)
43	Sweroside lactona	-	-	-	403	167	(GUO et al., 2017)
44	Derivado do ácido glucárico	-	-	C ₁₆ H ₂₆ O ₁₂	409	209	(DÍAZ-DE-CERIO et al., 2018)
45	Iso-Pentil-di-hexose	-	[M-H] ⁻	-	411	249	(EL SAYED et al., 2016)

Tabela 2. Perfil químico da amostra de polpa de Grumixama por PS-MS no modo negativo.
Fonte: RAMOS et al. (2020)

Dentre os flavonoides, desta tentativa de identificação, destacam a catequina ($m/z = 291$); derivados da quercetina como monoglucuronido de quercetina ($m/z = 479$), éter dimetílico de quercetina ($m/z = 329$), 3-glucosídeo de quercetina ($m/z = 463$), hexósido de quercetina ($m/z = 463$), acetil-hexósido de quercetina ($m/z = 505$); e também a galocatequina ($m/z = 305$). Essas substâncias são naturalmente presentes na grumixama (MAGINA et al., 2012; SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015) as quais estão correlacionadas à efeitos benéficos como por exemplo atividade antioxidante (MAGINA et al., 2012).

A detecção do composto cianidina 3-galactósido ($m/z = 449$) confirma a presença de antocianinas nas polpas de grumixama, assim como em outros estudos do mesmo fruto (NASCIMENTO et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2015). Estes compostos também são flavonoides, geralmente responsáveis pelos pigmentos vermelhos, amplamente distribuídos no reino vegetal (AGUILERA-OTÍZ et al., 2011). O fruto pode ser assim considerado uma nova fonte desses compostos agregando valor a grumixama que ainda é pouco explorada (NASCIMENTO et al., 2017), uma vez que as antocianinas apresentam potenciais efeitos sobre a saúde humana, como auxílio na redução da obesidade e na resistência à insulina (LENQUISTE et al., 2012), além de exercer atividades terapêuticas como a capacidade de sequestrar radicais livres (ALMEIDA et al., 2019). No geral, as variedades de *E. brasiliensis* são consideradas fontes boas de compostos bioativos em especial antocianinas, elagitaninas e carotenoides (DE ARAÚJO et al., 2019).

Carotenoides como all-trans-zeaxantina ($m/z = 569$) e all-trans-luteína ($m/z = 569$) foram listados na tentativa de identificação da amostra em estudo e estão entre os pigmentos lipossolúveis mais comuns encontrados na natureza com ação antioxidante (MOELLER; JACQUES; BLUMBERG, 2000). Estes compostos também foram identificados em frutos como araçá (*Psidium cattleianum*) e uvaia (*Eugenia pyriformis*) ambos da mesma família do fruto de grumixama, entretanto ainda há poucas pesquisas que mostram a presença destes compostos em frutas de casca escura o que pode ser justificado pela intensidade desta coloração que pode vir a mascarar a cor característica dos carotenoides (NASCIMENTO et al., 2017).

Nas amostras de grumixama listou-se o açúcar sucrose, tanto no modo positivo ($m/z = 365$) quanto no modo negativo ($m/z = 387$) de ionização. Conforme esperado, outro composto identificado na polpa de grumixama foi o ácido cítrico ($m/z = 191$), uma vez que este é uma fonte natural de ácido orgânico, encontrada em todas as frutas cítricas (AGHERA; BHATT, 2019), o que também já foi relatado por meio de análises de acidez titulável e pH (RAMOS et al., 2020).

3.2 Compostos voláteis

A técnica de microextração em fase sólida no modo *headspace* permitiu a identificação de diversos compostos orgânicos voláteis. O cromatograma referente a



análise de voláteis na polpa de grumixama está apresentado na Figura 5.

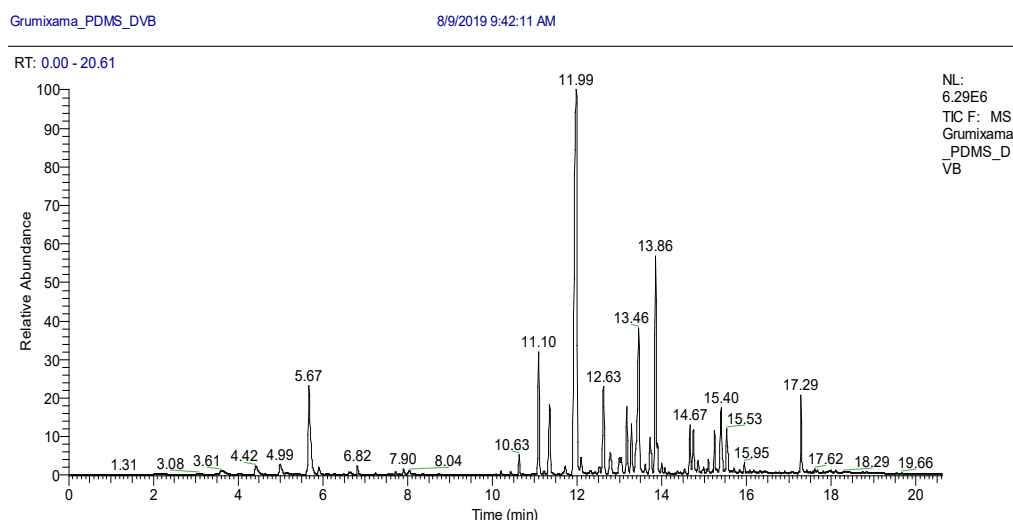


Figura 4. Cromatograma dos compostos voláteis da polpa de grumixama por CG-MS.
Fonte: RAMOS et al. (2020)

Foi possível identificar 19 COVs, sendo em sua maioria sesquiterpenos, por meio da comparação dos espectros de massas correspondente a cada pico com os dados obtidos pela biblioteca NIST, os quais estão demonstrados na Tabela 3.

Nº	RT	Área %	MS/MS	CAS	Fórmula	Composto
Monoterpenos						
1	5,67	5,71	67, 79, 93 107, 121	499-97-8	C ₁₀ H ₁₆	D-limoneno
Sesquiterpenos						
2	10,63	0,73	91, 105, 119, 161, 204	17699-1 4-8	C ₁₅ H ₂₄	α-Cubebeno
3	11,10	4,48	91, 105, 119, 161, 204	3856-25-5	C ₁₅ H ₂₄	Copaeno
4	11,35	3,31	79, 91, 119, 133, 161	475-10-7	C ₁₅ H ₂₄	Longifoleno
5	11,99	30,06	92, 105, 133, 147, 161	88-8 4-6	C ₁₅ H ₂₄	β-Guaieno
6	12,63	4,16	79,91,93, 105,147	3691-11-0	C ₁₅ H ₂₄	Guaia-I (10), 11-dieno
7	12,78	1,28	92,105,119,133,161	61262-67-7	C ₁₅ H ₂₄	Longifoleno-(V4)
8	13,00	1,33	105, 119, 161,189,204	483-76-1	C ₁₅ H ₂₄	Cadina - (10) 4-dieno
9	13,18	2,55	79,91,103,119,161	-	C ₁₅ H ₂₄	Isoleodeno
10	13,29	1,89	79,91,105,161,189	-	C ₁₅ H ₂₄	Cariofileno
11	13,46	8,70	79,91,121,161,204	22469-52-9	C ₁₅ H ₂₄	(+) -Ciclosativeno
12	13,61	0,44	79,93,119,161,191	-	C ₁₅ H ₂₄	1,1 4a-Trimetil-5-6-dimetileno-deca-hidronaftaleno
13	13,72	1,82	105,119,133,161,204	5951-67-7	C ₁₅ H ₂₄	α-Elemeno
14	13,86	8,91	90,105,119,161,204	523-47-7	C ₁₅ H ₂₄	Cadina-3,9-dieno
15	14,67	1,59	91,119,148,159,205	217 47-46-6	C ₁₅ H ₂₄	(+) - Ledeno
16	14,75	1,87	67,79,91,105,121	-	C ₁₅ H ₂₄ O	Allo-aromadendreno

17	15,25	1,41	79,105,119,161,204	470-40-6	C ₁₅ H ₂₄	Tujopseno
18	15,40	3,19	94,105,119,162,204	1405-16-9	C ₁₅ H ₂₄	Patchouleno
19	15,53	1,84	95,105,121,161,204	473-04-1	C ₁₅ H ₂₆ O	Eudesm-7 (11) -en-4-ol

Tabela 3. Compostos orgânicos voláteis identificados na polpa de grumixama
Fonte: Autores (2021)

Pode-se observar, que todos os compostos identificados pertencem à classe dos terpenos sendo eles sesquiterpenos (94,7%) e um monoterpene (5,3%). Os C₁₀ (monoterpenos) e C₁₅ (sesquiterpenos) estão dentre os compostos voláteis mais importantes presente nos frutos (SCHWAB; DAVIDOVICH-RIKANATI; LEWIN-SOHN, 2008) considerados os mais abundantes e principais responsáveis pela determinação do aroma característico (EL HADI et al., 2013). A polpa apresentou um perfil bastante complexo de sesquiterpenos com 18 compostos identificados com esta classificação.

O monoterpene identificado foi o D-limoneno. Este é o componente majoritário encontrado em óleos das cascas de laranja, sendo correlacionado a prevenção da desidratação e a inibição de crescimento microbiano nos vegetais (MULLER, 2011). Este composto é muito utilizado na indústria de alimentos como componente aromático e para dar sabor, ainda usado na obtenção de sabores artificiais como menta e hortelã, na fabricação de doces, balas e gomas de mascar (SANTOS; SERAFINI; CASSEL, 2003). A presença deste composto na grumixama torna-se vantajosa uma vez que este tem uma positiva relação com *flavor*, características desejáveis e está presente de forma natural no fruto. Assim como no presente estudo, compostos como α -cubebeno α -cubebeno e allo-aromadendreno e β -guaieno foram identificados em amostras de araçá-boi (*Eugenia stipitata*) (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000) e de pitangas (*Eugenia uniflora* L) com diferentes biótipos de cor (laranja, vermelha e amarelo) (MESQUITA et al., 2017). Os sesquiterpenos são os compostos de maior abundância e comumente encontrados no gênero *Eugenia* (FRANCO; SHIBAMOTO, 2000; MESQUITA et al., 2017). A presença dessa classe de compostos torna a grumixama um fruto de valor biológico também pois estes possuem atividades que podem ser relacionadas à ação antibacteriana (BECKER et al., 2017).

4. CONCLUSÃO

A polpa de grumixama é um fruto ainda pouco explorado, entretanto, apresentou características de grande relevância. A técnica do paper spray permitiu a identificação de diversos compostos fenólicos responsáveis pela ação antioxidante corroborando assim, com os valores obtidos em estudos anteriores para capacidade antioxidante e compostos fenólicos da polpa e se mostrou eficiente para uma tentativa de identificação rápida do fingerprint da amostra. Estes resultados são importantes para dar início a um estudo da efetividade sobre a saúde humana e a biodisponibilidade. O HS-SPME acoplado ao GC-MS utilizando a fibra PDMS/DVB semipolar



mostrou ser uma técnica eficiente para extração com identificação de COVs presentes na polpa de grumixama, permitindo a identificação de 19 compostos sendo em sua maioria sesquiterpenos (94%). Tal resultado mostra a importância deste estudo na identificação dos compostos voláteis que são fundamentais no que se relaciona às características como o flavor do fruto e sua aceitação pelo consumidor. Desta forma, os resultados deste trabalho demonstram que a polpa da grumixama é promissora com intuito de ser explorada e tem potencial para ser introduzida em produtos alimentares.

Referências

ABU-REIDAH, I. M. et al. HPLC-DAD-ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chemistry**, v. 166, p. 179–191, jan. 2015.

AGHERA, P. R.; BHATT, N. S. **Citric Acid: Biosynthesis, Properties and Application**. [s.l.] LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019.

AGUILERA-OTÍZ, M. et al. Propiedades funcionales de las antocianinas. **BIOTecnia**, v. 13, n. 2, p. 16, 30 ago. 2011.

ALMEIDA, A. B. DE et al. Assessment of chemical and bioactive properties of native fruits from the Brazilian Cerrado. **Nutrition & Food Science**, v. 49, n. 3, p. 381–392, 13 maio 2019.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; BRATATI, D. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 727–733, 2005.

BECKER, N. A. et al. Biological properties of *Eugenia uniflora* L. essential oil: chemical composition and antimicrobial activity. **VITTALLE - Revista de Ciências da Saúde**, v. 29, n. 1, p. 22–30, 10 jul. 2017.

BEN SAID, R. et al. Tentative Characterization of Polyphenolic Compounds in the Male Flowers of *Phoenix dactylifera* by Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry and DFT. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 3, p. 512, 2 mar. 2017.

BICAS, J. L. et al. Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1843–1855, ago. 2011.

CAMPELO, F. et al. Study of Thermoplastic Extrusion and Its Impact on the Chemical and Nutritional Characteristics and Two Sorghum Genotypes SC 319 and BRS 332. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2020.

CARDOSO, L. M.; LEITE, J. P. V.; PELUZIO, M. DO C. G. Efeitos biológicos das antocianinas no processo aterosclerótico. **Revista Colombiana de Ciências Químico - Farmacéuticas**, v. 40, n. 1, p. 116–138, 2011.

CHEN, G. et al. Analysis of Flavonoids in *Rhamnus davurica* and Its Antiproliferative Activities. **Molecules**, v. 21, n. 10, p. 1275, 23 set. 2016.

DE ARAÚJO, F. F. et al. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57–72, jul. 2019.

DÍAZ-DE-CERIO, E. et al. Characterization of bioactive compounds of *Annona cherimola* L. leaves using a combined approach based on HPLC-ESI-TOF-MS and NMR. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 15, p. 3607–3619, 9 jun. 2018.

EL-SAYED, M. A. et al. Phytoconstituents, LC-ESI-MS profile, antioxidant and antimicrobial activities of citrus *X* limon L. Burm. F. cultivar variegated pink lemon. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 4, p. 375–392, 2017.

EL HADI, M. et al. Advances in Fruit Aroma Volatile Research. **Molecules**, v. 18, n. 7, p. 8200–8229, 11 jul.



2013.

EL SAYED, A. M. et al. In vivo diabetic wound healing effect and HPLC-DAD-ESI-MS/MS profiling of the methanol extracts of eight Aloe species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 3, p. 352-362, maio 2016.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1571-1578, jun. 2011.

FLORES, G. et al. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, v. 134, n. 3, p. 1256-1262, out. 2012.

FRANCISCO, V. et al. Optimization of extraction conditions of volatile compounds of roasted beef by solid-phase microextraction. **Química Nova**, 2020.

FRANCO, M. R. B.; SHIBAMOTO, T. Volatile Composition of Some Brazilian Fruits: Umbu-caja (*Spondias citherea*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*), and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 4, p. 1263-1265, abr. 2000.

GABBANINI, S. et al. Anomeric discrimination and rapid analysis of underivatized lactose, maltose, and sucrose in vegetable matrices by U-HPLC-ESI-MS/MS using porous graphitic carbon. **S. Gabbanini, E. Lucchi, F. Guidugli, R. Matera and L. Valgimigli**, v. 45, p. 1012-1018, 2010.

GARCÍA-CRUZ, L. et al. Betalains and phenolic compounds profiling and antioxidant capacity of pitaya (*Stenocereus* spp.) fruit from two species (*S. Prinosus* and *S. stellatus*). **Food Chemistry**, v. 234, p. 111-118, nov. 2017.

GARCÍA, Y. et al. SPME Fiber Evaluation for Volatile Organic Compounds Extraction from Acerola. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019.

GARCÍA, Y. M. et al. Avaliação de fibra SPME para extração de compostos orgânicos voláteis de acerola. In: **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1ed. p. 55-70.

GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, n. 13, p. 1851-1868, 15 jul. 2010.

GUO, Y. et al. Rapid Analysis of Corni fructus Using Paper Spray-Mass Spectrometry. **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 4, p. 344-350, jul. 2017.

HUANG, W. et al. Comprehensive MS and Solid-State NMR Metabolomic Profiling Reveals Molecular Variations in Native Periderms from Four *Solanum tuberosum* Potato Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 10, p. 2258-2274, 15 mar. 2017.

INFANTE, J. et al. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Unexplored Brazilian Native Fruits. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0152974, 6 abr. 2016.

JIAO, Q.-S. et al. Rapid Characterization and Identification of Non-Diterpenoid Constituents in *Tinospora sinensis* by HPLC-LTQ-Orbitrap MSn. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 274, 29 jan. 2018.

KAJDŽANOSKA, M.; GJAMOVSKI, V.; STEFOVA, M. HPLC-DAD-ESI-MSn identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 29, n. 2, p. 181-194, 2010.

KOSINSKA, A. et al. Phenolic compounds profile of strawberry fruits of Charlotte cultivar. **Journal of Berry Research**, v. 3, p. 15-23, 2013.

LEE, J.-H.; JOHNSON, J. V.; TALCOTT, S. T. Identification of Ellagic Acid Conjugates and Other Polyphenolics in Muscadine Grapes by HPLC-ESI-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 15, p. 6003-6010, jul. 2005.

LENQUISTE, S. A. et al. Freeze-dried jaboticaba peel added to high-fat diet increases HDL-cholesterol and improves insulin resistance in obese rats. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 153-160, nov. 2012.



MACHADO, A. P. D. F. et al. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. **Food Chemistry**, v. 231, p. 1–10, set. 2017.

MAGINA, M. A. et al. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 376–82, 2010.

MAGINA, M. D. A. et al. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1184–1188, 2012.

MASCHERPA, D. et al. Identification of Phenolic Constituents in *Cichorium endivia* Var. *crispum* and Var. *latifolium* Salads by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 49, p. 12142–12150, 12 dez. 2012.

MERKLE, S.; KLEEBERG, K.; FRITSCH, J. Recent Developments and Applications of Solid Phase Microextraction (SPME) in Food and Environmental Analysis—A Review. **Chromatography**, v. 2, n. 3, p. 293–381, 30 jun. 2015.

MESQUITA, P. R. R. et al. Discrimination of *Eugenia uniflora* L. biotypes based on volatile compounds in leaves using HS-SPME/GC-MS and chemometric analysis. **Microchemical Journal**, v. 130, p. 79–87, jan. 2017.

MOELLER, S. M.; JACQUES, P. F.; BLUMBERG, J. B. The Potential Role of Dietary Xanthophylls in Cataract and Age-Related Macular Degeneration. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. sup5, p. 522S–527S, out. 2000.

MULLER, P. S. **Microencapsulação do óleo essencial de laranja**. [s.l.] (Dissertação de mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Paraná., 2011.

NASCIMENTO, L. et al. Characterization of Bioactive Compounds in *Eugenia brasiliensis*, Lam. (Grumixama). **Nutrition and Food Technology: Open Access**, v. 3, n. 3, 2017.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. H. DE et al. Perfil químico de amêndoas de cacau por espectrometria de massas com ionização por paper spray. In: **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1ed. p. 338–353.

PAUDEL, L. et al. Nonanthocyanin Secondary Metabolites of Black Raspberry (*Rubus occidentalis* L.) Fruits: Identification by HPLC-DAD, NMR, HPLC-ESI-MS, and ESI-MS/MS Analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 49, p. 12032–12043, 11 dez. 2013.

PELLIS, V. F. **A família Myrtaceae juss. no parque municipal da Lagoa do Peri, Santa Catarina, Brasil**. [s.l.] (Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso)- Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GOLLUCKE, A. P. . **Alimentos funcionais: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos**. [s.l.: s.n.].

QUEIROGA, R. DE C. R. E. et al. Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1, p. 97–103, 2005.

RAMOS, A. L. C. C. et al. Chemical profile of *Eugenia brasiliensis* (Grumixama) pulp by PS/MS paper spray and SPME-GC / MS solid-phase microextraction. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. 318974008, 14 maio 2020.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883–890, ago. 2008.

SANTOS, A. C. A. DOS; SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. **Estudo de Processos de Extração de Óleos Essenciais e Bioflavonoides de Frutas Cítricas**. Caxias do Sul: [s.n.].

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 712–732, maio 2008.

SIEBERT, D. A. et al. Determination of phenolic profile by HPLC-ESI-MS/MS and anti-inflammatory activity of crude hydroalcoholic extract and ethyl acetate fraction from leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Revista Bra-**

sileira de Farmacognosia, v. 27, n. 4, p. 459–465, jul. 2017.

SILVA, N. A. DA et al. Phenolic Compounds and Carotenoids from Four Fruits Native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072–5084, 4 jun. 2014.

SILVA, M. et al. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019a.

SILVA, M. et al. Evaluation of the Influence of Extraction Conditions on the Isolation and Identification of Volatile Compounds from Cagaita (*Eugenia dysenterica*) Using HS-SPME/GC-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019b.

SPÍNOLA, V.; PINTO, J.; CASTILHO, P. C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD–ESI-MSⁿ and screening for their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 173, p. 14–30, abr. 2015.

STEFANOVA, M.; IVANOVA, V. Analytical Methodology for Characterization of Grape and Wine Phenolic Bioactives. In: **Fruit and Cereal Bioactives**. [s.l.] CRC Press, 2011. p. 409–427.

TEIXEIRA, L. DE L. et al. Identification of Ellagitannins and Flavonoids from *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 22, p. 5417–5427, 10 jun. 2015.

TEIXEIRA, L. DE L.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. Grumixama— *Eugenia brasiliensis* Lam. In: **Exotic Fruits**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 219–224.

WANG, J. et al. Analysis of Chemical Constituents of *Melastoma dodecandrum* Lour. by UPLC-ESI-Q-Exactive Focus-MS/MS. **Molecules**, v. 22, n. 3, p. 476, 17 mar. 2017.

