

## OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DE CAGAITA (*Eugenia dysenterica*) EMPREGANDO-SE A HS-SPME/CG-MS

Mauro Ramalho Silva<sup>1</sup>, Inayara Cristina Alves Lacerda<sup>1</sup>, Rodinei Augusti<sup>2</sup>, Amauri Geraldo de Souza<sup>3</sup>, Júlio Onésio Ferreira Melo<sup>3</sup>, Raquel Linhares Bello de Araújo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Departamento de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ), Departamento de Ciências Exatas e Biológica, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

\*Autor para correspondências: raquel@bromatologiaufmg.com.br

### RESUMO

O cerrado possui uma imensa biodiversidade em sua flora, apresentando mais de 11.600 plantas nativas catalogadas. Entre os frutos comestíveis, a cagaita (*Eugenia dysenterica*) tem sido muito utilizada na elaboração de vários produtos em virtude do seu sabor e aroma. Desta forma, este trabalho teve por objetivo determinar os compostos orgânicos voláteis (COVs) da cagaita. Cagaitas coletadas na cidade de Sete Lagoas/MG foram avaliadas utilizando-se a microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) utilizando a fibra carboxen-polidimetilsiloxano (CAR/PDMS). A identificação foi realizada empregando-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foi realizado um delineamento experimental variando os parâmetros: agitação (0, 50 e 100 rpm), tempo (20, 30 e 40 min) e temperatura (25, 45 e 65 °C) de extração. Foram identificados 13 COVs com predomínio de monoterpenos (47,05%) e ésteres (14,09%). Os melhores resultados foram obtidos empregando temperaturas mais elevadas, enquanto a agitação e o tempo de extração não tiveram efeito significativo no número de COVs identificados.

*Palavras-chave:* aroma, microextração em fase sólida, cagaita, fibra CAR/PDMS.

### 1. INTRODUÇÃO

O cerrado é considerado o segundo maior bioma da América Latina e abrange em torno de 22% do território nacional (BRASIL, 2017). Caracterizado como a savana mais rica do mundo, esse bioma possui inúmeras espécies de plantas com uso medicinal e muitos frutos comestíveis que além de serem consumidos pela população local, são comercializados em centros urbanos na forma ao natural ou incorporados em produtos alimentícios. Entre esses frutos, destaca-se a cagaita, fruto da cagaiteira (*Eugenia dysenterica*), pertencente à família Mirtaceae e que tem sido muito utilizada na elaboração de produtos como doces, geleias, sucos, picolés e sorvetes (Cardoso et al., 2011; Ribeiro et al., 2013).

A qualidade dessas frutas está associada à vários parâmetros como o valor nutricional, a aparência, a cor, a textura, o sabor e o aroma. Esse último refere-se à um dos principais parâmetros de aceitação pela população, e se deve à presença de diferentes compostos voláteis presentes em cada fruta (Jiang & Song, 2010). Entre as técnicas para o isolamento dos compostos voláteis, a microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) tem sido muito utilizada, pois, apresenta várias vantagens em relação às demais como o baixo custo, simplicidade, ausência de solventes e afinidade para vários analitos (Kataoka, Lord & Pawliszyn, 2000).

O desenvolvimento do método de extração de COVs pelo HS-SPME envolve a avaliação de vários parâmetros, uma vez que diferentes compostos orgânicos voláteis (COVs) estão presentes em cada fruto. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar as melhores condições para determinação dos compostos

voláteis de cagaita, analisando diferentes parâmetros tais como o tipo de fibra, agitação, temperatura e tempo de extração.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material

A fibra Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PMDS – 75  $\mu\text{m}$ ) foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

### 2.2. Métodos

#### 2.2.1 Preparo das amostras de cagaita

Os frutos maduros de cagaita foram coletados em 2016 na cidade de Sete Lagoas/MG (Latitude 19° 27' 57" e Longitude 44° 14' 48"). Após a etapa de higienização, as sementes das amostras foram descartadas e a polpa homogeneizada utilizando-se um mixer, sendo, posteriormente, armazenada em freezer a -18 °C até o momento das análises.

#### 2.2.2 Extração dos compostos voláteis

A extração dos COVs foi realizada conforme método descrito por Belo *et al.* (2013), utilizando a HS-SPME. Para isso, 2,0 g de polpa de cagaita foram transferidos para fracos de 20 mL, os quais foram fechados com lacre de alumínio e septo de borracha. Em seguida, os fracos foram colocados em blocos de alumínio e as fibras inseridas nos mesmos para a adsorção das substâncias voláteis. As condições de extração foram estabelecidas por meio de um Delineamento Experimental conforme descrito por Rodrigues e Iemma (2014).

#### 2.2.3 Delineamento Experimental

Visando investigar a melhor condição de extração dos COVs das amostras, utilizou-se como variáveis dependentes o tempo de extração ( $x_1$ ), a temperatura de extração ( $x_2$ ) e a agitação ( $x_3$ ). Para tal, realizou-se um planejamento fatorial  $2^3$  com triplicada do ponto central, conforme apresentado na Tabela 1. O número de substâncias voláteis isoladas por cada ensaio foi utilizado como resposta para os parâmetros avaliados.

**Tabela 1** – Parâmetros utilizados no planejamento fatorial para otimização das condições de HS-SPME dos COVs da cagaita.

Variáveis	Níveis de variação		
	-1	0	+1
Tempo de extração (min)	20	30	40
Temperatura de extração (°C)	25	45	65
Agitação (rpm)	0	50	100

Após a adsorção dos COVs pela HS-SPME conforme os ensaios do delineamento experimental, as fibras foram introduzidas no injetor do cromatógrafo gasoso para a partição e identificação das substâncias extraídas.

#### 2.2.4 Identificação dos compostos voláteis

A identificação dos COVs foi realizada no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química – UFMG, utilizando um cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra) acoplado a um espectrômetro de massas (Polaris Q) da Thermo Scientific (San Jose, CA), com analisador do tipo “*ion-trap*”, com injetor *split/splitless*, no modo *splitless*. A análise cromatográfica foi realizada conforme procedimento descrito por Belo *et al.* (2013). Para tal, utilizou-se as seguintes condições: temperatura do injetor de 250 °C, dessorção de 5 min, temperatura da fonte de íons de 200 °C e temperatura da interface de 275 °C. O hélio foi usado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup> e os COVs foram separados utilizando uma coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano), 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent Technologies INC, Alemanha). O aquecimento inicial da coluna foi de 40 °C por 5 min, tendo aumentado 2,5 °C min<sup>-1</sup> até 125 °C e, posteriormente, 10 °C min<sup>-1</sup> até 245 °C 3 min<sup>-1</sup>. A aquisição dos dados ocorreu no modo *Full Scan* com faixa de 50 a 350 *m/z*, obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), o qual usou uma energia de 70 eV. Os espectros dos COVs foram identificados de acordo com seu perfil de fragmentação, o qual foi comparado com os espectros de massas da Biblioteca National Institute of Standards and Technology (NIST) e com os compostos já relatados na literatura.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

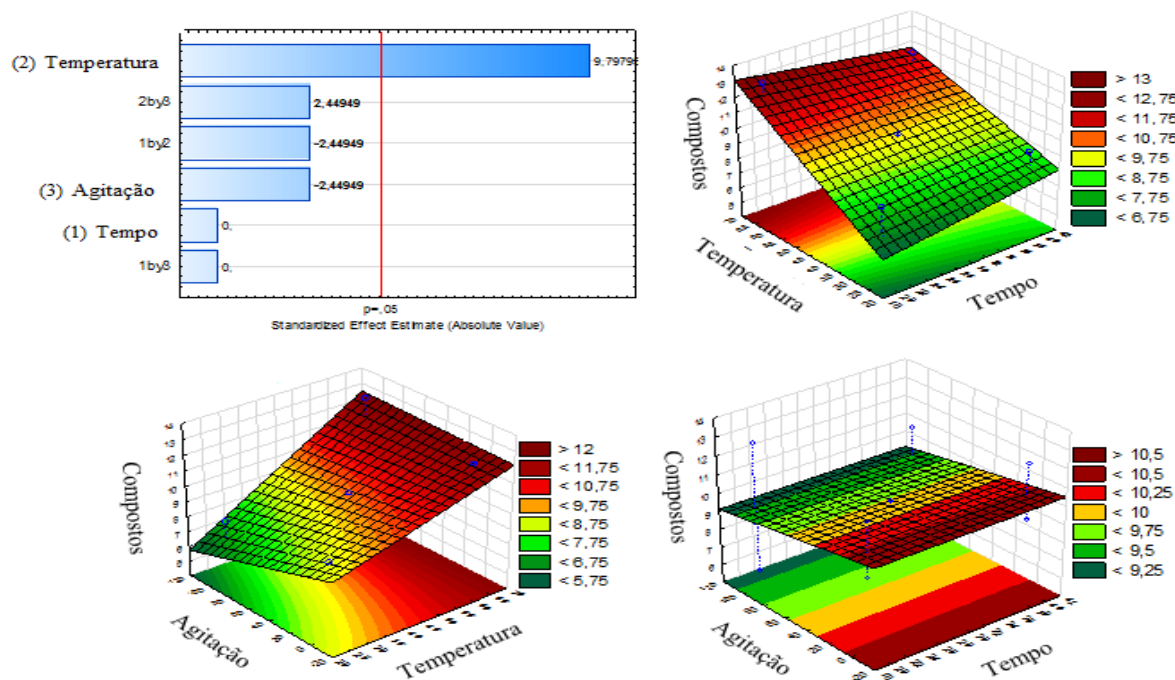
Na Tabela 2 está apresentado o número de COVs identificados em função dos parâmetros estudados no delineamento experimental proposto. Observa-se uma grande variação do número de COVs extraídos (6 a 13), sendo que a melhor condição de isolamento das substâncias voláteis foi obtida empregando-se uma agitação de 100 rpm, temperatura de 65 °C e tempo de extração de 20 min (ensaio 7). Por meio desses resultados, evidencia-se a importância do estudo das condições de adsorção que podem ser empregadas na HS-SPME, visando uma identificação mais completa das substâncias voláteis presentes na matriz.

**Tabela 2** - Número de COVs identificados em amostras de cagaita empregando a fibra CAR/PDMS.

Ensaio	Parâmetros			Resposta
	Tempo de extração (min)	Temperatura de extração (°C)	Agitação (rpm)	Nº de compostos identificados
1	20	25	0	9
2	40	25	0	9
3	20	65	0	12
4	40	65	0	12
5	20	25	100	6
6	40	25	100	8
7	20	65	100	13
8	40	65	100	11
9 <sup>a</sup>	30	45	50	8
10 <sup>a</sup>	30	45	50	7
11 <sup>a</sup>	30	45	50	9

Em relação aos COVs majoritários na cagaita, presentes nas melhores condições de extração, observou-se um predomínio de monoterpênicos (47,05%) seguido de ésteres (14,09%).

Na Figura 1 está apresentado o efeito da temperatura, agitação e tempo de extração sobre o isolamento de compostos voláteis da cagaita.



**Figura 1** – Efeito da temperatura, agitação e tempo de extração sobre o número de COVs isolados.

O efeito da agitação, do tempo e da temperatura de extração foi avaliado objetivando a otimização das condições de extração para propiciar a identificação de um número maior de COVs.

Desta forma, constata-se por meio da Figura 1 que o emprego de temperaturas mais elevadas promoveu um efeito significativo na extração dos compostos voláteis, uma vez que possibilitou a identificação de um número maior de substâncias voláteis. Por outro lado, a agitação e o tempo de extração não apresentaram efeito sobre a eficiência da extração de COVs.

Considerando que nenhum trabalho foi encontrado na literatura avaliando o efeito da temperatura e do tempo de extração da HS-SPME sobre os COVs em frutos do cerrado, os resultados aqui obtidos foram comparados com os relatados com amostras de uvas, o qual foi o único estudo encontrado que avaliou esse parâmetro. Assim, Sanchez-Palomo *et al.* (2005), avaliando a condição ótima de extração ao empregar a fibra CAR/DVB/PDMS em temperaturas de 40 a 70 °C e tempos de 10 a 50 min., observaram que os melhores resultados, resultantes da soma dos picos dos compostos aromáticos identificados, foram obtidos a 70 °C por 20 min.

Salienta-se, ainda, que não foram encontrados estudos na literatura abordando o efeito da agitação sobre a eficiência da extração de COVs.

#### 4. CONCLUSÕES

A HS-SPME acoplada à CG/MS mostrou-se eficiente para a extração e identificação dos COVs presentes em frutos de cagaitas, permitindo a identificação de 13 compostos voláteis, sendo a maior parte destes monoterpenos (47,05%) e ésteres (14,09%). O emprego de temperaturas mais altas propiciou a extração de um número maior de substâncias voláteis, enquanto o tempo e a agitação não apresentaram efeito significativo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPEMIG, PRPQ/UFMG, CAPES, CNPq pelo suporte financeiro.

#### 5. REFERÊNCIAS

- Belo, R.F.C., Augusti, R., Lopes, P.S.N., & Junqueira, R.G. (2013). Characterization and classification of pequi trees (*Caryocar brasiliense* Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry and multivariate analysis. *Food Science and Technology*, 33(1), 116-124.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. (2017). *O Bioma Cerrado*. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>>. Acesso em: 23 dez. 2017.
- Cardoso, L. M., Martino, H. S. D., Moreira, A. V. B., Ribeiro, S. M. R., & Pinheiro-Sant'ana, H. M. (2011). Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. *Food Research International*, 44, 2151-2154.
- Jiang, Y., & Song, J. (2010). Fruits and Fruit Flavor: *Classification and biological characterization*. In: HUI, Y. H. *Handbook of fruit and vegetable flavors*. New Jersey: John Wiley & Sons, 3-23.
- Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880, 35-62.
- Ribeiro, E. M. G., Carvalho, L. M. J., Ortiz, G. M. D., Cardoso, F. S. N., Viana, D. S., Carvalho, J. L. V., Gomes, P. B., & Tebaldi, N. M. (2013). An overview on cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) macro and micro

components and a technological approach. In: Muzzalupo, I. *Food Industry*. Rijeka: Viktorija Zgela, 3-22.

Sanchez-Palomo, E., Díaz-Maroto, C., & Pérez-Coelho, M. S. (2005). Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. *Talanta*, 66, 1152-1157.