

SILVIA JULIANE VENTURA

**COMPOSTOS VOLÁTEIS EM FRUTOS DE COQUINHO-AZEDO (*BUTIA
CAPITATA*) DETERMINADOS POR *HEADSPACE* E CG-EM**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof. Flaviano Oliveira Silvério

Coorientadora: Prof^a. Gevany Paulino de Pinho

Montes Claros
2012

V468c
2012

Ventura, Silvia Juliane.
Compostos voláteis em frutos de coquinho-azedo (*Butia Capitata*) determinados por *headspace* e CG-Em / Silvia Juliane Ventura. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2012.

59 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, 2012.

Orientador: Prof. Flaviano Oliveira Silvério
Coorientadora: Prof^a. Gevany Paulino de Pinho

Banca examinadora: Paulo Henrique Fidêncio, Paulo Sergio Nascimento Lopes, Charles Martins Aguiar, Gevany Paulino Pinho, Flaviano Oliveira Silvério

Inclui bibliografia: f. 52-59

1. Fruticultura – Química. 2. Coquinho-azedo – Compostos voláteis. I. Silvério, Flaviano Oliveira. II. Pinho, Gevany Paulino de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 574

SILVIA JULIANE VENTURA

**COMPOSTOS VOLÁTEIS EM FRUTOS DE COQUINHO-AZEDO (*BUTIA
CAPITATA*) DETERMINADOS POR *HEADSPACE* E CG-EM**

Prof. Paulo Henrique Fidêncio
(UFVJM)

Prof. Paulo Sergio Nascimento Lopes
(ICA- UFMG)

Prof. Charles Martins Aguiar
(ICA- UFMG)

Prof^a. Gevany Paulino de Pinho
(Coorientadora - ICA-UFMG)

Prof. Flaviano Oliveira Silvério
(Orientador- ICA-UFMG)

Aprovada em 07 de dezembro de 2012

Montes Claros

2012

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todas as graças e bênçãos.

A minha família, principalmente a Wesley, pelo apoio carinho e contribuições;

Aos meus orientadores, Professor Flaviano e Professora Gevany, pela disponibilidade para me orientar, pelo apoio, incentivo e ensinamentos;

A Maria Clara, pessoa fundamental na elaboração deste trabalho, e demais alunos e funcionários do Laboratório de química;

Aos meus colegas Norma e Xisto pelo companheirismo e apoio;

À Universidade Federal de Minas Gerais, Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais -FAPEMIG, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPEs, pelo apoio financeiro.

RESUMO

Dentre as frutíferas nativas do Cerrado, o coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart) Becc) se destaca pela sua importância socioeconômica, principalmente junto às comunidades carentes do Norte de Minas Gerais, pois os seus frutos são uma importante fonte de alimento e de geração de renda. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar aspectos ligados aos compostos voláteis dos frutos de coquinho-azedo, e otimizar a técnica de *headspace* em que compostos voláteis foram isolados sendo otimizados os seguintes parâmetros: massa da amostra, temperatura de homogeneização, força iônica, tempo de equilíbrio e efeito do vácuo. A separação e identificação das substâncias foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Além disso, investigou-se o efeito de quatro estádios de maturação e da maturação pós-colheita em duas condições controladas de armazenamento sobre a composição química do fruto (dimensões, massa, sólidos solúveis, acidez titulável, umidade e compostos voláteis). Frutos totalmente maduros proporcionaram a extração de 13 compostos e com a maturação pós-colheita ocorreu a extração do decanoato de metila e decanoato de etila. Foram identificados 20 compostos nas condições ótimas de extração (2,00 g de amostra e 2,00 mL de solução de NaCl a 15% (m/v), mantendo-se o sistema a 75°C por cinco minutos sob agitação de 500 rpm). As principais classes de substâncias orgânicas identificadas foram ésteres (85%), aldeídos (5%), cetonas (5%) e hidrocarbonetos (5%). Os ésteres hexanoato de etila e butanoato de etila foram os compostos predominantemente encontrados, indicando sua intensa relação com o *flavor* característico deste fruto.

Palavras-chave: *Headspace*. *Butia capitata*. CG-EM. Compostos voláteis.

ABSTRACT

Amongst the native fruit from the Brazilian Savanna, the 'coquinho-azedo' (*Butia capitata* (Mart) Becc) is outstood because its social and economical importance mainly for the disadvantaged community from the North of Minas Gerais, since its fruits are important food source and income. This study aimed to evaluate the aspects concerning to volatile compounds of 'coquinho-azedo' (*Butia capitata*), and optimizing the headspace technique in which volatile compounds were isolated being optimized the following parameters: sample weight, homogenization temperature, ionic strength, equilibrium time and reduced pressure effect. Separation and identification of substances were performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Besides that it was investigated the effect of four maturity stages and post-harvest ripening in two controlled conditions of storage on the chemical composition of the fruit (size, weight, soluble solids, titratable acidity, moisture and volatile compounds). Fully ripe fruit provided the extraction of 13 compounds and with the post-harvest ripening there was the extraction of methyl decanoate and ethyl decanoate. They were identified 20 compounds in optimum conditions for extraction (2.00 g of sample and 2.00 mL of 15% NaCl (w / v), keeping the system at 75°C for five minutes under agitation of 500 rpm). The main classes of identified organic substances were esters (85%), aldehydes (5%), ketones (5%) and hydrocarbons (5%). The ethyl hexanoate and ethyl butanoate esters were the compounds predominantly found, indicating their intense relationship with the characteristic flavor of that fruit

Keywords: Headspace. *Butia capitata*. GC-MS. Volatiles compounds.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1 - Representação da árvore do coquinho-azedo (*B. capitata* (Mart.) Becc) (A). Ráquila com fruto (B)..... 15
- Figura 2 - Representação do esquema de *Headspace*..... 19

CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE COQUINHO-AZEDO (*BUTIA CAPITATA*) POR *HEADSPACE* E CG-EM

- Gráfico 1 Expansões representativas dos cromatogramas dos sete compostos identificados nas temperaturas de 30, 50 e 75°C. Os números dos picos referem-se aos compostos: 1) butanoato de metila; 2) butanoato de etila; 3) hexanoato de metila; 4) hexanoato de etila; 5) butanoato de pent-4-enila; 6) octanoato de etila; 7) canfeno..... 34
- Gráfico 2 Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se solução de NaCl nas concentrações de 15% e 30% (m/v) e sem adição de NaCl (0%)..... 36
- Gráfico 3 Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se 5, 20, 40 e 60 minutos de tempos de equilíbrio de extração..... 38
- Gráfico 4 Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM em sistema sob pressão reduzida..... 40

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

- 1 - Enquadramento taxonômico do *Butia capitata* (Mart.) Becc..... 13

CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE COQUINHO-AZEDO (*BUTIA CAPITATA*) POR *HEADSPACE* E CG-EM

- 1 - Otimização univariada da extração dos compostos voláteis do coquinho-azedo por *headspace* 27
- 2 - Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se cinco massas de coquinho-azedo..... 32
- 3 - Parâmetros físico-químicos avaliados para quatro estádios de maturação e para o tempo de armazenamento..... 42
- 4 - Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM utilizando-se frutos 0, 25, 50 e 100% maduros e em função do tempo de armazenamento..... 43
- 5 - Principais compostos voláteis identificados na polpa de coquinho-azedo utilizando-se as condições otimizadas de extração..... 48

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 OBJETIVOS.....	12
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
3.1 Aspectos Botânicos do coquinho-azedo (<i>Butia capitata</i> (Mart.) Becc...)	13
3.2 Compostos voláteis do coquinho-azedo.....	16
3.3 Extração dos compostos voláteis	17
3.4 Extração por Headspace.....	18
3.5 Métodos cromatográficos aplicados à caracterização química.....	20
CAPÍTULO 2- DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE COQUINHO-AZEDO (<i>BUTIA CAPITATA</i>) POR HEADSPACE E CG-EM.....	22
RESUMO.....	22
ABSTRACT.....	23
1 INTRODUÇÃO.....	24
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
2.1 Amostras.....	26
2.1.1 Otimização do isolamento dos compostos voláteis.....	26
2.1.2 Estudo da maturação.....	28
2.1.3 Análises por cromatografia gasosa.....	28
2.1.4 Análise estatística.....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.1 Otimização dos parâmetros de extração por headspace.....	30
3.2 Massa da amostra.....	30
3.3 Temperatura de extração.....	33

3.4 Força iônica.....	35
3.5 Tempo de equilíbrio de extração.....	37
3.4 Efeito da pressão reduzida.....	39
3.5 Estudo do efeito da maturação.....	40
3.6 Caracterização do perfil aromático do coquinho-azedo.....	48
4 CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

CAPÍTULO 1- REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é a maior formação de savana neotropical na América e o segundo maior ecossistema do Brasil, que se estende por 200 milhões de hectares, ocupando cerca de 20% do território nacional, possuindo uma grande diversidade de flora e fauna (AGUIAR; CAMARGO, 2004; BATTLE-BAYER; BATJES.; BINDRABAN, 2010). Nesse bioma se destaca o coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc), espécie pertencente à família Arecaceae, que possui ampla distribuição nos trópicos, ocorrendo também de maneira restrita em áreas subtropicais e áreas de clima temperado (LORENZI *et al.*, 2010). A família Arecaceae possui cerca de 2.361 espécies descritas em 189 gêneros, dentre esses 288 espécies foram catalogadas (ANGIOSPERM, 2012; LORENZI *et al.*, 2010). Sua ocorrência abrange todo o cerrado brasileiro, com distribuição nos Estados da Bahia, Goiás e Minas Gerais (FARIA *et al.*, 2008; SGANZERLA, 2010; LORENZI *et al.*, 2010).

O gênero *Butia* (Becc). (Becc) está inserido na subfamília Arecoideae, tribo Cocoeae e subtribo Butiinae. *B. capitata* é uma planta monoica, com caule ereto ou inclinado do tipo estipe solitário, folhas pinadas e arqueadas de coloração verde-acinzentada e folíolos lineares de ápice acuminado. Com relação à estatura dessa planta, estudos relatam que no norte de Minas Gerais a altura varia entre 1,10 a 1,99 m (HENDERSON; GALEANO; BERNAL, 1995; LORENZI, 2004; FONSECA; MERCADANTE-SIMÕES, 2006; SILVA., 2008; LORENZI *et al.*, 2010).

De acordo com Buttow *et al.* (2009), as características sensoriais dos frutos descrevem-se como sendo doce-acidulados, suculentos e com sabor e aroma intenso. Devido a essas características, o coquinho-azedo é amplamente utilizado pela população dos cerrados, devendo-se isso ao seu

valor alimentício, medicinal, melífero, ornamental, oleaginoso e tanífero (FERNANDES, 2008).

Nesse sentido, pesquisas que envolvam análises dos compostos voláteis são importantes, pois contribuem para a inclusão dessa espécie em um programa de desenvolvimento sustentável. Além da utilização tradicional, a *B. capitata* tem sido alvo de pesquisas com a finalidade de conhecer suas peculiaridades, já que ocupa merecido destaque por apresentar características sensoriais típicas e ser considerada promissora para a aplicação no setor industrial alimentício funcional (FARIA *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2010; NUNES *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2012).

Devido ao aroma intenso e peculiar e à importância socioeconômica do coquinho-azedo, pesquisadores têm buscado estudar as características etnobotânicas, genéticas, morfológicas, físico-químicas e sobre o perfil de compostos voláteis. Contudo, para o gênero *Butia* o perfil destes compostos voláteis apenas foi descrito na literatura para a espécie *B. odorata* (SILVA *et al.*, 2008; FARIA *et al.*, 2011; FERRÃO 2012).

Adicionalmente, esforços e recursos são necessários para analisar e divulgar dados sobre a composição química de alimentos silvestres, dentre os quais o coquinho-azedo (*B. capitata*), subutilizados e menos apreciados na biodiversidade alimentar, uma vez que estes podem se apresentar superiores no que diz respeito à qualidade nutricional. A disponibilidade desses dados ajudará a promoverem espécies e variedades regionais, valorizando e preservando os ecossistemas que os produzem (BURLINGAME; CHARRONDIERE; MOUILLE, 2009).

2 OBJETIVOS

Otimizar as condições de extração por *headspace* dos compostos voláteis em amostras de coquinho-azedo (*B. capitata*).

Determinar, semiquantitativa e qualitativamente, a composição dos compostos voláteis extraídos por *headspace* e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), de frutos de coquinho-azedo em diferentes estádios de maturação e armazenamento.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos Botânicos do coquinho-azedo (*Butia captata* (Mart.) Becc

O enquadramento taxonômico do coquinho-azedo está apresentado na TAB. 1. A família Arecaceae possui distribuição pantropical, incluindo cerca de 200 gêneros e 2000 espécies. No Brasil ocorrem 43 gêneros e cerca de 200 espécies. Nessa família existe um grande número de espécies de importância econômica ambiental e ornamental, muito utilizadas em regiões tropicais, fornecendo produtos como cocos, óleo, cera, fibras e material para a construção de habitações rústicas com as folhas e estipes (SOUZA; LORENZI; ROCHA NETO, 2008). No Brasil, as palmeiras estão presentes em todas as formações vegetais, destacando-se espécies nativas como açai (*Euterpe oleraceae*), pupunha (*Bactris gasipaes*), carnaúba (*Corpernicia prinifera*), buriti (*Mauritia flexuosa*), macaúba (*Acrocomia aculeata*), butiá (*Butia olerata*) e coquinho-azedo (*Butia captata*) que é nativa dos cerrados e considerada uma espécie característica desse tipo de vegetação.

TABELA 1
Enquadramento taxonômico do *Butia captata* (Mart.) Becc

DIVISÃO	Magnoliophyta
CLASSE	Liliopsida
ORDEM	Arecales
FAMÍLIA	Arecaceae
GÊNERO	<i>Butia</i>
ESPÉCIE	<i>Butia captata</i> (Mart.) Becc

Fonte: Cronquist (1987)

Botanicamente, *B. capitata* (Mart.) Becc se caracteriza como uma espécie arbórea (FIG.1), possui caule do tipo estipe simples monopodia, que alcança até quatro metros de altura e uma gema apical envolta por bainhas (LIMA *et al.*, 2003; LIMA; SILVA; SCARIOT , 2010). As folhas são do tipo pinadas e arqueadas com folíolos compridos, estreitos, lanceolados e alternos. Apresenta pecíolo longo, com inflorescências do tipo paniculadas, formadas pelo pedúnculo (ráquis), espigas (ráquias) e flores amarelas, protegidas por brácteas que se abrem naturalmente (LIMA *et al.*, 2003).

Na mesma ráquila encontram-se flores unissexuadas, com maior ocorrência de flores femininas no terço inicial das ráquias, enquanto no restante dessa predominam as masculinas. O fruto é do tipo drupa oval e comestível, formado por epicarpo amarelado ou avermelhado, mesocarpo carnoso e fibroso e endocarpo duro e denso, contendo de uma a três sementes (LIMA *et al.*, 2003; LORENZI *et al.*, 2010). O coquinho-azedo apresenta também o fenômeno da protandria, o qual consiste na baixa ocorrência de sincronia das fenofases masculinas e femininas de uma mesma inflorescência, como observado por Fonseca e Mercadante-Simões (2006), contribuindo para uma polinização xenogâmica nessa espécie.

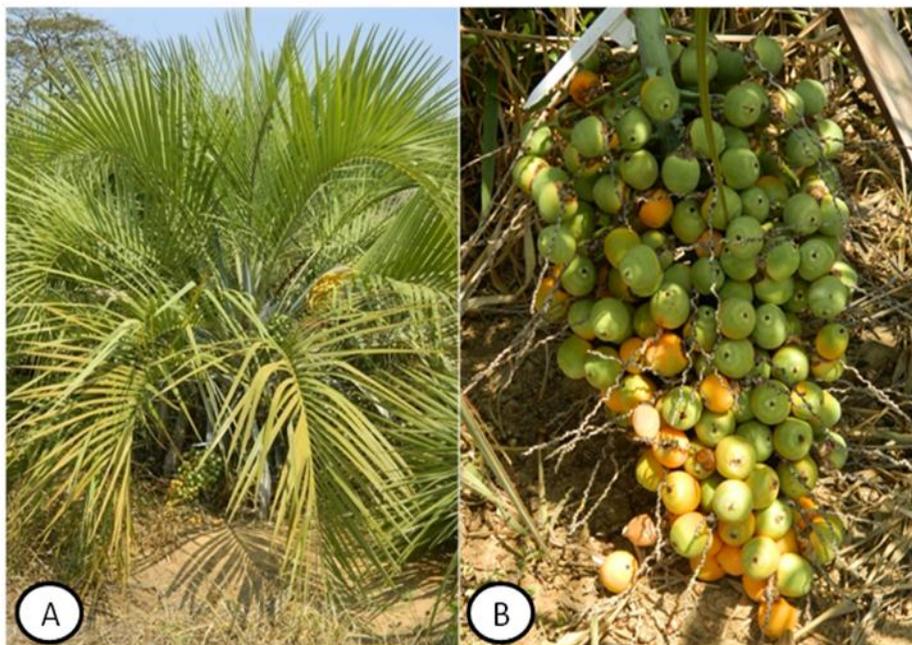


FIGURA 1 - Representação da árvore do coquinho-azedo (*B. capitata* (Mart.) Becc) (A). Ráquila com fruto (B).

Fonte: Da autora.

O coquinho-azedo é uma palmeira endêmica do Cerrado, sendo encontrada nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (LORENZI *et al.* 2010). Ocorre em grupos ou isoladamente e preferencialmente em solos com pH mais elevado, de maior fertilidade e margeando córregos e rios, coincidindo com as áreas de produção agrícola. Isso contrasta com o local de ocorrência de uma boa parte das frutíferas nativas do Cerrado, como a cagaiteira, o pequizeiro, o cajuí, o araticunzeiro e a mangabeira, que predominam em solos mais distróficos (SOUZA; LORENZI; ROCHA NETO, 2008; MARTINS, 2003).

O período de floração do *B. capitata* é de março a setembro, e produz frutos durante o período de outubro a janeiro, embora possam ser encontrados frutos a partir de junho (LIMA; SILVA; SCARIOT, 2010). Em média, cada planta de coquinho-azedo produz três cachos por ano, o que pode variar de 1 a 15 cachos a cada ano, sendo que cada cacho tem em

média 178 frutos, mas pode variar de 18 a 555 frutos. Uma árvore de coquinho-azedo produz cerca de 4 kg de frutos do tipo drupa por ano, podendo variar de 1,3 a 20 kg por ano. A polpa rende 80% do peso dos frutos. Essa polpa apresenta um grande valor nutritivo, pois é rica em vitaminas A e C, potássio e óleos (ALMEIDA; AGOSTINI-COSTA, 1998).

3.2 Compostos voláteis do coquinho-azedo

O cerrado brasileiro apresenta clima quente, semiárido e notadamente sazonal, com verão chuvoso, inverno seco e solos pobres, antigos e profundos (VIADANA, 2005). É um bioma rico em biodiversidade, a vegetação é composta de espécies que são utilizadas secularmente pelas comunidades tradicionais com finalidades terapêuticas, alimentares dentre outras.

As espécies do Cerrado mais utilizadas para comercialização dos frutos (polpa) são a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), mangaba (*Hancornia speciosa* Gomez), maracujá nativo (*Passiflora* sp.), panã (*Annona crassiflora* Mart.), pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.)). Dentre essas, destaca-se o coquinho-azedo (*B. capitata*) em que seus frutos são amplamente utilizados pelas populações do Cerrado devido ao seu valor alimentício (LIMA; SILVA; SCARIOT, 2010). O flavor característico e pungente dos frutos do *B. capitata* propicia o emprego do mesmo como condimento na gastronomia regional. Do beneficiamento de sua polpa derivam-se produtos como sorvetes, doces, conservas, licores, óleo, entre outros (LOPES *et al.*, 2012).

O flavor presente em alimentos, tais como as frutas, é um dos principais atributos para análise sensorial e aceitação destes por parte do consumidor. De maneira geral, essa propriedade é conferida pela combinação das moléculas voláteis, presentes no fruto. Portanto, é inquestionável a importância da determinação da composição química dos compostos em frutos do *B. capitata*, uma vez que essas informações contribuem para a sua identidade e caracterização (WANG; YANG; LI, 2009).

Estudos anteriores já revelaram a composição química dos compostos voláteis da *B. odorata* (SILVA *et al.*, 2008; FARIA *et al.*, 2011; FERRÃO 2012). Nesses trabalhos foi verificada a presença do composto hexanoato de etila como componente majoritário. Entretanto, o teor e a composição química dos compostos voláteis de uma mesma espécie vegetal podem variar significativamente em qualidade e quantidade de acordo com as diferenças geográficas, em função do clima, da composição do solo, fase do ciclo vegetativo, sazonalidade, entre outros (WANG; YANG; LI, 2009; SOUSA GALVÃO *et al.*, 2011).

Além dessas características já citadas, os frutos do cerrado apresentam aroma extremamente peculiar; no entanto, trabalhos direcionados às características sensoriais com foco à identificação dos compostos voláteis do coquinho-azedo ainda são escassos. Pesquisas relacionadas a essas características químicas constituem importante ferramenta para avaliação da composição nutricional e auxílio no desenvolvimento de novos produtos principalmente de frutos do cerrado que possuem grande potencial comercial (ALMEIDA; AGOSTINI-COSTA, 1998; SILVA *et al.*, 2008).

3.3 Extração dos compostos voláteis

Poucos estudos têm sido realizados para determinar as características sensoriais do coquinho-azedo, especialmente no que se refere às propriedades aromáticas desse fruto. De forma geral, os frutos e derivados apresentam composição bastante complexa de constituintes voláteis, em que uma fração desses compostos está envolvida diretamente na qualidade do aroma e sabor das frutas. O conhecimento da composição destes constituintes voláteis permite selecionar os compostos importantes para descrever a qualidade de um determinado fruto. Pesquisas com este enfoque são importantes, visto que podem auxiliar na seleção de cultivares, no manejo pré e pós-colheita e no beneficiamento de frutas (WANG; YANG; LI, 2009; DAMIANI *et al.*, 2009; WELDEGERGIS *et al.*, 2011; SOUSA GALVÃO *et al.*, 2011).

A pesquisa de compostos voláteis se inicia com uma etapa de isolamento e concentração da fração volátil através de um método de extração, para então ser analisada por técnica de cromatografia gasosa, onde ocorre a separação, a quantificação e a identificação dos analitos. Na pesquisa com compostos voláteis é importante que haja o isolamento das substâncias voláteis da matriz com a intenção de extinguir interferências ajustando também a concentração.

Alguns trabalhos têm abordado o desenvolvimento de métodos de extração de compostos voláteis em alimentos (ROMEU- NADAL; CASTELLOTE; LÓPEZ-SABATER, 2004). Dentre as técnicas aplicadas para análise desses compostos, pode-se destacar a extração por *headspace* (HS) da amostra, que abrange a análise das substâncias presentes na fase gasosa em equilíbrio com a amostra. Outras técnicas empregadas são a extração líquido-líquido, extração em fase sólida e extração por arraste a vapor. Essas técnicas apresentam grande aplicabilidade, todavia também estão associadas ao elevado consumo de solventes, perda de componentes voláteis por degradação, efeito de matriz e extração de interferentes (REINECCIUS, 2006).

3.4 Extração por Headspace

Desenvolvida na década de 1970, a técnica se baseia na extração de substâncias voláteis de diversas matrizes empregando-se um sistema fechado (*vial*) que poderá ser aquecido, quando uma alíquota do vapor presente no sistema é removida e introduzida em um cromatógrafo a gás (SOARES *et al.*, 2007). Esta técnica é conhecida por extração por *headspace*, e se caracteriza por ser mais empregada para analisar compostos voláteis em baixas concentrações (ZELLNER *et al.*, 2008). Nesta técnica, o analito é, necessariamente, mais volátil que a matriz, sendo volatilizado preferencialmente, podendo ser determinado sem os interferentes dos outros componentes da matriz, através da análise do vapor desprendido da amostra (FOURMENTIN *et al.*, 2007; FREIRE *et al.*, 2008). Esse processo

permite que compostos não voláteis não entrem no sistema cromatográfico, não permitindo a contaminação de injetores, coluna e detectores com essas substâncias não desejadas e, conseqüentemente, a análise se torna mais limpa (MATA, 2004; HELENO *et al.*, 2010).

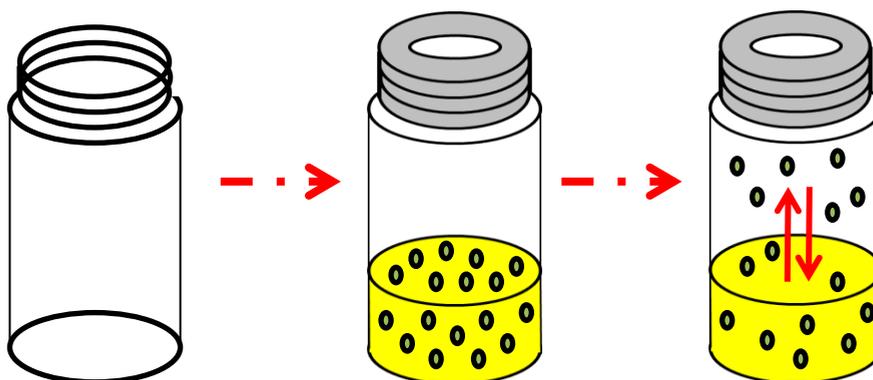


FIGURA 2 - Representação do esquema de *Headspace*.

Fonte: Da autora.

A principal característica desta técnica é a possibilidade da determinação direta de componentes voláteis da amostra, uma vez que a introdução da amostra no cromatógrafo a gás ocorre sem pré-tratamento ou com reduzido manuseio da amostra (SOARES *et al.*, 2007). Além disso, a extração por *headspace* apresenta outras vantagens em relação aos métodos que utilizam solventes, com destaque à reduzida massa para extração (VARMING; PETERSEN; POLL, 2004; KAFKAS *et al.* 2005, HELENO *et al.*, 2010).

As variações mais conhecidas desta técnica incluem o método do *headspace* estático e o método do *headspace* dinâmico (*purge-and-trap*) (HELENO *et al.*, 2010). No método estático, a amostra é armazenada e selada em frasco (*vial*) hermético e os analitos voláteis são coletados no espaço vazio do *vial* (ou *headspace* do frasco) após equilíbrio de volatilização (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). Já no método dinâmico, um fluxo de gás inerte, normalmente hélio ou nitrogênio, é borbulhado na amostra e os

analitos voláteis são transferidos para uma armadilha de compostos, denominada *trap*, para coleta e posterior análise cromatográfica (ZELLNER *et al.*, 2008). O *trap* é aquecido e os componentes voláteis são dessorvidos e liberados e, posteriormente, transferidos para o cromatógrafo a gás. Tanto técnicas de *headspace* estático como *headspace* dinâmico têm sido empregadas para transferência de componentes voláteis de matrizes complexas para a fase gasosa. Para essas técnicas, a recuperação dos compostos voláteis depende de fatores tais como a temperatura de dessorção dos analitos, temperatura de amostragem, tempo de equilíbrio da extração, força iônica da fase extratora, dentre outros (BRUNETTO *et al.*, 2009).

3.5 Métodos cromatográficos aplicados à caracterização química

As técnicas de separação, como cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e eletroforese capilar (EC) têm recebido destaque na química analítica por apresentar análises qualitativas e quantitativas em amostras ambientais, farmacêuticas, biológicas e em alimentos (RIBANI, 2004). Para a pesquisa de compostos voláteis, o método analítico mais apropriado é a cromatografia gasosa (CG) por apresentar excelente resolução e alta sensibilidade (REINECCIUS, 2006).

Para a utilização da cromatografia gasosa é preciso que haja a separação dos compostos que segue o princípio da diferença de migração das substâncias entre a fase estacionária, sólida ou líquida, e uma fase móvel gasosa. O processo de separação em CG baseia-se na introdução da amostra no injetor aquecido onde é volatilizada e carregada por um gás de arraste, através de uma coluna capilar, local onde ocorre a separação dos compostos (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). A coluna contém fase estacionária e está no interior de um forno cromatográfico com controle de aquecimento. À medida que elui da coluna, a substância é recebida em um detector gerando um sinal que é registrado em forma de pico cujo conjunto

dá origem ao cromatograma da amostra (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Para que a pesquisa utilizando CG seja realizada de maneira adequada, é necessário que se escolha condições cromatográficas de forma criteriosa uma vez que se deve avaliar as peculiaridades de cada amostra e prover as necessidades específicas do estudo. Outro aspecto importante está relacionado ao detector que será utilizado, onde é levado em consideração o tipo de resultado que se deseja (qualitativo ou quantitativo) e o tipo de analito que se quer analisar, podendo o detector ser específico para um determinado composto ou englobar um maior número de substâncias.

O espectrômetro de massas (EM) acoplado a um cromatógrafo a gás atua como detector universal, sendo amplamente utilizado na pesquisa qualitativa de voláteis como a mais importante ferramenta de identificação desses compostos. Além disso, o espectrômetro de massas possui a opção de escolha entre o modo operacional de varredura (*SCAN*) que coleta espectros para todos os compostos eluídos da coluna, e o sistema operacional em modo SIM, que possibilita o aumento da sensibilidade e especificidade da análise quando o composto a ser determinado já é conhecido (REID, 2003).

CAPÍTULO 2- DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AMOSTRAS DE COQUINHO-AZEDO (*BUTIA CAPITATA*) POR HEADSPACE E CG-EM

RESUMO

Neste trabalho, compostos voláteis do coquinho-azedo (*Butia capitata*) foram isolados pela técnica de *headspace*. Otimizaram-se os seguintes parâmetros: massa da amostra, temperatura de homogeneização, força iônica, tempo de equilíbrio e efeito da pressão reduzida. A separação e identificação das substâncias foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Também se investigou o efeito de quatro estádios de maturação e do tempo de armazenamento sobre a composição química do fruto (dimensões, massa, sólidos solúveis, acidez titulável, umidade e compostos voláteis). Frutos totalmente maduros proporcionaram a extração de 13 compostos e com o armazenamento ocorreu a extração dos compostos decanoato de metila e decanoato de etila. Foram identificados 20 compostos nas condições ótimas de extração (2,00 g de amostra e 2,00 mL de solução de NaCl a 15% (m/v), mantendo-se o sistema a 75°C por cinco minutos sob agitação de 500 rpm). As principais classes de substâncias orgânicas identificadas foram ésteres (85%), aldeídos (5%), cetonas (5%) e hidrocarbonetos (5%). Os ésteres hexanoato de etila e butanoato de etila foram os compostos predominantemente encontrados, indicando sua intensa relação com o *flavor* característico desse fruto.

Palavras-chaves: *Headspace*. *Butia capitata*. CG-EM. Compostos voláteis.

CHAPTER 2 - DETERMINATION OF VOLATILE COMPOUNDS IN SAMPLES OF 'COQUINHO-AZEDO' (*BUTIA CAPITATA*) BY HEADSPACE AND GC-MS

ABSTRACT

In this study, volatile compounds of 'coquinho-azedo' (*Butia capitata*) were isolated by headspace technique. They were optimized the following parameters: sample weight, homogenization temperature, ionic strength, equilibrium time and reduced pressure effect. Separation and identification of substances were performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. It was also investigated the effect of four maturity stages and the storage time on the chemical composition of the fruit (size, weight, soluble solids, titratable acidity, moisture and volatile compounds). Fully ripe fruit provided the extraction of 13 compounds and with the storage there was the extraction of methyl decanoate and ethyl decanoate. They were identified 20 compounds in optimum conditions for extraction (2.00 g of sample and 2.00 mL of 15% NaCl (w / v), keeping the system at 75 °C for five minutes under agitation of 500 rpm). The main classes of identified organic substances were esters (85%), aldehydes (5%), ketones (5%) and hydrocarbons (5%). The ethyl hexanoate and ethyl butanoate esters were the compounds predominantly found, indicating their intense relationship with the characteristic flavor of that fruit

Keywords: Headspace. *Butia capitata*. GC-MS. Volatiles compounds.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e apresenta elevada biodiversidade, com destaque para espécies frutíferas nativas e exóticas utilizadas como fonte de renda pela população local (KLINK; MACHADO, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2011; MALTA *et al.*, 2012). Essas espécies podem gerar riqueza para o país com o aproveitamento tecnológico adequado (RAMOS *et al.*, 2008), pois possuem características sensoriais únicas e alta concentração de nutrientes (CARDOSO *et al.*, 2011; SOUZA *et al.* 2012), dentre elas pode-se ressaltar o coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart) Becc.) como frutífera nativa dessa região (FARIA *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2010).

O coquinho-azedo possui fruto com polpa fortemente aromática (FARIA *et al.*, 2011), além de sabor e coloração bastante característicos (LOPES *et al.*, 2012). Frequentemente é encontrado *in natura* ou na forma de produtos processados como sucos, polpas, geleias e sorvetes (NUNES *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2012). Estudos anteriores avaliaram sua composição de carotenoides (FARIA *et al.*, 2011), ácidos graxos (LOPES *et al.*, 2012), minerais, ácido ascórbico e compostos fenólicos (FARIA *et al.*, 2008). O conhecimento destas características químicas constitui importante ferramenta para avaliação da composição nutricional e auxílio no desenvolvimento de novos produtos (SILVA *et al.*, 2008).

A mistura complexa de moléculas voláteis liberadas pelos alimentos está intimamente ligada ao aroma (ZELLNER *et al.*, 2008; RIVAS-CAÑEDO *et al.*, 2011). Este, associado ao gosto, constitui o *flavor*, parâmetro indispensável para determinar a qualidade de um produto (MACHADO *et al.*, 2007), podendo representar sinal de deterioração e/ou contaminação (PROSEN *et al.*, 2010). O teor de compostos voláteis pode variar de acordo com o estágio de maturação, cultivo, região geográfica, clima entre outros (MACORIS *et al.*, 2011) e, geralmente, é encontrado em baixos níveis de concentração (ZELLNER *et al.*, 2008). Apesar da importância já mencionada, estudos sobre estes constituintes no coquinho-azedo são escassos.

Na análise de compostos voláteis, frequentemente utilizam-se etapas de isolamento e concentração para substâncias em quantidades de traços (SÁNCHEZ-PALOMO; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2005). Dentre as técnicas existentes, uma alternativa muito utilizada é a técnica do *headspace* (ZELLNER *et al.*, 2008). Nesta, a amostra sólida ou líquida é armazenada em frasco hermeticamente fechado, quando o equilíbrio de volatilização é estabelecido no sistema, as substâncias voláteis que inicialmente estavam em contato com a amostra são libertadas para a fase gasosa e uma alíquota do vapor é recolhida e introduzida em cromatógrafo a gás (FOURMENTIN *et al.*, 2007; FREIRE *et al.*, 2008). Essa técnica é classificada como simples, sendo uma boa alternativa por garantir que apenas moléculas voláteis sejam transferidas para o sistema cromatográfico (SITARAMARAJU *et al.*, 2008), não necessitando da utilização de solventes extratores ou grande manipulação da amostra (HELENO *et al.*, 2010).

Com o presente trabalho, objetiva-se investigar, através da técnica de *headspace*, as substâncias voláteis liberadas pelo coquinho-azedo, e identificar os compostos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Também será avaliada a influência da maturação e do tempo de armazenamento na produção dos compostos voláteis e a interferência desses parâmetros na qualidade nutricional do fruto por meio de análises físico-químicas (dimensões, massa, acidez total titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e umidade).

A caracterização do perfil desses compostos permitirá o conhecimento sobre a composição sensorial do fruto, representando uma valiosa informação para a indústria de processamento de alimentos, pois este produto tem importante papel no extrativismo regional como fonte de alimento e renda (MOURA *et al.*, 2010). Além disso, será otimizada a etapa de *headspace*, uma alternativa para os métodos mais amplamente utilizados, que são laboriosos e propensos a erros (BOGUSZ JUNIOR, *et al.*, 2012). Essa técnica apresenta alta precisão e sensibilidade, sendo adequada para a análise de voláteis em alimentos (BRUNETTO *et al.*, 2009).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostras

Os experimentos foram realizados com frutos oriundos do Instituto de Ciências Agrárias (UFMG) localizado na cidade de Montes Claros (MG) sob as coordenadas 16°41'0,14"S e 43°50'21,77"O. Estes foram coletados entre os meses de agosto e outubro de 2012. Diariamente, os frutos foram retirados diretamente dos cachos, transportados em sacos de polietileno, submetidos à extração por *headspace* e analisados por CG-EM.

Para o estudo dos diferentes estádios de maturação, durante a colheita, os frutos foram classificados de acordo ao grau de coloração do epicarpo em 0% (epicarpo totalmente verde), 100% (epicarpo totalmente amarelo), 25% (epicarpo 25% amarelo) e 50% (epicarpo 50% amarelo).

Na análise da produção dos compostos voláteis em função do tempo de armazenamento, os frutos colhidos com 25% de maturação foram acondicionados em estufa incubadora para DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) (Eletrolab, Brasil) a 25°C por três e seis dias.

2.1.1 Otimização do isolamento dos compostos voláteis

Para otimização da técnica de *headspace*, imediatamente após a coleta de frutos maduros, a amostra *in natura* foi despolpada e triturada em liquidificador por 60 segundos até a obtenção de polpa homogênea.

A extração dos compostos voláteis foi realizada utilizando-se um sistema de *headspace* estático, em que o amostrador do *headspace* está acoplado ao injetor do cromatógrafo a gás. O amostrador automático *Combi PAL* possui recipiente para amostra que permite o seu aquecimento (forno) e agitação.

A técnica de extração otimizou os seguintes parâmetros: massa da amostra, temperatura de extração, força iônica, tempo de equilíbrio e pressão reduzida conforme se observa na TAB. 1.

TABELA 1
Otimização univariada da extração dos compostos voláteis do coquinho-
azedo por *headspace*

Parâmetros Otimizados	Variações
1 Massa da amostra ^{a,b}	1.00 g; 2.00 g; 3.00 g; 4.00 g; 5.00 g.
2 Temperatura da amostra ^b	30 °C; 50 °C; 75 °C.
3 Força iônica ^{b,c}	Solução de NaCl (15%; 30% (m/v)).
4 Tempo de equilíbrio de extração ^c	5; 20; 40; 60 (min.).
5 Pressão reduzida ^c	com; sem.

^aTemperatura ambiente(30 °C); ^bAquecido por cinco minutos no forno;

^cHomogeneizado em banho ultrassônico (cinco minutos).

Fonte: Da autora.

Os experimentos foram realizados utilizando-se *vial* de 20 mL com tampa de alumínio e septo de silicone. Para análise do efeito da pressão reduzida, ao *vial* contendo 2.00 g de amostra, foi adicionado solução de NaCl 15% (m/v) até seu completo preenchimento, ocorrendo transbordamento da solução e, em seguida, o *vial* foi selado com tampa de alumínio e septo de silicone. Foram removidos deste sistema 10.0 mL da solução com o auxílio de seringa de 5 mL (HAMILTON, USA), sendo a agulha desta introduzida no *vial* perfurando-se o septo de silicone. Este *vial* permaneceu na temperatura de 75°C por cinco minutos antes da injeção.

Para cada experimento realizado, 1000 μ L da fase vapor foram recolhidos com seringa *HD-Type Syringe Plunger* (HAMILTON, USA) e injetados no cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM). As condições utilizadas foram selecionadas avaliando-se a quantidade e a área relativa dos picos no cromatograma referentes aos compostos extraídos. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas e agitação de 500 rpm.

2.1.2 Estudo da maturação

Parâmetros para avaliar a qualidade dos frutos (dimensões, massa, AT, SS e umidade) em diferentes estádios de maturação e em função do tempo de armazenamento foram determinados com base nas normas analíticas propostas pelo INSTITUTO (2008).

Os diâmetros longitudinal e transversal foram medidos com auxílio de paquímetro digital de aço (Digimess, Brasil) e expressos em milímetros. A massa média dos frutos foi determinada utilizando-se balança analítica (Shimadzu, Japão). Para a umidade, ATT e SST, foi utilizado polpa triturada em liquidificador por cinco minutos. A umidade foi obtida por secagem de 2.00 g da polpa em estufa de circulação fechada (Nova Ética, Brasil) a $\pm 105^{\circ}\text{C}$ até massa constante. Para determinar os SST, foi utilizada a fase líquida obtida ao centrifugar 1.00 g da polpa em microcentrífuga (Vision Scientific, EUA) a 20°C por 10 minutos e 15000 rpm. O teor de SST foi obtido utilizando-se refratômetro manual (Atago, Japão) e expressos em $^{\circ}\text{Brix}$. Para a ATT, 5.00 g da polpa dissolvida em 45.0 mL de água destilada foram titulados com solução de NaOH padronizada a 0.100 mol L^{-1} e potenciômetro com membrana de vidro (Tekna, Brasil), até pH 8.2-8.4 .

Posteriormente, as substâncias voláteis das polpas obtidas para as análises físico-químicas foram extraídas por *headspace* adotando-se as condições otimizadas, e os compostos obtidos foram analisados por CG-EM. Em todos os experimentos foram realizadas quatro repetições.

2.1.3 Análises por cromatografia gasosa

Os compostos voláteis foram separados e identificados utilizando-se um cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7820A) acoplado a um espectrômetro de massas (MS 5975C), com coluna capilar HP-5 (Agilent Technologies), fase estacionária composta por 5% fenil e 95% dimetilsiloxano (30 m x $250\mu\text{m}$ d.i. x $0,25\mu\text{m}$ de espessura do filme) e hélio como gás de arraste (1 mL min^{-1}).

As condições cromatográficas foram as seguintes: temperatura do injetor 220 °C; a coluna inicialmente a 35 °C foi mantida por 2 minutos, posteriormente foi aquecida a uma taxa de 2 °C min⁻¹ até 80 °C, a 4 °C min⁻¹ até 150 °C e a 8 °C min⁻¹ até 230 °C, permanecendo nessa temperatura por 2 minutos. A temperatura de transferência da interface foi de 240°C e a injeção do tipo *splitless* (FERRÃO, 2012). O volume de amostra introduzido foi de 1000 µL.

O detector de massas foi operado no modo impacto de elétrons (70 eV) e analisador de massas quadrupolar operando com varredura na faixa de 35 a 550 u para o modo *SCAN*. A identificação dos compostos extraídos das amostras foi realizada por comparação com os dados espectrais da biblioteca (NIST 2.0 e Willey 7.0) e com dados da literatura (ADAMS, 2009).

2.1.4 Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) e a comparação múltipla entre as médias pelo teste de *Tukey* (5% de probabilidade) foram realizadas para verificar a existência de diferenças significativas entre as variáveis estudadas na otimização da técnica e avaliar as influências dos estádios de maturação e do tempo de armazenamento na composição química dos frutos de coquinho-azedo. Todas as análises estatísticas foram realizadas no *software* SPSS (Statistical Package for Social Science for Windows), versão 17.0.0 (2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Otimização dos parâmetros de extração por headspace

A extração dos compostos voláteis foi realizada utilizando-se o sistema de *headspace* acoplado ao injetor do cromatógrafo a gás. Nesse sistema, uma alíquota da fase gasosa contendo as substâncias voláteis é removida e injetada (BRUNETTO *et al.*, 2009).

A eficiência dessa técnica está diretamente relacionada ao coeficiente de distribuição dos analitos entre a amostra e a fase gasosa (PILLAI; JAIN; VERMA, 2010). A agitação, mantida em 500 rpm para este estudo, favorece a transferência dos compostos voláteis da matriz para a fase gasosa (*headspace*), reduzindo o tempo para que o equilíbrio termodinâmico seja atingido (DONG; SHEN; DENG, 2006; JELEN; MAJCHER; DZIADAS, 2012).

Neste trabalho, o estudo de variáveis, tais como massa da amostra, temperatura de extração, força iônica, tempo de equilíbrio e efeito da pressão reduzida, foi necessário para se obter um método simples, eficiente e rápido em relação aos citados na literatura.

3.2 Massa da amostra

A massa de amostra é um parâmetro fundamental na extração por *headspace*, pois está diretamente relacionada à quantidade e abundância dos compostos extraídos. Este comportamento pode ser monitorado através do número de sinais e da intensidade dos picos observados no cromatograma. Dessa forma, após análise por CG-EM, os cromatogramas obtidos foram interpretados e os respectivos resultados de áreas dos compostos voláteis estão apresentados na TAB. 2.

TABELA 2
 Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se cinco massas de coquinho-azedo

Composto	t_R^a (min.)	Área relativa (%) (média \pm DP ^b)				
		1.00 g	2.00 g	3.00 g	4.00 g	5.00 g
1 butanoato de metila	3.8	0.0906 \pm 0.00273	0.141 \pm 0.0410	0.0998 \pm 0.00912	0.120 \pm 0.0106	0.0899 \pm 0.0319
2 butanoato de etila	4.1	9.83 \pm 1.02	11.2 \pm 1.07	9.59 \pm 0.797	10.3 \pm 0.897	8.54 \pm 1.38
3 hexanoato de metila	7.0	3.14 \pm 0.230	6.65 \pm 2.04	4.43 \pm 0.521	5.56 \pm 1.56	6.64 \pm 1.79
4 hexanoato de etila	9.5	85.9 \pm 0.925	81.3 \pm 1.67	85.1 \pm 0.439	83.3 \pm 2.39	83.7 \pm 3.12
5 butanoato de pent-4-enila	12.2	0.797 \pm 0.0885	0.573 \pm 0.105	0.549 \pm 0.109	0.562 \pm 0.0482	0.676 \pm 0.0779
6 octanoato de etila	17.9	0.269 \pm 0.199	0.229 \pm 0.0246	0.249 \pm 0.0201	0.233 \pm 0.0214	0.328 \pm 0.0182

^a t_R , tempo de retenção; ^bDP, desvio padrão.

Fonte: Da autora.

Foi verificada a presença de seis compostos voláteis nas cinco condições de análise. Destaca-se o hexanoato de etila que apresentou a maior área relativa (>81%) em todos os casos. Em massas mais elevadas, observou-se que não houve aumento expressivo na extração dos compostos, visto que as áreas relativas não apresentaram diferenças significativas (TAB. 2), com $p > 0.05$. Todavia, o butanoato de pent-4-enila apresentou diferença expressiva na extração quando se utilizaram as massas de um a cinco gramas ($p < 0.05$).

A massa de dois gramas proporcionou maiores porcentagens de extração para os compostos butanoato de metila, butanoato de etila e hexanoato de metila e os maiores desvios padrões para as substâncias butanoato de metila e hexanoato de etila. Entretanto, maiores massas implicam elevada quantidade de amostra a ser preparada e reduzem o espaço disponível no *vial* podendo inibir a extração dos compostos voláteis, já que, em frasco de volume constante, a quantidade de amostra influencia diretamente no *headspace*, podendo interferir na eficiência da extração (EBRAHIMZADEH *et al.*, 2007). Dessa forma, a massa de dois gramas foi selecionada por promover maiores porcentagens de extração para maior número de compostos.

3.3 Temperatura de extração

Elevadas temperaturas diminuem a solubilidade e o coeficiente de partição dos compostos voláteis na amostra, aumentando sua pressão de vapor e concentração no *headspace* (DONG; SHEN; DENG, 2006; CARVALHO *et al.*, 2007), interferindo diretamente no equilíbrio de volatilização do sistema (CHEN *et al.*, 2010). Desse modo, extrações dos compostos voláteis do coquinho-azedo nas temperaturas de 30, 50 e 75°C foram realizadas e os resultados obtidos estão ilustrados no GRÁF. 1.

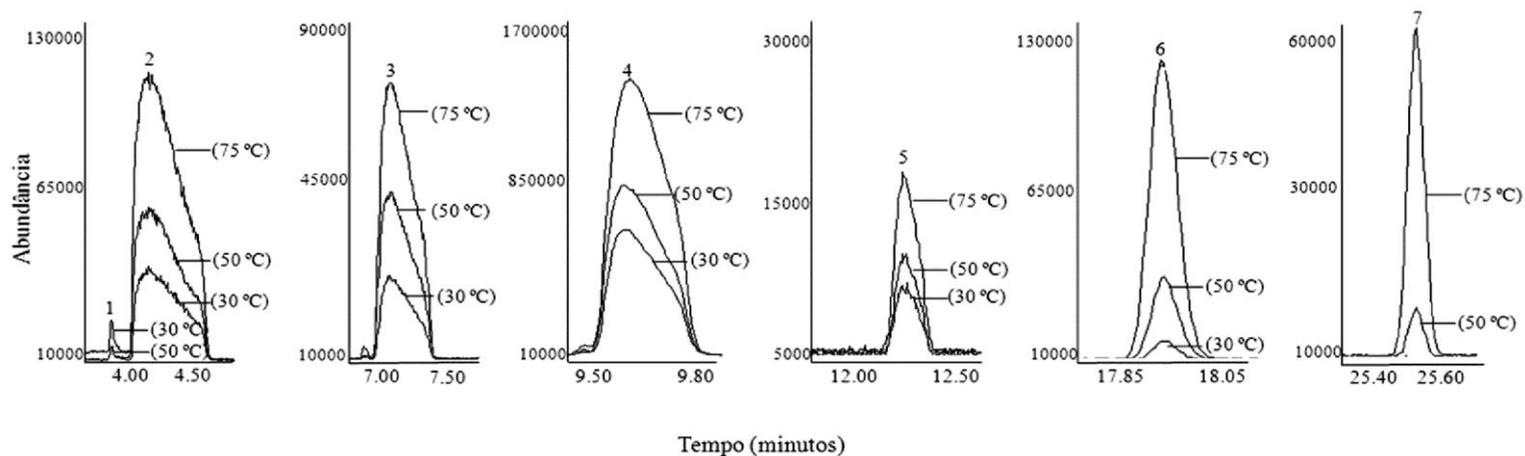


GRÁFICO 1- Expansões representativas dos cromatogramas dos sete compostos identificados nas temperaturas de 30, 50 e 75°C. Os números dos picos referem-se aos compostos: 1) butanoato de metila; 2) butanoato de etila; 3) hexanoato de metila; 4) hexanoato de etila; 5) butanoato de pent-4-enila; 6) octanoato de etila; 7) canfeno.

Fonte: Da autora.

Pode-se observar que o aumento da temperatura promoveu elevação da intensidade dos sinais, representando maior extração destes compostos. Para o butanoato de metila a melhor temperatura de extração foi de 30°C. Entretanto, como este composto foi o único a apresentar esse comportamento e devido à sua área relativa ser inferior a 0.1%, a extração a 75°C foi selecionada para os estudos adicionais.

3.4 Força iônica

A adição de solução salina à amostra e conseqüente aumento da força iônica pode favorecer a extração dos compostos voláteis (PEREIRA *et al.*, 2007). De acordo com a solubilidade das substâncias em estudo, o aumento da concentração de sal (*salting-out*) pode elevar a polaridade dos analitos ocasionando maior extração (PEREIRA *et al.*, 2007). A amplitude desses efeitos depende do sal adicionado e do coeficiente de partição das substâncias analisadas (BRUNETTO *et al.*, 2009). Dessa forma, experimentos foram realizados utilizando-se 2.00 mL de solução aquosa de NaCl contendo 15% e 30% (m/v) desse sal e ausência de solução salina (0%). Os resultados obtidos estão apresentados no GRÁF. 2.

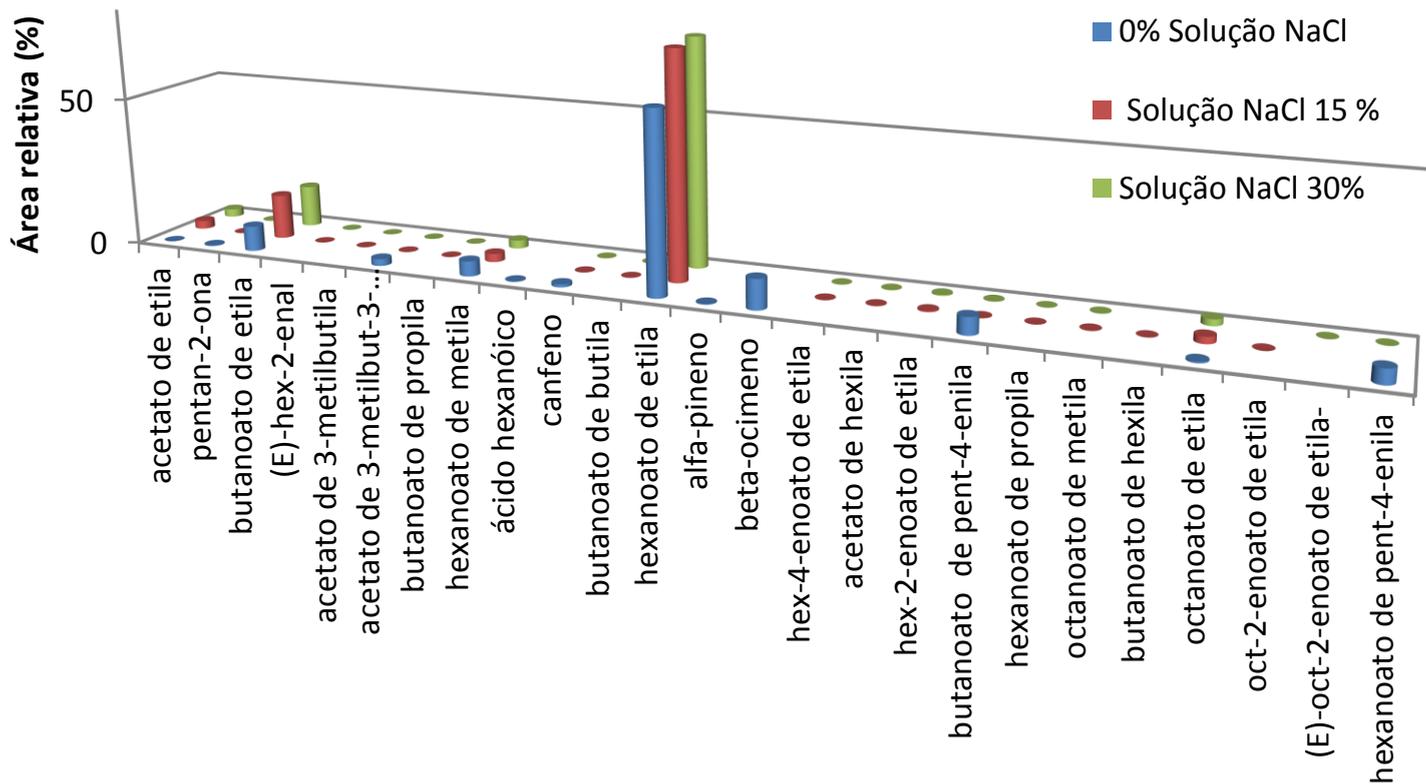


GRÁFICO 2 - Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se solução de NaCl nas concentrações de 15% e 30% (m/v) e sem adição de NaCl (0%).

Fonte: Da autora.

Como pode ser verificado, o aumento da força iônica da amostra favoreceu a extração de novas substâncias, uma vez que foram detectados 11 novos compostos (*E*)-hex-2-enal, acetato de 3-metilbutila, butanoato de propila, butanoato de butila, (*E*)-hex-4-enoato de etila, acetato de hexila, (*E*)-hex-2-enoato de etila, hexanoato de propila, octanoato de metila, butanoato de hexila e (*E*)-oct-2-enoato de etila. Além disso, proporcionou aumento de 77% e 25% na área relativa para as substâncias de maior abundância, butanoato de etila e hexanoato de etila, respectivamente.

Vale ressaltar que não foram verificadas mudanças significativas nos cromatogramas obtidos a partir dos experimentos realizados com 15 e 30% (m/v) de solução de NaCl, com $p > 0.05$, com exceção para o butanoato de butila e (*E*)-hex-4-anoato de etila, que apresentaram $p < 0.05$, o que indica que a solução de 30% favoreceu expressivamente sua extração. Dessa maneira, a solução de NaCl 15% (m/v) foi selecionada por promover maior extração dos compostos e em maior quantidade.

3.5 Tempo de equilíbrio de extração

Foi estudado o tempo necessário para que os compostos voláteis atingissem o equilíbrio de partição entre o *headspace* (fase gasosa) e a amostra (fase sólida). Para investigar esse parâmetro, a amostra de coquinho-azedo foi submetida a 5, 20, 40 e 60 minutos de homogeneização no forno do *headspace* a 75 °C. Os resultados estão demonstrados no GRÁF. 3.

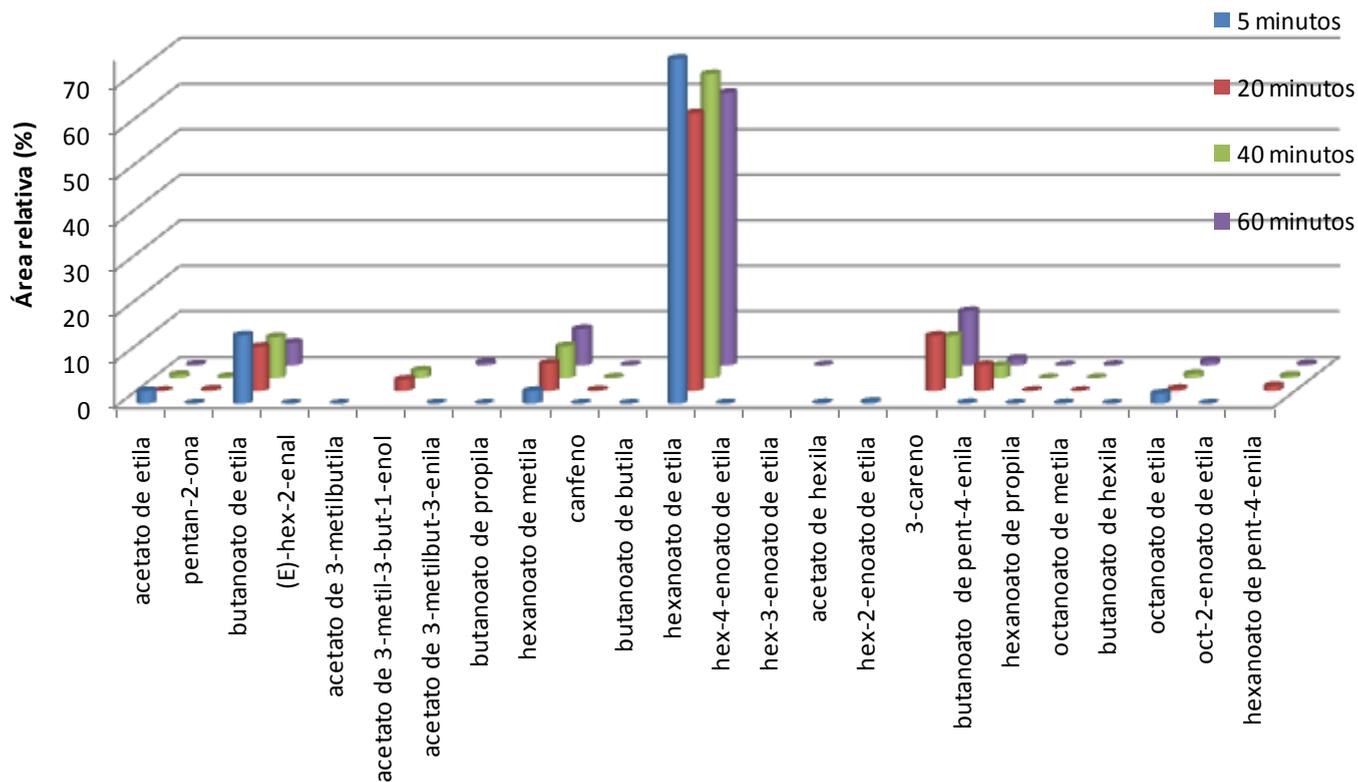


GRÁFICO 3 - Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM, utilizando-se 5, 20, 40 e 60 minutos de tempos de equilíbrio de extração.

Fonte: Da autora.

Maiores tempos de homogeneização favoreceram a extração de hexanoato de metila e 3-careno. Entretanto, esse efeito não foi verificado para os outros compostos, cuja área relativa não variou proporcionalmente com o aumento do tempo de equilíbrio.

Em cinco minutos de homogeneização ocorreu extração de 20 compostos e maiores áreas relativas para acetato de etila (2.76%), butanoato de etila (14.96%), hexanoato de etila (75.72%), e octanoato de etila (2.24%), indicando que esse período foi suficiente para atingir o equilíbrio termodinâmico do sistema. Portanto, o período de cinco minutos foi selecionado para a extração dos compostos, proporcionando curto tempo para amostragem. Alguns estudos têm utilizado 15 e 20 minutos como tempo de equilíbrio para a análise de compostos voláteis em amostras de pimenta e uva, respectivamente (SÁNCHEZ-PALOMO; DÍAZ-MAROTO; PÉREZ-COELLO, 2005; BOGUSZ JUNIOR, *et al.*, 2012).

3.6 Efeito da pressão reduzida

Psillakis *et al* (2012) demonstraram que condições de pressão reduzida resultam em aumento da taxa de evaporação, ocasionando maior cinética na extração dos compostos voláteis. Com o objetivo de estimular a transferência das moléculas voláteis da amostra para a fase gasosa, este ensaio foi realizado visando a simular um ambiente com baixa pressão. Os resultados obtidos estão representados no GRÁF. 4.

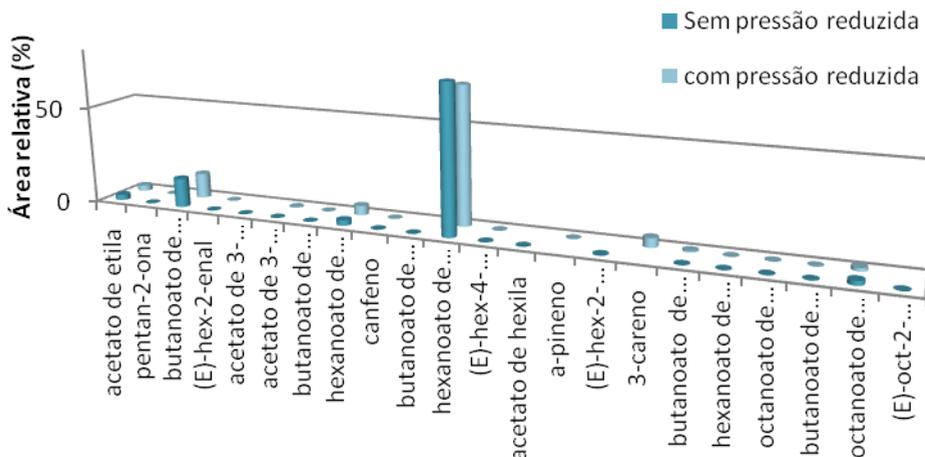


GRÁFICO 4 - Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM em sistema sob pressão reduzida.

Fonte: Da autora.

Constatou-se que para os compostos de maior abundância relativa, butanoato de etila, hexanoato de etila e octanoato de etila, redução na pressão do sistema proporcionou redução na eficiência da extração de 14%, 6% e 25.5%, respectivamente. Para o butanoato de hexila e o (E)-hex-4-enal a área relativa foi significativamente reduzida pela pressão reduzida no sistema contendo a amostra, apresentando $p < 0.05$. Além disso, verifica-se que 20 compostos foram extraídos quando não se reduziu a pressão no sistema e 17 compostos quando esta foi reduzida.

Vale ressaltar que o método apresentou elevada sensibilidade para os compostos identificados, sem a adição de uma etapa de redução da pressão à técnica, por isso esta não foi incorporada à metodologia otimizada.

3.7 Estudo do efeito da maturação

Durante o desenvolvimento do fruto, diversas mudanças podem ocorrer em sua composição química (AMIRA *et al.*, 2011), sendo estas importantes para monitorar e caracterizar o grau de maturação. Estas

transformações podem ser observadas por alterações nas características físico-químicas que podem interferir na produção dos compostos voláteis, pois esta também é contínua durante o crescimento e amadurecimento dos frutos (AMIRA *et al.*, 2011). Assim, foi estudada a relação de alguns parâmetros representativos ao longo do desenvolvimento do fruto com a produção de compostos voláteis em quatro estádios de maturação (0, 25, 50 e 100% maduro) e em função do tempo de armazenamento (três e seis dias). Os resultados podem ser observados nas TAB. 3 e 4.

TABELA 3
Parâmetros físico-químicos avaliados para quatro estádios de maturação e para o tempo de armazenamento

Parâmetros físico-químicos	Estádios de maturação (média+DP ^a)				Tempo de armazenamento (média+DP ^a)	
	0%	25%	50%	100%	25% (3 dias)	25% (6 dias)
SS (°Brix)	10.2±0.150	11.1±0.207	11.5±0.224	11.2±0.219	10.4±0.0894	9.06±0
AT (%)	5.12±0.0478	4.59±0.036	3.92±0.136	2.71±0.155	2.47±0.0219	1.27±0.020
Umidade (%)	16.6±0.172	18.4±0.310	17.3±0.113	17.2±0.380	17.5±0.404	18.3±0.336
Comprimento (mm)	26.7±0.354	26.4±0.332	27.6±1.15	27.3±0.417	25.9±0.706	25.0±1.21
Largura (mm)	24.7±0.452	22.9±0.634	24.6±2.48	24.9±0.467	21.3±0.908	21.6±0.516
Massa (g)	9.40±0.784	7.95±0.155	10.0±0.402	10.4±0.352	6.59±0.301	6.98±0.224

^aDP. Desvio padrão.

Fonte: Da autora.

TABELA 4

Áreas relativas dos compostos voláteis identificados por CG-EM utilizando-se frutos 0, 25, 50 e 100% maduros e em função do tempo de armazenamento

(Continua)

Composto	t_R^b (min.)	Área relativa (média±DP ^a)					
		Estádio de maturação				Tempo de armazenamento	
		0%	25%	50%	100%	25% (3 dias)	25% (6 dias)
<i>Aldeídos</i>							
(Z)-hex-2-enal	8.9	5.14±0.995	-	-	-	-	-
(E)-hex-2-enal	9.2	6.78±1.61	-	-	-	-	-
<i>Ésteres</i>							
acetato de etila	2.5	-	-	0.448±0.174	1.51±0.611	1.31±0.137	0.533±0.154
butanoato de etila	6.7	-	0.362±0.299	8.74±1.10	14.5±1.47	21.9±1.33	15.0±1.68
acetate de 3-metilbut-3-enila	10.7	-	4.04±0.609	0.896±0.309	1.00±0.227	1.09±0.209	1.07±0.0579
butanoato de propila	11.4	-	-	-	0.0111±0.000813	0.00439±0.00117	-
hexanoato de metila	12.9	16.3±13.4	33.9±5.75	25.9±11.3	9.64±0.858	12.9±1.97	12.9±0.792

(Continua)

Composto	t _R ^b (min.)	Área relativa (média±DP ^a)					
		Estádio de maturação				Tempo de armazenamento	
		0%	25%	50%	100%	25% (3 dias)	25% (6 dias)
butanoato de butila	17.6	-	-	-	0.0183±0.00598	0.0129±0.00195	0.0699±0.00905
hexanoato de etila	17.8	-	34.6±10.4	76.1±3.40	65.6±1.63	52.6±3.52	60.8±2.76
butanoato de pent-4-enila	22.4	4.91±3.68	12.9±2.29	2.50±0.331	2.19±0.189	4.34±0.712	3.24±0.347
hexanoato de propila	24.5	-	-	-	0.0254±0.00409	0.0102±0.00103	-
heptanoato de etila	24.7	-	-	-	-	-	-
octanoato de metila	26.4	-	-	0.0675±0.00755	0.224±0.0203	0.764±0.0553	0.725±0.0625
hexanoato de butila	30.0	-	-	-	-	-	-
octanoato de etila	30.3	-	-	1.80±0.429	1.70±0.0847	2.42±0.385	2.47±0.107
(E)-oct-2-enoato de etila	32.5	-	-	-	-	-	-
hexanoato de pent-4-enila	33.1	2.03±0.657	4.44±1.13	0.463±0.0352	0.310±0.0287	1.15±0.259	0.603±0.0855
decanoato de metila	35.6	-	-	-	-	0.00507±0.00158	0.00791±0.00285
decanoato de etila	38.2	-	-	-	-	0.0317±0.0116	0.0417±0.00906

(Continua)

Composto	t _R ^b (min.)	Área relativa (média±DP ^a)					
		Estádio de maturação				Tempo de armazenamento	
		0%	25%	50%	100%	25% (3 dias)	25% (6 dias)
<i>Hidrocarbonetos</i>							
(E)-β-ocimeno	21.1	-	4.19±1.69	-	-	-	-
<i>Cetonas</i>							
pentan-2-ona	3.8	-	-	-	-	0.0772±0.0686	0.375±0.0879
<i>Ácidos orgânicos</i>							
Ácido acético	3.9	2.87±2.74	-	-	-	-	-
<i>Outros compostos</i>							
metoxifeniloxima	12.7	22.2±19.9	-	-	-	-	-
<i>Não identificados</i>							
N.I. ^c	5.3	-	5.59±2.20	-	-	-	-

(Conclusão)

Composto	t _R ^b (min.)	Área relativa (média±DP ^a)					
		Estádio de maturação				Tempo de armazenamento	
		0%	25%	50%	100%	25% (3 dias)	25% (6 dias)
N.I.	5.7	31.7±10.3	-	-	-	-	-
N.I.	7.6	-	1.39±0.326	-	-	-	-
N.I.	8.1	-	1.02±0.0475	-	-	-	-
N.I.	21.1	4.69±0.697	-	2.83±1.39	2.86±0.669	1.28±0.148	1.92±0.482
N.I.	37.4	7.49±2.43	0.537±2.08	-	-	-	-

^aDP. Desvio padrão; ^bt_R. tempo de retenção; ^cN.I., compostos não identificados.

Fonte: Da autora.

Pela TAB. 3, verifica-se que a acidez titulável seguiu o padrão esperado, uma vez que o fruto verde apresentou maior acidez (5.12%), sendo este valor reduzido gradativamente no decorrer da maturação, com decréscimo superior a 47% do estágio verde para o maduro. A maior porcentagem de acidez no fruto verde foi confirmada pela identificação do composto ácido acético apenas para esse estágio (TAB. 4). Além dele, (*Z*)-hex-2-enal, (*E*)-hex-2-enal e metoxifeniloxima também foram identificados e obtidos unicamente para esse grau de maturação. No decorrer do amadurecimento, esses compostos não foram extraídos e ésteres foram predominantemente identificados.

Entre 0 e 100% de maturação, os teores de sólidos solúveis apresentaram $p < 0.05$, indicando que os valores são estatisticamente diferentes entre as amostras. Para as dimensões (comprimento e largura) não há diferença significativa entre os grupos ($p > 0.05$). Os resultados obtidos para umidade não seguem as tendências esperadas durante o amadurecimento das frutas, uma vez que se espera maior retenção de água na polpa imatura (verde) (NEVES *et al.*, 2010). Entretanto, estudos anteriores indicaram que, apesar da variação significativa ao longo do desenvolvimento do fruto, esse não é parâmetro determinante para estabelecer o grau de maturação (NEVES *et al.*, 2010).

Em 100% de maturação, ocorreu síntese de maior número de compostos voláteis, já que 12 substâncias foram identificadas, sendo elas: acetato de etila, butanoato de etila, acetato de 3-metilbut-3-enila, butanoato de propila, hexanoato de metila, butanoato de butila, hexanoato de etila, butanoato de pent-4-enila, hexanoato de propila, octanoato de metila, octanoato de etila e hexanoato de pent-4-enila.

Em 50% de maturação, ocorreu a maior extração para o hexanoato de etila (>76%). Esse composto e o hexanoato de metila apresentaram maior abundância relativa em todos os graus de maturação analisados, exceto para o fruto verde, em que o hexanoato de etila não foi identificado nas amostras.

Como indica a TAB. 4, durante o armazenamento ocorreu a produção de compostos que caracterizam estádios mais avançados de maturação (50 e 100% de maturação), sendo identificados: acetato de etila, butanoato de

etila, hexanoato de propila, octanoato de metila e octanoato de etila. Além disso, dois novos compostos foram extraídos, os ésteres decanoato de metila e decanoato de etila.

Pode-se observar que o tempo de armazenamento, em comparação ao fruto 25%, favoreceu a extração do hexanoato de etila (>34%) e do butanoato de etila (>97%). Entretanto, ocorreu redução na extração de hexanoato de metila (>38%), butanoato de pent-4-enila (>24%) e hexanoato de pent-4-enila (>13%).

Pelas análises físico-químicas (TAB. 3), três e seis dias de armazenamento apresentaram diferenças significativas para o teor de sólidos solúveis e acidez titulável. Observa-se que os resultados obtidos diferem estatisticamente aos encontrados em frutos 100% maduros ($p < 0.05$). Estes dados indicam que os dias em armazenamento controlado não proporcionam frutos com caracterização química similar ao fruto 100% maduro.

3.8 Caracterização do perfil aromático do coquinho-azedo

Vinte compostos voláteis do coquinho-azedo foram extraídos utilizando-se a técnica de *headspace*, sendo as seguintes variáveis otimizadas: massa da amostra (2,00 g), temperatura de extração (75°C), força iônica (solução de NaCl 15% (m/v)) e tempo de equilíbrio de extração (5 minutos). Os compostos voláteis foram identificados e quantificados por CG-EM, os resultados obtidos estão apresentados na TAB. 5.

TABELA 5

Principais compostos voláteis identificados na polpa de coquinho-azedo utilizando-se as condições otimizadas de extração

(Continua)

	Composto	t_R^a (min.)	Área relativa (%)		[M ⁺]	Principais Fragmentos m/z (%)
			Média	DP ^b		
1	acetato de etila	3.1	2.76	0.499	88	43(99.9); 45(20.6); 61(16.3); 70(17.2)
2	pentan-2-ona	3.8	0.0644	0.0297	86	43(99.9); 45(41.7); 60(34.3); 86(18.5)
3	butanoato de etila	6.7	14.9	1.66	116	43(55.6); 71(99.9); 88(65.8)
4	(<i>E</i>)-hex-2-enal	8.9	0.0304	0.00308	98	39(36.0); 40(43.9); 41(51.5); 55(39.1); 69(99.9); 83(43.8); 99(26.9)
5	acetate de 3-metilbutila	10.3	0.00558	0.0311	130	43(99.9); 55(54.7); 70(61.2)
6	acetate de 3-metilbut-3-enila	10.7	0.0651	0.0595	128	43(98.1); 67(45.5); 68(99.9)
7	butanoato de propila	11.4	0.00939	0.000689	130	40(78.1); 43(62.8); 71(99.9); 89(73.6)
8	hexanoato de metila	12.9	2.79	0.0655	130	43(31.7); 74(99.9); 87(39.3); 99(26.5)
9	camfeno	14.2	0.0609	0.00212	136	40(77.0); 79(30.1); 91(37.7); 93(99.9); 107(29.5); 121(70.3)
10	butanoato de butila	17.6	0.00301	0.000249	144	40(99.9); 71(50.0); 89(39.2)
11	hexanoato de etila	18.2	75.7	2.12	144	43(35.4); 88(99.9); 99(65.4); 101(33.6)

(Conclusão)

	Composto	t_R^a (min.)	Área relativa (%)		$[M^{\ddagger}]$	Principais Fragmentos m/z (%)
			Média	DP ^b		
12	(<i>E</i>)-hex-4-enoato de etila	18.7	0.0899	0.00147	142	39(56.5); 41(99.9); 55(69); 68(83.6); 69(65.1);
13	acetato de hexila	18.9	0.109	0.00486	144	43(99.9); 55(29.6); 56(57.9); 61(31.7); 69(28.1); 84(32.5)
14	(<i>E</i>)-hex-2-enoato de etila	20.9	0.396	0.0156	142	41(22.7); 55(62.9); 68(24.9); 73(30.7); 97(99.9); 99(82.8)
15	butanoato de pent-4-enila	22.4	0.132	0.00524	156	41(23.2); 43(32.4); 67(37.5); 68(99.9); 71(61.9)
16	hexanoato de propila	24.5	0.0383	0.00243	158	40(58.8); 43(47.4); 60(32.9); 61(30.1); 99(99.9); 117(95.3)
17	octanoato de metila	26.4	0.0989	0.00132	158	43(18.7); 55(18.2); 74(99.9); 87(51.2); 127(18.4)
18	butanoato de hexila	30.0	0.0289	0.0149	172	40(63.9); 43(82.7); 56(50.2); 71(99.9); 84(52.1); 89(96.4)
19	octanoato de etila	30.3	2.24	0.0853		57(23.8); 88(99.9); 101(39.6); 127(35.7)
20	(<i>E</i>)-oct-2-enoato de etila	32.5	0.0346	0.000423		40(76.3); 55(99.9); 73(51.4); 99(48.8); 101(49.4); 125(85.5)

^a t_R . tempo de retenção; ^bDP. desvio padrão.

Fonte: Da autora.

Éster é a classe de compostos orgânicos predominante nas amostras de coquinho-azedo, correspondendo a 99,8% da área relativa total. Os principais representantes foram: acetato de etila ($2.76\% \pm 0.499$), butanoato de etila ($14.9\% \pm 1.66$), hexanoato de metila ($2.79\% \pm 0.0655$), hexanoato de etila ($75.7\% \pm 2.12$), acetato de hexila ($0.109\% \pm 0.00486$), (*E*)-hex-2-enoato de etila ($0.396\% \pm 0.0156$), butanoato de pent-4-enila ($0.132\% \pm 0.00524$) e octanoato de etila ($2.24\% \pm 0.0853$). Os outros compostos foram encontrados em quantidades de traços com áreas relativas inferiores a 0.1% (TAB. 5).

O hexanoato de etila foi a principal substância identificada na polpa de coquinho-azedo representando 75.9% da área relativa das substâncias identificadas. Este composto apresentou a maior abundância relativa (sempre >60%) e esteve presente em todas as amostras analisadas. Resultado semelhante foi encontrado por Ferrão (2012), que o reporta como a substância de maior impacto no *flavor* característico do coquinho-azedo, pois foi o composto majoritário nas amostras e apresentou cerca de 37.35% da concentração dos compostos identificados.

4 CONCLUSÕES

A técnica de *headspace* otimizada para análises dos compostos voláteis do coquinho-azedo revelou expressiva sensibilidade na extração. Após seleção das condições ótimas de extração, foram detectados e identificados 20 compostos. O fruto em 100% de maturação propiciou a extração do maior número de compostos (13) e a maturação pós-colheita proporcionou a síntese de dois novos compostos (decanoato de metila e decanoato de etila) em relação ao fruto maturado em ambiente natural.

As principais classes químicas detectadas nas condições otimizadas de análise em função do número de compostos identificados foram: ésteres (85%), aldeídos (5%), cetonas (5%) e hidrocarbonetos (5%), sendo verificada a predominância dos ésteres na composição de moléculas voláteis. Possivelmente, eles são os responsáveis pelo aroma frutal característico do fruto do coquinho-azedo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/Mass Spectrometry**. Illinois: Allured Business Media, 2009. 804 p.

AGUIAR L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. **Cerrado**: ecologia e caracterização. Planaltina: EMBRAPA- CEPAC, 2004.

ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, A. M. C.; PRADO, G. M. ; MAGALHÃES, C. E. C.; MAIA, G. A.; LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, Barking, England, v. 44, n. 7, p. 2155-2159, 2011.

ALMEIDA, S. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Eds) **Cerrado**: ambiente e flora. Brasília, DF: Embrapa Cerrados, 1998. p. 247-285.

AMIRA, E. A.; GUIDO, F.; BEHIJA, S. E.; MANEL, I.; NESRINE, Z.; ALI, F.; MOHAMED, H.; NOUREDDINE, H. A.; LOTFI, A. Chemical and aroma volatile compositions of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits at three maturation stages. **Food Chemistry**, London, GB, v.127, n. 4, p. 1744-1754, 2011.

ANGIOSPERM PHYLOGENY WEBSITE. APG II, Angiosperm Phylogeny Group System II. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/welcome.html>>. Acesso em: 02 set. 2012.

BATLLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado: a review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Amsterdam, NL, v. 137, n. 1-2, p. 47-58. 2010

BOGUSZ JUNIOR, S.; TAVARES, A. M.; FILHO, J. T.; ZINI, C. A.; GODOY; H. T. Analysis of the volatile compounds of Brazilian chilli peppers (*Capsicum* spp.) at two stages of maturity by solid phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Food Research International**, Barking, England, v.48, n. 1, p. 98-107, Aug. 2012.

BRUNETTO, M. R.; CAYAMA, Y. D.; GUTIÉRREZ, L.; ROA, S. C.; MÉNDEZ, Y. C.; GALLIAGNANI, M.; ZAMBRANO, A.; GÓMEZ, A.; RAMOS, G. Headspace gas chromatography-mass spectrometry determination of alkylpyrazines in cocoa liquor samples. **Food Chemistry**, London, GB, v.112, n. 1, p. 253-527, 2009.

BURLINGAME, B.; CHARRONDIERE, R.; MOUILLE, B. Food composition is fundamental to the cross-cutting initiative on biodiversity for food and nutrition. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, CA, v. 22, n. 5, p. 361-365. Aug. 2009.

BUTTOW, M.; BARBIERI, R.; NEITZKE, R. S.; HEIDEN, G. Conhecimento tradicional associado ao uso de butias (*Butia* spp., *Arecaceae*) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 31, n. 4, p. 1069- 1075, 2009.

CARDOSO, L. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A. V. B.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, Barking, England, v. 44, n. 7, p. 2151-2154, 2011.

CARVALHO, P. N.; PINTO, L. F.; BASTO, M. C. P.; VASCONCELOS, T. S. D. Headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry method for butyltin analysis in sediments: optimization and validation. **Microchemical Journal**, New York, US, v. 87, n. 2, p.147-153, 2007.

CHEN, S.; PENG, H.; WU, D.; GUAN, Y. Temperature-controlled headspace liquid-phase microextraction device using volatile solvents. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, NL, v. 1217, n. 38, p.5883-5889, 2010.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: UNICAMP, 2006. 453 p.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. Boston: Thomas Nelson, 1968 apud ALVES, M. R. P.; DEMATTE, C. **Palmeiras**: características botânicas e evolução. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 129 p.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS E. V. B.; FERRI, P. H.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J. Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different temperatures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v. 29, n. 2, p. 435-439, abr./jun, 2009.

DONG, L.; SHEN, X.; DENG, C. Development of gas chromatography-mass spectrometry following headspace single-drop microextraction and simultaneous derivatization for fast determination of the diabetes biomarker, acetone in human blood samples. *Analytica Chimica Acta*, Amsterdam, NL, v. 569, n. 1-2, p. 91-96, May 2006.

EBRAHIMZADEH, M. A.; MAHMOUDI, M.; KARAMI, M.; SAEEDI, S.; AHMADI, A. H.; SALIMI, E. Separation of active and toxic portions in *Sambucus ebulus*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, Pakistan, v. 10, n. 22, p. 4171-4173, Nov. 2007.

FARIA, J. P.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 30, n. 3, p. 827-829, set. 2008.

FARIA, J. P.; SIQUEIRA, E. M. A.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Fruits of *Butia capitata* (Mart.) Becc as good sources of β -carotene and provitamina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.33, nesp 1, p. 612-617, out. 2011.

FERNANDES, L. A. LOPES, P. S. N.; D'ANGELO, S.; DAYRELL, C. A.; SAMPAIO, R. A. Relação entre o conhecimento local, atributos químicos e físicos do solo e uso das terras. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 32, n. 3, p. 1355-1365, maio/jun.2008.

FERRÃO, T. S. **Compostos voláteis e parâmetros de qualidade de diferentes genótipos de frutos de *Butia odorata***. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. RS.

FONSECA, R. S.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) no Norte de Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE ECOLOGIA, 7., 2006, Caxambu, MG. **Anais...** Caxambu, 2006.

FOURMENTIN, S.; OUTIRITE, M.; BLACH, P.; LANDY, D.; PONCHEL, A.; MONFLIER, E.; SURPATEANU, G. Solubilisation of chlorinated solvents by cyclodextrin derivatives: a study by static headspace gas chromatography and molecular modeling. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, NL, v.141, n. 1, p. 92-97, Mar. 2007.

FREIRE, M. T. A.; BOTTOLI, C. B. G.; FABRIS, S.; REYES, F. G. R. Contaminantes voláteis provenientes de embalagens plásticas: desenvolvimento e validação de métodos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 31, n. 6, p. 1522-1532, 2008.

HELENO, F. F.; LIMA, A. C. L.; AFONSO, R. J. C. F.; COUNTRIM, M. X. Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de BTEX em água utilizando extração por headspace e microextração em fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 33, n. 2, p.329-336, 2010.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **A field guide to the palms of the Americas**. Princeton: Princeton University, 1995. 363 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

JELEN, H. H.; MAJCHER, M.; DZIADAS, M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: a review. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, NL, n. 738, p. 13-26, Aug. 2012.

KAFKAS, E.; CABAROGLU, T.; SELLI, S.; BOZDOĞAN, A.; KÜRKÇÜOĞLU, M.; PAYDAŞ, S.; BAŞER, K. H. C. Comparison of methodologies for the Identification of aroma compounds in strawberry. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, Ankara, Turkey, v. 29, n. 5, p. 383-390, 2005.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, MG, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

LIMA, E. S.; FELFILI, J. M.; MARIMON, B. S.; SCARIOT, A. Diversidade, estrutura e distribuição espacial de palmeiras em um cerrado *sensu stricto* no Brasil Central - DF. **Revista Brasileira de Botânica**. São Paulo, SP, v. 26, n. 3, p. 361-370, jul./set. 2003.

LIMA, V. V. F.; SILVA, P. A. D.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do coquinho azedo** Brasília, DF.: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 60 p.

LOPES, R. M.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B.; GOMES, I. S.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v. 34, n. 2, p. 635-640, jun. 2012.

LORENZI, H. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2004. 416 p.

LORENZI, H.; NOBLIK, R.L.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2010, 368 p.

MACHADO, C. C. B.; BASTOS, D. H. M.; JANZANTTI, N. S.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O. M.; FRANCO, M. R. B. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir de erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 30, n. 3, p.513-518, maio/jun. 2007.

MALTA, L. G.; GHIRALDINI, F. G.; REIS, R.; OLIVEIRA, M. V.; SILVA, L. B.; PASTORE, G. M. In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. **Food Research International**, Barking, England, v. 49, n. 1, p. 604-611, 2012.

MARTINS, E. R. **Projeto conservação de recursos genéticos de espécies frutíferas nativas do Norte Mineiro**: coleta, ecogeografia e etnobotânica. Montes Claros: UFMG/ICA, 2003. 76 p. Relatório.

MACORIS, M. S.; JANZANTTI, N. S.; GARRUTI, D. S.; MONTEIRO, M. Volatile compounds from organic and conventional passion fruit (*Passiflora edulis* F. *Flavicarpa*) pulp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v. 31, n.2, p. 430-435, abr./jun. 2011.

MATA, A. R.; NELSON, D. L.; AFONSO, R. J. C. F.; GLÓRIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v. 24, n. 1, p. 151-157, jan./mar. 2004.

MOURA, R. C.; LOPES, P. S. N.; JUNIOR, D. S. B.; GOMES, J. G.; PEREIRA, M. B. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropica**, Campinas, SP, v. 10, n. 2, p. 415-419, abr./jun. 2010.

NEVES, S. C.; RIBEIRO, L. M.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação *in vitro* de embriões de coquinho-azedo [*Butia capitata* (Mart.) Becc. (Arecaceae)] obtidos de frutos com diferentes graus de maturação. **Revista de Biologia Neotropical**, Goiania, GO, v. 7, n. 1, p.47-54, 2010.

NUNES, A. M.; FACHINELLO, J. C.; RADMANN, E. B.; BIANCHI, V. J.; SCHWARTZ, E. Caracteres morfológicos e físico-químicos de butiazeiros (*Butia capitata*) na região de Pelotas, Brasil. **Interciencia**, Caracas, VE, v. 35, n. 7, p.500-505, 2010.

PEREIRA, F. J. P.; BENDICHO, C.; KALOGERAKIS, N.; PSILLAKIS, E. Headspace single drop microextraction of methylcyclopentadienyl-manganese tricarbonyl from water samples followed by gas chromatography–mass spectrometry. **Talanta**, London, GB, v. 74, n. 1, p. 47-51, Nov. 2007.

PILLAI, A. K. K. V.; JAIN, A.; VERMA, K. K. Headspace single-drop microextraction and fibre optics-based cuvetteless microspectrophotometry for the determination of chloride involving oxidation with permanganate. **Talanta**, London, GB, v. 80, n. 5, p. 1816-1822, Mar. 2010.

PROSEN, H.; KOKALJ, M.; JANES, D.; KREFT, S. Comparison of isolation methods of the determination of buckwheat volatile compounds. **Food Chemistry**, London, GB, v. 121, n. 1, p.298-306, July 2010.

PSILLAKIS, E.; YIANTZI, E.; SANCHEZ-PRADO, L.; KALOGERAKIS, N. Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction: Improved extraction of semivolatiles by non-equilibrium headspace sampling under reduced pressure conditions. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, NL, v. 742, p. 30-36, Sept. 2012.

RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M. M.; HIANE, P. A.; BRAGA NETO, J. A.; SIQUEIRA, E. M. A. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acronomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, v.28, supl., p. 90-94, dez. 2008.

REID, W. J. Instrumental methods in detecting taint and off-flavours in food. In: BAINGRIE, B.(Ed.) **Taints and off-flavours in food**. Boca Raton: CRC; Cambridge, England : Woodhead, 2003. Cap. 3.

REINECCIUS, G. Flavor formation in fruits and vegetables. In: REINECCIUS, G. **Flavor chemistry and technology**. 2. ed. Boca Roton: Taylor & Francis, 2006. Cap. 4, p. 73-101.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, SP, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIVAS-CAÑEDO, A.; JUEZ-OJEDA, C.; NUÑEZ, M.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, E. Volatile compounds in ground beef subjected to high pressure processing: a comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction. **Food Chemistry**, London, GB, v.124, n. 3, p. 1201-1207, Feb. 2011.

ROMEU-NADAL, M.; CASTELLOTE, A. I. M.; LÓPEZ-SABATER, M. C. Headspace gas chromatographic method for determining volatile compounds in infant formulas. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, NL, v. 1046, n. 1-2, p. 235-239, Aug. 2004.

SÁNCHEZ-PALOMO, E.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; PÉREZ-COELLO, M. S. Rapid determination of volatile compounds in grapes by HS-SPME coupled with GC-MS. **Talanta**, London, GB, v. 66, n. 5, p. 1152-1157, June 2005.

SGANZERLA, M. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante do butiá**. 2010. 105 f. Dissertacao (Mestrado em Ciencia e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2010.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, set. 2008.

SILVA, P. A. D. **Ecologia populacional e botânica econômica de *Butia capitata* (Mart.) Beccari no cerrado no norte de Minas Gerais**. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília. Brasília, DF, 2008.

SITARAMARAJU, Y.; VAN HUL, A. V.; WOLFS, K.; VAN SCHEPDAEL, A. V.; HOOGMARTENS, J.; ADAMS, E. Static headspace gas chromatography of (semi-)volatiles drugs in pharmaceuticals for tropical use. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, NL, v. 47, n. 4-5, p. 834-840, Aug. 2008.

SOARES, F. D.; PEREIRA, T.; MARQUES, M. O. M.; MONTEIRO, A. R. Volatile and non - volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. **Food Chemistry**, London, GB, v. 100, p.15-21, 2007.

SOUSA GALVAO, M.; NARAIN, N.; SANTOS, M. S. P.; NUNES, M. L. Volatile compounds and descriptive odor attributes in umbu (*Spondias tuberosa*) fruits during maturation. **Food Research International**, Barking, England, v. 44, n.7, p. 1919-1926, Aug. 2011.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; QUEIROZ, F.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, London, GB, v. 134, n. 1, p.381-386, Sept. 2012.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H.; ROCHA NETO, A. C. **Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2008. 704 p.

VARMING, C.; PETERSEN, M. A.; POLL, L. Comparison of isolation methods for the determination of important aroma compounds in black currant (*Ribes nigrum* L.) juice, using nasal impact frequency profiling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, DC, v. 52, n. 6, p. 1647-1652, 2004

VIADANA, A. G. A classificação fisionômica de Kuechler empregada na definição dos padrões vegetacionais do cerrado. **Estudos Geográficos**, Rio Claro, SP, v.3, n. 2, p. 103-107, dez. 2005. Disponível em: <www.rc.unesp.br/igce/grad/geografia/revista.htm> Acesso em: 02 set. 2012.

WANG, Y.; YANG, C.; LI S, Y. Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP-SPME with GC-MS. **Food Chemistry**, London, GB, v. 116, n. 1, p. 356-364, Sept. 2009.

WELDEGERGIS, B. T.; VILLIERSA, A.; MCNEISHB, C.; SEETHAPATHYB, S.; MOSTAFAB, A.; GÓRECKIB, T.; CROUCH, A. M. Characterisation of volatile components of pinotage wines using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to-time-of-flight mass spectrometry (GC x GC–TOFMS). **Food Chemistry**, London, GB, v. 129, n.1, p. 188-199, Nov. 2011.

ZELLNER, B. A.; DUGO, P.; DUGO, G.; MONDELLO, L. Gas chromatography-olfactometry in food flavor analysis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, NL, v. 1186, n. 1-2, p. 123-143, Apr. 2008.