



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS: AVALIAÇÃO  
DO PERFIL VOLÁTIL DE ABACAXI (*Ananas comosus L.*) EM  
DIFERENTES PERÍODOS E TEMPERATURAS DE  
ARMAZENAGEM EMPREGANDO HS-SPME E GC-MS**

**FRANCIELLE CROCETTA TURAZZI**

Florianópolis  
Julho/2016

**Francielle Crocetta Turazzi**

**ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS: AVALIAÇÃO DO PERFIL  
VOLÁTIL DE ABACAXI (*Ananas comosus L.*) EM DIFERENTES  
PERÍODOS E TEMPERATURAS DE ARMAZENAGEM EMPREGANDO  
HS-SPME E GC-MS**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio Supervisionado II (QMC 5512)

**Orientador: Prof. Dr. EDUARDO CARASEK DA ROCHA**  
**Coorientador: Msc. JOSIAS DE OLIVEIRA MERIB**

Florianópolis  
Julho/2016

**Francielle Crocetta Turazzi**

**ALIMENTOS MINIMAMENTE PROCESSADOS: AVALIAÇÃO DO PERFIL  
VOLÁTIL DE ABACAXI (*Ananas comosus L.*) EM DIFERENTES  
PERÍODOS E TEMPERATURAS DE ARMAZENAGEM EMPREGANDO  
HS-SPME E GC-MS**

---

Prof. Dr. Alexandre Luis Parize  
Coordenador de Estágio do Curso de Química-Bacharelado

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Eduardo Carasek da Rocha  
Orientador

---

Prof. Dr. Luciano Vitali

---

Dr. Jefferson Santos de Gois

Florianópolis  
Julho/2016

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Deila e Gilberto, que me deram forças para lutar, seguir sempre em frente e de cabeça erguida, encarando todos os desafios ao longo desses anos desde que entrei na faculdade. Por mais que eu tivesse medo, sempre me passaram confiança e estiveram ao meu lado. Amo vocês.

A minha irmã Caroline, que me incentivou a vir pra UFSC e me recebeu aqui em Florianópolis, inclusive foi ela que realizou minha matrícula. E que por mais que tantas vezes nos brigávamos, no fim das contas, tudo ficava bem.

Aos meus avós Zenir e Elias (*in memoriam*), que sempre entenderam a importância do meu estudo e me auxiliaram ao máximo no que eu precisei.

Ao professor Dr. Eduardo Carasek, que primeiramente, me aceitou como bolsista no laboratório da graduação, e em seguida no laboratório de pesquisa, CroMaas. Pelo apoio, conhecimento e orientação em meu trabalho.

Aos meus amigos e colegas do laboratório CroMaas, em especial ao Josias por todo auxílio e aprendizado e a Adri que me acolheu como uma mãe e me ensinou muito. Aos demais, cada um tem parte especial na minha vida acadêmica.

Ao meu amigo Andy, mais que amigo na verdade, ele esteve ao meu lado desde os primeiros passos dentro do curso, e mesmo quando esteve longe, eu sabia que estava presente.

Aos meus amigos e integrantes do grupo mais interessante do WhatsApp (IC's DOMINA), Morés, Murara e Ana, com certeza, vocês são demais. Sempre me fazem rir e me dão conselhos tão bons, continuem assim.

Aos meus amigos da Automação, que com certeza fizeram minha vida universitária muito mais feliz, seja em festas ou em bares, estiveram ao meu lado em diversas situações, e com certeza a parceria é forte e vai longe.

A minha amiga Nana, essa sim é guerreira por me aturar. Ela me animou em diversas vezes em que ficava pra baixo e com ela eu sabia que podia contar.

Ao Vinicius, que mesmo sem querer, chegou à minha vida numa hora boa. Sem dúvida é uma pessoa muito especial!

Aos amigos que a UFSC me deu e que nunca duvidaram do meu potencial, cada um que me acrescentou em algo sabe o quanto eu considero. Em especial, Aline com quem eu me identifiquei logo de cara, e vimos que nossa amizade daria muito certo.

Aos professores que tive ao longo da graduação, que me proporcionaram realizar o curso, e me mostraram que a química vai muito além do que vi no ensino médio.

A PRAE pelo auxílio financeiro, porque sem isso, eu não conseguiria me manter aqui ao longo da graduação.

E por fim, gostaria muito de agradecer a UFSC, foram alguns anos fazendo parte dessa universidade maravilhosa. E que venha o mestrado!

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>11</b>
2.1	Frutas tropicais .....	11
2.2	Alimentos minimamente processados.....	11
2.3	Compostos voláteis .....	12
2.4	Preparo de amostra .....	12
2.4.1	Microextração em fase sólida.....	13
2.5	Otimização de métodos analíticos .....	18
2.6	Cromatografia gasosa .....	19
2.6.1	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas .....	20
2.6.2	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama ..	21
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>22</b>
3.1	Objetivo geral .....	22
3.2	Objetivos específicos .....	22
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>23</b>
4.1	Materiais e reagentes.....	23
4.2	Amostras de abacaxi .....	23
4.3	Extração.....	23
4.4	Instrumentação e condições cromatográficas .....	24
4.5	Otimizações da técnica de microextração em fase sólida .....	25
4.5.1	Escolha do recobrimento polimérico da fibra.....	25
4.5.2	Avaliação da adição de sal .....	26
4.5.3	Otimização das condições experimentais .....	26
4.6	Determinação do perfil volátil das amostras de abacaxi.....	27
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
5.1	Otimizações da técnica de microextração em fase sólida .....	28
5.1.1	Escolha do recobrimento polimérico da fibra.....	28
5.1.2	Efeito da adição de sal.....	29
5.1.3	Condições ótimas de extração.....	29
5.2	Determinação e avaliação do perfil volátil das amostras de abacaxi.....	31
5.2.1	Amostras de abacaxi armazenadas a temperatura ambiente.....	31
5.2.2	Amostras de abacaxi armazenadas em refrigerador.....	35
5.2.3	Amostras de abacaxi armazenadas em congelador.....	39
5.3	Identificação dos compostos.....	43
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>REFÊRENCIAS</b> .....	<b>46</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Representação do conjunto aplicador e fibra de SPME. Legenda: (a) fibra, (b) agulha, (c) amostrador, (d) êmbolo.....	13
<b>Figura 2</b> – Representação do modo de extração DI-SPME.....	15
<b>Figura 3</b> – Representação do modo de extração HS-SPME. ....	16
<b>Figura 4</b> – Planejamento <i>Doehlert</i> . ....	19
<b>Figura 5</b> – Esquema representando um cromatógrafo a gás.....	20
<b>Figura 6</b> – Gráfico de barras da otimização do recobrimento polimérico para o procedimento HS-SPME. ....	28
<b>Figura 7</b> – Superfície de resposta obtida a partir de um planejamento <i>Doehlert</i> em relação às variáveis tempo e temperatura de extração. ....	30
<b>Figura 8</b> – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas à temperatura ambiente (25 °C). ....	32
<b>Figura 9</b> – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem a temperatura ambiente (25 °C). ....	34
<b>Figura 10</b> – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas em refrigerador (4 °C). ....	36
<b>Figura 11</b> – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em refrigerador (4 °C). ....	38
<b>Figura 12</b> – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas em congelador (-12 °C). ....	40
<b>Figura 13</b> – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em congelador (-12 °C). ....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Alguns dos recobrimentos poliméricos comercialmente disponíveis para SPME.....	14
<b>Tabela 2</b> – Recobrimentos poliméricos comerciais de SPME que foram testados para este trabalho.....	25
<b>Tabela 3</b> – Planejamento <i>Doehlert</i> para a otimização do tempo e temperatura de extração.....	27
<b>Tabela 4</b> – Compostos extraídos por HS-SPME a partir das amostras de abacaxi, identificados por espectrometria de massas e também pelos índices de retenção calculados e obtidos a partir da literatura.....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MS – Espectrômetro de massas, *do inglês Mass Spectrometer*

GC – Cromatografia Gasosa, *do inglês Gas Chromatography*

PDMS – polidimetilsiloxano

DVB – divinilbenzeno

PA – poliacrilato

Car – carboxeno

DVB/Car/PDMS – divinilbenzeno/carboxeno/polidimetilsiloxano

SPME - Microextração em Fase Sólida, *do inglês Solid-Phase Microextraction*

DI – imersão direta, *do inglês direct immersion*

HS – *do inglês headspace*

LTPRI – Índice de retenção com programação linear de temperatura, *do inglês linear temperature programmed retention indexes*

FID – Detector de ionização em chama, *do inglês flame ionization detector*

EI – Impacto de elétrons, *do inglês electron impact ionization*

PVC – Policloroeteno

PTFE – Politetrafluoretileno

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, *do inglês Gas Chromatography with Mass Spectrometer*

GC-FID – Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama, *do inglês Gas Chromatography with Flame Ionization Detector*

NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, *do inglês National Institute of Standards and Technology*

## RESUMO

Este trabalho apresenta a aplicação da técnica de microextração em fase sólida (SPME) para determinação e avaliação de possíveis mudanças no perfil volátil de amostras de abacaxi minimamente processadas e armazenadas em diferentes temperaturas e períodos de armazenagem. Foram estudadas as temperaturas de 25 °C, 4 °C e - 12 °C e os períodos de 1, 4 e 10 dias de armazenagem. O recobrimento da fibra de SPME que apresentou um melhor desempenho foi composto por Car/PDMS. As condições ótimas de extração foram obtidas a partir de um planejamento *Doehlert* e foram de 70 minutos a 35 °C. O perfil volátil da fruta foi determinado por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC - MS) e as otimizações foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (GC - FID). A variação no perfil volátil que foi avaliada em termos de número de sinais e intensidade de sinal (soma das áreas dos picos) ao longo do tempo foi maior quando as amostras foram armazenadas a 25 °C e a -12 °C se comparado quando armazenadas a 4 °C. Assim, de acordo com os resultados obtidos associados às condições de armazenagem avaliadas neste estudo, as amostras de abacaxi minimamente processado que mais mantiveram o perfil da fruta fresca, foram aquelas armazenadas a 4 °C e até o quarto dia de armazenagem.

**Palavras-chave:** *perfil volátil, alimentos minimamente processados, SPME.*

## 1 INTRODUÇÃO

O aroma é altamente dependente da composição qualitativa e quantitativa de compostos voláteis, e é um dos atributos mais importantes que afetam o consumo de alimentos. Logo, a determinação dos compostos presentes em aromas de diversas frutas e também de plantas vem sendo uma ferramenta muito utilizada para avaliação da qualidade das matrizes em questão.

Na vida urbana moderna o tempo para preparação de alimentos é limitado, fazendo com que o mercado busque alternativas para aumentar o consumo, mas também manter as características do produto fresco. Sendo assim, torna-se fundamental criar formas eficientes para garantir que as propriedades originais sejam mantidas ao máximo, por isso foram criados os alimentos minimamente processados. Como esses alimentos são submetidos a uma série de etapas dentre elas de descascamento e corte, isso pode fazer com que ocorra uma perda na qualidade do produto e conseqüentemente uma diminuição no tempo de prateleira onde estes são comercializados.

Desta forma, considera-se importante a realização de estudos em que seja feito o monitoramento de amostras de frutas ou outras matrizes de interesse simulando uma situação real, com a finalidade de avaliar a variação da qualidade de acordo com o tempo e temperatura de armazenagem e também o perfil volátil durante o decorrer desse tempo.

Para realização desse trabalho, a técnica de preparo de amostra utilizada foi a microextração em fase sólida (SPME, do inglês Solid-Phase Microextraction) no modo headspace aliada à técnica instrumental de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS, do inglês Gas Chromatography with Mass Spectrometer) as quais vêm sendo muito empregadas para avaliação de perfis voláteis.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Frutas tropicais**

As frutas tropicais tem encontrado um crescente reconhecimento nos últimos anos, e isto pode estar relacionado ao seu valor nutricional, por seus sabores exóticos e também pela procura por um estilo de vida saudável<sup>1</sup>. Entre as diversas frutas que têm sido amplamente consumidas pode-se destacar o abacaxi.

O abacaxi (*Ananas comosus*) é um fruto de regiões tropicais, sendo os principais produtores mundiais a Tailândia, Filipinas, Brasil, Indonésia, Costa Rica, China, Índia, Nigéria, México e Vietnã<sup>2</sup>. Este é um dos frutos mais populares cultivados em todo mundo. É extremamente refrescante, de sabor doce e ácido quando maduro. Alguns dos benefícios de seu consumo são: a perda de peso, alívio de dores musculares, ajuda na digestão, rica fonte de vitaminas e minerais, entre outros<sup>3</sup>.

Segundo PINO et al.,<sup>4</sup> as frutas podem ser consumidas frescas e são largamente utilizadas na indústria alimentícia para produção de conservas, geleias e suco concentrado, sendo a avaliação da qualidade desses alimentos de extrema importância.

### **2.2 Alimentos minimamente processados**

Nos dias atuais, como o tempo de preparo de alimentos é limitado, novos hábitos alimentares tem sido criados, ocasionando um aumento no consumo de alimentos prontos para comer ou processados em geral<sup>5</sup>. Ao mesmo tempo, a crescente demanda decorrente do consumo de alimentos que sejam frescos, saudáveis e nutritivos, tem estimulado o mercado a desenvolver diferentes formas de manter essas características em alimentos minimamente processados<sup>6</sup>.

Operações como lavar, descascar e cortar são etapas necessárias para preparar os alimentos minimamente processados, mas resultam na redução da vida do produto, se comparado a ele intacto<sup>7</sup>.

Estes alimentos são encontrados em supermercados, muitas vezes mantidos sob refrigeração e armazenados em embalagens plásticas ou em bandejas cobertas com filme de PVC, prontos para o consumo “in natura”.

### **2.3 Compostos voláteis**

Os compostos voláteis são substâncias que possuem elevada pressão de vapor à pressão atmosférica, logo facilmente volatilizam. Esses compostos pertencem a uma variedade de classes químicas, tais como, álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas, ésteres alifáticos e aromáticos, entre outros<sup>8</sup>.

Mesmo em quantidades reduzidas nos alimentos, eles são responsáveis pelo aroma que é um dos atributos fundamentais que afetam o consumo, contribuindo ao mesmo tempo para a definição do sabor. Eles também estão presentes em fragrâncias e essências, que são alguns dos ingredientes básicos para a indústria cosmética e a de alimentos<sup>9</sup>.

### **2.4 Preparo de amostra**

Praticamente a maioria dos equipamentos analíticos não permite analisar diretamente matrizes de amostras complexas, sendo necessário um procedimento de preparo de amostra, que é uma etapa determinante de uma análise química.

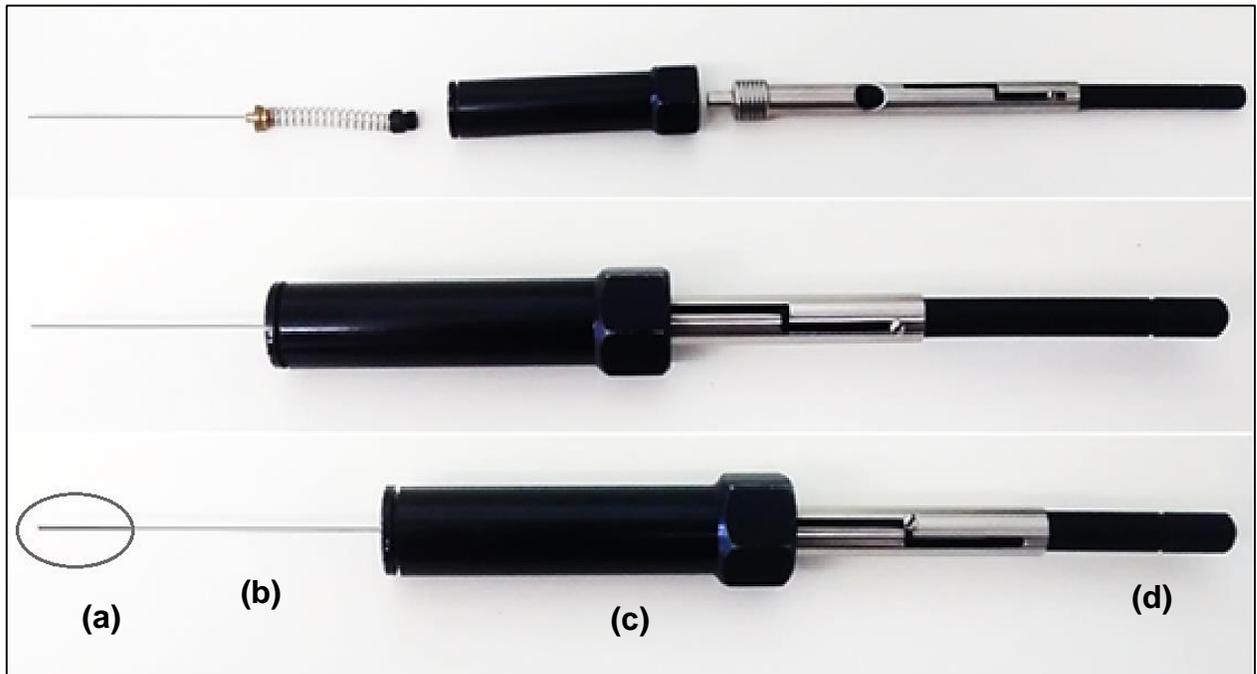
Esta etapa tem como finalidade isolar e concentrar os analitos a níveis adequados para análise e evitar interferências e incompatibilidades que podem ser geradas quando analisamos as matrizes em sua forma bruta<sup>10</sup>. As técnicas de preparo de amostra buscam diminuir o tempo de análise, reduzir o uso de solventes orgânicos visando uma menor geração de resíduos.

Atualmente, têm sido desenvolvidas diversas técnicas de preparo de amostra que apresentam elevada importância. As chamadas técnicas miniaturizadas, simplificadas e livres de solventes vêm ganhando destaque, dentre elas, a principal técnica utilizada para avaliar o aroma/perfil volátil de alimentos é a microextração em fase sólida<sup>11</sup>.

### 2.4.1 Microextração em fase sólida

A SPME foi proposta no início dos anos 90 por *Arthur e Pawliszyn*. Esta técnica de preparo da amostra consiste basicamente na extração e concentração de analitos os quais são sorvidos em uma fibra de sílica fundida que é revestida com uma fase extratora adequada. Tem grande aplicabilidade, pois não utiliza solvente, tem elevado poder de concentração, é aplicável a vários tipos de analitos e facilita o transporte do material extraído<sup>10</sup>. A Figura 1 representa o conjunto aplicador e fibra de SPME.

**Figura 1** – Representação do conjunto aplicador e fibra de SPME. Legenda: (a) fibra, (b) agulha, (c) amostrador, (d) êmbolo.



Fonte: Acervo pessoal (2016)

Esta técnica vem sendo utilizada em combinação com GC-FID e GC-MS para extração e determinação de uma grande variedade de compostos voláteis e semivoláteis a partir de matrizes alimentícias, amostras biológicas como sangue e urina, amostras de solo e água, entre outras<sup>11,12</sup>.

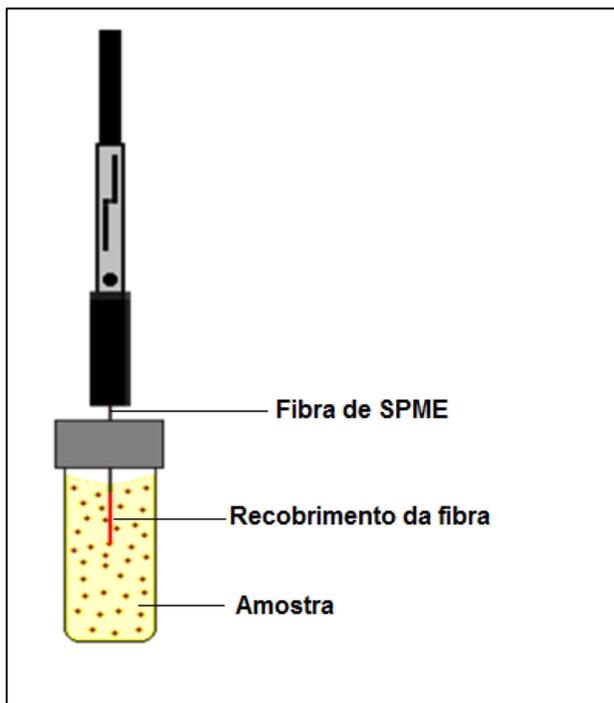
Na SPME a escolha do tipo de recobrimento da fibra é uma etapa de fundamental importância, pois a fase extratora adequada depende do tipo de analito que se deseja extrair/determinar. Existem diversos recobrimentos disponíveis comercialmente, conforme mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1** – Alguns dos recobrimentos poliméricos comercialmente disponíveis para SPME.

<b>Tipo</b>	<b>Composição Química</b>	<b>Espessura do filme (µm)</b>	<b>Principais aplicações</b>	<b>Referência</b>
<b>Não-polares</b>	PDMS	100	Compostos voláteis e semivoláteis.	13
		30		
		7	Compostos de elevado peso molecular.	
<b>Polares</b>	PA	85	Semivoláteis.	13
	PDMS/DVB	65	Compostos voláteis e semivoláteis de baixa a alta polaridade.	10
<b>Bipolares</b>	Car/PDMS	75	Gases, compostos de baixo peso molecular (PM 30 – 225).	13
		85		
	DVB/Car/PDMS	50/30	Ambos os tipos de compostos.	13

O processo de extração utilizando SPME pode ser realizado de duas maneiras, no modo de imersão direta (DI) e no modo *headspace* (HS). Na imersão direta (Figura 2) a fibra é exposta em contato direto com a amostra, essa forma de extração é ideal para a determinação de analitos de baixa volatilidade preferencialmente em amostras aquosas, mas uma das desvantagens é a possibilidade de danificação da fibra caso a amostra contenha materiais particulados<sup>14</sup>.

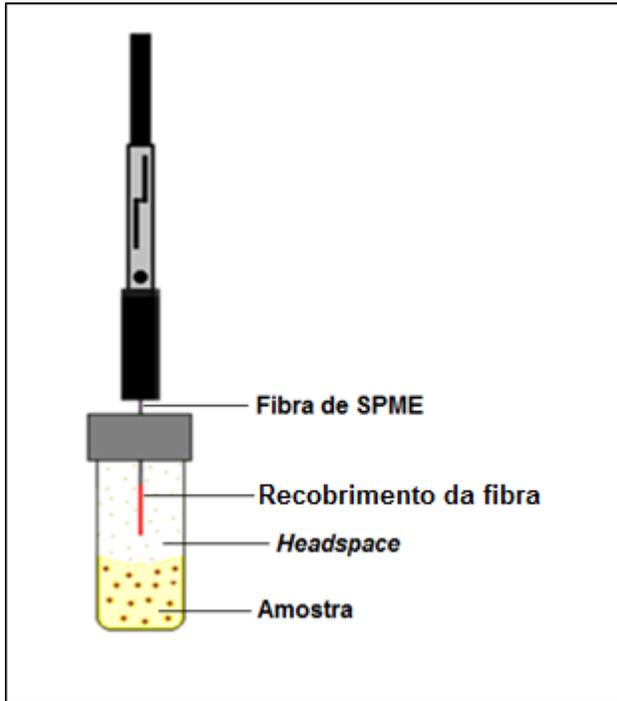
**Figura 2** – Representação do modo de extração DI-SPME.



Fonte: Adaptado de MERIB (2013)<sup>15</sup>

Já no modo *headspace* (Figura 3), a fibra é exposta na fase gasosa da amostra contida em um frasco lacrado, este modo é utilizado geralmente para amostras complexas, sólidas e em suspensões, e/ou que apresentem analitos de média à alta volatilidade<sup>14</sup>.

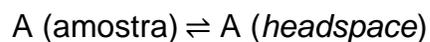
**Figura 3** – Representação do modo de extração HS-SPME.



Fonte: Adaptado de MERIB (2013)<sup>15</sup>

Diferente das técnicas convencionais, a SPME é uma técnica não exaustiva, sendo que apenas um pequeno volume da fase extratora (imobilizada em um suporte sólido) é exposto à amostra durante certo período de tempo, extraíndo somente uma porção do analito. A extração é realizada com base no equilíbrio entre os analitos presentes na amostra e o revestimento da fibra<sup>16</sup>.

Na extração por HS, os analitos migram entre três fases que estão envolvidas até que o equilíbrio seja alcançado. O sistema pode ser dividido em fibra (f), amostra (m) e *headspace* (h)<sup>15</sup>. Sendo assim, os seguintes equilíbrios e as respectivas constantes de equilíbrio (K) entre o analito (A) e as partes constituintes do sistema são definidos nas equações 1 e 2, respectivamente.



$$K_{mhs} = \frac{C_h}{C_m} \quad \text{Equação (1)}$$

$$A (\text{headspace}) \rightleftharpoons A (\text{fibra})$$

$$K_{hsf} = \frac{C_f}{C_{hs}} \quad \text{Equação (2)}$$

Somando as equações (1) e (2) pode-se chegar à equação resultante do processo de microextração representada em (3):

$$A (\text{amostra}) \rightleftharpoons A (\text{fibra})$$

$$K_{mf} = \frac{C_f}{C_m} \quad \text{Equação (3)}$$

Onde:

$C_f$  = concentração do analito extraída pela fibra

$C_m$  = concentração do analito presente na amostra

$C_{hs}$  = concentração do analito presente no *headspace* da amostra

$K_{mhs}$  = constante de equilíbrio amostra – *headspace*

$K_{hsf}$  = constante de equilíbrio *headspace* – fibra

$K_{mf}$  = constante de equilíbrio amostra – fibra

Através dessas representações, pode-se dizer que a quantidade inicial de analito presente na amostra é a soma das quantidades presentes na condição de equilíbrio e é alcançada nas três partes do sistema (amostra, *headspace* e fibra) e pode ser representada em (4):

$$n_0 = n_f + n_{hs} + n_m = c_0 \cdot V_m \quad \text{Equação (4)}$$

Onde:

$n_0$  = quantidade inicial do analito presente na amostra

$n_f$  = quantidade de analito extraída pela fibra no equilíbrio

$n_{hs}$  = quantidade de analito presente no *headspace* da amostra no equilíbrio

$n_m$  = quantidade de analito presente na matriz da amostra no equilíbrio

$c_0$  = concentração do analito na amostra

$V_m$  = volume de amostra

Utilizando as equações anteriores e fazendo algumas relações matemáticas, pode-se obter a equação que permite calcular a quantidade de analito extraída pela fibra, mostrada na equação (5):

$$nf = \frac{c_0 \cdot V_m \cdot K_{mhs} \cdot K_{hsf} \cdot V_f}{V_m + V_{hs} \cdot K_{mhs} + V_f \cdot K_{mhs} \cdot K_{hsf}} \quad \text{Equação (5)}$$

Desta forma, pode-se observar que o processo de microextração no *headspace* da amostra depende de algumas constantes de equilíbrio, já representadas anteriormente, bem como dos volumes de amostra e de fase extratora ( $V_m$  e  $V_f$ ) utilizados. Além disso, a quantidade de analito extraído ( $nf$ ) é diretamente proporcional à concentração inicial do analito presente na amostra ( $c_0$ ), que é a base analítica para quantificação em SPME.

## 2.5 Otimização de métodos analíticos

A otimização é um procedimento utilizado para melhorar o desempenho de um processo. Etapas de otimização vem sendo muito utilizadas na química analítica quando se deseja obter as condições de um determinado método em que se tenham as melhores respostas.

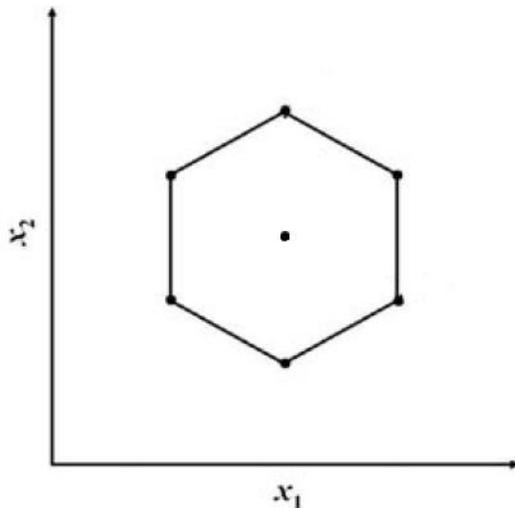
A técnica de otimização feita pela mudança de apenas uma das variáveis estudadas, mantendo as demais constante, é chamada de univariada. Mas como essa forma de otimização tem algumas desvantagens como a de não levar em consideração a interação das variáveis entre si e também a necessidade da realização de um número maior de experimentos.

A fim de superar esses problemas nas otimizações, a utilização de técnicas estatísticas multivariadas, as quais são utilizadas quando se deseja otimizar simultaneamente as variáveis para se obter um melhor desempenho do sistema.

Dentre os diversos planejamentos multivariados que podem ser utilizados para a construção de superfícies de resposta que permitam a identificação da região de melhor desempenho do sistema pode-se destacar o planejamento *Doehlert*<sup>14</sup>. Sendo destacado

por ser muito utilizado em procedimentos de preparo de amostra, o qual é empregado para duas variáveis, na qual existem 3 níveis para a variável  $X_1$  e cinco níveis para a variável  $X_2$ , conforme a Figura 4.

**Figura 4** – Planejamento *Doehlert*.



Fonte: Adaptado de DIAS (2015)<sup>14</sup>

## 2.6 Cromatografia gasosa

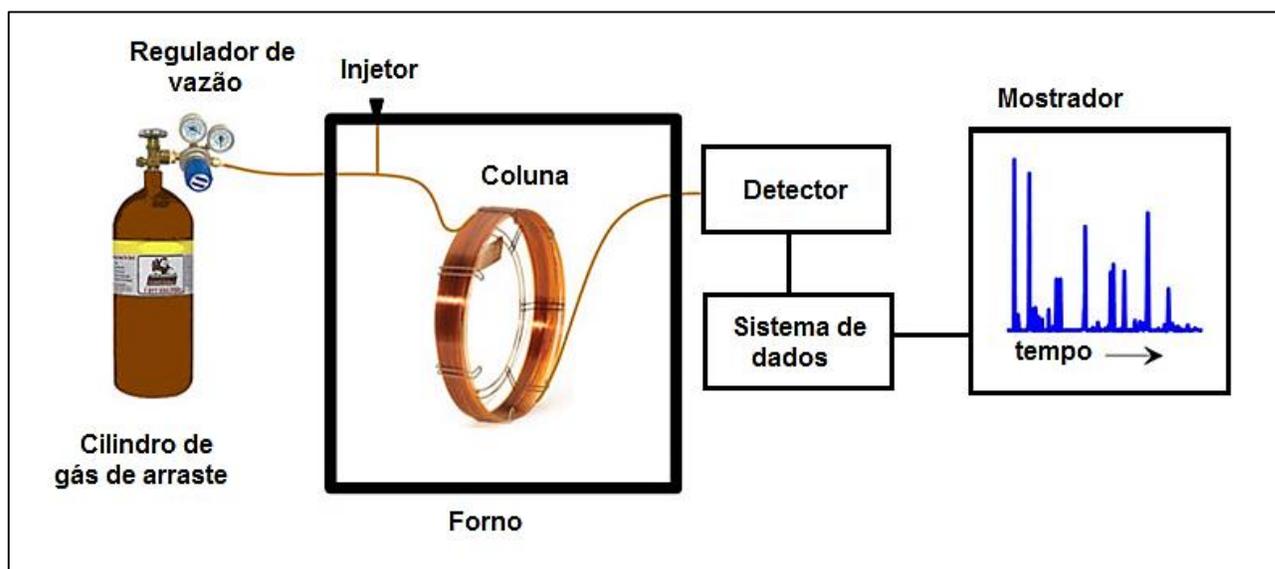
A técnica de separação que foi empregada nesse trabalho é conhecida como cromatografia gasosa (GC). Esta técnica é muito utilizada em análises qualitativas e quantitativas e tem sido ferramenta analítica indispensável em vários laboratórios.

A técnica de GC consiste na separação dos componentes de uma amostra vaporizada e injetada na coluna cromatográfica, baseada em seus pontos de ebulição e nas diferenças na retenção desses compostos em uma fase estacionária. O carreamento dos compostos é realizado mediante um fluxo de gás de arraste inerte, ou seja, que não interaja com os analitos presentes na amostra, mas que apenas transporte-os através da coluna.

Os componentes necessários em cromatografia gasosa são basicamente, um cilindro de gás de arraste e o regulador de vazão, sistema de injeção, um forno cromatográfico onde está contida a coluna cromatográfica seguida do detector, e de um

computador para o controle do sistema e análise de dados<sup>17</sup>. A Figura 5 representa um esquema típico de cromatógrafo a gás.

**Figura 5** – Esquema representando um cromatógrafo a gás.



Fonte: Adaptado de AGILENT TECHNOLOGIES (2011)<sup>18</sup>

### 2.6.1 Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas

A técnica instrumental de GC-MS é muito utilizada a fim de alcançar uma boa separação/identificação de compostos em uma mistura. É aplicada para análises de compostos voláteis e semivoláteis, e é muito útil, pois fornece os espectros de massas, o qual pode ser utilizado para se obter as possíveis estruturas dos compostos bem como suas respectivas massas moleculares.

A quantificação é feita pelas áreas dos picos cromatográficos correspondentes a cada composto em estudo, e a identificação dos analitos pode ser realizada com o auxílio de uma biblioteca contendo diversos espectros de massas de moléculas conhecidas (NIST 05). A identificação também pode ser realizada através do índice de retenção com programação linear de temperatura (LTPRI), o qual é utilizado devido à presença de estruturas semelhantes na amostra e que permite uma identificação das mesmas<sup>19</sup>.

Os índices de retenção são calculados a partir da injeção de uma solução padrão que pode ser de alcanos, ésteres metílicos de ácidos graxos, álcoois entre outros, empregando a equação 6.

$$LTPRI = 100n + 100 \frac{t_{R(i)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \quad \text{Equação (6)}$$

Onde:  $t_R$  é o tempo de retenção, sendo (i) referente ao analito, (n) ao número de carbonos do padrão adjacente menos retido e (n+1) ao número de carbonos do padrão adjacente mais retido.

Fonte: MUHLEN (2009)<sup>19</sup>

### 2.6.2 Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama

A GC-FID consiste basicamente de uma chama de ar/hidrogênio na qual os compostos orgânicos produzem íons e elétrons quando pirolisados. A detecção é feita pelo monitoramento da corrente produzida pela coleta das espécies portadoras de elétrons.

É muito aplicada para análise de amostras orgânicas, tais como matrizes aquosas contendo óxidos de nitrogênio e enxofre. Uma desvantagem do uso do detector de ionização em chama é que ele destrói a amostra durante a etapa de combustão<sup>17</sup>.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

O trabalho teve como principal objetivo a avaliação do perfil volátil de amostras de abacaxi minimamente processadas sob diferentes temperaturas e períodos de armazenagem utilizando SPME no modo *headspace* e GC-MS.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Determinação do melhor recobrimento polimérico da fibra para maior eficiência de extração;
- Otimização da técnica de microextração em fase sólida para a extração dos compostos presentes nas amostras. As variáveis otimizadas foram o tempo de extração, temperatura de extração e o efeito da força iônica no meio;
- Determinação do perfil volátil e verificação de possíveis mudanças, tendo em vista as diferentes temperaturas e períodos de armazenagem;
- Identificação dos compostos presentes com uso da biblioteca do massas e cálculo do LTPRI.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 Materiais e reagentes**

Para executar as microextrações foram empregadas fibras comerciais de SPME com os seguintes recobrimentos poliméricos: PDMS/DVB (65  $\mu\text{m}$  de espessura), PDMS (100  $\mu\text{m}$ ), DVB/Car/PDMS (50/30  $\mu\text{m}$ ), Car/PDMS (85  $\mu\text{m}$ ) da Supelco. Na etapa de avaliação da força iônica foi utilizado cloreto de sódio P.A. (Vetec, Brasil). Para identificação dos compostos, uma mistura contendo alcanos ( $\text{C}_7 - \text{C}_{30}$ ) 1000  $\mu\text{g/mL}$  de cada componente em hexano (Sigma-Aldrich, EUA) foi empregada. Foram utilizados frascos de 40 mL (Supelco, EUA) com septos PTFE/silicone, banho termostático (Nova Técnica, Brasil), uma balança analítica (Marte Científica, Brasil).

### **4.2 Amostras de abacaxi**

Inicialmente, o abacaxi fresco que foi adquirido em um supermercado localizado na cidade de Florianópolis, estado de Santa Catarina – Brasil. Depois de ser transportado para o laboratório, foi lavado com detergente neutro, água ultrapura e hipoclorito de sódio. Após 15 minutos, o fruto foi descascado e cortado em pedaços menores que foram embalados em placas de poliestireno de 15 cm de diâmetro e cobertos com filme de PVC, armazenados sob diferentes formas: a temperatura ambiente (25  $^{\circ}\text{C}$ ), sob refrigeração (4  $^{\circ}\text{C}$ ) e congelados (-12  $^{\circ}\text{C}$ ). Também sendo analisadas alíquotas da amostra em diferentes períodos de armazenagem: 1, 4, e 10 dias.

### **4.3 Extração**

As extrações foram realizadas em frascos de 40 mL devidamente vedados com tampa de PTFE/Silicone contendo a amostra previamente pesada, sendo que a fibra foi exposta no modo *headspace* e utilizando um banho termostático a fim de manter a temperatura constante.

#### 4.4 Instrumentação e condições cromatográficas

As otimizações foram realizadas em um cromatógrafo a gás modelo 7820A da marca *Agilent Technologies* equipado com um detector FID (Santa Clara, EUA) utilizando uma coluna cromatográfica DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). O programa de temperatura do forno foi: 40 °C (mantido durante 1 minuto) seguido de aquecimento a uma taxa de 5 °C/min até 240 °C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 260 °C e 270 °C, respectivamente. Hidrogênio ultrapuro foi utilizado como o gás carreador a uma vazão de 1,0 mL/min. As injeções foram realizadas no modo *splitless*.

Para determinação do perfil volátil e identificação dos compostos foi utilizado um cromatógrafo a gás modelo QP2010 da marca *Shimadzu* equipado com um detector MS (Kyoto, Japão) utilizando uma coluna capilar ZB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). O programa de temperatura foi: 40 °C (mantido durante 1 minuto) seguido de aquecimento a uma taxa de 5 °C/min até 240 °C. A temperatura da interface e da fonte de ionização foram fixadas em 270 °C e 260 °C, respectivamente. Para o GC-MS, hélio ultrapuro foi utilizado como o gás carreador a uma vazão de 1,0 mL/min. A injeção foi realizada no modo *splitless*, a temperatura do injetor foi de 250 °C e o tempo de dessorção da fibra foi de 25 minutos para evitar efeito de memória. O espectrômetro de massas foi operado no modo de impacto de elétrons (EI) a 70 eV, sendo utilizado o modo SCAN.

## 4.5 Otimizações da técnica de microextração em fase sólida

### 4.5.1 Escolha do recobrimento polimérico da fibra

Na primeira parte deste estudo, foi realizada a escolha do recobrimento polimérico da fibra de SPME. Foram testados quatro recobrimentos poliméricos comercialmente disponíveis para SPME, conforme mostrado na Tabela 2:

**Tabela 2** – Recobrimentos poliméricos comerciais de SPME que foram testados para este trabalho.

Composição Química	Espessura do filme ( $\mu\text{m}$ )
PDMS/DVB	65
PDMS	100
DVB/Car/PDMS	50/30
Car/PDMS	85

Fonte: Autoria própria (2016)

Nesta etapa de otimização, massas de 0,55 g de abacaxi previamente preparado de acordo com o procedimento anteriormente citado, foram colocadas em frascos selados. Estes frascos contendo as amostras foram individualmente conduzidos a um banho termostático programado em 40 °C e mantido durante 5 minutos para estabilizar a temperatura antes da extração. Após esse tempo, o recobrimento polimérico da fibra foi introduzido no frasco e as extrações foram realizadas durante 40 minutos. Como mencionado, todas as etapas de otimização foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um detector de ionização em chama. As separações cromatográficas foram realizadas de acordo com o programa de temperatura descrito na seção anterior (4.4) e a injeção foi realizada no modo *splitless*. Nesta etapa, as análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.5.2 Avaliação da adição de sal

A variação da concentração de sal afeta a força iônica a qual é um parâmetro importante em SPME, sendo que a adição de sal pode aumentar ou não a quantidade extraída. Isso depende do composto e da concentração do sal<sup>14</sup>. Para avaliação do efeito da adição de sal no meio, foram utilizadas massas de 0,55 g das amostras de abacaxi que foram submetidas aos procedimentos HS-SPME na sua forma bruta, ou seja, sem a adição de reagentes químicos e também com a adição de uma solução saturada de NaCl que estava disponível no laboratório. A fibra de SPME composta de Car/PDMS (anteriormente otimizada) foi empregada e as microextrações foram realizadas no tempo de extração de 40 minutos e a temperatura de extração de 40 °C. As separações cromatográficas foram realizadas por GC-FID de acordo com o programa de temperatura descrito anteriormente (seção 4.4) e a injeção foi realizada no modo *splitless*. Nesta etapa, as análises foram realizadas em duplicata.

#### 4.5.3 Otimização das condições experimentais

As condições experimentais para o procedimento HS-SPME também foram otimizadas. Uma otimização multivariada de acordo com um planejamento *Doehlert* foi realizada com triplicata no ponto central, sendo as variáveis estudadas, o tempo de extração de 20 a 100 minutos e a temperatura de extração de 20 a 40 °C, conforme mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3** – Planejamento *Doehlert* para a otimização do tempo e temperatura de extração.

<b>Experimento</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>
1	20	30
2	40	20
3	40	40
4	60	30
5	60	30
6	60	30
7	80	20
8	80	40
9	100	30

Fonte: Autoria própria (2016)

#### **4.6 Determinação do perfil volátil das amostras de abacaxi**

Após a realização de todas as otimizações, foram pesadas alíquotas de 30 mg de amostra que foram conduzidas aos procedimentos HS-SPME utilizando a fibra composta de Car/PDMS, para a determinação dos compostos que constituem o aroma da fruta de acordo com as diferentes temperaturas e períodos de armazenagem. A separação/detecção dos compostos foi realizada por GC-MS e a identificação feita com o auxílio da biblioteca do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST 05). Além disso, os índices de retenção para cada composto foram calculados e comparados com os dados previamente relatados na literatura.

Nesta etapa, as análises foram realizadas em duplicata. Sendo analisadas no período de: 1,4 e 10 dias e nas temperaturas de armazenagem de: 25 °C, 4 °C e - 12 °C.

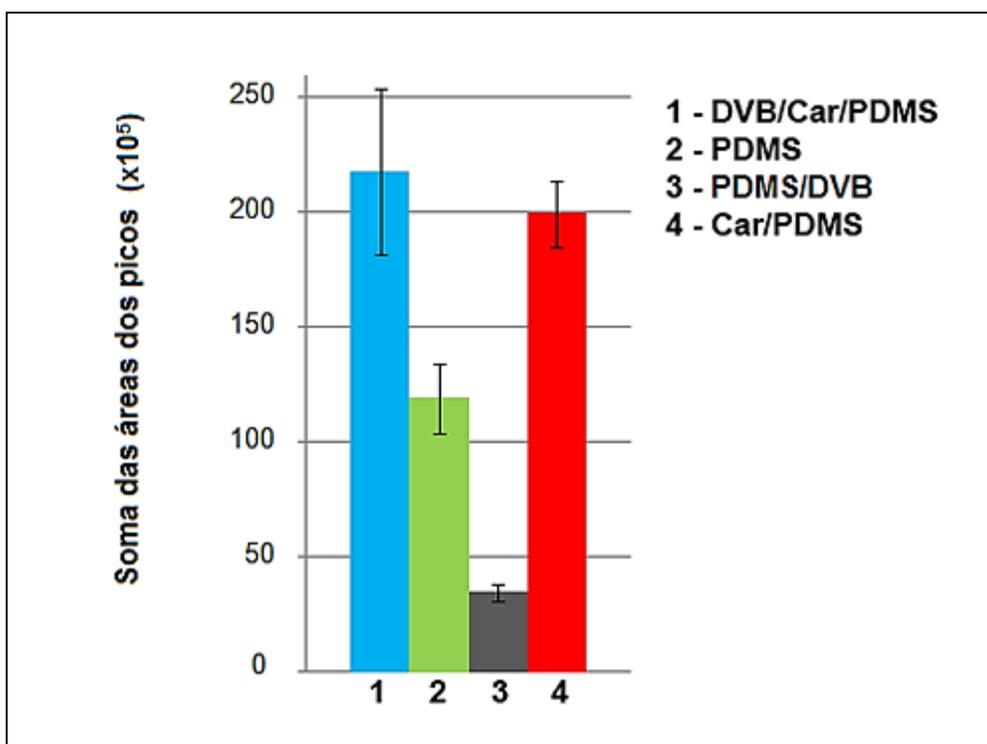
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Otimizações da técnica de microextração em fase sólida

#### 5.1.1 Escolha do recobrimento polimérico da fibra

Na escolha do recobrimento polimérico da fibra foi usada como resposta a soma das áreas dos picos de todos os compostos extraídos. A Figura 7 mostra o gráfico de barras que contém a soma das áreas dos picos obtidos para cada recobrimento polimérico testado.

**Figura 6** – Gráfico de barras da otimização do recobrimento polimérico para o procedimento HS-SPME.



\*Condições: 0,55 g de abacaxi, temperatura empregada de 40 °C, tempo de extração de 40 min.

Fonte: Autoria própria (2016)

De acordo com a Figura 7, as fibras compostas por DVB/Car/PDMS e Car/PDMS apresentaram uma maior eficiência de extração e a soma das áreas dos picos obtidos para essas duas fibras foram muito semelhantes. No entanto, a fibra composta por DVB/Car/PDMS apresentou um desvio padrão mais elevado se comparado ao da fibra composta por Car/PDMS. Portanto, para realização deste trabalho, foi escolhida a fibra composta por Car/PDMS. Este recobrimento polimérico bipolar apresenta boa capacidade de extração para vários tipos de compostos, devido à presença de carboxeno (grande capacidade de extração de compostos voláteis) e também PDMS (grande capacidade de extração de compostos semivoláteis). Logo é uma opção muito interessante para a determinação do perfil volátil de vários tipos de matrizes contendo uma ampla gama de compostos com diferentes volatilidades<sup>20</sup>.

### **5.1.2 Efeito da adição de sal**

Utilizando a fibra composta pelo recobrimento polimérico previamente otimizado, foi avaliado o efeito provocado pela adição de solução saturada de NaCl na eficiência de extração dos compostos nas amostras de abacaxi. As análises foram realizadas com a adição de 5 mL de solução saturada de NaCl nos frascos contendo 0,55 g da fruta, e também foram feitas análises sem a adição de sal.

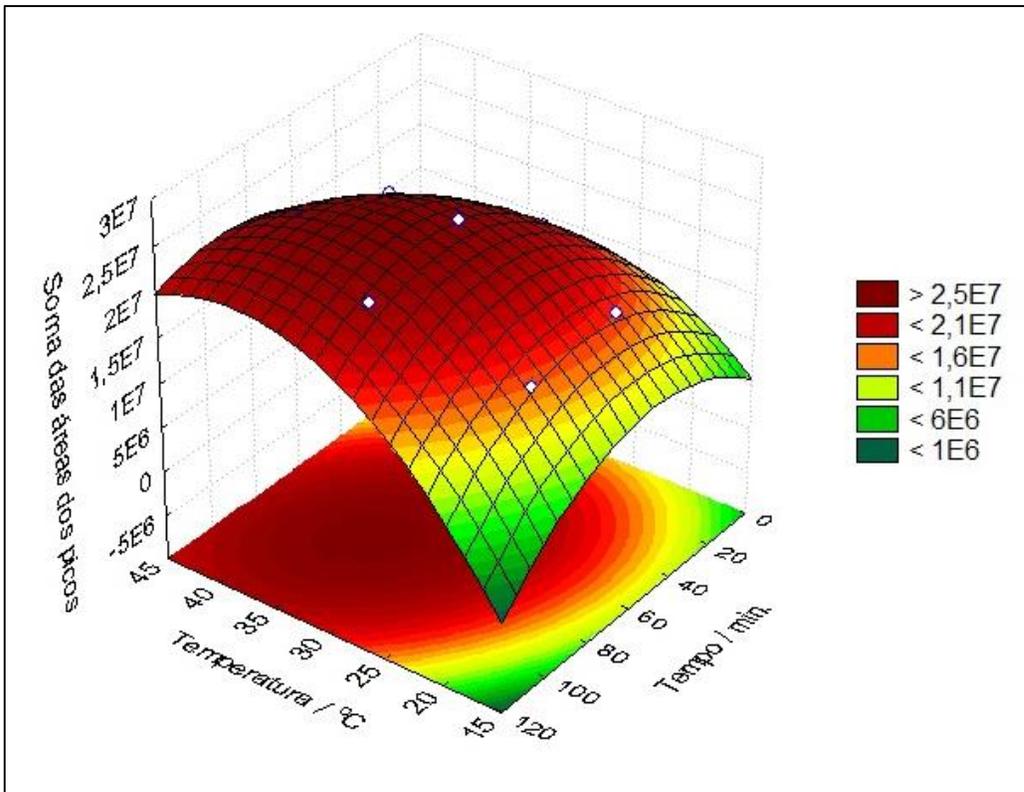
Eficiências de extração mais elevadas foram obtidas para as amostras sem a adição de solução saturada de NaCl, e com isso, esta condição foi escolhida para realização das outras etapas de otimização deste estudo.

### **5.1.3 Condições ótimas de extração**

Para determinação das condições ideais de extração em relação ao procedimento HS-SPME foi realizada uma otimização multivariada. Para isso, as variáveis estudadas foram o tempo e a temperatura de extração. A soma das áreas dos picos cromatográficos correspondente a todos os compostos foi utilizada como resposta e um planejamento *Doehlert* foi aplicado. No planejamento *Doehlert*, o tempo de extração foi estudado em cinco níveis (20, 40, 60, 80 e 100 minutos) e a temperatura de

extração foi avaliada em três níveis (20, 30 e 40 °C). A superfície de resposta obtida é mostrada na Figura 8.

**Figura 7** – Superfície de resposta obtida a partir de um planejamento *Doehlert* em relação às variáveis tempo e temperatura de extração.



Fonte: Autoria própria (2016)

Como pode ser observado na Figura 8, as respostas mais elevadas foram obtidas empregando o tempo de extração de 70 minutos e uma temperatura de 35 °C. Logo, esta condição de extração foi selecionada para a realização da determinação do perfil volátil das amostras de abacaxi em diferentes temperaturas e períodos de armazenagem.

## **5.2 Determinação e avaliação do perfil volátil das amostras de abacaxi**

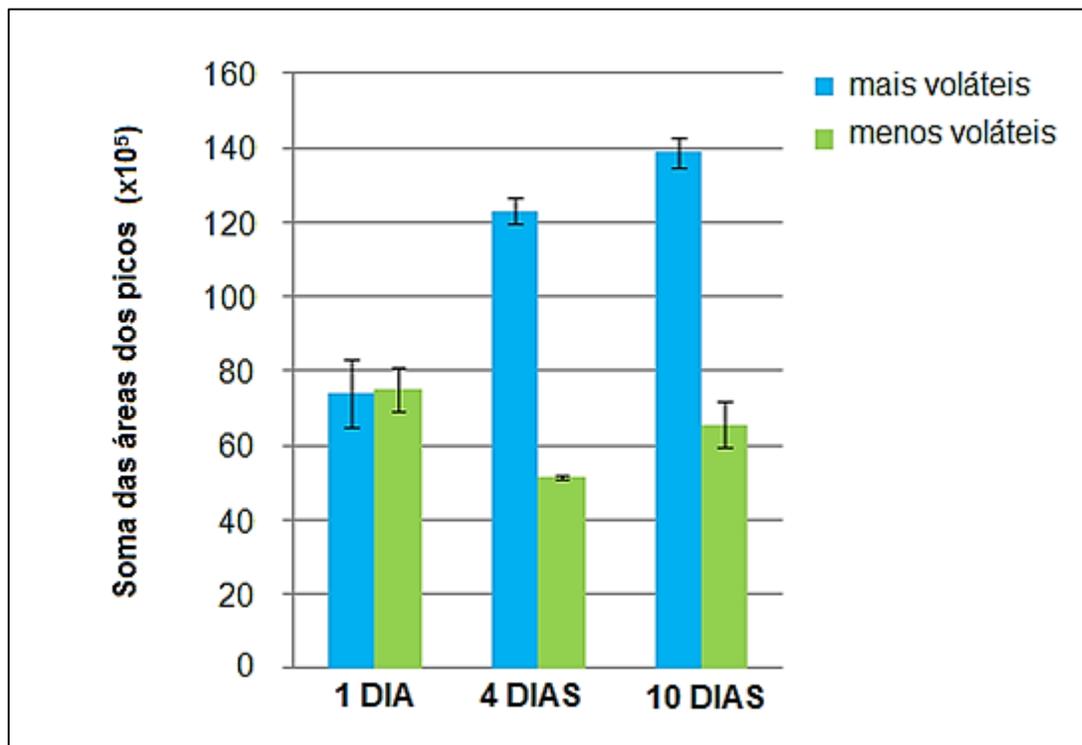
### **5.2.1 Amostras de abacaxi armazenadas a temperatura ambiente**

Utilizando as condições experimentais anteriormente otimizadas, os perfis voláteis das amostras armazenadas à temperatura ambiente (25 °C) foram determinados em três diferentes períodos de armazenagem (1, 4 e 10 dias) por GC-MS. Para avaliar as mudanças do perfil volátil em cada etapa, foram construídos gráficos de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos.

Para realizar um estudo mais detalhado, os compostos foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo (compostos mais voláteis) foi de compostos que eluíram até 12 minutos, e o segundo grupo (compostos menos voláteis) os compostos que eluíram após esse tempo.

De acordo com o gráfico de barras mostrado na Figura 9, pode-se observar uma grande diferença entre as áreas dos picos correspondentes ao perfil volátil das amostras de abacaxi em tempos de armazenagem distintos, principalmente relacionado com os compostos mais voláteis. Para estes compostos, ocorreu um grande aumento nas áreas dos picos, principalmente do primeiro ao quarto dia. Por outro lado, para os compostos menos voláteis não se observou grande diferença no perfil volátil.

**Figura 8** – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas à temperatura ambiente (25 °C).



\*Condições HS-SPME: 30 mg de abacaxi, temperatura de extração empregada de 35 °C, tempo de extração de 70 minutos.

Fonte: Autoria própria (2016)

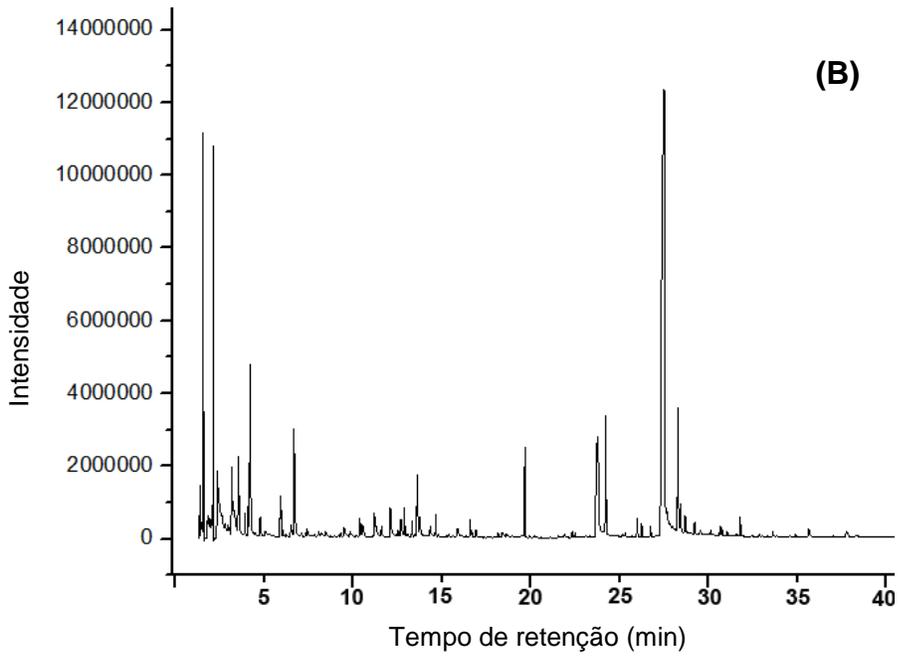
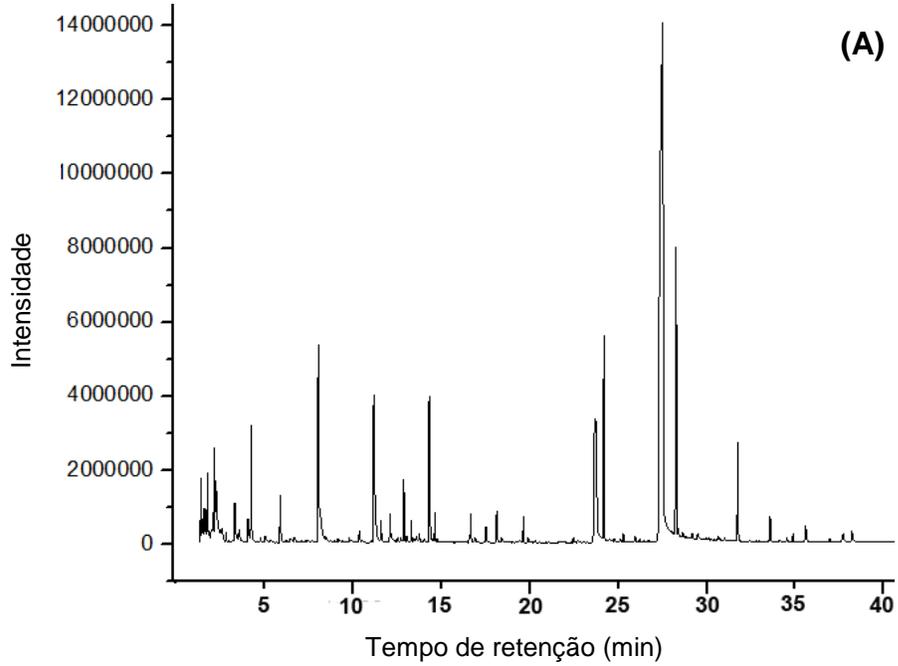
Para os compostos mais voláteis (até 12 minutos de eluição) ocorreu um grande aumento nos picos correspondentes ao álcool etílico e acetato de etila no quarto dia de armazenagem, se comparado ao primeiro dia em que ambos estavam presentes, porém em menor intensidade. Além disso, no quarto dia, houve o aparecimento de vários ésteres metílicos de ácidos carboxílicos, tais como 2-metilbutanoato de etila, 3-metilbutanoato de etila. Outra alteração importante foi o aparecimento de etanal e também um aumento da área do pico cromatográfico correspondente ao 3-metil-1-butanol, no décimo dia de armazenagem. Já para o composto 3-(metiltio)propanoato de metila, ocorreu uma diminuição da área do pico, principalmente no cromatograma do décimo dia de armazenagem. Os compostos de enxofre, tais como o 3-

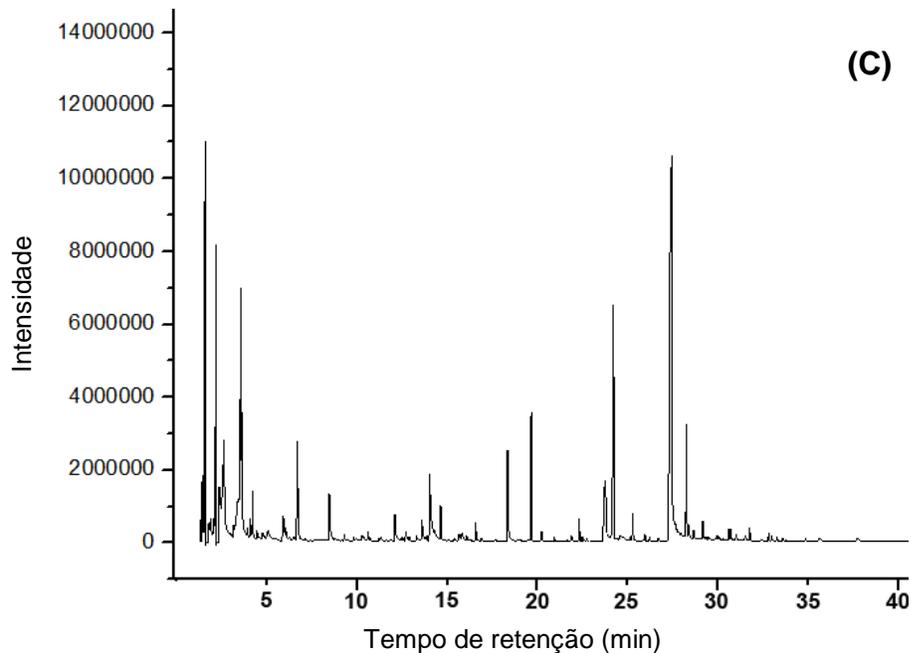
(metiltio)propanoato de metila, foram encontrados numa ampla variedade de produtos alimentares. Em vários casos, estes compostos podem ser os principais contribuintes para o odor de muitos alimentos<sup>2</sup>. Outro composto muito importante por ser conhecido como o aroma característico do abacaxi, é o éster hexanoato de metila<sup>21</sup>, que também teve diminuição na intensidade do pico.

Em relação aos compostos menos voláteis extraídos, algumas mudanças também foram observadas. Neste caso, a soma das áreas dos picos variaram com menor intensidade, se comparados com os compostos mais voláteis, como pode ser observado no gráfico de barras da Figura 9. As principais alterações observadas foram em relação a uma diminuição na intensidade de pico para  $\gamma$ -hexalactona no quarto dia de armazenagem. Estes compostos, em particular  $\delta$ -lactonas e  $\gamma$ -lactonas são importantes contribuintes para o aroma típico de vários alimentos, incluindo uma ampla variedade de frutas e produtos<sup>22</sup>.

Os cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem a temperatura ambiente encontram-se na Figura 10.

**Figura 9** – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem a temperatura ambiente (25 °C).





\*Condições HS-SPME: tempo de extração de 70 minutos, temperatura de extração de 35 °C. (A) Primeiro dia de armazenagem; (B) Quarto dia de armazenagem; (C) Décimo dia de armazenagem.

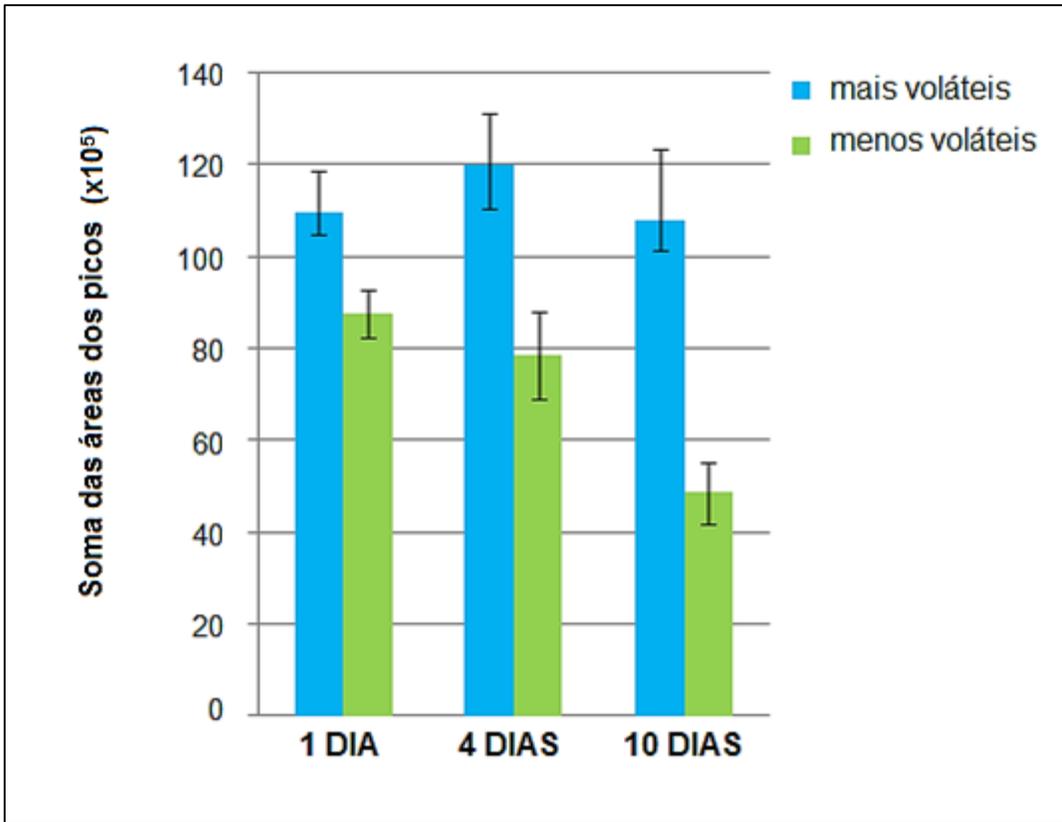
Fonte: Autoria própria (2016)

### 5.2.2 Amostras de abacaxi armazenadas em refrigerador

A avaliação do perfil volátil também foi realizada para as amostras armazenadas a 4 °C. O mesmo procedimento empregado para as amostras armazenadas à temperatura ambiente (25 °C) foi utilizado neste caso.

O gráfico de barras na Figura 11 mostra as variações da soma das áreas dos picos para os compostos mais voláteis (até o tempo de eluição de 12 minutos) e para os compostos menos voláteis (após 12 minutos de tempo de eluição).

**Figura 10** – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas em refrigerador (4 °C).



\*Condições HS-SPME: temperatura de extração de 35 °C, tempo de extração de 70 minutos, 30 mg de abacaxi.

Fonte: Autoria própria (2016)

De acordo com o gráfico de barras da Figura 11, foi observado que as principais diferenças encontradas foram em relação aos compostos menos voláteis e isto ocorreu no décimo dia de armazenagem. Por comparação, o primeiro e o quarto dia de armazenagem tiveram poucas modificações levando em consideração os erros associadas a cada análise. Este fato não ocorre com as amostras armazenadas a 25 °C (Figura 9), onde houve uma grande diferença entre o primeiro e o quarto dia.

Este pode ser um indicador muito útil de que o aspecto fresco do abacaxi pode ser mantido durante um tempo mais longo se os pedaços da fruta forem mantidos refrigerados.

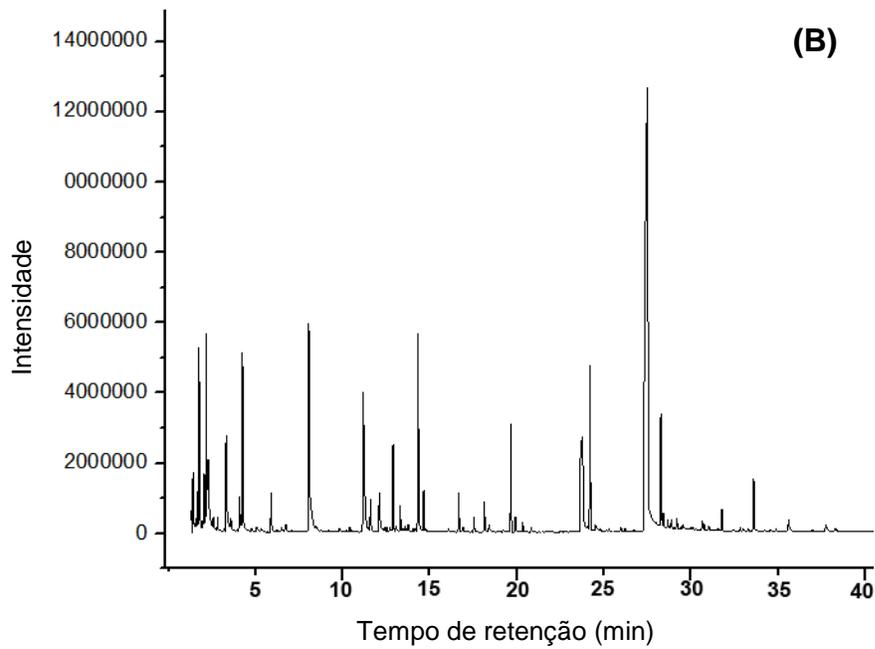
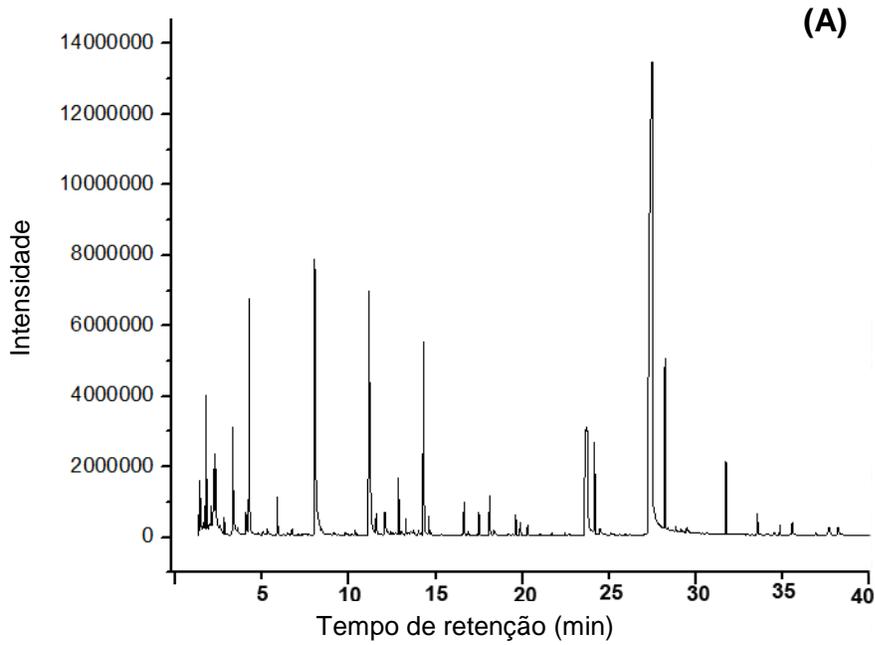
As principais alterações que ocorreram no perfil cromatográfico das amostras armazenadas a 4 °C em relação aos compostos menos voláteis, foi um aumento nas áreas correspondentes aos compostos acetato de etila e acetato de metila. Entretanto, as variações no perfil volátil foram menos intensas se comparado às alterações que ocorreram para as amostras armazenadas à temperatura ambiente.

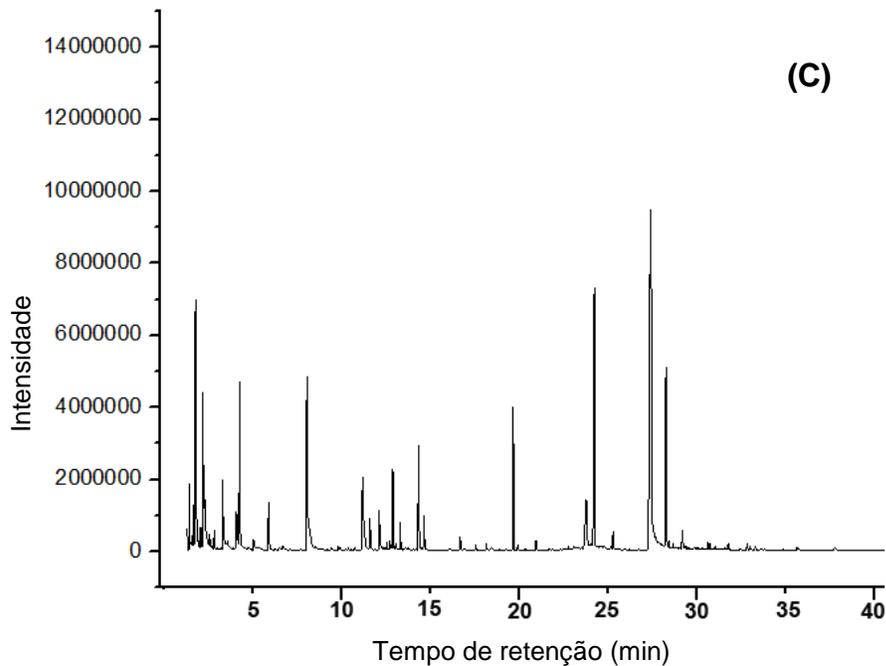
As respostas cromatográficas para dois constituintes importantes do aroma do abacaxi (3-(metiltio)propanoato de metila e hexanoato de metila) foram menos afetadas usando a temperatura de armazenagem de 4 °C, sendo ambos detectados mesmo no décimo dia, o que é muito importante visando manter as características do fruto fresco. No entanto, para o quarto e décimo dia de armazenagem a temperatura ambiente, esses componentes praticamente não foram detectados.

Já para compostos menos voláteis, o uso de baixas temperaturas de armazenagem também apresentou excelentes resultados a fim de manter o perfil volátil original das amostras de abacaxi. Apenas no décimo dia de armazenagem ocorreu uma diminuição nas áreas dos picos correspondentes ao 7-oxooxanoato de metila e decanoato de metila.

Os cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em refrigerador (4 °C), encontram-se na Figura 12.

**Figura 61** – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em refrigerador (4 °C).





\*Condições HS-SPME: tempo de extração de 70 minutos, temperatura de extração de 35 °C. (A) Primeiro dia de armazenagem; (B) Quarto dia de armazenagem; (C) Décimo dia de armazenagem.

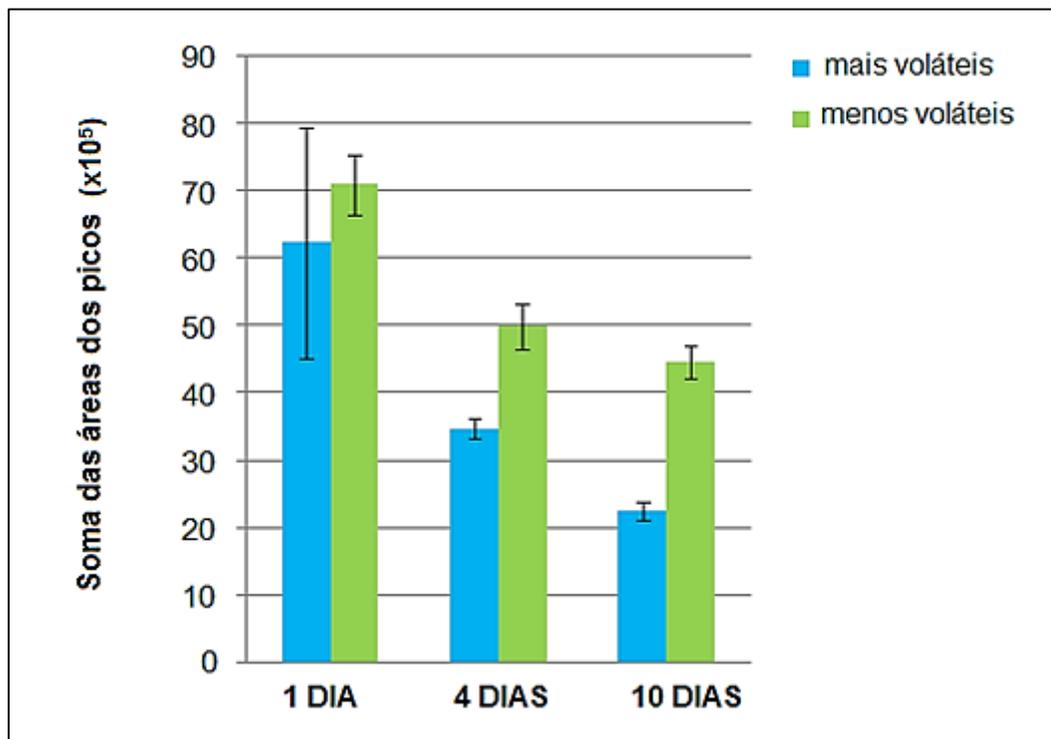
Fonte: Autoria própria (2016)

### 5.2.3 Amostras de abacaxi armazenadas em congelador

A avaliação do perfil volátil também foi realizada para as amostras armazenadas a -12 °C. O mesmo procedimento empregado para as amostras armazenadas à temperatura ambiente (25 °C) e em refrigerador (4 °C) foi utilizado neste caso.

O gráfico de barras na Figura 13 mostra as variações da soma das áreas dos picos para todos os compostos nos diferentes períodos de armazenagem.

**Figura 72** – Gráfico de barras contendo a soma das áreas dos picos cromatográficos dos compostos extraídos de amostras de abacaxi armazenadas em congelador (-12 °C).



\*Condições HS-SPME: temperatura de extração de 35 °C, tempo de extração de 70 minutos, 30 mg de abacaxi.

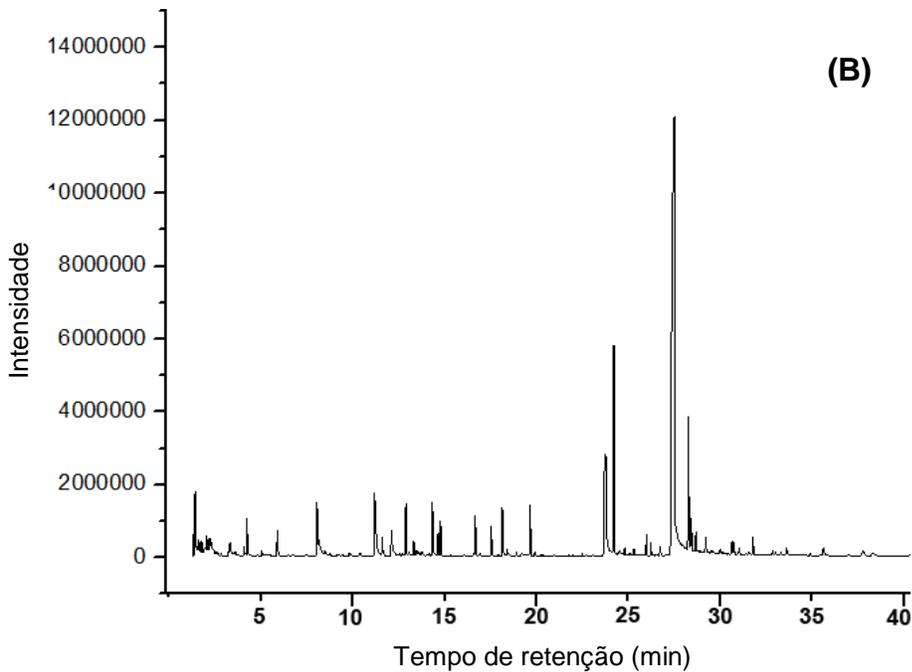
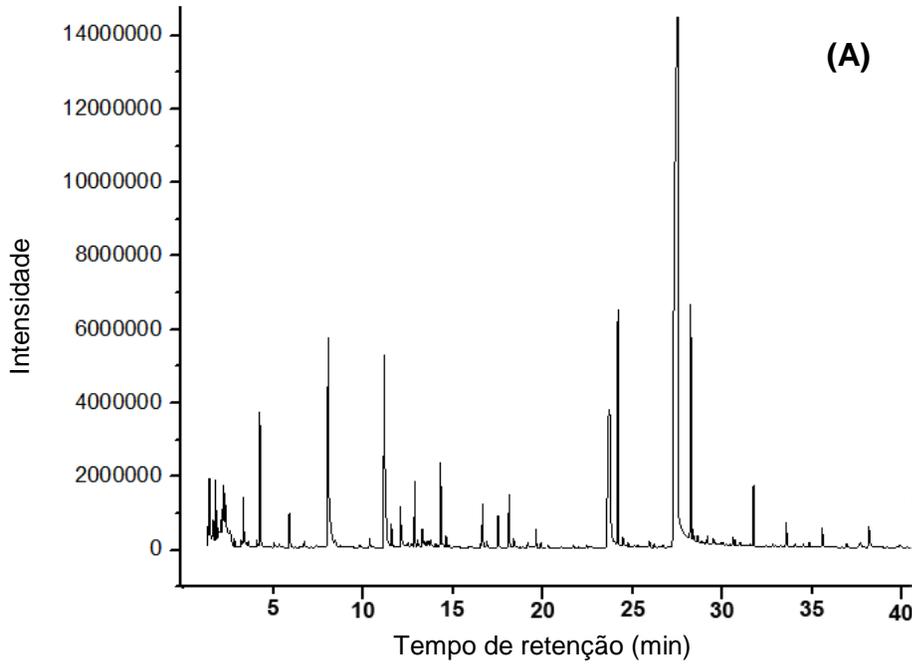
Fonte: Autoria própria (2016)

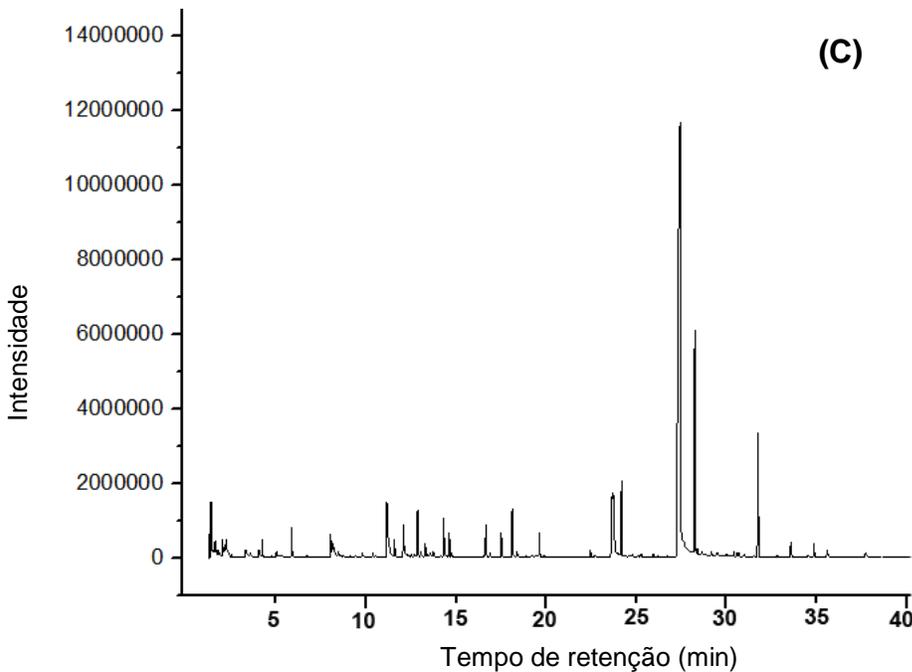
Como pode ser visto na Figura 13, teve uma redução para a soma das áreas dos picos cromatográficos. Além disso, uma grande redução foi observada desde o primeiro dia em ambos os casos. Esta diferença pode ser uma evidência interessante para amostras de frutas, ainda que congeladas, não apresentam o mesmo perfil volátil da fruta fresca.

Para os compostos mais voláteis, houve uma diminuição intensa nas áreas dos picos correspondentes ao acetato de metila, acetato de etila, 2-metilbutanoato de metila, hexanoato de metila e 3-(metiltio)propanoato de metila. Para os compostos menos voláteis, ocorreu um decréscimo nas áreas dos picos dos analitos: octanoato de metila, octanoato de etila e decanoato de metila.

Os cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em congelador (-12 °C) encontram-se na Figura 14.

**Figura 83** – Cromatogramas correspondentes a cada período de armazenagem das amostras armazenadas em congelador (-12 °C).





\*Condições HS-SPME: tempo de extração de 70 minutos, temperatura de extração de 35 °C. (A) Primeiro dia de armazenagem; (B) Quarto dia de armazenagem; (C) Décimo dia de armazenagem.

Fonte: A autoria própria (2016)

Segundo KAEWTATHIP et al.<sup>2</sup>, em um trabalho anterior, realizou um estudo sobre as mudanças do perfil volátil de amostras de abacaxi durante o congelamento e descongelamento. Estes estudos também relataram uma redução nas respostas cromatográficas, principalmente em ésteres, que são constituintes importantes do perfil volátil da fruta fresca. Esta redução ocorreu devido à possibilidade de dano das células do fruto por ser congelado e descongelado podendo levar a uma perda de aroma devido à oxidação dos compostos. Os ciclos de congelamento e descongelamento podem reduzir a quantidade de muitos compostos responsáveis pelo aroma e a qualidade global do fruto.

### 5.3 Identificação dos compostos

Após a análise do perfil volátil em cada período de armazenagem, foi feita a Tabela 4, que contém todos os compostos identificados, os índices de retenção obtidos para esses compostos e em comparação com os índices de retenção encontrados na literatura<sup>23,24</sup>.

**Tabela 4** – Compostos extraídos por HS-SPME a partir das amostras de abacaxi, identificados por espectrometria de massas e também pelos índices de retenção calculados e obtidos a partir da literatura.

<b>Compostos*</b>	<b>Índice de retenção calculado</b>	<b>Índice de retenção da literatura</b>
<b><i>Ésteres</i></b>		
Acetato de metila	557	-
Acetato de etila	617	612
Propanoato de metila	632	621
2-metilpropanoato de metila	686	684
Propanoato de etila	711	714
Acetato de n-propila	713	714
Butanoato de metila	720	724
2-metilpropanoato de etila	755	755
2-metilbutanoato de metila	774	780
Pentanoato de metila	823	820
2-metilbutanoato de etila	846	842
3-metilbutanoato de etila	852	847
2-metilacetato de butila	875	876
3-metilacetato de butila	878	880
Hexanoato de metila	924	924
Hexanoato de etila	999	996
3-etilhexenoato	1007	-
3-(metiltio)propanoato de metila	1024	1027
Acetoacetato de metila	1038	-
2-metil-3-oxobutanoato de metila	1078	-
4-oxopentanoato de metila	1091	-
4-(metiltio)butanoato de metila	1101	-
Octanoato de metila	1123	1126
3-hidroxihexanoato de etila	1168	1133
Octanoato de etila	1197	1196

**Tabela 4.** (Continuação)

2,2-dimetilpentanoato de etila	1227	-
7-oxooctanoato de metila	1249	-
Acetato de 2-feniletil	1255	1256
Decanoato de metila	1323	1325
4-( <i>E</i> )-decenoato de etila	1379	-
Decanoato de etila	1393	1397
<b>Álcools</b>		
Etanol	528	537
3-etóxi-1-propanol	844	-
2-metil-1-butanol	732	734
3-metil-1-butanol	736	736
1-hexanol	869	867
1-heptanol	971	969
1-octanol	1072	1070
1-hepten-3-ol	1083	-
1-nonanol	1173	-
<b>Aldeídos</b>		
Etanal	515	528
2-metilpentanal	543	-
3-hidroxibutanal	577	-
Octanal	1003	1001
Nonanal	1105	1106
Decanal	1206	1205
<b>Lactonas</b>		
5-etildihidro-2(3H)-furanona ( $\gamma$ hexalactona)	1053	1056
5-butildihidro-2(3H)-furanona ( $\gamma$ octalactona)	1256	1260
6-butiltetrahidro-2H-piran-2-ona ( $\delta$ nonalactona)	1282	-
<b>Outros</b>		
Dietilcarbonato	785	783
Ácido acético	664	-

\* - Tentativa de identificação por espectrometria de massa e índice de retenção (calculados e obtidos a partir da literatura)<sup>23,24</sup>.

## 6 CONCLUSÕES

A aplicação da técnica de SPME para avaliação do perfil volátil tem sido uma importante ferramenta para verificar a qualidade de alimentos minimamente processados.

Neste estudo, foi possível verificar que as amostras de abacaxi armazenadas a 4 °C e no quarto dia de armazenagem apresentaram um perfil cromatográfico semelhante, se comparado com as amostras analisadas no primeiro dia de armazenagem. Com estes resultados, nota-se que o aroma da fruta fresca e suas características foram preservadas durante este tempo de armazenagem.

Para as amostras armazenadas a 25 °C e a -12 °C, o resultado revelou que o perfil cromatográfico apresentou grandes diferenças entre o primeiro, o quarto e o décimo dia de armazenagem, o que prova que as características da fruta fresca não foram mantidas durante a armazenagem em ambas as formas. Esta ocorrência não é interessante para frutos minimamente processados armazenados em supermercados, devido à possibilidade de perda da qualidade antes do consumo do produto.

Deste modo, será possível a elaboração de um artigo científico com submissão em revista da área, levando em consideração que a metodologia proposta utilizando a técnica de HS-SPME para alimentos minimamente processados e armazenados a diferentes temperaturas e períodos de armazenagem ainda não foram apresentadas pela literatura.

## 7 REFÊRENCIAS

- <sup>1</sup> BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chem**, 180, 280-287, 2015.
- <sup>2</sup> KAEWTATHIP, T.; CHAROENREIN, S. Changes in volatile aroma compounds of pineapple (*Ananas comosus*) during freezing and thawing. **Int J Food Sci Tech**, 47, 985-990, 2012.
- <sup>3</sup> **Benefícios do Abacaxi – Para Que Serve e Propriedades.** Disponível em: <<http://www.mundoboaforma.com.br/10-beneficios-do-abacaxi-para-que-serve-e-propriedades/>>. Acesso em: 04 mai. 2016.
- <sup>4</sup> PINO, J. A.; QUERIS, O. Analysis of volatile compounds of pineapple wine using solid-phase microextraction techniques. **Food Chem**, 122, 1241-1246, 2010.
- <sup>5</sup> KOIDIS, A.; RAWSON, A.; TUOHY, M.; BRUNTON, N. Influence of unit operations on the levels of polyacetylenes in minimally processed carrots and parsnips: An industrial trial. **Food Chem**, 132, 1406-1412, 2012.
- <sup>6</sup> BARBOSA, A. A. T.; SILVA DE ARAÚJO, H. G.; MATOS P. N.; CARNELOSSI, M. A. G.; ALMEIDA DE CASTRO, A. Effects of nisin-incorporated films on the microbiological and physicochemical quality of minimally processed mangoes. **Int J Food Microbiol**, 164, 135-140, 2013.
- <sup>7</sup> CONTE, A.; SCROCCO, C.; BRESCIA, I.; DEL NOBILE, M. A. Packaging strategies to prolong the shelf life of minimally processed lampascioni (*Muscari comosum*). **J Food Eng**, 90, 199-206, 2009.

<sup>8</sup> ROCHA, S. M. Porque se estudam os compostos voláteis dos alimentos de origem vegetal? **QUÍMICA**, 112, 49-55, 2009.

<sup>9</sup> Embrapa Agroindústria Tropical. **Banco de Compostos Voláteis**. Disponível em: <<http://www.cnpat.embrapa.br/volateis/>>. Acesso em: 3 mai. 2016.

<sup>10</sup> VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por Fase Sólida, **Quim Nova**, 23, 523-530, 2000.

<sup>11</sup> KATAOKA, H.; LORD, H. L.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **J Chromatogr A**, 880, 35-62, 2000.

<sup>12</sup> ORLANDO, R. M., CORDEIRO, D. D., MATHIAS, A. E. B., REZENDE, K. R., GIL, E. S. Pré-tratamento de amostras, **Vita et Sanitas**, Trindade-Goiás, 3, 122-139, 2009.

<sup>13</sup> SUPELCO. **SPME fiber coating**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/sample-preparation/spme/selecting-spme-fiber.html>>. Acesso em: 03 mai. 2016.

<sup>14</sup> DIAS, A. N. **Cortiça: uma nova abordagem como fase extratora para microextração em fase sólida e microextração em barra adsortiva**. 2015. 130 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, SC.

<sup>15</sup> MERIB, J. O. **Otimização e aplicação da microextração em fase sólida com e sem refrigeração interna em amostras de ervas medicinais e água de rio**. 2013. 99 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, SC.

<sup>16</sup> BOYAC, E.; RODRÍGUEZ-LAFUENTE, A.; GORYNSKI, K.; MIRNAGHI, F.; SOUZA-SILVA, E. A.; HEIN, D.; PAWLISZYN, J. Sample preparation with solid phase

microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases: A review. **Anal Chim Acta**, 873, 14-30, 2015.

<sup>17</sup> SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª Edição norte-americana, São Paulo: Editora Thomson, 899-920, 2006.

<sup>18</sup> AGILENT TECHNOLOGIES. **Agilent 101: An Introduction to Bio-Analytical Measurement**. Disponível em: <  
[http://www.agilent.com/labs/features/2011\\_101\\_bio.html](http://www.agilent.com/labs/features/2011_101_bio.html)>. Acesso em: 17 mai. 2016.

<sup>19</sup> MÜHLEN, C. V. Índices de retenção em cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Scientia Chromatographica**, 3, 21-29, 2009.

<sup>20</sup> PAWLISZYN, J. **Handbook of Solid Phase Microextraction**. Chemical Industry Press of China: Beijing, 440, 2009.

<sup>21</sup> ZHENG, LIANG-YONG; SUN, GUANG-MING; LIU, YU-GE; LV, LING-LING; YANG, WEN-XIU; ZHAO, WEI-FENG; WEI, CHANG-BIN. Aroma Volatile Compounds from Two Fresh Pineapple Varieties in China. **Int. J. Mol. Sci**, 13, 7383-7392, 2012.

<sup>22</sup> STEINGASS, C. B.; LANGEN, J.; CARLE, R.; SCHMARR, H. G. Authentication of pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) fruit maturity stages by quantitative analysis of  $\gamma$ - and  $\delta$ -lactones using headspace solid-phase microextraction and chiroselective gas chromatography–selected ion monitoring mass spectrometry (HS-SPME–GC–SIM-MS). **Food Chem**, 168, 496-503, 2015.

<sup>23</sup> PINO, J. A.; MESA, J.; MUNOZ, Y.; MARTI, M. P.; MARBOT, R. Volatile components from Mango (*Mangifera indica* L) cultivars. **J Agr Food Chem**, 53, 2213-2223, 2005.

<sup>24</sup> STEINGASS, C. B.; GRAUWET, T.; CARLE, R. Influence of harvest maturity and fruit logistics on pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) volatiles assessed by headspace

solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry (HS-SPME-GC/MS). **Food Chemistry**, 150, 382-391, 2014.