

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

**COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS E QUALIDADE DE
AROMA DO VINHO DE CAJU**

DEBORAH DOS SANTOS GARRUTI

M.S. em Tecnologia de Alimentos

Dra MARIA REGINA BUENO FRANCO

Profa. Orientadora

Dra MARIA APARECIDA A. P. DA SILVA

Profa. Co-orientadora

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Deborah dos Santos Garrutti, aprovada pela Comissão Julgadora em 29 de março de 2001.

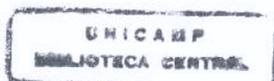
Campinas, 29 de março de 2001


Prof. Dra. Maria Regina B. Franco
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos

Campinas

2001



UNIDADE	BC		
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP		
	G194c		
V. Ex.			
TOMBO BC/	45217		
PROC.	16-392107		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	07/07/07		
N.º CPD			

CM00157747-4

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

G194c Garruti, Deborah dos Santos
Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de
caju / Deborah dos Santos Garruti. – Campinas, SP: [s.n.], 2001.

Orientador: Maria Regina Bueno Franco
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Vinho. 2.Caju. 3.Aroma. 4.Cromatografia gasosa.
5.Olfatometria. I.Franco, Maria Regina Bueno. II.Universidade
Estadual de Campinas.Faculdade de engenharia de Alimentos.
III.Título.

BANCA EXAMINADORA

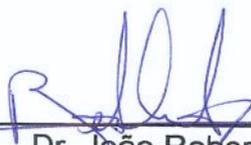
Dra. Maria Regina Bueno Franco
Orientadora



Dra. Delia Rodriguez-Amaya
Membro



Dra. Helena Maria Cardello
Membro



Dr. João Roberto Amador
Membro



Dra. Deborah Helena M. Bastos
Membro

Dr. Antonio Renato Soares de Casimiro
Membro

Dr. João Bosco Faria
Membro

*À Ruth, minha mestra e mãe, meu
modelo de mulher, de força e
profissionalismo, que sempre alimentou
esse meu sonho*

*Ao meu pai, Luciano, meu exemplo de
integridade e trabalho, que sempre me
ajudou e apoiou incondicionalmente*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que quando não faz o mar se abrir diante de mim, me faz andar por sobre as águas.

Ao Marcos Oriano, muito mais que marido e "super pai", foi amigo e cúmplice em todos os momentos dessa caminhada.

Às minhas filhas, Marina e Luciana, pelo amor e compreensão em cada um dos inúmeros e intermináveis períodos de ausência, e pela paciência com a minha constante falta de paciência.

À minha irmã Claudia e seu marido Marco, pela carinhosa acolhida em sua casa, por meses a fio. Aos meus sobrinhos Giuliana e Pietro, por alegrarem os meus momentos mais difíceis.

À minha sogra D. Edna, pela preciosa presença em meu lar, nos momentos de minha ausência.

À Conceição, por sua fidelidade, amizade e dedicação a minha família.

À Dra. Maria Regina Bueno Franco, por sua valiosa orientação, amizade e compreensão.

À Dra. Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva, pela co-orientação deste trabalho e pela confiança que sempre depositou em mim.

À inesquecível amiga Natália Janzanti, que me "adotou" no laboratório. Somente Deus poderá retribuir o que ela fez por mim.

À querida amiga Cristina Boccatto e sua família, pela amizade, confidências, e principalmente pelas orações.

A todos os colegas da FEA, em especial à Maria Teresa Borges, pelos deliciosos momentos de solidariedade.

A todos os membros da banca examinadora, por suas valiosas correções e sugestões, em especial ao Prof. Casimiro, pelo apoio e incentivo à pesquisa em vinho de caju.

Ao Centro de Pesquisa de Agroindústria Tropical da EMBRAPA, pela valiosa colaboração nesta pesquisa, através do fornecimento da matéria-prima, utilização dos laboratórios e pessoal de apoio.

Aos colegas e amigos do CNPAT, em especial ao Fernando Abreu, Ricardo Elesbão, Men de Sá, Fátima Borges, Renata Tieko, Manoel, Arthur, Lúcia e estagiárias, pela inestimável colaboração desde a etapa de elaboração do vinho de caju, análises físico-químicas e sensoriais até a impressão do documento final.

Aos provadores que participaram dos testes sensoriais, e em especial ao membros da equipe de Análise Descritiva dos vinhos, pela boa vontade e dedicação.

Aos membros da equipe sensorial das análises olfatométricas, Edy, Cristina, Henriette, Natália e Sílvia, pela valiosa colaboração, paciência e dedicação.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho da EMBRAPA pela realização das análises físico-químicas dos vinhos de caju.

À Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará - NUTEC, pela utilização da planta piloto e laboratórios.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, UFC, na pessoa da Profa. Maria do Carmo Passos Rodrigues, pela utilização do laboratório de Análise Sensorial nos testes de aceitação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de doutorado.

À FAPESP pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Finalmente, a todos que direta ou indiretamente, estiveram comigo nesta batalha, os meus mais profundos e sinceros agradecimentos. Vocês me ensinaram que sem luta não há vitória!

SUMÁRIO

RESUMO	XV
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA	7
1.1 METODOLOGIA DA PESQUISA DO SABOR.....	7
1.1.1. Métodos de isolamento e concentração dos voláteis.....	9
1.1.2. Separação e identificação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa e espectrometria de massas.....	13
1.1.3. Cromatografia gasosa – Olfatometria.....	16
1.1.4. Análise Sensorial.....	20
Análise Descritiva Quantitativa.....	20
1.2 COMPOSTOS VOLÁTEIS EM VINHOS.....	22
1.3 O VINHO DE CAJU.....	33
1.3.1. Matéria-prima.....	33
1.3.2. Histórico do vinho de caju.....	38
1.3.3. Compostos voláteis do vinho de caju.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
CAPÍTULO 2. PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO HEADSPACE DO SUCO E VINHO DE CAJU POR SUCCÃO	55
2.1 INTRODUÇÃO.....	55
2.2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	57
2.2.1 – Matéria-prima e preparo das amostras.....	57
2.2.2 Elaboração dos vinhos de caju.....	57
2.2.3 - Isolamento dos compostos voláteis.....	60
2.2.3 - Análise sensorial.....	62
2.2.4 - Análise cromatográfica.....	64
2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
2.3.1 – Seleção da equipe sensorial.....	65
2.3.2 – Otimização das condições de isolamento dos voláteis.....	67
2.4 - CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
CAPÍTULO 3. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SUCO DE PSEUDOFRUTOS DO CAJUEIRO ANÃO PRECOCE DO CLONE CP76	75
3.1 – INTRODUÇÃO.....	75
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
3.2.1. Amostragem e preparo da amostra.....	77
3.2.3. Análise cromatográfica.....	78
3.2.4. Identificação dos compostos voláteis.....	79
3.2.6. Análises estatísticas.....	85
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
3.3.1 Identificação e porcentagens relativas dos compostos voláteis.....	85
3.3.2. Qualidade do aroma dos compostos voláteis por CG-Olfatometria.....	93
3.3.3 Desempenho e reprodutibilidade dos julgadores sensoriais na CG - Olfatometria.....	102
3.3.4 Análise de Componentes Principais dos principais compostos voláteis do suco do caju.....	105
3.4 CONCLUSÕES.....	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

CAPÍTULO 4. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO DO CAJU CP 76	119
4.1 – INTRODUÇÃO.....	119
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	122
4.2.1 <i>Elaboração dos vinhos do caju</i>	122
4.2.2 <i>Análise dos compostos voláteis</i>	122
4.2.4. <i>Análises estatísticas</i>	124
4.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	125
4.3.1 <i>Identificação e área dos compostos voláteis presentes na matéria-prima e no vinho do caju</i>	125
4.3.2. <i>Qualidade do aroma dos compostos voláteis da matéria-prima e do vinho do caju por CG-Olfatometria</i>	134
4.4 CONCLUSÕES.....	139
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
CAPÍTULO 5. EFEITO DA SULFITAÇÃO DO MOSTO E DA TEMPERATURA DE FERMENTAÇÃO NA COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS DO VINHO DE CAJU	149
5.1 INTRODUÇÃO.....	149
5.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	151
5.2.1 <i>Elaboração dos vinhos do caju</i>	151
5.2.2 <i>Análises físico-químicas</i>	151
5.2.3 <i>Análise dos compostos voláteis</i>	153
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	154
5.3.1 <i>Caracterização físico-química dos vinhos do caju</i>	154
5.3.2 <i>Análise cromatográfica</i>	156
5.4 CONCLUSÕES.....	165
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	166
CAPÍTULO 6. EFEITO DA SULFITAÇÃO DO MOSTO E DA TEMPERATURA DE FERMENTAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DO VINHO DE CAJU	171
6.1 INTRODUÇÃO.....	171
6.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	173
6.2.1 <i>Elaboração do vinho de caju</i>	173
6.2.4 <i>Análise sensorial dos vinhos</i>	174
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	183
6.4 CONCLUSÕES.....	199
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	200
CONCLUSÕES FINAIS	203
ANEXO 1	205
<i>Tabela A.1 - Íons majoritários obtidos da fragmentação por espectrometria de massas e Índice de Kovats dos compostos voláteis do suco e vinho do caju CP 76</i>	205
ANEXO 2	209
<i>Tabela A.2.1 Porcentagens de áreas relativas médias dos componentes voláteis de suco do caju CP 76 cultivados sob irrigação e resultados da ANOVA. Safra 1998</i>	209
<i>Tabela A.2.2 Porcentagens de áreas relativas médias dos componentes voláteis de suco do caju CP 76 cultivados sob irrigação e resultados da ANOVA. Safra 1999</i>	211
ANEXO 3	213
<i>Tabela A.3.1 Área padronizada média dos componentes voláteis da amostra de suco de caju utilizada como matéria-prima na elaboração do vinho (Capítulo 4)</i>	213
<i>Tabela A.3.2 - Área padronizada média dos componentes voláteis do vinho do caju utilizado no estudo do Capítulo 4</i>	215

ANEXO 4	216
<i>Tabela A.4.1 – Compostos voláteis detectados no vinho do caju, com Índices de Kovats obtidos nas análises cromatográfica e olfatométrica, frequência com que foram percebidos, e descritores com a frequência de utilização.</i>	<i>216</i>
ANEXO 5	218
<i>Tabela A.5.1 – Áreas dos principais picos dos isolados simples e concentrado de compostos voláteis do suco de caju e relação entre elas.</i>	<i>218</i>

RESUMO

A fermentação do caju para elaboração de bebidas alcóolicas tem sido estudada, na última década, como outra opção de aproveitamento do pseudofruto, visando diminuir seu elevado desperdício (mais de 90%) nas regiões produtoras do Nordeste. No entanto, o desconhecimento de alguns parâmetros envolvidos na fermentação do caju tem impossibilitado a elaboração de produtos similares a vinho, com alto padrão de qualidade. Um dos principais problemas refere-se à presença de características aromáticas indesejáveis que persistem no produto final. Assim, os objetivos deste trabalho foram: a) estudar a composição dos voláteis do pseudofruto de caju do clone CP 76 do CNPAT/EMBRAPA e de seu produto fermentado (vinho), determinando o grau de importância de cada composto para a formação do aroma característico, através de análises instrumentais e sensoriais; b) identificar quais compostos presentes no vinho são oriundos da fruta e quais são desenvolvidos durante o processo de vinificação, e c) determinar a influência de alguns parâmetros da fermentação como o teor de sulfitação do mosto (0, 50, 100 e 200 ppm de SO₂ livre) e a temperatura de fermentação (18 e 30°C) no perfil de compostos voláteis. Os componentes voláteis do suco e do vinho de caju foram isolados por enriquecimento dos vapores do *headspace* em Porapak Q, por sucção, após otimização das condições de captura e eluição do polímero. Os compostos foram separados por cromatografia gasosa de alta resolução e grande parte identificada com o auxílio de cromatografia gasosa-espectrometria de massas e índices de retenção de Kovats. A qualidade sensorial do aroma de cada componente e sua importância odorífera foram determinadas pela técnica de cromatografia gasosa-olfatometria denominada Osme. As características sensoriais dos vinhos elaborados foram determinadas pela Análise Descritiva Quantitativa e também avaliadas por 48 consumidores em cada uma das duas localidades, Campinas e Fortaleza. Os vinhos foram analisados quanto a intensidade de cor (I 420), densidade, álcool, acidez total e volátil, pH, extrato seco, teor de açúcares redutores, cinzas, alcalinidade das cinzas, dióxido de enxofre livre e total, nos laboratórios do CNPUV/EMBRAPA (Bento Gonçalves). Os resultados obtidos foram interpretados através de Análise de Variância, teste-t e teste de Tukey para comparação de médias, além de Análise de Componentes Principais. Foram detectados 63 compostos voláteis no suco do caju de safras consecutivas (1998 e 1999). A classe química predominante foi a dos ésteres, principalmente **ésteres de metila e etila** de ácidos carboxílicos saturados C₂-C₆, os quais foram responsáveis pelo aroma 'doce', 'frutal' e de 'caju', juntamente com um composto não identificado, provavelmente um **sesquiterpeno**. **Acetatos** foram descritos como 'solvente' e 'plástico'. Compostos como **hexanal**, **2-metil-2-pentenal** e **cis-3-**

hexenol apresentaram forte nota verde. Não foi possível detectar compostos sulfurados na cromatografia, porém a análise olfatométrica revelou diversas regiões do cromatograma com aromas relacionados a compostos de enxofre. Entretanto, o aroma desagradável mais intenso foi atribuído ao ácido 2-metil butanóico, que foi descrito como 'fétido', 'suor', 'chulé'. **Butanoato de etila, 2-butoxi etanol, ácido acético, 1-butanol, 3-hidroxi-3-butanona, nonanal, alfa-copaeno e decanal** permaneceram inalterados no vinho, enquanto que **isovalerato de etila, 2-metil butanoato de etila, trans-2-butenato de etila** foram sensivelmente reduzidos. Compostos produzidos durante o processo de vinificação que contribuíram para a formação de notas agradáveis no produto final foram **hexanoato de etila, octanoato de etila, 2,3 butanodiol, hidrocínamate de etila e álcool fenilético**. Os **álcoois superiores (isoamílico e isobutanol)**, **ácidos acético, heptanóico e octanóico** foram responsáveis por notas desagradáveis no vinho do caju, tendo sido descritos como 'fermentado', 'estragado', 'fedido', 'acético'. Os vinhos do caju elaborados apresentaram graduação alcoólica em torno de 8,5 ° GL, caracterizando-se como "vinho leve". Os teores de acidez total, acidez volátil, pH, açúcares redutores, extrato seco, extrato seco reduzido, dióxido de enxofre livre e índice de cor ficaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para vinhos brancos. Os vinhos fermentados à temperatura mais elevada (30°C) apresentaram maior produção de **isobutanol, 4-metil-1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, lactato de etila e ácido acético**, com maior intensidade dos descritores 'aroma fermentado', 'cor', 'acidez', 'adstringência' e 'adstringência residual'. As amostras fermentadas à temperatura mais baixa (18°C) apresentaram maior intensidade de ésteres como **butanoato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, n-acetato de hexila e isovalerato de etila**, com maior intensidade dos descritores 'sabor de fruta' e 'doce'. Como esses ésteres são mais desejáveis para o bouquet do vinho, a fermentação deve ser efetuada a 18°C. O aumento na dosagem de sulfitação foi também responsável pela diminuição da intensidade de aroma 'fermentado' e 'frutado', gosto 'ácido' e 'adstringência residual' nos vinhos elaborados. O aroma das amostras apresentou boa aceitação, recebendo valores entre "gostei ligeiramente" e "gostei moderadamente" em Campinas, ao passo que em Fortaleza os valores situaram-se entre os graus "gostei ligeiramente" e "gostei muito", da escala hedônica. Os vinhos diferiram apenas quanto à aceitação da impressão global, tanto em Campinas quanto em Fortaleza, sendo o vinho fermentado a 18°C com 200 ppm de SO₂, o que apresentou maior grau de aceitação.

ABSTRACT

The alcoholic fermentation of the cashew-apple juice has been investigated, in the last ten years, as an attempt to reduce high cashew pseudofruit wastage (about 90%) in Northeastern Brazil. The product obtained has not reached a high quality level, presenting some undesirable odor notes. The present work had the following objectives: a) to compare the volatile compounds of cashew-apple juice from clone CP 76 of CNPAT/EMBRAPA and its fermented product (wine) and verify which volatile compounds in the wine came from the juice and which compounds were formed by the wine making process; b) to determine the importance of each compound in the characteristic aroma formation; c) to investigate how fermentation parameters, as the level of sulfur dioxide in the must (0, 50, 100 and 200 ppm free SO₂) and temperature (18 e 30° C) may influence the volatile composition of cashew wine. The isolation of the volatile compounds was carried out by suction using Porapak Q as the porous polymer, after optimization of the trapping and elution conditions. The volatile compounds were analyzed by high resolution gas chromatography and identified by gas chromatography-mass spectrometry. Kovats indices were also used as complementary parameters. The odor profile was assessed by the gas chromatography-olfactometry technique named Osme. The sensory properties of cashew wines were evaluated by Quantitative Descriptive Analysis and also by 48 consumers in each one of two cities: Campinas and Fortaleza (total of 96 consumers). Some quality chemical indicators were determined by CNPUV/EMBRAPA: color intensity (I 420), density, alcohol content, titratable acidity, volatile acidity, pH, dry extract, reducing sugars, ash, alkaline ash, free and total sulphur dioxide. Results were interpreted by Analysis of Variance, Principal Component Analysis, T-test and Tukey Test for means. Sixty-three components were detected in the cashew juice of two harvest seasons (1998 and 1999). Esters were the predominant class of compounds, mainly ethyl and methyl esters of C₂-C₆ carboxylic acids. These compounds, together with an unidentified compound (probably a sesquiterpene) were important to the sweet, fruity and cashew like aroma notes. Acetates were described as solvent and plastic. Compounds like hexanal, 2-methyl-2-pentenal and cis-3-hexenol presented a strong green note. Gas-chromatography was not able to detect sulphur compounds, but the olfactometric analysis showed chromatogram regions where sulphur-like odors could be perceived. However, the most intense undesirable odor in cashew was due to 2-methyl butanoic acid, which was described as stinky. Ethyl butanoate, 1-pentanol, 3-hydroxy-2-butanona, 2-butoxi-ethanol, acetic acid and alpha-copaene remained unaltered in the fermented product while ethyl 2-methyl butanoate, ethyl isovalerate, ethyl crotonate, 2-methyl butanoic acid and n-hexyl acetate markedly

diminished. Ethyl hexanoate, ethyl octanoate, 2,3 butanediol, ethyl hydrocinnamate and phenylethyl alcohol were compounds produced by the wine making process that contributed for the desirable aroma of the final product. Superior alcohols, acetic acid, heptanoic acid and octanoic acid showed off-odors like 'fermented, spoiled, stinky, acetic'. The alcohol content of all wines was around 8,5°GL, classified as "light wine" according to Brazilian laws. Titratable acidity, volatile acidity, pH, dry extract, reducing sugars, free sulphur dioxide and color intensity were within the legislation limits for white wine. Fermentation at 30°C produced more isobutanol, 4-methyl-1-pentanol, 3-methyl-1-pentanol, ethyl lactate and acetic acid, showing greater intensity of sensory attributes like fermented odor, color, acidity, astringency and residual astringency. Wines made at refrigeration temperature presented more esters such as ethyl butanoate, isoamyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate, ethyl decanoate, n-hexyl acetate and ethyl isovalerate, with greater intensity of fruity flavor and sweet descriptors. Since these esters are more desirable to produce the wine bouquet, fermentation should be effected at a temperature of 18°C. The addition of sulfur dioxide reduced perception of fermented odor, fruity odor, acid taste and residual astringency in the wines. Hedonic tests demonstrated good acceptance of the wine aroma, scored 'slightly liked', but showed no statistical difference between samples. In overall acceptance tests, consumers in Campinas and Fortaleza preferred cashew wine produced at 18°C with 200 ppm free SO₂.

INTRODUÇÃO GERAL

O caju é um fruto de especial interesse nutricional e econômico, sendo bastante conhecido pela qualidade de sua castanha (verdadeiro fruto) e pela riqueza em vitamina C de seu pedúnculo avolumado, o qual corresponde à polpa comestível (pseudofruto).

Atualmente o Brasil é o terceiro produtor mundial de caju, com cerca de 167 mil toneladas de castanha/ano, atrás da Índia (440 mil toneladas) e Nigéria (176 mil toneladas) (FAO, 2000). A região Nordeste é responsável por 99% da produção brasileira, sendo os principais estados produtores Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí. O resultado do beneficiamento dessa castanha tem proporcionado a exportação anual de 30,7 mil toneladas de amêndoas de castanha de caju, gerando divisas da ordem de 147 milhões de dólares anuais.

Infelizmente, os derivados do pedúnculo do caju, a exemplo do suco, ainda não alcançaram desenvolvimento tecnológico e esforços de marketing para ocupar espaço no mercado internacional. As exportações brasileiras de suco de caju são incipientes (cerca de 100 mil toneladas em 1996) e hoje o suco de caju está agrupado em “outros sucos” nas estatísticas do SECEX/MDIC (2000).

O pedúnculo do caju apresenta inúmeras opções tecnológicas de industrialização: suco integral, suco clarificado, suco concentrado, refrigerantes, doces em calda, diversos tipos de doces em massa, doces desidratados e cristalizados, bebidas fermentadas e seus derivados, entre outras (TREVAS FILHO, 1971; TELLES, 1988). Porém, até o momento, apenas o suco integral possui alguma importância econômica no mercado nacional, sendo estimada uma produção anual de 50 mil toneladas de suco. O mercado de caju *in natura*, por sua vez, vem crescendo a partir de uma maior padronização do produto (plantio de material clonado) e o uso da cadeia de frio. Registrou-se, nos meses de junho a agosto de 1998, uma comercialização, nos supermercados de São Paulo, de 38,2 toneladas de caju (MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL, 1999).

Considerando que o pseudofruto corresponde a 90% do peso do caju, calcula-se que o país produz em torno de 1,5 milhão de toneladas desse produto. Somando-se a produção de suco integral para o mercado interno, a comercialização de caju *in natura*, a produção de suco para exportação e a produção regional de doces e cajuína, acredita-se que apenas cerca

de 10% desse total é aproveitado. Grande parte do pseudofruto é perdida no campo, no momento do descastanhamento feito para a indústria de beneficiamento da castanha (LEITE, 1994).

A composição do caju é bastante complexa e, se por um lado, a presença de vitaminas, taninos, sais minerais, ácidos orgânicos e carboidratos o torna um alimento importante, por outro lado é responsável por sua alta perecibilidade, exigindo cuidados especiais para estocagem, transporte, limpeza e processamento. Em condições ambientais o caju é muito susceptível ao ataque de microrganismos acidófilos, fato agravado pela fragilidade da casca, alto teor de umidade da polpa, presença de várias substâncias nutritivas e baixa acidez. A conservação pós-colheita do pedúnculo, em temperatura ambiente, não ultrapassa 48 horas (SOARES, 1986a).

Por outro lado, o suco de caju, por ser rico em açúcares e sais minerais, constitui uma matéria-prima bastante favorável à fermentação alcoólica (MEDEIROS, 1990), permitindo a obtenção de produtos de grande potencial, visto que tem-se verificado, atualmente na Europa, uma crescente demanda por bebidas elaboradas a partir da fermentação de frutas outras que não a uva.

Apesar da grande controvérsia sobre o uso da palavra vinho para designar bebida fermentada de outras frutas, a legislação brasileira possui padrões de identidade e qualidade para “vinho de frutas”, o qual apresenta a seguinte designação: “Vinho de frutas é a bebida com graduação alcóolica de 10 a 13°GL a 20°C, obtida pela fermentação alcoólica do mosto de frutas”, com a exigência, no rótulo, da inscrição do nome da fruta que deu origem ao vinho em caracteres gráficos de igual dimensão e cor da palavra vinho (BRASIL, 1988).

Já em 1972, AMERINE *et al.* dedicaram um capítulo de seu livro “Technology of wine making” aos vinhos de frutas e mel, citando a cidra e vinho de maçã com diferentes métodos de fabricação na Europa e América do Norte, além de vinhos de diversas frutas como cerejas, abacaxi, pêra, laranja, *grapefruit* e frutas secas. Diversos outros autores também publicaram estudos sobre vinhos de frutas tropicais como melão, laranja, tangerina, jabuticaba, banana, abacaxi, tamarindo, acerola, maracujá, manga, caju, dentre outras (KHATTAK *et al.*, 1965; CZYHRINCIW, 1966; TOLEDO, 1967; MALDONADO *et al.*, 1975; PINTO, 1984; PENA & MENEZES, 1994). O vinho de kiwi (WITHY & LODGE, 1982; MANFROI *et al.*, 1996) é particularmente importante no mercado internacional, sendo importado pelo Japão em

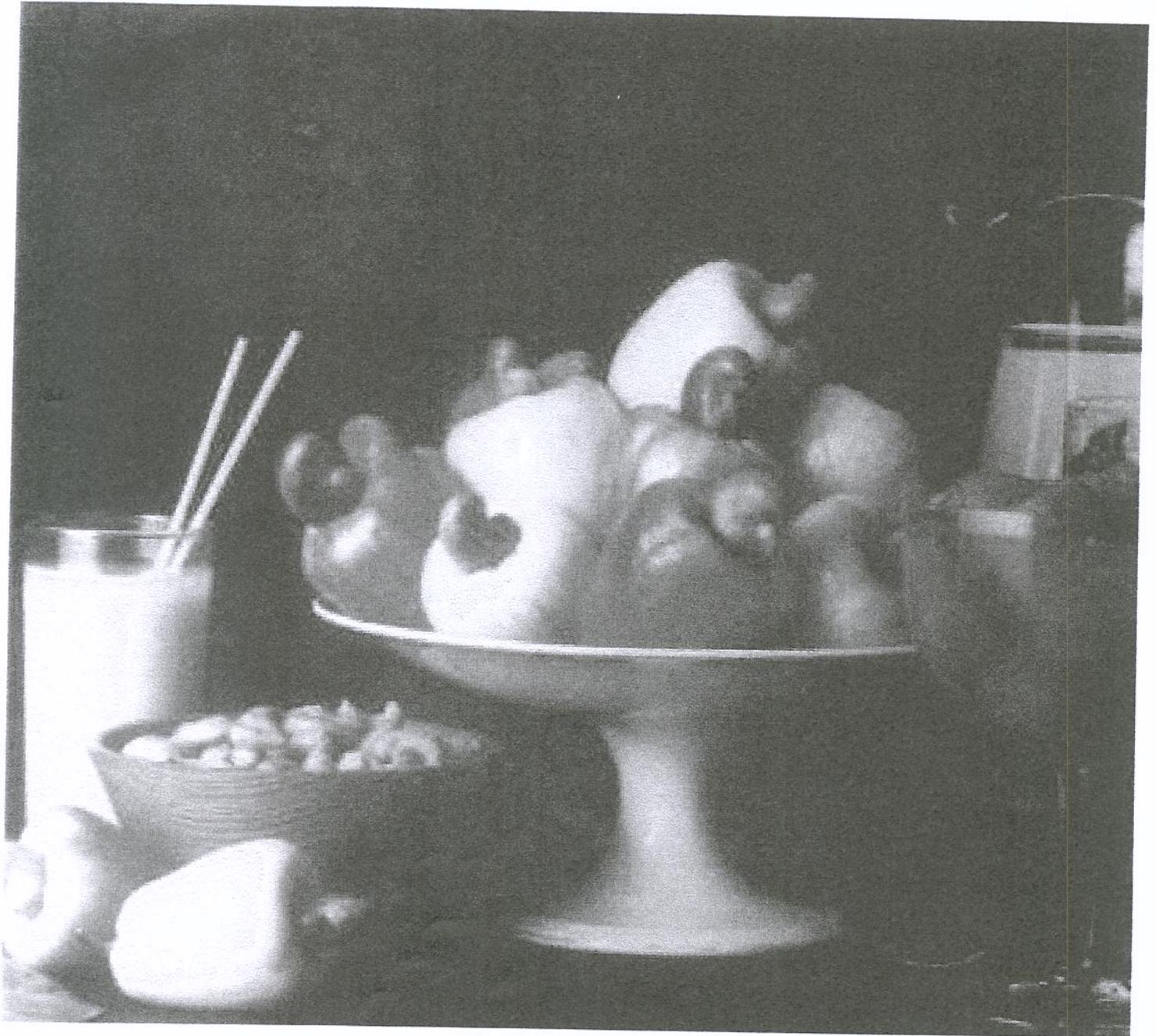
quantidade maior que 2,5 vezes o valor de vinho de uvas importado por esse país (CRAIG, 1988).

A Embrapa Agroindústria Tropical, juntamente com a Universidade Federal da Ceará - UFC/DTA e a Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial - NUTEC vem, nos últimos anos, desenvolvendo pesquisas no sentido de estudar as diversas etapas de elaboração de uma bebida fermentada de caju similar a vinho. Atualmente já se dominam algumas operações da produção de um vinho do tipo seco, o qual pode ser ainda formulado para a obtenção de vinho suave, licoroso, espumante, *cooler*, etc.

A aceitação e consolidação de uma marca de bebida alcoólica fermentada está diretamente relacionada a seu sabor. O sabor, por sua vez, é uma resposta integrada ao gosto (doce, salgado, ácido e amargo) e ao aroma, dado pela presença de numerosos compostos voláteis. Em bebidas alcoólicas alguns desses compostos têm sua origem no próprio fruto, outros são gerados no processo fermentativo e outros ainda são provenientes de reações químicas durante o envelhecimento. Como o vinho de caju trata-se de um "vinho jovem", isto é, que não passa por envelhecimento, este trabalho aborda apenas a influência da matéria-prima e de alguns parâmetros do processo de vinificação sobre a sua composição de voláteis.

O Capítulo 1 apresenta uma breve revisão bibliográfica sobre a metodologia da pesquisa do sabor e a formação de compostos voláteis em vinhos, além de uma dissertação sobre o estado da arte da vinificação do suco de caju. O Capítulo 2 traz a padronização da metodologia de isolamento e concentração de compostos voláteis utilizada em todas as fases deste trabalho. O Capítulo 3 apresenta o estudo da composição de voláteis do pseudofruto do caju com a determinação do grau de importância de cada composto para a formação de seu aroma característico. No Capítulo 4 é feita a comparação do perfil de compostos voláteis da matéria-prima com o produto fermentado para identificar quais compostos presentes no vinho são provenientes da fruta e quais são desenvolvidos durante o processo de vinificação. Nos Capítulos 5 e 6 são abordados os efeitos da sulfitação do mosto e da temperatura de fermentação na composição de voláteis e nas características físico-químicas e sensoriais dos vinhos de caju elaborados.

CAPÍTULO UM



CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA

1.1 METODOLOGIA DA PESQUISA DO SABOR

O homem não come somente para se alimentar, mas também para satisfazer suas exigências estéticas e gustativas. A aceitação ou rejeição de um alimento e sua preferência em relação a outro dependem, em grande parte, da informação sensorial recebida.

A associação da aparência e aroma, que são percebidas antes do consumo, são as geradoras de uma impressão inicial que predispõe o consumidor a uma avaliação. A partir daí são inseridas outras sensações que condicionarão a resposta do indivíduo ao alimento. Somente após a colocação do alimento na boca percebe-se seu sabor. O sabor, por sua vez, é uma resposta integrada aos estímulos gustativos e olfativos. A sensação do gosto é devida à presença de compostos não voláteis, sendo classificada em quatro categorias básicas: doce, amargo, salgado e ácido. Já o aroma, dado pela presença de compostos voláteis que impressionam os receptores olfativos, é uma sensação bem mais complexa, pois o olfato pode discriminar entre milhares de compostos. Em consequência da mastigação, da temperatura da boca, da solubilização pela saliva e modificações do pH, os compostos voláteis chegam até o bulbo olfativo através da cavidade retro-nasal (Figura 1.1), fornecendo a percepção do sabor característico daquele alimento.

Juntam-se ao sabor as sensações térmicas (frio ou quente), pseudo-térmicas (evaporação rápida dando a sensação de refrescância) e outras como queimação, picância, adstringência, etc., além das influências da textura na boca. Após a ingestão do alimento ou bebida as sensações residuais, agradáveis ou não, são também percebidas.

A composição de compostos voláteis em um alimento é muito complexa, pois consiste em um grande número de substâncias orgânicas (dezenas de compostos em frutas e centenas em produtos como vinhos e café, por exemplo). Além disso estão presentes em concentrações muito pequenas, da ordem de ppm até ppt e variam grandemente quanto a sua natureza química e valor de "threshold" (limiar mínimo de percepção, ou seja, a menor quantidade de um estímulo necessária para um indivíduo detectá-lo). Compostos voláteis podem ser percebidos em concentrações muito baixas porque o olfato é extremamente sensível a certas substâncias odoríferas (thresholds entre 10^{-4} e 10^{-12} g/L).

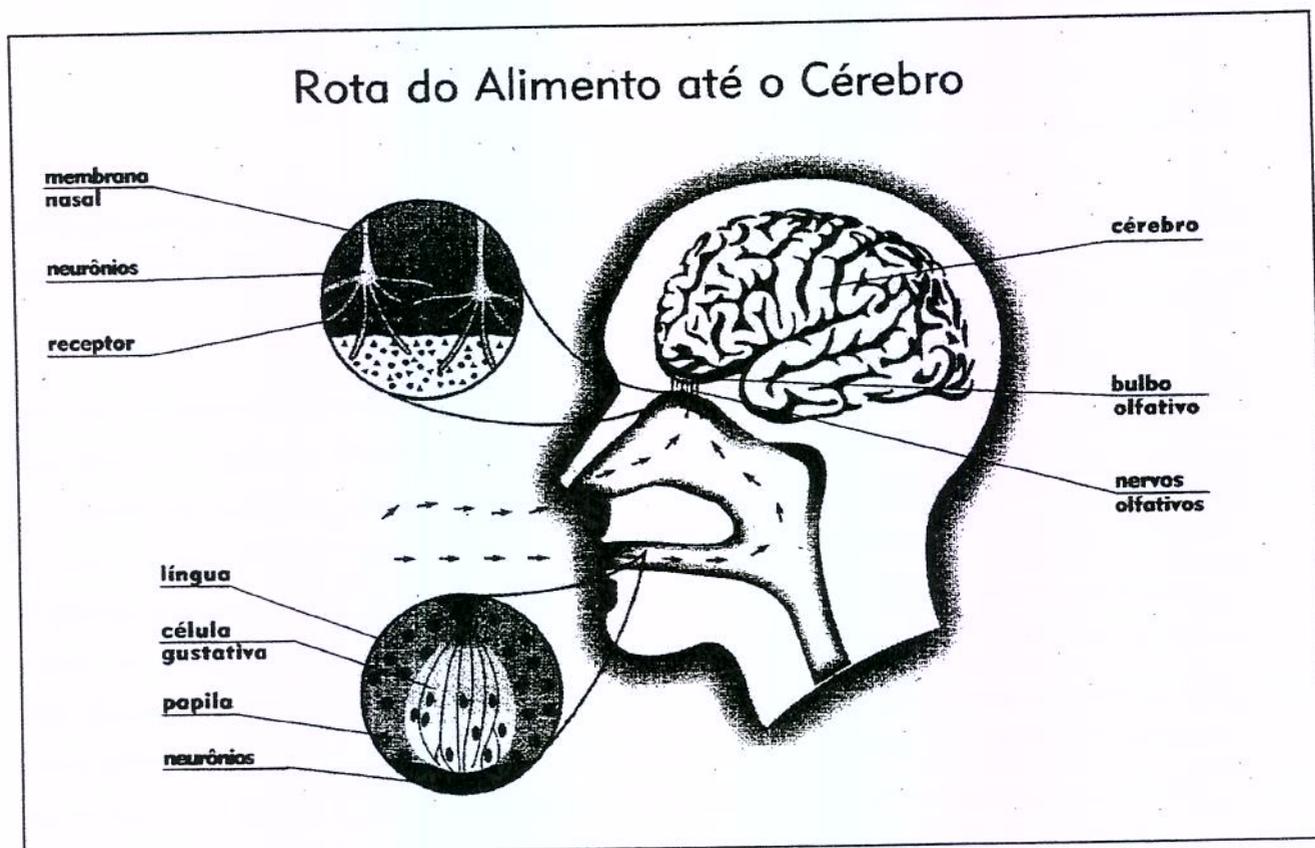


Figura 1.1 – Esquema de um corte da cabeça mostrando a cavidade oral, a cavidade nasal e a cavidade retro-nasal que faz a ligação entre elas. Ilustração esquemática dos receptores gustativos e olfativos. (Fonte: IFF, 1997)

A percepção do aroma depende do impacto individual de cada um desses compostos, mas é o resultado do balanço global entre eles. Nenhum constituinte individual é totalmente responsável pelo aroma característico de um alimento mas, em alguns produtos, existem um ou mais componentes que, sozinhos, lembram a qualidade característica de seu aroma e são chamados de **compostos de impacto**. Os demais componentes que são necessários para se ter o sabor pleno do alimento são chamados de **compostos contribuintes**.

Devido à complexidade da composição dos constituintes do aroma de um alimento, a pesquisa do sabor torna-se também bastante complexa, exigindo instrumentação moderna e sofisticada. As principais etapas da pesquisa do sabor são: isolamento e concentração dos

compostos voláteis, separação e identificação de cada composto por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, determinação da contribuição de cada componente para a formação do aroma característico por técnicas de olfatométrica, e correlação entre a análise sensorial e a composição química dos compostos voláteis.

1.1.1. Métodos de isolamento e concentração dos voláteis

Os constituintes voláteis do aroma são, em geral, compostos termolábeis, sujeitos a modificações como rearranjos, ciclizações, oxidações, etc., quando submetidos a qualquer aumento de temperatura. Portanto, a etapa de isolamento dos compostos voláteis é crítica, podendo resultar em uma composição do isolado completamente diferente daquela originalmente presente no alimento, devido a degradação de alguns compostos e/ou formação de artefatos (compostos que não estavam presentes originalmente na amostra). Os métodos, então, devem ser eficientes e brandos devido a quantidade, estabilidade e volatilidade desses compostos.

A análise dos voláteis de um alimento pode ser "total" (de todos os componentes voláteis do alimento), ou somente dos componentes do vapor em equilíbrio sobre o produto, como é percebido pelo olfato, chamada de análise do *headspace*, a qual pode ser realizada qualitativa, quantitativa e sensorialmente.

Os métodos mais comuns de análise total baseiam-se no sistema de destilação - extração simultâneas desenvolvido por NICKERSON & LIKENS (1966), o qual visa minimizar a degradação dos compostos voláteis e a introdução de artefatos freqüentemente observadas nos métodos de extração e destilação utilizados anteriormente. Esse sistema trouxe as vantagens do uso de pequena quantidade de solvente e redução do tempo de análise. Algumas modificações foram introduzidas neste sistema (MACLEOD & CAVE, 1975; FLATH & FORREY, 1977), no entanto, o emprego do calor pode ainda acarretar perdas significativas na composição dos voláteis ou produzir artefatos a partir do solvente ou suas impurezas, ou ainda a partir dos próprios compostos voláteis do alimento.

Recentemente uma grande diversidade de métodos tem sido empregada na extração dos compostos voláteis de vinhos como fluido supercrítico (BLANCH *et al.*, 1995), ultrassom (COCITO *et al.*, 1995), microextração com Freon (FERREIRA *et al.*, 1993), extração em fase sólida (SPE) com polímero poroso (HAWTHORNE *et al.*, 1987; EDWARDS & BEELMAN, 1990; GELSOMINI *et al.*, 1990), dentre outros. WADA & SHIBAMOTO (1997)

desenvolveram um método quantitativo para medir compostos voláteis em vinhos usando Porapak Q, em técnica SPE, com alta eficiência de recuperação.

A dessorção térmica de um adsorvente de fase sólida pode eliminar a necessidade de solvente, porém os métodos disponíveis requerem modificações radicais no injetor do cromatógrafo gasoso ou a utilização de um módulo de dessorção (PANKOW *et al.*, 1988). Os cartuchos de SPE também apresentam problemas relativos a interferentes, oriundos de desuniformidade no polímero plástico (GREEN & LePAPE, 1987).

A microextração em fase sólida (SPME) usando fibras de sílica fundida quimicamente modificadas e dessorção térmica elimina os problemas associados com a SPE, conservando suas vantagens: solventes são completamente eliminados, interferentes são altamente reduzidos, e tempo de extração pode ser reduzido a poucos minutos. Nessa técnica, uma fibra de diâmetro muito pequeno, como uma agulha de uma seringa, é recoberta com uma fase estacionária e colocada diretamente na amostra líquida. Os analitos adsorvidos são então termicamente dessorvidos, no modo de injeção “*on-column*”, diretamente no cromatógrafo gasoso (ARTHUR & PAWLISZYN, 1990). Entretanto, as condições de análises, desde o tipo de fibra mais apropriada até composição da matriz, devem ser cuidadosamente padronizadas, pois influenciam grandemente nos resultados (GARCIA *et al.*, 1996, GARCIA *et al.*, 1997). Provavelmente associada a essa dificuldade de padronização, a utilização de SPME no *headspace* tem mostrado adsorção seletiva dos compostos, ou seja, adsorve apenas algumas classes de compostos, gerando cromatogramas mais pobres que aqueles obtidos com a técnica de *headspace* dinâmico. Além disso, todos esses métodos citados possuem o inconveniente de extrair também compostos não voláteis, sendo considerados como técnicas “suja” para a análise de aroma, dificultando a detecção e identificação dos compostos voláteis.

Na técnica de *headspace* o estudo de uma amostra líquida ou sólida é substituída pela análise da fase gasosa em equilíbrio com a fase líquida ou sólida. A retirada do vapor em equilíbrio com a amostra em um sistema fechado, por meio de uma seringa, constitui-se na técnica da “**análise direta do headspace**” ou “*static headspace*”. Apresenta a vantagem, sobre a análise total, de necessitar de pouco manuseio da amostra, reduzindo a possibilidade de introdução de artefatos. Porém, importantes contribuintes do sabor com alto ponto de ebulição e presentes em quantidades traços no *headspace* não são facilmente detectados. Para a detecção desses compostos seria necessário um volume de injeção bem maior, o que não seria compatível com a prática cromatográfica.

Assim, a necessidade da concentração dos voláteis do *headspace* originou uma nova técnica de análise, atualmente chamada de “**análise dinâmica do *headspace***”. Geralmente utiliza-se um fluxo de nitrogênio purificado para arrastar os compostos voláteis até um pequeno tubo de vidro empacotado com um adsorvente, onde são eles aprisionados (“*purge and trap*”) (BADINGS *et al.*, 1984). Como adsorvente têm sido usados polímeros porosos como Tenax, Chromosorb e Porapak, dependendo do tipo de amostra em estudo. A dessorção dos voláteis pode ser direta ou reversa, através de eluição com solvente ou por aquecimento do polímero diretamente no injetor do cromatógrafo. A SPME pode também ser utilizada no lugar do polímero poroso, na técnica de *headspace*, necessitando, no entanto, extenso trabalho de padronização dos procedimentos.

Foi em bebidas alcoólicas (BERTUCCIOLI & MONTEDORO, 1974; JENNINGS *et al.*, 1972; WILLIAMS & STRAUSS, 1977; SHIMODA *et al.*, 1993; GARCÍA-JARES *et al.*, 1995) onde a técnica encontrou sua maior aplicação, pois os polímeros porosos, principalmente Porapak Q, possuem baixa retenção de etanol, o principal componente dessas bebidas, que pode obliterar uma grande porção do cromatograma.

A análise dinâmica do *headspace* tem sido amplamente empregada na pesquisa de sabor de alimentos e bebidas devido a suas características especiais como: a fase de vapor em equilíbrio com o alimentos aproxima-se muito do aroma percebido pelo olfato, os compostos voláteis são submetidos simultaneamente ao isolamento e enriquecimento em uma única operação à temperatura ambiente, requer mínima manipulação da amostra, permite otimizar as condições de análise, permite estudos qualitativos e quantitativos, evita a destruição da amostra, possui baixo custo e operação simples, possibilita a dessorção direta no cromatógrafo.

Em 1978, SINGLETON & PATTEE desenvolveram uma técnica bastante simples e econômica: como armadilha usaram o próprio tubo guia do cromatógrafo, o qual foi empacotado com Porapak Q. Usaram um frasco de fundo redondo como frasco de reação equipado com uma torneira para permitir que a reação fosse isolada do sistema de captura. O sistema inteiro foi ligado a uma trompa de vácuo. A reação se processava por um certo tempo, depois a torneira era aberta e os voláteis arrastados à armadilha por 10 minutos mediante sucção. A armadilha era então removida e inserida no injetor do cromatógrafo.

A técnica de “amostragem do *headspace*” de SINGLETON & PATTEE (1978) foi modificada por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) para isolar os componentes voláteis

do suco de graviola e mamão. Foi realizada a captura em Porapak Q com o uso de um vácuo baixo (0,64 psi) e constante, em condições especificamente determinadas para cada amostra. A amostra foi misturada com NaCl para prevenir reações enzimáticas e colocada em um balão sob agitação magnética lenta. O balão foi conectado a uma armadilha de Porapak que, por sua vez, foi conectado a um kitassato e a uma trompa de vácuo. Não foi necessário equilibrar a amostra, e os voláteis capturados puderam ser dessorvidos com solvente. Como armadilha foi utilizada uma coluna de vidro de borossilicato, a qual servia como tubo guia no injetor do cromatógrafo, permitindo um eficiente condicionamento do Porapak .

Os resultados desse trabalho demonstraram que a captura dos componentes voláteis em uma armadilha de Porapak Q por sucção (vácuo baixo) é aplicável à amostras complexas como voláteis de frutas, desde que devidamente escolhidas as condições de operação. O método mostrou-se altamente reprodutível, sem alterar significativamente a composição original da amostra.

Continuando seu trabalho, FRANCO (1992) investigou os componentes voláteis de manga e mamão, testando o tempo de coleta (1/2, 1 e 2 h), o tipo de solvente (éter etílico X hexano) e a técnica de introdução da amostra (*split* X *splitless*). A autora observou que, com o tempo de 2 h houve um aumento significativo nas áreas dos picos, sem alterar suas proporções, obtendo-se um isolado com maior intensidade do aroma característico da fruta. Não foi observada dessorção seletiva dos compostos devido à mudança do solvente e nem discriminação de compostos menos voláteis pelo uso da injeção no modo *splitless*.

O método de enriquecimento dos vapores do *headspace* em polímero poroso por sucção foi posteriormente utilizado para estudar os compostos voláteis de mel (BASTOS, 1996), suco de maçãs (JANZANTTI, 1996), e umbu (THOMAZINI, 1998) após a devida padronização das condições de captura para cada uma das amostras. Recentemente essa metodologia foi utilizada por FRANCO & SHIBAMOTO (2000) para a determinação dos compostos voláteis de diversas frutas brasileiras, a saber: umbu-cajá, camu-camu, araçá-boi e cupuaçu.

Particularmente para estudos de compostos com baixo ponto de ebulição, a análise do *headspace* destaca-se como um dos melhores métodos disponíveis, pois, além de fornecer reprodutibilidade, permite a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de artefatos.

Deve ser salientado que a composição do *headspace* de um alimento não depende apenas da concentração e da pressão de vapor dos compostos voláteis presentes, mas de todos os componentes da matriz do alimento, principalmente lipídeos, carboidratos e proteínas, os quais exercem influência na solubilidade e liberação dos compostos responsáveis pelo sabor (WEURMAN, 1969; DE ROOS, 1997).

1.1.2. Separação e identificação dos compostos voláteis por cromatografia gasosa e espectrometria de massas

A análise de aromas exige a utilização de métodos bastante seletivos, sensíveis e eficientes pois envolve a separação de um grande número de substâncias, presentes em quantidades muito pequenas, que apresentam grande diferença em suas propriedades físico-químicas por pertencerem a variadas classes de compostos.

A cromatografia gasosa constitui-se na técnica de separação mais indicada para a análise dos componentes do aroma dos alimentos, pois requer que as substâncias analisadas sejam voláteis, além de apresentar um poder de resolução excelente, tornando possível a análise de dezenas de substâncias de uma mesma amostra. Outro importante fator é sua alta sensibilidade, necessitando de apenas pequenas quantidades de amostra para a obtenção de resultados quantitativos em concentrações que variam de picogramas a miligramas.

A separação baseia-se na migração diferencial dos componentes da amostra em um sistema que compreende uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa). A amostra, através de um sistema de injeção, é introduzida em uma coluna contendo a fase estacionária. De acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, as substâncias da amostra são retidas por tempos determinados e chegam à saída da coluna em tempos diferentes.

O desenvolvimento da cromatografia de alta resolução foi possível devido à substituição das colunas empacotadas, de grande diâmetro e pouco comprimento, pelas colunas capilares. Devido a seu maior comprimento, menor diâmetro e pequena espessura da fase estacionária, essas colunas capilares oferecem maior resolução, alta eficiência e menor tempo de análise. Atualmente as colunas mais empregadas são as de sílica fundida, que praticamente eliminam a presença de íons Na, freqüentemente encontrados em sílica de quartzo menos pura, e devido ao fato de serem mecânica e termicamente resistentes, têm

facilitado a instalação e o interfaceamento entre o cromatógrafo gasoso e o espectromêtro de massas (SANDRA & BICCHI, 1987).

Dentre os diversos tipos de colunas capilares disponíveis no mercado, a que oferece maior eficiência é a WCOT (*“wall coated open tubular”*), onde uma fase líquida pode ser quimicamente ligada à sílica fundida (chamada então, de “fase ligada”), recobrendo internamente a parede da coluna capilar. Essas fases ligadas apresentam baixa volatilidade e boa estabilidade térmica.

Entretanto, o desempenho do sistema cromatográfico depende, em grande parte, pela forma de introdução da amostra no equipamento, a qual deve ser realizada rapidamente, na quantidade suportada pela coluna capilar, sem provocar perdas ou decomposição dos compostos (PRETORIUS & BERTSCH, 1983). Em cromatografia gasosa, os injetores responsáveis pela introdução de uma banda estreita da amostra na coluna, sem alteração da composição original são os tipos “split”, “*splitless*”, “*on-column*” e “*programmed temperature vaporizer*” (PTV). Para análise de compostos traços, os injetores “*splitless*”, “*on-column*” e mais recentemente “*PTV cold splitless*” são os mais indicados, geralmente envolvendo efeitos de focalização da amostra na entrada da coluna capilar (GROB, 1994).

A cromatografia gasosa não é uma técnica qualitativa eficiente, necessitando de técnicas auxiliares para a identificação segura das substâncias presentes na amostra. O acoplamento de um espectrômetro de massas ao cromatógrafo gasoso tem se tomado a principal ferramenta na pesquisa do sabor, pois aliou-se uma técnica poderosa de separação a uma técnica poderosa de identificação. A coluna capilar é introduzida diretamente na fonte de íons do espectrômetro de massas, o qual funciona como um detetor, ou seja, detecta, quantifica e identifica cada uma das substâncias que estão saindo da coluna cromatográfica.

O espectrômetro de massas fornece boa estabilidade e sensibilidade para análise de compostos voláteis. As moléculas no estado gasoso são **ionizadas** em regiões de alto vácuo (10^{-8} atm) produzindo íons e fragmentos de íons que são encaminhados para um **analisador de massas/carga** e finalmente coletados pelo **detetor**. A representação dos resultados constitui o **espectro de massas**, o qual mostra a distribuição das espécies iônicas e suas abundâncias relativas. Cada composto, dependendo de sua estrutura química, sofre fragmentações particulares, gerando um espectro de massas característico, que pode ser utilizado como uma “impressão digital” daquele composto.

Nos equipamentos de CG/EM a ionização é geralmente feita por **impacto de elétrons**, sendo também disponível a **ionização química**. Na ionização por impacto de elétrons (**EI**), as moléculas em estado gasoso são bombardeadas por um fluxo de elétrons produzidos por filamentos de tungstênio (geralmente a 70 eV). Essa técnica é utilizada para ionizar compostos voláteis que não sejam termolábeis, pois é necessário volatilizar a amostra antes da ionização, e indicada para compostos que apresentam um processo de dissociação endotérmico, ou seja, aquelas moléculas que necessitam adquirir energia para se fragmentar. Geralmente um espectro de EI é característico da estrutura química da amostra, porém, alguns grupos de compostos isoméricos resultam em espectros muito semelhantes.

Os três analisadores de massa/carga mais freqüentemente citados em CG/EM são o **filtro de massa quadrupolar**, o TOF (*"time of flight"* ou tempo de voo) e o *"ion trap"*. Utilizando-se o modo de varredura TIC (Corrente Iônica Total) o equipamento vai adquirindo todos os espectros, soma as intensidades de cada sinal e desenha os picos do cromatograma. Os equipamentos computadorizados permitem uma velocidade de aquisição de vários espectros de massas por segundo. O equipamento também fornece o espectro de massas de cada substância, e a identificação pode ser facilitada pela comparação de seu espectro com os espectros de várias substâncias, armazenados na "biblioteca" do equipamento, ou retirados da literatura especializada. Até 1995 mais de 6600 compostos voláteis foram identificados em alimentos e bebidas, agrupados em hidrocarbonetos, compostos oxigenados, nitrogenados e sulfurados (BOELEN, 1995).

Algumas vezes, o espectro de massas de uma substância desconhecida é insuficiente para determinar sua identidade, pois existem numerosas outras substâncias que apresentam espectros de massas com alto grau de similaridade. Índices de retenção têm sido usados como técnica auxiliar de identificação desde o início do emprego da cromatografia gasosa (JENNINGS, 1980). Os índices de retenção fornecem informações sobre a seqüência de eluição dos compostos e variam em função da fase estacionária. A determinação desses índices em mais de uma coluna capilar, de polaridades diferentes, aumenta consideravelmente a confiabilidade desse parâmetro como critério de identificação (JENNINGS, 1980).

Entre os índices de retenção, o mais empregado é o Índice de Kovats, que descreve o comportamento de retenção de um composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos de diferentes números de átomos de carbono. O Índice de Kovats (I) é definido como cem vezes um número hipotético, que é igual ao número de átomos de carbono de um alcano

saturado de cadeia normal, que tem o mesmo tempo de retenção ajustado (t'_r) que o composto em estudo. Esse índice pode ser determinado usando-se um gráfico que relaciona o número de carbonos de alcanos saturados normais com o logaritmo dos tempos de retenção ajustados desses alcanos, ou pelo cálculo da seguinte equação:

$$I = 100 z + 100 \left[\frac{\log t'_R x - \log t'_R z}{\log t'_R(z+1) - \log t'_R z} \right]$$

onde $t'_R x$ = tempo de retenção ajustado do composto x

$t'_R z$ e $t'_R(z+1)$ = tempos de retenção ajustados de alcanos de cadeia normal, sendo que $t'_R x$ é intermediário a $t'_R z$ e $t'_R(z+1)$.

Às vezes, mesmo após a obtenção do espectro de massas e do Índice de Kovats do composto de interesse, não se consegue fazer uma identificação segura. Nesse caso, deve-se lançar mão de padrões e/ou fazer a interpretação do espectro de massas, onde as relações massa/carga obtidas podem ser transformadas em informação estrutural a partir de estudos sobre os mecanismos de fragmentação dos compostos (MCLAFFERTY & TURECEK, 1993).

1.1.3. Cromatografia gasosa – Olfatometria

Na pesquisa do sabor, o presente desafio tem sido identificar, entre todos os voláteis, aqueles que são responsáveis por propriedades sensoriais específicas no produto alimentício, pois muitas vezes o sabor característico não é dado pelos compostos que estão em maior quantidade (picos maiores) e sim por aqueles que estão em concentrações mínimas.

O conjunto de técnicas que podem ser utilizadas para determinar a importância individual de cada odor num sistema aromático, que combina análise sensorial com cromatografia gasosa é chamada de *gas chromatography – olfactometry* (GCO) ou, traduzindo, olfatometria de cromatografia gasosa, onde indivíduos cheiram o efluente cromatográfico assim que emerge da coluna, e registram a impressão sensorial que tiveram de cada composto eluído.

O nome "*gas chromatography-olfactometry*" foi introduzido por TAKEUCHI *et al.* (1980), os quais acoplaram um olfatômetro a um cromatógrafo gasoso. Posteriormente esse termo passou a designar qualquer procedimento que utilize pessoas como detectores num cromatógrafo gasoso.

A técnica de *CG-sniffing* foi a primeira técnica de GCO a ser descrita (FULLER *et al.*, 1960; GUADAGNI *et al.*, 1964) e tem sido utilizada até hoje. A configuração do equipamento envolve um divisor de fluxo posicionado na saída da coluna cromatográfica que promove a distribuição simultânea do eluente para o detector e para um tubo de sílica desativada, o qual permite a comunicação com o ambiente externo, e conseqüentemente, a olfação dos compostos eluídos. Ao mesmo tempo em que um indivíduo cheira o gás contendo os voláteis separados pela coluna e utiliza suas próprias palavras para descrever a qualidade do aroma percebido, os compostos eluídos são detectados e registrados. A desvantagem do “sniffing” é que os julgadores limitam-se a descrever o aroma percebido, não sendo possível quantificar a intensidade de cada sensação.

Outra limitação dessa técnica era o desconforto causado pela inalação do gás de arraste quente e seco, até que em 1971 DRAVNIKS & O'DONNELL introduziram uma modificação, misturando ar umidificado com o efluente cromatográfico.

Segundo ACREE & BARNARD (1994), os métodos de GCO podem ser classificados em quatro tipos:

1. Métodos de análise por diluição, que produzem estimativas da potência odorífera baseando-se na diluição sucessiva até chegar ao *threshold*;
2. Métodos por intervalos de resposta, que utilizam o tempo de duração de um odor como medida da sua potência odorífera;
3. Métodos de tempo-intensidade, que produzem estimativas subjetivas da intensidade do odor, a qual é registrada ao mesmo tempo em que ele é percebido;
4. Métodos de intensidade *a posteriori*, que produzem estimativas subjetivas da intensidade, a qual é registrada somente após o composto ter sido eluído.

Exemplos de métodos de diluição são **Charm Analysis** (ACREE *et al.*, 1984; CUNNINGHAM *et al.*, 1986) e **Aroma Extraction Dilution Analysis - AEDA** (SCHIEBERLE & GROSH, 1987; SCHIEBERLE & GROSH, 1988).

Na técnica **Charm Analysis** o julgador registra o início e o final da detecção sensorial de cada composto que elui da coluna cromatográfica. O procedimento é repetido para diluições sucessivas (geralmente séries de 1:2 ou 1:3) até que nenhum odor seja mais

percebido. É então construído um aromagrama plotando-se a Constante de Diluição c contra o índice de retenção (tempo).

$$c = d^{n-1}, \text{ onde}$$

n = última diluição em que o composto foi percebido (número de respostas coincidentes)

$$d = \text{fator de diluição} = a_{n-1}/a_n$$

a_{n-1} = quantidade do composto na penúltima diluição em que ele foi percebido

a_n = quantidade do composto na última diluição em que foi percebido.

A área sob o pico mostra a medida relativa da intensidade do odor da substância que está sendo eluída (ACREE *et al.*, 1984) permitindo identificar regiões do cromatograma onde estão os aromas.

Em **AEDA**, semelhantemente à **Charm Analysis**, várias corridas cromatográficas são realizadas, envolvendo sucessivas diluições das amostras, para a determinação do fator de diluição do aroma ("*D-value*"), que corresponde à mais alta diluição na qual o aroma ainda é percebido pelo julgador. Os resultados são expressos em fatores de diluição plotados contra os índices de retenção de Kovats, para a obtenção do aromagrama.

Nos métodos **Charm** e **AEDA** a determinação da importância do odor de um composto individual é baseada no *threshold* de detecção dos compostos, semelhantemente às "unidades de odor" propostas por GUADAGNI *et al.* (1966), definidas como a razão da concentração do composto pelo seu limiar:

$$U = C / \alpha.$$

O emprego da unidade de odor assume que há uma relação linear entre a intensidade percebida do composto e sua concentração, ou seja, compostos voláteis com a mesma concentração apresentariam iguais respostas odoríferas. No entanto, essa consideração não é válida para todas as substâncias. A moderna psicofísica prediz uma relação exponencial entre a intensidade percebida (I) e a concentração do estímulo (C) (STEVENS, 1957), também chamada de Lei de Stevens:

$$I = k.C^n$$

Nos métodos por intervalos de resposta assume-se que a duração do odor pode dar uma estimativa da largura da banda do pico, e esta uma aproximação da área. Porém, segundo

ACREE & BARNARD (1994), essa suposição só é válida quando todos os compostos apresentam o mesmo tipo de cauda na coluna utilizada, o que não é sempre verdadeiro.

Métodos de intensidade *a posteriori* são aqueles em que o julgador sente todo o composto passar e depois associa sua percepção a uma escala numérica de intensidade. Exemplo desse tipo de método é o “**Flavor Impact Value**” (CASIMIR & WHITFIELD, 1978), o qual produz medidas de intensidade por uma estimativa da magnitude do composto eluído. A grande dificuldade associada com esses métodos, principalmente no que se refere a treinamento extensivo dos julgadores e utilização de padrões externos durante a análise, tem limitado bastante a sua utilização.

Na tentativa de criar um novo método de CG-olfatometria fortemente baseado na ótica da psicofísica vigente, o Laboratório de Ciência Sensorial da Universidade de Oregon, desenvolveu uma nova técnica de CGO chamada **OSME** (MCDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992, DA SILVA *et al.*, 1993). Com o OSME (cheiro, em grego, sendo também a abreviação de “*Oregon State Method*”), julgadores treinados inalam os efluentes do cromatógrafo gasoso misturados com ar umidificado e registram diretamente a intensidade e a duração do odor de cada composto, enquanto descrevem oralmente a qualidade desse odor. O tempo de duração e a intensidade de cada odor percebido são registrados por meio de um sistema computadorizado de coleta de dados de tempo-intensidade (LEE III & PANGBORN, 1986; CARDELLO & DAMASIO, 1996). O gráfico do tempo de retenção versus intensidade de odor, chamado Osmograma ou aromagrama, gera uma representação gráfica da importância do odor de cada composto no isolado de aroma, sendo que picos maiores sugerem maior importância.

DA SILVA *et al.* (1994) trabalhando com a técnica OSME e vários compostos químicos a diferentes concentrações no efluente cromatográfico, verificaram que todos os julgadores foram capazes de perceber diferenças significativas na intensidade do odor e na área sob o pico entre diferentes concentrações de um mesmo composto, mesmo havendo um período de tempo muito curto para o julgador avaliar cada composto.

1.1.4. Análise Sensorial

Análise Descritiva Quantitativa

Através do método de Análise Descritiva Quantitativa- ADQ (STONE *et al.*,1974) é possível avaliar todos os atributos sensoriais presentes no produto, quais sejam: aparência, aroma, sabor e textura. É um método qualitativo e quantitativo, utilizando, geralmente, uma escala não estruturada de nove centímetros, ancorada em seus extremos com termos como 'fraca' e 'forte' para indicar a intensidade do atributo que está sendo avaliado.

A primeira etapa dessa técnica envolve uma **pré-seleção** de indivíduos com base em disponibilidade de tempo, interesse, acuidade sensorial e sua capacidade discriminatória, avaliada através de testes discriminativos como o teste Triangular (HELM & TROLLE, 1946; MEILGAARD *et al.*,1987a).

A etapa seguinte é a de **desenvolvimento da terminologia descritiva**, onde os julgadores avaliam sensorialmente o produto e verbalizam as sensações percebidas, discutindo-as em grupo, com a ajuda do analista sensorial. A frequência dos termos gerados é calculada e realiza-se uma sessão aberta para escolha, em consenso, dos termos que irão compor a Ficha de Avaliação. Os julgadores devem ainda dar uma definição para cada termo descritivo e sugerir materiais de referência que caracterizem aquele descritor e representem os pontos extremos da escala de intensidade (fraca - forte).

O **treinamento dos julgadores** inicia-se durante a própria etapa de desenvolvimento da terminologia, quando as amostras e as referências são testadas diversas vezes. Após o treinamento aplica-se um teste com algumas amostras que representem o universo do produto que será analisado, com o objetivo de **selecionar os julgadores** com base na sua capacidade de melhor discriminar as amostras, produzir resultados consensuais com os demais membros da equipe e apresentar boa repetibilidade em seus julgamentos (DAMÁSIO & COSTELL, 1991).

Os **testes** propriamente ditos são então conduzidos com as amostras experimentais, em delineamento estatístico previamente determinado. Os **resultados** da ADQ são avaliados por Análise de Variância (ANOVA), Teste de Tukey para médias, Análises Multivariadas como Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Clusters. A forma gráfica de representar os resultados da ADQ é chamada gráfico tipo “aranha” ou “estrela”, onde a intensidade média de cada descritor é plotada em um eixo de dimensão igual à escala utilizada na ficha de avaliação, tomando-se o ponto central como zero.

Testes afetivos

Os testes afetivos têm por objetivo conhecer a opinião pessoal de um determinado grupo de consumidores, em relação a um ou mais produtos. Esses testes medem atitudes subjetivas tais como aceitação e preferência. **Testes de aceitação** avaliam o grau com que os consumidores gostam ou desgostam de determinado(s) produto(s) e **Testes de Preferência** avaliam a preferência do consumidor por um produto em relação a outro(s) (MEILGAARD *et al.*, 1987b).

Os julgadores de testes afetivos devem ser reais consumidores ou consumidores em potencial do produto testado. Os indivíduos podem ser classificados em função de critérios demográficos (cidade ou região), frequência de consumo do produto, idade, sexo, renda, padrões culturais e étnicos. Indivíduos que participaram de equipes treinadas não devem participar de testes afetivos do mesmo produto.

Para avaliar a aceitação de um ou mais produtos a escala hedônica estruturada verbal de 9 pontos é provavelmente o método sensorial mais utilizado (MEILGAARD *et al.*, 1987b) devido, principalmente, à sua simplicidade e facilidade de uso até por consumidores com instrução mínima. A análise dos resultados dos testes de aceitação é feita através de Análise de Variância Univariada e Teste de Tukey para médias (STONE & SIDEL, 1985).

Apesar de sua utilização em larga escala, o teste de média como o de Tukey apresenta o inconveniente de assumir que todos os julgadores possuem o mesmo comportamento e que um valor médio pode representar a opinião de toda a equipe (MACFIE & THOMSON, 1988). Numa tentativa de analisar os dados levando-se em consideração a opinião individual de cada consumidor foi desenvolvida a técnica conhecida como Mapa de Preferência (MACFIE & THOMSON, 1988; MARKETO *et al.*, 1994).

O Mapa de Preferência exige que a coleta de dados seja realizada, no mínimo, com seis amostras, através da escala hedônica. Como resultado tem-se a construção de um mapa multidimensional do produto, baseado somente em dados de aceitação, onde os produtos são alocados como pontos e os consumidores como vetores individuais, cuja direção indica os produtos que cada consumidor gostou mais. Com base nessa representação multidimensional é possível testar as hipóteses que são feitas a partir das diferenças sensoriais, instrumentais ou outras que ocorram entre os produtos. Desta forma o pesquisador visualiza as preferências de

cada julgador dentro do grupo, observando a segmentação do mercado consumidor entre os produtos avaliados.

1.2 COMPOSTOS VOLÁTEIS EM VINHOS

Segundo YOUNG (1987), o odor de um vinho é formado pelo **aroma**, ou seja, pelos constituintes provenientes da fruta, e pelo **bouquet**, voláteis oriundos do processo de fermentação e envelhecimento. No entanto, neste trabalho, o termo “aroma” será utilizado para se referir ao odor global do vinho, como é cientificamente utilizado para os produtos alimentícios. RAPP (1990) estimou que os vinhos contém cerca de 600 a 800 compostos voláteis. MATHEIS (1992) em sua revisão sobre a biogênese do sabor do vinho, apresentou uma relação dos compostos voláteis em vinhos brancos, por classe química, baseando-se em 160 referências entre 1944-1986, a qual está reproduzida na Tabela 1.1.

Esses compostos voláteis, responsáveis pelo aroma do vinho, podem apresentar diversas origens:

- a) Substâncias voláteis presentes na fruta que passam inalteradas para o vinho;
- b) Compostos resultantes de transformações das substâncias originalmente presentes na matéria-prima, através de processos químicos, enzimáticos, térmicos, etc. (RAPP, 1990);
- c) Compostos voláteis formados durante a fermentação;
- d) Compostos formados durante o envelhecimento do vinho nas garrafas ou barris.

Substâncias voláteis provenientes da uva

O caráter de um vinho é grandemente influenciado pelo perfil de compostos voláteis presentes na matéria-prima (uva). Na Tabela 1.1 é fornecida uma lista de compostos voláteis, por classes químicas, já detectados em uvas, elaborada por MATHEIS (1992) e baseada em 54 referências de 1955 a 1983.

Em termos de quantidade os ésteres predominam no aroma da uva, seguidos por hidrocarbonetos, álcoois, ácidos, aldeídos e outros. De acordo com WILLIAMS *et al.* (1985) os álcoois monoterpênicos como linalool, nerol, geraniol e *alfa*-terpineol são compostos determinantes do aroma característico da uva. Em alguns casos é possível até distinguir vinhos de variedades de uvas diferentes pelo seu perfil de monoterpenos (RAPP, 1989).

Diversos aldeídos estão presentes na uva, mas apenas alguns deles estarão presentes no vinho, pois eles são reduzidos a álcoois durante a fermentação. Aldeídos provenientes da uva são propanal, 2-metil-propanal, hexanal, hexenal, benzaldeído, (LÓPEZ-TAMAMES *et al.*, 1997).

BAEK *et al.* (1997) analisaram os componentes do aroma de uvas Muscadine (*Vitis rotundifolia* Michx) isolados por extração líquido-líquido, através de GC-MS e AEDA como técnica de GCO. O furaneol, com aroma de açúcar queimado foi composto de maior intensidade de aroma no suco. Outros compostos predominantes foram 2,3 butanediona (manteiga, *cream cheese*), butanoato de etila (frutal, chiclete), 2-metil butanoato de etila (frutal, maçã), 2-feniletanol (rosa, plástico), acetato de feniletila (doce, tabaco), e um composto não identificado (plástico).

O metanol não é um produto da fermentação. Ele é formado na hidrólise enzimática de substâncias pécticas presentes no mosto. A enzima pectinametilsterase desesterifica a pectina, catalisando a hidrólise dos grupos metila para a formação de ácido péctico, com a liberação do metanol. O metanol não apresenta importância para o aroma (MAIA, 1994) mas sua presença é importante para a formação de outros compostos voláteis.

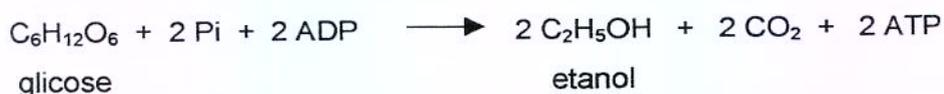
Tabela 1.1 – Número de substâncias voláteis encontradas em vinhos brancos e uvas viníferas.

Classes de substâncias	Número de compostos em	
	Vinho branco	Uvas
Ésteres	178	132
Álcoois	97	72
Ácidos	78	44
Hidrocarbonetos	34	93
Cetonas	31	32
Lactonas	27	3
Bases	27	14
Compostos sulfurados	26	3
Fenóis	26	9
Aldeídos	21	40
Acetais	21	3
Furanos	20	13
Nitrilas e amidas	9	2
Éteres	5	4
Outros	32	13
Total	632	477

Fonte: MATHEIS (1992)

Compostos formados durante a fermentação alcoólica

As leveduras presentes no mosto, sejam espécies de uso enológico, sejam as leveduras selvagens provenientes da matéria-prima, metabolizam a glicose pela via Embden-Meyerhof-Parnas (Figura 1.2), em condições anaeróbicas, para a obtenção de energia na forma de ATP. Os produtos finais, também chamados de “produtos primários da fermentação” são o **etanol** e o **dióxido de carbono**. A equação geral da fermentação alcoólica pode ser escrita:



O etanol possui odor agradável, porém ardente e penetrante quando anidro. Determina a viscosidade (corpo) do vinho e pode afetar o grau de acidez. Ele atua inibindo o crescimento de outros microrganismos presentes no mosto (fungos, leveduras selvagens e bactérias). O dióxido de carbono também atua como protetor pois, deslocando o ar diminui a possibilidade de crescimento de organismos aeróbios (VOGT, 1984).

Além do **etanol** e **CO₂** também são formadas pequenas quantidades de **ácido succínico**, **glicerol** e **butanodiol** (Figura 1.2). O glicerol é resultante da redução da fosfodiidroxiacetona, seguida de desfosforilação. Acima de 0,5% apresenta um gosto ligeiramente doce, e seu *threshold* aumenta com o aumento de acidez ou etanol. O butanodiol é produzido a partir de um desvio do metabolismo do ácido pirúvico.

Além das enzimas envolvidas na fermentação alcoólica, as leveduras produzem outras enzimas envolvidas na formação de compostos odoríferos. Esses compostos voláteis, chamados de “produtos secundários da fermentação”, pertencem a diversos grupos funcionais, por exemplo álcoois, ésteres, aldeídos e ácidos, como já relacionado na Tabela 1.1.

Os **álcoois superiores**, também chamados de “óleo fúsel”, estão presentes no vinho em quantidades pouco acima de seu *threshold*. Nessas concentrações contribuem positivamente para tipificar o aroma da bebida, mas em concentrações maiores que 400 mg/L apresentam odor desagradável, podendo depreciar a qualidade da bebida (AMERINE & ROESSLER, 1983). Os álcoois superiores também são importantes como precursores de ésteres durante o envelhecimento (GIL *et al.*, 1996).

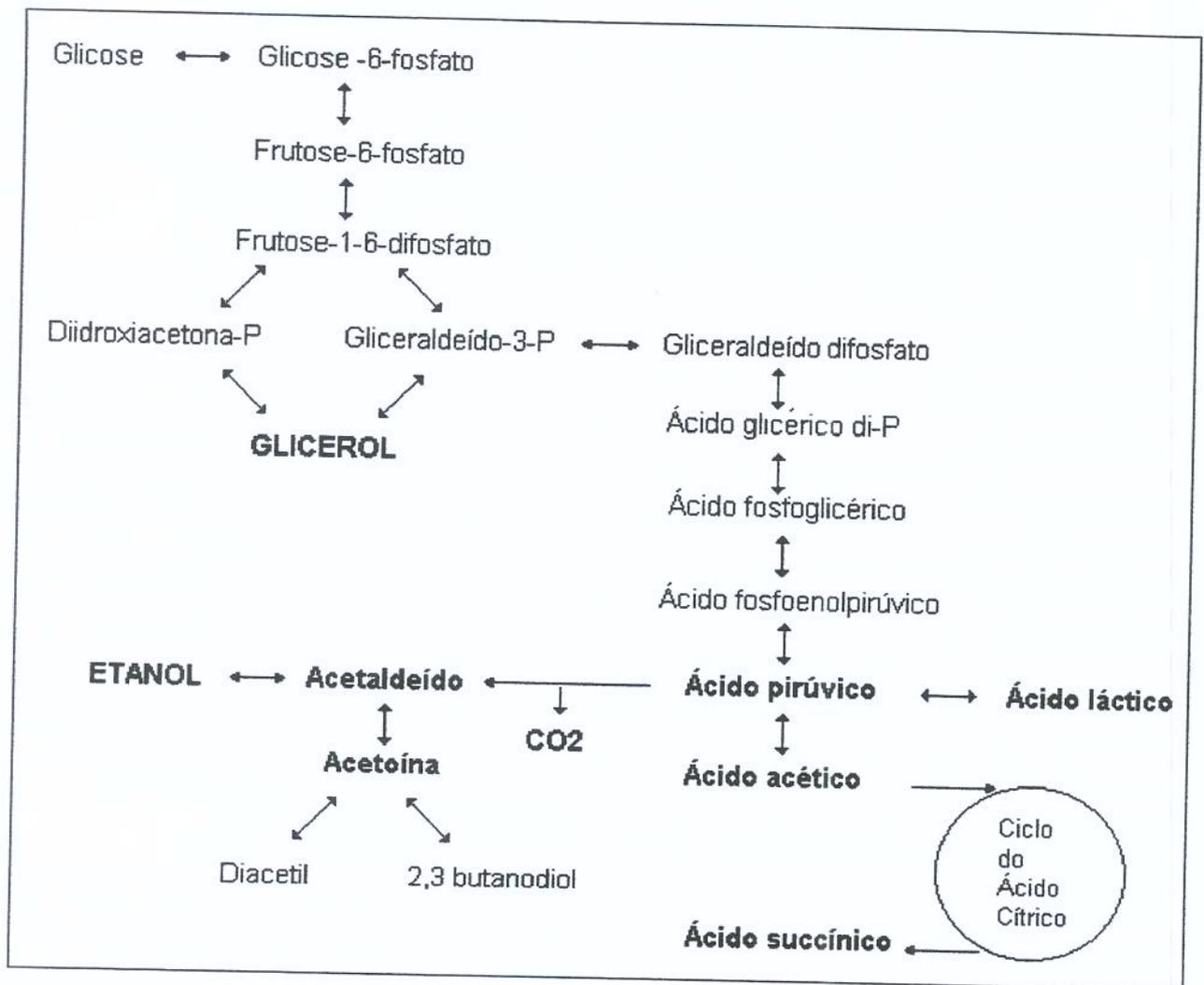


Figura 1.2 – Esquema bioquímico da fermentação alcoólica

Os principais álcoois superiores são 2-metil-1-propanol (isobutanol), 2-metil-1-butanol (álcool amílico ativo) e 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico). Menores quantidades de álcoois alifáticos têm sido encontradas em vinhos, como 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol (álcool amílico), 1-hexanol, 1-octanol e outros.

O mecanismo mais conhecido de formação de álcoois superiores é a partir do metabolismo dos aminoácidos presentes no mosto ou resultantes da hidrólise das proteínas das células de leveduras. Assim, por exemplo, 3-metil-butanol, 2-metil-butanol e 2-metil-propanol são derivados da leucina, isoleucina e valina, respectivamente, através de reações de transaminação, descarboxilação dos cetoácidos resultantes e redução do aldeído formado. Entretanto, trabalhos recentes demonstram que eles são formados, em parte, pelas vias de degradação do próprio açúcar (PONS *et al.*, 1989) e que álcoois superiores e aminoácidos têm sua origem em precursores comuns, ou seja, produtos intermediários da biossíntese de aminoácidos servem para gerar álcoois superiores, como um desvio do metabolismo normal (NYKÄNEN, 1986). Segundo NYKÄNEN (1986) álcoois aromáticos como o **álcool feniletílico** também estão incluídos no grupo dos álcoois superiores e são derivados diretamente do aminoácido fenilalanina.

Álcoois secundários como o **2-propanol** e o **2-butanol** possuem origem bem diferente dos outros álcoois superiores. O 2-butanol origina-se do **2,3 butanodiol** pela ação, principalmente, das bactérias lácticas, enquanto que o 2-propanol parece ser formado pelo *Clostridium acetobutylicum* e pelos *Lactobacillus* (WENCKER *et al.*, 1981).

A maioria dos **aldeídos** alifáticos de cadeia curta existentes no vinho, inclusive o acetaldeído, são formados durante a fermentação alcoólica a partir de aminoácidos presentes no mosto, como intermediários da formação dos álcoois superiores. Em presença de oxigênio, os álcoois superiores podem ser convertidos novamente a aldeídos. Essa degradação não é desejável porque ela é geralmente acompanhada de reações que favorecem a formação de mercaptanas (a partir dos aminoácidos sulfurados), que possuem aroma extremamente desagradável (MAIA, 1994).

Um aldeído importante para o aroma do vinho é o **acetaldeído**, produto primário da fermentação alcoólica. Em vinhos de mesa, um alto teor de acetaldeído é responsável por um odor de oxidado, mas em “*sheries*” produzidos por envelhecimento, e onde a concentração de álcool é alta, esse aldeído confere uma nota aromática desejável. Cinamaldeído, vanilina,

furfural e hidroximetilfurfural podem ser encontrados em muitos vinhos, principalmente se eles receberam aquecimento (AMERINE *et al.*, 1959).

Dos ácidos voláteis, o **ácido acético** aparece freqüentemente como o composto majoritário. Segundo SUOMALAINEN *et al.* (1974) ele pode representar até 80 - 95% dos ácidos voláteis. O ácido acético é produto normal da fermentação alcoólica com *Saccharomyces*, sendo que, mesmo nas melhores condições de fermentação uma pequena parte de açúcar se converte em ácido acético através da rota bioquímica ilustrada na Figura 1.2 (MAIA, 1994).

Também são formados **ácidos graxos de cadeia curta e média** (C₄-C₁₂) os quais podem ser biossintetizados a partir do ácido acético, ou serem resultado do metabolismo de ácidos graxos de cadeias mais longas (β -oxidação dos ácidos graxos)(MATHEIS, 1992). Na mudança da fases (adaptação a crescimento exponencial) durante a fermentação, formam-se outros ácidos graxos como ácido propiônico, ácido 2-metil butírico e ácido isovalérico. A presença de ácidos como ácido isobutílico e ácido propanóico geralmente é associada à formação de acroleína, considerada um acidente de fermentação (FAHRASMANE *et al.*, 1988). Embora todos esses ácidos graxos estejam presentes em quantidades bem menores à do ácido acético seu poder odorífero é, em geral, muito elevado, e portanto, possuem grande importância para o aroma do vinho. **Ácidos graxos de cadeia mais longa** como palmítico, palmitoleico, esteárico e oleico acumulam-se nas células das leveduras e podem passar para a bebida (SUOMALAINEM *et al.*, 1974).

Os **ácidos láctico e succínico** são formados na fermentação alcoólica a partir do ácido pirúvico diretamente, no caso do ácido láctico, e indiretamente (ácido succínico) através do ciclo do ácido cítrico (Figura 1.2).

Os **ésteres** do vinho são resultantes da reação entre os álcoois e os ácidos presentes no mosto, já discutidos anteriormente, conforme o esquema abaixo:



O acetato de etila geralmente é o éster de maior quantidade nos vinhos. Em concentrações entre 50 a 80 mg/L contribuem para o aroma do vinho, especialmente vinho tinto. Ésteres dos ácidos caprótico, caprílico, cáprico e láurico aparecem em concentrações dez

vezes acima de seus valores de *threshold*, sendo portanto, de grande significado para o aroma do vinho, particularmente de vinhos brancos.

Os **fenóis** voláteis do vinho incluem, entre outros: *o*-cresol, *m*-cresol, *p*-cresol, 2-etil-fenol, 4-etil-fenol, 2-hidroxibenzaldeído, 4-hidroxiacetofenona e acetovanilina. Com exceção da acetovanilina, todos os fenóis voláteis existem somente no vinho, pois são o resultado do metabolismo de leveduras e bactérias ou o produto da hidrólise de fenóis superiores da uva.

Compostos formados por microrganismos da microbiota natural da fruta

As uvas viníferas apresentam uma numerosa carga microbiana, incluindo leveduras, bactérias e fungos. Entretanto, devido ao baixo pH do suco a maioria dos microrganismos é inibida, e somente as leveduras ácido-resistentes, bactérias lácticas e acéticas conseguem se desenvolver. A fermentação espontânea é então iniciada por essas leveduras selvagens e não pela linhagem enológica inoculada no mosto (geralmente *Saccharomyces cerevisiae*). Nos estágios mais avançados da fermentação, a *S.cerevisiae* domina, devido a seu rápido crescimento, e supera os outros microrganismos.

Compostos formados por enzimas produzidas por esses microrganismos incluem álcoois superiores, feniletanol, acetaldeído, ácido acético, acetoína, diacetil, diversas aminas e 8-hidroxilinalaol. A biogênese dos álcoois superiores, feniletanol, ácido acético, diacetil e acetoína ocorre através das mesmas rotas bioquímicas utilizadas na fermentação alcoólica. As aminas são formadas pela descarboxilação de aminoácidos, enquanto que o 8-hidroxilinalaol é formado pela hidroxilação do linalaol pelo fungo *Botrytis cinera* (RAPP, 1989).

Voláteis formados durante o envelhecimento

A composição de voláteis do vinho sofre ainda muitas alterações durante o período de estocagem em garrafas ou barris, geralmente chamado de maturação ou envelhecimento. Continuam ocorrendo reações, muitas delas não catalisadas por enzimas, como esterificações, polimerizações e formação de acetais. Ocorrem mudanças nas concentrações dos ésteres, sendo freqüente o aumento dos etil ésteres, diminuição dos acetatos e mudanças nos compostos terpênicos. Algumas dessas reações também podem ocorrer ainda na fase de preparo do vinho (COLE & NOBLE, 1995).

A formação de acetais se dá pela condensação de aldeídos com álcoois. Primeiro, uma molécula de aldeído reage com uma molécula de álcool para formar um semi-acetal, o

qual, por sua vez vai reagir com uma segunda molécula de álcool para formar um acetal pleno. Altas concentrações de acetais são encontradas em vinhos doces e licorosos, como o Madeira, pois para que essa reação ocorra é necessário que haja abundância de álcool no meio (MATHEIS, 1992).

Quando os vinhos são envelhecidos em barris de madeira (vinhos tintos), compostos aromáticos são extraídos da madeira e passam para o vinho. Alguns exemplos são a quercus lactona (*Quercus* é o nome científico do carvalho), aldeídos e compostos fenólicos. AIKEN & NOBLE (1984), comparando características sensoriais de vinhos envelhecidos em recipientes de vidro e carvalho observaram que esses últimos apresentaram maior intensidade de atributos “*spicy*”, “*vanilla*” e “*oak blend*”, provavelmente devido a extração de compostos fenólicos como vanilina e eugenol. Também foi observada menor intensidade de notas vegetativas (“*green bean*”/“*green chiles*”).

Durante o envelhecimento há também formação de novos compostos voláteis pela degradação de carboidratos e carotenóides, mas sua origem não será discutida aqui, pois foge à abrangência dessa dissertação.

Defeitos mais comuns em vinhos

Falhas no processo de fermentação e armazenagem podem causar o aparecimento de defeitos na aparência, aroma e sabor do vinho. As possibilidades são muitas e variadas. Alguns exemplos de defeitos mais comuns em vinhos são dados abaixo, segundo informações apresentadas por AMERINE *et al.* (1959) e MATHEIS (1992):

Dióxido de enxofre – excesso de SO₂ livre na forma de sulfito ou bissulfito, utilizado no processamento, pode causar odor de enxofre (de quando se risca um fósforo) e irritação nas vias nasais.

Sulfeto de hidrogênio – Formado pela redução do enxofre elementar utilizado na plantação, por algumas leveduras, possui odor de ovo podre.

Mercaptanas – Etil sulfeto ou metilmercaptana (CH₃CH₂SH) pode ser formado pela reação do H₂S com acetaldeído ou etanol. Uma molécula de metil mercaptana pode reagir com outra molécula formando dietil dissulfeto. Esses compostos possuem um odor muito desagradável e persistente, que lembra alho.

Urina de rato – Esse odor é associado a certos tipos de deterioração por *Lactobacilli*. Os compostos químicos envolvidos podem ser formaldeído, acetamida e acroleína.

Oxidado – Formação de acetaldeído devido a exposição do vinho a oxigênio.

Levedura – Odor de fermentado, devido ao crescimento indesejável de leveduras em vinhos já engarrafados

Vinagre – Odor de vinagre devido a presença de ácido acético e acetato de etila produzidos por bactérias acéticas.

Láctico – Odor de ácido láctico (chucrute) devido a presença de ácido láctico e diacetil produzidos por bactérias lácticas.

Fúsel – Odor de óleo fúsel, devido a presença de alto conteúdo de álcoois superiores, oriundos da própria fermentação.

Compostos sulfurados cíclicos – Odor de condimentos e couve.

Terra – Odor de terra devido a presença de uma substância chamada geosmina.

Madeira – Presença de compostos como lactonas e fenóis, extraídos da madeira pelo vinho durante o envelhecimento em barris de madeira.

Rolha – Os odores relacionados a rolha podem ser provenientes de diferentes fontes como o contato da rolha com o SO₂ do vinho, o contato da rolha com o cloro utilizado na sua sanificação e presença de microrganismos na rolha que podem produzir *off-odors*. Outras substâncias como alguns sesquiterpenos e o pentacloroanisol (derivado da ação de bactérias sobre o herbicida pentaclorofenol) apresentam odor de rolha.

Fatores que influenciam o perfil de voláteis em vinhos

São numerosos os fatores que afetam a composição e concentração dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma de vinhos: fatores ambientais (clima, solo), variedade da uva, condição do fruto (grau de maturação), tratamentos pré-fermentativos (maceração, clarificação), espécie e linhagem da levedura utilizada, condições durante o período de fermentação (pH, temperatura, nutrientes, microbiota), tratamentos pós-fermentativos (clarificação, misturas), condições de armazenamento (envelhecimento em garrafas ou barris, aeração do vinho) (SHIMAZU & WATANABE, 1981; MAIA, 1994; TROMP, 1984; LÓPEZ *et al.*, 1995; PINAL *et al.*, 1997; DELAQUIS *et al.*, 2000).

A influência da levedura na composição de voláteis do vinho é bastante conhecida (MATEO *et al.*, 1992; LEMA *et al.*, 1996; ANTONELLI *et al.*, 1999). A utilização de leveduras com baixa produção de produtos secundários é recomendada para a fermentação de uvas

bastante aromáticas, pois assim, serão as características varietais da uva que terão maior influência sobre a qualidade do vinho. De forma inversa, quando o mosto é proveniente de uvas neutras deve-se escolher linhagens de leveduras que produzem maior quantidade de compostos odoríferos (MAUGENET, 1982 apud HERRAIZ *et al.*, 1990).

ANTONELLI *et al.* (1999) concluíram que leveduras da espécie *S. bayannus* parecem ser mais apropriadas para a produção de vinhos brancos que *S. cereviseae*. Nesse estudo, *S. bayannus* produziu maior quantidade de compostos desejáveis como 2-feniletanol, acetato de feniletila, lactato de etila e dietil succinato. Essa levedura também não produziu compostos indesejáveis como ácido acético e anidrido sulfuroso.

GIL *et al.* (1996) estudaram a importância das leveduras apiculadas na composição de voláteis do vinho. Os autores concluíram que leveduras como *Hanseniaspora uvarum* e *Kloeckera apiculata*, geralmente presentes no mosto como microrganismos selvagens, oriundas da uva, são importantes para a qualidade final do vinho, pois a mistura dessas leveduras com as do gênero *Saccharomyces* produziu uma maior concentração de isobutirato de etila, isovalerato de etila, diversos álcoois, inclusive os superiores e diversos ácidos.

Também relacionada com as leveduras, a influência da utilização de dióxido de enxofre no mosto tem sido investigada por diversos pesquisadores. HERRAIZ *et al.* (1989) estudando vinhos elaborados com *Tolulaspota delbrueckei*, *Kloeckera apiculata* e *Saccharomyces cereviseae*, observaram que a utilização do SO₂ foi o fator responsável por diferenças significativas na composição de voláteis dos vinhos analisados. Segundo os autores, fermentação sem SO₂ resultou em vinhos cuja composição dependeu substancialmente da levedura predominante, enquanto que vinhos fermentados com dióxido de enxofre apresentaram-se mais uniformes.

HERRAIZ *et al.* (1990), estudando as mesmas leveduras em dosagens puras, mistas ou sequenciais, sem a adição de SO₂, observaram perfis de compostos voláteis bastante distintos para vinhos produzidos com *K. apiculata* e *T. delbrueckei* isoladamente e vinhos produzidos com essas leveduras adicionadas antes da *S. cereviseae*, daqueles em que a *S. cereviseae* foi a cultura que iniciou a fermentação. CHIRIVELLA *et al.* (1988) obtiveram melhores vinhos sem adição de SO₂.

Temperaturas muito altas de fermentação podem aumentar a produção de alguns compostos, como os álcoois superiores (MAIA, 1994). Além disso podem favorecer a perda de compostos voláteis importantes para o aroma que são arrastados pelo dióxido de carbono para fora do tanque de fermentação. MILLER *et al.* (1987) observaram que ésteres como acetato de isobutila, acetato de isoamila, acetato de hexila, butanoato de etila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila e dodecanoato de etila podem ser perdidos em proporções que variam de 2 a 24%, dependendo do composto, à temperatura de 15°C. Segundo esses autores, a perda de álcoois não ultrapassa 1% devido, provavelmente, a sua maior solubilidade na fase líquida.

FERREIRA *et al.* (1997) investigaram o efeito da oxigenação do vinho durante o armazenamento, no perfil de compostos voláteis. Os autores observaram que os etil ésteres de ácidos graxos e acetatos de álcoois superiores desapareceram, enquanto que ésteres de ácidos orgânicos como lactato de etila e dietil succinato aumentaram. A estocagem oxidativa também aumentou a concentração de derivados insaturados de ácidos graxos, como *trans*-2-octenal, *trans*-2-nonenal, *trans*-2-decenal e 1-octen-3-ol; hexanol diminuiu ligeiramente. Os fenóis voláteis se comportaram diferentemente entre si: enquanto fenol e 4-etilfenol inicialmente aumentaram e depois diminuíram, eugenol aumentou durante o processo e 4-vinil-guiacol desapareceu. Benzaldeído e furfural aumentaram, enquanto metionol e terpenóis desapareceram.

A possibilidade de se utilizar o perfil de compostos voláteis de vinhos como um padrão de identidade ou qualidade da bebida vem sendo estudada por diversos autores. GARCÍA-JARES *et al.* (1995) analisaram a composição de compostos voláteis de vinhos brancos da região da Galícia, na Espanha, com a finalidade de diferenciar os vinhos certificados com a origem "Rias Baixas" de outros vinhos produzidos em regiões vizinhas. Utilizando a técnica "*purge and cold trapping*" para isolamento e injeção da amostra os autores detectaram apenas 28 compostos, dos quais 19 apresentaram diferença significativa entre os dois grupos de vinhos (acetaldeído, formato de etila, acetato de etila, metanol, 3-metilbutanal, isobutirato de etila, butanoato de etila, isovalerato de etila, isobutanol, acetato de isoamila, 2-butenato de etila, álcool isoamílico, hexanoato de etila, acetato de hexila, hexanol, octanoato de etila, furfural, ácido acético, e um composto não identificado). Quando projetadas as 3 primeiras Componentes Principais foi possível diferenciar os vinhos Rias Baixas dos outros vinhos galicianos, embora, duas amostras de vinhos não-Rias-Baixas ficaram no grupo Rias-Baixas.

Os autores concluíram que esse comportamento pode ser devido à predominância da característica varietal sobre a origem geográfica.

Através da injeção do *headspace* estático em injetor *on-column*, SHIMODA *et al.* (1993) detectaram 44 compostos em 20 vinhos Cabernet Sauvignon de 6 regiões de Napa Valley, Califórnia. Dentre esses compostos, 23 apresentaram diferenças significativas entre as regiões estudadas. Com a análise discriminante passo a passo (*stepwise*), os autores puderam classificar corretamente os vinhos por região, utilizando apenas 6 picos (1-metiletoxi-1-butanona, butanoato de etila, 2-metil-butanoato de etila, furfural e dois compostos não identificados).

A análise olfatométrica, através da técnica AEDA (GUTH, 1997a; GUTH, 1997b), de duas variedades de vinho branco, permitiu identificar que a diferença no aroma entre vinhos Scheurebe e Gewürztraminer foi causada, principalmente, pela presença de 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona (descrito como aroma de "*black currant*") no Scheurebe e *cis*-rose oxide (2-Isobutenil-4-metil tetrahidropirano) no Gewürztraminer, além de diferenças nos valores do Fator de Diluição de outros compostos, como isobutirato de etila, citronelol, geraniol, eugenol e vinilguaiacol. Também foi detectada uma lactona pela primeira vez em vinhos (3a,4,5,7a-tetrahydro-4,5-dimetil-2(5H)-furanona) importante no aroma de ambas variedades. A análise por *headspace* estático - olfatometria revelou mais compostos odoríferos potentes: acetaldeído, acetato de etila, dimetilsulfeto (DMS) e dimetiltrisulfeto (DMTS).

Alguns autores, apesar de não analisar o perfil cromatográfico dos compostos voláteis, utilizaram análise descritiva quantitativa de suas características sensoriais para determinar diferenças provocadas por fatores como variedade, região de origem, ano de colheita e produtor (NOBLE & SHANNON, 1987; HEYMANN & NOBLE, 1987; OHKUBO *et al.*, 1987; DE LA PRES-OWENS & NOBLE, 1995; FISCHER *et al.*, 1999).

1.3 O VINHO DE CAJU

1.3.1. Matéria-prima

O cajueiro (*Anacardium occidentale*, L.) é uma planta de porte médio, xerófila, rústica, típica de clima tropical. É uma árvore originária do Brasil, do litoral nordestino (JOHNSON, 1973; JOHNSON, 1974; MOTA, 1982) de onde se espalhou, levada pelos

colonizadores, para diversos países da África e para a Índia. O nome original tupi da planta “acá-íu”, foi adotado, com as devidas adaptações ortográficas, em quase todos os idiomas falados nos países onde é cultivado (LIMA, 1988).

O verdadeiro fruto do cajueiro é a castanha, constituída de casca (rica em fenóis), película e amêndoa, produto altamente valorizado no mercado internacional. A “fruta” chamada caju é na verdade um pseudofruto, correspondente ao pedúnculo floral hipertrofiado. Em peso, o conjunto é formado de aproximadamente 10% de castanha e 90% de pedúnculo (SOARES, 1986b). O pedúnculo, ou pseudofruto, também chamado de maçã do caju, possui cor, peso e formato muito variados, predominando as formas periforme e arredondada e as cores variando do amarelo ao vermelho. Sua polpa carnosa e succulenta é revestida por uma superfície lustrosa muito fina.

O principal tipo de cajueiro atualmente cultivado no Brasil é o cajueiro comum, cujo rendimento médio, nos últimos anos, não tem ultrapassado 200 Kg de castanha/hectare (EMBRAPA, 2000). A principal causa dessa baixa produtividade deve-se à grande variabilidade de pomares propagados por sementes.

Os trabalhos de melhoramento genético do cajueiro foram iniciados no Ceará em 1965 pela Empresa de Pesquisa Agropecuária do Ceará (EPACE) a partir da seleção e controle da produção de cajueiros comum e precoce e determinação de características biométricas da castanha dos tipos mais promissores (BARROS & CRISOSTOMO, 1995). O programa foi intensificado a partir de 1975, resultando no lançamento dos clones de cajueiro anão precoce CP06 e CP76, em 1983, e CP1001 e CP09, em 1987, e depois encampado pela EMBRAPA (BARROS *et al.*, 1984). Esses clones apresentavam potencial de produtividade de até 3,5 vezes a do cajueiro comum, além da vantagem da uniformidade dos frutos e baixo porte da planta, possibilitando a redução de custos e a otimização do seu aproveitamento (LIMA, 1988).

O programa de melhoramento genético da Embrapa Agroindústria Tropical tem como um de seus objetivos principais avaliar e selecionar genótipos visando alta produtividade, porte reduzido, resistência e tolerância a pragas e doenças, bem como a melhoria da qualidade da castanha e do pseudofruto. Atualmente os pomares de cajueiro anão precoce já estabilizados (quando atingem o sétimo ano de produção) produzem em média 800 kg/hectare, mas podem chegar até 1200 kg se forem utilizadas as técnicas agrícolas recomendadas (EMBRAPA, 2000).

As características químicas e físico-químicas dos pedúnculos desses clones de cajueiro anão precoce foram analisados por diversos autores e estão reunidas na Tabela 1.2. A Tabela 1.3 apresenta a composição mineral do suco de caju. A análise dos valores expressos nessas tabelas revela a riqueza em vitamina C do caju, além de teores consideráveis de açúcares, alto teor de taninos (responsável por sua elevada adstringência) e alta umidade. O suco de caju pode ser considerado como regular fonte de cálcio e fósforo, mas pobre em ferro.

GARRUTI *et al.* (1999) também determinaram o perfil sensorial do suco dos pedúnculos através da Análise Descritiva Quantitativa. Foram selecionados nove termos para descrever a qualidade sensorial dos pseudofrutos, a saber: cor amarela, turbidez, caju, doce, ácido, adstringente, aspereza na língua, corpo, irritação na garganta e impressão global. Através da Análise de Componentes Principais, adstringência e acidez apresentaram alta correlação com seus efeitos na língua e garganta. O clone CP 76 foi o que apresentou suco de melhor qualidade, recebendo maiores notas para sabor de caju, doce e impressão global e menores notas para adstringência. De modo inverso, o clone CP 09 apresentou as piores características sensoriais, como sabor ácido e elevada adstringência.

PRICE *et al.* (1975) e NAGAJARA & NAMPOOTHIRI (1986) encontraram ácido málico como o ácido orgânico predominante no caju, sugerindo que a acidez titulável dessa fruta deva ser expressa em porcentagem de ácido málico e não em ácido cítrico, como é feito para a maioria das frutas. PRICE *et al.* (1975) também determinaram que a glicose é o principal açúcar presente no pedúnculo do caju, seguido da frutose, sendo a porcentagem de açúcares não redutores muito baixa.

O teor de aminoácidos livres do suco de caju foi também investigado por PRICE *et al.* (1975), o qual verificou que os aminoácidos predominantes (acima de 100 $\mu\text{mol}/100\text{mL}$) são alanina, ácido glutâmico, ácido aspártico, serina, prolina e treonina. Em trabalho anterior, utilizando cromatografia em papel, VENTURA & HOLLANDA LIMA (1959) detectaram 14 aminoácidos em suco de caju, sendo alanina, valina e leucina os mais abundantes, seguidos de serina, ácido glutâmico, prolina e triptofano. HAENDLER & DUVERNEUIL (1970) encontraram também lisina entre os majoritários, e constataram a ausência de metionina. ARA (1988) detectou 22 aminoácidos livres no suco de caju a 11,5°Brix reconstituído de suco clarificado concentrado. O aminoácido predominante foi o ácido aminobutírico, seguido de alanina, prolina, serina e ácido aspártico.

Tabela 1.2 – Composição físico-química do suco de diversos clones do cajueiro anão precoce, por diversos autores.

Determinações	CP 06			CP 09			CP 76			CP 1001		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Umidade (%)	87,20	-	-	-	-	-	85,98	-	-	86,23	-	-
Cinzas (%)	0,32	-	-	-	-	-	0,32	-	-	0,33	-	-
Sólidos solúveis °Brix	9,74	-	9,75	-	12,60	11,42	10,76	11,90	12,33	10,04	10,90	11,75
pH	4,34	-	4,50	-	4,31	4,40	4,25	4,16	4,47	4,21	4,17	4,28
Acidez total (% ác. málico)	0,47	-	0,17	-	0,23	0,21	0,49	0,20	0,20	0,47	0,23	0,21
Açúcares redutores (%)	8,24	-	9,47	-	11,50	8,62	8,30	10,70	11,30	8,08	10,00	10,13
Açúcares totais (%)	8,55	-	-	-	11,76	-	8,74	11,00	-	9,67	10,37	-
Vitamina C (mg/100g)	153,2	-	151,92	-	170,00	113,08	158,26	181,20	292,19	157,64	170,30	121,91
Taninos totais (%)	0,30	-	0,33	-	0,29	0,30	0,27	0,29	0,34	0,31	0,35	0,37

1 = SOUZA FILHO (1987)

2 = SILVA JÚNIOR & PAIVA (1994)

3 = GARRUTI (1993) e GARRUTI et al. (1999)

Tabela 1.3 – Conteúdo de alguns minerais do suco de caju, por diversos autores.

Determinações	MEDEIROS & GUEDES (1973)	MOURA FE et al. (1972)	SOUZA FILHO (1987)	OLIVEIRA (1995)
Sódio (mg/100g)	31,94	-	-	-
Cálcio (mg/100g)	21,84	14,70	13,65 – 16,75	5,02 – 6,72
Silício (mg/100g)	2,48	-	-	-
Manganês (mg/100g)	-	-	-	-
Ferro (mg/100g)	1,50	0,36	0,24 – 0,31	0,26 – 0,54
Magnésio (mg/100g)	25,44	-	-	50,37 – 56,00
Fósforo (mg/100g)	-	33,15	25,85 – 30,55	23,04 – 36,19

Recentemente OLIVEIRA (1997) determinou, como aminoácidos livres majoritários no suco do caju CP 09, alanina, serina, leucina, fenilalanina, prolina, ácido glutâmico, tirosina e ácido aspártico (em ordem decrescente de conteúdo).

MACLEOD & TROCONIS (1982) estudaram os componentes voláteis de pseudofrutos de caju frescos, provenientes da Venezuela, utilizando extração no aparato de Nickerson e Likens com 2-metilbutano, por 4 h. Na separação dos componentes foi utilizada uma coluna empacotada com Carbowax 20M, N₂ a 60 mL/min e a seguinte programação de temperatura: 60°C por 5 min e um aumento de 12°C/min até 185°C.

Os autores obtiveram 46 picos no cromatograma, dos quais 25 foram identificados por CG/EM e 12 foram parcialmente ou tentativamente caracterizados. O maior grupo de componentes foi o dos compostos terpênicos, no entanto foram detectados cinco aldeídos, que juntos corresponderam a 26% dos voláteis totais (taxa elevada para aldeídos em frutas). Compostos importantes para o aroma, em termos de concentração e/ou qualidade (lembrando caju) incluíram hexanal, car-3-eno, limoneno, *trans*-hex-2-enal e benzaldeído. O grupo de hidrocarbonetos terpênicos consistiu de quatro monoterpenos e três sesquiterpenos.

Os constituintes voláteis de suco de caju fresco e comercialmente processado provenientes do Brasil foram analisados por MACIEL *et al.* (1986) através da técnica de *headspace* dinâmico com nitrogênio por 40 min em polímero tenax GC e dessorção direta na coluna cromatográfica e identificação por CG/EM. Foram também realizadas análises específicas para compostos sulfurados.

Os autores encontraram 52 compostos, principalmente ésteres. Foram também identificados 12 álcoois, 8 terpenos, 3 cetonas, 2 aldeídos, 2 ácidos e 3 compostos sulfurados (dimetil mono, di e tri sulfeto). A avaliação sensorial através da técnica de *sniffing* sugeriu que alguns ésteres e dois ácidos alifáticos foram compostos importantes para o sabor forte e doce do pseudofruto de caju. Car-3-eno e limoneno não apresentaram importância significativa. Os autores concluíram que a discordância de seus resultados em relação ao trabalho de MACLEOD & TROCONIS (1982) seja devida à diferença de procedência das frutas (Venezuela X Brasil), ou então à técnica de isolamento dos voláteis (destilação-extração x *headspace*).

BICALHO *et al.* (2000) isolaram os componentes voláteis na forma livre e ligada de caju da variedade *nanum*, através de extração-destilação simultânea e adsorção em amberlite

XAD-2. Foram caracterizados e quantificados 62 compostos voláteis livres, sendo 40% ésteres, 20% terpenos, 14% hidrocarbonetos, 9% ácidos graxos, 8% aldeídos, 3% álcoois, 3% lactonas, 1% cetonas, 1% fenóis e 1% isoprenóides. Alguns álcoois conjugados e ácidos cinâmicos foram detectados e relatados pela primeira vez como constituintes glicosídicos do pedúnculo do caju.

1.3.2. Histórico do vinho de caju

A história das bebidas alcoólicas de caju, no Brasil, está ligada aos hábitos indígenas e começa com o “cauim”. Embora esse seja o nome genérico, dado pelos tupis a várias bebidas fermentadas feitas de milho, mandioca e diversas frutas, a palavra deriva de *ca-yú-y*, nome tupi que significa “licor de caju” (ALVIM JUNIOR & ANDRADE, 1985). PULQUE *et al.* (1975) referiram-se ao vinho de caju como *acaiu-cauim* (cauim de caju) dando a entender que o cauim era o termo referente a bebida fermentada. Esses autores apresentam um extenso histórico das primeiras referências sobre essa bebida no Brasil, geralmente relatos de padres jesuítas.

CASCUDO (1983), nos estudos sobre o cardápio indígena, menciona o cauim como bebida soberana desses povos. Para fabricá-la bastava espremer os cajus maduros com as mãos e deixá-los em repouso. O suco fermentado era então filtrado, resultando em um líquido branco e depois opaco, sendo diretamente consumido.

MELLO (1930) cita o trabalho de tese de Camilo R. Dantas, sobre a fermentação de algumas frutas indígenas, inclusive o caju. Além de descrever brevemente o processo o autor comenta: “o caju fermenta facilmente e pode-se conseguir um ótimo vinho, espumante ou não ... poderia tornar-se uma bebida regional de grande consumo, como acontece com a cidra ou vinho de maçã na parte noroeste da França”.

Segundo ALVIM JUNIOR & ANDRADE (1985), o vinho de caju conquistou o paladar dos colonizadores que trataram de adicionar-lhe açúcar para obter um licor mais durável e saboroso. Esses autores contam que o uso da bebida sob essa nova forma tomou conta de todo o Nordeste.

O vinho de caju teve importância, não só no Brasil Colônia, mas também em países da África e na Índia, para os quais o caju foi levado (JOHNSON, 1974). Na Índia o “*cashew apple brandy*” (produto destilado) e o “*cashew fení*” (bebida bidestilada de alto teor alcoólico) são os produtos mais importantes derivados do pedúnculo do caju (BOPAIAH, 1962).

Em 1882, um jornalista chamado Tito Silva, após aprender com uma missão francesa algumas informações sobre a ciência do vinho, instalou em João Pessoa uma pequena manufatura de vinho de caju. Em pouco tempo o vinho de caju alcançou grande popularidade, recebendo diversos prêmios em exposições no país e no exterior. A fábrica Tito Silva & Cia atingiu seu ápice nas décadas de 40 e 50, quando chegou a processar mais de um milhão de litros anuais e exportar para a Alemanha e Estados Unidos. A partir de 1964 a fábrica começou a sofrer crises por falta de capital de giro, paralisando suas atividades em 1970 (ALVIM JUNIOR & ANDRADE, 1985).

De fato, CIPOLATO (1954) menciona estudos realizados pelo Instituto de Fermentações, no Nordeste, para a indústria de vinho de caju. ALMEIDA & VALSECCHI (1952), TEIXEIRA (1958) e ESTEVES (1961) descreveram processos bastante rudimentares de fermentação e destilação do suco, não fornecendo muitas informações sobre as técnicas adotadas no processamento.

TREVAS FILHO (1971) e BERNHARD & HASHIZUME (1978) apresentaram as operações básicas necessárias para a produção de bebidas fermentadas e destiladas de caju, mas foram MALDONADO *et al.* (1975) praticamente os primeiros pesquisadores a dar um enfoque mais científico sobre o assunto. Estudando aspectos cinéticos da fermentação alcoólica de diversas frutas, os autores controlaram pH (4,5), agitação e temperatura (30°C). Dentre as frutas estudadas o caju demorou mais tempo (48 h) para atingir o rendimento máximo de 0,84 (volume álcool produzido/ peso açúcar consumido), o qual foi bastante elevado. A levedura utilizada foi *S.cerevisiae* var. *ellipsoideus*.

MEDEIROS (1990) estudou diversos parâmetros da fermentação do caju para a produção de aguardente, como concentração de levedura e açúcar e necessidade de suplementação com $MgSO_4$ e $(NH_4)_2SO_4$. Em ensaios realizados a 28 - 30°C o rendimento máximo foi atingido com uma relação fermento/açúcar da ordem de 0,18. A autora obteve, para mostos com 153 g de ART/L uma produção de 8,1 % de etanol, em tempo relativamente curto (13 horas). A suplementação não apresentou efeito significativo quanto a melhoria do processo fermentativo.

A partir dos resultados de MEDEIROS (1990), a Universidade Federal do Ceará - UFC/DTA, juntamente com a EMBRAPA e a Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial - NUTEC, vem desenvolvendo pesquisas no sentido de estudar as diversas etapas de

elaboração de uma bebida fermentada de caju, similar ao vinho. Alguns parâmetros do processo de vinificação do suco de caju foram determinados por FARIA (1994) e DIAS (1996) como a necessidade de clarificação e sulfitação do mosto. Também foi avaliado o desempenho de diferentes leveduras comerciais na fermentação do suco de caju em relação à produção de H₂S (BORGES *et al.*, 1995), tolerância a SO₂ (BRINGEL *et al.*, 1995), tolerância a etanol (CAMPOS *et al.*, 1995), aspectos cinéticos (CASIMIRO *et al.*, 1995; FAÇANHA, 1998) e características físico-químicas e sensoriais dos fermentados (FARIA, 1994; DIAS, 1996).

FERREIRA (1998) aprofundou os estudos de destilação do fermentado de caju, enquanto CARRANZA (1998) iniciou o estudo da elaboração de uma cerveja à base de suco de caju. Também incentivada pela EMBRAPA, ZARDINI (2000) utilizou o vinho de caju (e o de laranja) na avaliação do desempenho de um gerador de vinagre.

1.3.3. Compostos voláteis do vinho de caju

Em um dos primeiros trabalhos sobre a fermentação do suco de caju, ALMEIDA & VALSECCHI (1952) estimaram alguns dos constituintes normalizados por lei, para bebidas destiladas, expressos percentualmente em álcool absoluto (anidro), como é o caso de ésteres, aldeídos, ácidos e álcoois superiores.

Em fermentados de caju, PARRO (1971) investigou a influência de diferentes temperaturas (18, 26 e 30°C), da acidez e da sulfitação no teor de álcoois superiores. O autor verificou que, de um modo geral, os ensaios efetuados à temperatura mais baixa apresentaram menores teores de álcoois superiores. A diminuição do pH do mosto e a sulfitação, isoladamente, apresentaram tendência de diminuir a formação de álcoois superiores, no entanto, quando utilizados juntos (acidificação e sulfitação) ocorreu um efeito inverso.

FARIA (1994) avaliou o desempenho de duas leveduras comerciais, uma mistura de *Saccharomyces cerevisiae* com *S. bayanus*, denominada L1, e uma cultura pura de *S. bayanus*, denominada L2, em ausência e presença de clarificação, sulfitação e suplementação. Nos fermentados obtidos foram realizadas análises físico-químicas, determinação de minerais por espectrofotometria de absorção atômica e emissão de chama, compostos voláteis majoritários por injeção direta em cromatógrafo gasoso e análise sensorial. O autor observou que os melhores vinhos foram aqueles inoculados com a *S. bayannus*, clarificados e sulfitados, os quais apresentaram menores teores de álcoois superiores.

Estudo semelhante foi realizado por DIAS (1996), porém com diferentes tipos de mostos: suco natural, suco concentrado reconstituído e uma mistura dos dois. Foram determinados, por cromatografia gasosa, a concentração dos seguintes voláteis: acetaldeído, acetato de etila, metanol, 1-propanol, álcool isobutílico, álcool amílico e isoamílico. O autor utilizou injeção direta do destilado das amostras de vinho contendo 10% de uma solução de 4-metil-2-pentanol (1g/L) como padrão interno, em uma coluna Carbowax 600, empacotada. As principais condições operacionais foram: temperatura do injetor 140°C, temperatura da coluna 98°C (isoterma), temperatura do detector 160°C e nitrogênio como gás de arraste a 25 mL/min.

Foram encontrados baixos teores de metanol e teores de álcoois superiores dentro dos limites para vinho de uva. Houve influência positiva da clarificação e sulfitação na composição dos voláteis, porém a influência da suplementação não foi significativa para o aroma. A levedura *S. bayanus* mostrou superioridade em relação a *S. cerevisiae*, apresentando menores teores de etanal, acetato de etila e propanol. Nos vinhos elaborados a partir do suco concentrado, a sulfitação provocou uma diminuição nos teores de etanal, metanol e 2-metil-propanol quando a inoculação da levedura L1 foi utilizada. O mesmo aconteceu com 1-propanol e 2-metil-1-propanol utilizando a levedura L2. Nos outros tipos de mosto a sulfitação reduziu os teores de álcoois superiores em alguns ensaios isolados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ACREE, T.E.; BARNARD, J. Gas-chromatography-olfactometry and Charm Analysis™. In: MAARSE, H.; Van Der HEIJ, D.G. Eds. **Trends in flavour research: Proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium**. Amsterdam: Elsevier, p.211-220, 1994.
- (2) ACREE, T.E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chem.**, v.14, n.4, p.273-286, 1984.
- (3) AIKEN, J.W.; NOBLE, A.C. Comparison of the aromas of oak and glass aged wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.35, n.4, p.196-199, 1984.
- (4) ALMEIDA, J.R.; VALSECCHI, O. Fermentação do caju. **Rev. Tecn. Bebidas**, v.4, n.5, p.9-12, 1952.
- (5) ALVIM JUNIOR, F.; ANDRADE, M.E. O caju que um dia foi brasileiro. **Ciência hoje**, v.3, n.18, p.66-72, 1985.
- (6) AMERINE, M.A. BERG, M.S.; CRUESS, W.V. Fruit wines. In: AMERINE, M.A.; BERG, M.S.; CRUESS, W.V. **The technology of wine making**. Westport: AVI, 1972. p.523-547.
- (7) AMERINE, M.A.; ROESSLER, E.B. **Wines : their sensory evaluation**. São Francisco: W. H. Freeman and Co, 1983. 432 p.
- (8) AMERINE, M.A.; ROESSLER, E.B.; FILLIPELO, F. Modern sensory methods of evaluating wine. **Hilgardia**, v.28, n.18, p.477-511, 1959.
- (9) ANTONELLI, A.; CASTELLARI, L.; ZAMBONELLI, C.; CARNACINI, A. Yeast influence on volatile composition of wines. **J. Agric. Food Chem.**, v.47, n.3, p.1139-1144, 1999.
- (10) ARA, V. Cajuäpfel-und Acerolaprodukte, woher kommen sie, wie schmecken sie. **Fluesiges Obst.**, v.17, p.380-382, 1988.
- (11) ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Anal. Chem.**, v.62, n.19, p.2145-2148, 1990.
- (12) BADINGS, H.T.; DE JONG, C.; DOOPER, R.P.M.; DE NIJIS, R.C.M. Rapid analysis of volatile compounds in food products by purge-and-cold-trapping/capillary gas chromatography. In: ADDA, J. (ed). **Progress in flavour research**. Amsterdam: Elsevier, p. 523-532, 1984.
- (13) BAEK, H.H.; CADWALLADER, K.R.; MARROQUIN, E.; SILVA, J.L. Identification of predominant aroma compounds in muscadine grape juice. **J. Food Sci.**, v.62, n.2, p.249-252, 1997.
- (14) BARROS, L. de M.; ARAÚJO, F.E.; ALMEIDA, J.I.L.; TEIXEIRA, L.M.S. **A cultura do cajueiro anão**. Fortaleza: EPACE, 1984. 67p.
- (15) BARROS, L. de M.; CRISÓSTOMO, J.R. Melhoramento genético do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P.; SILVA, V.S. (Org.) **Cajucultura: Modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA/CNPAT, p.73-93, 1995.
- (16) BASTOS, D.H.M. **Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja**. Campinas, 1996. 148p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (17) BERNHARDT, L.W.; HASHIZUME, T. Processamento: produtos, caracterização e utilização. In: BERNHARDT, L.W.; DE MARTIN, Z.; ANGELUCCI, E. **Caju: da cultura ao processamento e comercialização**. Campinas: ITAL, p. 89-148, 1978.

- (18) BERTUCCIOLI, M.; MONTEDORO, G. Concentration of the headspace volatiles above wine for direct chromatographic analysis. **J. Sci. Food Agric.**, v.25, n.6, p.675, 1974.
- (19) BICALHO, B.; PEREIRA, A.S.; NETO, F.R.A.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale*, L. var. nanum) volatiles. **J. Agric. Food Chem.**, v.48, n.4, p.1167-1174, 2000.
- (20) BLANCH, G.P.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M. Analysis of wine aroma by off-line and on-line supercritical fluid extraction gas chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, v.43, n.5, p.1251-1258, 1995.
- (21) BOELEN, M.H. Trends in aroma research and gas chromatography-olfactometry. **Perfumer & Flavorist**, v.20, n.1, p.1-5, 1995.
- (22) BOPAIAH, B.M. Perspectives in production of alcoholic beverages from cashew apple. In: **A.R. Central Food Techn. Research Inst.**, Mysore: CFTRI, p.19-20, 1962.
- (23) BORGES, M.F.; BRINGEL, M.H.F.; CAMPOS, J.O.S.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. I- Produção de H₂S. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de 1995. **Programa e resumos do ...** Santos: Sociedade Brasileira de Microbiologia, p. 219, 1995.
- (24) BRASIL. Portaria número 84 de 25 de abril de 1988. Dispõe sobre a complementação dos padrões de identidade e qualidade de vinho. Brasília: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Diário Oficial da União, 04 de maio de 1988.
- (25) BRINGEL, M.H.F.; CASIMIRO, A.R.S.; BORGES, M.F.; CAMPOS, J.O.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: tolerância a SO₂. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 5-9 de novembro de 1995. **Anais do ...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. B1-33, 1995.
- (26) CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: Tolerância a etanol. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 13-16 de novembro de 1995. **Programa Científico do ...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. 119, 1995.
- (27) CARDELLO, H.M.; DAMÁSIO, M.H. Análise tempo-intensidade. **Bol. SBCTA**, v.30, n.2, p.156-165, 1996.
- (28) CARRANZA, T.E.S. **Alguns aspectos tecnológicos e sensoriais de uma cerveja à base de suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.)** Fortaleza, 1998. 162p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (29) CASCUDO, L. C. Cardápio Indígena. In: CASCUDO, L.C. **História da Alimentação no Brasil**. São Paulo: Universidade de São Paulo, p. 84-176, 1983.
- (30) CASIMIR, D.J.; WHITFIELD, F.B. Flavour impact values: a new concept for assigning numerical values for potency of individual flavour components and their contribution to overall flavour profile. **Ber. Int. Fruchtsaftunion**, v.14, p.325-345, 1978.
- (31) CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. II: Aspectos cinéticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de

1995. **Programa e resumos do ...** Santos: Sociedade Brasileira de Microbiologia, p. 221, 1995.
- (32) CHIRIVELLA, C.; HABA, M.; PEREZ, A. Vinification avec diverses dose d'anydride sulfureux. **Revie Française D'Oenologie**, v.115, p.39-45, 1988.
- (33) CIPOLATO, A. Vinhos ... o de uva é bom, e o de caju e de jabuticaba? **Chácaras e Quintais**, v.90, n.4, p.436, 1954.
- (34) COCITO, C.; GAETANO, G.; DELFINI, C. Rapid extraction of aroma compounds in must and wine by means of ultrasound. **Food Chem.**, v.2, n.3, p.311-320, 1995.
- (35) COLE, V.C.; NOBLE, A.C. Flavor chemistry and assessment. In: LEA, A.G.H.; PIGGOTT, J.R. (eds.) **Fermented beverage production**. Glasgow: Blackie Academic and Professional, p. 381-385, 1995.
- (36) CRAIG, J.T. A comparison of headspace volatiles of kiwifruit wine with those of wine of *Vitis vinifera* variety Müller-Thurgau. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.39, n.4, p.321-324, 1988.
- (37) CUNNINGHAM, D.G.; ACREE, T.E.; BARNARD, J.; BUTTS, R.M.; BRAELL, P.A. Charm Analysis of apple volatiles. **Food Chem.**, v.19, p.137-147, 1986.
- (38) CZYHRINCIW, N. The technology of passion fruit and mango wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.17, n.1, p.27-30, 1966.
- (39) DA SILVA, M.A.A.P. ; LUNDAHL, D.S.; MCDABIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D.G. (eds) **Trends in flavour research: : proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium** Amsterdam: Elsevier, p. 191-209, 1994.
- (40) DA SILVA, M.A.A.P.; ELDER, V.; LEDERER, C.L.; LUNDHAL, D.S.; McDANIEL, M.R. Flavor properties and stability of a corn-based snack: relating sensory, gas chromatography and mass spectrometry data. In CHARALAMBOUS, G. Ed. **Shelf life studies of Foods and beverages**. Amsterdam: Elsevier, p.707-738, 1993.
- (41) DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroq. Tecn. Alim.**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.
- (42) DE LA PRESA-OWENS, C. ; NOBLE, A.C. Descriptive analysis of three white wine varieties from Penedès. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.46, n.1, p.5-9, 1995.
- (43) DE ROOS, K.B. How lipids influence food flavor. **Food Techn.**, v.51, n.1, p.60-62, 1997.
- (44) DELAQUIS, P.; CLIFF, M.; KING, M.; GIRARD, B.; HALL, J.; REYNOLDS, A. Effect of two commercial malolactic cultures on the chemical and sensory properties of Chancellor wines vinified with different yeasts and fermentation temperatures. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.51, n.1, p. 42-48, 2000.
- (45) DIAS, A.L.M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju**. Fortaleza, 1996. 94p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (46) DRAVNIKES, A.; O'DONNELL. Principles and some techniques of high resolution headspace analysis. **J. Agric. Food Chem.**, v.19, n.6 , p.1049-1056, 1971.
- (47) EDWARDS, C.G.; BEELMAN, R. Extraction and analysis of volatile compounds in white wines using amberlite XAD-2 resin and capillary gas chromatography. **J. Agric. Food Chem.**, v.38, n.1, p.216-220, 1990.

- (48) EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – Ceinfo - Centro de Informações Tecnológicas e Comerciais para Fruticultura Tropical. www.ceinfo.cnpat.embrapa.br , 10/11/2000.
- (49) ESTEVES, J.B. Por uma tecnologia rural: bebidas regionais. **Revista Agrícola Lourenço Marques**, v.3, n.30, p.42-44, 1961.
- (50) FAÇANHA, S.H.F. **Estudo dos parâmetros cinéticos básicos da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado**. Fortaleza, 1998. 156p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (51) FAHRASMANE, L.; PARFAIT, A.; JOURET, C.; Etude de l'acidité volatile des rhums de Antilles Françaises. **Ind. Alim. Agric.**, v.100, n.5, p.297-301, 1988.
- (52) FAO FAOSTAT: **FAO Statistical Databases - agriculture**. Atualizada em 27/10/2000. <http://apps.fao.org> . 10/11/2000.
- (53) FARIA, F.S.E.D.V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale*, L.) em diferentes condições de fermentação**. Fortaleza, 1994. 99 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (54) FERREIRA, N.D.L **Avaliação química do destilado de caju (*Anacardium occidentale*, L) obtido por destilação simples em alambique**. Fortaleza, 1998. 162 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (55) FERREIRA, V.; ESCUDERO, A.; FERNANDÉZ, P.; CACHO, J.F. Changes in the profile of volatile compounds in wines stored under oxygen and their relationship with the browning process. **Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.**, v.205, n.5, p.392-396, 1997.
- (56) FERREIRA, V.; RAPP, A.; CACHO, J.F.; HASTRICH, H.; YAVAS, I. Fast and quantitative determination of wine flavor compounds using microextraction with Freon 113. **J. Agric. Food Chem.**, v.41, n.9, p.1413-1420, 1993.
- (57) FISCHER, U.; ROTH, D.; CHRISTMANN, M. The impact of geographic origin, vintage and wine estate on sensory properties of *Vitis vinifera* cv. Riesling wines. **Food Qual. And Preference**, v.10, n.4/5, p.281-288, 1999.
- (58) FLATH, R.A.; FORREY, R.R. Volatile components of papaya (*Carica papaya*,L.) Solo variety. **J. Agric. Food Chem.**, v.25, n.1, p.103, 1977.
- (60) FRANCO, M.R.B. **Componentes voláteis e sabor de manga (*Mangifera indica* L.) e mamão (*Carica papaya* L.)**. Campinas, 1992.173p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.
- (61) FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatile on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v.34, n.3, p.293-299, 1983.
- (62) FRANCO, M.R.B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **J. Agric. and Food Chem.**, v.48, n.4, p.1263-1265, 2000.

- (63) FULLER, G.H.; STELTENKAMP, R.; TISSERAND, G.A. The gas chromatograph with human sensor: performer model. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* v.116, p.11-724, 1964. APUD ACREE, T.E.; BARNARD, J. Gas-chromatograph-olfactometry and Charm Analysis. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D.G. Eds. **Trends in flavour research: Proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium.** Amsterdam: Elsevier, p.211-220, 1994.
- (64) GARCÍA, D. DE LA C.; MAGNAGHI, S.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K. Systematic optimization of the analysis of wine bouquet components by solid-phase microextraction. *J. High Resol. Chrom.*, v.19, n.5, p.257-262, 1996.
- (65) GARCÍA, D. DE LA C.; REICHENBÄCHER, M.; DANZER, K.; HURLBECK, C.; BARTZSCH, C.; FELLER, K. H. Investigations on wine bouquet components by solid-phase microextraction-capillary gas chromatography (SPME-CGC) using different fibers. *J. High Resol. Chromatogr.*, v.20, n.12, p.665-668, 1997.
- (66) GARCÍA-JARES, C.; GARCÍA-MARTÍN, S.; CELA-TORRIJOS, R. Analysis of some highly volatile compounds of wine by means of purge and cold trapping injector capillary gas chromatography. Application to the differentiation of Rias Baixas Spanish white wines. *J. Agric. Food Chem.*, v.43, n.3, p.764-768, 1995.
- (67) GARRUTI, D.S. Características físicas, químicas e físico-químicas de frutos e pseudofrutos de cajueiro anão precoce. In: EMBRAPA **Relatório técnico anual do CNPCa 1991/1992.** Fortaleza: CNPCa-EMBRAPA, 1993.
- (68) GARRUTI, D.S.; ROSSETTI, A.G.; LIMA, R.C. Análise descritiva quantitativa de suco de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale*, L.). In: ALMEIDA, T.C.A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M.H.; Da SILVA, M.A.A.P. **Avanços em Análise Sensorial** São Paulo: Livraria Varela, p.227-242, 1999.
- (69) GELSOMINI, N.; CAPOSSI, F.; FAGGI, C. Separation and identification of volatile and non-volatile compounds of wine by sorbent extraction and capillary gas chromatography. *J. High Resol. Chrom.*, v.13, n.5, p.352-355, 1990.
- (70) GIL, J.V.; MATEO, J.J.; JIMENEZ, M. Aroma compounds in wines as influenced by apiculated yeasts. *J. Food Sci.*, v.61, n.6, p.1247-1249, 1996.
- (71) GREEN, D.R.; LE PAPE, D. Stability of hydrocarbon samples on solid-phase extraction columns. *Anal. Chem.*, v.59, n.5, p.699-703, 1987.
- (72) GROB, K. Injection Techniques in capillary GC. *Anal. Chem.*, v.66, n.20, p.1009A-1019A, 1994.
- (73) GUADAGNI, D.G.; BUTTERY, R.G.; HARRIS, J. Odor intensities of hop oil components. *J. Sci. Food Agric.*, v.17, n.3, p.142-144, 1966.
- (74) GUADAGNI, D.G.; OKANO, S.; BUTTERY, R.G.; BURR, H.K. Correlation of sensory and gas-liquid chromatographic measurements of apple volatiles. *Food Techn.*, v.18, n.2, p.166-169, 1964.
- (75) GUTH, H. Identification of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.*, v.45, n.8, p.3022-3026, 1997a.
- (76) GUTH, H. Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *J. Agric. Food Chem.*, v.45, n.8, p.3027-3032, 1997b.

- (77) HAENDLER, L.; DUVERNEUIL, G. Note sur les possibilités de *transformation* des fruits et des "faux fruits" de l'anacardier (*Anacardium occidentale*). **Fruits**, v.25, n.5, p.379-384, 1970.
- (78) HAWTHORNE, D.B.; KAVANAGH, T.E.; CLARKE, B.J.; Determination of low molecular weight organic compounds in beer using capillary gas chromatography. **J. Am. Soc. Brew. Chem.**, v.45, n.1, p.23-27, 1987.
- (79) HELM, E.; TROLLE, B. Selection of a taste panel. **Wallerstein Lab. Commun.**, v.9, n.28, p.181-194, 1946.
- (80) HERRAIZ, T.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; CABEZUDO, M.D. The influence of the yeast and type of culture on the volatile composition of wines fermented without sulfur dioxide. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.41, n.4, p.313-318, 1990.
- (81) HERRAIZ, T.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; CABEZUDO, M.D. Differences between wines fermented with and without sulphur dioxide using various selected yeasts. **J. Sci. Food Agric.**, v.49, n.2, p.249-258, 1989.
- (82) HEYMANN, H.; NOBLE, A.C. Descriptive analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines from California. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.38, n.1, p. 41-44, 1987.
- (83) IFF Aromas: o que são, para que servem, como são feitos. IFF Essências e Fragâncias Ltda. 2ª ed, 1997, 28p.
- (84) JANZANTI, N.S. **I. Composição de voláteis de maçãs (*Malus domestica*) cultivar Fuji. II. Efeito do processamento e do armazenamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçãs Fuji.** Campinas, 1996. 166p. Tese (Mestrado em Ciências de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (85) JENNINGS, W. **Gas chromatography with glass capillary columns.** Londres: Academic Press, 1980
- (86) JENNINGS, W.G.; WOHLEB, R.H.; LEWIS, M.J. Gas chromatographic analysis on headspace volatiles of alcoholic beverages. **J. Food Sci.**, v.37, n.1, p.69, 1972.
- (87) JOHNSON, D.V. **O caju do Nordeste do Brasil: um estudo geográfico.** Fortaleza: BNB, 1974. 169p.
- (88) JOHNSON, D.V. The botany, origin and spread of the cashew *Anacardium occidentale* L. **Journal of Plantation Crops**, v.1, n.1/2 p. 1-7, 1973.
- (89) KATTAK, J.N.; HAMDY, M.K.; POWERS, J.J. Utilization of watermelon juice. I- Alcoholic fermentation. **Food Techn.**, v.19, n.8, p.102-104, 1965.
- (90) LEE III, W.E.; PANGBORN, R.M. Time intensity: the temporal aspects of sensory perception. **Food Techn.**, v.40, n.11, p.71-78, 1986.
- (91) LEITE, L.A. **A agroindústria do caju no Brasil: políticas públicas e transformações econômicas.** Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1994. 195p.
- (92) LEMA, C.; GARCIA-JARES, C.; ORRIOLS, I.; ÂNGULO, L. Contribution of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* populations to the production of some components of Albariño wine aroma. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.47, n.2, p.206-216, 1996.
- (93) LIMA, V.P.M.S. Origem e distribuição geográfica. In: LIMA, V.P.M.S. (ed). Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil - ETENE, 1988. **A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil.** 486p. (Estudos Econômicos e Sociais, 35).

- (94) LÓPEZ, E.F.; DARRIET, P.; GÓMEZ, E.F.; DUBOURDIEU, D. Compostos aromaticos de un vino por acoplamiento CG-EM "sniffing". **Alimentaria**, julho-agosto, p.81-84, 1995.
- (95) LÓPEZ-TAMAMES, E.; CARRO-MARIÑO, N.; GUNATA, Y.Z.; SAPIS, C.; BAUMES, R.; BAYONONE, C. Potential aroma in several varieties of Spanish grapes. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, n.5, p.1729-1735, 1997.
- (96) MACFIE, H.J.; THOMSON, D.M.H. Preference mapping and multidimensional scaling. In: PIGGOT, R.J. Ed. **Sensory analysis of food**. New York: Elsevier, 1988, p.341-409.
- (97) MACIEL, M.I.; HANSEN, T.J.; ALDINGER, S.B.; LABOWS, J.N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **J. Agric. Food Chem.**, v.34, n.5, p.923-27, 1986.
- (98) MACLEOD, A.J.; CAVE, S.J. Volatile components of eggs. **J. Sci. Food Agric.**, v.26, n.3, p. 351,1975.
- (99) MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile flavor componentes of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Phytochemistry**, v.21, n.10, p.2527-30, 1982.
- (100) MAIA, A.B. Componentes secundários da aguardente. **STAB** v.12, n.6, p.29-34, 1994.
- (101) MALDONADO, O.; ROLZ, C.; DE CABRERA, S. S. Wine and vinegar production from tropical fruits. **J. Food Sci.**, v.40, n.2, p. 262-265, 1975.
- (102) MANFROI, V.; MIOLO, A.; PERIN, J. Fermentado de Quivi. **Rev. Bras. Frutic.**, v.18, n.1, p.151-14, 1996.
- (103) MARKETO, C.G.; COOPER, T.; PETTY, M.F.; SCRIVEN, F.M. The reliability of MDPREF to show individual preference. **J. Sens. Studies**, v.9, n.3, p.337-350, 1994.
- (104) MATEO, J.J.; JIMENEZ, M.; HUERTA, T.; PASTOR, A. Comparison of volatiles produced by four *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from Monastrell musts. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.43, n.2, p.206-209, 1992.
- (105) MATHEIS, G. The biogenesis of wine flavor **Dragogo Flavor Information Service Report** n.37, p.72-89, 1992.
- (106) MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G., Ed. **Flavors and off-flavors**. Amsterdam: Elsevier, 1990. p.23-36.
- (107) MCLAFFERTY, F.W.; TURECEK, F. **Interpretation of mass spectra**. 4.ed. Sausalito: Univ. Science Books, 1993. 371p.
- (108) MEDEIROS, M.C. **Contribuição ao estudo da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) para produção de aguardente**. São Paulo, 1990. 88 p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Escola Politécnica, Universidade Estadual de São Paulo.
- (109) MEDEIROS, M.C.; GUEDES, Z.B.L. Composição mineral das partes anatômicas de alguns vegetais em ocorrência no estado do Ceará. **Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.** v.6, n.1-2, p.61-69, 1973.
- (110) MEILGAARD, M.R.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC, 1987a, Vol.1, 126p.
- (111) MEILGAARD, M.R.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC, 1987b, Vol.2, 159p.

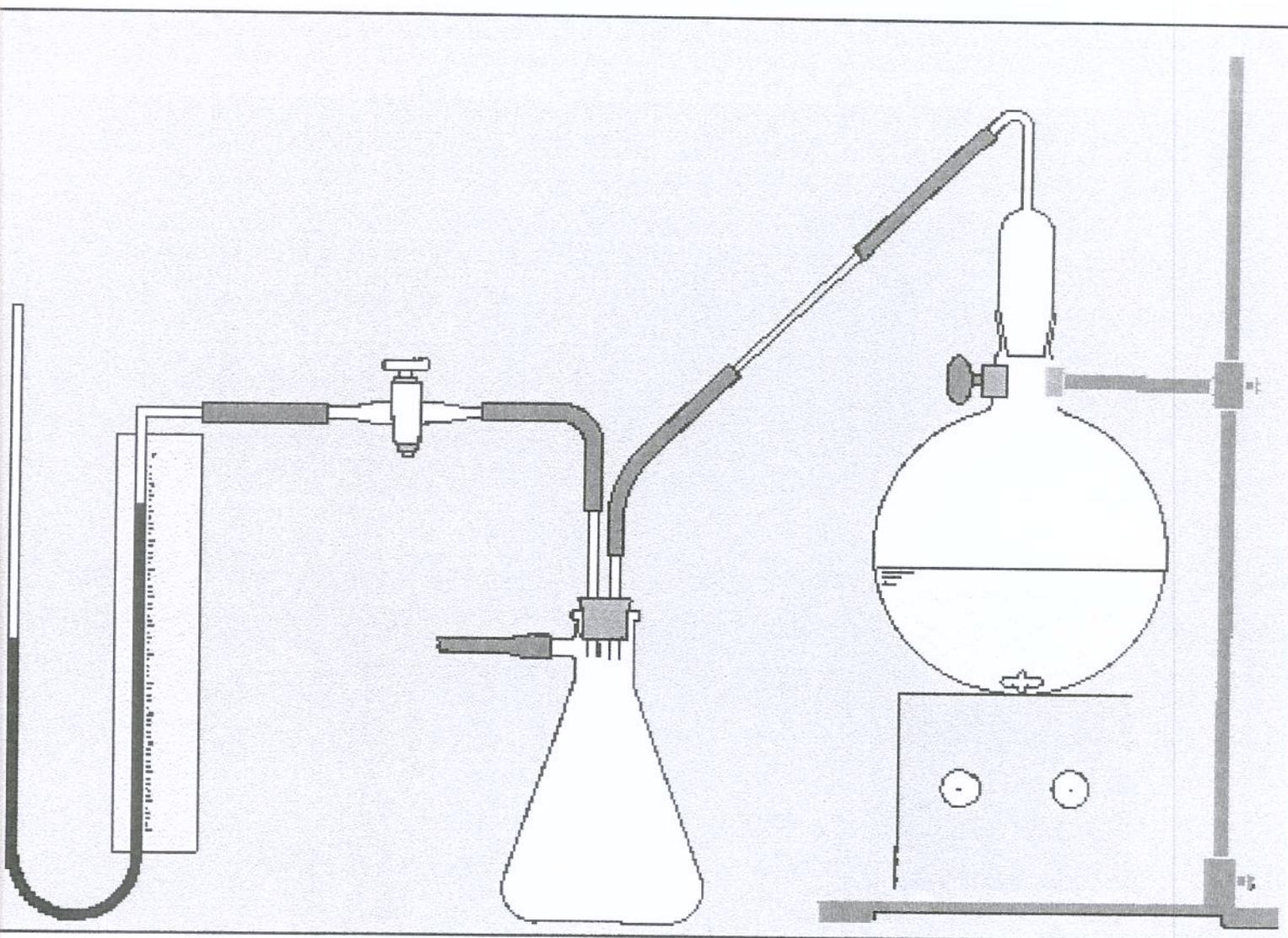
- (112) MELLO, F.C. Succo, vinho e álcool de caju. **Chácaras e Quintais**, v.42, n.4, p. 401, 1930.
- (113) MILLER, G.C.; AMON, J.M.; SIMPSON, R.F. Loss of aroma compounds in carbon dioxide effluent during white wine fermentation. **Food Techn. Austr.**, v.39, n.5, p.246-249, 1987.
- (114) MINISTERIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. Secretaria de Infra-estrutura Hídrica. **Frutifatos: informação para a fruticultura irrigada**. v.1, n.1, set/1999.
- (115) MIRANDA-LOPÉZ, R.; LIBBEY, L.M.; WATSON, B.T.; McDANIEL, M.R. Odor analysis of Pinot Noir wines from grapes of different maturities by a gas chromatography – olfactometry technique (Osme). **J. Food Sci.**, v.57, n.4, p.985-993, 1019, 1992.
- (116) MOTA, M. **O cajueiro nordestino**. 3 ed. Recife: Fundação de Cultura Cidade do Recife, 1982. 183p. (Col. Recife, 29).
- (117) MOURA FÉ, J.A.; HOLANDA, L.F.F.; MARTINS, C.B.; MAIA, G.A. Características químicas do hipocarpo de caju (*Anacardium occidentale*, L). **Ciência Agron.**, v.2, n.2, p.109-112, 1972.
- (118) NAGAJARA, K.V.; NAMPOOTHIRI, V.M.K. Chemical characterization of high-yielding of cashew (*Anacardium occidentale*). **Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition**, v.18, n.3, p.101-106, 1986.
- (119) NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chrom.**, v.21, p.1, 1966.
- (120) NOBLE, A.C.; SHANNON, M. Profiling Zinfandel wines by sensory and chemical analyses. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.38, n.1, p1-5, 1987.
- (121) NYKÄNEM, L. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.37, n.1, p.84-96, 1986.
- (122) OHKUBO, T.; NOBLE, A.C.; OUGH, C.S. Evaluation of California Chardonnay wines by sensory and chemical analyses. **Sciences des Aliments**, v.7, p.573-587, 1987.
- (123) OLIVEIRA, M.E.B. **Aminoácidos livres majoritários no suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) – clone CCP 09**. Fortaleza, 1997. 159 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (124) OLIVEIRA, M.E.B. Avaliação do teor de minerais em suco de caju clarificado concentrado. ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 9, 1995, João Pessoa. **Livro de Resumos do ...** João Pessoa: SBAAL, p. 40, 1995.
- (125) PANKOW, F.; LIGOCKI, M.P.; ROSEN, M.; E.; ISABELLE, L.M.; HART, K.M. COLOCAR NOME **Anal. Chem.**, v.60, n.1, p.40-47, 1988.
- (126) PARRO, A.C. Os alcóois superiores do sumo fermentado de caju. **Revista Ciência Agrônômica**, v.4, n.3, p.47-68, 1971.
- (127) PENA, R.S.; MENEZES, L.B.C. Obtenção de vinhos de frutas: abacaxi (*Ananas comosus*), acerola (*Malpighia glabra*) e maracujá (*Passiflora edulis*). **Anais Assoc. Bras. Quim.**, v.43, n.3-4, p.87-91, 1994.

- (128) PINAL, L.; CEDEÑO, M.; GUTIÉRREZ, H., ALVAREZ-JACOBS, J. Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process. **Biotech. Letters**, v.19, n.1, p.45-47, 1997.
- (129) PINTO, G.L. **Elaboração de vinho de laranja no meio rural**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1984, 10p. (Informe Técnico, 49).
- (130) PONS, M.N.; PICHON, D.; AUTHIER, M. Monitoring of alcoholic fermentation of fruit juices via a gas membrane sensor. **J. Ferm. Bioeng.**, v.68, n.4, p.282-285, 1989.
- (131) PRETORIUS, V.; BERTSCH, W. Sample introduction in capillary gas-liquid chromatography. **J. High Res. Chrom.**, v.6, p.64-67, 1983.
- (132) PRICE, R.L.; HOLANDA, L.F.F; MOURA FÉ, J.A.; MAIA, G.A., MARTINS, C.B. Constituents of Brazilian cashew apple juice. **Ciên. Agron.**, v.5, n.1-2, p.61-65, 1975.
- (133) PULQUE; BALCHÊ; PAJAUARU Bebidas de sumos de frutas. In: LIMA, O.G. **Etnobiologia das bebidas e dos alimentos fermentados**. Recife: Editora da Universidade Federal de Pernambuco, p. 160-182, 1975.
- (134) RAPP, A. Aromastoffe des Weines. **Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.** v.43, p.64-65, 1989.
- (135) RAPP, A. Natural flavours of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. **Fres. J. Analyt. Chem.**, v.337, p.777-785, 1990.
- (136) SANDRA, P.; BICCHI, C. **Capillary gas chromatography in essential oil analysis**. Heidelberg: Huethig, 1987. 435p.
- (137) SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat and bread by aroma extract dilution analysis. **Zeitschrift Lebensmittel Unters Forschung**, v.182, n.2, p.111-113, 1987.
- (138) SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Identification of potent flavor compounds formed in an aqueous lemon oil/citric acid emulsion. **J. Agric. Food Chem.**, v.36, n.4, p.797-800, 1988.
- (139) SECEX/MDIC - SECRETARIA DO COMÉRCIO EXTERIOR/MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO DA INDÚSTRIA E COMÉRCIO, 2000.
- (140) SHIMAZU, Y.; WATANABE, M. Effects of yeast strains and enviromental conditions on formation of organic acids in must during fermentation. **J. Ferm. Techn.**, v.59, n.1, p.27-32, 1981.
- (141) SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T.; NOBLE, A.C. Evaluation of headspace volatiles of Cabernet Sauvignon wines sampled by an on-column method. **J. Agric. Food Chem.**, v.41, n.10, p.1664-1668, 1993.
- (142) SILVA JÚNIOR, A.; PAIVA, F.F.DE A. **Estudos físico e físico-químicos de clones de cajueiro anão precoce**. Fortaleza: EPACE, 1994, 19p. (EPACE. Boletim de Pesquisa, 23).
- (143) SINGLETON, J.A.; PATTEE, H.E. **Analysis of food and beverages**, Academic Press, NY, 1978. 359p.
- (144) SOARES, J.B. **Conservação do caju in natura**. Fortaleza: BNB, 1986a. 41p.
- (145) SOARES, J.B. **O caju: aspectos tecnológicos**. Fortaleza: BNB, 1986b. 256p. (Série Monografias, 24).

- (146) SOUZA FILHO, M. DE S. M. **Aspectos físicos, químicos, físico-químicos e tecnológicos de diferentes clones de caju (*Anacardium occidentale*, L.)** Fortaleza, 1987. 167 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (147) STEVENS, S.S. On the psychophysical law. **The Psych. Review**, v.64, p.153-181, 1957.
- (148) STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R.C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Techn.**, v.28, n.11, p.24-34, 1974.
- (149) STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. Boston: Academic Press, 1985. 227p.
- (150) SUOMALAINEN, H.; NYKANEN, L.; ERIKSSON, K. Composition and consumption of alcoholic beverages – A review. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.25, n.4, p.179-187, 1974.
- (151) TAKEUCHI, T.; NAGATA, Y.; NAKAYAMA, Y.; SHIGETA, Y. Determination of odor components by gas chromatography-olfactometer. *Akushu no Kenkyu*, v.9, n.44, p.20-27, 1980. APUD ACREE, T.E.; BARNARD, J. Gas -chromatograph-olfactometry and Charm Analysis. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D.G. Eds. **Trends in flavour research: Proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium**. Amsterdam: Elsevier, p.211-220, 1994.
- (152) TEIXEIRA, C.C. Aguardente de caju e classificação de sumo de frutas. **Chácaras e Quintais**, v.97, n.6, p.705-706, 1958.
- (153) TELLES, P.R.S. Industrialização do pseudofruto e da castanha. In: LIMA, V.P.M.S. (ed). Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil - ETENE, 1988. **A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil** 486p. (Estudos Econômicos e Sociais, 35).
- (154) THOMAZINI, M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e polpa congeladas de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae)** Campinas, 1998. 174p. Tese (Mestrado em Ciências de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (155) TOLEDO, O.Z. de Vinho de laranjas. **Alim. e Beb.**, v.3, n.3-4, p.20-22, 1967.
- (156) TREVAS FILHO, V. Tecnologia dos produtos do pedúnculo do caju. In: SEMANA DO CAJU, 1, 1971, Fortaleza. **1^a Semana do Caju**, Fortaleza, 1971. 101p. (Mimeog.)
- (157) TROMP, A. The effect of yeast strain, grape solids, nitrogen and temperature on fermentation rate and wine quality. **S. Afr. J. Enol. Vitic.**, v.5, n.1, p.1-6, 1984.
- (158) VENTURA, M.M, HOLLANDA LIMA, H. Free amino acids of cashew apples (*Anacardium occidentale*) **Phyton**, v.12, n.1, p.31-34, 1959.
- (159) VOGT, E. **El viño: obtención, elaboración y analisis**. Zaragoza: Acribia, 1984.293p.
- (160) WADA, K.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of volatile compounds from a wine using solid phase extraction, gas chromatography, and gas chromatography/mass spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, v. 45, n.11, p. 4362-4366, 1997.
- (161) WENCKER, D.; LOUIS, M.; LAUGEL, P. Étude de la fraction "alcool supérieurs+méthanol" de diverses eaux-de-vie – Le données biochimiques. **Ann. Fals. Chim.**, v.74, n.799, p.429-441, 1981.

- (162) WEURMAN, C. Isolation and concentration of volatiles in foods odor research. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.17, n.2, p.370-384, 1969.
- (163) WILLIAMS, P.J.; STRAUSS, C.R. Apparatus and procedure for reproducible, high-resolution gas chromatographic analysis of alcoholic beverage *headspace* volatiles. **J. Inst. Brew.**, v.83, N.4, p.213, 1977.
- (164) WILLIAMS, P.J.; STRAUSS, C.R.; WILSON, B; DIMITRIADES, E. Origins of some volatile monoterpenes and nor-isoprenoids in grapes and wine – Biosynthetic and biogenetic considerations. In: BERGER, R.G.; NITZ, S.; SCHREIER, P., (eds) **Topics in Flavour Research**. Eichhorn Verlag: Marzling-Hangenheim.p. 335-352, 1985.
- (165) WITHY, L.M.; LODGE, N. Kiwifruit wine: production and evaluation. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.33, n.4, p.191-193, 1982.
- (166) YOUNG, A. **Making sense of wine tasting**. Grã-Bretanha: Lennard Publising, 1987.133p.
- (167) ZARDINI, F.A.. **Construção e operação de um gerador de vinagre**. Campinas, 2000. Tese (Mestrado em Ciências de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

CAPÍTULO DOIS



CAPÍTULO 2. PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DO *HEADSPACE* DO SUCO E VINHO DE CAJU POR SUCÇÃO

2.1 INTRODUÇÃO

O sabor de um alimento é uma resposta integrada aos estímulos gustativos e olfativos. A sensação do **gosto** é devida à presença de compostos não voláteis, sendo classificada em quatro categorias básicas: doce, amargo, salgado e ácido. O **aroma** dos alimentos é bem mais complexo, pois o olfato humano pode discriminar entre milhares de compostos voláteis. O **sabor característico** do alimento é também dado pela presença dos compostos voláteis que chegam até os receptores olfativos através da cavidade retro-nasal, a qual liga a cavidade oral à olfativa.

Esses compostos voláteis estão presentes nos alimentos e bebidas em concentrações muito pequenas (ppm até ppt) e são, em geral, compostos termolábeis, sujeitos a modificações como rearranjos, ciclizações, oxidações e outras, quando submetidos a qualquer aumento de temperatura.

Assim, a etapa de isolamento dos compostos voláteis é bastante crítica, podendo resultar em uma composição do isolado completamente diferente daquela originalmente presente na amostra, devido a degradação de algum composto e/ou a formação de artefatos, ou seja, compostos que não estavam presentes originalmente na amostra. Os métodos, então, devem ser eficientes e brandos devido a diminuta quantidade, instabilidade e volatilidade desses compostos.

A análise dos compostos voláteis do vapor em equilíbrio sobre o produto, como é percebido apenas pelo olfato, é chamada de análise do *headspace*, e pode ser realizada qualitativa, quantitativa e sensorialmente.

A necessidade da concentração dos importantes contribuintes do sabor com alto ponto de ebulição e presentes em quantidades traços no *headspace* originou uma técnica de análise atualmente chamada de "**análise dinâmica do *headspace***". Geralmente utiliza-se um fluxo de nitrogênio purificado para arrastar os voláteis até um pequeno tubo de vidro

empacotado com um adsorvente, onde são aprisionados. A dessorção dos voláteis pode ser direta ou reversa, através de eluição com solvente ou por aquecimento do polímero diretamente no injetor do cromatógrafo.

Essa técnica encontrou sua maior aplicação em bebidas alcoólicas (BERTUCIOLLI & MONTEDORO, 1974; JENNINGS *et al*, 1972; WILLIAMS & STRAUSS, 1977; SHIMODA *et al.*, 1993; GARCÍA-JARES *et al.*, 1995) pois os polímeros porosos, principalmente Porapak Q, possuem baixa retenção de etanol, o principal componente dessas bebidas, que pode obliterar uma grande porção do cromatograma.

A técnica de “amostragem do *headspace*” por sucção, desenvolvida por SINGLETON & PATTEE (1978), foi modificada por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) para isolar e concentrar os componentes voláteis do suco de graviola e mamão realizando a captura em Porapak Q com o uso de um vácuo (0,64 psi) constante. Os resultados desse trabalho demonstraram que a captura dos componentes voláteis em uma armadilha de Porapak Q por meio de sucção é aplicável a amostras complexas como voláteis de frutas, desde que devidamente escolhidas as condições de operação. O método mostrou-se altamente reprodutível, sem alterar significativamente a composição original da amostra.

O método de enriquecimento dos vapores do *headspace* em polímero poroso por sucção foi também utilizado para estudar os compostos voláteis em manga (FRANCO, 1992) mel (BASTOS, 1996), suco de maçã (JANZANTTI, 1996) e umbu (THOMAZINI, 1998), umbu-cajá, camu-camu, araçá-boi e cupuaçu (FRANCO & SHIBAMOTO, 2000) após a devida padronização das condições de captura para cada uma das amostras. BASTOS *et al* (1998) salientaram a importância da padronização cuidadosa em cada amostra, detalhando tal procedimento para captura dos compostos voláteis do mel em Porapak.

O objetivo desse estudo foi estabelecer as condições de isolamento dos compostos voláteis para o vinho de caju e sua matéria-prima (suco de caju) através de um método que evitasse o emprego de calor (*headspace* por sucção), otimizando o tempo de captura e o solvente por meio de técnicas sensoriais e instrumentais.

2.2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 – Matéria-prima e preparo das amostras

Cem quilos de pedúnculos de cajueiro anão precoce do clone CP 76 da EMBRAPA, cultivados sob irrigação no Campo Experimental de Paraipaba – CE, pertencente à Embrapa Agroindústria Tropical, foram transformados em vinho através de fermentação alcoólica com levedura *Saccharomyces bayannus* conforme fluxograma apresentado na Figura 2.1 e descrito no item 2.2.2.

Um lote de 5 Kg de pedúnculos do mesmo clone foi posteriormente transportado, via aérea, para os laboratórios do Departamento de Ciências de Alimentos, FEA-UNICAMP, para realização imediata dos testes. O material foi selecionado, triturado em liqüidificador e filtrado em tecido de algodão, obtendo-se um suco integral sem as fibras do caju. A esse suco foi adicionado NaCl p.a. 30% p/p, para inibição de possíveis reações enzimáticas que pudessem alterar a composição original de voláteis.

2.2.2 Elaboração dos vinhos de caju

A elaboração do vinho foi conduzida na planta piloto da Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial – NUTEC, em Fortaleza, utilizando-se uma adaptação do procedimento descrito por FARIA (1994) e DIAS (1996). As principais etapas são descritas a seguir:

- ▷ *Descastanhamento*: A retirada das castanhas foi feita no campo, por meio do estrangulamento da região de inserção da castanha com um fio de nylon, evitando a dilaceração do pedúnculo.
- ▷ *Lavagem e Seleção*: Os pedúnculos, recebidos na planta piloto em caixas plásticas vazadas, foram lavados em água corrente em tanque apropriado e submetidos a uma seleção para a remoção das frutas verdes, machucadas, ou em estado de deterioração avançado.
- ▷ *Sanificação e Lavagem*: Os pedúnculos selecionados foram sanificados, durante 30 minutos, com água a 100 ppm de cloro livre, e posteriormente enxaguados com água corrente.
- ▷ *Prensagem*: A extração do suco foi realizada em prensa tipo *expeller* regulada para uma pressão média, a fim de minimizar a incorporação dos taninos da casca e das fibras do pseudofruto ao suco.

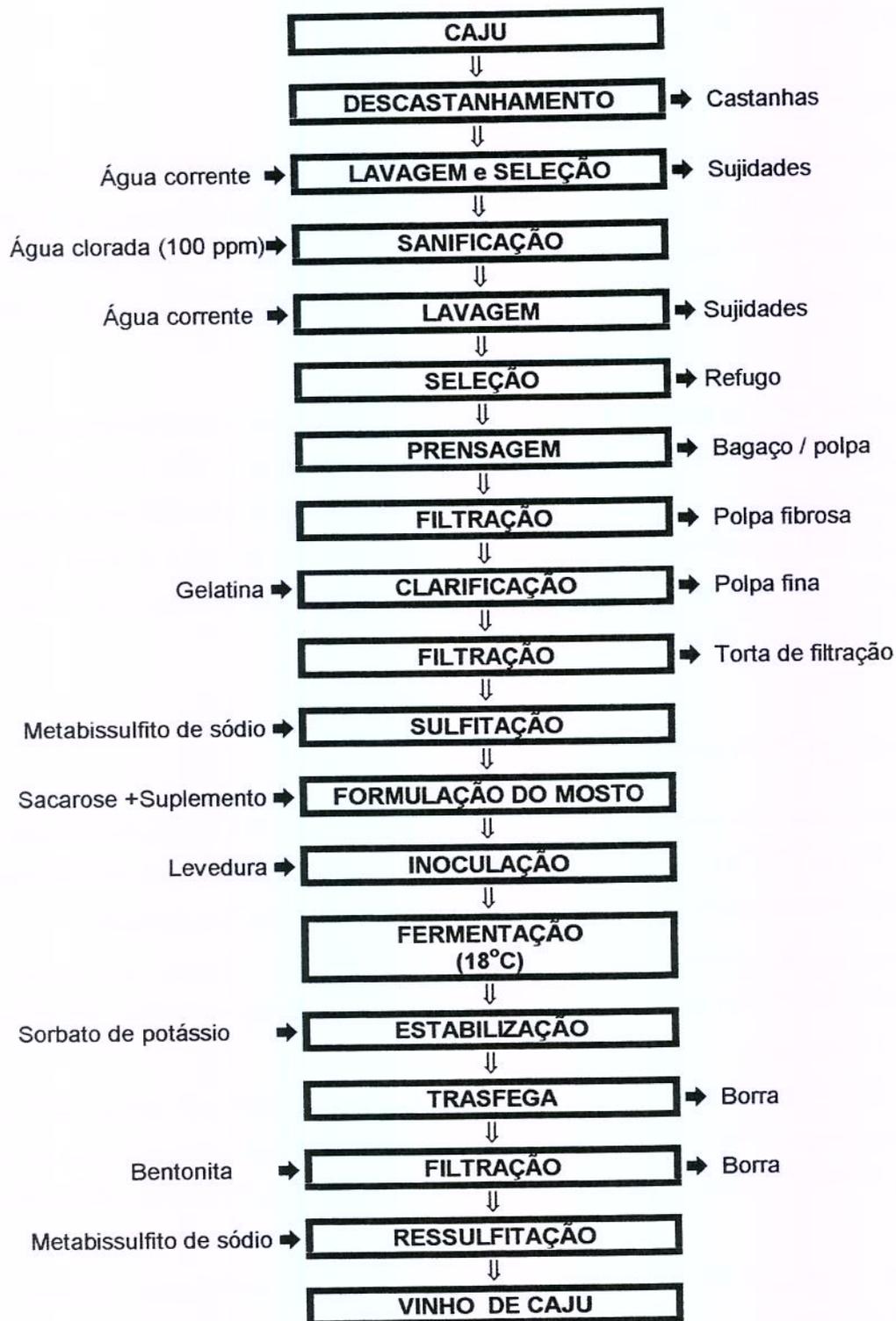


Figura 2.1 – Fluxograma básico de elaboração do vinho de caju

- ▷ *Filtração*: O suco prensado passou por um *finisher* e um filtro de linha (malha de 1,5 mm) para a retirada parcial das fibras em suspensão.
- ▷ *Clarificação*: O suco de caju foi tratado com uma solução de gelatina (PULVI-CLARS) a 10% em água, para a remoção de sólidos insolúveis e a redução de taninos responsáveis pela adstringência. A adição de gelatina foi realizada de forma gradativa, sob agitação até uma concentração final de aproximadamente 0,3%. O ponto ideal da clarificação era observado visualmente através da formação de flocos (complexo gelatina-tanino) que arrasta a polpa e promove a separação do sobrenadante límpido.
- ▷ *Filtração*: Após a decantação da polpa, o suco límpido foi sifonado para um outro tanque, de onde foi transferido, por meio de uma bomba de deslocamento positivo, para um filtro prensa (Schenk, modelo AF-10). Nessa filtração foram utilizadas 8 placas metálicas e unidades filtrantes de celulose.
- ▷ *Sulfitação*: A sulfitação do suco foi realizada com metabissulfito de sódio, a 100 ppm de SO₂ livre, para prevenir o desenvolvimento de bactérias e leveduras selvagens, bem como oxidações indesejáveis.
- ▷ *Formulação do mosto*: Com a finalidade de se obter um vinho com teor alcoólico por volta de 10°GL, foi realizada a correção do teor de sólidos solúveis do suco para 16°Brix, com adição de sacarose (chaptalização). Foi ainda realizada a suplementação nitrogeno-vitáminica, para um melhor desenvolvimento da levedura. O suplemento utilizado foi SUPERVIT a 200 mg/L, com a seguinte composição: sulfato de amônio 55%, fosfato de amônio bibásico 33%, bicarbonato de potássio 5,9%, cloridrato de tiamina 0,2%.
- ▷ *Inoculação*: O inóculo foi preparado segundo indicações do fabricante. O fermento desidratado foi ativado em solução aquosa de sacarose 5% a 38°C, deixando-se em repouso por cerca de 30 minutos. A cepa utilizada foi *Saccharomyces bayannus* comercializada pela AEB do Brasil Ltda, a 200 mg/L.
- ▷ *Fermentação*: O mosto inoculado foi acondicionado em garrações de vidro de 20L providos de batoque hidráulico, para liberar o CO₂ produzido e evitar a entrada de ar. Os garrações foram incubados em câmara climatizada a 18 - 20°C, até que o teor de açúcares atingisse 0,5 g/L, indicando o final do processo fermentativo (cerca de 20 dias).
- ▷ *Estabilização*: Para interromper o processo fermentativo foi realizada uma adição de 250 ppm de sorbato de potássio.

- ▷ *Trasfega*: O vinho foi sifonado para outro garrafão semelhante para evitar o contato prolongado com a borra (células de levedura e outros materiais sedimentados no fundo da dorna).
- ▷ *Filtração*: O vinho trasfegado foi adicionado de 3% de bentonita ativada (previamente hidratada), utilizada como auxiliar de filtração e agente de polimento do vinho (remoção de proteínas que podem causar turvação no vinho após o engarrafamento). Nesta etapa a filtração foi realizada em laboratório, com papel de filtro, com o auxílio de uma bomba de vácuo.
- ▷ *Ressulfitação*: Para efetuar uma reposição do dióxido de enxofre perdido durante o processo, foi realizada uma análise do teor de SO₂ livre no vinho e adicionada a quantidade necessária para se atingir 100 ppm.
- ▷ *Atesto e engarrafamento*: Garrafas de vidro de 760 mL foram cheias completamente (atesto) com o vinho já finalizado e tampadas com rolhas de cortiça.
- ▷ *Estocagem*: As garrafas foram estocadas em câmara a 18°C.

2.2.3 - Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis do suco e vinho do caju foram isolados através da adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento dos compostos voláteis do *headspace*, por sucção, conforme método descrito por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983), ilustrado na Figura 2.2. As análises foram realizadas em triplicata, sendo utilizados 300 g de amostra em cada uma delas.

Foi utilizado o polímero Porapak Q, 80-100 mesh, da Waters Associates, após condicionamento a 170°C por 48 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra puro a 30 mL/min. Após cada análise, a limpeza do polímero foi feita com solvente e recondicionamento nas mesmas condições, por 8 horas.

Os compostos voláteis foram capturados sob vácuo de aproximadamente 70 mm Hg, e posteriormente eluídos do polímero com 300 µL de solvente (grau análise de resíduos), dando origem a um isolado. Inicialmente os compostos voláteis foram capturados por duas (2) horas para a escolha do solvente de eluição. Foram usados dois tipos de solvente: acetona (polar) e hexano (apolar) e para o melhor deles foram testados os seguintes intervalos de tempo: 30 min, 1, 2 e 4 horas.

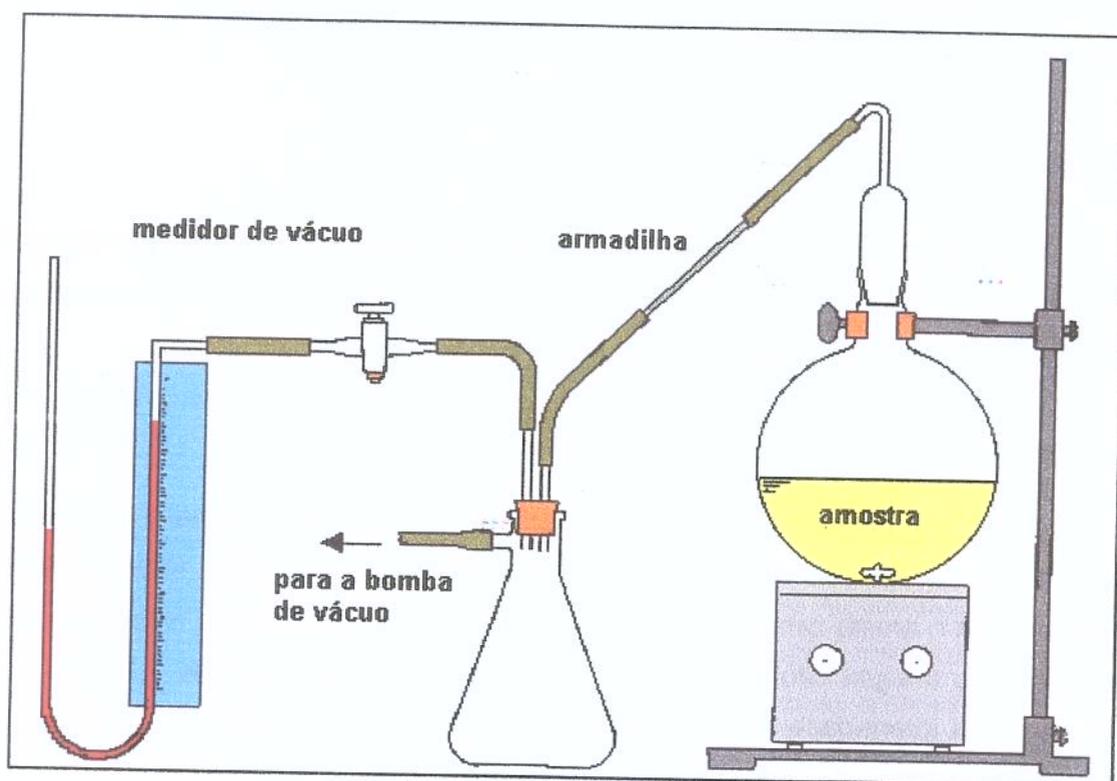


Figura 2.2 – Sistema de captura dos compostos voláteis do *headspace* por sucção.

Os isolados foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução e por análise sensorial. O melhor método foi definido como aquele que produziu o isolado com maior número de picos e maior intensidade do aroma característico do produto. Os testes foram realizados com amostras de vinho e, posteriormente, o melhor método para o vinho foi testado em amostras do suco do caju CP 76.

2.2.3 - Análise sensorial

A intensidade do aroma característico de cada isolado foi determinada por equipes sensoriais especificamente selecionadas para cada tipo de amostra, ou seja, uma equipe para aroma do suco e outra equipe para aroma de vinho do caju.

2.2.3.1 - Seleção dos julgadores para aroma de suco de caju

Alunos de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, num total de 14 indivíduos de ambos os sexos, na faixa de 25 a 34 anos, foram inicialmente familiarizados com o aroma característico do suco de caju. Os participantes receberam três (3) amostras de suco integral diluído em água nas proporções suco:água de 1:2, 1:6, 1:12 e deveriam avaliar a intensidade do aroma característico de cada amostra, em três repetições, utilizando a ficha de resposta apresentada na Figura 2.3.

Os testes foram realizados sempre no período da tarde, entre 14 e 16 h, com uma duração máxima de 15 minutos. Foram servidos 40 mL de cada amostra, em cálices formato tulipa envoltos em papel alumínio e tampados com vidro relógio. As amostras foram codificadas com números de três dígitos e avaliadas em cabinas individuais sob luz vermelha.

Aos dados obtidos foi aplicada análise de variância univariada (ANOVA) tendo como fontes de variação amostra e repetição. Foi utilizado o programa estatístico "Statistical Analytical Systems" (SAS, 1992). Para cada participante foi computado o nível de significância (p) para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$. Foram selecionados para compor a equipe sensorial aqueles que apresentaram $p_{amostra} \leq 0,15$ e $p_{repetição} \geq 0,05$, segundo metodologia proposta por DAMASIO & COSTELL (1991). A equipe final de julgadores constou de dois (2) indivíduos do sexo masculino e três (3) do sexo feminino.

NOME _____ DATA ____ / ____ / ____

Por favor, avalie a intensidade do aroma característico de caju em cada uma das amostras codificadas, utilizando a escala abaixo.

_____ | _____ |
fraca forte

_____ | _____ |
fraca forte

_____ | _____ |
fraca forte

Comentários: _____

Figura 2.3 – Modelo da ficha de avaliação utilizada na seleção dos participantes da equipe sensorial

NOME _____ DATA ____ / ____ / ____

Por favor, cheire primeiramente o padrão e depois avalie a intensidade do aroma característico de caju do isolado, de acordo com a escala abaixo. Faça um traço vertical no ponto da escala que melhor expressa a sua opinião.

_____ | _____ |
padrão nenhuma igual ao

_____ | _____ |
nenhuma igual ao padrão

_____ | _____ |
nenhuma igual ao padrão

Comentários: _____

Figura 2.4 – Modelo da ficha de avaliação utilizada na análise do aroma dos isolados.

2.2.3.2 - Seleção dos julgadores para aroma de vinho do caju

A seleção de participantes para a avaliação do aroma de vinho de caju foi realizada de maneira semelhante à descrita no item 2.2.3.1, utilizando amostras de vinho do caju diluídas em água nas proporções vinho: água 1:1, 1:10, 1:50. Como se tratasse de um produto novo foram incluídas amostras referências para a escala de intensidade do aroma :

Fraca: solução de vinho em água a 1%

Média: solução de vinho em água a 50%

Forte: vinho 100%

A equipe final de julgadores do aroma de vinho do caju constou de um (1) indivíduo do sexo masculino e quatro (4) do sexo feminino.

2.2.3.3 - Análise do aroma dos isolados

Desta fase até o final da pesquisa os participantes de equipes sensoriais de avaliação de aroma foram denominados julgadores. A intensidade do aroma dos isolados foi avaliada através de uma escala linear não estruturada de 9 cm, sempre comparada com uma amostra padrão (um copo contendo suco ou vinho não diluídos), conforme o modelo de ficha mostrada na Figura 2.4.

Os isolados foram apresentados a cada julgador em fita de papel própria para análise de essências. Com o auxílio de uma seringa, 5 μ L do isolado foram transferidos para a fita de papel, a qual era cheirada pelo julgador após a evaporação do solvente. Cada julgador realizou essa análise em três repetições. Os resultados foram analisados pela ANOVA e Teste de Tukey para comparação das médias.

2.2.4 - Análise cromatográfica

Os isolados foram analisados por cromatografia gasosa de alta resolução, em cromatógrafo VARIAN modelo 3800 acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION.

Duas colunas capilares de fase ligada, DB-1 e VA-wax, foram testadas nas seguintes condições cromatográficas:

- ◆ Coluna DB-1, com 50m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme da fase ligada 0,25 μm .
- ◆ Coluna VA-wax (Varian), com 30m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme da fase ligada 0,25 μm .
- ◆ Gás de arraste: hidrogênio a 1,5 mL/min
- ◆ Injetor: *splitless* a 200°C
- ◆ Detector de Ionização de Chama (DIC) a 250°C
- ◆ Programação da coluna: temperatura inicial 50°C mantida por 8 minutos, elevação até 110°C a 4°/min, temperatura final 200°C atingida a 16°/min.

2.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 – Seleção da equipe sensorial

Os resultados estatísticos obtidos na seleção dos participantes da equipe sensorial são apresentados nas Tabelas 2.1 e 2.2 para o suco e vinho do caju, respectivamente. Em ambos os casos, todos os participantes apresentaram ótima repetibilidade em seus julgamentos ($p_{\text{repetição}} \geq 0,05$) e bom consenso com a equipe sensorial, ou seja, as médias para amostras mais diluídas sempre foram menores que aquelas dadas às amostras mais concentradas.

A diferença de diluição provocada nas amostras 2 e 3 de suco de caju (diluição 1:6 e 1:12, respectivamente) não foi suficiente para provocar uma diferença significativa entre suas médias para intensidade de aroma (Tabela 2.1). No entanto, o desempenho de alguns participantes foi bastante satisfatório, sendo possível fixar um valor de $p_{\text{amostra}} \leq 0,05$ como critério de seleção da equipe. Foram selecionados os participantes 1, 5, 7, 9, 10 e 11 para as análises do aroma dos isolados de suco.

A maioria dos participantes, na fase de seleção para equipe de aroma de vinho, demonstraram excelente capacidade em discriminar diferenças de intensidade do aroma característico do produto, apresentando $p_{\text{amostra}} \leq 0,05$ (Tabela 2.1). Assim, foram selecionados os participantes 2, 4, 5, 10, 13 e 14 para a análise do aroma dos isolados de vinho do caju.

Tabela 2.1 - Valores médios atribuídos ao aroma das amostras de suco de caju, resultados da ANOVA e teste de Tukey.

Participante	Amostras			P _{AMOSTRA}	P _{REPETIÇÃO}
	A	B	C		
1	5,03 a	2,70 ab	0,2 b	0,010	0,110
2	3,40 a	2,17 a	2,13 a	0,540	0,169
3	6,80 a	5,07 a	4,03 a	0,384	0,376
4	5,60 a	3,23 a	1,90 a	0,421	0,989
5	7,93 a	5,30 ab	2,50 b	0,038	0,499
6	4,17 a	3,30 a	2,47 a	0,137	0,112
7	4,60 a	0,87 b	0,83 b	0,005	0,503
8	7,53 a	5,33 a	3,10 b	0,051	0,154
9	7,83 a	1,23 b	1,20 b	0,001	0,443
10	5,33 a	1,50 b	0,53 b	0,021	0,669
11	6,90 a	1,07 b	1,00 b	0,002	0,414
Média	5,92 a	2,89 b	1,89 b	0,0001	---

Amostra A = diluição 1:2; amostra B = diluição 1:6; amostra C = diluição 1:12

$P_{amostra} \leq 0,05$ indica julgador com suficiente poder discriminativo

$P_{repetição} \geq 0,05$ indica julgador com suficiente repetibilidade

Médias com letras diferentes, na mesma linha diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$)

Tabela 2.2. Valores médios atribuídos ao aroma das amostras de vinho do caju, resultados da ANOVA e teste de Tukey.

Participante	Amostras			P _{AMOSTRA}	P _{REPETIÇÃO}
	A	B	C		
1	3,50 a	0,60 b	0,50 b	0,010	0,177
2	7,73 a	3,00 b	0,23 c	0,001	0,308
3	4,50 a	1,80 b	0,10 b	0,005	0,103
4	4,57 a	1,63 b	0,17 c	0,001	0,598
5	6,03 a	3,20 b	0,57 c	0,001	0,533
6	5,30 a	2,83 ab	0,63 b	0,008	0,085
7	9,00 a	4,77 ab	1,53 b	0,016	0,133
8	3,17 a	2,70 a	0,67 a	0,173	0,799
9	7,43 a	3,07 b	1,83 b	0,068	0,868
10	8,07 a	5,10 b	1,33 c	0,001	0,205
11	5,37 a	1,93 ab	0,03 b	0,021	0,118
12	6,1 a	3,77 a	1,73 a	0,187	0,615
13	7,33 a	4,00 b	0,97 c	0,002	0,995
14	6,40 a	3,03 b	1,07 c	0,002	0,892
Média	6,03 a	2,95 b	0,81 c	0,0001	---

Amostra A = diluição 1:2; amostra B = diluição 1:10; amostra C = diluição 1:50

$P_{amostra} \leq 0,05$ indica julgador com suficiente poder discriminativo

$P_{repetição} \geq 0,05$ indica julgador com suficiente repetibilidade

Médias com letras diferentes, na mesma linha diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$)

2.3.2 – Otimização das condições de isolamento dos voláteis

2.3.2.1 – Escolha da coluna cromatográfica

As Figuras 2.5 e 2.6 mostram o resultado da separação dos voláteis do vinho do caju em duas diferentes colunas, VA-wax e DB-1, respectivamente. A coluna mais polar (VA-wax) apresentou maior resolução para os compostos mais voláteis (aqueles do início do cromatograma), sendo escolhida para a análise cromatográfica dos compostos voláteis do *headspace* do vinho.

2.3.2.1 – Escolha do solvente para eluição dos compostos voláteis

Os cromatogramas dos isolados obtidos através da eluição com hexano e acetona (Figura 2.7) apresentaram-se bastante semelhantes, entretanto a maioria dos picos do isolado de acetona apresentou maior área que seus respectivos picos no isolado de hexano, indicando que a acetona praticamente eluiu os mesmos compostos adsorvidos no polímero que o hexano, porém com maior eficiência.

Os resultados instrumentais foram confirmados com aqueles da análise sensorial (Tabela 2.3) quando a equipe considerou o aroma característico do vinho de caju do isolado acetônico mais intenso que o do isolado de hexano ($p \leq 0,05$).

2.3.2.3 – Escolha do tempo de captura

A Tabela 2.4 apresenta os resultados da avaliação sensorial e da cromatografia dos isolados dos voláteis do vinho do caju obtidos com acetona nos testes de tempo de captura. O tempo de captura de duas (2) horas foi suficiente para obter um isolado com o aroma do produto, pois dobrando o tempo de captura (4 horas) não ocorreu um aumento significativo da intensidade do aroma do isolado. Esse fato foi confirmado pelos cromatogramas (Figura 2.8), onde pode-se observar um crescente enriquecimento com o aumento do tempo de captura. Também foi verificada grande semelhança entre os perfis cromatográficos dos isolados obtidos com 2 e 4 horas de captura. Cabe salientar que nessa figura os cromatogramas foram superpostos para facilitar sua comparação e a escala foi ajustada para conter o pico mais alto, fazendo com que muitos dos picos presentes nos cromatogramas originais não pudessem ser visualizados.

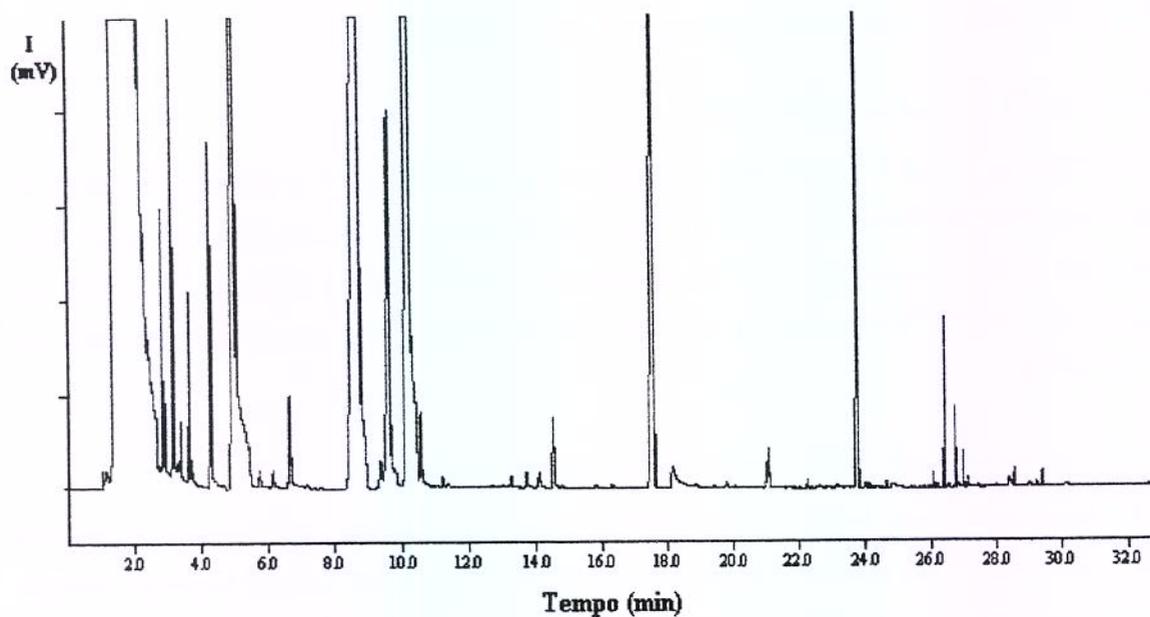


Figura 2.5 - Cromatograma do isolado de voláteis de vinho do caju após 2h de captura e eluição com acetona em coluna VA-wax.

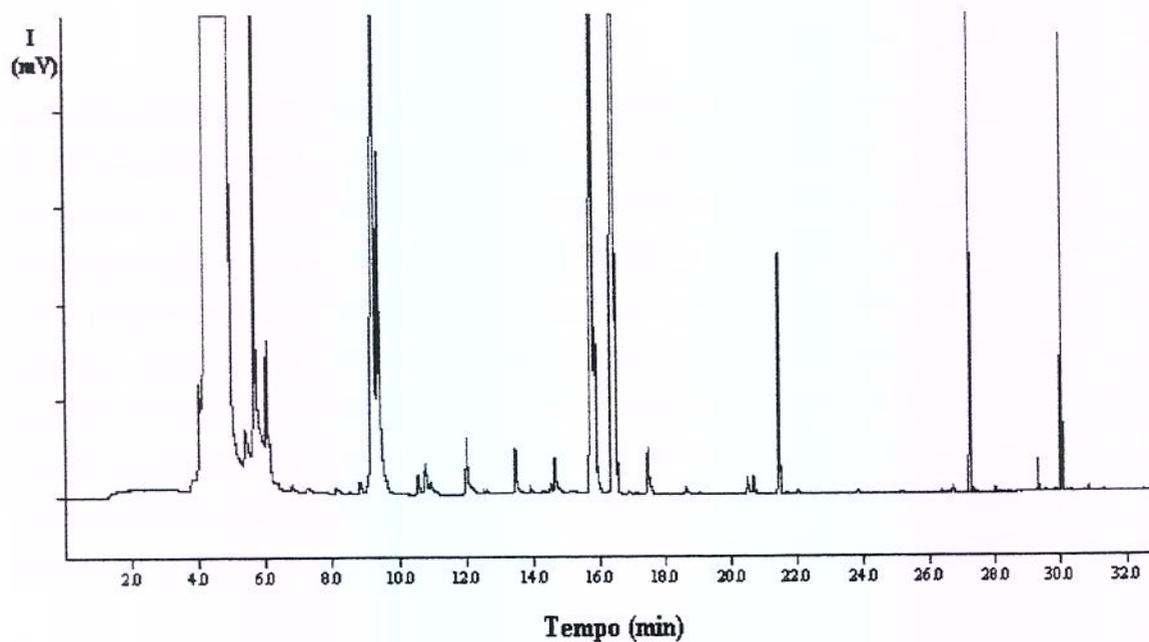


Figura 2.6 - Cromatograma do isolado de voláteis de vinho do caju após 2h de captura e eluição com acetona em coluna DB-1.

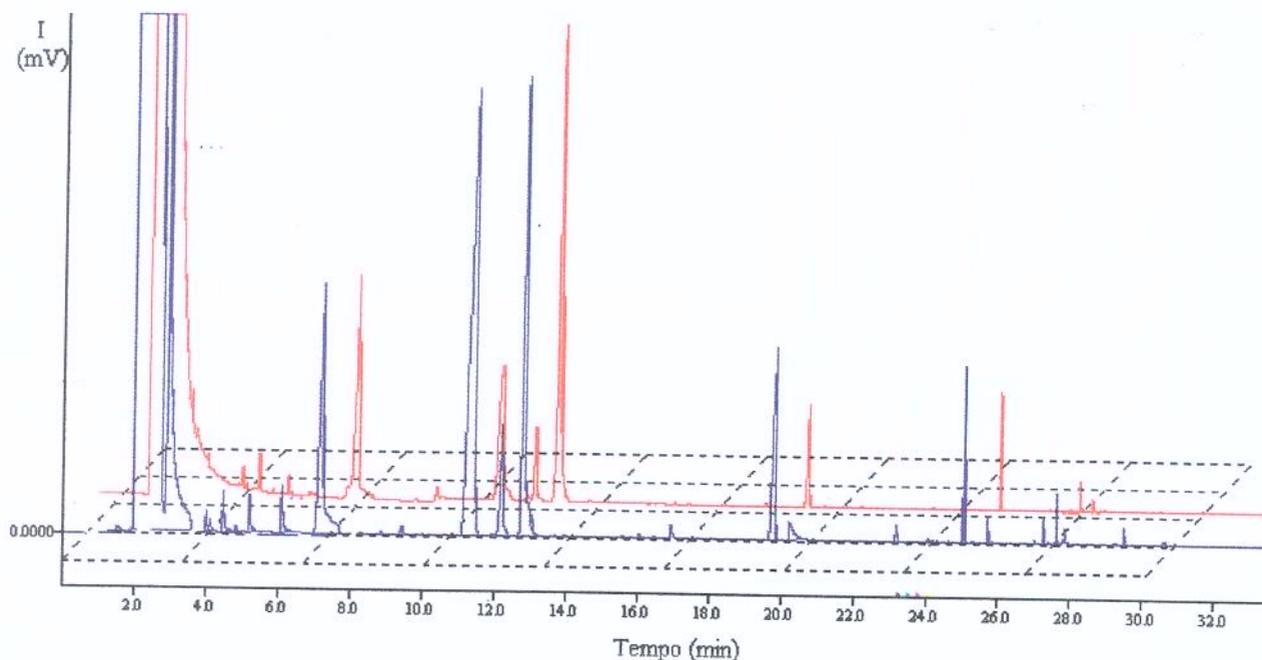


Figura 2.6 – Cromatogramas dos isolados de vinho do caju obtidos com diferentes solventes (2h de captura, em coluna DB-wax): ■ acetona ■ hexano

Tabela 2.3 – Intensidade de aroma característico de vinho do caju nos isolados obtidos por eluição com diferentes solventes.

Solvente	Média ^{1,2}
acetona	6.94 a
hexano	4.98 b

¹ Médias com mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,01$) entre si

² Escala de intensidade onde 0 = fraco e 9 = forte

Tabela 2.4. Resultados da análise sensorial e análise cromatográfica dos isolados obtidos no teste do tempo de captura

	TEMPO (Horas)			
	0,5	1	2	4
Intensidade do aroma de vinho de caju^{1,2}	2.33 c	4.25 b	6.89 a	7.66 a
Número de picos	40	42	51	64

¹ Médias com mesma letra não diferem significativamente ($p \leq 0,01$) entre si

² Escala de intensidade onde 0 = fraca e 9 = forte

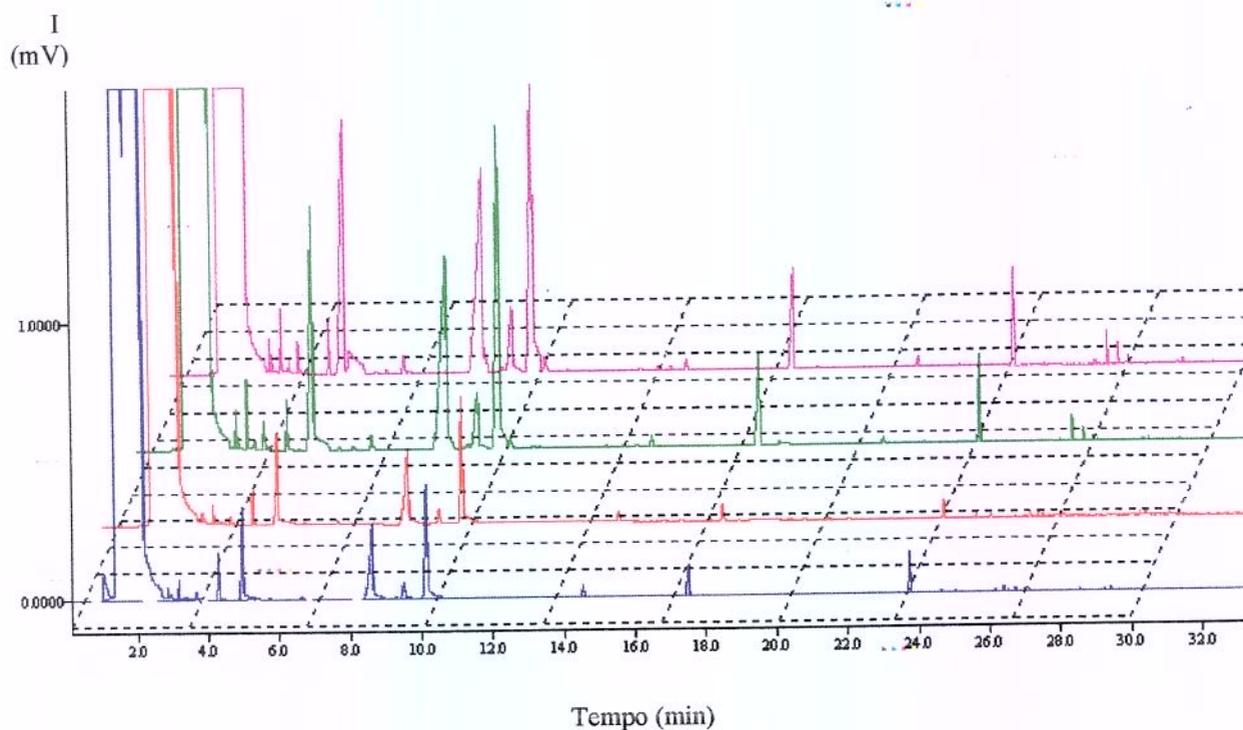


Figura 2.8 – Cromatogramas em coluna VA-wax dos isolados de voláteis do vinho, obtidos com diferentes tempos de captura em Porapak Q, por sucção e eluição com acetona:
 ■ 0,5 h, ■ 1 h, ■ 2h, ■ 4h.

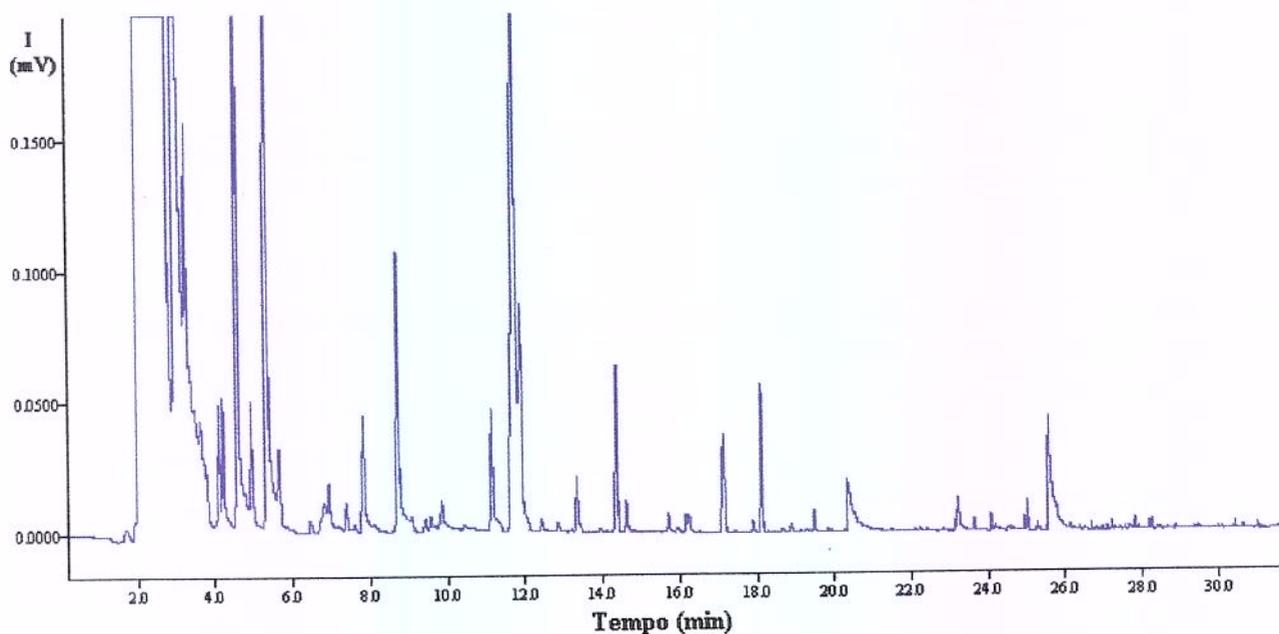


Figura 2.9 – Cromatograma em coluna VA-wax do isolado dos compostos voláteis do suco do caju CP 76 obtido por 2 horas de captura em Porapak Q, por sucção e eluição com acetona.

2.3.2.4 - Confirmação das condições otimizadas no isolamento dos voláteis para o suco do caju.

As condições de captura e análise otimizadas para o vinho do caju foram também utilizadas para isolar os compostos voláteis do suco, obtendo-se isolados que apresentaram forte intensidade do aroma característico de caju, alcançando valor médio de 6,65 pela equipe sensorial. A Figura 2.9 mostra exemplo de um cromatograma dos compostos voláteis do *headspace* do suco do caju.

2.4 - CONCLUSÕES

- A metodologia de isolamento dos compostos voláteis do vinho do caju em polímero Porapak Q, utilizando-se a técnica de *headspace* dinâmico por sucção, foi padronizada em um período de 2 horas de captura, sendo a acetona o solvente mais apropriado para a eluição dos compostos. O emprego dessas condições resultou em isolados contendo o aroma original do produto. A fase estacionária mais adequada para a separação dos compostos voláteis do suco e do vinho do caju, isolados em acetona, foi uma fase do tipo polar (VA-wax).
- 2 As mesmas condições de captura e eluição, padronizadas para os compostos voláteis do vinho de caju, podem ser utilizadas para o isolamento dos compostos voláteis do *headspace* do suco do caju, com resultados igualmente satisfatórios, facilitando uma posterior comparação entre o perfil de voláteis da matéria-prima com o de seu produto fermentado.
 - 3 O emprego da Análise Sensorial permitiu a avaliação da intensidade do aroma dos isolados, auxiliando a determinação das condições ótimas de isolamento de compostos voláteis necessárias para a obtenção de isolados com alta intensidade do aroma característico do suco e vinho do caju .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) BASTOS, D.H.M. **Compostos voláteis de méis de eucalipto e laranja**. Campinas, 1996. 148p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (2) BASTOS, D. H.M., DA SILVA, M.A.A.P., FRANCO, M.R.B. Otimização da etapa de isolamento dos compostos voláteis de mel para análise cromatográfica gasosa. **Alimentos e Nutrição**, v.9, 1998.
- (3) BERTUCCIOLI, M.; MONTEDORO, G. Concentration of the headspace volatiles above wine for direct chromatographic analysis. **J. Sci. Food Agric.**, v.25, n.6, p.675, 1974.
- (4) DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Rev. Agroquím. Tecn. Alim.**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.
- (5) FRANCO, M.R.B. **Componentes voláteis e sabor de manga (*Mangifera indica* L.) e mamão (*Carica papaya* L.)**. Campinas, 1992.173p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos-Universidade Estadual de Campinas.
- (6) FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. *Trapping of soursop (Annona muricata) juice volatile on Poropak Q by suction*. **J. Sci. Food Agric.**, v.34, n.3, p.293-299, 1983.
- (7) FRANCO, M.R.B.; SHIBAMOTO, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-cajá (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), araçá-boi (*Eugenia stipitata*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) **J. Agric. Food Chem.**, v.48, n.4, p.1263-1265, 2000.
- (8) GARCÍA-JARES, C.; GARCÍA-MARTÍN, S.; CELA-TORRIJOS, R. Analysis of some highly volatile compounds of wine by means of purge and cold *trapping* injector capillary gas chromatography. Application to the differentiation of Rias Baixas Spanish white wines. **J. Agric. Food Chem.**, v.43, n.3, p.764-768, 1995.
- (9) JANZANTI, N.S. **I. Composição de voláteis de maçãs (*Malus domestica*) cultivar Fuji. II. Efeito do processamento e do armazenamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçãs Fuji**. Campinas, 1996. 166p. Tese (Mestrado em Ciências de alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (10) JENNINGS, W.G., WOHLEB, R.H.; LEWIS, M.J. Gas chromatographic analysis on *headspace* volatiles of alcoholic beverages. **J. Food Sci.**, v.37, n.1, p.69, 1972.
- (11) SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.
- (12) SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T.; NOBLE, A.C. Evaluation of *headspace* volatiles of Cabernet Sauvignon wines sampled by na on-column method. **J.Agric. Food Chem.**, v.41, n.10, p.1664-1668, 1993.
- (13) SINGLETON, J.A.; PATTEE, H.E. **Analysis of food and beverages**, Academic Press, NY, 1978. 359p.
- (14) THOMAZINI, M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e polpa congeladas de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae)** Campinas, 1998. 174p. Tese (Mestrado em Ciências de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
- (15) WILLIAMS, P.J.; STRAUSS, C.R. Apparatus and procedure for reproducible, high-resolution gas chromatographic analysis of alcoholic beverage *headspace* volatiles. **J. Inst. Brew.**, v.83, p.213, 1977.

CAPÍTULO TRÊS



CAPÍTULO 3. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO SUCO DE PSEUDOFRUTOS DO CAJUEIRO ANÃO PRECOCE DO CLONE CP76

3.1 – INTRODUÇÃO

O caju é um fruto de especial interesse nutricional, sendo bastante conhecido pela sua castanha (o verdadeiro fruto) e pela riqueza em vitamina C de seu pseudofruto (pedúnculo hipertrofiado), o qual corresponde à polpa comestível. O pseudofruto do caju é uma fruta bastante fibrosa e suculenta. Seu suco é ácido e adstringente, porém, quando totalmente maduro o caju pode ser consumido *in natura* ou na forma de suco, geléia, diversos tipos de doces, refrigerantes e bebidas alcoólicas.

O primeiro estudo publicado sobre os voláteis do aroma do pedúnculo de caju foi realizado por MACLEOD & TROCONIS (1982), com cajus frescos da Venezuela. Utilizando a técnica de destilação-extração simultâneas (NICKERSON & LIKENS, 1966) modificada, os autores obtiveram 46 picos no cromatograma, dos quais 25 foram identificados por CG/EM e 12 foram parcialmente ou tentativamente caracterizados. O grupo de compostos predominante foi o dos hidrocarbonetos terpênicos (38%), sendo o 3-careno o composto majoritário (24,3%). No entanto, foram também detectados 5 aldeídos que juntos corresponderam a 26% dos voláteis totais.

Baseando-se nas concentrações presentes e na qualidade do aroma de cada composto determinada pela técnica *sniffing*, os pesquisadores consideraram importantes os seguintes compostos, que foram assim descritos: hexanal como 'grama', o 3-careno como 'frutal', 'enjoativo', o limoneno com *trans*-2-hexenal juntos, descritos como 'verde', 'grama' e benzaldeído como 'amêndoas verdes frescas' e 'caju'. No entanto, os próprios autores concluíram que os resultados do *sniffing* não foram suficientes para fazer deduções positivas quanto a quais compostos seriam particularmente importantes para a formação do aroma característico do caju.

Posteriormente, analisando os constituintes voláteis do suco de caju proveniente do Brasil, através da técnica de *headspace* dinâmico, MACIEL *et al.* (1986) obtiveram resultados bastante distintos. Dentre os 52 compostos detectados, a principal classe foi a dos ésteres. Os majoritários foram os ésteres etílicos dos ácidos acético, 3-metil butanóico e hexanóico. Os

aldeídos e terpenos apresentaram-se em baixo número e concentração. Em ambos os sucos foi detectada a presença de dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto.

A avaliação sensorial dos efluentes cromatográficos, através da técnica *sniffing* evidenciou que, individualmente, nenhum dos compostos foi capaz de duplicar o aroma típico do caju. Entretanto, os autores atribuíram aos ésteres butanoato de metila, butanoato de etila e isovalerato de etila o aroma doce e frutal, e aos ácidos isovalérico e isobutírico o odor pungente e azedo, sugerindo ainda que os compostos sulfurados também podem ser importantes para o aroma do caju.

As diferenças encontradas nesses trabalhos podem ser atribuídas, em parte, à variabilidade genética dos materiais procedentes de localidades diferentes (Venezuela e Brasil). No entanto, a diferença na técnica utilizada para o isolamento dos compostos voláteis pode ser responsável por boa parte da divergência dos resultados. MACLEOD & TROCONIS (1982) fizeram uma análise total dos voláteis presentes na polpa da fruta, fazendo a extração com solvente e destilação simultânea, por 4 horas. Nessa técnica, o aquecimento prolongado, mesmo pequeno, da amostra, favorece a formação de artefatos e a mudança na composição original dos compostos voláteis. Além disso, devido a interações com a matriz, a concentração dos compostos voláteis no alimento pode ser diferente àquela encontrada no seu *headspace* em equilíbrio com a fase líquida (ROSS *et al.*, 1997).

No trabalho de MACIEL *et al* (1986), os voláteis foram capturados do *headspace*, nas concentrações em que eles atingem os receptores olfativos e são percebidos. Porém, a técnica de olfatométrica utilizada (*sniffing*) não permitiu determinar a contribuição de cada composto para a formação do aroma característico do produto, fornecendo apenas a descrição da qualidade odorífera dos compostos. Além disso, a escolha de diferentes programações de temperatura da coluna nas análises de CG-EM e CG-olfatométrica, sem a determinação dos Índices de Kovats práticos em cada uma delas, impossibilitou aos autores apresentar uma associação direta entre os aromas caracterizados e os respectivos compostos voláteis.

Na tentativa de suplantar as limitações da técnica de *sniffing*, outras técnicas de CG-olfatométrica têm sido desenvolvidas, como CharmTM (ACREE *et al.*, 1984), AEDA (SCHIEBERLE & GROSH, 1987) e Osme (McDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992). CharmTM e AEDA, apesar de serem capazes de localizar regiões no cromatograma que registram voláteis importantes para o aroma do produto, sofrem críticas por serem

fundamentadas em medidas de *threshold* para estimar a potência odorífera dos compostos voláteis (DA SILVA *et al.*, 1994), em desacordo com as leis da psicofísica moderna. Já com a técnica Osme ('cheiro' em grego), o julgador sensorial, ao mesmo tempo que descreve a qualidade do aroma, registra a intensidade do aroma percebido diretamente em uma escala de tempo-intensidade.

Recentemente, BICALHO *et al.* (2000) isolaram os componentes voláteis de caju da variedade *nanum* na forma livre e ligada, através de extração-destilação simultânea e adsorção em amberlite XAD-2. Foram caracterizados e quantificados 62 compostos voláteis livres, sendo 40% ésters, 20% terpenos, 14% hidrocarbonetos, 9% ácidos graxos, 8% aldeídos, 3% álcoois, 3% lactonas, 1% cetonas, 1% fenóis e 1% isoprenóides, porém os autores não realizaram análise olfatométrica dos compostos.

O objetivo deste trabalho foi estudar a composição de compostos voláteis do *headspace* do suco de caju e determinar quais são importantes para a formação do seu aroma característico, através da mais avançada técnica de cromatografia gasosa – olfatometria (Osme), a qual possibilita a quantificação da intensidade odorífera de cada composto.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Amostragem e preparo da amostra

Foram estudados três lotes de pseudofrutos do cajueiro anão precoce do clone CP 76, em duas safras consecutivas (1998 e 1999). O material analisado, cultivado sob irrigação, era proveniente do Campo Experimental de Paraipaba (Ceará), da Embrapa Agroindústria Tropical. Esse clone foi escolhido para este estudo por apresentar as melhores características do pseudofruto tais como tamanho grande, formato de pêra, coloração avermelhada e baixa adstringência. A árvore de porte baixo permite a colheita manual, conservando assim a integridade do pseudofruto, o qual pode ser aproveitado tanto para consumo *in natura* como para a industrialização.

Para a realização das análises os lotes, compostos por cinco quilos de pseudofrutos maduros foram transportados via aérea para os laboratórios da UNICAMP, em três semanas consecutivas. O material recebido foi selecionado e dividido em três amostras. Cada amostra foi triturada em liquidificador e coada em tecido de algodão, obtendo um suco integral sem as

fibras do caju. Trezentos gramas desse suco, adicionados de NaCl PA 30% p/p para inibir possíveis reações enzimáticas, foram colocados em balão de fundo redondo do sistema de captura de voláteis.

3.2.2. Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis do suco do caju foram isolados através de adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento em *headspace* dinâmico, por sucção, segundo metodologia descrita por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983). Foi utilizado o polímero Porapak Q, 80-100 mesh, da Waters Associates, após condicionamento a 170°C por 48 horas, sob fluxo de nitrogênio ultra puro a 30 mL/min. Após cada análise, a limpeza do polímero foi feita com acetona e recondicionado por 8 horas.

Os voláteis foram capturados sob vácuo de aproximadamente 70 mm Hg por 2 horas e, posteriormente, eluídos do polímero com 300 µL de acetona (grau análise de resíduos), conforme metodologia padronizada no Capítulo 2, dando origem a um isolado.

3.2.3. Análise cromatográfica

Foram injetados 2,0 µL de cada isolado em cromatógrafo gasoso VARIAN modelo 3800 acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION, nas seguintes condições cromatográficas:

- ▷ Coluna de sílica fundida de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno com fase ligada Carbowax 20M de 0,25 µm (VA-wax, da Varian)
- ▷ Gás de arraste: hidrogênio a 1,5 mL/min
- ▷ Injetor: *splitless* a 200°C
- ▷ Detector de Ionização de Chama (DIC) a 250°C
- ▷ Programação da coluna: T_{inicial} 50°C, mantida por 8 minutos, elevação até 110°C a 4°/min, T_{final} 200°C atingida a 16°/min.

3.2.4. Identificação dos compostos voláteis

Os isolados dos voláteis do suco foram analisados em um cromatógrafo gasoso SHIMADZU modelo 17-A, equipado com um detetor de massas modelo QP-5000, nas mesmas condições cromatográficas descritas no item 3.2.3, empregando os seguintes parâmetros:

- ▷ Gás de arraste: Hélio a 1,5 ml/min,
- ▷ Temperatura do detetor: 250°C,
- ▷ Voltagem de ionização: 70 eV,
- ▷ Velocidade de *scan* : 1 *scan* s⁻¹.

O Índice de Kovats de cada composto foi utilizado como um dado complementar para a confirmação da identidade dos compostos. Uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C19) foi adicionada ao isolado sendo injetados 2,0 µL no cromatógrafo nas mesmas condições cromatográficas das análises. Os Índices de Kovats obtidos foram comparados àqueles descritos na literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980) ou obtidos via “Internet” (ACREE & HEINRICH, 2000). Compostos para os quais não foi possível encontrar o Índice de Kovats teórico foram considerados “tentativamente identificados”.

3.2.5 Cromatografia Gasosa-Olfatometria

Os efluentes cromatográficos desse isolado foram submetidos à análise sensorial através da técnica Osme (McDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA -LOPEZ *et al.*, 1992; da SILVA *et al.*, 1992) para determinação da importância odorífera dos compostos voláteis presentes no isolado do suco de caju.

A coleta dos dados olfatométricos foi realizada com um isolado concentrado. Primeiramente foi realizado o isolamento dos voláteis de uma amostra de suco de caju em triplicata. Os três isolados obtidos foram misturados em um mesmo frasco e concentrados pela evaporação do solvente com nitrogênio, tendo-se o cuidado de verificar se as proporções entre os picos da amostra eram mantidas após a concentração (ver Anexo 5). A separação cromatográfica foi realizada nas mesmas condições de análises descritas no item 3.2.3., utilizando hélio como gás de arraste.

O sistema de cromatografia gasosa - olfatometria utilizado está esquematizado na Figura 3.1. Para a avaliação sensorial dos eluentes a coluna foi transferida do DIC para uma

outra base de detetor (somente a base, sem o detetor) mantida à mesma temperatura utilizada no DIC (Figura 3.2). Um tubo de vidro previamente siliconizado foi instalado no topo dessa base (Figura 3.3) e revestido externamente com manta de fibra de vidro e papel alumínio para manter o aquecimento e evitar a condensação dos voláteis no tubo (Figura 3.4). Os efluentes cromatográficos foram misturados ao ar proveniente de um cilindro, previamente umidificado, aquecido a 28°C e purificado com carvão ativado (Figura 3.5). A razão de fluxo do ar foi padronizada em 4 L /min e monitorada por um rotâmetro instalado após a saída do filtro de carvão ativo.

Assim, os compostos separados pela coluna cromatográfica e carregados pelo ar que fluía pelo tubo de vidro foram submetidos à análise sensorial por cinco (5) julgadores, os quais foram instruídos a respirar normalmente enquanto estivessem inalando os efluentes cromatográficos (Figura 3.6 A). Os julgadores foram previamente selecionados para aroma de caju, na etapa de padronização da metodologia de isolamento dos voláteis (Capítulo 2). O treinamento constou de análises prévias, com a própria amostra.

A análise olfatométrica teve duração de 30 min e cada julgador realizou a análise em três repetições, em dias diferentes. Cada vez que um odor era percebido, o julgador respondia ao estímulo utilizando uma escala de tempo-intensidade de 0 a 10 cm através do *mouse* do computador (Figura 3.6 B). Ao mesmo tempo que utilizava a escala, o julgador descrevia verbalmente a qualidade dos odores percebidos e o pesquisador anotava também o tempo inicial no qual o aroma era percebido.

O tempo de duração e a intensidade percebida para cada odor foram registrados diretamente no computador pelo programa “Sistema de Coleta de Dados Tempo-Intensidade (SCDTI)”, desenvolvido pelas Faculdades de Engenharia de Alimentos e Engenharia Elétrica e Computação da UNICAMP. Para cada avaliação o SCDTI forneceu: *i*) o pico do odor de cada volátil percebido em um gráfico denominado aromagrama, *ii*) os tempos inicial e final da percepção desse odor, *iii*) o tempo de duração do odor percebido, *iv*) a intensidade máxima desse odor, *v*) o tempo correspondente à intensidade máxima, *vi*) a área sob o pico. Os tempos correspondentes à intensidade máxima de cada odor percebido foram utilizados para o cálculo dos Índices de Kovats odoríferos.

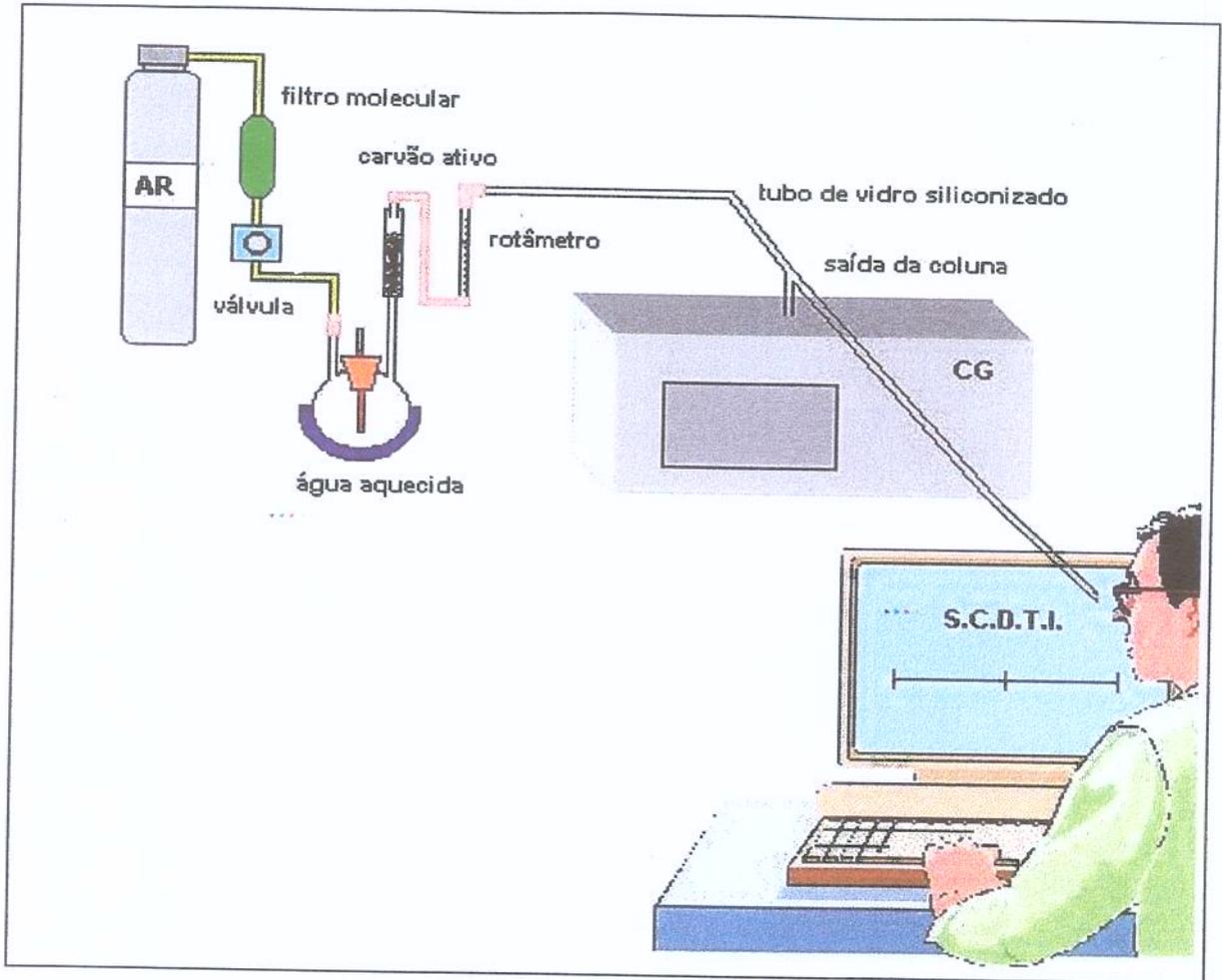


Figura 3.1 – Ilustração do sistema de CG - Olfatometria (Osme).

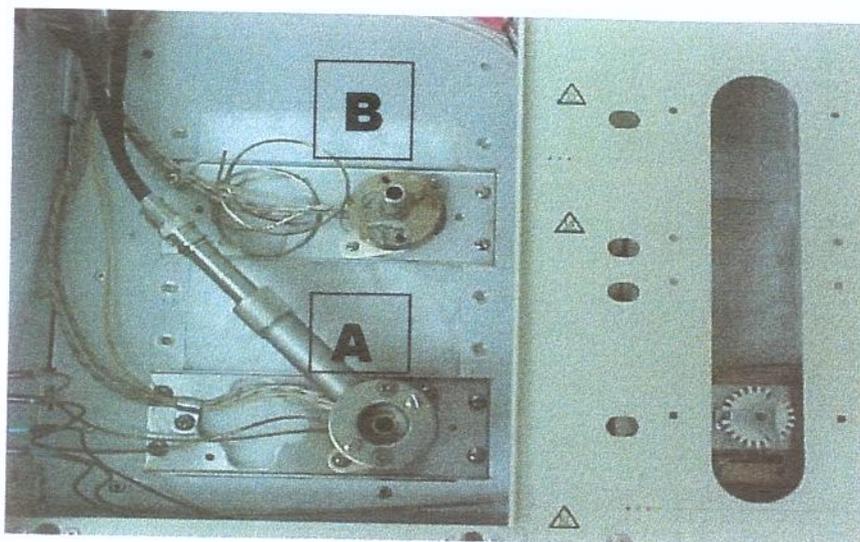


Figura 3.2 Vista superior da torre do DIC (A) e da saída da coluna (B) utilizada na análise olfatométrica

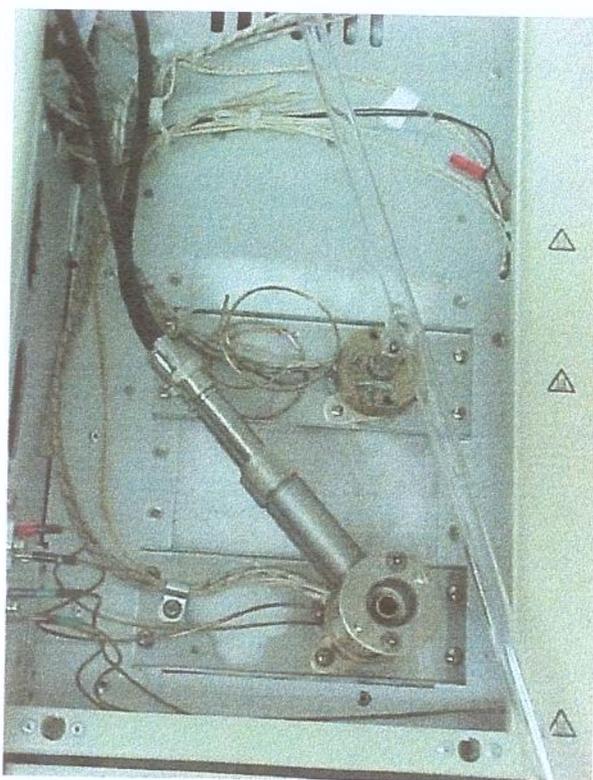


Figura 3.3 - Vista superior do encaixe do tubo de vidro sobre a saída da coluna.

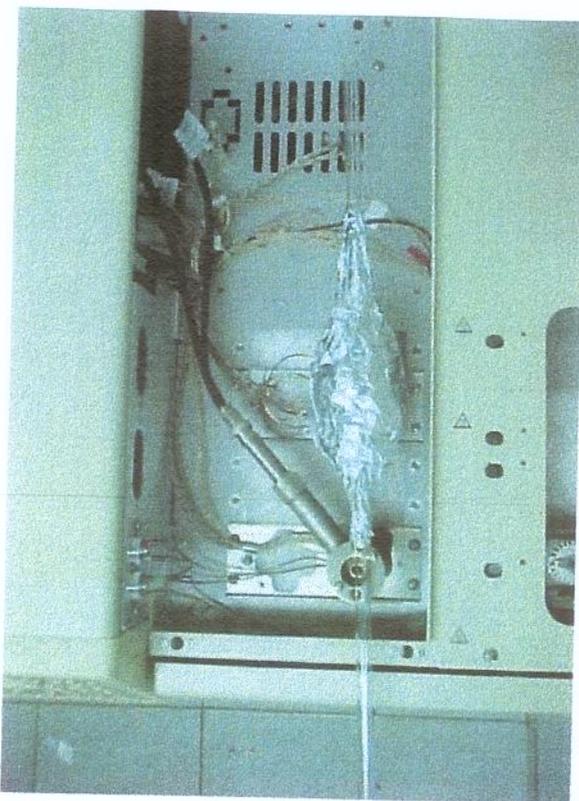


Figura 3.4 - Detalhe da manta térmica para manter o aquecimento do tubo de vidro.

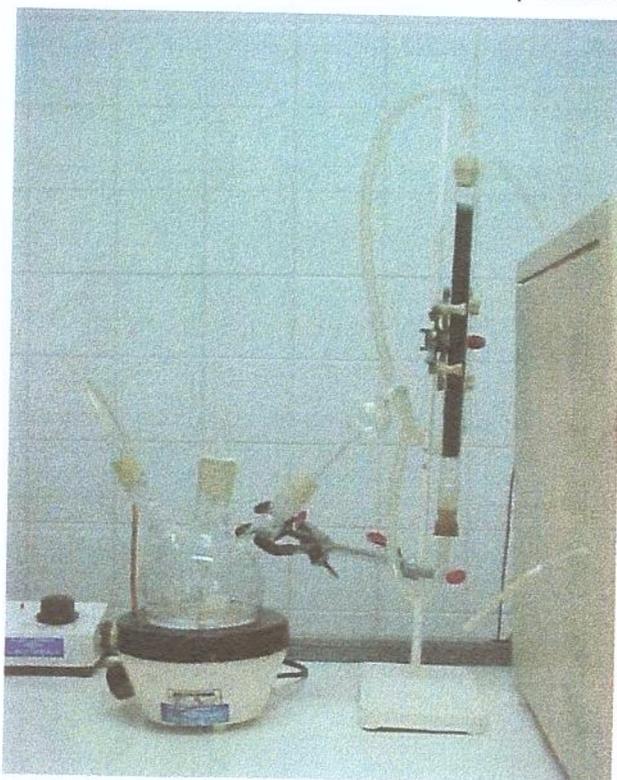


Figura 3.5 – Sistema de umidificação, aquecimento e filtragem do ar que vem do cilindro para arrastar os compostos voláteis até as narinas do julgador.

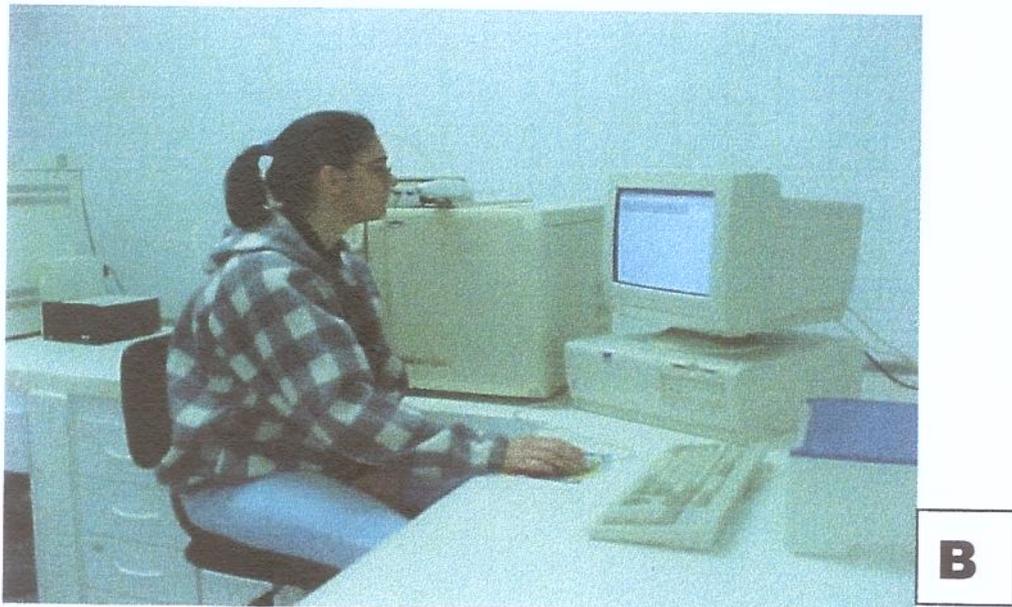
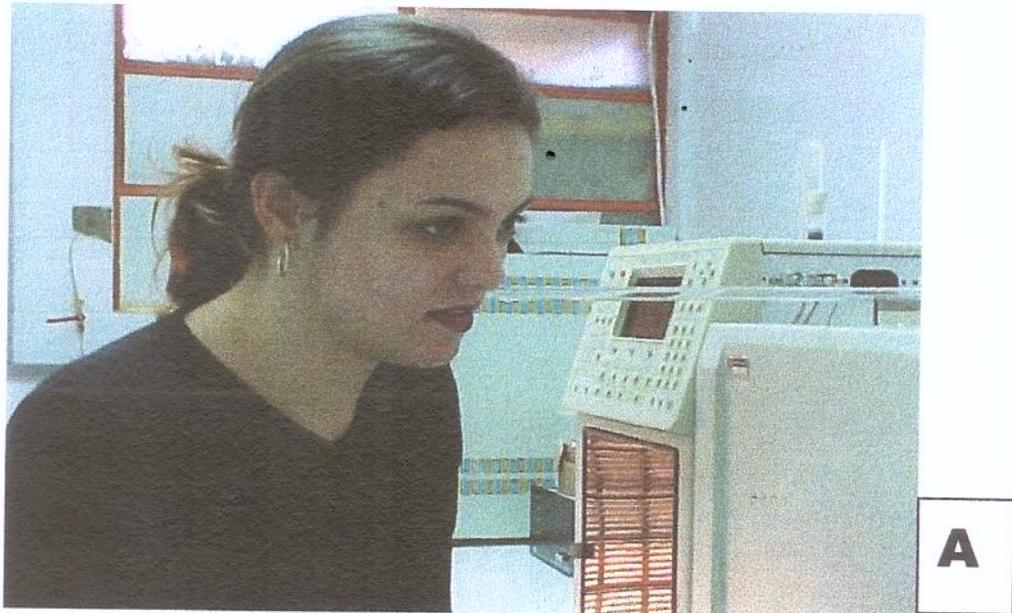


Figura 3.6 – Análise olfatométrica através da técnica OSME. Detalhe do julgador percebendo o aroma (A) e utilizando o mouse do computador para registrar a sua intensidade diretamente na tela do monitor (B).

Foi construído um aromagrama médio da equipe sensorial (aromagrama consensual) com as médias das quinze análises (5 julgadores X 3 repetições). Para tanto, quando o julgador não percebia um determinado composto recebia valor zero para a intensidade do aroma e área sob o pico.

Para avaliar o desempenho da equipe sensorial e auxiliar a localização dos picos, foi introduzido, no isolado de compostos voláteis do *headspace* do suco do caju, um padrão interno de Índice de Kovats e aroma bem conhecidos. Foi escolhido o linalool, que eluiu em uma região praticamente “vazia” do cromatograma.

3.2.6. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e comparação das médias pelo teste de Tukey. Também foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) com os resultados dos compostos mais importantes. Utilizou-se o programa estatístico “Statistical Analytical Systems” (SAS, 1992) para ambiente Windows.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Identificação e porcentagens relativas dos compostos voláteis

O uso da cromatografia gasosa de alta resolução permitiu a detecção de 63 picos nas amostras das duas safras analisadas. Nas Figuras 3.7 e 3.8 são mostrados os cromatogramas típicos de cada lote de pseudofrutos do caju do clone CP 76, em cada safra. As Figuras 3.9 e 3.10 e a Tabela 3.1 apresentam a identificação de cada pico. Nessa tabela são apresentados os índices de Kovats práticos (determinados neste estudo) e as porcentagens relativas médias dos compostos detectados nas duas safras analisadas. Os íons majoritários de cada um dos compostos identificados, obtidos pela espectrometria de massas, são apresentados no Anexo 1. Compostos para os quais não foi possível obter o valor do Índice de Kovats teórico, e portanto, identificados somente por CG-EM, foram considerados “tentativamente identificados”. As porcentagens relativas médias obtidas para os compostos detectados em cada lote de suco do caju, nas duas safras, constam do Anexo 2.

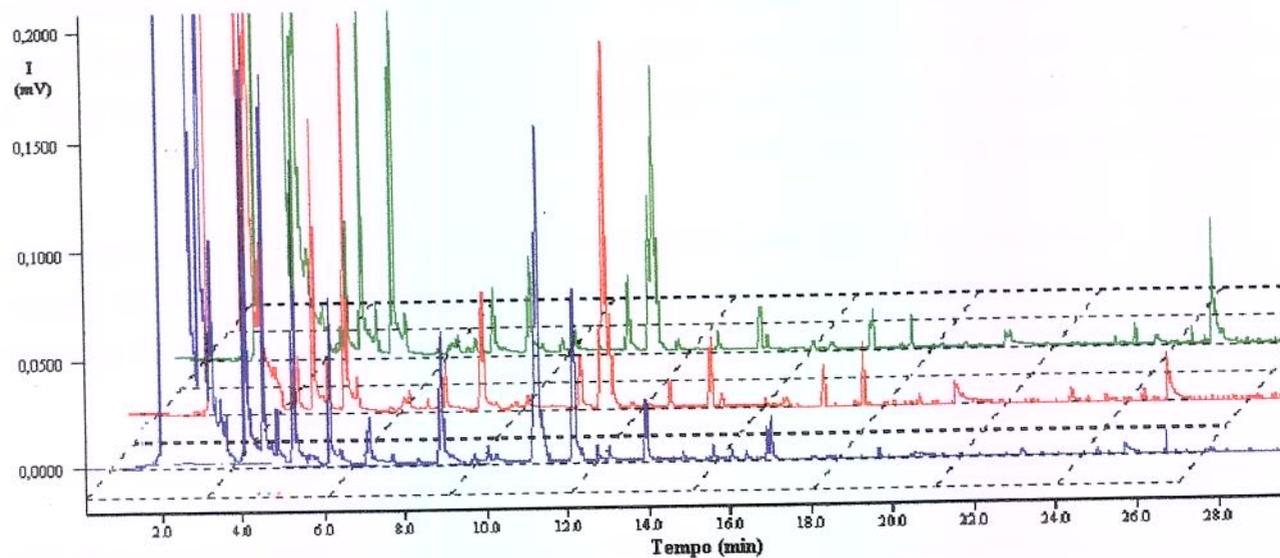


Figura 3.7- Cromatogramas dos voláteis do suco de três lotes de cajus, safra 1998.

■ LOTE 1 ■ LOTE 2 ■ LOTE 3

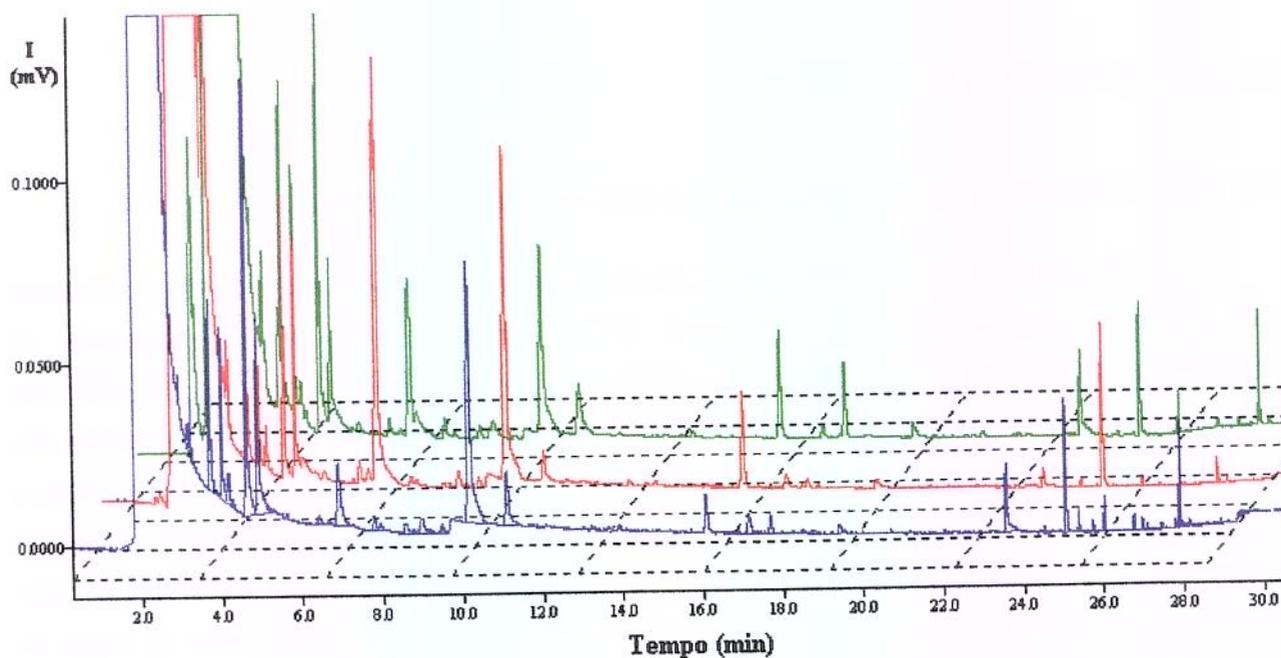


Figura 3.8 - Cromatogramas dos voláteis do suco de três lotes de cajus, safra 1999.

■ LOTE 1 ■ LOTE 2 ■ LOTE 3

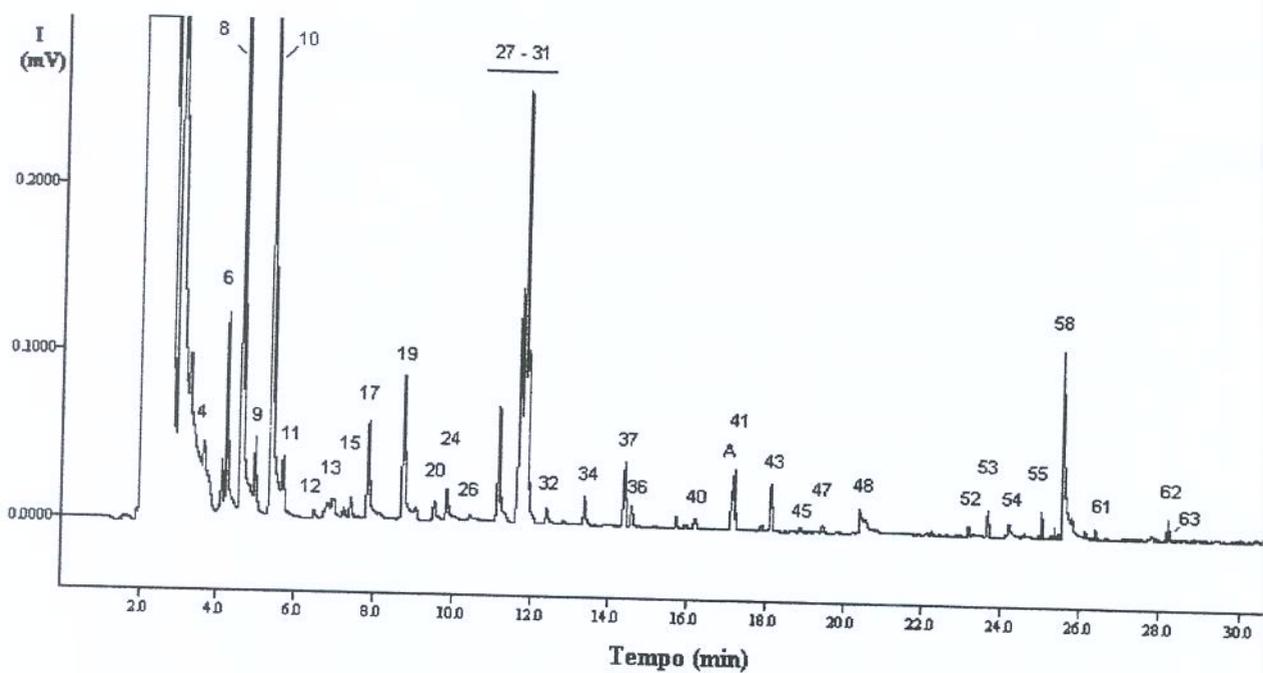


Figura 3.9 - Cromatograma típico dos voláteis do suco do caju, safra 1998.

A = pico da impureza da acetona.

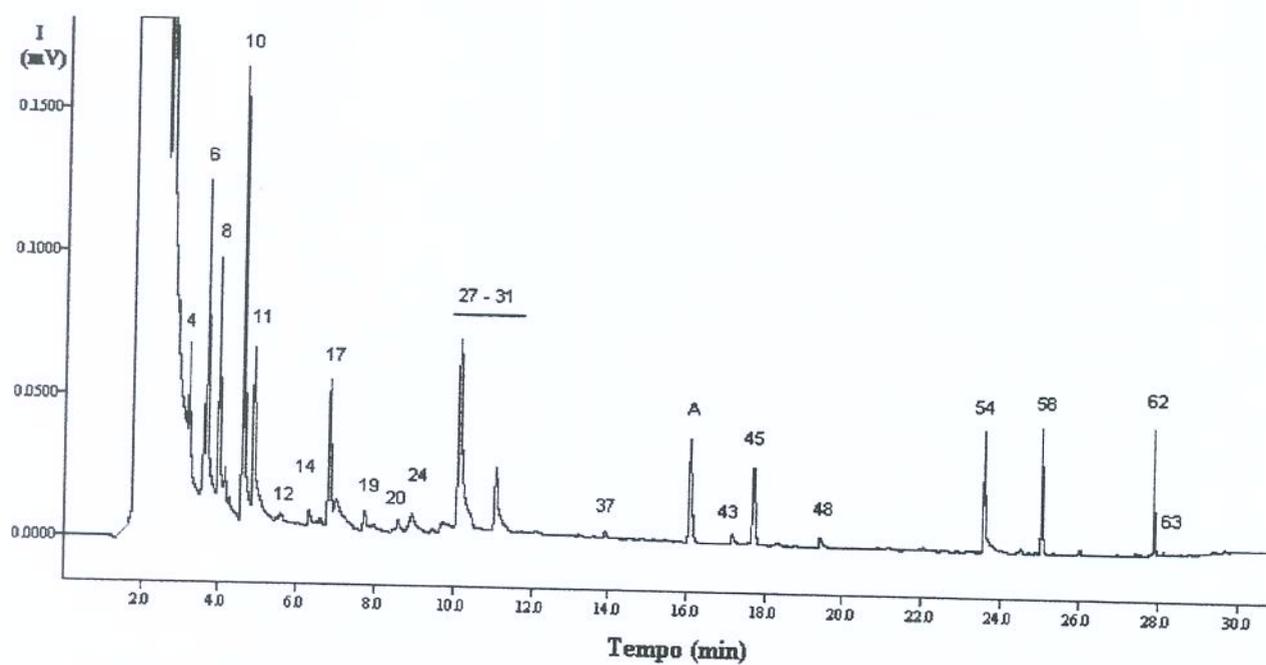


Figura 3.10 - Cromatograma típico dos voláteis do suco do caju, safra 1999.

A = pico da impureza da acetona.

Tabela 3.1 Porcentagens de áreas relativas médias dos compostos voláteis do suco do caju das safras de 1998 e 1999.

Pico	I_{exp}	Composto	Safra 1998 %	Safra 1999 %	P_{safra}
1	< 1000	acetato de etila	1,80	nd	-
2	< 1000	propanoato de etila	nd-0,43	nd-0,35	-
3	< 1000	NI	nd-0,65	nd-0,60	-
4	< 1000	butanoato de metila	0,55	1,70	0,0001
5	1016	NI	nd-0,11	tr-2,868	-
6	1024	isovalerato de metila	7,55	7,64	0,8425
7	1029	NI	2,94	nd	-
8	1042	butanoato de etila	13,02	5,50	0,0001
9	1057	2-metil butanoato de etila	2,22	1,22	0,0001
10	1073	isovalerato de etila	15,27	14,18	0,2639
11	1085	hexanal	1,80	10,81	0,0001
12	1103	2-butenato de metila	0,26	0,29	0,4475
13	1111	acetato de isoamila	2,22	0,92	0,0001
14	1130	3-metil valerato de metila	tr-0,32	nd-0,4	-
15	1138	N-valerato de etila	0,47	0,63	0,0136
16	1143	NI	nd-0,15	nd	-
17	1149	2-metil-2-pentenal ^a	2,13	14,71	0,0001
18	1157	1-butanol	nd-tr	nd-1,85	-
19	1169	<i>trans</i> -2-butenato de etila	6,21	0,79	0,0001
20	1181	3-metil-valerato de etila ^a	0,38	0,38	0,9862
21	1183	N-acetato de amila	nd-0,11	nd-0,19	-
22	1188	hexanoato de metila	nd	0,64	-
23	1189	NI	tr	tr-0,43	-
24	1190	2-metileno butanoato de metila ^a	0,86	1,24	0,0002
25	1194	NI	nd-0,48	nd-0,26	-
26	1197	3-hexanol	nd-0,11	0,54	-
27	1211	3-metil-1-butanol	*	*	-
28	1232	2-hexanol	*	*	-
29	1214	<i>trans</i> -2-hexenal	*	*	-
30	1239	hexanoato de etila	*	*	-
31	1244	2-metil-2-butenato de etila	*	*	-
32	1254	1,3,5,7 ciclooctatetraeno ^a	0,40	nd-0,15	-
33	1260	1-pentanol	nd-0,82	nd-0,26	-
34	1280	3-hidroxi-2-butanona	1,18	0,20	0,0001
35	1286	2-hexenoato de metila ^a	tr	nd-0,14	-
36	1295	NI	tr-0,51	nd	-
37	1299	<i>trans</i> -3-hexenoato de etila	1,61	tr-0,46	-
38	1325	N-acetato de hexila	0,34	nd-0,21	-
39	1336	NI	0,26	nd-tr	-
40	1343	<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	0,30	nd-0,12	-

Continua ...

Tabela 3.1 - continuação

Pico	I _{exp}	Composto	Safra 1998 %	Safra 1999 %	P _{safra}
41	1362	1-hexanol	0,74	nd-0,14	-
42	1378	NI	nd-0,16	nd-0,45	-
43	1386	<i>cis</i> -3-hexenol	tr-1,93	0,99	-
44	1396	nonanal	nd-0,14	nd	-
45	1398	2-butoxi-etanol	nd-0,15	tr-3,35	-
46	1415	NI	nd-tr	nd-tr	-
47	1432	octanoato de etila	0,22	nd-0,35	-
48	1453	ácido acético	0,97	0,65	0,0001
49	1477	<i>Alfa</i> – copaeno	nd-tr	nd	-
50	1490	decanal	nd-tr	nd-tr	-
51	1505	benzaldeído	nd-tr	nd-0,34	-
52	1547	NI	0,25	nd-0,17	-
53	1567	1-octanol	tr-0,39	nd-tr	-
54	1587	NI	nd-0,35	2,74	-
55	1636	acetofenona	0,21	0,15	0,0001
56	1653	benzoato de etila	nd-0,12	nd-tr	-
57	1666	ácido 3-metil butanóico	nd-tr	nd-0,15	-
58	1674	ácido 2-metil butanóico	2,87	3,44	0,0933
59	1689	NI	0,32	nd	-
60	1711	2,6 dimetil benzaldeído ^a	nd-0,14	nd-0,48	-
61	1745	<i>gama</i> -hexalactona	tr-0,18	nd-0,27	-
62	>1900	NI	nd-0,18	1,33	0,0196
63	>1900	<i>Delta</i> -octalactona	nd-0,11	tr-0,74	-

NI = não identificado

^a= tentativamente identificado

nd = não detectado

tr = composto detectado em quantidades traços (< 0,1%).

P_{safra} = nível de significância do teste F

I_{exp} = Índice de Kovats experimental

Para os compostos numerados de 1 a 3, por estarem na região da cauda do solvente, não foi possível fazer sua quantificação em muitas das corridas cromatográficas, apesar de ser notada, visualmente, a sua presença. Em outras corridas, os picos realmente não separaram do pico do solvente.

Outra região problemática foi a dos picos 27 a 31, pois somente em algumas corridas os compostos se separaram, sendo que, na maioria das análises não houve resolução, apresentando-se como dois picos apenas. Além disso, observou-se pela espectrometria de massas, que esses compostos freqüentemente invertiam suas posições no cromatograma (Figura 3.11). Como não foi possível realizar a espectrometria de massas de todas as amostras analisadas devido a problemas operacionais, ficou impossível distingui-los nos cromatogramas (DIC).

A análise de variância (ANOVA), aplicada a cada um dos picos que apresentou porcentagem de área relativa maior que traços em todas as amostras de cada lote, mostrou que não houve diferença significativa na área relativa da maioria dos picos, entre amostras de um mesmo lote. Apenas alguns picos apresentaram problema de repetibilidade variando de não detectado (nd) ou traços (tr), até valores superiores a 1%.

Na comparação estatística dos lotes de mesma safra foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) nas porcentagens relativas médias, para um grande número de picos. Essa variabilidade pode ser devida a fatores como variações no clima, época de colheita e grau de maturação entre os lotes.

A análise de variância realizada em conjunto, para as duas safras, mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) para a maioria dos picos detectados. Pela análise da Tabela 3.1 observou-se que foram detectados mais picos nos cromatogramas do suco do caju da safra 1998 (61 picos) que nos cromatogramas da safra 1999 (56 picos). Desses picos, 54 foram detectados em ambas as safras. As amostras da primeira safra apresentaram maior intensidade para a maioria dos compostos. Os picos que não apareceram na segunda safra podem estar em concentrações abaixo do limite de detecção do aparelho.

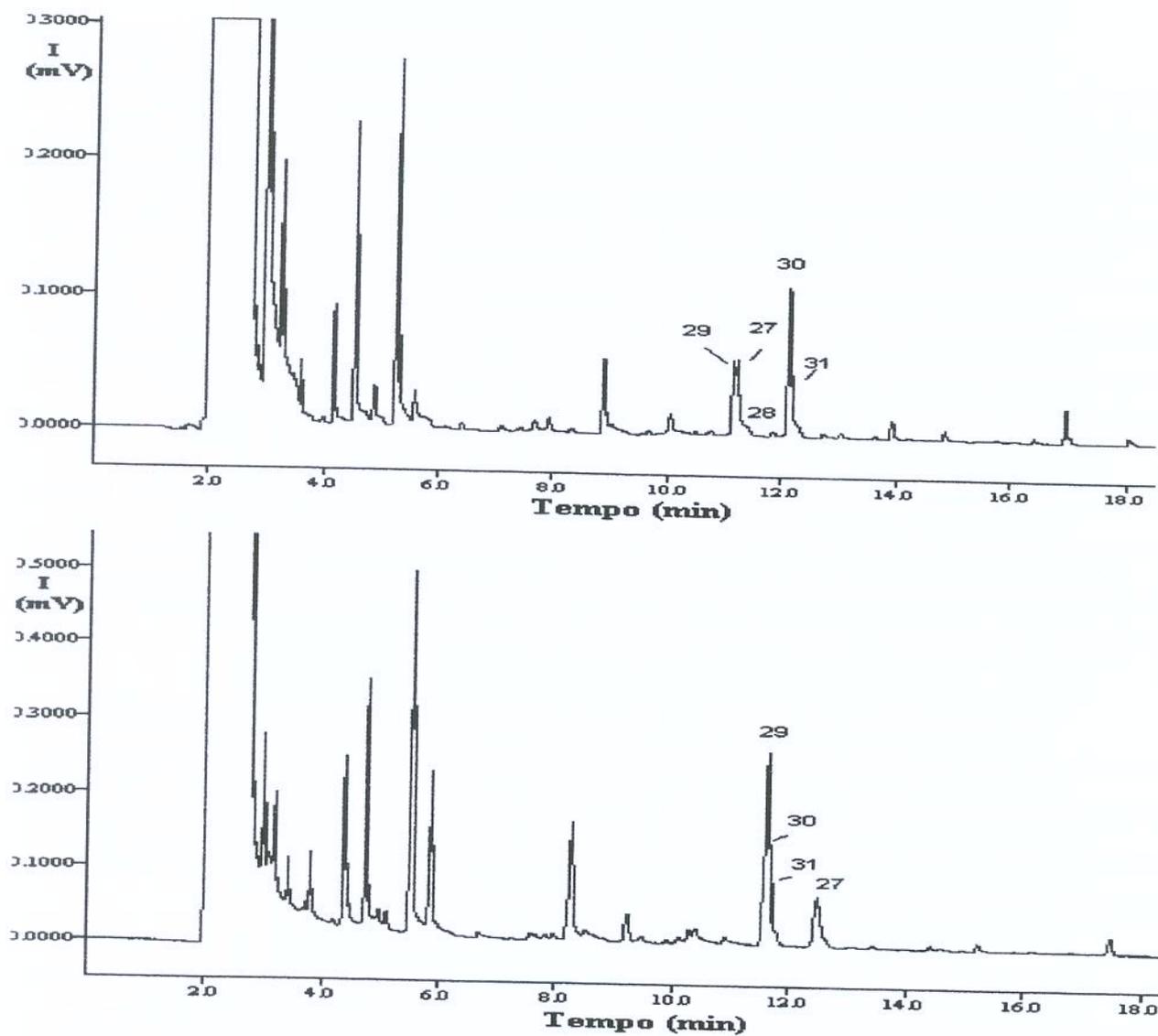


Figura 3.11 – Cromatogramas de amostras submetidas à análise de CG-EM, mostrando a variação da localização dos picos 27 a 31

Levando-se em consideração o total de compostos detectados nas duas safras analisadas, a composição de voláteis do *headspace* do suco do caju foi caracterizada por uma grande quantidade de ésteres, 7 aldeídos, 9 álcoois, 2 cetonas, 2 lactonas, 3 ácidos, 1 terpeno, um derivado do estireno (1,3,5,7 ciclooctatetraeno) e 14 compostos não identificados. A maioria desses compostos não foi detectada nas amostras submetidas à espectrometria de massas, ou por estar presente em pequenas quantidades, ficando seu espectro misturado com o espectro da linha de base ou do pico vizinho. No entanto, em alguns casos, o espectro de massas obtido fornece informação sobre a classe química desses compostos. Assim, por exemplo, o pico 54 parece ser uma mistura de sesquiterpenos e o pico 59 um aldeído.

Os ésteres apresentaram-se em séries quimicamente relacionadas, sendo detectados ésteres etila dos ácidos carboxílicos saturados C₂-C₆ e C₈ juntamente com os mesmos ésteres metila de C₄-C₆. Também estiveram presentes 2-butenosatos de metila e etila, isovaleratos de metila e etila e 3-metil-valeratos de metila e etila.

Na safra 1998, os compostos majoritários foram isovalerato de etila (15,27%), butanoato de etila (13,02%), isovalerato de metila (7,55%), *trans*-2-butenosato de etila (6,08%), ácido 2-metil butanóico (2,87%), 2-metil-butanoato de etila (2,22%), 2-metil-2-pental (2,13%), hexanal (1,8%) e um composto não identificado, numerado como pico 7 (2,94%). Alguns compostos da mistura dos picos 27 a 31 também foram majoritários.

Os resultados da análise estatística apresentados na Tabela 3.3, mostram que compostos como isovalerato de metila, isovalerato de etila, *trans*-2-butenosato de metila, *n*-valerato de etila, 3-metil-valerato de etila, ácido acético e acetofenona foram detectados na segunda safra praticamente nas mesmas proporções relativas em que foram encontrados na primeira ($p_{\text{LOTE}} > 0,05$). No entanto, alguns compostos diminuíram sensivelmente a sua porcentagem relativa na safra de 1999, chegando alguns a não serem detectados: butanoato de etila, 2-metil-butanoato de etila, acetato de isopentila, *trans*-2-butenosato de etila, 3-hidroxi-2-butanona, *trans*-3-hexenoato de etila e hexanol.

Por outro lado, na safra 1999, alguns compostos apresentaram porcentagem relativa bastante superior que na safra anterior: butanoato de metila, hexanal, 2-metil-2-pental, 2-metileno-butanoato de metila, 2-butoxi-etanol, ácido 2-metil butanóico, e dois compostos não identificados, 54 e 62. Nesta safra os compostos majoritários foram 2-metil-2-pental (14,71%), isovalerato de etila (14,18%), hexanal (10,81%), isovalerato de metila

(7,64%), butanoato de etila (5,5%), ácido 2-metil butanóico (3,44%), butanoato de metila (1,7%) e os 54 (2,74%) e 62 (1,33%) e alguns compostos da mistura dos picos 27 a 31.

Os resultados obtidos foram bastante semelhantes aos apresentados por MACIEL *et al* (1986), os quais utilizaram também a técnica de *headspace* dinâmico, no que se refere à grande quantidade e variedade de ésteres de metila e etila detectados. Esses autores também detectaram os compostos 3-hidroxi-2-butanona, 3-metil-butanol, 3-hexenol, benzaldeído, octanol, acetofenona, ácido 3-metil butanóico e γ -hexalactona. No trabalho de MACIEL *et al.* (1986) existem três compostos terpênicos na mesma região de Índice de Kovats entre 1580 e 1600, muito próximos entre si, dos quais dois não foram identificados, e um é o cariofileno, o qual foi também detectado por MACLEOD & TROCONIS (1982). É provável que o pico 54, no presente trabalho, seja uma mistura desses três compostos que eluíram juntos devido à programação de temperatura utilizada na coluna.

Foi possível identificar compostos que não foram detectados por MACIEL *et al.* (1986), como propanoato de etila, isovalerato de metila, hexanal, 2-butenato de metila, 3-metil-valerato de metila, os aldeídos 2-metil-2-pentenal, *trans*-2-hexenal, nonanal e decanal, alguns álcoois como 1-butanol, 3-hexanol, 2-hexanol, 2-butoxi etanol (que pode ser o “álcool desconhecido”, pico 31 do cromatograma apresentado por esses autores), ácido acético, ácido 2-metil-butanóico, *delta*-octalactona e outros. Alguns desses compostos foram também detectados por MACLEOD & TROCONIS (1982). Esses autores, pela técnica de análise total, também detectaram hexanal, *trans*-2-hexenal e nonanal. Porém eles obtiveram poucos ésteres e relataram os terpenos como a principal classe de compostos, sendo o 3-careno o composto majoritário, o qual não foi detectado no presente trabalho.

3.3.2. Qualidade do aroma dos compostos voláteis por CG-Olfatometria

Na Tabela 3.2 estão relacionados todos os compostos voláteis detectados na amostra concentrada do isolado de compostos voláteis do suco do caju CP76, utilizada na análise olfatométrica, bem como todos os compostos odoríferos detectados pela técnica Osme. Essa tabela apresenta Índices de Kovats obtidos na análise cromatográfica e na análise olfatométrica, identificação do composto, frequência com que cada composto foi detectado pela análise sensorial, descrição do aroma, intensidade com que esse aroma foi percebido e área sob o pico do aromagrama consensual. No isolado concentrado foi detectado um composto (35a), identificado como octanal, que não havia sido detectado no estudo cromatográfico.

Tabela 3.2 – Compostos detectados pelo DIC e pela técnica Osme, com Índices de Kovats (I), frequência com que foram percebidos, descritores, intensidade média do aroma e área sob o pico no aromagrama para suco do caju CP 76.

Pico	I ¹	I ²	Composto	Freq. ³	Descritor/frequência ⁴	Intens.	Área
Solv	-	< 1000	Acetona	10	acetona (8), solvente, ácido, limão	2,56	8,54
A	-	< 1000	ND	2	acetona, plástico(2)	0,42	0,65
B	-	< 1000	ND	4	cândida(3), caju ameixa	1,18	1,86
1	< 1000	< 1000	Acetato de etila	15	caju ameixa (3), NI (3), ruim (2) solvente(2), fruta, verde, desagradável, roupa molhada	4,88	21,96
2	< 1000	< 1000	Propanoato de etila	3	doce(3), lembra caju	1,23	1,94
3	< 1000	< 1000	NI	15	doce(9), esmalte(2), plástico(2), chiclete, fruta	5,32	18,85
4	< 1000	< 1000	Butanoato de metila	11	doce(4), NI(3), fruta(2), fruta, passada(2), caramelo	3,72	9,77
C	-	1005	ND	11	plástico(7), adocicado, esmalte, abacaxi, irritante	3,48	13,72
5	1015	1018	NI	12	doce(4), tui-fruti (2), esmalte(2), morango , plástico, fruta, caju, NI	3,82	16,11
6	1025	1029	Isovalerato de metila	12	caju(3), caju ameixa com plástico(2), ruim(2), adstringente, seco, doce, bala verde, plástico	5,20	25,91
7	1035	1039	NI	9	plástico(3), fedido(2), ruim, doce podre, NI	3,16	10,64
8	1042	1046	Butanoato de etila	12	doce(5), caju(3), tui-fruti (2), esmalte(2) éster frutado, abacaxi, ácido, NI	4,79	23,59
D	-	1055	ND	2	ruim(2)	0,20	0,53
9	1057	1060	2-metil-butanoato de etila	11	caju (3), doce(2), floral(2), fruta(2), bala, maçã	4,41	12,50
10	1075	1076	Isovalerato de etila	15	caju(7), NI(3), guaraná, doce, fruta, fruta madura, abacaxi	5,13	30,61
11	1087	1090	Hexanal	15	verde folha (9), verde(3), mato(2), verde grama, mato seco, galho	6,54	31,45
13	1113	1109	Acetato de isoamila	10	plástico(6), ruim (3) solvente(2) verde(2), esmalte	3,52	20,44
14	1135	1135	3-metil-valerato de metila	13	doce(5), caju(4), fruta(2), doce de fruta, NI	3,42	9,86
15/16	1140/1143	1142	n-valerato de etila + composto não identificado	14	mato(5), verde(2), folha mofada(2), caju passado, verde galho, NI	5,04	21,91
17	1149	1148	2-metil-2-pentenal	13	grama, grama com flor verde folha (4), grama(4) verde(3), mato(2), caju verde(1) verde árvore	5,03	34,07

Continua...

Tabela 3.2 – continuação.

	I ¹	I ²	Composto	Freq. ³	Descritor/frequência ⁴	Intens.	Área
Pico	cromat	olfatom					
19	1168	1172	Trans-2-butenato de etila	11	caju (6), doce(3), fruta madura(2), tuti-fruti(2), NI	4,58	18,63
20	1180	1177	3-metil-valerato de etila	7	NI(3), caju(2), desagradável, cajá manga, acre	1,79	10,74
21	1184	1184	n-acetato de amila	2	lembra caju, doce fraco	0,50	1,08
22	1187	1187	Hexanoato de metila	7	caju(2), doce(2), sáuna, leve, NI	1,75	7,75
29	1215	1212	Trans-2-hexenal	12	percevejo(6), amêndoas(3), doce (2), flor	4,54	20,83
30	1218	1222	Hexanoato de etila	8	fruta(2), doce(2), caju, menta, hortelã, roupa molhada NI	2,40	7,20
31	1229	1229	2-metil-2-butenato de etila	12	caju (5), doce(4) fruta(2), bolo de abacaxi, mentolado	3,62	11,69
27	1237	1236	3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	6	caju passado, caju-ameixa, estranho, desagradável(2), ruim	1,93	4,14
35a	1272	1278	Octanal	12	eucalipto(2), casca de limão, cítrico, óleo de amêndoas, percevejo, ácido, sáuna seca, verde estranho, NI	3,00	10,29
37	1284	1287	Trans-3-hexenoato de etila	5	verde (3), seco, NI	1,60	7,29
36	1292	1294	NI	9	cola (3), mofo(2), pano molhado(2), caju	2,94	12,76
34	1298	1296	3-hidroxi-2-butanona	3	adocicado, bom, leve, NI	0,27	0,53
40	1323	1328	Trans-2-hexenoato de etila	2	doce, NI	0,32	0,58
E		1359	ND	12	desagradável(5), enxofre(5), gás de cozinha(4), podre, estragado	4,55	14,19
43	1383	1367	Cis-3-hexenol	14	verde(4), fruta(2), acido(2), cajá(2), cítrico, limão, planta, flor,	6,26	35,70
44	1392	1380	Nonanal	7	metálico, caju ruim, castanha verde, NI doce(3), perfume(3), óleo de amêndoas, plástico, maduro, NI	3,29	13,21
45	1397	1391	2-butoxi-etanol	3	lembra caju(2), suave	0,62	4,84
46	1417	1418	NI	5	plástico(2), maria fedida, estranho, NI	1,47	4,04
47	1429	1427	Octanoato de etila	7	fruta(2), coco(2), perfume, flor, planta	2,50	12,03
F	-	1438	ND	3	madeira, flor, fruta madura, NI	0,98	1,87
48	1446	1447	Ácido acético	6	acido(2), NI(2), acético, estragado	2,09	8,14
G	-	1457	ND	5	plástico(4), celofane, roupa molhada	1,96	18,68
51	1490	1491	Benzaldeído	9	plástico(3), verde (3), mato, fruta, caju, NI	2,92	6,43
H	-	1528	ND	4	batom sem perfume (3) madeira	1,93	4,44

Continua...

Tabela 3.2 – continuação.

Pico	I ¹ cromat	I ² olfatom	Composto	Freq. ³	Descritor/freqüência ⁴	Intens.	Área
PI	1555	1559	Linalool	15	mamão (8), perfume(4), jasmim(3)	6,45	54,46
54a	1588	1583	Composto da mistura não resolvida ou composto não detectado	14	floral(4), perfume floral(3), verde(3) verde casca(2), laranja, mato, bola	4,85	15,71
54b	1588	1592	Composto da mistura não resolvida	4	picante, pimentão, NI, verde fraco, flor	0,80	2,61
54c	1588	1605	Composto da mistura não resolvida	14	caju(10), fruta(3), caju verde(2), verde(1), flor, essência artificial, frescor	7,72	48,45
55	1637	1645	Acetofenona	5	caju passado, desagradável	0,57	1,38
58	1672	1678	Ac. 2-metil butanóico	15	fedido(5), ruim (6), roupa molhada (3) suor(3), chulé (3), caju ameixa (3)	7,89	63,68
59	1692	1708	NI	6	percevejo(2) plástico(2), NI(2)	0,95	1,95
60	1731	1731	2,6 dimetilbenzaldeído	4	ruim(2), caju, NI	0,97	6,51
61	1750	1755	Gama-hexalactona	3	cera, verde, acido	0,66	6,26
I	-	1803	ND	2	doce, NI	0,17	1,43
J	-	1839	ND	3	caju, desagradável, acido	0,73	3,96
63	> 1900	> 1900	Delta-octalactona	3	doce(2), coco(2)	0,96	10,06
L	-	> 1900	ND	6	leite mamão(2), arruda(2), suave, NI, ruim	1,02	1,41
M	-	> 1900	ND	2	Verde fraco(2)	0,04	0,10

¹Índices de Kovats determinados na corrida cromatográfica da amostra que foi submetida a análise olfatométrica

²Índices de Kovats determinados com os tempos de retenção máximos obtidos na análise olfatométrica

NI = não identificado

ND= não detectado pelo DIC

³freqüência= número de vezes que o composto foi percebido sensorialmente (num total de 15 análises)

⁴Número entre parênteses é a freqüência com que o descritor foi citado. Descritores sem número entre parênteses foram mencionados apenas uma vez. Notar que um julgador pode mencionar mais de um descritor para o mesmo composto na mesma análise, portanto a soma das freqüências dos descritores pode ser maior que a freqüência de percepção do composto.

Para auxiliar a visualização dos compostos voláteis importantes para o aroma do suco de caju é apresentado, na Figura 3.12, o aromagrama consensual comparado ao cromatograma do isolado. A numeração dos picos é a mesma utilizada na Tabela 3.1. O aromagrama revelou uma grande concentração de compostos odoríferos no começo do cromatograma, ou seja, na região dos compostos mais voláteis, dois compostos de alta intensidade de aroma na região central do cromatograma (compostos E e 43) e mais alguns compostos de elevada importância odorífera na região de Índice de Kovats entre 1500 e 1700. Observa-se ainda que na região correspondente ao pico 54 foram percebidos três (3) picos odoríferos distintos, confirmando a suspeita anterior de que o pico 54 corresponde a uma mistura não resolvida.

Comparando o aromagrama consensual com o cromatograma (Figura 3.12) observou-se que praticamente todos os picos majoritários do cromatograma apresentaram também alta intensidade de aroma, como é o caso dos compostos 1, 6, 8, 10, 11, 17, 29, 30 e 58. Entretanto, a análise dessa figura evidencia que a importância odorífera de uma substância volátil não está necessariamente relacionada diretamente com a concentração do composto na amostra, pois compostos presentes no cromatograma em baixa porcentagem relativa ou até mesmo em quantidades traços apresentaram expressiva importância odorífera, como os compostos 3, 5, 9, 13, 14, 15, 16, 19, 36, 43, 51 e 54. Alguns dos compostos odoríferos, detectados pela equipe sensorial, nem foram detectados pelo DIC (picos identificados por letras no aromagrama).

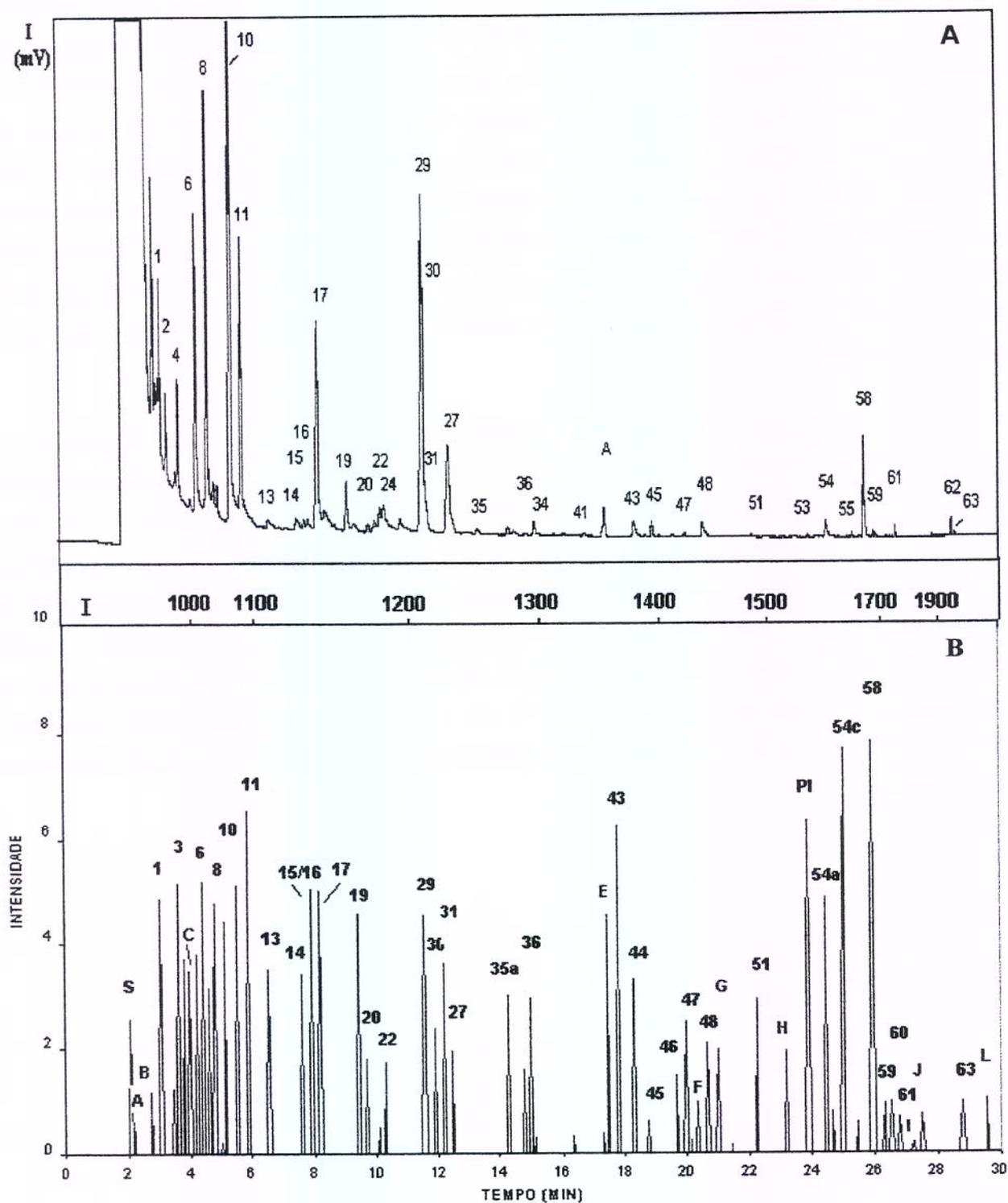


Figura 3.12 – Cromatograma (A) e aromagrama consensual (B) do suco do caju.

A= impureza da acetona. Letras no aromagrama (A -L) representam compostos não detectados pelo DIC. S = solvente. PI = Padrão interno.

Na análise olfatométrica compostos de maior intensidade de aroma e maior área sob o pico podem ser considerados os compostos de maior importância odorífera. Não se deve basear apenas na intensidade do aroma, porque alguns compostos de menor intensidade podem ser percebidos por um maior período de tempo, resultando em área maior que um outro pico, de maior intensidade e menor duração.

Os valores de intensidade do aroma e área sob o pico foram submetidos a Análise de Variância e teste de médias (Tukey) mas a grande variabilidade dos resultados (ver item 3.3.3) resultou em uma MDS (mínima diferença significativa) muito grande, dificultando a separação das médias em grupos distintos. Foram então considerados importantes dois grupos de compostos:

a) compostos com intensidade superior a 3,95 (metade do maior valor observado para a intensidade de aroma, 7,89);

b) compostos de intensidade inferior a 3,95, mas que apresentaram área dentro da faixa de área apresentada pelo grupo descrito no item a).

Assim, os compostos de maior importância odorífera para a formação do aroma característico do caju foram, em ordem decrescente de área:

- ⇒ Composto 58, identificado como **ácido 2-metil butanóico** e descrito como 'fedido', 'suor', 'chulé'. Esse composto apresentou aroma desagradável muito forte e prolongado, apresentando-se como o pico do aromagrama de maior área;
- ⇒ Composto 54c, provavelmente um **sesquiterpeno**, descrito como 'caju' e 'caju verde' em 12 das 15 análises realizadas;
- ⇒ Composto 43, identificado como **cis-3-hexenol**, e descrito como 'verde', 'fruta', 'ácido', 'cítrico';
- ⇒ Composto 17, identificado como **2-metil-2-pentenal**, e descrito como 'verde', 'grama', 'mato';
- ⇒ Composto 11, identificado como **hexanal**, e descrito como 'verde', 'mato', 'grama';
- ⇒ Composto 10, identificado como **isovalerato de etila**, e descrito como 'caju', 'fruta';
- ⇒ Composto 6, identificado como **isovalerato de metila**, e descrito como 'caju', 'doce';
- ⇒ Composto 8, identificado como **butanoato de etila**, e descrito como 'doce', 'caju', 'tuti-fruti', 'esmalte';
- ⇒ Composto 1, descrito como **acetato de etila**, e descrito como 'caju ameixa', 'ruim', 'solvente';

- ⇒ A mistura dos compostos 15 (n-valerato de etila) e 16 (não identificado). O forte aroma de 'mato', 'verde', 'grama' observado nessa região pode ser característico desse composto não identificado, ou então ser o resultado da mistura dos dois compostos;
- ⇒ Composto 29, identificado como **trans-2-hexenal** e descrito como 'percevejo', 'amêndoas';
- ⇒ Composto 13, identificado como **acetato de isoamila**, e descrito como 'plástico', 'ruim', 'solvente';
- ⇒ Composto **3, não identificado**, descrito como forte aroma 'doce' e 'esmalte';
- ⇒ Composto 19, identificado como **trans-2-butenato de etila**, e descrito como 'caju', 'doce', 'fruta';
- ⇒ Composto **5, não identificado**, descrito como 'doce', 'tuti-fruti', 'esmalte';
- ⇒ Composto **54a**, outro composto da mistura não resolvida do pico 54, e **não identificado**, descrito como 'floral' e 'verde';
- ⇒ Composto **E, não detectado pelo DIC**, descrito como 'enxofre', 'desagradável', 'gás de cozinha', com Índice de Kovats da análise olfatométrica de 1539. Esse composto pode ser o DMTS (dimetil trissulfeto), detectado por MACIEL *et al.* (1986), o qual apresenta um Índice de Kovats teórico, em coluna de polietilenoglicol (carbowax) de 1377.

Outros compostos sulfurados, citados por MACIEL *et al.* (1986) parecem ter sido também detectados pelos julgadores sensoriais: o composto **B** ('cândida') poder ser o DMS (dimetil sulfeto), que tem $I_{PEG\ 20m}$ 853, podendo também ser o responsável pelos descritores desagradáveis (ruim, roupa molhada) encontradas junto com o acetato de etila ($I_{PEG\ 20m}$ 872). O dimetil dissulfeto (DMDS), com $I_{PEG\ 20m}$ 1090, está numa região de compostos com intenso poder aromático, podendo estar misturado a algum deles. O termo "ruim" utilizado para o acetato de isoamila poderia levantar suspeitas da presença do DMDS.

É interessante notar que aroma de 'caju' foi percebido em diversos compostos com frequência considerável, como é o caso do composto 54c, já mencionado, descrito como 'caju' (10 vezes) e 'caju verde' (2), o isovalerato de etila (7), o **trans-2-butenato de etila** (6), o 2-metil-2-butenato de etila (5), e muitos outros com frequências 4 e 3.

Compostos como o 2-metil-2-butenato de etila, 2-metil butanoato de etila e 3-metil valerato de metila **juntos**, podem apresentar grande contribuição ao aroma 'doce', 'caju' e 'fruta', apesar de, individualmente, apresentarem menor intensidade de aroma que os compostos considerados importantes.

A avaliação sensorial realizada pelos julgadores foi útil para auxiliar a identificação dos compostos, principalmente aqueles não considerados importantes devido a sua baixa intensidade ou baixa frequência de percepção, como é o caso dos compostos 48, 59, 61 e 63 (Tabela 3.4). O composto identificado pela letra C, apresentou aroma de 'plástico', 'irritante' e 'abacaxi' sendo detectado 11 vezes (em 15 repetições) e atingindo uma área de 13,72. Esse composto pode ser 2-pentanona, mencionado por MACIEL *et al.* (1986), que possui, segundo a literatura, Índice de Kovats de 992 e aroma doce, frutal com uma nota de acetona.

Através da descrição sensorial dos compostos foi possível perceber a mistura dos compostos 6 e 7, sendo que para o composto 6, descrito como 'caju', 'bala', 'doce', aparecem os termos 'ruim' e 'plástico' (um julgador citou duas vezes o termo 'caju ameixa misturado com plástico'); e por sua vez, na descrição do composto 7, predominantemente 'plástico' e 'fedido', aparece o termo 'doce'.

Resultados ligeiramente semelhantes aos encontrados neste trabalho foram relatados por MACIEL *et al.* (1986), embora esses autores não tenham apresentado nenhuma correlação entre os descritores e os compostos identificados. Eles concluíram que, individualmente, nenhum composto foi capaz de reproduzir o aroma do caju, mas alguns compostos como os ésteres butanoato de metila, butanoato de etila e isovalerato de etila, contribuíram para o aroma doce e frutal do caju, característico dos ésteres. Também atribuíram aos ácidos isovalérico (ác. 3-metil butanóico) e isobutírico a responsabilidade pelo aroma azedo e pungente do caju. No caso do presente trabalho, o ácido isovalérico (3-metil butanóico) foi detectado em pequena concentração, imediatamente antes do ácido 2-metil butanóico, e nas análises olfatométricas eles podem ter eluído juntos. Porém o aroma percebido não foi azedo característico dos ácidos, mas sim um odor desagradável, lembrando a suor. MACIEL *et al.* (1986) comentam ainda que os compostos sulfurados podem ser importantes para o aroma de caju.

Por sua vez, MACLEOD & TROCONIS (1982) afirmaram não ter sido possível fazer nenhuma dedução positiva sobre quais compostos são importantes para o aroma característico do caju, embora tenham atribuído ao benzaldeído uma possível relevante contribuição a esse respeito. No trabalho desses autores foram percebidos aromas semelhantes aos obtidos no presente trabalho, porém foram atribuídos a compostos completamente diferentes aos identificados aqui.

3.3.3 Desempenho e reprodutibilidade dos julgadores sensoriais na CG - Olfatometria

A Figura 3.13 apresenta aromagramas gerados por um julgador, em suas três repetições, exemplificando a boa repetibilidade de resultados obtidos, principalmente no que se refere ao tempo de retenção dos picos aromáticos. Também são apresentados, na Figura 3.14, o aromagrama médio de cada julgador sensorial, construído a partir dos valores gerados pelo SCDTI, em cada repetição. Foi observada uma boa concordância entre os membros da equipe. Nota-se que, para todos os julgadores, existe maior concentração de picos odoríferos no início da corrida cromatográfica, alguns picos isolados na parte central, e novamente mais picos concentrados na região dos compostos menos voláteis.

A Tabela 3.3 apresenta as médias dos valores obtidos nas 15 análises realizadas para o tempo inicial (T_{inicial}) e o tempo final (T_{final}) em que o aroma foi percebido, a intensidade máxima desse aroma (I_{max}) e o tempo em que essa intensidade foi registrada (T_{max}), além do valor da área sob o pico. Os baixos valores dos coeficientes de variação obtidos para esses parâmetros mostram que os julgadores apresentaram excelente repetibilidade quanto ao registro do tempo em que percebiam o aroma e ao uso dos descritores, bem como boa memória olfativa. Observou-se (Tabela 3.4) que todos os julgadores perceberam o aroma do padrão interno (linalol) em todas as análises, descrevendo-o como 'mamão' (8 vezes), 'perfume' (4), e 'jasmim' (3).

Houve variabilidade com relação ao registro da intensidade e da duração do aroma de cada pico, e conseqüentemente na área dos picos. A dificuldade de fornecer aos membros da equipe uma referência de "fraca" e "forte" para cada uma das 56 substâncias percebidas sensorialmente, pode ter contribuído para a ocorrência dessas diferenças. Por outro lado, é comum, mesmo entre julgadores treinados, a utilização de diferentes pontos da escala para expressar uma mesma percepção (MEILGAARD *et al.*, 1987; STONE & SIDEL, 1985).

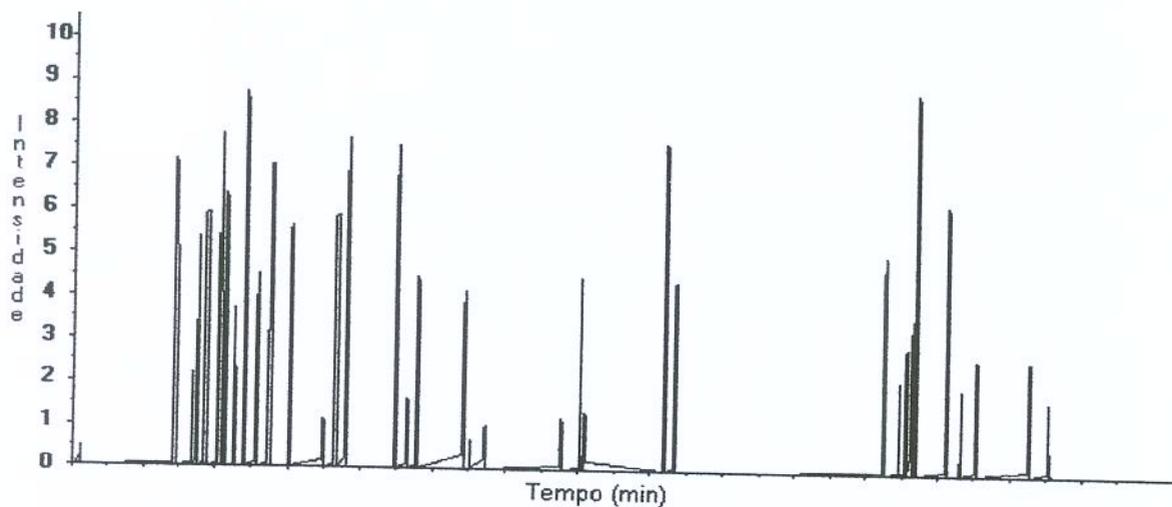
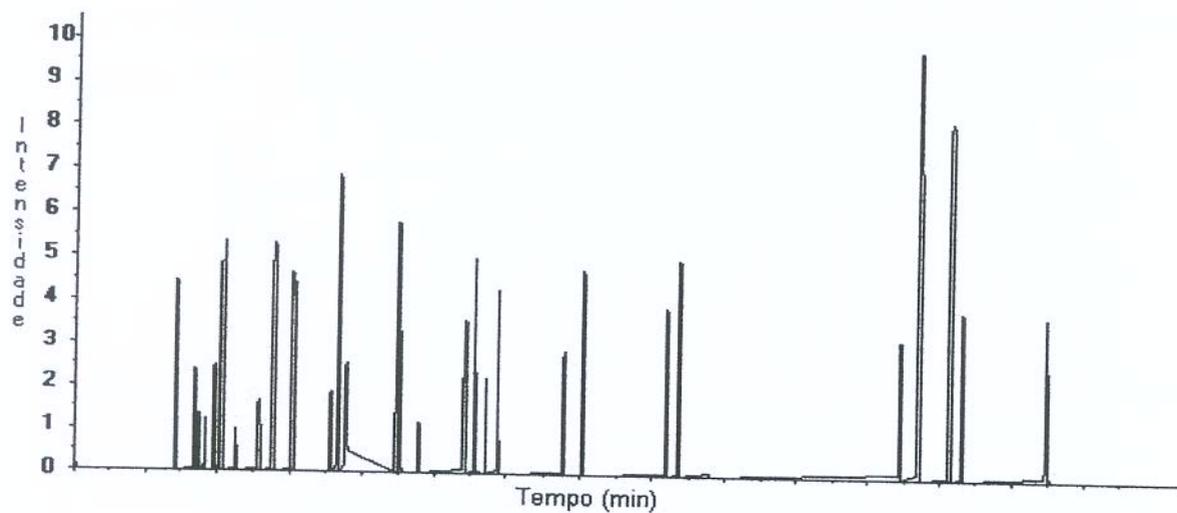
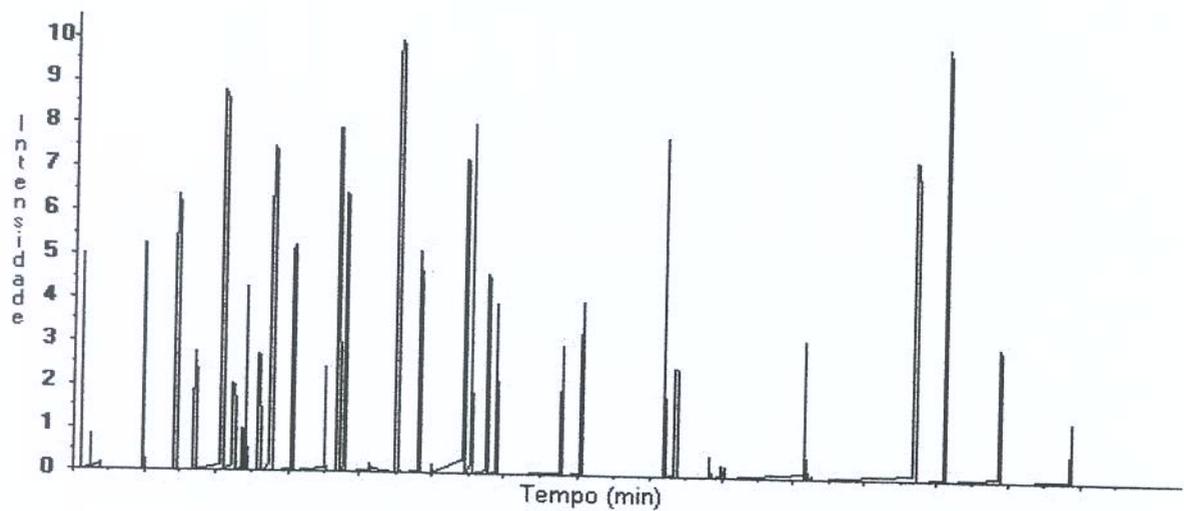


Figura 3.13 – Aromagramas gerados por um único julgador, em três repetições.

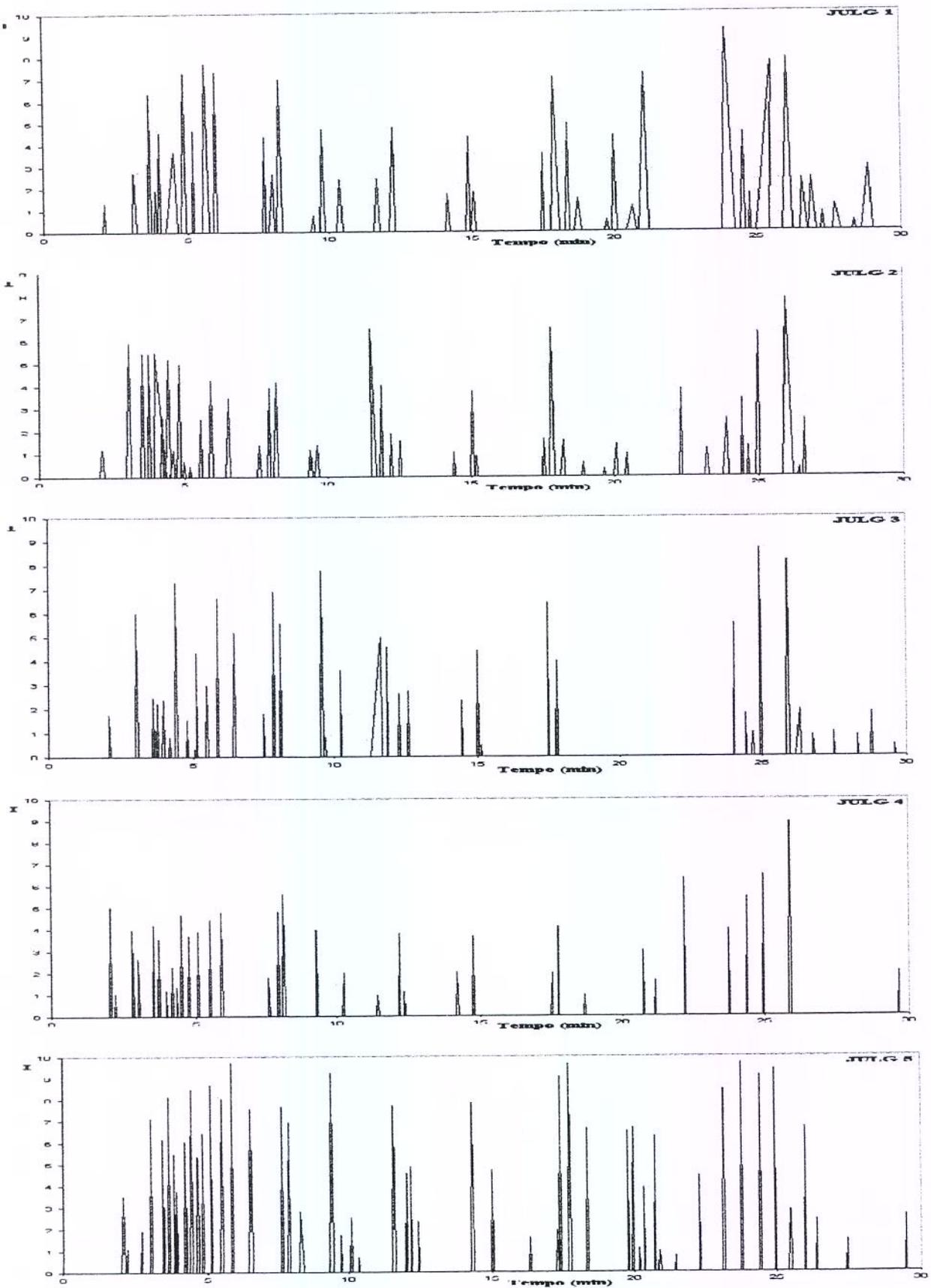


Figura 3.14 – Aromagrama médio de cada membro da equipe sensorial.

3.3.4 Análise de Componentes Principais dos principais compostos voláteis do suco do caju

Para evidenciar as diferenças quanto à composição dos principais compostos voláteis dos sucos do caju provenientes de diferentes lotes e safras foi aplicada a técnica estatística multivariada de Análise de Componentes Principais (ACP). Dentre os compostos mais importantes para a formação do aroma característico do caju, determinados por olfatométrica, foram selecionados aqueles que puderam ser quantificados em todas as amostras.

As três primeiras componentes foram capazes de explicar 81,73% da variação total entre as amostras, sendo que as Componentes I, II e III foram responsáveis por 44,03%, 22,95% e 14,75% dessa variação, respectivamente.

A Figura 3.15 mostra a configuração das duas primeiras Componentes Principais. Nesse gráfico os compostos voláteis são representados como vetores, e quanto maior o comprimento do vetor, maior a importância do composto para explicar as diferenças entre as amostras. Os triângulos coloridos representam as amostras dos lotes de suco analisadas, em cada safra, sendo cada vértice uma repetição. As amostras são alocadas na região do gráfico próxima aos compostos voláteis que as caracterizam.

Assim, os lotes 2 e 3 da safra 1998 caracterizaram-se por maiores porcentagens dos ésteres isovalerato de etila, butanoato de etila, e 2-metil butanoato de etila, enquanto que o lote 1 da safra 1999 diferiu dos demais por apresentar maior porcentagem de isovalerato de metila e acetato de isoamila.

Os lotes de 1999 apresentaram-se mais homogêneos quanto a sua composição de voláteis, ocupando regiões muito próximas no gráfico. As amostras dessa safra caracterizaram-se por apresentar alta porcentagem de hexanal, 2-metil-2-pentenal, butanoato de metila, n-valerato de etila e da provável mistura de sesquiterpenos, identificada como pico 54.

Tabela 3.3 – Valores médios¹ das variáveis analisadas pela técnica Osme

T_{inical}^2		$T_{máx}^3$		T_{final}^4		Intensidade		Área	
min	CV	min	CV	min	CV	cm	CV	-	CV
2,05	1,86	2,09	2,08	2,15	2,58	2,56	64,81	8,54	68,38
2,19	0,47	2,22	0,53	2,24	1,27	0,42	137,07	0,65	163,92
2,74	2,16	2,76	2,29	2,80	3,54	1,18	149,87	1,86	188,74
3,02	1,27	3,06	1,59	3,13	2,21	4,88	42,35	21,96	59,55
3,42	-	3,45	-	3,49	-	1,23	223,61	1,94	223,61
3,56	1,93	3,60	1,50	3,65	1,62	5,32	40,55	18,85	65,86
3,76	1,58	3,78	1,57	3,83	1,82	3,72	45,90	9,77	54,47
3,93	0,82	3,98	1,08	4,07	4,39	3,48	49,34	13,72	78,57
4,18	0,70	4,23	1,20	4,27	1,49	3,82	71,92	14,87	125,17
4,36	0,79	4,42	1,31	4,48	1,49	5,20	54,72	25,91	61,88
4,57	2,59	4,63	1,90	4,68	2,32	3,16	66,35	10,64	71,36
4,76	0,61	4,82	0,83	4,86	1,21	4,79	47,37	23,59	95,43
5,00	1,50	5,02	1,10	5,06	0,86	0,20	150,98	0,53	170,48
5,12	0,89	5,14	0,84	5,18	0,81	4,41	66,21	12,50	65,61
5,48	0,56	5,54	1,12	5,60	1,62	5,13	50,49	30,61	106,73
5,86	0,41	5,91	0,70	5,98	0,98	6,54	33,32	31,45	36,05
6,45	0,60	6,54	1,05	6,61	1,45	3,52	85,14	20,44	74,44
7,55	0,74	7,60	0,93	7,64	0,98	3,42	77,97	9,86	85,25
7,84	0,45	7,91	0,82	7,95	0,92	5,04	37,21	21,91	31,12
8,11	0,89	8,18	1,00	8,26	1,40	5,03	31,64	34,07	66,90
9,36	1,08	9,41	1,08	9,47	1,25	4,58	83,40	18,63	96,50
9,63	0,71	9,69	0,54	9,74	0,68	1,79	97,91	10,74	153,67
10,02	-	10,07	-	10,11	-	0,50	223,61	1,08	223,61
10,23	0,57	10,28	0,66	10,32	0,96	1,75	81,89	7,75	127,61
11,43	1,10	11,52	0,86	11,61	0,93	4,54	61,80	20,83	63,71
11,84	0,71	11,88	0,72	11,91	0,67	2,40	91,67	7,20	98,43
12,14	0,44	12,19	0,29	12,22	0,44	3,62	36,51	11,69	108,58
12,42	0,76	12,45	0,79	12,48	0,86	1,93	68,80	4,14	82,32
14,24	1,05	14,28	0,93	14,34	0,72	3,00	91,22	10,29	72,71

Continua...

Tabela 3.3 – continuação.

T _{inicial} ²		T _{máx} ³		T _{final} ⁴		Intensidade		Área	
min	CV	min	CV	min	CV	cm	CV	-	CV
14,73	0,09	14,80	0,42	14,85	0,55	1,60	137,77	7,29	163,21
14,95	0,11	15,01	0,12	15,07	0,26	2,94	67,76	12,76	64,94
15,12	0,13	15,13	0,22	15,17	0,26	0,27	149,88	0,53	164,92
16,31	-	16,33	-	16,36	-	0,32	223,61	0,58	223,61
17,43	0,27	17,48	0,30	17,52	0,31	4,55	69,26	14,19	51,85
17,74	0,19	17,79	0,30	17,87	0,67	6,26	37,50	35,70	89,95
18,24	0,59	18,31	0,52	18,36	0,57	2,64	114,51	14,56	116,68
18,70	0,76	18,78	0,73	18,85	0,67	0,62	105,19	4,84	179,51
19,68	0,34	19,72	0,35	19,76	0,36	1,47	191,55	4,04	168,42
19,92	0,09	20,00	0,21	20,06	0,30	2,50	117,70	12,03	112,10
20,34	0,10	20,38	0,19	20,42	0,28	0,98	171,68	1,87	144,85
20,60	0,87	20,69	0,34	18,46	21,61	2,09	126,46	8,14	108,30
20,94	0,77	21,02	0,61	21,09	0,68	1,96	153,62	18,68	209,64
22,21	0,22	22,25	0,28	22,28	0,29	2,92	96,44	6,43	103,02
23,11	0,04	23,16	0,12	23,21	0,26	1,93	190,41	4,44	164,81
23,80	0,48	23,86	0,46	23,96	0,78	6,20	50,91	51,60	162,65
24,39	0,12	24,43	0,21	24,47	0,31	4,85	56,51	15,71	82,24
24,64	0,16	24,68	0,19	24,72	0,25	0,80	96,84	2,61	130,45
24,92	0,08	25,05	0,96	25,07	0,75	7,72	17,41	48,45	107,83
25,40	-	25,44	-	25,47	-	0,57	223,61	1,38	223,61
25,84	0,17	25,92	0,31	26,02	0,57	7,89	10,30	63,68	85,28
26,25	0,42	26,32	0,19	26,35	0,17	0,95	121,08	1,95	115,30
26,46	0,10	26,54	0,03	26,66	0,32	0,97	137,00	6,51	156,83
26,73	0,10	26,78	0,34	26,89	0,62	0,66	159,42	6,26	207,36
27,16	-	27,25	-	27,33	-	0,17	223,61	1,43	223,61
27,49	0,43	27,52	0,53	27,61	0,86	0,73	93,81	3,96	160,67
28,69	0,38	28,81	0,15	28,90	0,40	0,96	142,93	10,06	198,51
29,54	0,30	29,55	0,30	29,58	0,30	1,02	119,30	1,41	112,24

¹Média das observações feitas em 15 análises (5 julgadores x 3 repetições)

²Tempo de retenção inicial = quando o julgador começou a perceber o aroma

³Tempo de retenção máximo = tempo correspondente à intensidade máxima do aroma percebido

⁴Tempo de retenção final = tempo em que o julgador deixou de sentir o aroma

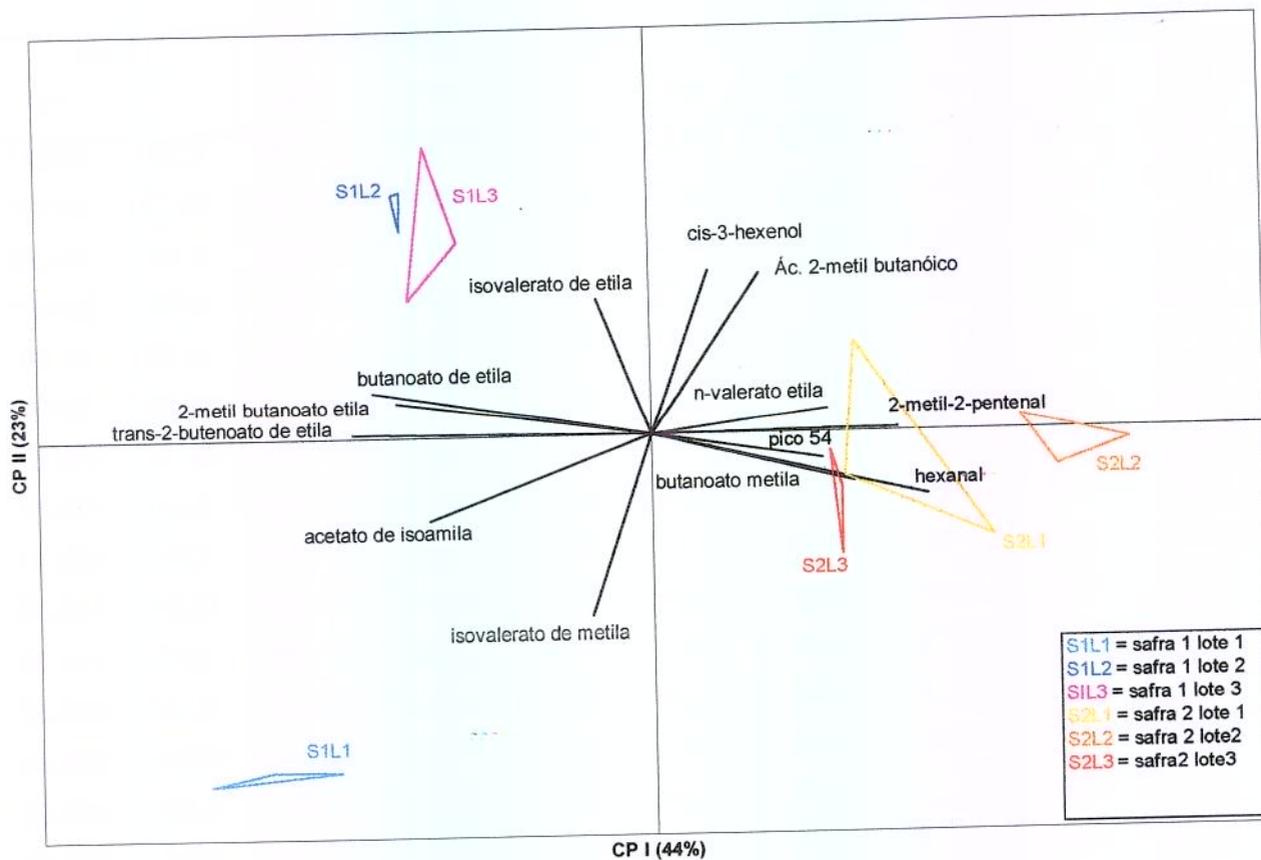


Figura 3.15 - Análise de Componentes Principais (ACP) dos compostos voláteis de suco do caju CP 76, referentes às safras de 1998 e 1999.

3.4 CONCLUSÕES

- ⇒ Nos cromatogramas dos isolados de voláteis presentes no *headspace* do suco de pseudofrutos do cajueiro do clone CP 76, das safras de 1998 e 1999, foram detectados 63 compostos, dos quais 49 foram identificados, correspondendo a mais de 85% da área relativa total;
- ⇒ Sucos provenientes de diferentes lotes de mesma safra apresentaram diferenças na quantidade de compostos detectados e nas proporções de alguns compostos;
- ⇒ Foram observadas diferenças no perfil cromatográfico dos voláteis de sucos do caju entre as duas safras analisadas. O material da safra 1999 apresentou cromatogramas mais pobres, embora alguns compostos tenham apresentado maior porcentagem relativa que na safra 1998.
- ⇒ A classe química predominante entre os compostos detectados foi a dos ésteres, principalmente ésteres de metila e etila de ácidos carboxílicos saturados C₂-C₆.
- ⇒ Os compostos majoritários comuns a ambas as safras foram:
 - ◆ Isovalerato de etila
 - ◆ Isovalerato de metila
 - ◆ Butanoato de etila
 - ◆ 2-metil-butanoato de etila
 - ◆ 2-metil-2-pentenal
 - ◆ Hexanal
 - ◆ Ácido 2-metil butanóico
 - ◆ Compostos da mistura não resolvida de *trans*-2-hexenal, 3-metil-1-butanol, hexanoato de etila e 2-metil 2-butenoato de etila (compostos numerados 27 a 31).
- ⇒ Grande parte dos compostos majoritários apresentou também considerável intensidade de aroma, porém muitos dos aromas percebidos corresponderam a compostos presentes nas amostras em baixa porcentagem relativa, sendo que alguns não foram detectados pelo DIC.

- ⇒ Os compostos voláteis mais importantes para a formação do aroma característico do suco do caju do clone CP 76, determinados pela técnica Osme, foram:
- ◆ Ácido 2-metil butanóico, responsável pelo odor mais intenso (maior área no aromagrama), descrito como **fedido** lembrando a **chulé** e **suor**;
 - ◆ Composto 54c (provavelmente um sesquiterpeno), com intenso aroma de **caju**;
 - ◆ *Cis*-3-hexenol, 2-metil-2-pental, hexanal, com diferentes notas **verdes**;
 - ◆ Isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila, *trans*-2-butenato de etila, descritos como **caju**, **doce** e **fruta**;
- ⇒ Compostos de enxofre, reportados na literatura de voláteis de caju, não foram detectados por cromatografia gasosa pela falta de um detector específico, porém foram percebidos pelos membros da equipe sensorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ACREE, T.E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chem.**, v.14, n.4, p.273-286, 1984
- (2) ACREE, T.E.; HEINRICH, Flavomet – Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products. www.nysaes.cornell.edu/flavomet/chem.html 20 de junho de 2000.
- (3) BICALHO, B.; PEREIRA, A.S.; NETO, F.R.A.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale*, L. var. nanum) volatiles. **J. Agric.Food Chem.**, v.48, n.4, p.1167-1174, 2000.
- (4) DA SILVA, M.A.A.P.; LUNDHAL, D. S.; McDANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H.; van der HERG, D.G., eds. **Trends in Flavor Research** Amsterdam, Elsevier Science, p. 191-209. 1994.
- (5) FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatile on Poropak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v.34, n.3, p.293-299, 1983.
- (6) JENNINGS, W. ; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography** NY: Academic Press, 1980, 472p.
- (7) MACIEL, M.I.; HANSEN, T.J.; ALDINGER, S.B.; LABOWS, J.N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **J. Agric. Food Chem.**, v.34, n.5, p.923-27, 1986.
- (8) MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile flavor componentes of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Phytochemistry**, v.21, n.10, p.2527-30, 1982.
- (9) MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G., Ed. **Flavors and off-flavors** . Amsterdam: Elsevier, 1990. p.23-36.
- (10) MEILGAARD, M.R.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987. v.2 159p.
- (11) MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBEY, L.M.; WATSON, B.T.; McDANIEL, R.M. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.43, n.1, p.90-92, 1992.
- (12) NICKERSON, G.B.; LIKENS, S.T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chrom.**, v. 21, p.1, 1966.
- (13) ROSS, K.B.; GODSHALL, M.A. WIDDER, S.; FISHER, N.; BLUMENTHAL, M.M.; LELAND, J.V. The chemistry of flavor interactions. **Food Technology**, v.51, n.1, p.59-80, 1997.
- (14) SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.
- (15) SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat and bread by aroma extract dilution analysis. **Zeitschrift Lebensmittel Unters Forschung**, v.182, n.2, p.111-113, 1987.
- (16) STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. Boston: Academic Press, 1985. 227p.

CAPÍTULO QUATRO



CAPÍTULO 4. COMPOSTOS VOLÁTEIS DO VINHO DO CAJU CP 76

4.1 – INTRODUÇÃO

Na Europa tem-se verificado uma crescente demanda por bebidas elaboradas a partir da fermentação de outras frutas que não a uva. O suco de caju, por ser rico em açúcares e sais minerais, constitui uma matéria-prima bastante favorável à fermentação alcoólica, permitindo a obtenção de produtos de grande potencial para o mercado internacional.

O estudo da fermentação do suco de caju não é muito recente (MELLO, 1930; BOPALAH, 1962; PARRO, 1971; MALDONADO *et al.*, 1975), mas somente a partir do trabalho de SUBBA RAO (1985) o assunto tem recebido um aprofundamento científico e tecnológico. Desde o trabalho de MEDEIROS (1990) a Universidade Federal da Ceará, juntamente com a Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial – NUTEC e a EMBRAPA, vem desenvolvendo pesquisas no sentido de estudar as diversas etapas de elaboração de uma bebida fermentada de caju similar ao vinho (FARIA, 1994; BORGES *et al.*, 1995; CASIMIRO *et al.*, 1995; BRINGEL *et al.*, 1995; CAMPOS *et al.*, 1995; DIAS, 1996; ABREU, 1997; FAÇANHA, 1998; FERREIRA, 1998). Atualmente já se dominam algumas operações da produção de um “vinho” de caju do tipo seco, o qual pode ser ainda formulado para a obtenção de vinho suave, licoroso, espumante, *cooler*, etc. Apesar do vinho formulado ter apresentado uma boa aceitação por parte de consumidores potenciais (GARRUTI *et al.* 1995; GARRUTI *et al.*, 1996a; GARRUTI *et al.*, 1996b; ABREU, 1997), o produto ainda apresenta alguns defeitos, principalmente no que se refere à presença de notas aromáticas indesejáveis.

O aroma de um vinho é formado pelos constituintes voláteis provenientes da fruta, e pelos compostos voláteis formados no processo de fermentação e envelhecimento. RAPP (1990) estimou que os vinhos contém cerca de 600 a 800 compostos voláteis, sendo que as principais classes de compostos voláteis são os ésteres e álcoois, seguidos dos aldeídos, cetais, ácidos, aminas, amidas, cetonas, compostos sulfurados, compostos terpênicos e outros (MATHEIS, 1992). Dentre os compostos voláteis majoritários encontram-se os álcoois superiores (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, butanol, 3-metil-1-butanol), 2-fenil-etanol, acetato de etila e lactato de etila. Os demais componentes estão presentes em concentrações muito baixas (AMERINE & ROESSLER, 1983).

MACLEOD & TROCONIS (1982) detectaram 46 compostos voláteis em cajus frescos da Venezuela. O grupo de compostos predominante foi o dos hidrocarbonetos terpênicos, sendo o 3-careno o composto majoritário (24,3%) seguido pelos aldeídos (26% dos voláteis totais). Os autores consideraram importantes para o aroma do caju: o hexanal descrito como 'grama', o 3-careno descrito como 'frutal, enjoativo', o limoneno com *trans*-2-hexenal juntos, descritos como 'verde, grama' e benzaldeído 'amêndoas verdes frescas', 'caju'.

Dentre os 52 compostos detectados por MACIEL *et al.* (1986) em suco de caju proveniente do Brasil, a principal classe de compostos foi a dos ésteres. Os majoritários foram os ésteres etílicos dos ácidos acético, 3-metil butanóico e hexanóico. Os aldeídos e terpenos apresentaram-se em baixo número e concentração. Foi detectada ainda a presença de dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto. Para esses autores, compostos que podem contribuir para o aroma do caju foram: butanoato de metila, butanoato de etila e isovalerato de etila (com odor 'doce' e 'frutal'), os ácidos isovalérico e isobutírico (odor 'pungente e 'azedo'), e os compostos sulfurados.

BICALHO *et al.* (2000) isolaram os componentes voláteis na forma livre e ligada de caju da variedade *nanum*, através de extração-destilação simultânea e adsorção em amberlite XAD-2. Foram caracterizados e quantificados 62 compostos voláteis livres, sendo 40% ésteres, 20% terpenos, 14% hidrocarbonetos, 9% ácidos graxos, 8% aldeídos, 3% álcoois, 3% lactonas, 1% cetonas, 1% fenóis e 1% isoprenóides.

Estudos sobre a composição de voláteis em vinho de caju foram realizados por FARIA (1994) e DIAS (1996). Ambos autores estudaram a influência de diferentes cepas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae* e *S. bayanus*), suplementação de nutrientes, sulfitação do mosto e clarificação na composição de voláteis em vinhos de caju, determinando as concentrações de acetaldeído, acetato de etila, metanol, 1-propanol, álcool isobutílico, álcool amílico e isoamílico. Apesar dos mostos utilizados pelos dois pesquisadores terem sido diferentes, os resultados apresentaram-se bastante semelhantes: ambos encontraram baixos teores de metanol e níveis de álcoois superiores dentro dos limites para vinho de uva. Os autores verificaram influência positiva da clarificação e sulfitação na composição dos voláteis, porém a influência da suplementação não foi significativa para a composição dos voláteis. A levedura *S. bayanus* mostrou superioridade em relação a *S. cerevisiae*, apresentando menores teores de etanal, acetato de etila e propanol.

Até o momento, nenhum trabalho ainda foi realizado no sentido de se analisar a composição dos voláteis presentes no 'headspace' do vinho de caju, tal como ela é percebida pelo olfato humano. Para realizar o isolamento e concentração desses compostos pode-se utilizar uma técnica denominada "análise dinâmica do *headspace*", onde, por meio de um fluxo de nitrogênio purificado ou por meio de sucção, os voláteis são levados até um pequeno tubo de vidro empacotado com um adsorvente, onde são aprisionados. Em bebidas alcoólicas essa técnica encontra larga aplicação (BERTOLUCCI & MONTEDORO, 1974; JENNINGS *et al.*, 1972; WILLIAMS & STRAUSS, 1977; SHIMODA *et al.*, 1993; GARCÍA-JARESE *et al.*, 1995), pois os polímeros porosos, principalmente Porapak Q, possuem baixa retenção de etanol, que pode obliterar uma grande porção do cromatograma.

Na pesquisa do sabor, o grande desafio tem sido identificar, entre todos os voláteis, aqueles que são responsáveis por propriedades sensoriais específicas do produto, pois muitas vezes o sabor característico não é dado pelos compostos que estão em maior quantidade (picos majoritários) e sim por aqueles que mesmo estando em baixas concentrações, possuem alto potencial odorífero. Foi no estudo do aroma de vinhos que a cromatografia gasosa – olfatometria obteve, recentemente, mais um avanço com o desenvolvimento da técnica denominada Osme (MCDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992a; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992b).

Através dessa técnica, cada efluente cromatográfico é misturado com ar e levado até a cavidade nasal do julgador sensorial, o qual, ao mesmo tempo que descreve a qualidade do aroma, registra a intensidade do aroma percebido diretamente em um programa Tempo-Intensidade computadorizado. Ao final da análise obtém-se um gráfico, semelhante a um cromatograma, usualmente denominado 'aromagrama'. Através da intensidade e da área de cada pico pode-se fazer uma análise dos compostos odoríferos que mais contribuem para o aroma e sabor característico do material em análise (DA SILVA *et al.*, 1994).

Assim, este trabalho objetiva estudar a composição de voláteis presentes no *headspace* do vinho do caju do clone CP 76, determinar a importância odorífera de cada composto e identificar quais compostos são provenientes da matéria-prima (suco de caju) e quais são formados durante o processo de vinificação.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Elaboração dos vinhos do caju

Os vinhos foram elaborados através da fermentação de suco extraído de pseudofrutos do caju CP 76, colhidos no Campo Experimental de Paraipaba, da Embrapa Agroindústria Tropical. A elaboração do vinho foi conduzida na planta piloto do NUTEC, em Fortaleza, utilizando-se procedimento descrito no Capítulo 2, item 2.2.2.

4.2.2 Análise dos compostos voláteis

4.2.2.1. Preparo das amostras

As amostras de matéria-prima (suco de caju) foram coletadas logo após a extração do suco por prensagem. O suco coletado foi dividido em três alíquotas de 300 mL, às quais foi adicionado 30% p/p de NaCl p.a., com a finalidade de interromper reações enzimáticas.

Em cada análise dos voláteis do vinho, duas garrafas foram previamente misturadas para uma melhor homogeneização antes de se coletar 3 alíquotas de 300mL.

4.2.2.2. Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis foram isolados através de adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento em *headspace* dinâmico, por sucção, conforme método descrito por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983) utilizando vácuo de aproximadamente 70 mm Hg por 2 horas e o polímero Porapak Q como armadilha (*trap*). Posteriormente os compostos capturados foram eluídos do polímero com 300 μ L de acetona (grau análise de resíduos), dando origem a um isolado.

4.2.2.3. Análise cromatográfica

Foram injetados 2,0 μ L de cada isolado em cromatógrafo gasoso VARIAN modelo 3800 acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION, utilizando um padrão interno (pentadecano) para comparar as áreas dos compostos presentes em ambas amostras (matéria-prima e vinho). As condições cromatográficas foram: Coluna de sílica fundida de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno com fase ligada Carbowax 20M (VA-wax) de 0,25 μ m de espessura; Gás de arraste: hidrogênio a 1,5 mL/min;

Injetor: *splitless* a 200°C; Detector: DIC a 250°C; Programação da coluna: T_{inicial} 50°C, mantida por 8 minutos, elevação até 110°C a 4°/min, T_{final} 200°C atingida a 16°/min.

4.2.2.4. Identificação dos compostos voláteis

Para obtenção dos espectros de massa foi utilizado um cromatógrafo gasoso SHIMADZU modelo 17-A, equipado com um detector de massas modelo QP-5000, nas mesmas condições cromatográficas utilizadas na etapa anterior. Os parâmetros empregados foram :Gás de arraste: Hélio a 1,5 ml/min, Temperatura do detector: 250°C, Voltagem de ionização: 70 eV, Velocidade de "scan" : 1 scan s⁻¹.

O Índice de Kovats de cada composto foi utilizado como um dado complementar para a confirmação da identidade dos compostos. Uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C19) foi adicionada ao isolado sendo injetados 2,0 µL no cromatógrafo nas mesmas condições cromatográficas das análises. Os índices de Kovats experimentais foram comparados àqueles descritos na literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980) ou obtidos via "Internet" (ACREE & HEINRICH, 2000). Compostos para os quais não foi possível encontrar o Índice de Kovats teórico foram considerados "tentativamente identificados".

4.2.3. Cromatografia Gasosa-Olfatometria

Para a determinação da importância odorífera dos compostos voláteis, os isolados do suco e vinho de caju foram concentrados pela evaporação do solvente sob nitrogênio, cuidando-se para manter inalteradas as proporções dos picos nos cromatogramas. Os efluentes cromatográficos foram submetidos a análise sensorial através da técnica denominada Osme (MCDANIEL *et al.*, 1990; MIRANDA-LOPEZ *et al.*, 1992a; da SILVA *et al.*, 1994). A separação cromatográfica foi realizada nas mesmas condições de análises descritas anteriormente utilizando-se hélio como gás de arraste.

Para a avaliação sensorial a coluna foi transferida do DIC para uma outra base de detector (somente a base, sem o detector) mantida à mesma temperatura utilizada no DIC. Um tubo de vidro previamente siliconizado e revestido externamente com uma manta de fibra de vidro e papel alumínio foi instalado no topo dessa base. Assim, os compostos separados pela coluna cromatográfica foram misturados ao ar, previamente aquecido a 28°C, umidificado e filtrado, que fluía pelo tubo de vidro e submetidos à análise do julgador sensorial. A razão de fluxo do ar foi padronizada em 4 L /min.

Cinco (5) julgadores, selecionados na etapa de padronização da metodologia de isolamento dos voláteis (Capítulo 2), realizaram as análises em triplicata. Cada vez que um odor era percebido, o julgador respondia ao estímulo utilizando uma escala tempo-intensidade de 10 cm através do mouse do computador. A escala era do tipo não estruturada, ancorada nos extremos esquerdo e direito com os termos nenhum e forte, respectivamente. Ao mesmo tempo que utilizava a escala, o julgador descrevia verbalmente a qualidade dos odores percebidos. O pesquisador anotava também o tempo inicial no qual o aroma era percebido.

A intensidade e o tempo de duração de cada odor foi registrado diretamente no computador por um programa de aquisição de dados intitulado Sistema de Coleta de Dados Tempo-Intensidade (SCDTI), desenvolvido pelas Faculdades de Engenharia de Alimentos e Engenharia Elétrica e Computação da UNICAMP. Para cada avaliação o SCDTI forneceu: *i)* o pico do odor de cada volátil percebido em um gráfico denominado aromagrama, *ii)* os tempos inicial e final da percepção desse odor, *iii)* o tempo de duração do odor percebido, *iv)* a intensidade máxima desse odor, *v)* o tempo correspondente à intensidade máxima, *vi)* a área sob o pico. Os tempos correspondentes à intensidade máxima de cada odor percebido foram utilizados para o cálculo dos Índices de Kovats da análise olfatométrica.

Foi construído um aromagrama médio da equipe sensorial (aromagrama consensual) com as médias das quinze análises (5 julgadores X 3 repetições). Para tanto, quando o julgador não percebia um determinado composto recebia valor zero para a intensidade e área sob o pico.

4.2.4. Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e comparação das médias pelo teste de Tukey. Também foi realizada uma Análise de Componentes Principais (ACP) com os resultados dos compostos mais importantes. Utilizou-se o programa estatístico “Statistical Analytical Systems” (SAS, 1992) para ambiente Windows.

4.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Identificação e área dos compostos voláteis presentes na matéria-prima e no vinho do caju

As Figuras 4.1 e 4.2 mostram os cromatogramas dos compostos voláteis isolados do suco de caju e seu produto fermentado, respectivamente. Foram detectados 80 compostos em ambos os produtos. As áreas dos picos foram padronizadas pela área de um padrão interno (pentadecano) sendo expressas em termos de porcentagem em relação à área do padrão (área = área do composto/área padrão interno x 100).

As áreas padronizadas médias dos compostos do suco e do vinho do caju, em cada lote, bem como os respectivos coeficientes de variação são apresentados nas Tabelas A.3.1 e A.3.2, no Anexo 3. Com exceção de alguns poucos picos, as áreas apresentaram baixo coeficiente de variação entre amostras do mesmo lote e entre lotes, tanto para a matéria-prima quanto para o vinho do caju. Assim, a comparação entre os dois produtos foi realizada com os valores médios de área entre os lotes.

Na Tabela 4.1 são apresentadas as áreas padronizadas médias do suco e do vinho do caju com o resultado do Teste-*t* utilizado para a comparação estatística dessas médias. Nessa tabela encontra-se também a identificação de cada composto realizada por Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas (CG-EM) além dos Índices de Kovats experimentais (determinados neste estudo). Os Índices de Kovats da literatura e os principais fragmentos obtidos nos espectros de massas são apresentados no Anexo 1.

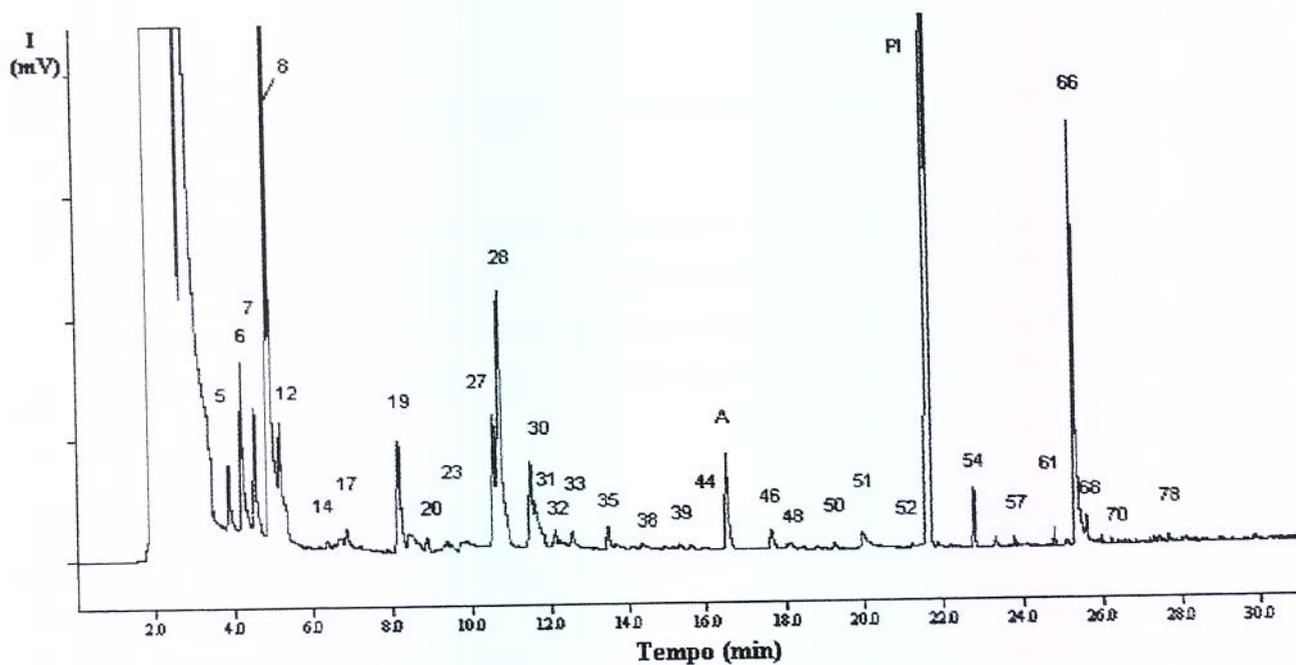


Figura 4.1 – Cromatograma dos compostos voláteis do suco do caju utilizado como matéria-prima na elaboração do vinho do caju. A = pico da impureza da acetona. PI = padrão interno.

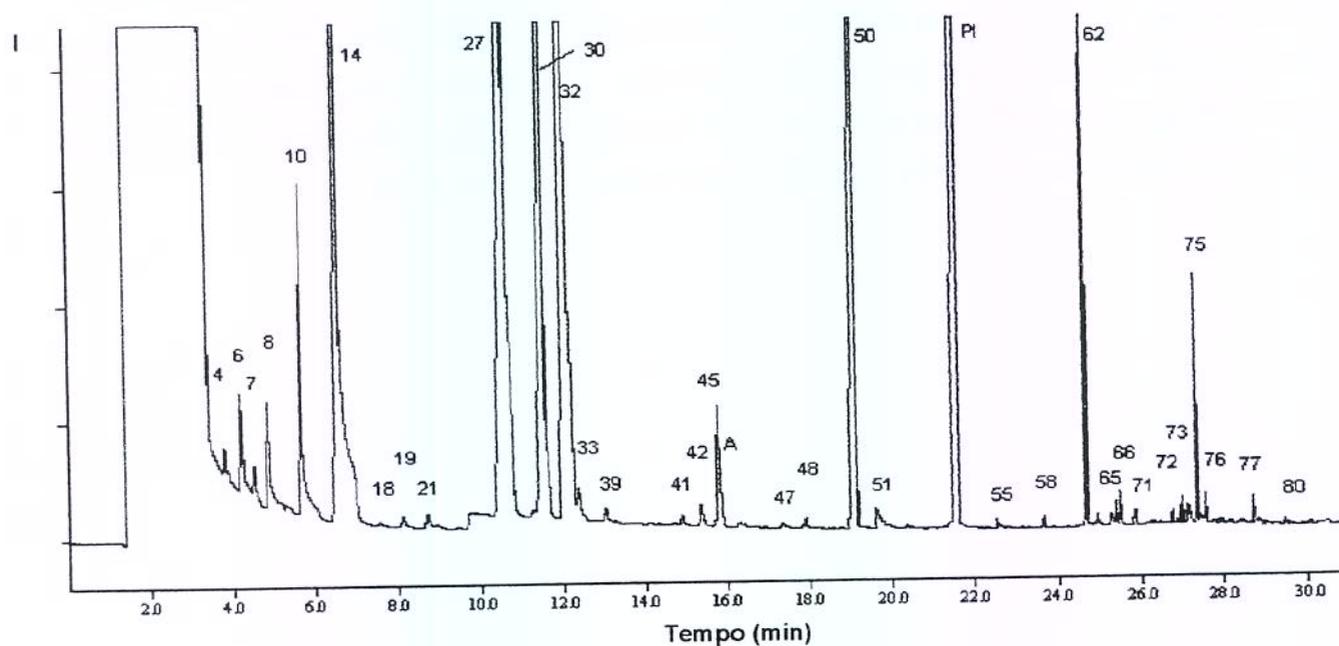


Figura 4.2 – Compostos voláteis do vinho do caju. A = pico da impureza da acetona. PI = padrão interno.

Tabela 4.1 – Comparação na composição de voláteis detectados na matéria-prima (suco do caju) e vinho do caju, Índice de Kovats, área padronizada média e Teste-t.

Pico	I _{EXP} ^a	Composto	Descrição	Área padronizada ^b cromatograma		Intensidade aroma		Área ^c aromagrama		
				Suco	Vinho	Teste t	Suco	Vinho	Suco	Vinho
A	-	Não detectado pelo DIC	Acetona, plástico	-	-	-	0,42	-	0,65	-
B	-	Não detectado pelo DIC	Caju, doce, éster	-	-	-	1,18	0,96	1,86	1,59
1	< 1000	Acetato de etila	Caju ameixa, estragado, solvente	nd ^e	nd ^e	-	4,88	0,73	21,96	1,28
2	< 1000	Propanoato de etila	Doce, lembrança caju	nd ^e	nd ^e	-	1,23	-	1,94	-
2a	< 1000	NI	Doce, tuti-fruti, fruta madura	nd	nd ^e	-	5,32	4,84	18,85	26,93
3	< 1000	Butanoato de metila	Doce, éster, fruta	nd-0,53	nd ^e	-	3,72	2,35	9,77	6,67
C	1005	Não detectado pelo DIC	Plástico, adocicado, irritante, abacaxi	nd	nd	-	3,48	-	13,72	-
4	1014	Acetato de isobutila	Doce, flor, esmalte	nd	2,86	-	-	0,99	-	4,29
4a	1015	NI	Doce, tuti-fruti, esmalte, morango artificial	tr	-	-	3,82	-	16,11	-
5	1023	Isovalerato de metila	Caju, caju-ameixa, desagradável	2,89	nd	-	5,20	3,33	25,91	8,03
6	1042	Butanoato de etila	Doce, caju, éster, fruta	7,61	8,43	n.s.	4,79	5,70	23,59	38,73
D	1055	Não detectado pelo DIC	Fedido, ruim	nd	nd	-	0,20	-	053	-
7	1057	2-metil butanoato de metila	Caju, fruta, doce	7,71	2,96	**	4,41	5,78	12,50	23,44
8	1070	Isovalerato de etila	Caju, doce, guaraná, fruta	46,99	7,23	**	5,13	4,83†	30,61	25,61†
9	1092	NI	Aroma não percebido	nd	nd-0,54	-	-	-	-	-
10	1083-1109	Isobutanol	Fermentado, fedido, álcool butírico	nd	21,36	-	-	-	-	-
11	1115	NI	Aroma não percebido	nd	nd-1,06	-	-	-	-	-
12	1087	Hexanal	Verde, folha, mato, grama	9,79	nd	-	6,54	-	31,45	-
13	1103	trans – 2-butenato de metila	Aroma não percebido	nd-0,17	nd	-	-	-	-	-
14	1118	Acetato de isoamila	Banana, esmalte, plástico	0,53	147,83	**	3,52	4,15	20,44	18,03

Continua...

Tabela 4.1. continuação.

Pico	I _{EXP} ^a	Composto	Descrição	Área padronizada ^b cromatograma		Intensidade aroma		Área ^c aromagrama		
				Suco	Vinho	Teste t	Suco	Vinho	Suco	Vinho
15	1130	3-metil-valerato de metila ^d	Doce, caju, fruta	nd-0,51	nd	-	3,42	2,07	9,86	7,05
16	1138	n-valerato de etila + composto NI	Mato, verde folha mofada	tr-0,93	nd	-	5,04	-	21,91	-
17	1145	2-metil-2-pentenal ^d	Verde, grama, folha, mato	1,28	nd	-	5,03	-	34,07	-
18	1150	1-butanol	Doce, caju, fermentado	nd-0,76	0,49	-	-	1,45	-	9,62
19	1162	Trans-2-butenato de etila	Caju, doce, fruta madura	11,05	0,93	**	4,58	3,07	18,63	16,97
20	1173	3-metil-valerato de etila ^d	Caju, desagradável, acre	nd-0,95	nd	-	1,79	-	10,74	-
21	1175	n-acetato de amila	Doce, caju, fruta, caqui	nd-0,20	3,08	-	0,50	1,90	1,08	11,01
22	1178	NI	Aroma não percebido	nd	nd-0,18	-	-	-	-	-
23	1180	Hexanoato de metila	Caju, doce, fruta	nd-0,41	nd	-	1,75	0,65	7,75	2,02
24	1188	NI	Aroma não percebido	nd-0,64	nd	-	-	-	-	-
25	1189	2-metileno-butenato de metila ^d	Aroma não percebido	0,55	nd	-	-	-	-	-
26	1196	3-hexanol	Aroma não percebido	nd-tr	nd	-	-	-	-	-
27	1210	3-metil-1-butanol	Caju passado, caju-ameixa, fedido, químico, desagradável	19,32	216,93	**	1,93	3,35	4,14	18,81
28	1212	trans-2-hexenal	Percevejo, amêndoas, doce	12,46	nd	-	4,54	-	20,83	-
29	1234	NI	Aroma não percebido	nd	0,59	-	-	-	-	-
30	1239	Hexanoato de etila	Doce, fruta, hortelã, menta, aniz, roupa molhada	8,53	57,25	**	2,40	4,74	7,20	44,71
31	1244	2-metil-2-butenato de etila	Caju, doce, fruta, doce de fruta	nd-5,29	nd	-	3,62	3,40	11,69	10,18
32	1253	1,3,5,7,ciclooctatetraeno ^d	Plástico, pvc, solvente	1,37	272,99	**	-	5,85	-	41,52
33	1260	1-pentanol	Aroma não percebido	1,30	2,31	*	-	-	-	-
34	1274	NI	Aroma não percebido	tr-0,44	nd	-	-	-	-	-
34a	1276	Octanal	Percevejo, óleo de amêndoas, eucalipto, cítrico	nd	nd	-	3,00	2,07	10,29	4,20

Continua...

Tabela 4.1 - continuação

Pico	I _{EXP} ^a	Composto	Descrição	Área padronizada ^b cromatograma			Intensidade aroma		Área ^c aromagrama	
				Suco	Vinho	Teste t	Suco	Vinho	Suco	Vinho
35	1280	3-hidroxi-2-butanona	Adocicado, bom	0,99	nd-0,63	-	0,27	-	0,53	-
36	1286	<i>trans</i> -2-hexenoato de metila ^d	Aroma não percebido	0,48	nd	-	-	-	-	-
37	1292	NI	Cola, mofo pano molhado	nd-0,43	nd	-	2,94	1,26	12,76	2,13
38	1295	<i>trans</i> -3-hexenoato de etila	Verde, seco	0,45	nd	-	1,60	-	7,29	-
39	1275- 1325	<i>n</i> -acetato de hexila	Aroma não percebido	tr-0,803	1,140	-	-	-	-	-
40	1312	<i>cis</i> -3-acetato de hexenila	Aroma não percebido	nd	nd-0,29	-	-	-	-	-
41	1320	4-metil-1-pentanol	Aroma não percebido	nd	0,77	-	-	-	-	-
42	1334	3-metil-1-pentanol	Aroma não percebido	nd	1,46	-	-	-	-	-
43	1336	NI	Aroma não percebido	nd-0,62	nd	-	-	-	-	-
44	1336	<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	doce	tr-0,26	nd	-	0,32	-	0,58	-
45	1345	Lactato de etila	Ácido, plástico	nd	5,84	-	-	0,99	-	1,40
E	-	Não detectado pelo DIC	Desagradável, enxofre, gás	-	-	-	4,55	-	14,19	-
46	1387	<i>cis</i> -3-hexenol	Doce, fruta, caju, ácido, cítrico, flor	2,13	nd	-	6,26	4,64	35,70	20,21
47	1396	Nonanal	Doce, perfume, flor, amêndoas	nd-0,14	0,35	-	3,29	1,63	13,21	5,58
48	1400	2-butoxi-etanol	Lembra caju, suave	0,82	0,53	n.s.	0,62	-	4,84	-
49	1415	NI	Plástico, percevejo,	nd-0,29	nd	-	1,47	-	4,04	-
50	1436	Octanoato de etila	Doce, fruta, perfume, amêndoa, xampu, flor	tr-0,34	75,46	-	2,50	3,22	12,03	29,18
F	-	Não detectado pelo DIC	Madeira, flor, fruta madura	-	-	-	0,98	-	1,87	-
51	1451	Ácido acético	Acético, vinagre, cola, estragado	1,75	2,31	n.s.	2,09	4,50	8,14	11,33
51a G	1465	Acetato de octila	Plástico, acetato, doce	nd	nd	-	1,96	1,62	18,68	8,55
52	1495	Alfa-copaeno	Aroma não percebido	nd-0,64	nd-0,19	-	-	-	-	-

Continua...

Tabela 4.1 - continuação

Pico	I _{EXP} ^a	Composto	Descrição	Área padronizada ^b cromatograma			Intensidade aroma		Área ^c aromagrama	
				Suco	Vinho	Teste t	Suco	Vinho	Suco	Vinho
53	1508	Decanal	Aroma não percebido	nd-0,45	nd-0,11	-	-	-	-	-
54	1510	Benzaldeído	Plástico, verde, doce, fruta, caju	tr-2,54	nd	-	2,92	0,65	6,43	1,82
H	-	Não detectado pelo DIC	Batom sem perfume,madeira	nd	nd	-	1,93	-	4,44	-
55	1540	2,3-butanodiol	Fruta, caju, borracha	nd	nd-0,45	-	-	1,93	-	5,33
56	1570	NI	Aroma não percebido	4,62	nd	-	-	-	-	-
57	1577	1-octanol	Aroma não percebido	nd-0,70	nd	-	-	-	-	-
M	-	Linalol	Mamão, perfume, jasmim	PI	nd	-	PI	4,35	PI	18,96
58	1580	Propilenoglicol	Aroma não percebido	nd	nd-1,76	-	-	-	-	-
59	1585	1,3 butanodiol	Aroma não percebido	nd	nd-0,11	-	-	-	-	-
60a	1587	Composto da mistura de sesquiterpenos	Floral, perfume, verde, laranja	tr	nd	-	4,85	-	15,71	-
60b	1587	Composto da mistura de sesquiterpenos	Picante, pimentão, verde, flor	tr	nd	-	0,80	-	2,61	-
60c	1587	Composto da mistura de sesquiterpenos	Caju, caju verde, fruta, flor	tr	nd	-	7,72	8,29	48,45	66,67
61	1636	Acetofenona	Caju passado, caju-ameixa, desagradável	0,63	nd	-	0,57	2,49	1,38	8,10
62	1649	Decanoato de etila	Aroma não detectado	nd	27,24	-	-	-	-	-
63	1667	Octanoato de isoamila	Aroma não detectado	nd	0,38	-	-	-	-	-
64	1669	Benzoato de etila	Aroma não detectado	tr-0,56	nd	-	-	-	-	-
65	1672	NI	Doce,bala	nd	1,34	-	-	0,39	-	1,59
66	1666	Ácido 2-metil butanóico	Fedido, ruim, chulé, suor	31,06	0,38	**	7,89	6,08	63,68	50,87
67	1680	Aroma não detectado		nd	nd-0,45	-	-	-	-	-
68	1689	NI	Percevejo, plástico	1,01	nd	-	0,95	-	1,95	-
69	1711	2,6 dimetilbenzaldeído	Ruim, caju	tr	nd	-	0,97	-	6,51	-
70	1745	Gama-hexalactona	Cera, verde, ácido	tr	nd	-	0,66	0,21	6,26	0,10
71	1749	Delta-cadineno	Aroma não percebido	nd	0,38	-	-	-	-	-
I	-	Não detectado pelo DIC	Doce	nd	nd	-	0,17	-	1,43	-

Continua...

Tabela 4.1 - continuação

Pico	I _{EXP} ^a	Composto	Descrição	Área padronizada ^b cromatograma		Intensidade aroma		Área ^c aromagrama	
				Suco	Vinho	Teste t	Suco	Vinho	Suco
J	-	Não detectado pelo DIC	Caju, ácido, desagradável	nd	nd	-	0,73	3,96	-
72	1815	Acetato de feniletíla	Aroma não percebido	nd	0,31	-	-	-	-
73	1846	Dodecanoato de etila	Aroma não percebido	nd	0,61	-	-	-	-
74	1860	Ácido heptanóico	Fermentado, vinagre, mofo	nd	0,64	-	-	-	-
75	1888	Hidrocinnamato de etila	Doce, fruta seca, chá, tabaco,	nd	2,74	-	-	-	16,90♦♦
76	> 1900	Álcool feniletílico	Doce forte, perfumado, flor, cera de abelha, colmeia	nd	0,67	-	-	-	68,95 ♦♦♦
77	> 1900	Ácido octanóico	Caju, vinho de caju, cajuína	nd	0,98	-	-	-	-
78	> 1900	NI	Aroma não percebido	tr	nd	-	-	-	-
79	> 1900	Delta-octalactona	Doce, coco	tr	nd	-	-	-	-
80	> 1900	Cinnamato de etila	Flor, perfume	nd	nd	-	0,96	10,06	-
L	-	Não detectado pelo DIC	Leite de mamão, arruda	nd	nd-tr	-	-	-	23,10
				nd	nd	-	1,02	1,41	-

^a Índice de Kovats em fase estacionária VA_{wax}

^b Área padronizada % = área do composto/área do padrão interno x 100

^c Área sob o pico do aromagrama

^d Composto considerado "tentativamente identificado"

^e Composto identificado por CG-EM, mas não detectado nas corridas de análise porque eluiu juntamente com o solvente

nd = composto não detectado

tr = composto detectado em quantidades traços (área relativa < 0,1%)

NI = não identificado

n.s. = diferença não significativa ao nível de 5% de probabilidade

* = diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade

** = diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade

♦ = isovaterato de etila foi percebido pelos julgadores juntamente com o isobutanol

♦♦ = ácido hexanóico foi percebido pelos julgadores juntamente com o hidrocinnamato de etila

♦♦♦ = álcool feniletílico foi percebido pelos julgadores juntamente com o ácido octanóico

No *headspace* do suco do caju foi detectada uma grande variedade de ésteres, 7 aldeídos, 7 álcoois, 2 cetonas, 2 lactonas, 2 ácidos, 1 terpeno e 9 compostos não identificados. Alguns compostos detectados em amostras de suco do caju (Capítulo 3) não foram detectados neste estudo, possivelmente por terem sido perdidos durante a fase de extração do suco, por prováveis diferenças em função da época de colheita dos pseudofrutos e também por dificuldades associadas à determinação de compostos co-eluídos.

Dentre os compostos voláteis majoritários identificados no suco de caju encontram-se: isovalerato de etila, ácido 2-metil butanóico, 3-metil-1-butanol, *trans*-2-hexenal, *trans*-2-butenato de etila, hexanal, 2-metil butanoato de etila, e butanoato de etila.

Alguns compostos voláteis presentes no suco permaneceram no produto fermentado nas mesmas proporções em que se encontravam no suco ($p \geq 0,05$), tais como butanoato de etila, 2-butoxi etanol e ácido acético. Outros compostos que não puderam ser analisados estatisticamente por estarem como “não detectado” ou “traços” em algumas análises apresentaram-se em ambos produtos em faixas muito semelhantes de área padronizada, como é o caso do 1-butanol, 3-hidroxi-2-butanona, nonanal, *alfa*-copaeno e decanal.

Por outro lado, compostos como 2-metil butanoato de etila, isovalerato de etila, *trans*-2-butenato de etila e ácido 2-metil butanóico foram drasticamente reduzidos durante o processo de vinificação. Grande parte dos compostos voláteis da matéria-prima, principalmente os minoritários, não foram detectados nas amostras de vinho elaboradas. Essas perdas podem ter sido causadas por volatilização e/ou reações enzimáticas durante o processo ou mesmo através de reações químicas com outros compostos produzidos pela fermentação.

A fermentação alcoólica do suco do caju foi, provavelmente, responsável pela formação dos álcoois superiores (óleo fúsel) como álcool isoamílico (3-metil-1-butanol), isobutanol (2-metil-propanol), e uma variedade de ésteres, principalmente acetatos (acetato de isoamila, octanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, lactato de etila, n-acetato de amila, acetato de isobutila, hidrocínato de etila, n-acetato de hexila e outros) (MATHEIS, 1992). Álcoois superiores são formados de aminoácidos presentes no mosto ou hidrolisados das células de leveduras (leucina e valina no caso dos álcoois isoamílico e isobutílico, respectivamente). A biogênese inicia-se com reações de transaminação e deaminação, seguidas de descarboxilação dos cetoácidos formando aldeídos, que por sua vez, são reduzidos a álcoois.

Os ésteres são formados porque etanol, álcoois superiores e outros álcoois (alguns provenientes da fruta) podem reagir com ácidos derivados do ácido pirúvico como os ácidos láctico e acético, bem como com ácidos graxos de cadeia curta (butírico, capróico, caprílico, cáprico, láurico). Por sua vez, esses ácidos graxos podem ser formados a partir do ácido acético no metabolismo dos ácidos graxos.

A presença de substâncias como álcool fenilético, ácido acético, acetoína e outros, bem como parte do óleo fúsel encontrado nas amostras pode ser devida à fermentação espontânea causada pela presença de leveduras selvagens no mosto não pasteurizado, que pode ter ocorrido antes que a fermentação controlada fosse iniciada.

FARIA (1994) e DIAS (1996) encontraram, no vinho de caju, 1-propanol, álcool isoamílico, álcool isobutílico, metanol, etanal e acetato de etila, através de injeção direta em coluna empacotada. A técnica empregada no presente trabalho não permitiu detectar a presença de acetaldeído (I_{PEG20M} 690), devido à utilização de acetona como solvente (I_{PEG20M} 810). Provavelmente o acetaldeído saiu antes ou juntamente com o pico do solvente. O mesmo pode ter acontecido com o metanol, de I_{PEG20M} 870. O acetato de etila foi detectado em algumas corridas para o suco do caju, porém no vinho, esse composto deve ter eluído com o pico da acetona.

Compostos terpênicos como o *delta*-cadineno, detectados no vinho, não foram detectados no suco. Isso não significa que esses compostos tenham sido formados pela fermentação. Eles podem estar presentes na fruta em uma ligação glicosídica e depois terem sido liberados no vinho por uma enzima glicosidase produzida pelas leveduras (WILLIAMS *et al.*, 1985). O composto 60, detectado no suco, não foi identificado, porém, suspeita-se que seja uma mistura de sesquiterpenos.

O composto numerado como 32 foi detectado na matéria-prima e no vinho, sendo que, neste último, foi o composto que apresentou maior área. Esse composto, identificado como 1,3,5,7 ciclooctatetraeno (COT), com 97% de similaridade do seu espectro de massas, é um isômero do estireno e ainda não tinha sido detectado entre os compostos voláteis do caju (MACLEOD & TROCONIS, 1982; MACIEL *et al.*, 1986). Ele pode ser uma contaminação do vinho, proveniente das rolhas confeccionadas com isopor que foram utilizadas para fazer o batoque hidráulico dos garrafões de 20 litros, ainda que estas tenham sido recobertas por filme de PVC. É possível que os vapores de etanol carregados pelo CO₂ da fermentação tumultuosa

tenham entrado em contato com o isopor e refluxado para dentro do garrafão, contendo o COT dissolvido.

Por outro lado, alguns autores têm relatado a capacidade de alguns microrganismos como *S. cerevisiae* (GRAMATICA *et al.*, 1981), *Lactobacillus pastoriensis* (WHITING & CARR, 1957 apud CHATONNET *et al.*, 1993) e *Aerobacter sp* (FINKLE *et al.*, 1962) de realizar a descarboxilação não oxidativa de compostos fenólicos como o ácido cinâmico, resultando na síntese de estireno. Algum processo semelhante pode estar envolvido na vinificação do suco de caju, a partir da ação de um microrganismo da própria microbiota natural do caju ou um microrganismo contaminante sobre os ácidos cinâmicos presentes no caju. Apesar da composição de compostos fenólicos no caju não estar ainda bem esclarecida, a formação dos ésteres cinamato e hidrocinaurato de etila, detectados no vinho de caju é um indício da presença dos respectivos ácidos cinâmicos na matéria-prima.

4.3.2. Qualidade do aroma dos compostos voláteis da matéria-prima e do vinho do caju por CG-Olfatometria

A Tabela 4.1 apresenta também um resumo dos resultados das análises olfatométricas dos compostos voláteis do suco e vinho do caju, fornecendo a descrição e a intensidade dos aromas percebidos, bem como a área sob o pico do aromagrama.

Informações mais detalhadas sobre os resultados olfatométricos para o vinho encontram-se na Tabela A.4.1, Anexo 4. Essa tabela apresenta Índices de Kovats obtidos nas análises cromatográfica e olfatométrica, identificação do composto, frequência com que cada composto foi detectado sensorialmente, termos utilizados pelos julgadores para descrever o aroma do composto e a frequência para cada descritor. A numeração dos picos é a mesma utilizada na Tabela 4.1. O estudo detalhado da análise olfatométrica do suco do caju foi mostrado no Capítulo 3.

Nos isolados submetidos à análise olfatométrica foram detectados dois compostos que não haviam sido detectados anteriormente no estudo cromatográfico: o pico 34a (suco e vinho) identificado como octanal e o pico 51a identificado como acetato de octila (somente no vinho).

Para auxiliar a visualização dos compostos voláteis importantes para o aroma do vinho a Figura 4.5 apresenta o aromagrama consensual comparado ao cromatograma do

isolado. A mesma metodologia foi aplicada ao isolado do suco do caju (matéria-prima) e os resultados estão ilustrados na Figura 4.6.

O aromagrama do vinho do caju (Figura 4.5 B) revelou 25 compostos odoríferos razoavelmente bem distribuídos ao longo do tempo, com exceção da região de Índice de Kovats entre 1300 e 1400. Comparando o aromagrama com o cromatograma do vinho (Figura 4.6 A) observou-se que compostos majoritários no cromatograma não mostraram uma relação direta com sua importância odorífera, apresentando baixa intensidade de aroma. É o caso dos compostos isobutanol, acetato de isoamila, 3-metil-1-butanol (álcool isoamílico), a mistura de hexanoato de etila e 2-metil-2-butenato de etila, octanoato de etila e decanoato de etila, sendo que este último nem foi detectado sensorialmente.

De modo inverso, picos que sugerem compostos presentes em baixas concentrações no cromatograma apresentaram impacto odorífero, como é o caso dos compostos 7, 51, 55, 66 e 76/77. Outros de importância odorífera nem foram detectados pelo DIC, como por exemplo, os compostos 5, 20, 34a, 46, 60c e 61. O composto correspondente ao pico 2a (que na corrida cromatográfica pode ter eluído juntamente com o solvente) também apresentou alta intensidade de aroma.

Na análise olfatométrica do vinho não foi utilizado o padrão interno (linalool), porém um composto, identificado pela letra M, recebeu as mesmas descrições do linalool, exatamente no mesmo valor de Índice de Kovats. Provavelmente esse composto estava presente na matéria-prima (mesmo em quantidade abaixo do limite de detecção do DIC) mas sua presença foi mascarada pela adição do padrão interno.

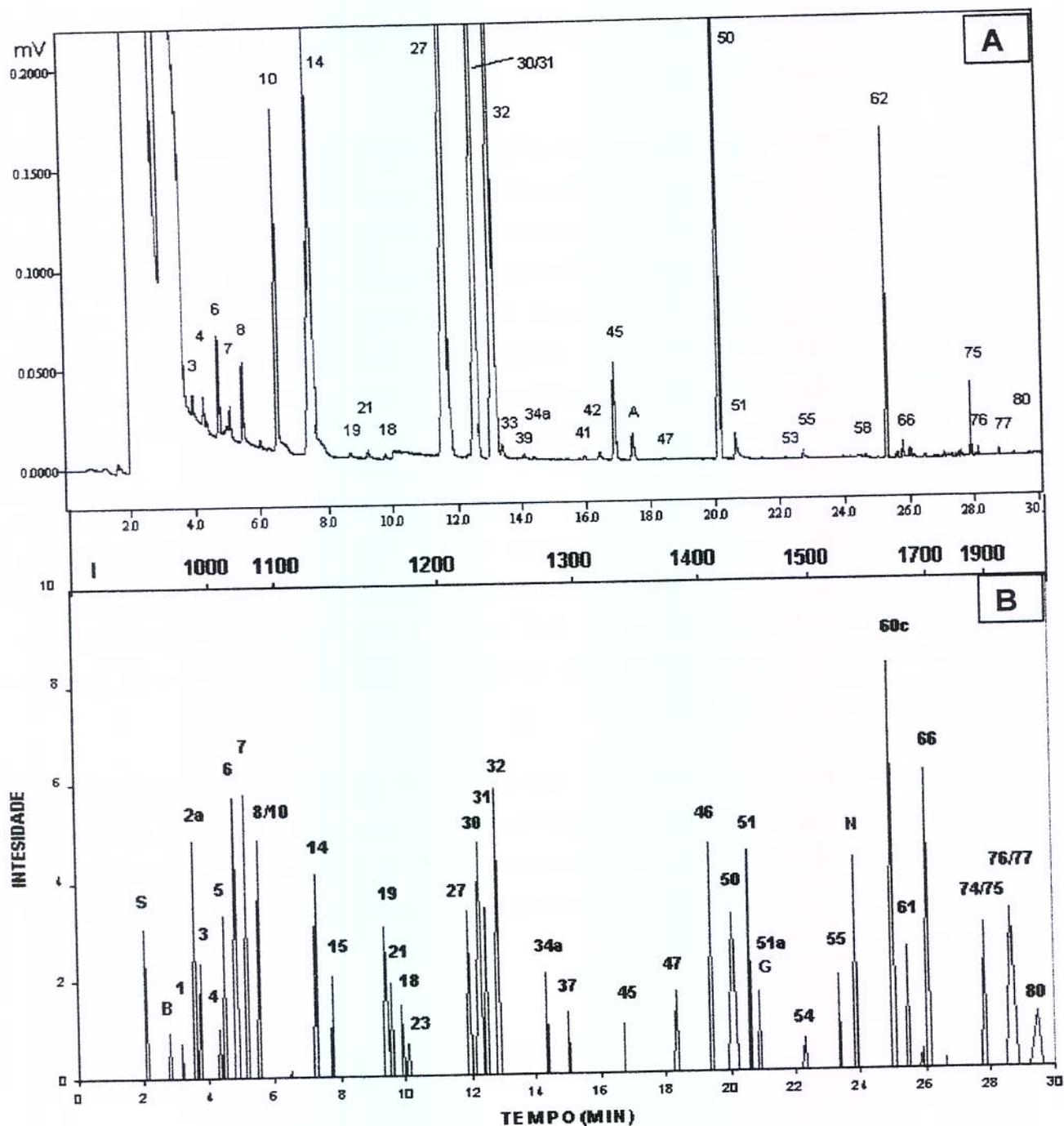


Figura 4.5 – Cromatograma (A) e aromagrama consensual (B) do vinho de caju.

S = solvente, A= impureza da acetona

Compostos identificados por letras no aromagrama não foram detectados pelo DIC.

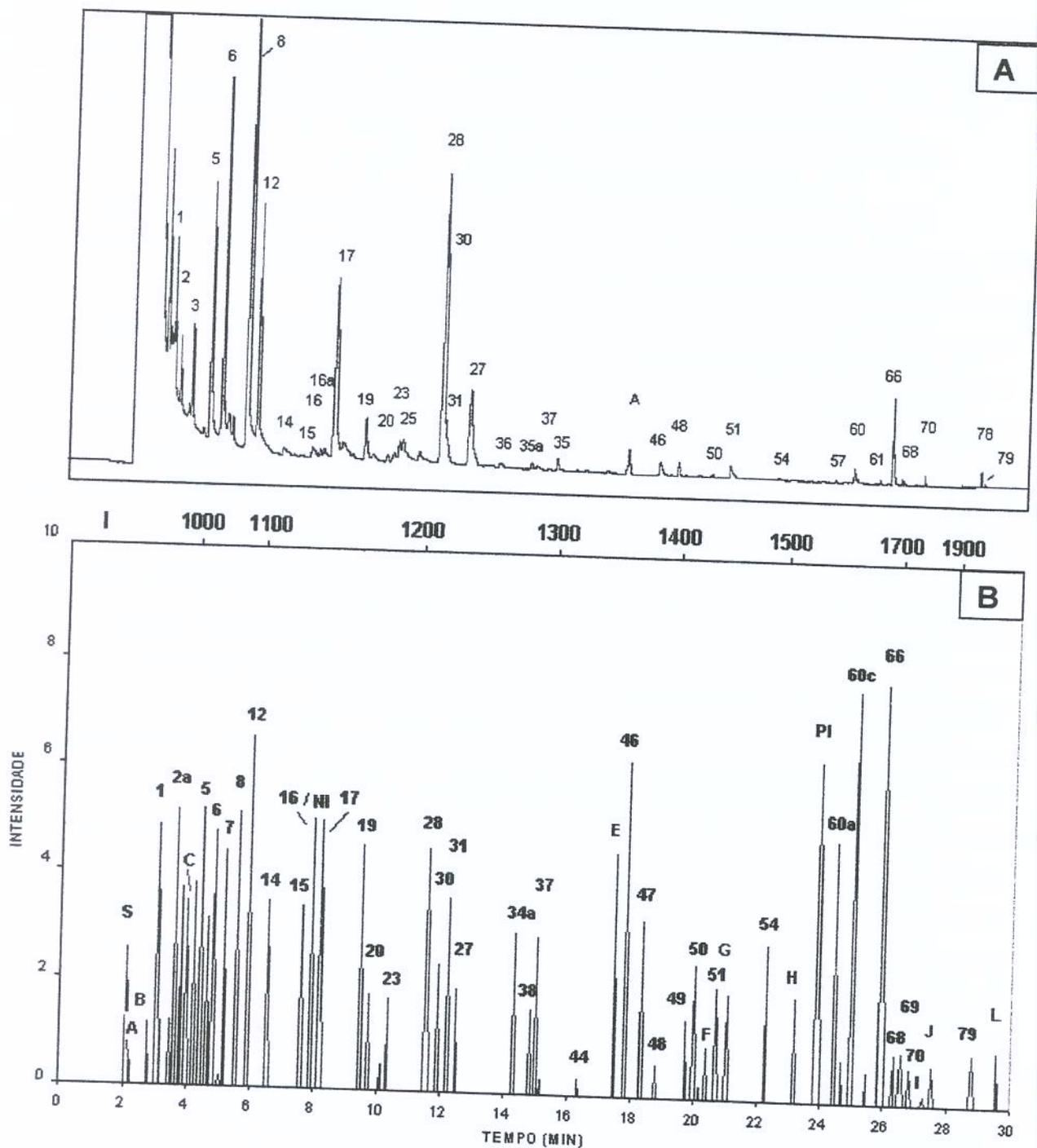


Figura 4.6 – Cromatograma (A) e respectivo aromagrama consensual (B) do suco de caju
 S = solvente. PI = padrão interno. A = impureza da acetona.
 Compostos identificados por letras no aromagrama não foram detectados pelo DIC.

Os critérios para se considerar um composto importante para o aroma do vinho de caju foram os seguintes:

- a) compostos com intensidade superior a 4,14 (metade do maior valor observado 8,29);
- b) compostos de intensidade inferior a 4,14, mas que atingiram área dentro da faixa apresentada pelo grupo do item a).

Como pode ser observado na Tabela 4.5, os compostos que preencheram os critérios estabelecidos e, portanto, foram considerados mais importantes para a formação do aroma do vinho do caju, foram (em ordem decrescente de área):

- ⇒ Composto 76, identificado como **álcool feniletílico**, e descrito como 'doce forte', 'perfumado', 'flor', 'cera de abelha'. A presença dos descritores 'vinho de caju', 'caju', 'cajuína' pode indicar que esse composto foi percebido misturado ao composto 77, identificado como **ácido octanóico**, o qual, na literatura, é descrito como "azedo";
- ⇒ Pico 60c não foi detectado nas amostras de vinho de caju, mas recebeu essa identificação por apresentar Índice de Kovats e descrição semelhante ao do pico 60c detectado no suco. Esse composto provavelmente é um sesquiterpeno com um *threshold* bastante baixo, pois mesmo estando no vinho em concentração muito baixa, apresentou alta intensidade de aroma, sendo descrito como 'caju', 'caju verde', 'pitanga' em elevada frequência;
- ⇒ Composto 66, identificado como **ácido 2-metil butanóico**, também bastante intenso, apresentou notas desagradáveis, sendo descrito como 'fedido', 'ruim', 'roupa molhada', 'chulé';
- ⇒ Composto 30, identificado como **hexanoato de etila**, e descrito como 'doce', 'hortelã', 'limão', 'aniz', 'menta'. No cromatograma, esse composto eluiu juntamente com o composto 31 (2-metil-2-butenato de etila), mas na análise olfatométrica foi possível perceber os dois compostos separadamente. No entanto observou-se que um composto pode estar "contaminando" a percepção do outro: note-se a presença das notas 'ácido' e 'hortelã' misturada ao aroma doce caramelizado do 2-metil-2-butenato de etila;
- ⇒ Composto 6, identificado como **butanoato de etila**, e descrito como 'doce', 'caju', 'éster', 'fruta';
- ⇒ Composto 50, identificado como **octanoato de etila** e descrito como 'doce', 'fruta', 'flor', 'xampu'. O aroma desse éster apresentou baixa intensidade, porém foi bastante prolongado;
- ⇒ Composto 2a, não identificado, e descrito como 'doce', 'tuti-fruti', 'fruta madura';
- ⇒ O composto 8, identificado como **isovalerato de etila**, descrito como 'caju' e 'doce', provavelmente foi percebido juntamente com o **isobutanol** (composto 10) que, na literatura,

apresenta aroma “pungente, fúsel, vinho”. Na análise dos resultados olfatométricos não foi possível separar esses dois compostos, pois, nas repetições de um mesmo julgador foram relatadas notas doce e notas de fermentado no mesmo tempo de retenção (um julgador chegou a identificar o composto como ‘álcool butírico’);

- ⇒ Composto 7, identificado como **2-metil butanoato de etila**, e descrito como ‘caju’, ‘fruta’, ‘doce’, ‘guaraná’;
- ⇒ Composto 46, identificado como **cis-3-hexenol**, descrito como ‘doce’, ‘fruta’, ‘caju’, ‘verde’;
- ⇒ Composto M, não detectado pelo DIC devido a sua baixa concentração, foi descrito como ‘flor’, ‘perfume’, ‘mamão’. Acredita-se que possa ser o **linalol** (I_{PEG20M} 1559) pois apresentou Índice de Kovats de 1558 na análise olfatométrica;
- ⇒ Composto 27, identificado como **álcool isoamílico**, e descrito como ‘fedido’, ‘caju-ameixa’, ‘roupa molhada’;
- ⇒ Composto 14, identificado como **acetato de isoamila**, e descrito como ‘banana’, ‘esmalte’, ‘solvente’;
- ⇒ Composto 80, identificado como **cinamato de etila** e descrito como ‘flor’, ‘perfume’.

O composto 32, identificado como 1,3,5,7 ciclooctatetraeno (um isômero do estireno), apresentou aroma bastante intenso de ‘plástico’, ‘PVC’, e ‘solvente’. Sua origem é ainda desconhecida, como discutido anteriormente.

O mesmo procedimento foi realizado para determinar os compostos importantes para o aroma do suco do caju e aqueles considerados de maior impacto para a formação do aroma característico foram: ácido 2-metil butanóico, compostos 60a e 60c, provavelmente sesquiterpenos, *cis*-3-hexenol, 2-metil-2-pentenal, hexanal, isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila, acetato de etila, N-valerato de etila misturado a um composto não identificado, *trans*-2-hexenal, acetato de isoamila, *trans*-2-butenato de etila, *trans*-2-butenato de etila, 2-metil butanoato de etila, e os compostos 2a e 4a , não identificados.

Uma comparação das Figuras 4.5 e 4.6, auxiliada pela Tabela 4.1 permite visualizar as mudanças ocorridas no aroma durante o processo de vinificação do suco de caju, apesar da amostra de suco utilizada na análise pela técnica Osme não ter sido a mesma utilizada como matéria-prima de elaboração do vinho. Alguns compostos de Índice de Kovats próximos apresentaram inversões em sua ordem de eluição. O aromagrama do vinho (Figura 4.5 B) apresentou apenas 25 picos e o do suco (Figura 4.6 B) 31 picos.

Alguns compostos odoríferos, presentes no aromagrama do suco como acetato de etila, hexanal, 2-metil-2-pentenal, 3-metil-valerato de etila, hexanoato de metila, *trans*-2-hexenal, nonanal, benzaldeído, a mistura de *n*-valerato de etila + composto NI e os compostos não identificados numerados como 4a, 37, E, e 60a não apareceram no aromagrama do vinho, significando que perderam sua importância odorífera. Alguns desses compostos realmente não foram detectados nas amostras de vinho, nem pelo cromatógrafo, nem sensorialmente (técnica Osme), como é o caso do 4a, hexanal, *n*-valerato de etila, 2-metil-2-pentenal, 3-metil valerato de etila, (*trans*-2-hexenal), E (não identificado) e 60a, indicando que, provavelmente esses compostos foram perdidos durante o processo.

Os compostos butanoato de metila, isovalerato de metila, 2-metil butanoato de etila, 3-metil valerato de metila, *trans*-2-butenoato de etila, *cis*-3-hexeno e ácido 2-metil butanóico também estiveram presentes no aromagrama do vinho, porém em menor intensidade que aquela apresentada na amostra de suco do caju. Alguns desses compostos apareceram na Tabela 4.1 como “não detectado”, provavelmente por estarem eluindo juntamente com o solvente, com um composto vizinho ou por estarem presentes na amostra em concentrações abaixo do limite de detecção do aparelho.

Por outro lado, o pico 2a, não detectado nas amostras de suco deste estudo, conservou praticamente a mesma intensidade de aroma. Provavelmente, ele está eluindo juntamente com o pico 2. Este composto foi detectado no suco analisado no Capítulo 3, mas não foi identificado, sendo denominado “pico 3”. De forma semelhante, os compostos 31 e 60c, não detectados cromatograficamente no isolado de vinho do caju, apresentaram a mesma intensidade de aroma que haviam apresentado no suco. A presença desses compostos no vinho evidencia que são compostos bastante importantes para o aroma do caju.

O butanoato de etila, que não apresentou diferença significativa em sua área padronizada entre as amostras de suco e vinho (Tabela 4.1), e nem variação na sua intensidade de aroma. O octanal (pico 34a) foi detectado em ambos os produtos apenas nas amostras submetidas a análise olfatométrica, apresentando intensidades de aroma semelhantes.

Dentre os compostos formados no processo de vinificação muitos não foram detectados nas análises olfatométricas, como é o caso do decanoato de etila, um dos

compostos majoritários do vinho. Outros apresentaram aroma de intensidade e frequência de detecção bastante baixas.

Compostos como o isobutanol, 3-metil-1-butanol, 2,3 butanodiol, o composto não identificado M, e hidrocínato de etila apresentaram aroma de intensidade média. É interessante notar que o acetato de isoamila e o octanoato de etila, mesmo produzidos em grande quantidade no vinho, não alteraram muito a intensidade de aroma que apresentaram na amostra de suco do caju.

Os descritores aromáticas percebidas com maior frequência nos compostos odoríferos do vinho do caju foram: 'doce' e suas variações, 'caju' e 'fruta' e suas variações, correspondentes, em grande parte, aos ésteres e outros compostos não identificados provenientes da fruta. Alguns compostos produzidos durante o processo de vinificação também contribuíram com notas doces, frutais e florais como octanoato de etila, 2,3 butanodiol, hidrocínato de etila e álcool fenilético. O hexanoato de etila, presente no suco e também produzido durante o processo, contribuiu, além do aroma 'doce', com notas refrescantes, como 'hortelã', 'aniz' e 'menta'.

Segundo FERREIRA *et al.* (1995), os ésteres possuem papel fundamental nas notas frutais do aroma de vinho branco e determinam a intensidade e a qualidade da percepção do aroma. Os autores observaram que ésteres etílicos formados durante a fermentação foram responsáveis por notas de frutas como 'maçã', 'pêra', 'cereja' e 'pêssego', enquanto que os acetatos, principalmente os acetatos de álcoois superiores, apresentaram alta correlação com os descritores de frutas tropicais como 'abacaxi', 'banana' e 'melão'.

Os álcoois superiores formados pela fermentação apresentaram notas de 'fermentado' e 'fedido'. Os ácidos heptanóico e octanóico também parecem contribuir com aromas desagradáveis. A presença de 'fermentado', 'acre', e 'mofo' na descrição do hidrocínato de etila pode indicar que o aroma desse composto foi percebido pelos julgadores combinado ao aroma do ácido heptanóico (o qual é descrito na literatura como azedo). Da mesma forma, a presença dos termos 'vinho de caju' e 'cajuína' juntamente com os descritores do álcool fenilético (que possui aroma doce, perfumado, de mel) pode indicar que o aroma do ácido octanóico, que elui logo após o álcool fenilético pode ter sido percebido juntamente com o aroma desse composto.

O aroma desagradável mais intenso no vinho foi dado pelo ácido 2-metil butanóico, o mesmo composto responsável pelo aroma desagradável mais intenso no suco de caju. Na amostra de vinho do caju analisada não foram percebidas notas sulfurosas como aconteceu na análise olfatométrica do suco, mas acredita-se que alguns compostos sulfurados do caju possam ainda estar presentes no vinho, sendo responsáveis por aromas desagradáveis ('caju-ameixa', 'roupa-molhada', 'estragado') que foram percebidos combinados a outros compostos como isovalerato de metila e 2-metil butanoato de metila.

Os resultados obtidos estão de acordo com as observações feitas por AMERINE & ROESSLER (1983) de que, além dos álcoois superiores, são encontrados no vinho pequenas quantidades de 1-propanol, 1-butanol, e 1-pentanol e que todos esses álcoois alifáticos (incluindo os superiores) apresentam um aroma parecido com óleo fúsel. Quando em altas concentrações eles são um fator negativo de qualidade, porém em baixas concentrações podem conferir uma complexidade desejável ao aroma do vinho. De acordo com os mesmos autores o aroma de um vinho é o resultado da mistura de numerosos compostos odoríferos, ressaltando que muitos dos compostos voláteis presentes não possuem odor, enquanto que outros estão presentes em concentrações abaixo de seu *threshold*. Mesmo assim esses compostos podem apresentar efeitos sinérgicos, aditivos ou de mascaramento.

4.4 CONCLUSÕES

1. Isovalerato de etila, ácido 2-metil butanóico, 3-metil 1 butanol, *trans*-2-hexenal, *trans*-2-butenoato de etila, hexanal, 2-metil butanoato de etila e butanoato de etila foram os compostos voláteis majoritários detectados no *headspace* do suco do caju utilizado como matéria-prima para a produção de vinho;
2. Compostos como butanoato de etila, 2-butoxi etanol, ácido acético, 1-butanol, 3-hidroxi-3-butanona, nonanal, *alfa*-copaeno e decanal permaneceram inalterados no produto final;
3. Isovalerato de etila, 2-metil butanoato de etila, *trans*-2-butenoato de etila e ácido 2-metil butanóico foram sensivelmente reduzidos durante o processo de vinificação;
4. Os compostos majoritários detectados no *headspace* do vinho de caju foram álcool isoamílico (3-metil-1 butanol), acetato de isoamila, octanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, isobutanol e o 1,3,5,7 cicooctatetraeno. Este último apresentou aroma de plástico mas sua origem ainda não é conhecida.;
5. Compostos voláteis provenientes da matéria-prima que foram importantes para o aroma do vinho foram: o composto não identificado 60 c (provavelmente um sesquiterpeno), com intenso aroma de caju; ácido 2-metil butanóico, com intenso odor fétido; ésteres como butanoato de etila, isovalerato de etila e 2-metil butanoato de etila, responsáveis por aromas de 'caju', 'fruta' e 'doce'; o composto não identificado 2a, de forte aroma 'doce'; *cis*-3-hexenol, responsável pelo aroma de 'verde';
6. Compostos produzidos durante o processo de vinificação que contribuíram para a formação de aromas agradáveis no produto final foram álcool feniletílico, hexanoato de etila, octanoato de etila e cinamato de etila;
7. Álcoois superiores (isoamílico e isobutanol) , ácidos acético, heptanóico e octanóico, formados no processo de vinificação, foram responsáveis por aromas desagradáveis no vinho do caju, como 'fermentado, estragado, fedido, acético', porém o aroma desagradável mais intenso no vinho foi dado pelo ácido 2-metil butanóico, proveniente do suco do caju.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ABREU, F.A.P. de **Aspectos tecnológicos da gaseificação do vinho de caju (*Anacardium occidentale*, L)** Fortaleza, 1997. 85p. Tese (Mestre em tecnologia de Alimentos). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (2) ACREE, T.E.; HEINRICH, Flavornet – Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products. www.nysaes.cornell.edu/flavornet/chem.html 20 de junho de 2000.
- (3) AMERINE, M.A.; ROESSLER, E.B. **Wines – their sensory evaluation**. New York e San Francisco: W. H. Freeman, 1983. 432p.
- (4) BERTUCCIOLI, M.; MONTEDORO, G. Concentration of the *headspace* volatiles above wine for direct chromatographic analysis. **J. Sci.Food Agric.**, v.25, n.6, p.675, 1974.
- (5) BICALHO, B.; PEREIRA, A.S.; NETO, F.R.A.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale*, L. var. *nanum*) volatiles. **J. Agric.Food Chem.**, v.48, n.4, p.1167-1174, 2000.
- (6) BOPAIAH, B.M. Perspectives in production of alcoholic beverages from cashew apple. **A. R. Central Food Technology Res. Inst.**, Mysore, p.19-21,1962.
- (7) BORGES, M.F.; BRINGEL, M.H.F.; CAMPOS, J.O.S.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. I- produção de H₂S. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de 1995. **Programa e resumos do ...** Santos: Soc. Bras. de Microbiologia, p. 219,1995.
- (8) BRINGEL, M.H.F.; CASIMIRO, A.R.S.; BORGES, M.F.; CAMPOS, J.O.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: tolerância a SO₂. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 5-9 de novembro de 1995. **Anais do ...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. B1-33, 1995.
- (9) CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: Tolerância a etanol. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 13-16 DE NOVEMBRO DE 1995. **Programa Científico do ...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. 119, 1995.
- (10) CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. II: aspectos cinéticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de 1995. **Programa e Resumos...** Santos: Soc. Bras. de Microbiologia, p. 221,1995.
- (11) CHATONNET, P.; DUBOURDIEU, D.; BOIDRON, J.N.; LAVIGNE, V. Synthesis of volatile phenols by *Saccharomyces cerevisiae* in wines. **J. Sci. Food Agric.**, v.62, n.2, p.191-202, 1993.
- (12) DA SILVA, M.A.A.P. ; LUNDAHL, D.S.; McDABIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H.; VAN DER HEIJ, D.G. (eds) **Trends in flavour research: : Proceedings of the 7th Weurman Flavour Research Symposium** Amsterdam: Elsevier, p.191-209, 1994.

- (13) DIAS, A.L.M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju**. Fortaleza, 1996. 94p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (14) FAÇANHA, S.H.F. **Estudo dos parâmetros cinéticos básicos da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado** Fortaleza, 1998. 156p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (15) FARIA, F.S.E.D.V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale*, L.) em diferentes condições de fermentação**. Fortaleza, 1994. 99 p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (16) FERREIRA, N.D.L **Avaliação química do destilado de caju (*Anacardium occidentale*, L) obtido por destilação simples em alambique** Fortaleza, 1998. 162 p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) Centro de Ciências Agrárias, UFC.
- (17) FERREIRA, V.; FERNÁNDEZ, P.; PEÑA, C.; ESCUDERO, A.; CACHO, J.F. Investigation on the role played by fermentation esters in the aroma of young Spanish wines by multivariate analysis. **J. Sci Food Agric.**, v.67, n.3, p.381-392, 1995.
- (18) FINKLE, B.J.; LEWIS, J.C.; CORSE, J.W.; LUNDIM, R.E. Enzyme reactions with phenolic compounds: formation of hydroxystyrenes through the decarboxylation of 4-hydroxycinnamic acids by *Aerobacter*. **J. Biol. Chem.**, v.237, n.9, p.2926-2931, 1962.
- (19) FRANCO, M.R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. **Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatiles on Porapak Q by suction**. **J. Sci. Food Agric.** v.34, n.3, p.293-299, 1983.
- (20) GARCÍA-JARES, C.; GARCÍA-MARTÍN, S.; CELA-TORRIJOS, R. Analysis of some highly volatile compounds of wine by means of purge and cold trapping injector capillary gas chromatography .Application to the differentiation of Rias Baixas Spanish white wines. **J. Agric. Food Chem.**, v.43, n.3, p.764-768, 1995.
- (21) GARRUTI, D.S.; CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.; FARIA, F.S.E.D.V. Utilização da escala “just right” no desenvolvimento de formulação de vinho de caju espumante suave. In: SIMPÓSIO IBEROAMERICANO DE ANÁLISE SENSORIAL, 1. Campinas, SP, 1996. **Livro de Resumos...**, Campinas, SP: FEA/ABIA/CYTED, 1996a. p.69.
- (22) GARRUTI, D.S.; CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.; LIMA, R.C.; SOUZA FILHO, M.S.M. Diagnóstico de Atributos de Vinho de Caju Gaseificado. In: ENCONTRO NACIONAL DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 9. João Pessoa, PB, 1995. **Resumos...**, João Pessoa: SBAAL, 1995. p.173
- (23) GARRUTI, D.S.; ROSSETTI, A.G.; CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O. Avaliação sensorial de dois tipos de vinho de caju. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15. Poços de Caldas, MG, 1996. **Resumos ...**, Poços de Caldas: SBCTA, 1996b. p.123.
- (24) GRAMATICA, P.; RANZI, B.M.; MANITTO, P. Decarboxylation of cinnamic acids by *Saccharomyces cerevisiae*. **Biorg. Chem.**, v.10, n.1, p.14-21, 1981.
- (25) JENNINGS, W.G., WOHLEB, R.H.; LEWIS, M.J. Gas chromatographic analysis on headspace volatiles of alcoholic beverages. **J. Food Sci.**, v.37, n.1, p.69, 1972.

- (26) JENNINGS, W. ; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography**. NY: Academic Press, 1980, 472p.
- (27) MACIEL, M.I.; HANSEN, T.J.; ALDINGER, S.B.; LABOWS, J.N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **J. Agric. Food Chem.**, v.34, n.5, p.923-27, 1986.
- (28) MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile flavor components of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Phytochemistry**, v.21, n.10, p.2527-30, 1982.
- (29) MALDONADO, O.; ROLZ, C.; de CABRERA, S. S. Wine and vinegar production from tropical fruits. **J. Food Sci.**, v.40, n.2, p. 262-265, 1975.
- (30) MATHEIS, G. The biogenesis of wine flavor **Dragogo Flavor Information Service Report**, n. 37, p. 73-89, 1992.
- (31) MCDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G., Ed. **Flavors and off-flavors**. Amsterdam: Elsevier, 1990. p.23-36.
- (32) MEDEIROS, M.C. **Contribuição ao estudo da fermentação alcoólica do suco de caju para produção de aguardente**. São Paulo, 1990. 93p. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de São Paulo.
- (33) MELLO, F.C. Succo, vinho e álcool de caju **Chácaras e Quintais**, XLII, n.4, 1930.
- (34) MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBEY, L.M.; WATSON, B.T.; MCDANIEL, M.R. Odor analysis of Pinot Noir wines from grape of different maturities by a gas chromatography-olfactometry technique (Osme). **J. Food Sci.**, v.57, n.4, p.985-019, 1992a.
- (35) MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBEY, L.M.; WATSON, B.T.; MCDANIEL, R.M. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.43, n.1, p.90-92, 1992b.
- (36) PARRO, A.C. Os alcóois superiores do sumo fermentado de caju. **Rev. Ciência Agron.**, v.4, n.3, p.47-68, 1971. Série B.
- (37) RAPP, A. Natural flavours of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. **Fres. J. Analyt. Chem.**, v.337, p.777-785, 1990.
- (38) SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.
- (39) SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T.; NOBLE, A.C. Evaluation of *headspace* volatiles of Cabernet Sauvignon wines sampled by an on-column method. **J. Agric. Food Chem.**, v.41, n.10, p.1664-1668, 1993.
- (40) SUBBA RAO, M.S. Scope for development of alcoholic beverage from cashew apple. **Acta Horticulture**, n. 108, p.164-171, 1985.
- (41) WILLIAMS, P.J.; STRAUSS, C.R. Apparatus and procedure for reproducible, high-resolution gas chromatographic analysis of alcoholic beverage *headspace* volatiles. **J. Inst. Brew.**, v.83, n.4, p.213, 1977.
- (42) WILLIAMS, P. J. ; STRAUSS, C.R. WILSON, B; DIMITRIADES, E. Origins of some volatile monoterpenes and nor-isoprenoids in grapes and wines-Biosynthetic and Biogenetic Considerations. In: BERGER *et al* (Ed.) **Topics in Flavour Research**, p. 335-352, 1985.

CAPÍTULO CINCO



CAPÍTULO 5. EFEITO DA SULFITAÇÃO DO MOSTO E DA TEMPERATURA DE FERMENTAÇÃO NA COMPOSIÇÃO DE VOLÁTEIS DO VINHO DE CAJU

5.1 INTRODUÇÃO

Atualmente o setor agroindustrial do caju passa por um redimensionamento, principalmente no que se refere ao aproveitamento mais racional do pseudofruto. Nesse sentido, algumas instituições de pesquisa do Ceará (Embrapa Agroindústria Tropical, UFC e NUTEC) vêm somando esforços, na última década, para desenvolver uma bebida de caju similar ao vinho.

Alguns parâmetros da vinificação do suco de caju foram determinados por FARIA (1994) e DIAS (1996) como a necessidade de clarificação e sulfitação do mosto. Também foi avaliado o desempenho de diferentes leveduras comerciais na fermentação do suco de caju em relação à produção de H_2S (BORGES *et al.*, 1995), tolerância a SO_2 (BRINGEL *et al.*, 1995), tolerância a etanol (CAMPOS *et al.*, 1995), aspectos cinéticos (CASIMIRO *et al.*, 1995; FAÇANHA, 1998) e características físico-químicas e sensoriais (FARIA, 1994; DIAS, 1996).

Um procedimento importante a ser estudado na elaboração de vinhos é a sulfitação. Essa prática consiste em adicionar anidrido sulfuroso ao mosto para obter uma boa fermentação, e ao vinho, como conservante (HASHIZUME, 1983). O anidrido sulfuroso (SO_2) exerce uma ação anti-séptica seletiva do meio, através de diversos processos bioquímicos no metabolismo celular dos microrganismos (RICHARDI, 1978a), além de apresentar efeito antioxidante e antioxidásico (destrói a oxidase). Porém, quando mal feita, a sulfitação pode trazer efeitos desfavoráveis para a qualidade do vinho, conferindo odor desagradável *per se*, ou favorecendo a formação de H_2S por certas leveduras, o qual pode reagir com o etanol ou acetaldeído formando mercaptanas (RICHARDI, 1978b).

Outros aromas indesejáveis comuns em vinhos podem ser causados também por compostos sulfurados cíclicos, excesso de acetaldeído, excesso de ácido acético e acetato de etila, alto conteúdo de álcoois superiores, ácido láctico e diacetil, dentre outros (AMERINE *et al.*, 1972; AMERINE & ROESSLER, 1983).

CHIRIVELLA *et al.* (1988) observaram, em vinho de uva, que os teores de acetato de etila, 1-propanol, isobutanol e álcoois superiores diminuíram com o aumento das dosagens de SO₂, enquanto que acetaldeído e álcoois amílicos aumentaram. HERRAIZ *et al.* (1989) também mostraram que isobutanol, 1-propanol, acetato de etila, lactato de etila e lactato de isoamila foram mais abundantes em vinhos fermentados sem adição de SO₂ ao passo que 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, 2-feniletanol, acetaldeído e ésteres como octanoato de etila e dietil succinato estiveram presentes em maior quantidade em vinhos fermentados com SO₂.

Em fermentados de caju PARRO (1971) investigou a influência de diferentes temperaturas (18, 26 e 30°C), da acidez e da sulfitação no teor de álcoois superiores. O autor verificou de modo geral, que os ensaios efetuados à temperatura mais baixa apresentaram menores teores de álcoois superiores. A diminuição do pH e a sulfitação, isoladamente apresentaram tendência de diminuir a formação de álcoois superiores, no entanto, quando utilizados juntos (acidificação e sulfitação) ocorreu um efeito inverso.

FARIA (1994) estudou, entre outros parâmetros, o efeito da sulfitação em vinhos de caju elaborados com duas diferentes leveduras comerciais: uma mistura de *Saccharomyces cerevisiae* com *S. bayanus*, denominada L1, e uma cultura pura de *S. bayanus*, denominada L2. O autor observou que a utilização da sulfitação permitiu uma diminuição nos teores de álcoois superiores somente para os vinhos inoculados com a levedura L1.

Estudo semelhante foi realizado por DIAS (1996), porém com diferentes tipos de mostos: suco natural, suco concentrado reconstituído e uma mistura dos dois. Nos vinhos elaborados a partir do suco concentrado, a sulfitação provocou uma diminuição nos teores de etanal, metanol e 2-metil-propanol quando a inoculação da levedura L1 foi utilizada. O mesmo aconteceu com 1-propanol e 2-metil-1-propanol utilizando a levedura L2. Nos outros tipos de mosto, a sulfitação reduziu os teores de álcoois superiores em alguns ensaios isolados.

Este trabalho visou dar continuidade aos estudos sobre a influência da temperatura de fermentação e da sulfitação do mosto no aroma do vinho de caju, porém com enfoque na composição de compostos voláteis presentes no *headspace* das amostras, tal qual é percebida pelo olfato humano. O interesse em avaliar o vinho de caju elaborado à temperatura ambiente foi devido, particularmente, pela tentativa de viabilização de um processo de vinificação alternativo, que possa ser utilizado na zona rural, onde recursos de refrigeração são escassos e dispendiosos.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Elaboração dos vinhos do caju

Os vinhos foram elaborados através da fermentação de suco extraído de pseudofrutos de caju do clone CP 76 colhidos no Campo Experimental de Paraipaba, do CNPAT/EMBRAPA, no Ceará. A elaboração do vinho foi conduzida na planta piloto da Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial – NUTEC, em Fortaleza, utilizando-se o mesmo procedimento descrito no Capítulo 2, item 2.2.2, com as seguintes modificações:

- ▷ *Sulfitação*: o suco límpido foi dividido em quatro recipientes para adição de metabissulfito de sódio para atingir a 0, 50, 100 e 200 ppm de SO₂ livre;
- ▷ *Fermentação*: o mosto inoculado foi acondicionado em garrafões de vidro de 20 L providos de batoque hidráulico para liberar o CO₂ produzido e evitar a entrada de ar, os quais foram incubados a temperatura ambiente (30°C) e em câmara climatizada a 18°C;

Os produtos obtidos foram codificados da seguinte maneira:

Tratamento	Temperatura	Teor SO ₂ livre
TA ₀	ambiente (30°C)	0 ppm
TA ₅₀	ambiente (30°C)	50 ppm
TA ₁₀₀	ambiente (30°C)	100 ppm
TA ₂₀₀	ambiente (30°C)	200 ppm
TR ₀	refrigeração (18°C)	0 ppm
TR ₅₀	refrigeração (18°C)	50 ppm
TR ₁₀₀	refrigeração (18°C)	100 ppm
TR ₂₀₀	refrigeração (18°C)	200 ppm

5.2.2 Análises físico-químicas

As seguintes análises físico-químicas das amostras de vinho de caju foram realizadas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho da EMBRAPA, em Bento Gonçalves – RS:

5.2.2.1 – Densidade a 20°C - densímetro digital marca Density Meter AP-PAAR-DMA 4-5, segundo metodologia descrita por MAYER e LEYGUE-ALBA (1991).

5.2.2.2. Teor alcoólico - determinado a partir dos valores de densidade e índice de refração (determinado em refratômetro Zeiss), segundo método descrito por AMERINE e OUGH (1980), utilizando-se a equação:

$$A = 2557,19 - 2585,7 D + 2,6186 R, \text{ onde:}$$

A = conteúdo alcoólico (g/L)

D = densidade a 20°C

R = índice de refração a 20°C

O conteúdo alcoólico em g/L foi transformado em °GL (%v/v) pela divisão por 7,892.

5.2.2.3 Acidez total - corresponde à soma dos ácidos tituláveis, quando se neutraliza o vinho a pH 7,0. Utilizou-se método descrito por AMERINE & OUGH (1980) que consiste em titulação com NaOH tendo o azul de bromotimol como indicador.

5.2.2.4 Acidez volátil - é constituída pelos ácidos graxos da série acética, que se encontram no vinho no estado livre ou salificado. Também podem estar presentes pequenas quantidades dos ácidos propiônicos e butíricos. A separação dos ácidos voláteis foi realizada através do arraste por vapor d'água em aparelho de Cazenave-Ferre, equipado com uma coluna de refrigeração de 40 cm, e a acidez do destilado por titulação com NaOH e fenolftaleína como indicador (AMERINE & OUGH, 1980).

5.2.2.5 pH - determinado utilizando-se um potenciômetro Procyon, modelo pHN-4, previamente calibrado a 20°C, segundo o procedimento descrito pela AOAC (1990).

5.2.2.6 Índice de cor - segundo o procedimento descrito por AMERINE & OUGH (1980), efetuando-se a leitura da absorbância a 420nm, em espectrofotômetro Espectronic-501 I 601 - Milton Roy.

5.2.2.7 Extrato seco e extrato seco reduzido - segundo técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura, Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

5.2.2.8 Cinzas e alcalinidade das cinzas - segundo as técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura, Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

5.2.2.9 Açúcares redutores - segundo as técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura, Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

5.2.2.10 Dióxido de enxofre livre e total – segundo as técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura, Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

5.2.3 Análise dos compostos voláteis

5.2.3.1. Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis foram isolados através de adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento em *headspace* dinâmico, por sucção, conforme método descrito por FRANCO & RODRIGUEZ-AMAYA (1983). Foi utilizado o polímero Porapak Q, 80-100 mesh, da Waters Associates, como armadilha (*trap*) e vácuo de, aproximadamente, 70 mm Hg por 2 horas. Posteriormente os compostos capturados foram eluídos do polímero com 300 μ L de acetona (grau análise de resíduos), dando origem a um isolado.

5.2.3.2. Análise cromatográfica

Foram injetados 2,0 μ L de cada isolado em cromatógrafo gasoso VARIAN modelo 3800, acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION, nas seguintes condições cromatográficas:

- ▷ Coluna de sílica fundida de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno com fase ligada Carbowax 20M (VA-wax) de 0,25 μ m de espessura
- ▷ Gás de arraste: hidrogênio a 1,5 mL/min
- ▷ Injetor: *splitless* a 200°C
- ▷ Detector: DIC a 250°C
- ▷ Programação da coluna: $T_{inicial}$ 50°C, mantida por 8 minutos, elevação até 110°C a 4°/min, T_{final} 200°C atingida a 16°/min.

Um padrão interno (pentadecano) foi utilizado com a finalidade de possibilitar a comparação das áreas dos compostos presentes nas diferentes amostras. A área padronizada foi expressa como a relação (área do composto / área do padrão) X 100.

5.2.3.3 Identificação dos compostos voláteis

Para obtenção dos espectros de massa foi utilizado um cromatógrafo gasoso SHIMADZU modelo 17-A, equipado com um detector de massas modelo QP-5000, nas mesmas condições cromatográficas utilizadas na etapa anterior. Os parâmetros empregados

foram :Gás de arraste: Hélio a 1,5 ml/min, Temperatura do detector: 250°C, Voltagem de ionização: 70 eV, Velocidade de “scan”: 1 scan s⁻¹.

O Índice de Kovats de cada composto foi utilizado como um dado complementar para a confirmação da identidade dos compostos. Uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C19) foi adicionada ao isolado sendo injetados 2,0 µL no cromatógrafo nas mesmas condições cromatográficas das análises. Os índices de Kovats experimentais foram comparados àqueles descritos na literatura (JENNINGS & SHIBAMOTO, 1980) ou obtidos via “Internet” (ACREE & HEINRICH, 2000). Compostos para os quais não foi possível encontrar o Índice de Kovats teórico foram considerados “tentativamente identificados”.

5.2.3.4. Análise Estatística

Os resultados de área padronizada foram submetidos à análise de variância (ANOVA), tendo como fontes de variação temperatura (TEMP), nível de SO₂ (SO2), repetição (REP) e interação TEMP X SO2. Em seguida foi realizada comparação das médias pelo teste de Tukey. Uma Análise de Componentes Principais (ACP) foi aplicada aos resultados dos compostos mais importantes. Utilizou-se o programa estatístico “Statistical Analytical Systems” (SAS, 1992) para ambiente Windows.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Caracterização físico-química dos vinhos do caju

Na Tabela 5.1 são apresentados os resultados das análises físico-químicas realizadas nas amostras em estudo. A graduação alcoólica variou em torno de 8,5°GL. Segundo a legislação brasileira (BRASIL,1988), vinhos de frutas devem apresentar o mesmo teor alcoólico dos vinhos de mesa, entre 10 e 13°GL, mas os vinhos de caju obtidos podem ser classificados como “vinho leve”, de acordo com a mesma legislação citada, cuja graduação alcoólica pode variar entre 7 a 9,9°GL.

Quanto ao teor de açúcares redutores, a maioria das amostras apresentou valores inferiores a 5 g/L, caracterizando-se como “vinho seco”. No entanto, duas amostras, TR₀ e TR₂₀₀ apresentaram teores bem mais elevados (13,10 e 15,30, respectivamente), caindo na classificação de “vinho suave”.

Tabela 5.1 – Características físico-químicas das amostras de vinho de caju.

Características	TA ₀	TA ₅₀	TA ₁₀₀	TA ₂₀₀	TR ₀	TR ₅₀	TR ₁₀₀	TR ₂₀₀
Densidade (20/20°C)	998,5	998,7	999,1	999,0	997,8	998,0	996,7	1001,6
Álcool (%v/v)	8,60	8,59	8,36	8,46	8,50	8,52	8,72	8,27
Acidez total (meq/L)	129,0	122,0	116,0	110,0	128,0	106,0	86,0	64,0
Acidez volátil (meq/L)	19,0	17,0	17,0	15,0	16,0	14,0	12,0	13,0
pH	3,55	3,56	3,55	3,59	3,56	3,58	3,69	3,83
Extrato seco(g/L)	20,28	20,16	20,24	20,56	27,72	18,32	16,68	28,48
Açúcares redutores (g/L)	2,76	3,80	3,97	3,51	13,10	3,76	2,81	15,30
Extrato seco reduzido (g/L)	17,52	17,36	17,27	18,05	14,62	15,56	14,87	14,18
Cinzas (g/L)	3,40	3,45	3,30	3,55	3,30	3,35	3,35	3,45
Alcalinidade cinzas (meq/L)	38,0	37,5	34,5	39,0	37,5	38,0	36,5	38,0
SO ₂ livre (mg/L)	1,1	1,4	10,0	13,7	1,2	4,1	17,8	5,8
SO ₂ total (mg/L)	170,2	175,9	212,9	214,6	168,7	172,7	228,6	204,4
Índice de cor (Abs a 420 nm)	0.138	0.126	0.102	0.100	0.038	0.042	0.036	0.049

Os teores de acidez total variaram de 64,0 a 129,0 meq/L, estando dentro dos padrões estipulados pela legislação (55 a 130 meq/L), embora os vinhos fermentados sem adição de metabissulfito tenham apresentado acidez total bem próxima do limite máximo. Valores semelhantes foram encontrados por FARIA (1994) em vinhos elaborados com a *Saccharomyces bayanus* (79,0 a 127,0 meq/L). Foi também observada uma diminuição na acidez total dos fermentados com o aumento do teor de sulfitação. O mesmo aconteceu com a acidez volátil, parâmetro indicativo do estado sanitário do vinho, quando altos valores de acidez volátil podem indicar a presença de grande quantidade de ácido acético, produzido por leveduras e bactérias contaminantes. Esses fatos evidenciam o efeito protetor da sulfitação.

A determinação do pH de vinhos é importante devido a seu efeito no crescimento de microrganismos, cor, sabor, potencial de óxido-redução e proporção do SO₂ livre. O pH dos vinhos do caju variou entre 3,55 e 3,83, dentro da faixa geralmente encontrada em vinhos brancos de 3,1 a 3,9 (AMERINE & OUGH, 1980). Os valores de pH encontrados por FARIA (1994) foram de 3,02 a 3,47. OWUAMA & SAUNDERS (1990), estudando diferentes leveduras na fermentação do suco de caju, obtiveram pH 3,3 para *S. cerevisiae* e 3,5 para *Kloeckera apiculata*.

Por extrato seco entende-se a totalidade das substâncias restantes depois do processo de evaporação ou destilação. Entre essas substâncias encontram-se os carboidratos, gliceras, ácidos não voláteis, compostos nitrogenados, taninos, álcoois superiores e minerais. Extrato seco reduzido é o extrato seco menos o teor de açúcar. As amostras de vinho do caju analisadas apresentaram extrato seco dentro da faixa normalmente encontrada por outros pesquisadores, a saber: em vinhos de uva, de 20 a 30 g/L (AMERINE & OUGH, 1980); em vinhos de caju elaborados com a mesma levedura utilizada no presente estudo, de 5,05 a 30,4 g/L (FARIA, 1994); em vinhos brancos varietais nacionais, de 14,52 a 19,34 g/L (MIELE *et al.*, 1994).

O teor de cinzas e sua alcalinidade são parâmetros utilizados para se detectar fraudes nos vinhos. A alcalinidade das cinzas é a medida da quantidade dos sais de ácidos orgânicos presentes no mosto e no vinho. RIZZON *et al.* (1987), determinando as características analíticas de vinhos do Rio Grande do Sul encontraram valores médios entre 12,3 e 17,0 meq/L, inferiores aos encontrados nos vinhos de caju deste estudo.

A quantidade de anidrido sulfuroso (SO₂) livre variou entre 1,1 a 17,8 mg/L, valores bastante baixos em relação àqueles encontrados por BEHRENS(1998) em vinhos brancos varietais nacionais (11,25 a 53,33 mg/L). No entanto, os teores de SO₂ total (168,7 a 228,6) apresentaram-se um pouco elevados quando comparados aos normalmente encontrados em vinhos brancos nacionais entre 76,80 e 157,0 (MIELE *et al.*, 1994). A tendência mundial é de se manter o teor de SO₂ total, em vinhos, entre 35 e 125 mg/L (BALDY, 1993).

O índice de cor variou ligeiramente entre amostras fermentadas na mesma temperatura, diminuindo com o aumento da sulfitação, ou seja, amostras que receberam maior dosagem de metabissulfito apresentaram-se mais claras. Esse resultado foi também obtido por CHIRIVELLA *et al.* (1988) para vinhos de uva elaborados com diferentes níveis de sulfitação. Foi também observada diferença entre o índice de cor das amostras fermentadas a diferentes temperaturas, sendo que os vinhos elaborados à temperatura de 18°C apresentaram índice de cor bem mais baixos (cor mais clara) que os vinhos elaborados a 30°C.

5.3.2 Análise cromatográfica

A análise cromatográfica de alta resolução dos isolados dos oito tratamentos de vinho de caju revelou a presença de um total de 52 compostos voláteis. Nas Figuras 5.1 e 5.2

são apresentados os cromatogramas típicos dos vinhos elaborados a temperatura ambiente (30°C) e sob refrigeração (18°C), respectivamente, de forma comparativa entre os diferentes níveis de sulfitação utilizados. A Tabela 5.2 apresenta a identificação de cada composto realizada através da CG-EM e os Índices de Kovats determinados neste estudo. A numeração dos compostos é a mesma utilizada na identificação dos picos da Figura 5.3. Os Índices de Kovats teóricos, bem como os principais fragmentos obtidos nos espectros de massas constam do Anexo 1. Compostos para os quais não foi possível encontrar o valor de Índice de Kovats teóricos foram considerados “tentativamente identificados”.

Nessa mesma tabela são apresentadas as áreas padronizadas médias dos picos representativos dos compostos voláteis detectados em cada um dos tratamentos analisados, e os resultados da análise de variância constam da Tabela 5.3.

Foram detectados, no *headspace* das amostras de vinho do caju, 18 ésteres, 8 álcoois, 3 dióis, 4 ácidos, 2 aldeídos, 2 terpenos, 1 cetona, 1 isômero do estireno (1,3,5,7 ciclooctatetraeno – COT) e 13 compostos não identificados. Os compostos majoritários foram álcool isoamílico, acetato de isoamila, octanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, isobutanol e o COT.

Os resultados da análise de variância realizada para os compostos que apresentaram valores de área padronizada superiores a traços em todos os tratamentos são mostrados na Tabela 5.3. Observou-se que a temperatura de fermentação provocou variação estatisticamente significativa na área da maioria dos compostos analisado, com exceção dos compostos *trans*-2-butanoato de etila, 3-metil-1-butanol, ácido 2-metil butanóico e álcool feniletilico que não apresentaram $p_{TEMP} \leq 0,05$. De modo inverso, a variação do nível de sulfitação do mosto provocou variação estatisticamente significativa em apenas um terço dos compostos analisados (butanoato de etila, isobutanol, acetato de isoamila, hexanoato de etila, lactato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila e hidrocínamate de etila).

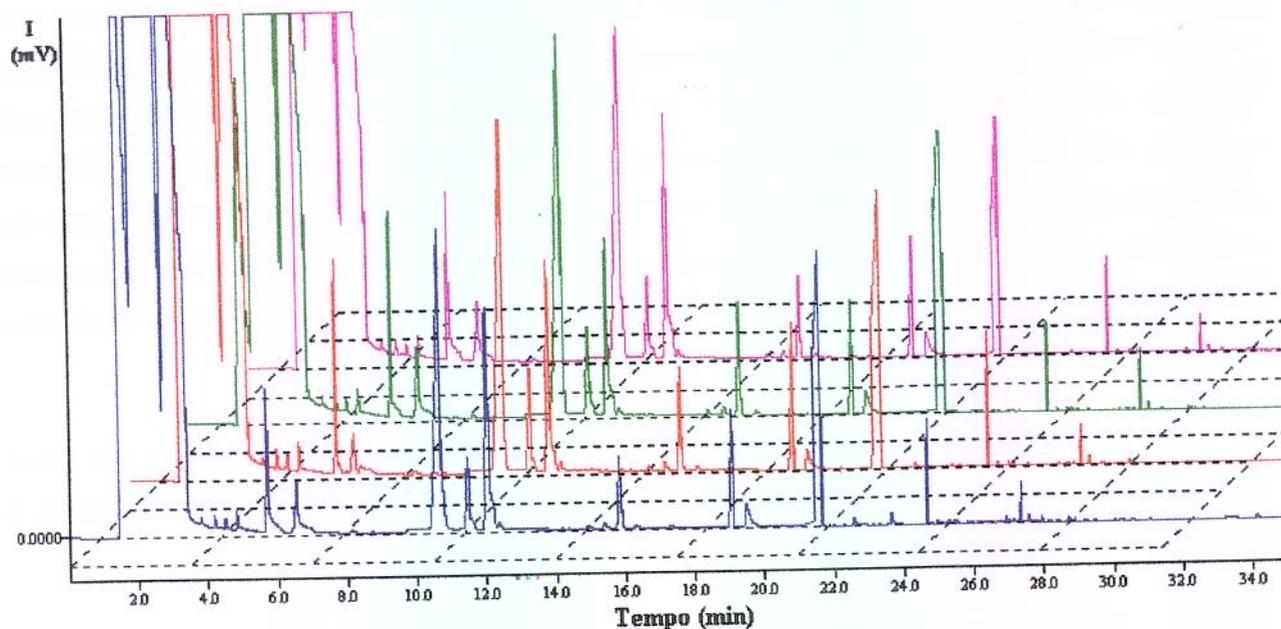


Figura 5.1 – Cromatogramas dos vinhos elaborados a temperatura ambiente (30°C):

■ 0 ppm SO₂ ■ 50 ppm SO₂ ■ 100 ppm SO₂ ■ 200 ppm SO₂

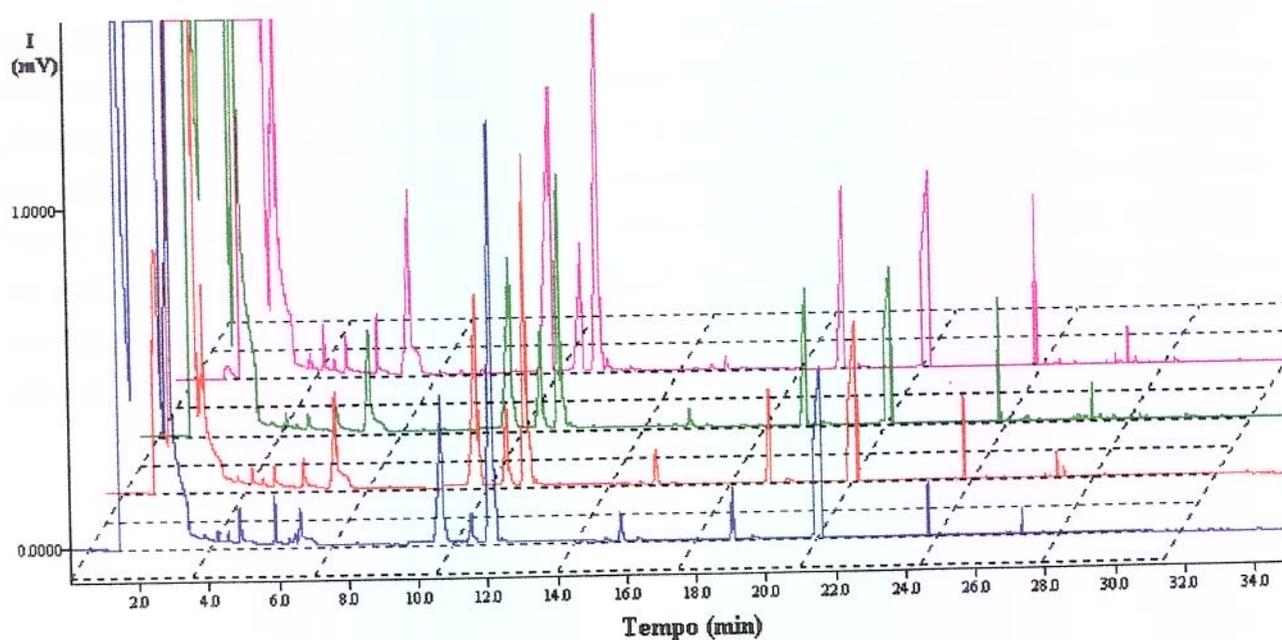


Figura 5.2 – Cromatogramas dos vinhos elaborados a temperatura refrigerada (18°C)

■ 0 ppm SO₂ ■ 50 ppm SO₂ ■ 100 ppm SO₂ ■ 200 ppm SO₂

Tabela 5.2 Área padronizada^b média dos picos representativos dos compostos voláteis do vinho do caju elaborado a 18°C (TR) e a 30°C (TA) com diferentes teores de sulfitação do mosto (0, 50, 100 e 200 ppm de SO₂).

PICO	I _{EXP} ^a	COMPOSTO	TR ₀	TR ₅₀	TR ₁₀₀	TR ₂₀₀	TA ₀	TA ₅₀	TA ₁₀₀	TA ₂₀₀
1	1014	Acetato de isobutila	nd-1,11	nd-2,31	1,39	2,54	1,02	0,94	0,94	1,23
2	1042	Butanoato de etila	1,93	6,42	6,05	8,47	1,87	2,15	1,90	2,36
3	-	NI	nd	nd	nd	nd	nd	nd-0,36	nd	tr-0,38
4	1057	2-metil butanoato de metila	2,04	2,85	2,22	2,64	2,12	2,03	1,61	1,92
5	1070	Isovalerato de etila	11,33	10,36	8,20	9,23	5,55	4,87	4,81	4,98
6	-	NI	nd	nd-0,34	nd-0,54	0,00	nd-0,16	nd-tr	nd-0,13	nd-0,10
7	1083	Isobutanol	8,94	18,62	12,66	17,29	24,78	30,04	25,76	35,55
8	-	NI	nd	nd	0,84	nd	nd	nd	nd-0,13	nd-0,15
9	1118	Acetato de isoamila	31,53	86,73	81,34	110,58	16,83	15,54	22,66	23,92
10	1150	1-butanol	0,79	tr-0,45	0,28	0,38	0,24	0,31	0,38	0,40
11	1162	Trans-2-butenato de etila	1,00	1,30	1,04	1,23	1,02	0,97	0,85	1,02
12	1175	n-acetato de amila	tr-0,59	1,45	1,30	2,35	0,15	0,31	0,26	0,28
13	1178	NI	nd-0,10	nd	nd-0,14	nd-0,14	nd	nd-0,10	nd-0,14	0,25
14	1210	3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	134,84	179,37	149,10	207,75	148,40	161,44	138,60	157,79
15	1234	NI	nd-0,84	0,56	0,53	0,45	nd-0,16	0,18	0,20	0,21
16	1239	Hexanoato de etila	nd-12,72	49,78	57,37	58,29	14,50	25,61	20,52	22,59
17	1253	1,3,5,7,ciclooctatetraeno ^d	198,79	228,77	162,69	217,07	79,31	59,76	49,01	72,34
18	1260	1-pentanol	2,64	1,85	1,09	2,53	0,60	1,66	0,95	1,28
19	1275	n-acetato de hexila	0,36	1,28	0,81	1,03	0,17	0,22	0,39	0,29
20	1280	3-hidroxi-2-butanona	tr-0,77	nd-0,16	nd-0,18	0,53	0,33	0,34	0,29	0,21
21	1282	NI	nd-0,10	nd-0,14	nd	0,10	nd	nd-0,12	nd-0,13	nd-0,14
22	1296	NI	nd	nd	nd	0,12	nd	nd-0,14	tr-0,12	nd-0,14
23	1312	cis-3-acetato de hexenila	nd-0,47	nd	nd-0,12	0,15	nd	nd	nd-0,14	nd
24	1320	4-metil-1-pentanol	0,49	0,71	0,70	0,69	0,88	1,09	0,93	0,99
25	1334	3-metil-1-pentanol	0,98	1,37	1,39	1,30	1,87	2,09	1,80	1,75
26	1345	Lactato de etila	18,71	18,26	7,65	3,59	36,29	23,65	17,76	19,52
27	1385	NI	nd-0,13	tr-0,25	nd	0,10	0,18	0,49	0,39	0,48
28	1396	Nonanal	tr-0,32	tr-0,25	0,40	0,23	0,18	0,25	0,12	0,20
29	1400	2-butoxi-etanol	0,27	tr-0,44	0,49	0,40	0,46	0,48	0,58	0,42

Continua...

Tabela 5.2 - continuação

PICO	I _{EXP} ^a	COMPOSTO	TR ₀	TR ₅₀	TR ₁₀₀	TR ₂₀₀	TA ₀	TA ₅₀	TA ₁₀₀	TA ₂₀₀
30	1436	Octanoato de etila	12,73	41,09	61,55	79,86	16,40	30,81	21,16	24,94
31	1451	Ácido acético	nd-27,63	8,72	2,20	2,40	19,76	6,31	6,59	10,06
32	1477-	Alfa-copaeno	nd	nd-0,15	nd-0,19	0,13	nd	nd	tr-0,10	nd
33	1495									
34	1490-	Decanal	nd	nd	nd	nd-0,14	nd	nd-0,23	tr-0,42	nd-0,18
35	1508	2,3-butanodiol	nd-0,23	tr-0,97	0,41	0,61	0,33	1,13	0,25	1,13
36	1540	NI	nd	nd	nd	0,11	nd	nd	nd-tr	0,17
37	1562	Propilenoglicol	nd	nd-0,39	nd-0,15	tr-0,50	nd-0,37	0,41	tr-0,23	1,24
38	1580	1,3 butanodiol	nd	nd	nd-0,11	tr-0,16	nd	0,15	tr-0,10	0,24
39	1585	Decanoato de etila	6,44	16,41	21,54	27,96	7,52	12,52	7,66	9,56
40	1649	Octanoato de isoamila	0,37	tr-0,37	0,37	0,32	0,36	0,35	0,30	0,34
41	1667									
42	1672	NI	0,60	0,74	0,46	0,62	0,63	0,61	0,60	0,67
43	1672	Ácido 2-metil butanóico	tr-0,40	0,41	0,38	tr-0,44	0,19	0,24	nd-0,11	tr-0,31
44	1674	NI	0,46	0,71	1,34	0,57	0,16	0,22	0,26	0,35
45	1680	Delta-cadineno	0,10	0,59	0,45	0,38	0,25	0,29	0,17	0,15
46	1749	Acetato de feniletila	nd-0,87	0,19	0,17	0,22	nd-0,17	tr-0,16	tr-0,10	tr-0,12
47	1815	NI	nd	nd	nd-0,79	nd	nd-0,13	nd	nd	nd
48	1834	Dodecanoato de etila	0,34	0,42	0,34	0,67	0,17	0,16	0,14	tr-0,20
49	1846	Ácido heptanóico	tr-0,17	0,42	0,80	0,65	nd	nd-0,26	0,19	0,29
50	1860	NI	nd	nd	nd	nd-0,46	nd-0,20	nd-0,31	nd-0,10	tr-0,37
51	1872	Hidrocinamato de etila	2,43	3,20	3,99	2,78	2,14	2,41	2,90	2,60
52	1888	Álcool feniletílico	0,47	1,18	0,64	0,64	0,73	0,60	0,41	0,45
53	> 1900	Ácido octanóico	0,56	0,67	1,03	1,29	0,39	0,53	0,42	0,47
54	> 1900	Cinamato de etila	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr

^a Índice de Kovats em fase estacionária Carbowax

^b Área padronizada (%) = (área do composto/área do padrão interno) x 100

^c Composto considerado "tentativamente identificado"

NI = não identificado

nd = não detectado

tr = traços (área relativa < 0,10)

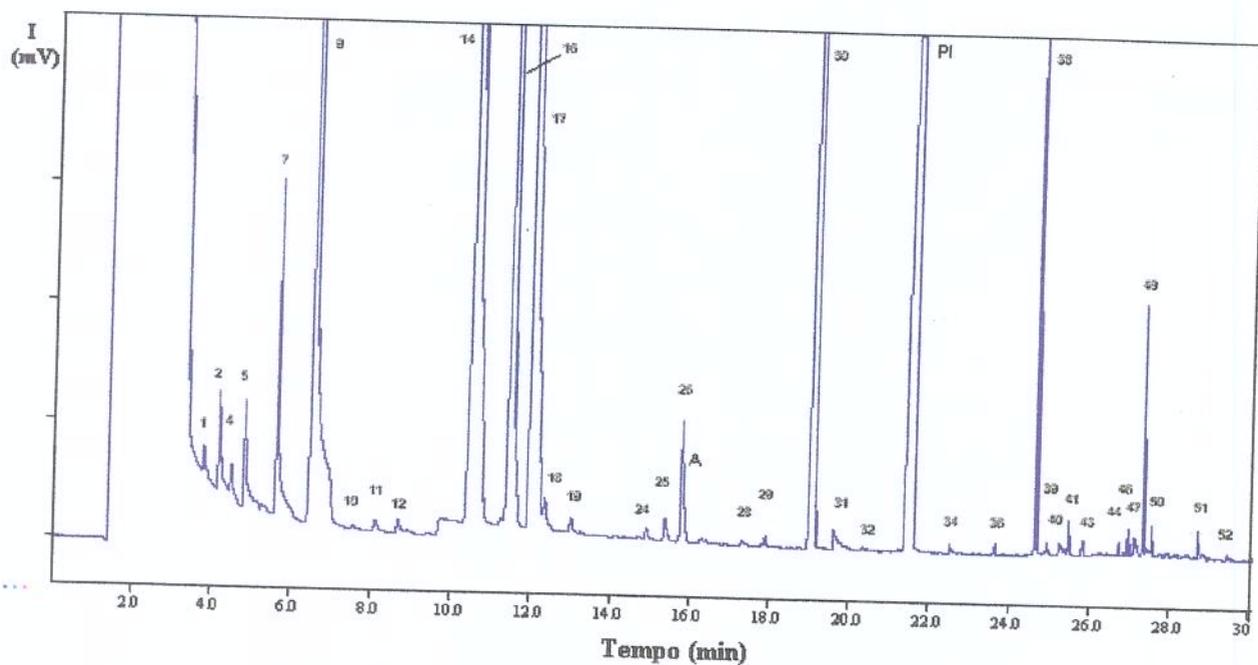


Figura 5.3 – Cromatograma típico do vinho de caju. A = impureza da acetona. PI = padrão interno

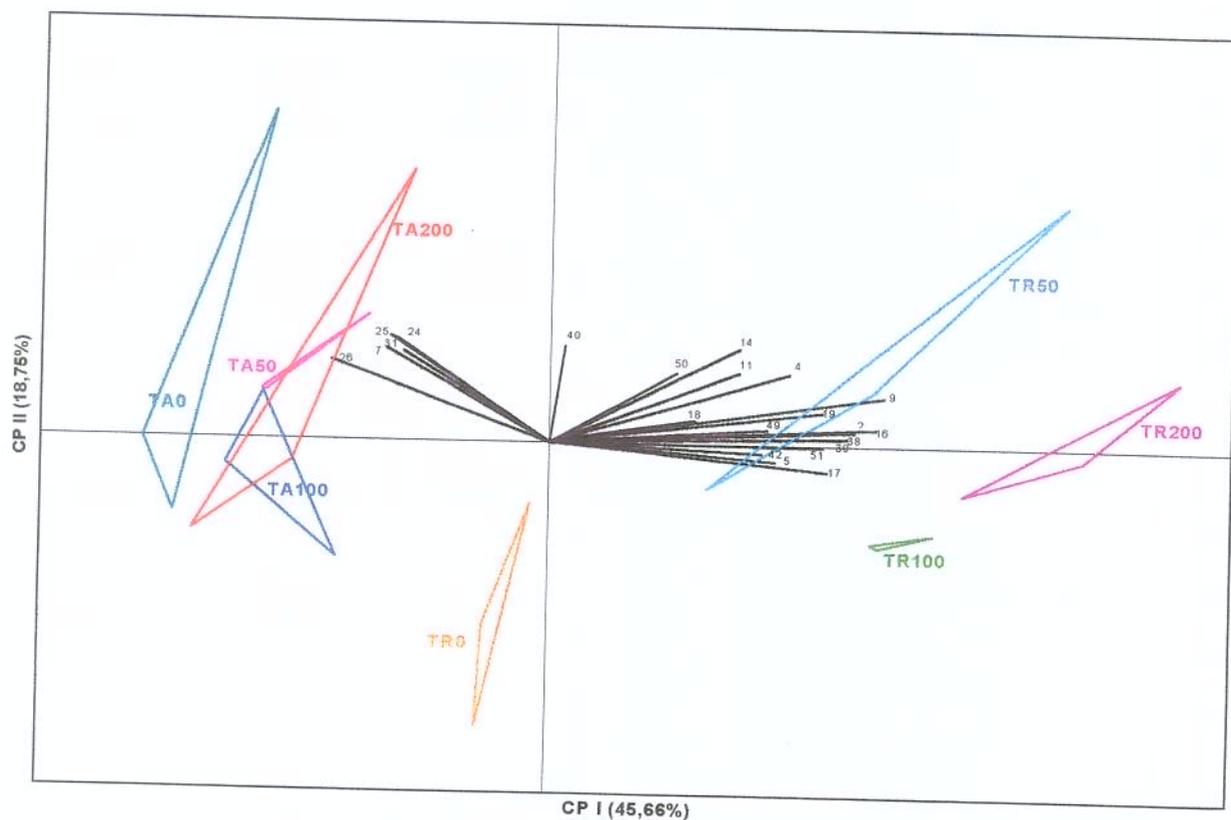


Figura 5.4 – Análise de Componentes Principais dos compostos voláteis do vinho de caju.

Tabela 5.3 – Resultados da ANOVA das áreas padronizadas médias dos compostos voláteis do vinho do caju.

PICO	COMPOSTO	P _{TEMPERATURA}	P _{SO2}	P _{TEMPXSO2}
1	Acetato de isobutila	-	-	-
2	Butanoato de etila	0,0001	0,0001	0,0621
3	NI	-	-	-
4	2-metil butanoato de metila	0,0123	0,2285	0,3216
5	Isovalerato de etila	0,0001	0,3013	0,6326
6	NI	-	-	-
7	Isobutanol	0,0001	0,0458	0,7544
8	NI	-	-	-
9	Acetato de isoamila	0,0001	0,0001	0,0001
10	1-butanol	-	-	-
11	Trans-2-butenoato de etila	0,0688	0,4218	0,5889
12	n-acetato de amila	-	-	-
13	NI	-	-	-
14	3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	0,2297	0,1062	0,4073
15	NI	-	-	-
16	Hexanoato de etila	0,0001	0,0001	0,0001
17	1,3,5,7,ciclooctatetraeno	0,0001	0,1451	0,4287
18	1-pentanol	0,0307	0,3950	0,2610
19	n-acetato de hexila	0,0015	0,1702	0,2396
20	3-hidroxi-2-butanona	-	-	-
21	NI	-	-	-
22	NI	-	-	-
23	cis-3-acetato de hexenila	-	-	-
24	4-metil-1-pentanol	0,0001	0,1190	0,7202
25	3-metil-1-pentanol	0,0001	0,3264	0,4317
26	Lactato de etila	0,0002	0,0014	0,3282
27	NI	-	-	-
28	Nonanal	-	-	-
29	2-butoxi-etanol	-	-	-
30	Octanoato de etila	0,0001	0,0001	0,0001
31	Ácido acético	0,0012	0,0876	0,0069
32	Alfa-copaeno	-	-	-
33	Decanal	-	-	-
34	2,3-butanodiol	-	-	-
35	NI	-	-	-
36	Propilenoglicol	-	-	-
37	1,3 butanodiol	-	-	-
38	Decanoato de etila	0,0001	0,0001	0,0001
39	Octanoato de isoamila	-	-	-
40	NI	-	-	-
41	Ácido 2-metil butanóico	0,7205	0,6120	0,7082
42	NI	0,0020	0,1318	0,1722
43	Delta-cadineno	-	-	-
44	Acetato de feniletila	-	-	-
45	NI	-	-	-
46	Dodecanoato de etila	-	-	-
47	Ácido heptanóico	-	-	-
48	NI	-	-	-
49	Hidrocinaamato de etila	0,0026	0,0014	0,1990
50	Álcool fenilético	0,1245	0,1306	0,1233
51	Ácido octanóico	0,0005	0,0527	0,6370
52	Cinamato de etila	-	-	-

Através da análise da Tabela 5.3 foi observada ainda uma interação TEMP X SO₂ para os compostos acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila, ácido acético e decanoato de etila, ou seja, a variação da área desses compostos nos tratamentos que receberam diferentes níveis de sulfitação foi diferente, dependendo da temperatura utilizada na fermentação. Analisando-se esses dados, separadamente por temperatura de fermentação, observou-se que os tratamentos responsáveis por essa interação foram sempre aqueles fermentados à temperatura ambiente. Isso pode indicar que esses compostos foram mais sensíveis à temperatura de fermentação, ou seja, variação da temperatura ambiente durante o período que durou a fermentação.

As diferenças existentes entre as oito amostras de vinho do caju analisadas foram melhor visualizadas através da análise estatística multivariada de Componentes Principais. (Figura 5.11), onde cada amostra é representada por um triângulo, cujos vértices representam os valores médios de cada repetição. Amostras similares ocupam regiões próximas no gráfico e apresentam maior intensidade dos compostos (representados por vetores) que se localizam mais próximos a elas. Nesse gráfico foram representadas as duas primeiras Componentes Principais, que conjuntamente explicaram 64,41% da variabilidade total observada entre as amostras.

A primeira Componente Principal dividiu as oito amostras analisadas em dois grupos distintos. O primeiro grupo situado à esquerda da figura, formado pelas amostras de vinho elaboradas à temperatura ambiente, caracterizou-se por apresentar maior intensidade de área dos compostos isobutanol, 4-metil-1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, lactato de etila e ácido acético. O segundo grupo, formado pelas amostras fermentadas a temperatura de refrigeração (18°C) com níveis de sulfitação de 50, 100 e 200 ppm, situado à direita da figura, caracterizou-se por apresentar maior intensidade de ésteres como butanoato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, n-acetato de hexila e isovalerato de etila.

Sabe-se que temperaturas muito altas de fermentação podem aumentar a produção de alguns compostos, como os álcoois superiores (MAIA, 1994). Além disso podem favorecer a perda de compostos voláteis importantes para o aroma que são arrastados pelo dióxido de carbono para fora do tanque de fermentação. MILLER *et al.* (1987) observaram que os ésteres podem ser perdidos em proporções que variam de 2 a 24%, dependendo do composto, em

temperatura de 15°C. Segundo esses autores, a perda de álcoois, no entanto, não ultrapassa 1% devido, provavelmente, à sua maior solubilidade na fase líquida.

A segunda componente discriminou as amostras em função da intensidade de área dos compostos 5 (isovalerato de etila), 17 (COT), 28 (nonanal) e 51 (ácido octanóico), porém em menor extensão, explicando apenas 18,75% da variação entre as amostras. Neste gráfico, quanto maior a projeção de um vetor sobre o eixo da componente, maior a sua importância para explicar as diferenças entre as amostras.

O vinho TR₀, elaborado à temperatura de refrigeração, mas sem adição de metabissulfito, apresentou maior semelhança com as amostras fermentadas à temperatura ambiente, evidenciando o efeito negativo da falta de proteção do mosto. Pela análise do gráfico da ACP foi possível também observar que a sulfitação só apresentou algum efeito na composição de voláteis entre as amostras fermentadas a 18°C, as quais se distribuíram em regiões distintas do gráfico.

5.4 CONCLUSÕES

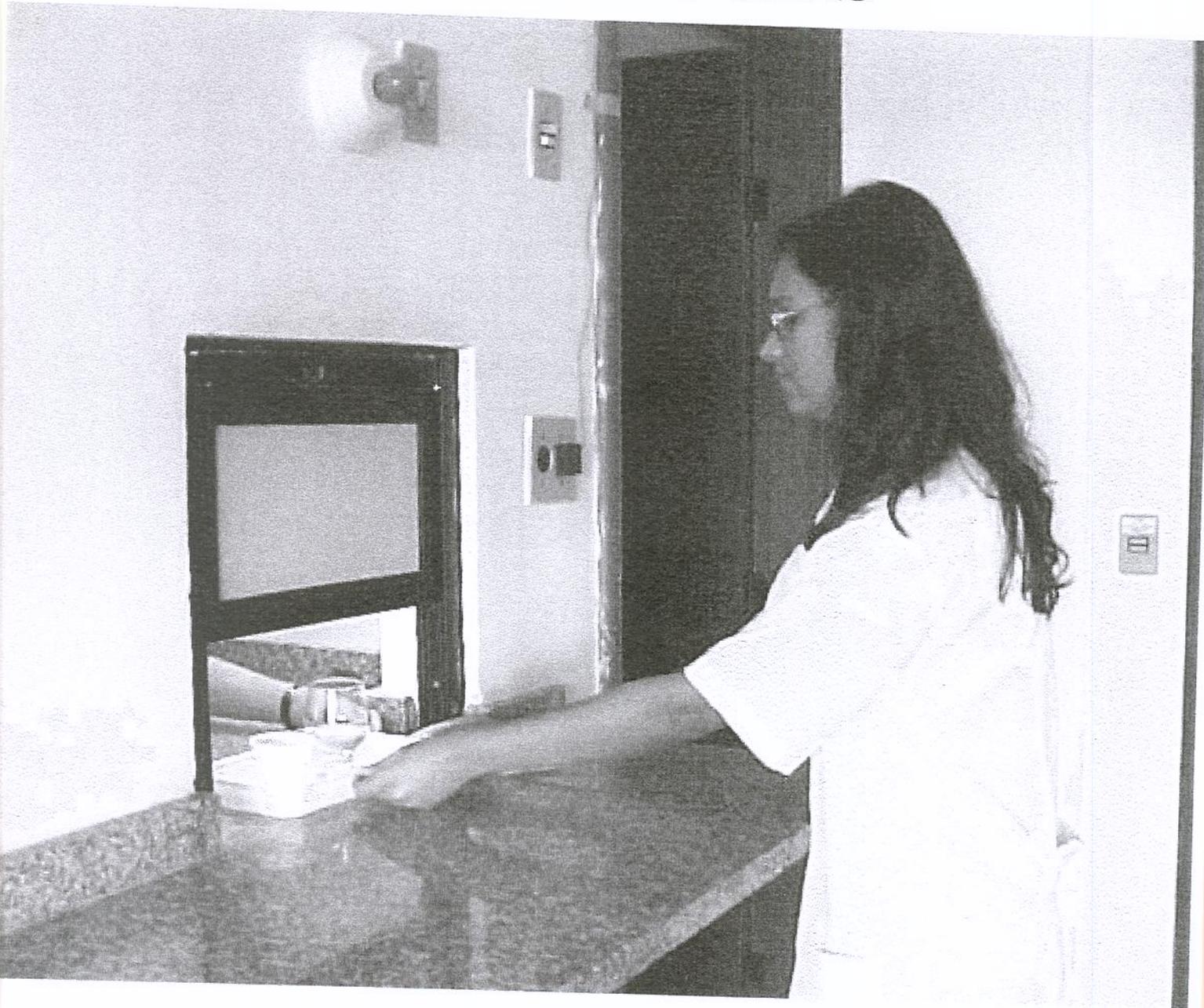
1. Os vinhos do caju CP 76 elaborados em duas temperaturas de fermentação, com diferentes níveis de sulfitação do mosto apresentaram graduação alcoólica em torno de 8,5 ° GL, caracterizando-se como “vinho leve”. Os teores de acidez total, acidez volátil, pH, açúcares redutores, extrato seco, extrato seco reduzido, dióxido de enxofre livre e índice de cor (I 420) ficaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira para vinhos brancos. Os teores de cinzas e sua alcalinidade, bem como de SO₂ total apresentaram-se um pouco elevados, quando comparados com vinhos brancos nacionais.
2. Foram detectados 52 compostos voláteis no *headspace* dos vinhos do caju, dentre os quais 18 ésteres, 8 álcoois, 3 dióis, 4 ácidos, 2 aldeídos, 2 terpenos, 1 cetona, o 1,3,5,7 ciclooctatetraeno (COT) e 13 compostos não identificados. Os compostos majoritários foram álcool isoamílico, acetato de isoamila, octanoato de etila, hexanoato de etila, decanoato de etila, isobutanol e o COT.
3. A variação da temperatura de fermentação influenciou mais a composição vinho de caju que a variação nas dosagens de SO₂. Os vinhos elaborados à temperatura mais elevada (30°C) apresentaram maior produção de isobutanol, 4-metil-1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, lactato de etila e ácido acético.
4. As amostras fermentadas à temperatura mais baixa (18°C) apresentaram maior intensidade de ésteres como butanoato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, n-acetato de hexila e isovalerato de etila.
5. efeito da sulfitação do mosto foi mais intenso nas amostras fermentadas sob refrigeração, sendo que a amostra sem sulfitação (TR₀) apresentou um perfil de compostos voláteis mais parecido com as amostras fermentadas a 30°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ACREE, T.E.; HEINRICH, Flavornet – Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products. www.nysaes.cornell.edu/flavornet/chem.html 20 de junho de 2000.
- (2) AMERINE, M.A. BERG, M.S.; CRUESS, W.V. Fruit wines. In: AMERINE, M.A.; BERG, M.S.; CRUESS, W. **The technology of wine making**. Westport: AVI, 1972. p.523-547.
- (3) AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Methods for analysis of musts and wines**. New York: John Wiley & Sons, 1980. 341p.
- (4) AMERINE, M.A.; ROESSLER, E.B. **Wines - Their sensory evaluation**. San Francisco: W.H. Freeman and Co, 1983. 432p.
- (5) AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis**. Washington, 1990.
- (6) BALDY, M.W. **The university wine course**. San Francisco: The wine appreciation guide, 1993. 426 p.
- (7) BEHRENS, J.H. **Avaliação do perfil sensorial e aceitação de vinhos brancos varietais Riesling, Gewürztraminer e Chardonnay produzidos no Brasil**. Campinas, 1998. 174p. Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas.
- (8) BORGES, M.F.; BRINGEL, M.H.F.; CAMPOS, J.O.S.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. I- produção de H₂S. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de 1995. **Programa e resumos do ...** Santos: Soc. Bras. Microbiologia, p. 219, 1995.
- (9) BRASIL MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. Portaria número 84 de 25 de abril de 1988. **Diário Oficial da União, Brasília, 04 de maio de 1988**. Dispõe sobre a complementação dos padrões de identidade e qualidade de vinho.
- (10) BRASIL. Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório nacional de Referência Vegetal. Metodologia de Análise de Bebidas e Vinagres, 1986. 86p.
- (11) BRINGEL, M.H.F.; CASIMIRO, A.R.S.; BORGES, M.F.; CAMPOS, J.O.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: tolerância a SO₂. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 5-9 de novembro de 1995. **Anais do ...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. B1-33, 1995.
- (12) CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F.; CASIMIRO, A.R.S. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju: Tolerância a etanol. In: SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 1. Campinas, 13-16 de novembro de 1995. **Programa Científico...**, Campinas: FEA-UNICAMP, p. 119, 1995.
- (13) CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.S.; BRINGEL, M.H.F.; BORGES, M.F. Avaliação de leveduras industriais na fermentação do suco de caju. II: aspectos cinéticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, Santos-SP, 2-5 de setembro de 1995. **Programa e resumos do ...** Santos: Soc. Bras. Microbiologia, p. 221, 1995.
- (14) CHIRIVELLA, M.C.; HABA, M.; PEREZ, A. Vinification avec diverses doses d'anhydride sulfureux. **Revue Française D'Oenologie**, v. 115, p.39-45, 1988.

- (15) DIAS, A.L.M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju**. Fortaleza, 1996. 94p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, UFC.
- (16) FAÇANHA, S.H.F. **Estudo dos parâmetros cinéticos básicos da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado** Fortaleza, 1998. 156p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, UFC.
- (17) FARIA, F.S.E.D.V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale*, L.) em diferentes condições de fermentação**. Fortaleza, 1994. 99 p. Tese (Mestre em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (18) FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatile on Porapak Q by suction. **J. Sci. Food Agric.**, v.34, n.3, p.293-299, 1983.
- (19) HASHIZUME, T. Fundamentos de tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. *et al.* (org.) **Biotechnologia: alimentos e bebidas produzidos por fermentação**. São Paulo: Edgard Biücher, 1983.
- (20) HERRAIZ, T.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; REGLERO, G.; HERRAIZ, M.; CABEZUDO, M.D. Differences between wines fermented with and without sulphur dioxide using various selected yeasts. **J.Sci. Food Agric.**, v.49, n.2, p. 249-258, 1989.
- (21) JENNINGS, W. ; SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography** NY: Academic Press, 1980, 472p.
- (22) MAIA, A.B. Componentes secundários da aguardente. **STAB** v.12, n.6, p.29-34, 1994
- (23) MAYER, R.C.; LEYGUE-ALBA, N.M.R. **Manual de métodos analíticos enológicos**. Caxias do Sul: Universidade de Caxias do Sul, 1991. 49p.
- (24) MIELE, A.; RIZZON, L.A.; ZANUZ, M.C. Avaliação nacional de vinhos – Safra 1993. **Bol. SBCTA**, v.28, n.2, p.161-169, 1994.
- (25) MILLER, G.C.; AMON, J.M.; SIMPSON, R.F. Loss of aroma compounds in carbon dioxide effluent during white wine fermentation. **Food Techn. Austr.**, v.39, n.5, p.246-249, 1987.
- (26) OWUAMA, C.I.; SAUNDERS, J.R. Physiological variants of *S. cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* from palm wine and cashew juice. **J. Appl. Bacter.** v.6, n.5, p.491-494, 1990.
- (27) PARRO, A.C. Os alcóois superiores do sumo fermentado de caju. **Revista Ciência Agrônômica**, v.4, n.3, p.47-68, 1971. Série B.
- (28) RICHARDI, N.B. Acción del anidrido sulfuroso sobre el metabolismo celular de las leveduras. In: CARRAU, J.L. & CALLEGARI-BASSO, R.M. **Novos enfoques de microbiologia enológica**. Caxias do Sul: Univers. de Caxias do Sul, p. 67-82, 1978a.
- (29) RICHARDI, N.B. Formacion biologica del anidrido sulfuroso, acido sulfídrico y mercaptanas por las leveduras. In: CARRAU, J.L. & CALLEGARI-BASSO, R.M. **Novos enfoques de microbiologia enológica**. Caxias do Sul: Univers. de Caxias do Sul, p. 83-93, 1978b.
- (30) RIZZON, L.A.; SALVADOR, M.B.G.; GATTO, N.M. Características analíticas dos vinhos brancos de quatro municípios da Microregião Homogênea Vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311). In: **SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE VITICULTURA E ENOLOGIA**, Bento Gonçalves, p.83-93, 1987.
- (31) SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.

CAPÍTULO SEIS



CAPÍTULO 6. EFEITO DA SULFITAÇÃO DO MOSTO E DA TEMPERATURA DE FERMENTAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS DO VINHO DE CAJU

6.1 INTRODUÇÃO

Na última década algumas instituições brasileiras de pesquisa vêm somando esforços no sentido de desenvolver uma bebida fermentada de caju similar ao vinho com o objetivo de contribuir para um maior aproveitamento do pseudofruto nas regiões produtoras de castanha de caju (MEDEIROS, 1990; FARIA, 1994; DIAS, 1996; ABREU, 1997; FAÇANHA, 1998; FERREIRA, 1998).

A aceitação de uma bebida alcoólica fermentada está diretamente relacionada ao seu sabor. O sabor, por sua vez, é uma resposta integrada do gosto (doce, amargo, ácido e salgado) e do aroma, sendo este dado pela presença de numerosos compostos voláteis. São muitos os fatores que afetam a composição e concentração desses compostos voláteis: fatores ambientais, variedade e grau de maturação da matéria-prima, tratamentos pré-fermentativos, espécie e linhagem da levedura utilizada, condições durante o período de fermentação (pH, temperatura, nutrientes, microbiota), tratamentos pós-fermentativos e condições de armazenamento (SHIMAZU & WATANABE, 1981; MAIA, 1994; TROMP, 1984; LÓPEZ *et al.*, 1995; PINAL *et al.*, 1997; DELAQUIS *et al.*, 2000).

Alguns autores têm utilizado a Análise Descritiva Quantitativa das características sensoriais dos vinhos para determinar diferenças provocadas por esses fatores (NOBLE & SHANNON, 1987; HEYMANN & NOBLE, 1987; OHKUBO *et al.*, 1987; DE LA PRESA-OWENS & NOBLE, 1995; FISCHER *et al.*, 1999).

FARIA (1994), estudando a influência de duas linhagens de leveduras *Saccharomyces* na elaboração de vinho de caju, em diferentes condições de fermentação, concluiu, através da análise sensorial, que os melhores resultados foram obtidos com a levedura *Saccharomyces bayannus*, utilização de clarificação e sulfitação do mosto.

Algumas formulações de vinho de caju também já foram analisadas sensorialmente. Dois tipos de vinho de caju, seco e suave, foram submetidos à avaliação sensorial por GARRUTI *et al.* (1996b), através de uma ficha desenvolvida pelo Centro Nacional de Uva e

Vinho da EMBRAPA, utilizada na classificação de vinhos de uva. Ambos os vinhos de caju foram classificados como "muito bom". Os pontos alcançados por esses vinhos corresponderam às médias obtidas por vinhos brancos frutados, classificados nos primeiros lugares na Avaliação Nacional de Vinhos, realizada por MIELE *et al.* (1994).

Utilizando um diagnóstico de atributos para otimizar uma formulação de vinho gaseificado de caju (4,5° GL, 12° Brix, 2 vol. CO₂), GARRUTI *et al.* (1996a) o produto atingiu a categoria "bom" em uma escala de sete (7) pontos (péssimo, muito ruim, ruim, nem bom nem ruim, bom, muito bom e excelente) na característica 'impressão global'. Em trabalho posterior (ABREU, 1997) o vinho gaseificado de caju com 3,5 vol de CO₂ e 11,5° Brix e 7,7° GL foi classificado entre bom (58% dos julgadores) e muito bom (28%), além de receber a classificação "ideal" para todas as características avaliadas pela escala do ideal: cor, doçura, teor alcoólico e teor de gás carbônico.

No entanto, até o momento, nenhum trabalho foi realizado no sentido de caracterizar os atributos sensoriais do vinho de caju. Apenas sua matéria-prima, o suco de pseudofrutos de cajueiro anão precoce, foi estudado por GARRUTI *et al.* (1999) através da Análise Descritiva Quantitativa. Foram selecionados nove (9) atributos para descrever a qualidade sensorial do pseudofruto, a saber: 'cor amarela', 'turbidez', 'caju', 'doce', 'ácido', 'adstringente', 'aspereza na língua', 'corpo', 'irritação na garganta', sendo incluída também a 'impressão global'. Através da Análise de Componentes Principais 'adstringente' e a 'ácido' apresentaram alta correlação com seus efeitos na língua e garganta. O clone CP 76 foi o que apresentou suco de melhor qualidade, recebendo valores mais altos para sabor de 'caju', 'doce' e 'impressão global' e menores notas para 'adstringente', em uma escala de intensidade não - estruturada de 10 cm.

O presente trabalho teve como objetivo principal estudar a influência da temperatura de fermentação e da sulfitação do mosto nas características sensoriais do vinho do caju CP 76, complementando o estudo anterior sobre a influência desses parâmetros de vinificação na composição de compostos voláteis presentes no *headspace* das amostras (Capítulo 5).

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Elaboração do vinho de caju

Os vinhos foram elaborados através da fermentação de suco extraído de pseudofrutos de caju do clone CP 76 colhidos no Campo Experimental de Paraipaba, do CNPAT/EMBRAPA, no Ceará. A elaboração do vinho foi conduzida na planta piloto da Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial – NUTEC, em Fortaleza, utilizando-se o mesmo procedimento descrito no Capítulo 5, item 5.2.1.

Os produtos obtidos foram codificados da seguinte maneira:

Tratamento	Temperatura	Teor SO ₂ livre
TA ₀	ambiente (30°C)	0 ppm
TA ₅₀	ambiente (30°C)	50 ppm
TA ₁₀₀	ambiente (30°C)	100 ppm
TA ₂₀₀	ambiente (30°C)	200 ppm
TR ₀	refrigeração (18°C)	0 ppm
TR ₅₀	refrigeração (18°C)	50 ppm
TR ₁₀₀	refrigeração (18°C)	100 ppm
TR ₂₀₀	refrigeração (18°C)	200 ppm

6.2.2 Análises físico-químicas

As seguintes análises físico-químicas das amostras de vinho do caju foram realizadas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Uva e Vinho da EMBRAPA, em Bento Gonçalves – RS:

6.2.2.1 – Densidade a 20°C - em densímetro digital segundo MAYER & LEYGUE-ALBA (1991).

6.2.2.2. Teor alcoólico - segundo método descrito por AMERINE & OUGH (1980)

6.2.2.3 Acidez total e volátil - segundo métodos descritos por AMERINE & OUGH (1980).

6.2.2.4 pH - segundo o procedimento descrito pela AOAC (1990).

6.2.2.5 Índice de cor (Abs 420nm) - segundo o procedimento de AMERINE & OUGH (1980).

6.2.2.6 Extrato seco e extrato seco reduzido - segundo M.A./Portaria 076 (BRASIL, 1986).

6.2.2.7 Cinzas e alcalinidade das cinzas - segundo M.A./Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

6.2.2.8 Açúcares redutores - segundo M.A./Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

6.2.2.9 Dióxido de enxofre livre e total - segundo M.A./Portaria nº 076 (BRASIL, 1986).

6.2.4 Análise sensorial dos vinhos

6.2.4.1 Análise Descritiva Quantitativa

O perfil sensorial das amostras foi realizado através do método da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), segundo STONE *et al* (1974).

a) Recrutamento e pré-seleção dos candidatos a julgadores

Inicialmente foram recrutados trinta indivíduos entre os pesquisadores e técnicos do Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária, CNPAT-EMBRAPA, sendo testados quanto a afinidade face ao produto, disponibilidade de tempo, interesse em participar dos testes e outros parâmetros ligados à saúde e hábitos, através de questionário e entrevista pessoal (MEILGAARD *et al*, 1987). Os candidatos foram então pré-selecionados para o desenvolvimento da terminologia descritiva do vinho de caju, observando-se dois critérios:

i) memória e acuidade olfativa

Utilizou-se o Teste de Reconhecimento de Odor (ASTM, 1981), onde cada candidato foi solicitado a descrever a qualidade de um conjunto de estímulos odoríferos. As substâncias foram colocadas em béqueres de 50 ml recobertos com papel alumínio e tampados com papel alumínio perfurado para evitar a identificação visual da amostra. Em seguida foi apresentado um segundo conjunto de aromas, acondicionados e codificados da mesma forma, contendo as mesmas substâncias do primeiro conjunto, mas em ordem diferente. O teste foi realizado em duas sessões. O modelo de ficha utilizado é apresentado na Figura 6.1 e as substâncias odoríferas, utilizadas em cada sessão, estão relacionadas na Figura 6.2. Foi dada uma nota para cada substância analisada, de acordo com a escala de quatro pontos (0 – 3):

- 3= similaridade total, identificação correta
- 2= substância bastante similar, associação direta
- 1= substância ligeiramente similar
- 0= nenhuma similaridade ou não descreveu

Indivíduos que atingiram o mínimo de 80% de acertos (média 2,4) passaram para a segunda etapa, sendo avaliados quanto a sua capacidade discriminatória.

ii) capacidade discriminatória

O poder discriminativo de cada julgador foi avaliado através do Teste Triangular (HELM & TOLLE, 1946; ASTM, 1981) através da Análise Seqüencial de Waald (GARRUTI, 1976; SHIROSE, 1977). Assim, a cada julgador foram servidas três amostras, sendo duas iguais e uma diferente, em copos formato tulipa. Os candidatos foram orientados a avaliar as amostras e indicar qual era diferente, utilizando a ficha de avaliação mostrada na Figura 6.3.

Os candidatos realizaram testes até que fossem aprovados ou reprovados segundo os parâmetros pré-fixados:

p_0 = máxima habilidade aceitável = 0,35 p_1 = mínima habilidade aceitável = 0,65

α = probabilidade de aceitar candidato sem acuidade = 0,01

β = probabilidade de rejeitar candidato com acuidade = 0,05

As equações de reta que definiram as regiões de rejeição e aceitação foram:

$L_0 = h_0 + ms$ e $L_1 = h_1 + ms$, onde:

$$h_0 = \frac{\log \frac{\beta}{1-\alpha}}{\log \frac{p_1}{p_0} - \log \frac{1-p_1}{1-p_0}} \quad h_1 = \frac{\log \frac{1-\beta}{\alpha}}{\log \frac{p_1}{p_0} - \log \frac{1-p_1}{1-p_0}} \quad s = \frac{\log \frac{1-p_0}{1-p_1}}{\log \frac{p_1}{p_0} - \log \frac{1-p_1}{1-p_0}}$$

A Figura 6.4 apresenta o gráfico utilizado na análise seqüencial para a seleção de candidatos que iriam participar da etapa de desenvolvimento da terminologia descritiva do vinho de caju. Foram necessários dez testes para selecionar doze julgadores, fornecendo-se aos candidatos amostras de vinho de caju com características modificadas propositadamente: variações na concentração (diluições com água), variações de doçura (adições de sacarose) e variação no teor de álcool (adições de álcool etílico).

SELEÇÃO DE JULGADORES		
TESTE DE RECONHECIMENTO DO ODOR E MEMÓRIA SENSORIAL		
Nome _____		Data _____
Instruções: Os frascos cobertos contêm substâncias odoríferas. Por favor, avalie o primeiro conjunto da seguinte maneira: leve o frasco ao nariz, remova a tampa, faça 3 inspirações breves e tente identificar o odor. Se você não conseguir identificar exatamente o nome da substância, tente descrever algo que esse odor lembra a você.		
Amostras do primeiro conjunto	Descrição do aroma	Código da amostra do segundo conjunto
132		
234		
701		
468		
550		
317		
543		
189		
069		
851		
210		
763		
Em seguida avalie o segundo conjunto de amostras codificadas e relacione cada aroma deste conjunto a um aroma do primeiro conjunto.		
Comentários :		

Figura 6.1 - Modelo de ficha de avaliação para o teste de reconhecimento do odor.

DESCRITOR	CLASSE	SUBSTÂNCIA	REFERÊNCIA
Frutado	Cítrico Frutas tropicais	Limão	10 mL de suco de limão
		Caju	10 mL de suco de caju natural
		Abacaxi	10 mL de suco de abacaxi processado
		Maracujá	5 mL de suco de maracujá processado
Vegetativo	Fresco	Gramma cortada	1 punhado de grama recém cortada (20mm de comprimento)
		Eucalipto	2 gotas de essência de eucalipto em papel de filtro
Caramelizado	Caramelo	Mel	10 mL de mel de abelha
Amadeirado	Fenólico	Baunilha	2 gotas de essência de baunilha em papel de filtro
Químico	Sulfuroso Pungente	Ovo	¼ de gema de ovo cozido
		Ácido acético	5 ml de vinagre em 50 mL de vinho branco
Químico	Pungente	Etanol	15 mL de etanol em 50 mL de vinho branco
		logurte	50 mL de iogurte natural
Microbiológico	Lático	Manteiga	10 g de manteiga
Floral	Floral	Flor silvestre	Pétalas de flores do campo
Especiarias	Especiarias	Cravo	Um punhado de cravos da Índia

Figura 6.2 - Referências de aroma regularmente encontrados em vinho (baseado em NOBLE *et al*, 1987) utilizados no teste de reconhecimento de odor.

SELEÇÃO DE JULGADORES
TESTE TRIANGULAR PARA VINHO DE CAJU

Nome _____ Data: _____ Teste : _____

Você está recebendo três amostras codificadas de vinho de caju. Duas amostras são iguais e uma é diferente. Por favor, prove cada uma das amostras, da esquerda para a direita, e identifique, com um círculo, a amostra diferente. Lave a boca com água entre cada amostra.

Comentários: _____

Figura 6.3 - Modelo de ficha para o Teste Triangular

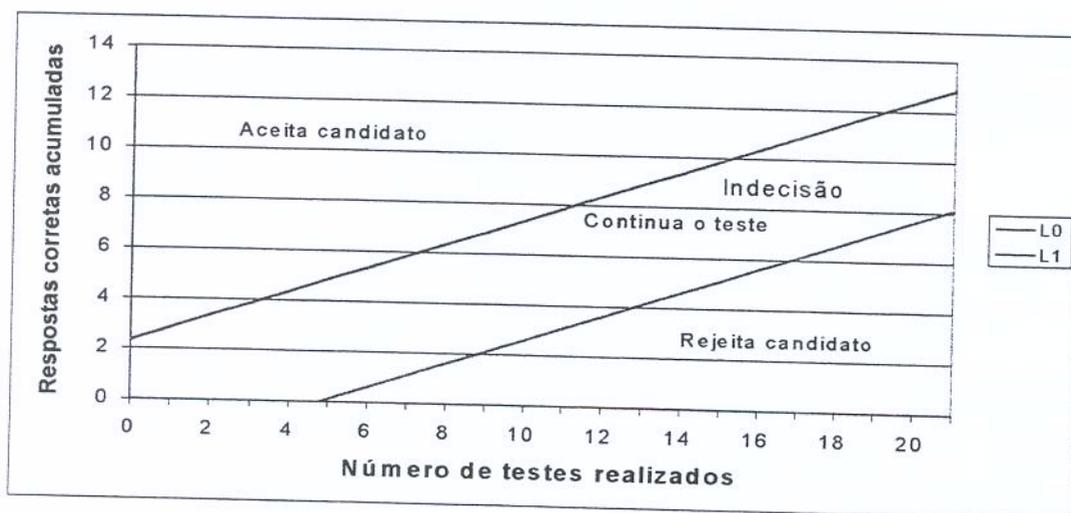


Figura 6.4 - Gráfico utilizado na análise sequencial para a pré-seleção de julgadores

b) Desenvolvimento da terminologia descritiva

O levantamento dos descritores foi realizado através do Método de Rede proposto por MOSKOWITZ (1983). Foram escolhidas três amostras que representassem o universo dos tratamentos de vinho a serem analisados, as quais foram apresentadas aos julgadores em todas as combinações possíveis, duas a duas. Foi solicitado que cada julgador, em cabinas individuais, descrevesse as similaridades e as diferenças entre elas, com relação à aparência, aroma, sabor, sensações bucais, sabor e sensações residuais utilizando a ficha ilustrada na Figura 6.5.

Após cada julgador ter gerado seus próprios termos, foi realizada uma discussão em grupo, sob a supervisão de um moderador, com o objetivo de agrupar termos semelhantes e eliminar aqueles que não eram percebidos pela maioria dos julgadores. Em sessões posteriores de avaliação das amostras e de referências foi elaborada uma Ficha de Avaliação contendo os termos descritivos escolhidos em consenso pela equipe sensorial. Nessa ficha foi utilizada uma escala linear não estruturada de 9 cm, ancorada nas suas extremidades com termos que expressam intensidade. Nessa etapa foi também elaborada uma lista de definições dos termos descritivos para melhor uniformizar o julgamento dos julgadores.

NOME: _____		DATA: ___/___/___		AMOSTRAS _____ e _____	
<p>Você está recebendo duas amostras de vinho de caju. Por favor, avalie as amostras e descreva suas similaridades e diferenças quanto à aparência, ao aroma, ao sabor e as sensações bucais que as caracterizam. Ao provar, coloque uma porção da amostra suficiente para cobrir a língua. Em seguida leve a amostra por todos os lados da língua.</p>					
	Similaridades		Diferenças		
Aparência	_____		_____		
Aroma	_____		_____		
Sabor	_____		_____		
Sensações bucais	_____		_____		
Sabor residual	_____		_____		
Sensação bucal residual	_____		_____		

Figura 6.5 - Modelo de ficha do Método Rede.

c) Treinamento e seleção final da equipe de ADQ

Além das sessões para desenvolvimento da terminologia, o treinamento dos julgadores constou da avaliação de três amostras de vinho de caju, em delineamento experimental de blocos completos casualizados, com três repetições. Os julgadores utilizaram a própria Ficha de Avaliação desenvolvida na etapa anterior, sendo-lhes permitido consultar, a qualquer momento da sua análise, a lista de definições e as referências.

A Análise de Variância foi aplicada aos resultados de cada julgador, para cada descritor avaliado, tendo como fontes de variação: amostras e repetições. Para compor a equipe descritiva final foram selecionados aqueles julgadores que apresentaram bom poder discriminativo ($p_{\text{amostra}} < 0,30$); boa reprodutibilidade nos julgamentos ($p_{\text{repetição}} > 0,05$), e consenso com os demais membros do grupo, segundo metodologia proposta por DAMÁSIO & COSTELL (1991).

d) Avaliação das amostras

Para avaliação dos tratamentos de vinho, os julgadores selecionados avaliaram cada uma das seis amostras, em cinco repetições, sendo três amostras por sessão, segundo delineamento em blocos balanceados (COCHRAN & COX, 1957). A análise das amostras foi realizada através da ficha de avaliação desenvolvida anteriormente, por meio de uma escala linear não estruturada de 0 - 9 cm para cada descritor.

As amostras foram servidas a 16 - 18°C em porções de aproximadamente 30 mL, apresentadas em copos formato tulipa, codificados com números de três dígitos. As análises foram realizadas em cabinas individuais dotadas de ar refrigerado (24°C) e luz vermelha. Para eliminar o sabor residual entre uma amostra e outra foram oferecidos cubinhos de queijo branco frescal e água mineral.

e) Análise estatística

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), Teste de Tukey ao nível de 5% de significância para comparação entre as médias e Análise de Componentes Principais (ACP), através do programa estatístico SAS (1992) para ambiente Windows.

6.2.4.2 Testes de aceitação

A aceitação dos vinhos do caju CP 76 foi avaliada em testes piloto, de acordo com metodologia descrita por MEILGAARD *et al.* (1983), com a participação de consumidores potenciais do produto (consumidores de vinho branco) de duas localidades diferentes: Fortaleza e Campinas.

a) Recrutamento dos julgadores

Inicialmente foi realizado um recrutamento por meio de questionário, entre alunos de graduação, pós-graduação, professores e funcionários da Universidade Federal do Ceará e da Embrapa Agroindústria tropical, em Fortaleza, bem como da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, em Campinas. O questionário utilizado nesta etapa é mostrado na Figura 6.6.

b) Teste sensorial de aceitação

Com base nas respostas oferecidas no questionário, foram selecionados 48 julgadores em cada localidade, considerando idade, disponibilidade de tempo, interesse em participar dos testes e frequência de consumo de vinho branco.

Os testes de aceitação foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial, em cabinas individuais, sob condições controladas. Cada indivíduo recebeu uma taça codificada com números de três dígitos, contendo cerca de 30 mL da amostra à temperatura usual de consumo (16-18°C). As amostras foram avaliadas sob luz branca tipo “luz do dia” quanto ao aroma e impressão global, através de uma escala hedônica estruturada de 9 pontos (Figura 6.7).

Na mesma ficha foi avaliada a doçura e acidez da amostra, por meio da Escala do Ideal (“*just right scale*”), onde o julgador compara a amostra com seu próprio padrão mental do que seja uma doçura ou acidez ideal para vinho branco. Foi também incluída ainda uma escala para avaliar a atitude do consumidor numa situação hipotética de compra do produto.

c) Análise estatística

Os resultados foram analisados através da Análise de Variância e Teste de Tukey para comparação de médias, sendo apresentados também na forma de histogramas.

RECRUTAMENTO DE JULGADORES PARA DEGUSTAÇÃO DE VINHO DE CAJU	
DADOS PESSOAIS	
NOME:	_____
TELEFONE PARA CONTATO/ e-mail:	_____
FAIXA ETÁRIA:	<input type="checkbox"/> menos de 25 anos <input type="checkbox"/> de 25 a 35 anos <input type="checkbox"/> de 36 a 50 anos <input type="checkbox"/> mais de 50 anos
SEXO:	<input type="checkbox"/> masculino <input type="checkbox"/> feminino
OCUPAÇÃO:	<input type="checkbox"/> pesquisador <input type="checkbox"/> funcionário <input type="checkbox"/> outra : _____
DISPONIBILIDADE:	
Você pode comparecer ao Laboratório de Análise Sensorial por dois dias consecutivos na próxima semana? _____ Quais? _____	
FREQUENCIA DE CONSUMO DE VINHO BRANCO	
1. Indique sua frequência de consumo de vinho branco:	
<input type="checkbox"/> consumo muito (mais de 4 copos por mês) <input type="checkbox"/> consumo moderadamente (até 4 copos ao mês) <input type="checkbox"/> consumo ocasionalmente (1 copo por mês) <input type="checkbox"/> consumo muito pouco (menos de um copo por mês)	
2. Que tipo de vinho você prefere?	
<input type="checkbox"/> vinho seco <input type="checkbox"/> vinho suave	
3. Como você costuma tomar vinho branco?	
<input type="checkbox"/> puro, como aperitivo <input type="checkbox"/> como acompanhamento de refeições <input type="checkbox"/> como acompanhamento de queijos <input type="checkbox"/> outro _____	
4. Comentários ou informações que achar necessários:	

Figura 6.6 - Questionário utilizado no recrutamento de julgadores para o teste de aceitação.

NOME _____	PRODUTO: Vinho de caju	DATA ___/___/___		
SEXO: () Fem () Masc	IDADE: () < 25 () 25-35 () 36-50 () >50 anos			
<table border="1" style="margin: auto;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Amostra Nº</td> </tr> <tr> <td style="height: 20px;"> </td> </tr> </table>			Amostra Nº	
Amostra Nº				
<p>1. Você está recebendo uma amostra de vinho branco. Por favor, cheire a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou do AROMA, utilizando a escala abaixo:</p> <p style="margin-left: 40px;"> <input type="checkbox"/> gostei muitíssimo <input type="checkbox"/> gostei muito <input type="checkbox"/> gostei moderadamente <input type="checkbox"/> gostei ligeiramente <input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei <input type="checkbox"/> desgostei ligeiramente <input type="checkbox"/> desgostei moderadamente <input type="checkbox"/> desgostei muito <input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo </p> <p>2. Agora prove a amostra e indique o quanto você gostou ou desgostou dessa amostra de um modo geral (IMPRESSÃO GLOBAL), utilizando a escala abaixo:</p> <p style="margin-left: 40px;"> <input type="checkbox"/> gostei muitíssimo <input type="checkbox"/> gostei muito <input type="checkbox"/> gostei moderadamente <input type="checkbox"/> gostei ligeiramente <input type="checkbox"/> não gostei nem desgostei <input type="checkbox"/> desgostei ligeiramente <input type="checkbox"/> desgostei moderadamente <input type="checkbox"/> desgostei muito <input type="checkbox"/> desgostei muitíssimo </p> <p>3. O que você mais gostou e menos gostou na amostra?</p> <p>Mais gostei: _____</p> <p>Menos gostei: _____</p> <p>4. O que você achou da doçura desta amostra?</p> <p style="margin-left: 20px;"> <input type="checkbox"/> extremamente mais doce que o ideal <input type="checkbox"/> muito mais doce que o ideal <input type="checkbox"/> ligeiramente mais doce que o ideal <input type="checkbox"/> doçura ideal <input type="checkbox"/> ligeiramente menos doce que o ideal <input type="checkbox"/> muito menos doce que o ideal <input type="checkbox"/> extremamente menos doce que o ideal </p> <p>5. O que você achou da acidez da amostra?</p> <p style="margin-left: 20px;"> <input type="checkbox"/> extremamente mais ácida que o ideal <input type="checkbox"/> muito mais ácida que o ideal <input type="checkbox"/> ligeiramente mais ácida que o ideal <input type="checkbox"/> acidez ideal <input type="checkbox"/> ligeiramente menos ácida que o ideal <input type="checkbox"/> muito menos ácida que o ideal <input type="checkbox"/> extremamente menos ácida que o ideal </p> <p>6. Se você encontrasse esse produto a venda, você:</p> <p style="margin-left: 20px;"> <input type="checkbox"/> certamente compraria <input type="checkbox"/> provavelmente compraria <input type="checkbox"/> talvez comprasse, talvez não comprasse <input type="checkbox"/> provavelmente não compraria <input type="checkbox"/> certamente não compraria </p> <p>Obs: _____</p>				

Figura 6.7 - Modelo de ficha utilizada para avaliação da aceitação do vinho do caju

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ficha de avaliação desenvolvida consensualmente pela equipe sensorial (Figura 6.8) constou de 16 termos descritivos relativos a aparência ('cor amarela', 'limpidez', 'aderência ao copo'); aroma ('alcoólico', 'fermentado', 'frutado', 'sulfuroso'); sabor ('alcoólico', 'ácido', 'de fruta', 'amargo'); sensação bucal ('adstringência') e sensações residuais ('amargo residual', 'ácido residual', 'adstringência residual'). Esses termos passarão a ser chamados, neste trabalho, de **termos descritivos** ou **descritores**. A Tabela 6.1 apresenta os termos descritivos com suas respectivas definições e amostras-referência.

Foi aplicada ANOVA aos resultados obtidos para cada descritor das amostras analisadas, os quais são apresentados nas Tabelas 6.2 e 6.3. A Análise de Variância foi realizada em diversas etapas:

- a) ANOVA para cada um dos 16 descritores, com as seguintes fontes de variação: temperatura (TEMP), teor de SO₂ (SO2), e TEMP X SO2, para verificar se existia interação significativa entre os efeitos estudados.
- b) Aos descritores que apresentaram interação TEMP X SO2 significativa foi aplicada outra ANOVA tendo TEMP, SO2, julgador (JULG), TEMP X JULG e SO2 X JULG como fontes de variação. Foram verificadas interações significativas para um grande número de descritores. Fazendo-se uma análise desdobrada, por julgador, foi possível identificar o indivíduo responsável (julgador 9), pela maioria das interações observadas, sendo eliminado da equipe.
- c) AANOVA do item a) foi repetida, excluindo-se o julgador 9. Desta feita, os descritores que apresentaram interação TEMP X SO2 significativa foram: 'cor amarela', 'sabor doce' e 'ácido residual'.
- d) Esses descritores foram, então, submetidos à ANOVA em função da temperatura, tendo como fontes de variação somente SO2 e PROV. Os resultados estão expressos na Tabela 6.3. Nenhum dos três descritores apresentou diferença significativa entre os níveis de SO₂, quando os vinhos foram fermentados a 30°C. Porém, na fermentação a 18°C, a variação do nível de SO₂ provocou variação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na intensidade da cor e doçura das amostras. As amostras fermentadas a 30°C também apresentaram maior intensidade de cor que as amostras fermentadas a 18°C

NOME _____	AMOSTRA _____	DATA ____/____/____
<p>Por favor, prove a amostra e avalie a intensidade percebida para cada atributo colocando um traço vertical na escala correspondente.</p>		
<p>1) Comece pela análise da Aparência fora da cabine, com a luz natural do dia.</p>		
<p>2) Aroma: aspire o vinho imediatamente após ter sido servido. Em seguida agite o vinho com uma suave rotação da taça, em intervalos regulares, aspirando durante os intervalos. Dê uma aspirada rápida e profunda. Repita a última etapa mexendo o vinho mais energicamente.</p>		
<p>3) Sabor: tome um gole grande e deixe a amostra em contato com toda a superfície da boca.</p>		
<p>4) Por último, avalie o sabor e sensações residuais que ficaram em sua boca após ter engolido a amostra. Ao terminar sua análise, coma um pedaço de queijo e tome água.</p>		
Cor amarela	_____	_____
	fraca	forte
Limpidez	_____	_____
	fraca	forte
Aderência ao copo	_____	_____
	fraca	forte
Aroma alcoólico	_____	_____
	fraca	forte
Aroma fermentado	_____	_____
	fraca	forte
Aroma frutado	_____	_____
	fraca	forte
Aroma sulfuroso	_____	_____
	nenhuma	forte
Sabor alcoólico	_____	_____
	fraca	forte
Sabor ácido	_____	_____
	fraca	forte
Sabor doce	_____	_____
	fraca	forte
Sabor de fruta	_____	_____
	fraca	forte
Sabor amargo	_____	_____
	fraca	forte
Adstringência	_____	_____
	fraca	forte
Amargo residual	_____	_____
	nenhuma	forte
Ácido residual	_____	_____
	nenhuma	forte
Adstringência residual	_____	_____
	fraca	forte

Figura 6.8 - Modelo da ficha utilizada na análise descritiva quantitativa do vinho de caju..

Tabela 6.1 Relação de termos descritivos com as respectivas definições e amostras-referência em função da intensidade.

DESCRITOR	DEFINIÇÃO	REFERÊNCIAS
Cor amarela	Intensidade de cor amarela característica de vinhos brancos, do amarelo palha ao citrino	Fraca: Forestier Blanc em água 1+3 Forte: vinho Katzenberg em água 1+1
Limpidez	Característica do vinho ser transparente, isento de turbidez e/ou material em suspensão.	Fraca: 0,05% de amido solúvel em água Forte: água destilada
Aderência ao copo	Propriedade da bebida alcoólica formar um filme ao se girar o copo	Fraca: água destilada Forte: vinho branco licoroso
Aroma alcoólico	Aroma pungente, característico de bebida alcoólica destilada	Fraca: solução de vodca em água a 5°GL Forte: solução de vodca a 20°GL
Aroma fermentado	Aroma característico de uma bebida alcoólica fermentada	Fraca: Forestier Blanc em água 1+1 Forte: Forestier Blanc em cerveja 1+1
Aroma frutado	Aroma adocicado que lembra furta madura, sem no entanto identificar o tipo de fruta	Fraca: vinho Sonnenberg em água 1+1 Forte: Sonnenberg em Suco Polli fruit, 2+
Aroma sulfuroso	Aroma de gases de enxofre que lembra alimento proteico de origem animal deteriorado	Fraca: água destilada Forte: água do cozimento de 30 g couve flor diluída em água 1 +4
Sabor alcoólico	Sabor característico de bebida alcoólica destilada, que causa ardor na boca e garganta	Fraca: aguardente em água a 5°GL Forte: aguardente em água a 15°GL
Sabor ácido	Gosto ácido característico de uma solução aquosa de ácido cítrico	Fraca: ácido cítrico a 5 meq/L Forte: ácido cítrico a 30 meq/L
Sabor doce	Gosto doce característico de uma solução aquosa de sacarose	Fraca: solução de sacarose a 8 g/L Forte: solução de sacarose a 30 g/L
Sabor de fruta	Sabor característico de fruta madura, sem no entanto identificar o tipo de fruta	Fraca: vinho Sonnenberg em água 1 + 1 Forte: Sonnenberg em Suco Polli fruit (Jandaia) 1 + 1
Sabor amargo	Gosto amargo característico de uma solução aquosa de cafeína	Fraca: cafeína em água a 0,3 g/L Forte: cafeína em água a 1 g/L
Adstringência	Sensação de "secura" e "amarração" na língua e mucosas bucais que, dependendo da intensidade, pode provocar irritação na garganta	Fraca: ácido tartárico em água a 1 g/L Forte: ácido tartárico em água a 3 g/L
Amargo residual	Gosto amargo que persiste na boca após a ingestão da amostra.	Nenhuma: água destilada Forte: cafeína em água a 1 g/L
Ácido residual	Gosto ácido de uma solução de ácido cítrico, o qual persiste na boca após a ingestão da amostra	Nenhuma: água destilada Forte: ácido cítrico a 30 meq/L
Adstringência residual	Sensação de adstringência que persiste mesmo após a ingestão da amostra.	Fraca: ácido tartárico em água a 1 g/L Forte: ácido tartárico em água a 3 g/L

- e) A ANOVA do item **b)** foi também repetida, excluindo-se o julgador 9, porém alguns descritores ainda apresentaram interações, a saber: 'limpidez', 'aroma fermentado', 'aroma sulfuroso', 'sabor ácido', 'adstringência' (TEMP X JULG), e 'aroma frutado' (SO₂ X JULG).
- f) Para corrigir esse problema foi realizada nova análise de variância para esses descritores, utilizando-se o Quadrado Médio da interação ao invés do QM do erro no cálculo do valor de F. Os resultados do Teste de Tukey de todos os descritores que não apresentaram interação TEMP X SO₂ significativa estão na Tabela 6.2.

O descritor 'limpidez' não apresentou diferença significativa entre as amostras mas serviu para caracterizar a aparência do vinho de caju como uma bebida de alta limpidez (notas 7,39 a 7,45 em uma escala de 0 a 9). 'Aderência ao copo' e 'aroma alcoólico' também não apresentaram diferença significativa sob os efeitos da temperatura de fermentação e sulfitação. Isso era de se esperar, visto que esses descritores estão relacionados ao teor de álcool da bebida, o qual foi praticamente o mesmo para todas as amostras (Tabela 6.4).

As variações nos teores de SO₂ livre e total, apresentadas pelas amostras na Tabela 6.4, não foram percebidas pelos julgadores como 'aroma sulfuroso', sendo que esse descritor não apresentou diferença significativa entre as diversas amostras testadas.

Os descritores 'sabor alcoólico' e 'adstringência' sofreram influência da temperatura de fermentação, enquanto que o 'aroma frutado' foi influenciado pelo nível de sulfitação do mosto. Por sua vez, os descritores 'aroma fermentado', 'sabor ácido' e 'adstringência residual' foram responsáveis por diferenças entre as amostras, tanto para a variação de temperatura quanto para variações no nível de sulfitação.

Tabela 6.2 - Resultado da Análise de Variância para descritores que não apresentaram interação temperatura X SO₂ significativa.

DESCRITOR	Médias por Temperatura (°C)		Médias por Nível de SO ₂ (ppm)		
	18	30	50	100	200
Limpidez	7,39 a	7,45 a	7,40 a	7,45 a	7,42 a
Aderência ao copo	4,63 a	4,61 a	4,61 a	4,65 a	4,61 a
Aroma alcoólico	3,78 a	3,80 a	3,74 a	3,81 a	3,81 a
Aroma fermentado	3,89 b	4,12 a	4,02 ab	4,14 a	3,86 b
Aroma frutado	3,67 a	3,82 a	3,93 a	3,72 ab	3,59 b
Aroma sulfuroso	1,31 a	1,23 a	1,24 a	1,23 a	1,35 a
Sabor alcoólico	4,06 b	4,22 a	4,17 a	4,16 a	4,11 a
Sabor de fruta	3,16 a	2,98 b	3,13 a	2,96 a	3,13 a
Sabor ácido	4,91 b	5,96 a	5,79 a	5,39 b	5,13 c
Ácido residual	2,53 a	2,58 a	2,50 a	2,60 a	2,56 a
Sabor amargo	3,25 a	3,23 a	3,25 a	3,17 a	3,31 a
Amargo residual	3,38 a	3,49 a	3,41 a	3,52 a	3,38 a
Adstringência	3,90 b	4,16 a	4,01 a	4,14 a	3,93 a
Adstringência residual	3,64 b	3,97 a	3,97 a	3,81 ab	3,65 b

Médias com mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$)

Tabela 6.3 - Resultados da Análise de Variância para descritores que apresentaram interação temperatura X SO₂ significativa.

DESCRITOR	TEMPERATURA					
	(18°C)			(30°C)		
	50 ppm SO ₂	100 ppm SO ₂	200 ppm SO ₂	50 ppm SO ₂	100 ppm SO ₂	200 ppm SO ₂
Cor amarela	2,16b	2,16b	2,62a	4,76a	4,52a	4,59a
Sabor doce	3,22a	2,78b	3,13ab	2,39a	2,75a	2,61a
Ácido residual	2,35a	2,53a	2,70a	2,64a	2,67a	2,42a

Médias com mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$)

Tabela 6.4 – Características físico-químicas das amostras de vinho do caju CP 76

Características	TR ₅₀	TR ₁₀₀	TR ₂₀₀	TA ₅₀	TA ₁₀₀	TA ₂₀₀
Densidade (20/20°C)	998,0	996,7	1001,6	998,7	999,1	999,0
Álcool (°GL)	8,52	8,72	8,27	8,59	8,36	8,46
Acidez total (meq/L)	106,0	86,0	64,0	122,0	116,0	110,0
Acidez volátil (meq/L)	14,0	12,0	13,0	17,0	17,0	15,0
pH	3,58	3,69	3,83	3,56	3,55	3,59
Extrato seco(g/L)	18,32	16,68	28,48	20,16	20,24	20,56
Açúcares redutores (g/L)	3,76	2,81	15,30	3,80	3,97	3,51
Extrato seco reduzido (g/L)	15,56	14,87	14,18	17,36	17,27	18,05
Cinzas (g/L)	3,35	3,35	3,45	3,45	3,30	3,55
Alcalinidade cinzas (meq/L)	38,0	36,5	38,0	37,5	34,5	39,0
SO ₂ livre (mg/L)	4,1	17,8	5,8	1,4	10,0	13,7
SO ₂ total (mg/L)	172,7	228,6	204,4	175,9	212,9	214,6
Índice de cor (Abs a 420 nm)	0.042	0.036	0.049	0.126	0.102	0.100

O perfil sensorial obtido para cada um dos vinhos de caju é apresentado na Figura 6.9, onde foram omitidos alguns descritores que não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos como 'limpidez', 'aderência ao copo' e 'aroma sulfuroso'. Mesmo assim, foi observada grande semelhança entre as amostras, as quais se diferenciaram mais em relação a 'cor amarela', 'sabor doce' e 'sabor ácido'. Os vinhos do caju apresentaram diferentes teores de açúcares redutores (Tabela 6.4), porém, quando submetidos à análise sensorial esses teores foram corrigidos para 16,0 g/L de açúcares totais, com sacarose, com a finalidade de enquadrar todos os vinhos na mesma categoria (suave). Assim, as diferenças percebidas pelos julgadores na doçura das amostras podem ser devidas à variação nos respectivos teores de acidez, pois foi observado que as notas sensoriais para 'sabor doce' e 'sabor ácido' (Figura 6.9), inverteram-se para quase todas as amostras. Note-se que a amostra mais doce (TR₂₀₀) foi exatamente aquela de menor acidez total (Tabela 6.4).

A Análise de Componentes Principais (Figura 6.10) evidenciou que as amostras elaboradas a 30°C apresentaram perfis sensoriais muito semelhantes, caracterizando-se por maior intensidade de 'cor amarela', 'sabor ácido', 'aroma fermentado', 'adstringência' e 'adstringência residual'. Esses resultados estão de acordo com os dados instrumentais (Tabela 6.5) onde essas amostras apresentaram maiores índices de cor e acidez total que as refrigeradas.

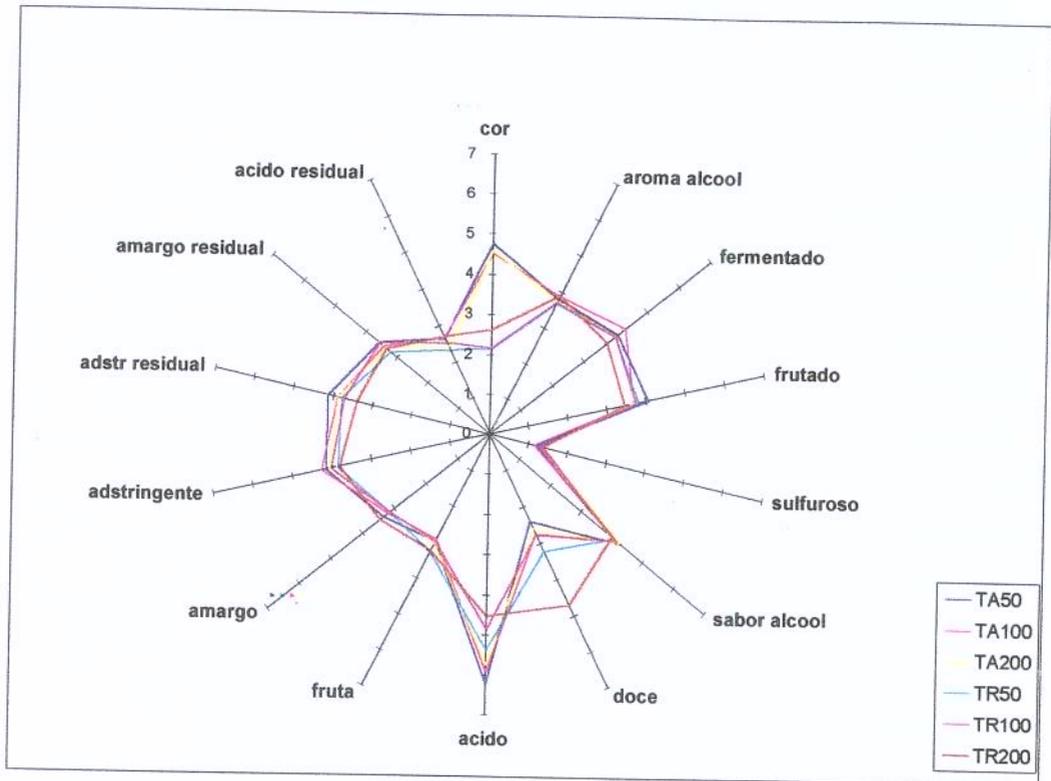


Figura 6.9- Perfil sensorial das amostras de vinho do caju.

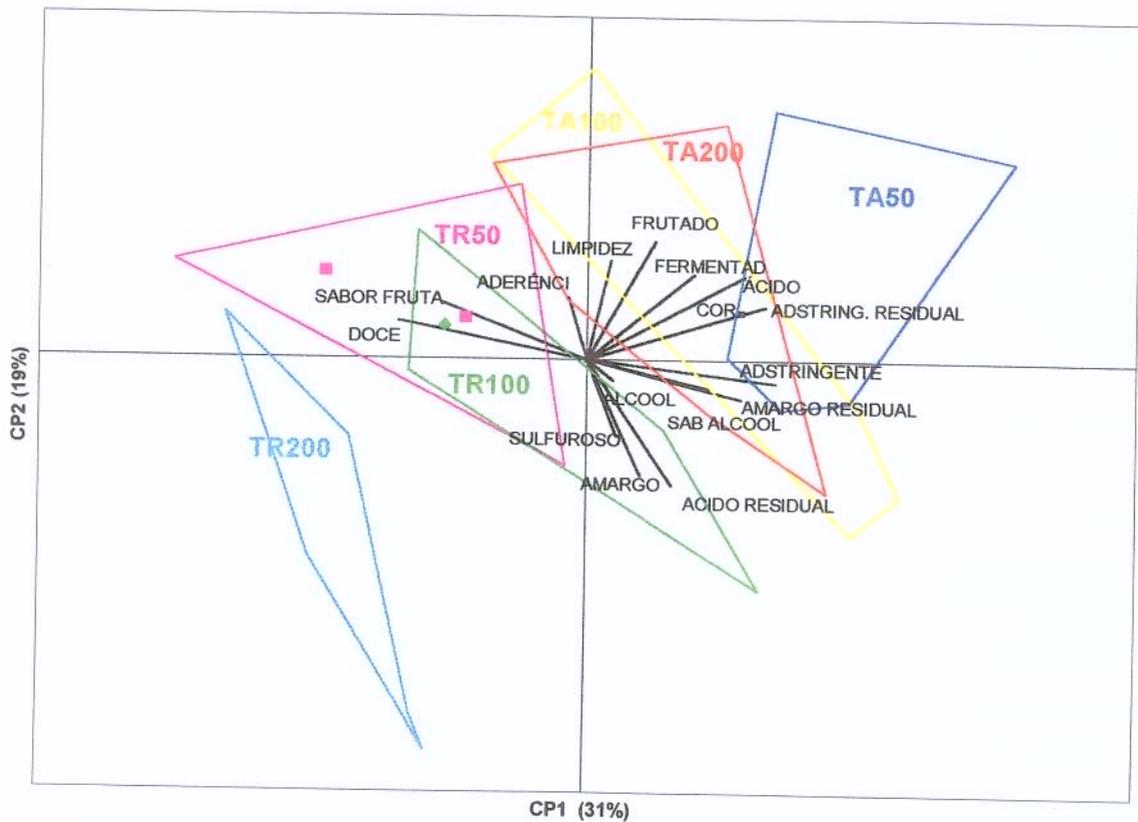


Figura 6.10 – Análise de Componentes Principais das amostras de vinho do caju.

As amostras fermentadas a 30°C foram também as que se caracterizaram, na análise cromatográfica, por maior quantidade de ácido acético e isobutanol (Capítulo 5), compostos descritos como 'vinagre' e 'fermentado' no estudo de olfatométrica (Capítulo 4).

As amostras elaboradas a 18°C caracterizaram-se por uma maior intensidade dos descritores 'sabor de fruta' e 'sabor doce', provavelmente devido à presença, nessas amostras, de maior quantidade de ésteres, entre eles compostos voláteis responsáveis por aromas de fruta e caju (Capítulo 4) como o isovalerato de etila, butanoato de etila, 2-metil-butanoato de metila, acetato de isoamila e octanoato de etila. Os vinhos do caju provenientes da fermentação refrigerada foram mais sensíveis à variação do nível de dióxido de enxofre, sendo que a amostra com maior teor (200 ppm) apresentou um perfil bem diferente das demais, destacando-se por sua suavidade, ou seja, menor intensidade percebida para a maioria dos descritores analisados (Figura 6.10).

5.3.2.2 Teste de aceitação

Com o objetivo de facilitar a execução do teste de aceitação foram escolhidas quatro amostras de vinho do caju, baseando-se nos resultados da ADQ, a saber: TA₅₀, TA₂₀₀, TR₅₀, TR₂₀₀. Com apenas quatro amostras (ao invés de seis) foi possível apresentá-las em uma única sessão de prova, permitindo a participação de um maior número de consumidores (48) em cada uma das duas localidades estudadas (Campinas e Fortaleza).

Caracterização dos hábitos de consumo de vinho branco

Em Campinas, 46% dos indivíduos que responderam ao questionário de recrutamento pertenciam ao sexo masculino e 54% ao sexo feminino, com predominância da faixa etária entre 25 e 35 anos. Em Fortaleza a participação de consumidores do sexo masculino foi de 48% e 52% do sexo feminino numa faixa etária abaixo de 25 até 35 anos (Figura 6.11). Em ambos casos os consumidores representaram um público adulto jovem.

Analisando a Figura 6.12 observa-se que não houve muita diferença na frequência de consumo de vinho entre homens e mulheres, porém a população de consumidores de Campinas possui o hábito de tomar mais vinho branco, cuja frequência de consumo ficou entre ocasionalmente a moderadamente. Em Fortaleza a resposta de consumo ficou entre pouco e ocasionalmente.

Quanto ao modo de consumo de vinho branco (Figura 6.13), tanto homens como mulheres em Campinas preferem tomá-lo sem acompanhamento de nenhum alimento. Em segundo lugar, os homens gostam de vinho branco nas refeições, enquanto que as mulheres gostam de consumir vinho branco com queijos. Em Fortaleza os homens dividiram suas opiniões entre tomar o vinho sozinho e consumi-lo acompanhado de queijos, e a maioria das mulheres prefere tomar o vinho branco puro e nas refeições. A caracterização dos consumidores de Campinas realizada neste estudo está bastante coerente com aquela apresentada por BEHRENS (1998), em seu trabalho de avaliação de vinhos brancos varietais brasileiros.

Aceitação dos vinhos do caju

Na Tabela 6.5 são apresentados os níveis de significância (p) da análise de variância (ANOVA) realizada com os resultados da avaliação hedônica, tendo como fontes de variação amostras (AMOS) e julgadores (PROV). Não foi observada diferença significativa ao nível de significância de 5% na aceitação do AROMA.. Os tratamentos de vinhos diferiram apenas quanto a IMPRESSÃO GLOBAL ($p \leq 0,05$), tanto em Campinas quanto em Fortaleza

O efeito para julgadores foi também significativo, fato comum nos testes de consumidores, os quais, via de regra, diferem muito entre si com relação ao grau de gosto ou desgosto das amostras testadas, principalmente quando se trata de produto experimental, como é o caso do vinho de caju.

O grau de aceitação das amostras de vinho pelos consumidores das duas localidades estudadas pode ser observado na Tabela 6.6, através dos valores médios, atribuídos a cada amostra. As médias para aceitação do AROMA situaram-se próximo ao grau "gostei ligeiramente" na escala hedônica. Apesar de não ter sido detectada diferença estatisticamente significativa entre as médias foi possível observar, através da análise dos histogramas da Figura 6.14, pequenas diferenças na distribuição das freqüências dos valores hedônicos.

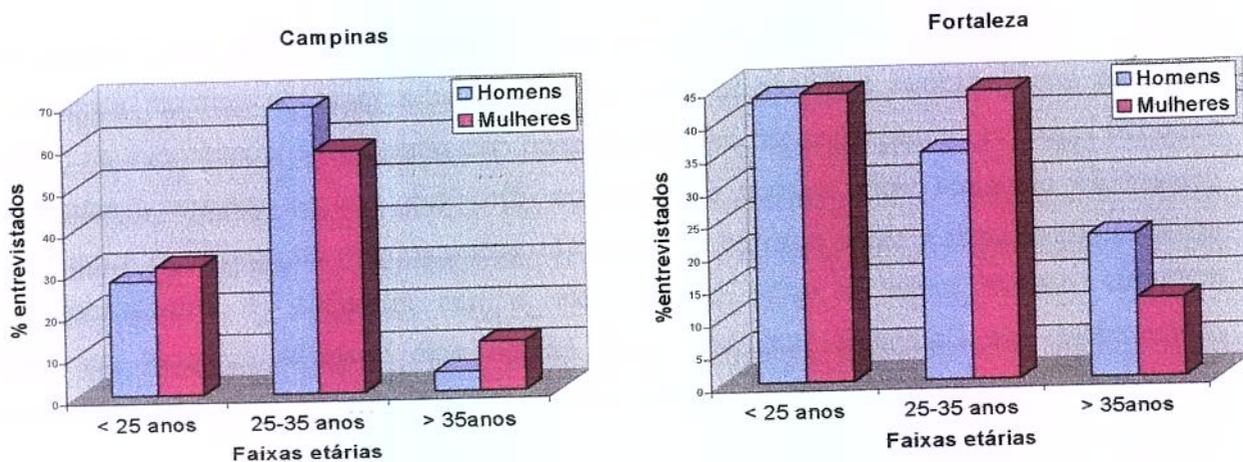


Figura 6.11 – Distribuição de idade dos entrevistados nas duas cidades estudadas.

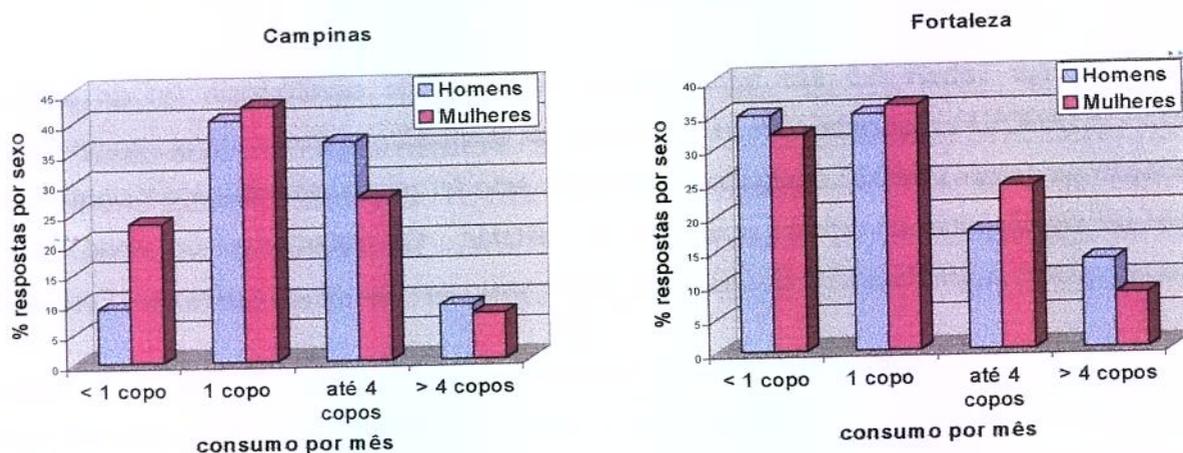


Figura 6.12 – Consumo médio mensal de vinho branco pelos entrevistados nas duas cidades estudadas (< 1 copo = pouco, até 1 copo = ocasionalmente, até 4 copos = moderadamente, > 4 copos = muito).

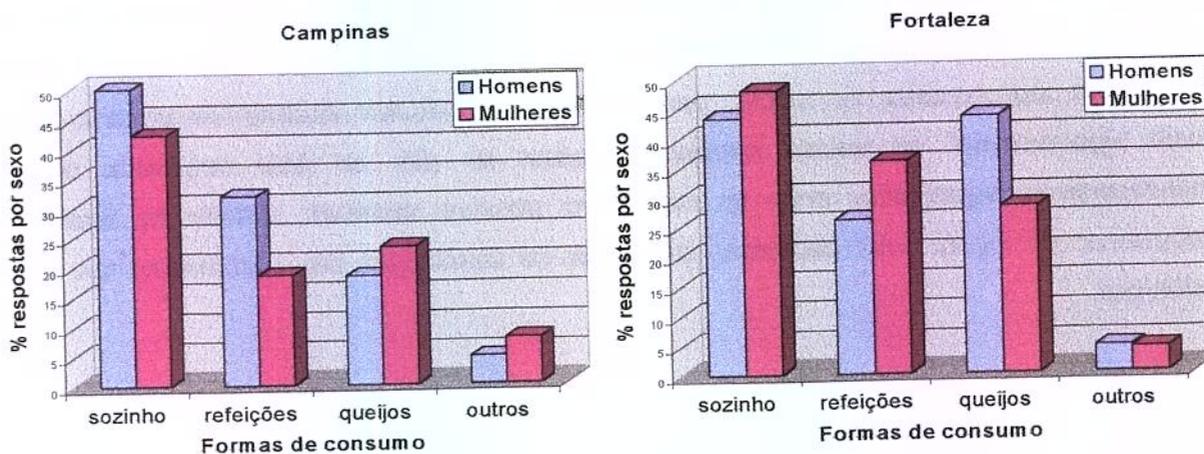


Figura 6.13 – Modo como os consumidores costumam tomar vinho branco, nas duas cidades estudadas.

Tabela 6.5 - Níveis de significância através da ANOVA resultante do teste piloto de aceitação do consumidor do vinho do caju.

Probabilidade	CAMPINAS		FORTALEZA	
	Aroma	Impressão global	Aroma	Impressão global
P_{AMOS}	0,1117	0,0442	0,0736	0,0017
P_{PROV}	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Tabela 6.6 – Resultados médios de aceitação do consumidor para vinho do caju em Campinas e Fortaleza.

AMOSTRA	CAMPINAS		FORTALEZA	
	Aroma	Impressão global	Aroma	Impressão global
TR ₅₀	6,54a	5,71ab	5,92a	5,14b
TR ₂₀₀	6,14a	6,04a	6,54a	6,25a
TA ₅₀	5,89a	5,08b	6,52a	5,69ab
TA ₂₀₀	6,33a	5,46ab	6,18a	6,17a

Médias com mesma letra na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Tukey

Escala estruturada: 1 = desgostei muitíssimo a 9 = gostei muitíssimo

Em Campinas, a amostra TA₅₀, fermentada à temperatura ambiente com 50 ppm de SO₂, alcançou maior porcentagem não grau hedônico 6, diferenciando-se das demais amostras, as quais apresentaram alta frequência de notas 7 e 8, correspondentes a “gostei moderadamente” e “gostei muito”. De modo diverso, em Fortaleza a amostra TA₅₀ foi bem aceita, apresentando valores semelhantes à amostra TR₂₀₀.

A aceitação média dos vinhos do caju, quanto a IMPRESSÃO GLOBAL, variou de “não gostei, nem desgostei” até “gostei ligeiramente”, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) nos testes realizados nas duas cidades. Em Campinas, a amostra TR₂₀₀ recebeu maiores valores de aceitação global, diferindo significativamente da amostra TA₅₀. Em Fortaleza, a amostra TR₂₀₀ também apresentou maior média de aceitação global, sendo TR₅₀ a amostra menos aceita. Foi observado ainda que as amostras com maior dosagem de SO₂ apresentaram maiores médias de aceitação, em ambas temperaturas. A análise dos histogramas da Figura 6.15 confirmou os resultados apresentados através das médias, pois observa-se que as notas da amostra de menor média (Tabela 5.8) situaram-se mais deslocadas para a região de menor aceitação e apresentaram maior porcentagem de rejeição (valores menores que cinco).

Na Tabela 6.7 são apresentadas as características sensoriais que os consumidores de Campinas mais apreciaram e menos apreciaram nas quatro amostras de vinho do caju analisadas. A Tabela 6.8 apresenta as mesmas informações para os consumidores de Fortaleza. Aroma e sabor foram os atributos que mais influenciaram os consumidores em relação a aceitação das amostras, aparência/cor, suavidade e acidez.

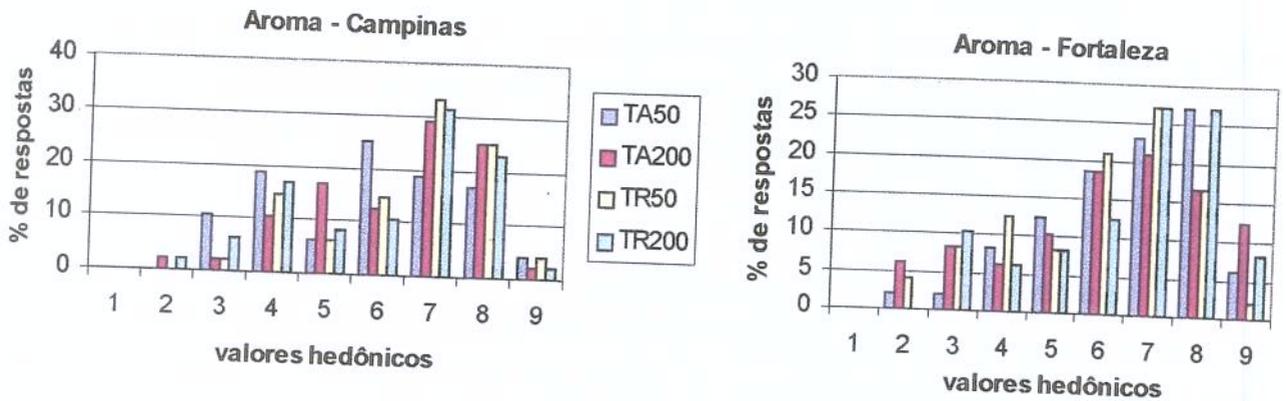


Figura 6.14 – Histogramas de freqüência dos valores hedônicos atribuídos ao AROMA das amostras de vinho do caju. (1= desgostei muitíssimo, 5=nem gostei, nem desgostei, 9= gostei muitíssimo), em Campinas e Fortaleza.

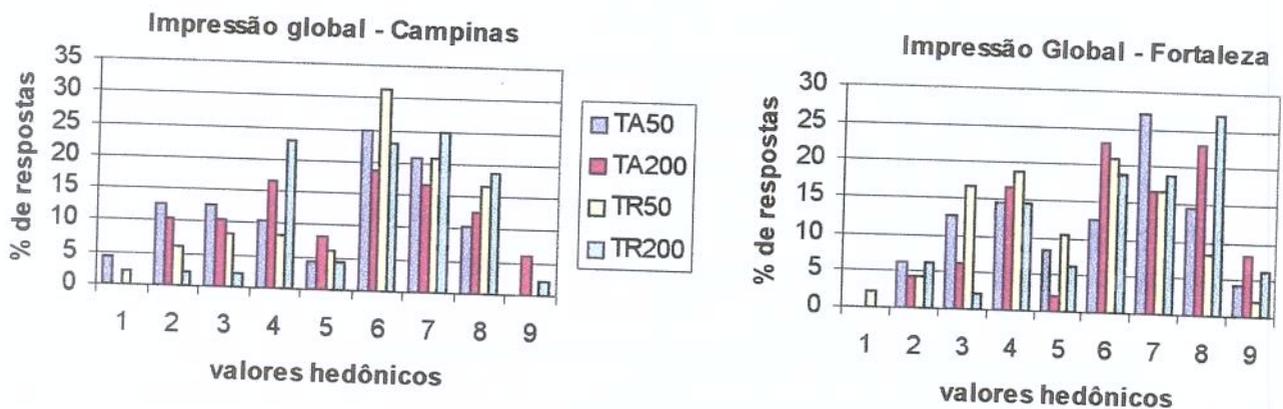


Figura 6.15 – Histogramas de freqüência dos valores hedônicos atribuídos à IMPRESSÃO GLOBAL para amostras de vinho do caju. (1= desgostei muitíssimo, 5=nem gostei, nem desgostei, 9= gostei muitíssimo), em Campinas e Fortaleza.

Comparando-se os resultados da Tabela 6.6 com aqueles listados nas Tabelas 6.7 e 6.8 observa-se que aroma e sabor foram os atributos citados como os mais apreciados na amostra TR₂₀₀, a qual obteve a maior aceitação. Por outro lado esses dois atributos também foram os mais citados como menos apreciados nas amostras de menor aceitação, ou seja, TA₅₀ em Campinas e TR₅₀ em Fortaleza.

Nessas amostras de vinho do caju menos apreciadas o atributo acidez, citado como característica negativa, também apresentou maior frequência que nas demais amostras. Com base nesses resultados é possível que a preferência dos consumidores tenha sido pelas amostras menos ácidas. Note-se que a amostra mais preferida nas duas cidades não apresentou o atributo acidez como característica negativa.

A cor/aparência das amostras foi bem aceita nas duas localidades, mas em Campinas esse atributo parece ter influenciado mais os consumidores em suas avaliações. Alguns consumidores em Campinas aceitaram menos a aparência/cor das amostras elaboradas à temperatura ambiente, devido a sua cor mais escura que aquelas fermentadas sob refrigeração (Tabela 6.3). Os consumidores de Fortaleza, por sua vez, fizeram comentários sobre o baixo teor alcoólico das amostras.

Os resultados obtidos através da “escala do ideal” para analisar a doçura e acidez das amostras de vinho do caju são mostrados na forma de histogramas nas Figuras 6.16 e 6.17, respectivamente. Os consumidores em Campinas não notaram muita diferença na doçura das amostras, caracterizando-as como “ideal” e em menor porcentagem como “ligeiramente menos doce que o ideal”. Já em Fortaleza, os consumidores acharam as amostras menos doce, apresentando maior frequência nas categorias abaixo do “ideal”.

Quanto a acidez, em geral as amostras foram classificadas mais ácidas que o ideal. Em Campinas, a amostra TR₂₀₀ apresentou acidez mais próxima do ideal, enquanto que em Fortaleza a tendência foi para a amostra TA₂₀₀. Observou-se também que as amostras de menor aceitação em Campinas e Fortaleza (TA₅₀ e TR₅₀, respectivamente) foram as que apresentaram, em cada localidade, menor doçura e maior acidez.

Os resultados da intenção de compra para ambas equipes de consumidores em relação às amostras estão apresentados na Figura 6.18, em porcentagem de respostas. Em Campinas a amostra TA₅₀ alcançou menor aceitação, sendo que 20% dos consumidores

afirmaram que “certamente não comprariam” aquela amostra, a categoria “certamente compraria” não foi escolhida.

Os consumidores em Fortaleza mostraram maior distinção entre as amostras, resultando com maior frequência nas categorias “provavelmente compraria” e “certamente compraria”, para os vinhos TA₂₀₀ e TR₂₀₀, enquanto os vinhos TA₅₀ e TR₅₀ alcançaram maior porcentagem de respostas nas categorias “provavelmente não compraria” e “talvez comprasse, talvez não comprasse”.

Tabela 6.7 – Características sensoriais mais apreciadas e menos apreciadas para vinho do caju, em porcentagem. Consumidores em Campinas.

CARACTERÍSTICA	AMOSTRA							
	TR ₅₀		TR ₂₀₀		TA ₅₀		TA ₂₀₀	
	Mais ^a	Menos ^b						
Aparência/cor	25	-	15	-	16	8	20	6
Aroma	35	21	41	12	37	28	32	22
Sabor	28	32	37	17	22	38	35	26
Suavidade	6	-	10	-	-	-	4	-
Doçura	6	-	-	-	-	-	-	-
Acidez	-	10	-	-	-	14	-	-
Gosto amargo	-	-	-	5	-	6	-	10
Adstringente	-	6	-	-	-	8	-	4
Sabor residual	-	4	-	8	-	4	-	4

^a = mais apreciada ^b = menos apreciada

Tabela 6.8 – Características sensoriais mais apreciadas e menos apreciadas para vinho do caju, em porcentagem. Consumidores em Fortaleza.

CARACTERÍSTICA	AMOSTRA							
	TR ₅₀		TR ₂₀₀		TA ₅₀		TA ₂₀₀	
	Mais ^a	Menos ^b						
Aparência/cor	15	6	15	4	12	-	19	-
Aroma	33	27	37	25	46	19	37	25
Sabor	21	40	35	17	25	37	25	27
Suavidade	8	-	8	-	-	-	6	-
Doçura	4	6	-	4	-	6	-4	-
Acidez	-	12	4	-	4	10	-4	12
Gosto amargo	-	-	-	4	-	-	-	-
Adstringente	-	2	-	8	-	-	-	-
Sabor residual	2	4	-	4	-	4	-	4
Baixo teor alcoólico	-	2	-	6	-	-	-	4

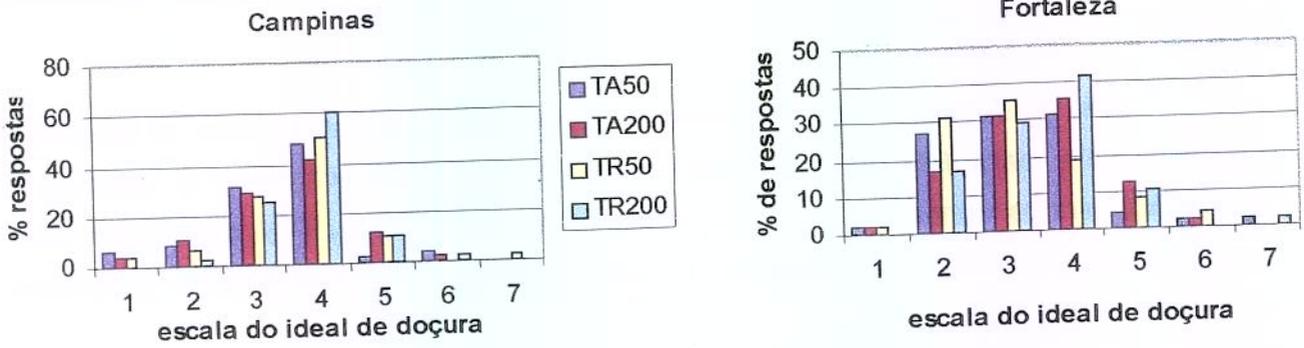


Figura 6.16 –Frequência das categorias de doçura em porcentagem de respostas pelos consumidores em Campinas e Fortaleza (1= extremamente menos doce que o ideal, 4= doçura ideal, 7= extremamente mais doce que o ideal).

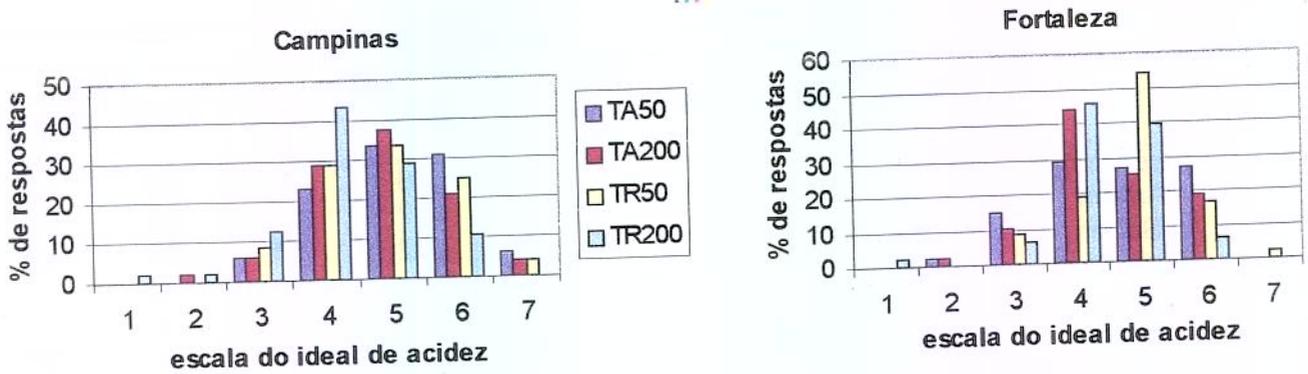


Figura 6.17 – Frequência das categorias de acidez em porcentagem de respostas pelos consumidores em Campinas e Fortaleza (1= extremamente menos ácida que o ideal, 4= acidez ideal, 7= extremamente mais ácida que o ideal).

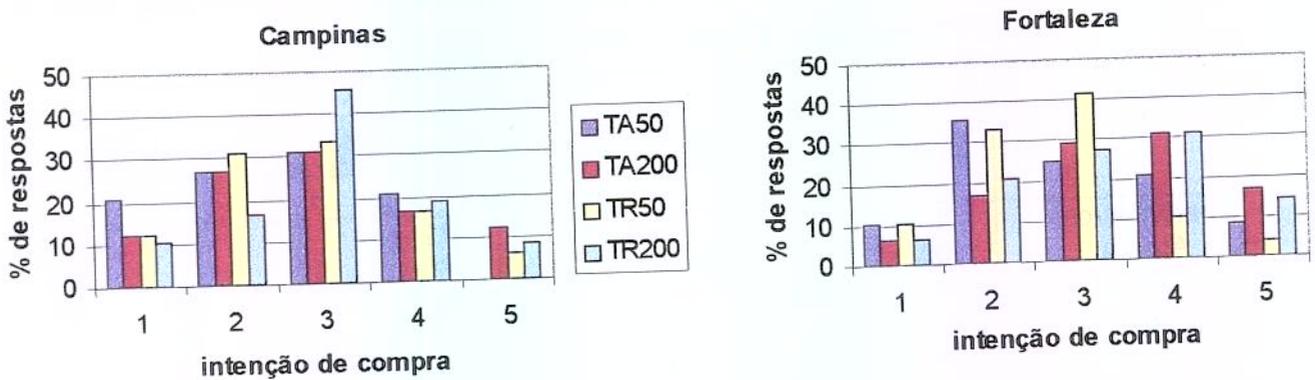


Figura 6.18 –Frequência das categorias de intenção de compra em porcentagem de respostas pelos consumidores em Campinas e Fortaleza. (1= certamente não compraria, 3= talvez comprasse, talvez não comprasse, 5= certamente compraria).

6.4 CONCLUSÕES

1. Os vinhos do caju elaborados à temperatura ambiente (30°C) apresentaram maior intensidade de aroma fermentado, o que foi coerente com os dados instrumentais (Capítulo 5), onde essas amostras apresentaram também maior produção de isobutanol, 4-metil-1-pentanol, 3-metil-1-pentanol, lactato de etila e ácido acético. Maior temperatura de fermentação também provocou aumento na intensidade de cor, acidez, adstringência e adstringência residual nas amostras.
2. Amostras fermentadas à temperatura mais baixa (18°C) apresentaram maior intensidade dos descritores 'sabor de fruta' e 'sabor doce', sendo coerente com os dados instrumentais (Capítulo 5), as quais mostraram maior quantidade de ésteres como butanoato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila, octanoato de etila, decanoato de etila, n-acetato de hexila e isovalerato de etila.
3. O aumento na dosagem de sulfitação contribuiu também para diminuição da intensidade de aroma fermentado, aroma frutado, sabor ácido e adstringência residual nos vinhos elaborados.
4. O aroma das amostras apresentou boa aceitação, recebendo valores próximos a "gostei ligeiramente" da escala hedônica, mas não diferiu entre as amostras. Os vinhos diferiram apenas quanto ao atributo 'impressão global', tanto em Campinas quanto em Fortaleza.
5. A amostra que apresentou o maior grau de aceitação foi a fermentada a 18°C, com 200 ppm de SO₂. (TR₂₀₀). De acordo com as equipes-piloto de consumidores potenciais em Campinas e Fortaleza, essa amostra foi a que apresentou doçura e acidez mais próximas do ideal para vinho branco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) ABREU, F.A.P. de **Aspectos tecnológicos da gaseificação do vinho de caju (*Anacardium occidentale*, L)** Fortaleza, 1997. 85p. Tese (Mestre em tecnologia de Alimentos). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (2) AMERINE, M.A.; OUGH, C.S. **Methods for analysis of musts and wines**. New York: John Wiley & Sons, 1980. 341p.
- (3) AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS **Official Methods of Analysis**. Washington, 1990.
- (4) ASTM-AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIAL **Guidelines for the selection and training of sensory panel members**. Philadelphia: ASTM, 1981.
- (5) BEHRENS, J.H. **Avaliação do perfil sensorial e aceitação de vinhos brancos varietais Riesling, Gewürztraminer e Chardonnay produzidos no Brasil**. Campinas, 1998. 174p. Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas.
- (6) BRASIL. Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. Portaria 076 que dispõe sobre Metodologia de Análise de Bebidas e Vinagres, 1986.86p.
- (7) COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental Designs**. 2nd ed. New York: John Wiley, 1957.685p.
- (8) DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.
- (9) DELAQUIS, P.; CLIFF, M.; KING, M.; GIRARD, B.; HALL, J.; REYNOLDS, A. Effect of two commercial malolactic cultures on the chemical and sensory properties of Chancellor wines vinified with different yeasts and fermentation temperatures. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.51, n.1, p. 42-48, 2000.
- (10) DE LA PRESA-OWENS, C. ; NOBLE, A.C. Descriptive analysis of three white wine varieties from Penedès. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.46, n.1, p.5-9, 1995.
- (11) DIAS, A.L.M. **Influência de diferentes cepas de leveduras e mostos na formação dos compostos voláteis majoritários em vinho de caju**. Fortaleza, 1996. 94p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (12) FAÇANHA, S.H.F. **Estudo dos parâmetros cinéticos básicos da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) clarificado** Fortaleza, 1998. 156p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (13) FARIA, F.S.E.D.V. **Influência de duas linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* na elaboração de fermentados de caju (*Anacardium occidentale*, L.) em diferentes condições de fermentação**. Fortaleza, 1994. 99 p. Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (14) FERREIRA, N.D.L **Avaliação química do destilado de caju (*Anacardium occidentale*, L) obtido por destilação simples em alambique** Fortaleza, 1998. 162 p. Tese

- (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.
- (15) FISCHER, U.; ROTH, D.; CHRISTMANN, M. The impact of geographic origin, vintage and wine estate on sensory properties of *Vitis vinifera* cv. Riesling wines. **Food Qual. And Preference**, v.10, n.4/5, p.281-288, 1999.
- (16) GARRUTI, R.S. **Metodologia na seleção sequencial e não sequencial para equipes de provadores**. Campinas, 1976. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas.
- (17) GARRUTI, D.S.; CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O.; FARIA, F.S.E.D.V. Utilização da escala “just right” no desenvolvimento de formulação de vinho de caju espumante suave. In: SIMPÓSIO IBEROAMERICANO DE ANÁLISE SENSORIAL, 1. Campinas, SP, 1996. **Livro de Resumos do ...**, Campinas, SP: FEA-UNICAMP/ABIA/CYTED, 1996a. p.69
- (18) GARRUTI, D.S.; ROSSETTI, A.G.; CASIMIRO, A.R.S.; CAMPOS, J.O. Avaliação sensorial de dois tipos de vinho de caju. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15. Poços de Caldas, MG, 1996. **Resumos ...**, Poços de Caldas: SBCTA, 1996b. p.123.
- (19) GARRUTI, D.S.; ROSSETTI, A.G.; LIMA, R.C. Análise descritiva quantitativa de suco de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale*, L.). In: ALMEIDA, T.C.A.; HOUGH, G.; DAMAISO, M.H.; Da SILVA, M.A.A.P., **Avanços em Análise Sensorial** São Paulo: Livraria Varela, p.227-242, 1999.
- (20) HELM, E.; TROLLE, B. Selection of a taste panel. **Wallerstein Lab. Commun.**, v.9, n.28, p.181-194, 1946
- (21) HEYMANN, H.; NOBLE, A.C. Descriptive analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines from California. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.38, n.1, p. 41-44, 1987.
- (22) LÓPEZ, E.F.; DARRIET, P.; GÓMEZ, E.F.; DUBOURDIEU, D. Compostos aromaticos de um vino por acoplamiento CG-EM “sniffing”. **Alimentaria**, julho-agosto, p.81-84, 1995.
- (23) MAIA, A.B. Componentes secundários da aguardente **STAB** v. 12, n. 6, p.29-34, 1994.
- (24) MAYER, R.C.; LEYGUE-ALBA, N.M.R. **Manual de métodos analíticos enológicos**. Caxias do Sul: Universidade de Caxias do Sul, 1991. 49p.
- (25) MEDEIROS, M.C. **Contribuição ao estudo da fermentação alcoólica do suco de caju (*Anacardium occidentale*, L.) para produção de aguardente**. São Paulo, 1990. 88 p. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Escola Politécnica, Universidade Estadual de São Paulo.
- (26) MEILGAARD, M.R.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987, v.2 159p.
- (27) MIELE, A.; RIZZON, L.A.; ZANUZ, M.C. Avaliação nacional de vinhos – Safra 1993. **Bol. SBCTA**, v.28, n.2, p.161-169, 1994.
- (28) MOSKOWITZ, H.R. **Product testing and sensory evaluation of foods: Marketing and R & D approaches**. Westport: Food and Nutrition Press, 1983, 605p.
- (29) NOBLE, A.C.; ARNOLD, J.; BUECHSENSTEIN, A.; LEACH, E.J.; SCHMIDT, J.O.; STERN, P.M. Modification of a standardized system of wine aroma terminology. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.38, n.1, p.143-146, 1987.

- (30) NOBLE, A.C.; SHANNON, M. Profiling Zinfandel wines by sensory and chemical analyses. **Am. J. Enol. Vitic.**, v.38, n.1, p1-5, 1987.
- (31) OHKUBO, T.; NOBLE, A.C.; OUGH, C.S. Evaluation of California Chardonnay wines by sensory and chemical analyses. **Sciences des Aliments**, v.7, p.573-587, 1987.
- (32) PINAL, L.; CEDEÑO, M.; GUTIÉRREZ, H.; ALVAREZ-JACOBS, J. Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process. **Biotech.Letters**, v.19, n.1, p.45-47, 1997.
- (33) SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.
- (34) SHIMAZU, Y.; WATANABE, M. Effects of yeast strains and environmental conditions on formation of organic acids in must during fermentation. **J. Ferm. Techn.**, v.59, n.1, p.27-32, 1981.
- (35) SHIROSE, I. Análise Sequencial de Wald e sua Aplicação à seleção de julgadores para avaliação organoléptica. **Boletim do ITAL**, v.50, março/abril, p.57-77, 1977.
- (36) STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A; SINGLETON, R.C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Techn.**, v.28, n.11, p.24-34, 1974.
- (37) TROMP, A. The effect of yeast strain, grape solids, nitrogen and temperature on fermentation rate and wine quality. **S. Afr. J. Enol. Vitic.**, v.5, n.1, p.1-6, 1984.

CONCLUSÕES FINAIS

Compostos voláteis importantes para a formação do aroma característico do suco do caju do clone CP 76, e que permaneceram no produto fermentado, compreenderam ésteres como isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila e trans-2-butenato de etila e um composto não identificado, apresentando aroma de caju, aroma doce e de fruta. Cis-3-hexenol, 2-metil-2-pental e hexanal foram responsáveis por diferentes notas verdes no suco, mas não foram importantes para o aroma do vinho. O ácido 2-metil-butanóico contribuiu fortemente para uma nota desagradável, tanto no caju como no vinho.

Compostos importantes para o aroma do vinho, produzidos durante o processo de vinificação foram álcool fenilético, hexanoato de etila, octanoato de etila, cinamato de etila, álcoois isoamílico e isobutírico e os ácidos acético, heptanóico e octanóico.

Os vinhos elaborados à temperatura refrigerada apresentaram maior produção de ésteres, com maior intensidade dos descritores 'sabor de fruta' e 'doce', enquanto que aqueles elaborados à temperatura ambiente apresentaram maior produção de isobutanol e ácido acético, com maior intensidade de aroma fermentado, cor amarela acidez e adstringência. O vinho de caju elaborado à temperatura de 18°C com 200 ppm de SO₂ foi o que apresentou melhor aceitação, evidenciando a necessidade da prática da sulfitação e da utilização de câmara climatizada durante a fermentação.

Devido às limitações encontradas na realização deste trabalho e à importância do caju para o país, sugere-se que o estudo do aroma dessa matéria-prima e do seu vinho seja continuado, principalmente no que se refere à identificação dos compostos sulfurados e à contribuição sensorial do ácido 2-metil-butanóico para ambos produtos.

ANEXO 1

Tabela A.1 - Íons majoritários obtidos da fragmentação por espectrometria de massas e Índice de Kovats dos compostos voláteis do suco e vinho do caju CP 76

COMPOSTO	I Kovats		ÍONS MAJORITÁRIOS (M/Z)						
	Teórico		ABUNDÂNCIA RELATIVA (%)						
acetato de etila	872	43	45	42	61	44	70	58	40
		100	14	7	7	6	6	3	3
propanoato de etila	952	57	75	74	73	102	56	40	58
		100	11	10	6	6	5	4	3
butanoato de metila	975	43	74	71	41	59	39	42	87
		100	67	51	45	26	25	16	15
acetato de isobutila	1015	43	56	41	73	39	42	57	61
		100	22	12	7	7	5	2	2
isovalerato de metila	1025	41	60	74	57	39	55	45	43
		100	75	71	52	43	34	28	25
butanoato de etila	1042	43	71	41	88	42	45	39	60
		100	73	38	33	28	24	22	21
2-metil-butanoato de etila	1058	57	41	102	85	56	74	39	87
		100	48	36	23	14	10	9	8
isovalerato de etila	1070	88	41	57	60	43	85	39	45
		100	93	91	71	70	70	43	39
isobutanol	1072	43	41	42	39	74	55	38	56
		100	81	72	23	5	4	4	4
hexanal	1084	44	41	56	43	57	39	45	42
		100	79	64	57	45	26	21	15
<i>trans</i> -2-butenato de metila (crotonoato de metila)	1100	69	41	40	39	85	43	44	38
		100	92	47	43	25	16	15	11
acetato de isoamila	1110	43	91	70	55	42	41	61	106
		100	29	26	25	17	15	9	8
3-metil-valerato de metila	n.e.	74	43	59	41	40	44	99	101
		100	59	30	27	21	12	11	11
N-valerato de etila	1130	41	88	57	85	43	60	39	45
		100	95	88	78	73	64	38	33
2-metil-2-pentenal	n.e.	41	39	55	69	42	43	44	53
		100	48	19	19	18	8	7	7
1-butanol	1145	41	56	43	42	40	55	39	45
		100	90	67	38	19	12	9	4

Tabela A.1 - continuação

COMPOSTO	I Kovats Teórico	ÍONS MAJORITÁRIOS (M/Z)							
		ABUNDÂNCIA RELATIVA (%)							
<i>trans</i> -2-butenoato de etila (crotonoato de etila)	1159	69	41	39	99	68	45	42	40
		100	52	42	23	8	7	7	6
3-metil-valerato de etila	n.e.	88	43	60	41	61	70	45	99
		100	95	59	40	40	30	27	27
n-acetato de amila	1170	43	42	70	61	55	41	39	73
		100	28	18	16	16	13	6	4
hexanoato de metila	1173	74	43	41	87	59	42	39	99
		100	88	33	24	24	21	13	12
2-metileno-butanoato de metila	n.e.	55	83	39	114	43	53	59	99
		100	40	30	29	17	15	14	14
3-hexanol	1172	59	55	43	73	41	91	57	58
		100	74	45	33	27	12	10	10
2-hexanol	1196	45	41	43	44	69	42	56	84
		100	15	13	9	9	3	3	3
<i>trans</i> -2-hexenal	1207	41	39	42	55	57	69	43	83
		100	60	59	55	35	30	26	20
3-metil-1-butanol (álcool isoamílico)	1205	42	41	55	43	70	39	57	45
		100	92	90	71	4842	34	25	15
1-pentanol	1226	42	41	55	43	70	39	57	56
		100	73	48	25	22	19	13	9
hexanoato de etila	1226	43	88	41	60	42	99	70	55
		100	79	51	45	36	32	30	27
2-metil-2-butenoato de etila (tiglato de etila)	1234	55	83	39	113	100	53	54	82
		100	63	28	19	17	13	12	11
1,3,5,7 ciclo-octatetraeno (COT, 8-anuleno)	n.e.	104	78	51	103	39	77	50	41
		100	63	54	46	42	24	24	22
3-hidroxi-2-butanona	1276	45	43	42	44	88	41	46	73
		100	62	8	5	4	2	2	1
octanal	1278	41	44	43	57	56	42	55	84
		100	79	76	57	51	38	32	25
<i>trans</i> -2-hexenoato de metila	1282	41	39	55	44	56	42	57	68
		100	74	70	45	34	31	31	24
4-metil-1-pentanol	1282	56	41	43	42	69	39	55	57
		100	86	65	58	26	20	12	12

Continua...

Tabela A.1 - continuação

COMPOSTO	I Kovats Teórico	ÍONS MAJORITÁRIOS (M/Z)							
		ABUNDÂNCIA RELATIVA (%)							
<i>trans</i> -3-hexenoato de etila	1288	41	69	68	39	55	71	42	43
		100	40	29	25	14	13	10	9
3-metil-1-pentanol	1297	56	41	43	55	69	39	57	42
		100	84	72	60	45	23	22	20
acetato de hexila	1307	43	56	55	61	41	69	42	95
		100	27	21	19	18	15	14	8
lactato de etila	1325	45	43	75	44	46	47	42	56
		100	7	4	4	2	2	2	1
<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	1338	55	41	97	99	39	73	42	68
		100	66	49	45	42	32	24	22
1-hexanol	1360	56	43	41	42	55	39	69	44
		100	87	81	67	59	27	23	10
<i>cis</i> -3-hexenol	1369	41	67	39	55	42	82	57	43
		100	48	32	28	23	16	14	13
nonanal	1382	41	44	57	43	39	56	55	42
		100	64	64	62	42	39	31	26
2-butoxi-etanol	1393	57	41	45	87	56	39	43	55
		100	57	54	12	10	10	9	7
octanoato de etila	1426	88	41	57	43	60	55	61	70
		100	62	47	44	38	33	29	28
ácido acético	1450	43	45	60	42	41	44	40	61
		100	92	51	25	7	6	2	1
<i>alpha</i> -copaeno	1495	102	119	43	41	45	93	91	81
		100	93	87	79	61	58	47	37
decanal	1500	43	41	57	44	55	39	56	70
		100	95	70	61	52	33	28	27
benzaldeído	1502	77	105	106	51	50	52	78	39
		100	68	67	66	39	23	16	14
2,3-butanodiol	1526	45	43	57	47	44	41	46	55
		100	16	7	6	6	4	3	2
1-octanol	1534	41	56	43	55	42	70	69	57
		100	79	73	73	60	35	34	28
Propilenoglicol	1561	45	43	44	61	41	39	42	46
		100	18	9	3	3	2	2	2

continua...

Tabela A.1 - continuação

COMPOSTO	I Kovats Teórico	ÍONS MAJORITÁRIOS (M/Z)							
		ABUNDÂNCIA RELATIVA (%)							
1,3-butanodiol	1592	45	43	57	47	44	46	42	55
		100	12	7	7	5	3	2	2
acetofenona	1621	77	105	51	43	120	50	38	39
		100	88	51	35	22	21	10	9
decanoato de etila	1635	88	41	43	55	101	60	70	61
		100	57	56	34	29	29	28	26
benzoato de etila	1647	105	77	51	122	50	150	83	39
		100	98	42	26	16	15	13	10
ácido 3-metil-butanóico	1665	60	45	42	46	41	73	39	43
		100	43	34	29	25	25	20	15
ácido 2-metil butanóico	1668	41	74	60	57	39	43	45	87
		100	87	52	49	37	36	34	21
2,6-dimetil-benzaldeído	n.e.	91	133	134	51	77	105	39	79
		100	76	69	62	59	57	49	46
<i>gama</i> -hexalactona	1745	83	55	39	57	84	54	41	56
		100	49	20	18	15	10	7	6
<i>delta</i> -cadineno	1749	41	161	43	105	119	134	91	39
		100	57	53	52	50	39	36	36
acetato de feniletila	1810	43	104	91	39	65	51	77	78
		100	58	11	8	8	8	6	6
dodecanoato de etila	1833	88	43	41	55	101	57	70	73
		100	62	57	33	32	25	22	21
ácido heptanóico	1860	60	41	39	73	45	42	43	55
		100	54	42	42	36	33	28	22
hidrocinaurato de etila	1862	104	91	107	105	51	77	78	39
		100	66	38	37	26	25	18	17
álcool fenilético	1887	91	92	65	39	122	51	50	52
		100	56	26	24	18	17	8	8
ácido octanóico	1924	60	41	73	43	39	44	55	42
		100	56	46	35	31	20	20	17
<i>delta</i> -octalactona	1924	42	43	99	71	41	55	39	70
		100	57	45	44	41	38	37	30
cinamato de etila	2095	131	103	77	51	104	102	176	132
		100	65	59	51	20	20	16	14

n.e. = não encontrado na literatura

ANEXO 2

Tabela A.2.1 Porcentagens de áreas relativas médias dos componentes voláteis de suco do caju CP 76 cultivados sob irrigação e resultados da ANOVA. Safra 1998.

Pico	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		SAFRA 1998	
	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area Média	PLOTE
1	2,17a	12,74	2,09a	35,15	1,14a	12,89	1,80	0,1062
2	0,43	10,90	nd-0,12	-	nd-0,13	-	nd-0,43	-
3	0,65	36,00	nd	-	nd	-	nd-0,65	-
4	0,59a	9,40	0,27a	38,50	0,80a	15,23	0,55	0,2488
5	nd-tr	-	nd	-	nd-0,11	-	nd-0,11	-
6	15,02a	6,92	2,21c	4,33	5,42b	2,23	7,55	0,0001
7	6,18a	8,46	1,55b	6,60	1,10b	1,20	2,94	0,0001
8	12,11b	8,98	11,78b	0,83	15,18a	10,10	13,02	0,0015
9	2,19a	8,55	2,18a	5,65	2,28a	5,93	2,22	0,7916
10	9,72c	10,99	16,34b	1,97	19,74a	36,95	15,27	0,0001
11	3,72a	54,06	0,89ab	3,56	0,78b	5,93	1,80	0,0362
12	0,33a	25,71	0,19b	13,61	0,25ab	0,52	0,26	0,0463
13	3,18a	21,24	1,87ab	16,07	1,59b	19,67	2,22	0,0426
14	tr	-	tr-0,20	-	0,32	0,66	tr-0,32	-
15	0,41a	23,93	0,46a	14,19	0,55a	2,52	0,47	0,2401
16	nd	-	0,15	17,72	nd-tr	-	nd-0,15	-
17	0,15c	47,01	2,55b	8,44	3,69a	14,41	2,13	0,0001
18	nd	-	nd	-	tr	-	nd-tr	-
19	7,10a	5,49	6,66a	2,68	4,86b	4,15	6,21	0,0001
20	0,45a	8,23	0,30a	14,74	0,38a	3,75	0,38	0,2114
21	nd	-	tr	-	nd-0,11	-	nd-0,11	-
22	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
23	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
24	0,88a	17,81	0,65a	17,92	1,05a	8,22	0,86	0,1676
25	0,48	15,73	nd-tr	-	nd-0,37	-	nd-0,48	-
26	nd	-	tr	-	0,11	0,45	nd-0,11	-
27	*	-	*	-	*	-	*	-
28	*	-	*	-	*	-	*	-
29	*	-	*	-	*	-	*	-
30	*	-	*	-	*	-	*	-
31	*	-	*	-	*	-	*	-
32	0,68a	0,60	0,17b	20,52	0,34b	5,39	0,40	0,0065
33	0,52	6,68	nd-0,15	-	nd-0,82	-	nd-0,82	-
34	1,66a	34,78	1,05a	11,13	0,83a	8,39	1,18	0,0916
35	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
36	tr	-	0,48	8,17	tr-0,51	0,69	tr-0,51	-
37	0,22b	15,23	2,96a	0,61	1,64ab	25,11	1,61	0,0035
38	0,50a	9,53	0,30b	4,48	0,24b	0,36	0,34	0,0001
39	0,34a	4,45	0,24a	42,20	0,19a	1,75	0,26	0,0947
40	0,28a	15,32	0,38a	40,55	0,25a	2,94	0,30	0,4082
41	0,95a	2,48	0,47a	35,11	0,81a	12,24	0,74	0,2079
42	nd	-	0,16	7,16	nd-0,14	-	nd-0,16	-
43	tr	-	1,93	2,65	0,93	2,74	tr-1,93	-
44	nd	-	tr	-	nd-0,14	-	nd-0,14	-
45	nd-tr	-	0,15	4,67	tr-0,11	-	nd-0,15	-

Continua...

Tabela A.2.1 - continuação

Pico	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		SAFRA 1998	
	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area Média	P _{LOTE}
46	nd-tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-
47	0,19b	25,02	0,30a	4,07	0,18b	0,49	0,22	0,0057
48	0,20c	70,04	1,77a	8,23	0,94b	11,16	0,97	0,0016
49	nd	-	tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-
50	nd-tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-
51	nd-tr	-	tr	-	tr	-	nd-tr	-
52	0,18b	8,06	0,42a	34,49	0,16b	0,03	0,25	0,0164
53	tr	-	0,11	6,56	0,39	0,35	tr-0,39	-
54	nd-tr	-	0,29	41,12	0,35	3,80	nd-0,35	-
55	0,10b	17,96	0,24a	3,29	0,29a	0,84	0,21	0,0001
56	nd-tr	-	tr	-	0,12	0,19	nd-0,12	-
57	nd-tr	-	nd	-	nd	-	nd-tr	-
58	0,41c	17,08	3,22b	15,62	4,98a	11,07	2,87	0,0001
59	0,17b	11,74	0,29b	11,51	0,49a	2,17	0,32	0,0011
60	nd	-	tr-0,1	-	tr-0,14	-	nd-0,14	-
61	0,18	-	tr	-	tr-0,1	-	tr-0,18	-
62	tr	-	0,12	21,74	0,18	1,30	nd-0,18	-
63	nd	-	tr	-	tr-0,11	-	nd-0,11	-

[#] média de 3 amostras de cada lote

Médias de % área com a mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

C.V. = coeficiente de variação (desvio padrão/ média X 100)

nd = não detectado

tr = pico com área relativa inferior a 0,1 %

* = não registrado devido a variações na posição do pico nos cromatogramas

Tabela A.2.2 Porcentagens de áreas relativas médias dos componentes voláteis de suco do caju CP 76 cultivados sob irrigação e resultados da ANOVA. Safra 1999.

Pico	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		SAFRA 1998	
	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area Média	P _{LOTE}
1	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
2	nd-0,29	-	nd	-	nd-0,35	-	nd-0,35	-
3	0,38	19,39	0,60	25,67	nd-0,28	-	nd-0,60	-
4	1,30a	32,71	1,64a	37,17	2,15a	46,67	1,70	0,402
5	nd	-	nd	-	tr-2,868	-	tr-2,868	-
6	6,94ab	22,24	6,28b	3,08	9,72a	14,42	7,64	0,0283
7	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
8	5,45b	33,83	2,56b	17,93	8,47a	9,88	5,50	0,0028
9	1,34a	30,76	1,18a	11,30	1,13a	67,77	1,22	0,872
10	16,45a	25,42	9,39b	0,45	16,70a	10,01	14,18	0,0224
11	12,25a	16,32	12,89a	14,90	7,68b	0,99	10,81	0,0162
12	0,27a	54,64	0,24a	55,25	0,36a	9,85	0,29	0,4406
13	0,74b	15,42	1,34a	11,14	0,69b	27,84	0,92	0,0004
14	nd	-	nd	-	0,40	43,78	nd-0,4	-
15	0,49a	14,76	0,88a	34,23	0,51a	12,69	0,63	0,0722
16	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
17	6,28b	29,94	28,59a	8,07	9,27b	32,75	14,71	0,0001
18	nd-1,85	-	nd	-	nd	-	nd-1,85	-
19	0,73ab	28,89	0,35b	23,03	1,30a	34,24	0,79	0,0184
20	0,44a	10,80	0,36a	13,18	0,33a	39,58	0,38	0,2950
21	nd	-	nd	-	0,19	21,87	nd-0,19	-
22	0,73a	16,67	0,30b	23,56	0,88a	10,23	0,64	0,0008
23	tr-0,2	-	tr-0,23	-	tr-0,43	-	tr-0,43	-
24	1,10a	34,38	0,95a	27,19	1,67a	18,03	1,24	0,0665
25	0,26	26,73	nd-0,24	-	nd	-	nd-0,26	-
26	0,43a	12,90	0,53a	7,27	0,65a	89,25	0,54	0,7424
27	*	-	*	-	*	-	*	-
28	*	-	*	-	*	-	*	-
29	*	-	*	-	*	-	*	-
30	*	-	*	-	*	-	*	-
31	*	-	*	-	*	-	*	-
32	nd-0,15	-	nd-0,13	-	0,14	26,56	nd-0,15	-
33	nd-0,26	-	nd-tr	-	nd-0,12	-	nd-0,26	-
34	0,16a	35,97	0,20a	46,94	0,23a	37,83	0,20	0,5769
35	nd-0,14	-	nd-tr	-	nd-0,14	-	nd-0,14	-
36	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
37	0,23	28,60	tr-0,16	-	0,46	-	tr-0,46	-
38	nd-0,21	-	nd-tr	-	tr-0,16	-	nd-0,21	-
39	nd	-	nd	-	nd-tr	-	nd-tr	-
40	nd	-	nd	-	nd-0,12	-	nd-0,12	-
41	nd	-	nd	-	nd-0,14	-	nd-0,14	-
42	nd	-	nd	-	nd-0,45	-	nd-0,45	-
43	0,98a	30,64	1,33a	34,62	0,65a	30,75	0,99	0,123
44	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
45	1,15	14,37	tr-0,78	-	3,35	2,72	tr-3,35	-
46	nd	-	nd-tr	-	nd-tr	-	nd-tr	-
47	tr-0,25	-	nd-0,35	-	0,12	28,79	nd-0,35	-

Continua...

Tabela A.2.2 - continuação

Pico	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		SAFRA 1998	
	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area [#]	C.V.	% Area Média	P _{LOTE}
48	0,54b	28,82	0,54b	19,55	0,89a	18,23	0,65	0,0345
49	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
50	nd	-	nd	-	nd-tr	-	nd-tr	-
51	nd-tr	-	nd-tr	-	0,34	78,40	nd-0,34	-
52	0,17	7,55	nd-0,17	-	0,17	66,20	nd-0,17	-
53	nd	-	nd	-	nd-tr	-	nd-tr	-
54	4,78a	34,26	0,51b	31,74	2,92ab	16,20	2,74	0,0054
55	0,17a	29,55	0,17a	35,23	0,12a	10,66	0,15	0,4139
56	nd	-	nd-tr	-	nd	-	nd-tr	-
57	nd	-	nd	-	0,15	44,87	nd-0,15	-
58	2,97a	49,07	4,34a	13,22	3,00a	13,11	3,44	0,2023
59	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
60	0,48	20,22	nd-0,23	-	tr-0,24	-	nd-0,48	-
61	tr-0,27	-	nd-tr	-	nd-0,1	-	nd-0,27	-
62	2,45a	38,98	0,35b	10,34	1,18ab	14,28	1,33	0,0106
63	tr-0,74	-	tr	-	0,15	27,00	tr-0,74	-

[#] média de 3 amostras de cada lote

Médias de % área com a mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% de significância.

C.V. = coeficiente de variação (desvio padrão/média X 100)

nd = não detectado

tr = pico com área relativa inferior a 0,1 %

* = não registrado devido a variações na posição do pico nos cromatogramas

ANEXO 3

Tabela A.3.1 Área padronizada média dos componentes voláteis da amostra de suco de caju utilizada como matéria-prima na elaboração do vinho (Capítulo 4).

Pico	Compostos Voláteis	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		Entre Lotes	
		Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área Média ¹	C.V. ² %
1	Acetato de etila	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
2	Propanoato de etila	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
3	Butanoato de metila	nd-0,53	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
5	Isovalerato de metila	3,49	26,66	1,28	18,68	3,89	11,76	nd-0,53	-
6	Butanoato de etila	7,12	14,68	5,25	15,86	10,46	4,41	2,89	48,64
7	2-metil butanoato de metila	4,63	11,05	11,85	5,53	6,66	9,52	7,61	34,66
8	Isovalerato de etila	31,37	11,95	58,55	12,89	51,07	10,82	7,72	48,24
12	Hexanal	11,57	13,06	5,51	118,3	12,28	7,33	46,99	29,87
13	trans-2-butenato de metila	nd	-	nd-tr	-	nd-0,17	-	9,79	38,03
14	Acetato de isoamila	0,38	33,85	0,68	44,88	0,53	11,80	nd-0,17	-
15	3-metil valerato de metila	nd-0,31	-	nd-tr	-	0,51	17,09	0,53	27,65
16	n-valerato de etila	0,93	13,19	tr-0,78	-	0,81	66,02	nd-0,51	-
17	2-metil-2-pentenal	1,11	19,67	1,51	71,74	1,22	26,74	tr-0,93	-
18	1-butanol	0,76	11,32	nd-0,28	-	nd-0,17	-	1,28	15,84
19	trans-2-butenato de etila	4,45	4,64	16,84	3,96	11,87	7,65	nd-0,76	-
20	3-metil valerato de etila	0,45	11,96	0,55	4,97	nd-0,95	-	11,05	56,43
21	n-acetato de amila	nd-tr	-	nd	-	tr-0,20	-	nd-0,95	-
23	Hexanoato de metila	nd	-	0,41	29,21	nd-0,36	-	nd-0,20	-
24	NI	nd	-	nd	-	nd-0,64	-	nd-0,41	-
25	2-metileno butanoato de metila	0,61	10,72	0,58	36,64	0,45	31,28	nd-,643	-
26	3-hexanol	nd-tr	-	tr	-	nd	-	0,55	15,18
27	3-metil-1-butanol	7,35	18,14	26,14	8,12	24,46	15,46	nd-tr	-
28	Trans-2-hexenal	12,12	24,69	16,59	12,25	8,66	10,85	19,32	53,84
30	Hexanoato de etila	7,70	12,73	10,96	5,41	6,93	26,59	12,46	31,94
31	2-metil-2-butenato de etila	nd	-	nd	-	nd-5,29	-	8,53	25,10
32	1,3,5,7, cicooctateraeno	1,22	5,73	0,93	54,18	1,95	6,43	nd-5,29	-
33	1-pentanol	0,748	13,02	1,78	0,73	1,37	2,32	1,37	38,76
34	NI	tr-0,44	-	tr-0,33	-	nd	-	1,299	39,94
35	3-hidroxi-2-butanona	0,37	14,99	1,32	12,47	1,28	9,81	tr-0,44	-
36	trans-2-hexenoato de metila	0,42	8,05	0,62	3,68	0,39	56,91	0,99	54,27
37	NI	tr	-	nd-0,43	-	nd-0,22	-	0,48	25,94
38	trans-3-hexenoato de metila	0,34	17,53	0,52	15,25	0,49	7,69	nd-0,43	-
39	n-acetato de hexila	tr	-	0,80	16,69	0,34	9,64	0,45	22,31
43	NI	nd	-	0,62	6,25	0,38	11,05	tr-0,80	-
44	trans-2-hexenoato de etila	tr	-	tr	-	0,26	39,10	nd-0,62	-
46	Cis-3-hexenol	1,36	31,82	3,38	5,47	1,66	8,17	tr-0,26	-
47	Nonanal	nd	-	nd	-	nd-0,14	-	2,13	51,25
48	2-butoxi-etanol	0,48	29,85	1,15	46,39	0,84	58,61	nd-0,14	-
49	NI	tr	-	tr-0,29	-	nd-0,16	-	0,82	41,00
50	Octanoato de etila	tr-0,20	-	0,30	13,69	0,34	4,17	nd-0,29	-
51	Ácido acético	1,11	1,48	2,61	36,36	1,51	16,09	tr-0,34	-
52	Alfa-copaeno	nd	-	nd	-	nd-0,64	-	1,74	44,38
53	Decanal	tr-0,31	-	0,45	16,80	nd-0,28	-	nd-0,64	-
54	Benzaldeído	tr-0,60	-	0,82	28,34	2,54	10,69	nd-0,45	-
56	NI	0,56	13,09	12,99	7,74	0,33	12,86	tr-2,54	-
57	1-octanol	0,30	26,25	0,70	17,87	nd	-	4,63	156,6
								nd-0,70	-

Continua...

Tabela A.3.1. – continuação.

Pico	Compostos Voláteis	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		Entre Lotes	
		Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área Média ¹	C.V. ² %
60	NI	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
61	Acetofenona	0,37	24,78	0,95	5,02	0,56	9,50	0,63	46,83
64	Benzoato de etila	tr	-	tr-0,56	-	0,25	45,55	tr-0,56	-
66	Ácido 2-metil butanóico	11,38	34,52	63,14	13,15	18,65	4,64	31,06	90,22
68	2,6 dimetil benzaldeído	1,41	30,35	0,87	81,37	0,75	75,37	1,01	34,81
69	NI	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
70	Gama-hexalactona	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-
78	NI	tr	-	nd	-	tr	-	tr	-
79	Delta octalactona	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-

¹Área= área padronizada %= área do composto/área do padrão interno x 100

²C.V.= coeficiente de variação = desvio padrão/média X 100

³composto não detectado nas corridas de análise por eluir juntamente com o solvente

nd = não detectado

tr = composto detectado em quantidades traços

Tabela A.3.2 - Área padronizada média dos componentes voláteis do vinho do caju utilizado no estudo do Capítulo 4.

Pico	Compostos Voláteis	LOTE 1		LOTE 2		LOTE 3		Entre Lotes	
		Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área ¹	C.V. ² %	Área Média ¹	C.V. ² %
1	Acetato de etila	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
2	Propanoato de etila	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
3	Butanoato de metila	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-	nd ³	-
4	Acetato de isobutila	3,48	19,57	3,71	14,28	1,39	32,90	2,86	44,73
6	Butanoato de etila	8,30	32,31	10,88	12,69	6,05	4,24	8,41	28,72
7	2-metil butanoato de metila	3,11	35,34	3,56	16,42	2,22	2,76	2,96	23,05
8	Isovalerato de etila	6,48	9,46	7,02	11,10	8,20	21,33	7,23	12,14
9	NI	0,19	5,72	nd-0,31	-	nd-0,54	-	nd-0,54	-
10	Isobutanol	21,37	12,83	30,06	21,26	12,66	14,65	21,36	40,73
11	NI	nd-0,75	-	1,06	38,68	0,84	173,2	nd-1,06	-
14	Acetato de isoamila	181,11	9,33	181,05	8,94	81,34	2,25	147,83	38,95
18	1-butanol	0,63	25,39	0,56	19,74	0,27	22,47	0,49	38,41
19	trans-2-butenato de etila	0,67	20,88	1,09	3,37	1,04	3,23	0,93	24,53
21	n-acetato de amila	4,26	12,11	3,69	5,02	1,30	35,41	3,08	50,97
22	NI	nd-0,18	-	nd	-	nd-0,14	-	nd-0,18	-
27	3-metil-1-butanol	251,42	15,19	250,27	9,91	149,10	2,86	216,93	27,08
29	NI	0,45	8,16	0,78	4,93	0,53	5,54	0,59	29,03
30	Hexanoato de etila	56,00	9,93	58,37	6,83	57,37	11,10	57,25	2,08
32	1,3,5,7 ciclooctatetraeno	241,03	5,13	415,24	23,05	162,68	5,87	272,99	47,35
33	1-pentanol	2,83	2,68	3,03	9,94	1,09	10,83	2,31	46,13
35	3-hidroxi-2-butanona	0,44	20,53	0,63	12,03	nd-0,18	-	nd-0,63	-
39	n-acetato de hexila	1,84	9,79	0,77	5,33	0,81	5,46	1,14	53,29
40	cis-3-acetato de hexenila	0,29	16,62	0,16	6,09	nd-0,12	-	nd-0,29	-
41	4-metil-1-pentanol	0,87	16,35	0,74	7,88	0,70	9,99	0,77	11,36
42	3-metil-1-pentanol	1,62	10,01	1,38	8,83	1,39	10,43	1,46	9,35
45	Lactato de etila	9,56	8,48	0,33	17,17	7,65	2,07	5,84	83,38
47	Nonanal	0,37	10,82	0,27	14,96	0,40	11,51	0,35	20,24
48	2-butoxi etanol	0,53	7,05	0,57	67,72	0,49	19,91	0,53	7,09
50	Octanoato de etila	93,67	5,70	71,18	7,12	61,55	15,56	75,46	21,84
51	Ácido acético	3,31	13,52	1,41	23,27	2,20	18,58	2,31	41,57
52	Alfa-copaeno	0,17	4,26	tr	-	nd-0,19	-	nd-0,19	-
53	Decanal	nd	-	nd-0,11	-	nd	-	nd-0,11	-
55	2,3 butanodiol	tr-0,24	-	nd-0,45	-	0,41	73,72	nd-0,45	-
58	Propilenoglicol	0,33	97,88	nd-1,76	-	nd-0,15	-	nd-1,76	-
59	1,3 butanodiol	nd	-	nd	-	nd-0,11	-	nd-0,11	-
62	Decanoato de etila	34,13	11,71	26,04	7,24	21,54	17,43	27,24	23,43
63	Octanoato de isoamila	0,46	12,04	0,32	13,86	0,36	23,10	0,38	18,51
65	NI	0,98	14,13	1,69	1,89	1,34	61,15	1,34	26,27
66	Ácido 2-metil butanóico	0,43	26,72	0,24	15,49	0,46	21,99	0,38	31,03
67	NI	0,45	0,69	nd	-	0,38	86,61	nd-0,45	-
71	Delta-cadineno	0,36	12,34	0,32	19,16	0,45	58,74	0,38	17,43
72	Acetato de feniletila	0,43	4,89	0,33	5,61	0,17	14,12	0,31	41,57
73	Dodecanoato de etila	0,95	27,26	0,55	29,54	0,34	34,35	0,61	50,57
74	Ácido heptanóico	0,66	9,21	0,45	37,88	0,80	23,36	0,64	27,47
75	Hidrocinamato de etila	3,94	15,81	0,30	3,18	3,99	11,47	2,74	76,97
76	Álcool feniletílico	0,82	4,58	0,56	27,71	0,64	34,62	0,67	19,47
77	Ácido octanóico	1,20	12,47	0,72	27,60	1,03	43,74	0,98	24,90
80	Cinamato de etila	tr	-	tr	-	tr	-	tr	-

¹Área= área do composto/área do padrão interno x 100²C.V.= desvio padrão/média X 100³ eluiu juntamente com o solvente

nd = não detectado

tr = quantidades traços

ANEXO 4

Tabela A.4.1 – Compostos voláteis detectados no vinho do caju, com Índices de Kovats obtidos nas análises cromatográfica e olfatométrica, frequência com que foram percebidos, e descritores com a frequência de utilização.

Pico	Índice Kovats		Composto	Freq.	Descritor (frequência)
	Crom.	Olfat.			
S			Acetona (solvente)	11	Acetona (9), ác.acético, ácido
A			ND	5	Doce(2), éster, perfume, caju
1	< 1000	< 1000	Acetato de etila	3	Caju, caju estragado, fruta podre
2	< 1000	-	Propanoato de etila	-	Não detectado por Osme
2a	< 1000	< 1000	NI (pico 3 do capítulo 3)	13	Doce(5), tuti-fruti(3), fruta madura(3), caju, suco caju fermentado, NI
3	< 1000	< 1000	Butanoato de metila	8	Doce(6), éster(2), fruta, tuti-fruti, álcool
4	1014	1014	Acetato de isobutila	3	Doce(2), flor, esmalte
5	1023	1022	Isovalerato de metila	10	Lembra caju(2), caju-ameixa(2),roupa molhada(2),estragado(2),desagradável(2)
6	1042	1041	Butanoato de etila	14	Doce(5), caju(3), éster(3), fruta(2), bala de fruta,doce de fruta, cajá, perfume
7	1057	1057	2-metil butanoato de metila	14	Caju(7), fruta(5), doce(2), doce de caju, guaraná, éster, caju-ameixa, adstringente que muda para terra úmida desagradável
8 / 10	1070 1112	1075	Isovalerato de etila + isobutanol	12	Caju(5), doce(2), doce de caju, caju-ameixa, guaraná, fermentado (2), fedido(2), álcool butírico, podre,
14	1127	1127	Acetato de isoamila	12	Banana(4), esmalte(3), cândida(2), cloro, acetato, solvente, fruta
15	1136	1138	3-metil-valerato de metila	8	Doce(4), fruta(2), caju, éster
18	1180	1180	1-butanol	4	Doce(3), caju, fermentado
19	1160	1171	Trans-2-butenoato de etila	7	Caju (4), doce(2), NI
21	1170	1174	n-acetato de amila	7	Doce(2), caju(2),fruta(2), caqui, NI(2)
23	-	1180	Hexanoato de metila (ND)	3	Fruta(2), caju(2)
27	1216	1221	3-metil-1-butanol (alcoól isoamílico)	14	Fedido (3), caju-ameixa(2), banana-passa(2), caju, estranho, roupa molhada, químico,acetato, caramelo, adocicado
30	1238	1230	Hexanoato de etila	10	Doce(4), hortelã(3), limão, aniz, menta, , floral, , roupa molhada
31	1244	1236	2-metil-2-butenoato de etila	10	Doce(2), fruta, doce cozido, lembra cerveja, ácido, banana, hortelã
32	1249	1246	1,3,5,7,ciclooctatetraeno	12	Plástico(6), PVC(3), fedido(2), solvente (2), verde
33	1258	-	1-pentanol	-	Não detectado por Osme
34a	1276	1279	Octanal	7	Percevejo(2), castanha, amêndoa verde, verde, floral, fedido

Continua...

Tabela A.4.1 - continuação

Pico	Índice Kovats		Composto	Freq.	Descritor (frequência)
	Crom.	Olfat.			
35	1281	-	3-hidroxi-2-butanona	-	Não detectado por Osme
37	1292	1293	NI	3	Mofa(3), pano molhado
39	1274	-	n-acetato de hexila	-	Não detectado por Osme
40	1312	-	cis-3-acetato de hexenila	-	Não detectado por Osme
41	1317	-	4-metil-1-pentanol	-	Não detectado por Osme
42	1331	-	3-metil-1-pentanol	-	Não detectado por Osme
45	1340	1337	Lactato de etila	3	Não detectado por Osme
46	1383	1407	cis-3-hexenol	15	Ácido, plástico, NI Doce(4), fruta(4), NI(4), caju(3), verde(2), casca fruta
47	1381	1380	Nonanal	5	Flor(2), amendoado(2), NI
48	1393	-	2-butoxi-etanol	-	Não detectado por Osme
50	1431	1431	Octanoato de etila	7	Doce(3), fruta(2), flor, shampoo, amêndoa
51	1444	1444	Ácido acético	13	Ácido acético(7), vinagre (2), cola tenax(3), ácido
51a	1454	1452	Acetato de octila	6	Plástico(3), acetato, doce, NI
54	1510	1494	Benzaldeído	5	Plástico(2), doce, NI
55	1535	1536	2,3-butanediol	8	Fruta, caju, metálico, borracha, ruim, NI(2)
57	1554	-	1-octanol	-	Não detectado por Osme
M	-	1558	ND	10	Flor(4), perfume(4), mamão (4), frutal
58	1581	-	Propilenoglicol	-	Não detectado por Osme
59	1585	-	1,3 butanodiol	-	Não detectado por Osme
60c	-	1600	ND	15	Caju(10), caju verde(3), pitanga(2), adstringência(2), fruta, vinho
61	-	1643	Acetofenona	8	Desagradável(2), queijo azedo, caju ameixa ou muito maduro, NI(4)
62	1630	-	Decanoato de etila	-	Não detectado por Osme
63	1667	-	Octanoato de isoamila	-	Não detectado por Osme
64	1670	-	Benzoato de etila	-	Não detectado por Osme
65	1672	1675	NI	3	Doce, bala, suave
66	1683	1687	Ácido 2-metil butanóico	13	Fedido(5) ruim(4), roupa molhada (3), caju(2), Chulé(2), banana passa, esquisito
67	1684	-	NI	-	Não detectado por Osme
70	1745	1744	Gama-hexalactona	1	Adocicado com irritante
71	1749	-	Delta-cadineno	-	Não detectado por Osme
72	1815	-	Acetato de feniletila	-	Não detectado por Osme
73	1846	-	Dodecanoato de etila	-	Não detectado por Osme
74/75	1877 1892	1884	Ácido heptanóico + hidrocinaurato de etila	10	Doce(3), uva passa, damasco, fruta seca, chá, tabaco, açúcar, fermentado com azeite, vinagre, mofa
76/77	> 1900	> 1900	Álcool feniletílico + Ácido octanóico	8	Doce forte(3), perfumado(2), vinho de caju(2), caju, cajuína, cera de abelha(2), colméia, flor
80	> 1900	> 1900	Cinamato de etila	3	Flor(3), perfume, NI

ND = não detectado pelo DIC

NI = composto não identificado

ANEXO 5

Tabela A.5.1 – Áreas dos principais picos dos isolados simples e concentrado de compostos voláteis do suco de caju e relação entre elas.

PICO	ISOLADO (Unidades de área)		RELAÇÃO SIMP/CONC
	SIMPLES	CONCENTRADO	
4	78787	174644	2,21
6	279631	606571	2,17
8	382642	884165	2,31
9	31179	77101	2,47
10	741396	1509294	2,03
11	279768	696817	2,49
12	21341	43282	2,03
13	20871	53535	2,56
14	16498	31162	1,89
15	19703	39683	2,01
17	315698	670432	2,12
18	82181	219885	2,67
19	70013	140684	2,03
20	29154	55145	1,89
21	9735	19713	2,02
22	25530	58503	2,29
24	113205	253283	2,23
26	66726	100362	1,50
27	238421	452953	1,90
29/30/31	632439	1327278	2,10
32	4498	11565	2,57
34	17685	46531	2,63
35	9948	21841	2,19
41	5350	9450	1,76
43	33977	63612	1,87
45	67462	38731	1,74
47	22144	12126	1,83
48	22554	57009	2,52
54	51580	102005	1,98
58	96417	174871	1,81

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRA
SECÃO CIRCULANT