



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

**PERFIL DE VOLÁTEIS EM *WATER PHASE* DE MARACUJÁ
AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener) E
AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL PARA A PRODUÇÃO DE
ESSÊNCIA NATURAL**

SUZILEY CIAMPONE

M.Sc. em Tecnologia de Alimentos

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de
Campinas, para a obtenção do título de **Doutor** em Alimentos e Nutrição

Prof^ª Dr^ª MARIA APARECIDA AZEVEDO PEREIRA DA SILVA

Orientadora

Prof^ª Dr^ª MARIA REGINA BUENO FRANCO

Co-orientadora

Campinas

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FEA – UNICAMP

C481p Ciampone, Suziley
Perfil de voláteis em *water phase* de maracujá amarelo
(*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener) e avaliação de seu
potencial para a produção de essência natural / Suziley
Ciampone. – Campinas, SP: [s.n.], 2007.

Orientador: Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Co-orientador: Maria Regina Bueno Franco
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Maracujá. 2. Essências. 3. Olfatometria. 4.
Cromatografia gasosa. 5. Aroma. I. Silva, Maria Aparecida
Azevedo Pereira da. II. Maria Regina Bueno Franco. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
de Alimentos. IV. Título.

(ckn/fea)

Título em inglês: Volatiles profile in yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*
Degener) water phase and evaluation of its potential for the production
of natural essence

Palavras-chave em inglês (Keywords): Passion fruit, Essences, Olfactrometry, Gas
chromatography, Aroma

Área de concentração: Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Titulação: Doutor em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora: Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Deborah Helena Markowicz Bastos
Eliete Vaz de Faria
Helena Maria André Bolini
Natália Soares Janzantti
Selma Bergara Almeida

Programa de Pós-Graduação: Programa em Alimentos e Nutrição

SUZILEY CIAMPONE

Química Industrial

**PERFIL DE VOLÁTEIS EM *WATER PHASE* DE MARACUJÁ
AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener) E
AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL PARA A PRODUÇÃO DE
ESSÊNCIA NATURAL**

PROF^a Dr^a MARIA APARECIDA AZEVEDO PEREIRA DA SILVA

Orientadora

PROF^a Dr^a MARIA REGINA BUENO FRANCO

Co-Orientadora

Campinas

2007

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Orientadora

Profª Drª Deborah Bastos
Membro

Drª Eliete Vaz de Faria
Membro

Profª Drª Helena Maria André Bolini
Membro

Drª Natália Soares Janzantti
Membro

Drª Selma Bergara Almeida
Membro

“... Deixem os preconceitos de lado e pesquisem. Não façam da tradição e do que já foi feito a única arma para combater os males do mundo. Não recuem diante do mistério, mas procurem enfrentá-lo e desvendá-lo. Não se encasulem em conhecimentos velhos, não se considerem os únicos donos da verdade e do conhecimento, pois um diploma não faz o cientista. A vida não tem valor nenhum quando não se consegue ser útil a outra vida. E façam tudo com amor, pois será um dia esplêndido aquele em que, dos progressos da ciência, participará também o coração”.

Louis Pasteur

Se hoje estou aqui para receber um título de Doutor é, sem dúvida, porque tenho na minha vida, ininterruptamente, o apoio, o amor, o socorro e o incentivo dos meus amados pais **Laércio e Cecília**. Magníficos presentes que Deus me deu. Exemplos de integridade, força, trabalho e grande dedicação. Verdadeiros doutores da minha vida.

A eles, dedico.

AGRADECIMENTOS

Os grandes fatos de nossas vidas estão associados a ocasiões de alegrias, como também de dificuldades. Por esse motivo, na conclusão deste trabalho, agradeço com carinho a todos que me estenderam as mãos auxiliando-me na solução dos problemas, ou trazendo-me conforto e momentos de carinho, impulsionando-me a seguir. Quero expressar minha grande gratidão:

- ✦ A Deus, Pai Atento, Tolerante, Amigo e Mestre. Pela vida. Pelo imenso amor.
- ✦ Ao CNPq pela bolsa de doutorado concedida (processo nº 142172/2003-0).
- ✦ À profa Dr^a Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva, pela oportunidade que me ofereceu em dar continuidade ao meu doutorado; pelo exemplo de ética e pela orientação, mostrando-me como proceder com objetividade, análise crítica e visão futura.
- ✦ À profa Dr^a Maria Regina Bueno Franco, co-orientadora do trabalho, pela atenção que sempre me recebeu e pelas valiosas correções.
- ✦ Ao Rogério Origa (Döhler) pelo fornecimento da *water phase* de maracujá.
- ✦ A todos os membros da banca examinadora: Profa Dr^a Helena, Dr^a Eliete, Profa Dr^a Deborah, Dr^a Natália, Dr^a Selma e Profa Dr^a Cida pela atenção, disponibilidade e pertinentes correções
- ✦ À querida amiga Dr^a Natália Soares Janzantti, grande companheira! Não conseguiria colocar aqui a imensa (!) ajuda, o muito que aprendi com ela e o exemplo de paixão profissional que ela representou para mim. Sempre com alegria e otimismo.
- ✦ À querida amiga Selma Bergara Almeida pelo constante incentivo, pelos ensinamentos (técnicos e espirituais), pelo companheirismo e pelo exemplo de fé que contagia.
- ✦ À Dr^a Deborah dos Santos Garrutti por toda ajuda no decorrer do doutorado, sempre educada, atenciosa e prestativa.
- ✦ Ao professor Dr Carlos Grosso pela atenção, pela força e constante incentivo.
- ✦ Aos professores Dr Célio Kengi e Dr^a Flávia Maria Netto pelo apoio em momentos cruciais.
- ✦ À Nice, nossa mãezinha e amiga, que cuida tão bem do laboratório de análise sensorial. Sempre afetuosa e interessada no nosso bem estar. Maravilhosa.
- ✦ À Lia, que organiza tão competentemente o laboratório de análise sensorial, de modo que todos possam realizar os seus trabalhos. Prestativa, firme, dedicada e carinhosa.
- ✦ À Eliane, competente funcionária do laboratório de bioquímica por, pacientemente, sempre me prestar auxílio (foram muitos) e pelo profissionalismo que sempre me tratou.
- ✦ Aos funcionários do Depan, pela ajuda técnica no decorrer da tese: Carla, Fátima e Francisco.
- ✦ As funcionárias do Depan que sempre me trataram com muita simpatia e atenção: Cidinha, Susana, Betinha e Sônia.

- ✦ A todos os funcionários da FEA, em especial ao Cosme da pós-graduação, a Kreuza e a Claudia da biblioteca, pela atenção e simpatia que sempre me trataram.
- ✦ Às amigas da FEA pelo constante interesse e estímulo: Carol (Souza), Carol (Capitani), Isabela, Andréa, Renata, Maria Inês, Taciana, Ana Koon, Ro Santos, Camila e Manú.
- ✦ Aos companheiros do laboratório de análise sensorial: Patrícia, Dora, Rosa Maria, Angélica, “P.S. e Aline”, Fábio, Vilene, Lauro e Vaneska (Ban), pelas conversas, dicas e amizade.
- ✦ Aos meus pacientes julgadores do Osme: Karina, Natália, Karina (funcionária), Roger e Angélica. Pela dedicação, disponibilidade e grande empenho nas análises.
- ✦ Ao amigo Roger, pelas dicas, trocas de idéias e pela força “sobrenatural” que me dispensou no cromatógrafo na época da análise das essências.
- ✦ À querida amiga Karina Sampaio, sempre otimista, parceira de análises e de congressos, pela agradável companhia durante todo o percurso.
- ✦ À querida Noemi (Nono) minha primeira amiga na FEA! Pelo companheirismo e por ter “simplesmente” me desvendado e me aproximado de Deus, real e amoroso.
- ✦ Às minhas amigas “*protein girls*” Lucia, Soninha, Beth e Janai que tornaram a minha passagem por aqui mais agradável, mulheres de fibra e de imenso coração.
- ✦ Ao querido Vítor (Vitinho) pela inestimável ajuda na finalização da tese. Prestativo, inteligente, rápido (e como!) e de constante bom humor. Uma benção! Valeu!
- ✦ Aos amigos de sempre: Denise, Chiu, Rosângela, Magda e Mauro.
- ✦ À querida amiga Adriana (Dudinha) e à sua bela família. Tive o privilégio de tê-la como companheira durante toda a jornada. Amiga solidária para qualquer hora. Ser humano admirável, sempre incentivando a pensar com equilíbrio e carinho. Pelos agradáveis dias que tivemos como “família” nos quais muito aprendi com sua visão amorosa do ser humano.
- ✦ Aos meus queridos tios Bira, Zinha, Lúcia e Tadeu pelo constante interesse e estímulo.
- ✦ À minha linda tia Celinha, pelo mimo e grande ternura; e aos meus fofos Bruna e Diego.
- ✦ À Selma, que cuida da nossa casa com dedicação; e pelo interesse no nosso bem estar.
- ✦ À minha avó Amélia e a todo pessoal de Itobi pelas palavras de incentivo e otimismo e, em especial, às minhas tias Lú e Vera pela força no primeiro e difícil ano do doutorado.
- ✦ Aos meus irmãos: Solemar, Marcelo e Silmara, meu cunhado/irmão Júlio (charminho), minha querida cunhada Janine e minha amiga/irmã Micheli: o que seria de mim sem vocês? Continuamente a postos para me socorrer e incentivar... Nunca para me julgar e, continuamente, me apoiando, estimulando e torcendo por mim.
- ✦ Às minhas sobrinhas maravilhosas: Lara e Beatriz. No carinhoso abraço delas, a constante renovação da minha fé e esperança em dias melhores.
- ✦ Aos meus pais Cecília e Laércio, o meu amor e eterno agradecimento.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Maracujá: produção e potencial de crescimento.	4
2.2. Compostos voláteis do maracujá amarelo.....	10
2.3. <i>Water phases</i> como matéria prima para elaboração de essências naturais....	19
2.4. Isolamento de voláteis por extração líquido-líquido e headspace dinâmico ...	26
2.4.1. Extração líquido-líquido	29
2.4.2. Extração por <i>headspace</i>	30
2.5. Técnicas de cromatografia gasosa olfatométria (CG-O).....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1. Matéria Prima	43
3.2. Caracterização sensorial da <i>water phase</i> de maracujá	43
3.2.1. Treinamento e seleção da equipe sensorial	43
3.2.2 Análise sensorial da <i>water phase</i> de maracujá.....	46
3.3. Isolamento dos voláteis da <i>water phase</i> através de duas diferentes técnicas	48
3.3.1 Extração líquido-líquido	48
3.3.2. <i>Headspace</i> por sucção	49

3.4 Análise dos isolados da <i>water phase</i> comercial de maracujá	50
3.4.1. Análise sensorial.....	50
3.4.2. Análise cromatográfica dos voláteis.....	51
3.5. Determinação da importância odorífera dos voláteis	52
3.6. Identificação dos voláteis presentes na <i>water phase</i> de maracujá	56
3.7. Caracterização de essências naturais obtidas por destilação fracionada da <i>water phase</i> de maracujá.....	57
3.7.1 Análise sensorial das essências naturais de maracujá.....	58
3.7.2. Isolamento dos voláteis	59
3.7.2.1. Análise cromatográfica dos isolados	59
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1. Treinamento e seleção da equipe sensorial	60
4.2 Caracterização sensorial da <i>water phase</i> de maracujá.....	61
4.3. Caracterização dos isolados de voláteis da <i>water phase</i>.....	63
4.3.1. Caracterização sensorial	63
4.3.2. Perfil de voláteis	63
4.4. Identificação dos voláteis presentes na <i>water phase</i> de maracujá	65
4.5. Voláteis de importância odorífera na <i>water phase</i> de maracujá.	77
4.6. Consenso dos julgadores sobre a importância odorífera dos voláteis da <i>water phase</i>.....	92
4.7. Caracterização de essências naturais obtidas por destilação fracionada da <i>water phase</i> de maracujá.....	101
5. CONCLUSÕES	104
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Participação (%) dos maiores estados produtores de maracujá na produção agrícola nacional dessa fruta. (Fonte: IBGE, 2002)	6
Figura 2. Suco de maracujá: produção e destino entre 1993 e 1997, e expectativas até o ano de 2005. (suco a 50 °Brix em Toneladas). Fonte: Brasil, 2003.	7
Figura 3. Arranjo do cromatógrafo para o uso da técnica Osme (3A). Aromagrama obtido através da técnica Osme (3B) (DA SILVA; LUNDHAL; MCDANIEL, 1994)..	37
Figura 4. Cromatograma e correspondente aromagrama obtido através da técnica Osme (n1= 4 julgadores, n2= 4 repetições) (DA SILVA et al., 1993)	38
Figura 5. Funções psicofísicas relacionando a área média sob o pico de odor no aromagrama (Osme) gerado por cada julgador versus a concentração do composto em uma solução modelo; n= 4 repetições/julgador (DA SILVA, LUNDHAL, MCDANIEL, 1994).	40
Figura 6. Apresentação das amostras em sessão de treinamento dos julgadores.....	44
Figura 7. Ficha utilizada na seleção dos julgadores da equipe sensorial.	45
Figura 8. Análise sensorial dos isolados em fitas apropriadas	47
Figura 9. Ficha utilizada na avaliação do aroma da water phase de maracujá	47
Figura 10. Etapas da extração dos voláteis presentes na water phase: a) separação das fases; b) concentração do isolado com fluxo de nitrogênio ultrapuro.....	49
Figura 11. Sistema de captura dos compostos voláteis da water phase através da técnica proposta por Franco e Rodrigues-Amaya (1983). (Fonte: Garruti, 2001) ...	50
Figura 12. Modelo da ficha utilizada na avaliação do aroma presente nos isolados.	51
Figura 13. Sistema de umidificação, aquecimento e filtragem do ar sintético proveniente do cilindro para arrastar os voláteis até as narinas do julgador.	53
Figura 14. Julgador analisando os odores presentes no efluente cromatográfico utilizando CG-O Osme.	53
Figura 15. Aromagrama gerado pelo SCDTI após integralização dos dados	54
Figura 16. Referências associadas a notas odoríferas presentes no efluente cromatográfico do isolado da <i>water phase</i>	55
Figura 17. Modelo da ficha utilizada na avaliação do aroma de essências naturais.	59

Figura 18. Intensidade média de aroma de maracujá (n= 3 repetições) dada pelos julgadores a suco de maracujá diluído a 3%, 5% e 8% em água. (0= aroma fraco de maracujá, 9= aroma forte de maracujá).	61
Figura 19. Cromatogramas dos voláteis <i>da water phase</i> de maracujá isolados com duas diferentes técnicas: <i>headspace</i> dinâmico extração líquido-líquido.....	64
Figura 20. Cromatograma dos voláteis <i>da water phase</i> de maracujá isolados por extração com diclorometano.	66
Figura 21. Classes químicas e número dos compostos encontrados na <i>water phase</i> de maracujá	71
Figura 22. Cromatograma (A) e respectivo aromagrama consensual (B) da <i>water phase</i> de maracujá (n1= 4 julgadores, n2= 4 repetições).	79
Figura 23. Aromagramas médios de cada julgador gerados pela técnica Osme (n= repetições/julgador).....	93
Figura 24. Aromagramas gerados pelo julgador 2, em três repetições, através da técnica Osme.	97
Figura 25. Perfis cromatográficos das essências de maracujá obtidas por destilação fracionada.	102

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros do processo utilizados na elaboração de seis amostras de essência de maracujá através de destilação fracionada.	58
Tabela 2. Valores associados ao poder discriminativo (p de $F_{amostra}$) e repetibilidade (p de $F_{repetição}$) dos julgadores após período de treinamento. ($n = 19$ indivíduos).....	60
Tabela 3. Intensidade média de aroma de maracujá na <i>water phase</i> fornecida pela DÖHLER - <i>Natural Foods & Beverage Ingredients</i> ($n = 9$ julgadores)	62
Tabela 4. Notas aromáticas percebidas pelos julgadores na <i>water phase</i> fornecida pela DÖHLER - <i>Natural Foods & Beverage Ingredients</i> ($n = 9$ julgadores)	62
Tabela 5. Intensidade média de aroma característico de maracujá nos isolados de voláteis extraídos por duas diferentes técnicas.....	63
Tabela 6. Compostos voláteis identificados no isolado da <i>water phase</i> de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índice de similaridade com o espectro de massas da biblioteca Class 5000 Wiley.....	66
Tabela 7. Voláteis de importância odorífera para a <i>water phase</i> de maracujá, intensidade com que foram detectados no efluente cromatográfico e termos utilizados pelos julgadores para descrever a qualidade de seus odores.	82
Tabela 8. Principais compostos voláteis odoríferos presentes na <i>water phase</i> de maracujá, detectados pela técnica Osme ($n=4$ julgadores treinados).....	84
Tabela 9. Ordenação dos compostos voláteis em valor decrescente de importância odorífera percebidos individualmente pelos julgadores através da técnica Osme	94
Tabela 10. Valores médios das variáveis geradas pelo julgador 2 na análise olfatométrica da <i>water phase</i> de maracujá através da técnica Osme ($n= 3$ repetições)	98
Tabela 11. Caracterização sensorial das essências geradas através da destilação fracionada da <i>water phase</i> ($n=9$ julgadores treinados).....	101

RESUMO

A aceitação dos consumidores por suco de maracujá deve-se ao seu aroma e sabor exóticos. No entanto, na etapa de concentração do suco, juntamente com a água, são também arrastados compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor característicos da fruta, o que reduz a qualidade sensorial do produto final. A recuperação desses compostos ocorre quando os voláteis extraídos por arraste de vapor durante a etapa de concentração do suco, são condensados em uma solução aquosa denominada “*water phase*”. Submetendo-se a *water phase* a um processo de destilação fracionada, ela pode ser concentrada, originando uma essência natural da fruta GRAS, que ao ser readicionada ao suco, aumenta sua qualidade sensorial. No entanto, a indústria de sucos tropicais no Brasil, embora produza a *water phase*, carece de conhecimento e tecnologia adequada para a produção de essências naturais GRAS a partir da *water phase*. A presente pesquisa teve por objetivo caracterizar o perfil de voláteis presentes na *water phase* de maracujá de empresa brasileira, e avaliar o potencial da mesma para a produção de essência natural GRAS de maracujá. Os compostos voláteis da *water phase* foram isolados por extração líquido-líquido (diclorometano) e identificados por cromatografia gasosa (CG) e espectrometria de massas (CG-EM). A qualidade e poder odorífero de cada volátil presente no isolado e sua possível contribuição a uma essência de maracujá foram avaliados, utilizando-se a técnica CG-olfatométrica Osme. Quatro julgadores treinados avaliaram sensorialmente o efluente cromatográfico, em três repetições; seus resultados foram integrados pelo *software* SCDTI, produzindo-se um aromagrama do isolado. Dos 110 picos detectados no cromatograma, 71 foram identificados, perfazendo 72% da área total. Trinta e cinco voláteis foram percebidos no efluente cromatográfico, dos quais, 60% possuíam aromas de impacto positivo para a elaboração de uma essência. Entre esses compostos, os de maior impacto odorífero no efluente cromatográfico foram: butanoato de etila (descrito como frutas vermelhas, tutti-frutti, uva); 3-hexenal (verde, grama); butanoato de metila (doce, frutal); hexanoato de etila (cítrico, frutal); acetato de hexila (verde, fruta verde); óxido de rosa (mamão, doce); hexanal (grama, mato), terpinen-4-ol (frutal, banana); hexanol (desinfetante de limão, mato). Voláteis de impacto odorífero negativo para uma essência foram também percebidos no efluente cromatográfico, tais como: isobutanol e acetato de isobutila, descritos como “borracha” e “fio queimado”, assim como voláteis de notas “torradas”, tais como benzaldeído e furfural, descritas como café, grão torrado e amendoim torrado. Esses resultados, assim como dados complementares gerados por ensaios exploratórios de destilação fracionada, mostraram grande viabilidade de uso da *water phase* como matéria-prima para a produção de essência natural de alta qualidade sensorial.

ABSTRACT

Consumers are attracted to passion fruit juice due to its exotic smell and flavor. Unfortunately, during the juice concentration, the volatile compounds responsible for the passion fruit smell and flavor are dragged along with the water, reducing the sensory quality of the concentrate. These volatile compounds can be condensed and recovered in an aqueous solution called "water phase". By submitting the water phase to a fractional distillation process, its volatiles can be concentrated, thus producing a GRAS natural fruit essence which can be added to the juice, increasing its sensory quality. In despite of being able to produce water phase, Brazilian tropical juice industries, usually lack the adequate knowledge and technology to produce GRAS natural essences. This study aimed: to characterize the profile of volatiles found in the passion fruit water phase produced by a Brazilian juice factory and, to evaluate the water phase potential for the production of a natural essence. The water phase's volatile compounds were isolated using a liquid-liquid extraction (dichloromethane) and identified by gas chromatography (GC) and mass spectrometry (GC-EM). Each volatile's aroma quality, power and possible contribution for the production of a passion fruit essence were evaluated through Osme GC-olfactometry technique. Thus, four experienced assessors evaluated the GC effluents in three replicates; their data were integrated by SCDTI software, generating an averaged consensual aromagram. Out of the 110 peaks detected in the chromatogram 71 were identified, totalizing 72% of the chromatogram total area. Thirty five volatiles were perceived in the GC effluents, 60% of which possessed pleasant fruit, floral or sweet like aromas, with predicted positive contribution for the production of a passion fruit essence. Among these compounds, those presenting the greatest aroma impact in the CG effluent were: ethyl butyrate (described as berry-like, tutti-frutti, grape); 3-hexenal (green, grass); methyl butyrate (sweet, fruity); ethyl hexanoate (citric, fruity); hexyl acetate (green, green fruit); rose oxide (sweet papaya); hexanal (grass, weeds), terpinen-4-ol (fruity, banana); hexanol (lemon scented disinfectant, weeds). Negative-aroma-impact volatiles were also perceived in the CG effluent, such as: isobutanol and isobutyl acetate, described as "rubber" and "burnt wire"; as well as volatiles classified as "roasted" such as benzaldehyde and furfural. Combined with complementary data generated by exploratory assays involving fractional distillation, the results showed great viability of using this water phase as raw material for the production of high quality natural essences.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção, em 2005, que superou os 38 milhões de toneladas, ficando atrás somente da China e Índia. Quase a metade de toda a produção destinou-se à indústria de sucos. Esse crescente mercado gera mais de 6 milhões de empregos diretos e indiretos, possuindo assim grande importância econômica e social para o país (IBGE, 2005; IBRAF, 2003). De toda produção brasileira de sucos no ano de 2004, o de maracujá representou 11% do setor, apresentando uma tendência de crescimento, o que mostra sua importância econômica no mercado nacional (SARAIVA, 2005).

O crescimento da popularidade dos produtos de maracujá nos últimos anos deve-se principalmente ao sabor e aroma extremamente marcantes e exóticos dessa fruta. Entretanto, como acontece com outras frutas, a industrialização do suco de maracujá, notadamente através da concentração do mesmo, reduz drasticamente a qualidade sensorial do produto final. Isso ocorre porque durante a etapa de concentração do suco, são perdidos juntamente com a água, vários compostos voláteis responsáveis pelo aroma e sabor característicos da fruta fresca.

Uma das alternativas utilizadas pelas indústrias de sucos para reintegrar ao produto processado o aroma e sabor original da fruta fresca consiste na recuperação dos compostos voláteis, perdidos durante a etapa de concentração e sua reincorporação ao suco industrializado. Para tanto, durante a concentração do suco, as substâncias evaporadas juntamente com a água são condensadas, gerando um subproduto denominado *water phase*.

Water phases possuem alto teor de água e baixa concentração de voláteis odoríferos. Esse subproduto pode gerar uma essência natural de alto poder e qualidade odorífera, após um delicado processo de destilação fracionada. Essências assim obtidas são consideradas GRAS (*Generally Recognized as Safe*) podendo ser adicionadas aos sucos de frutas, não havendo a necessidade de serem declaradas nos

rótulos desses produtos (MATTHEWS; BRADDOCK, 1987, REDD; HENDRIX, 1993). Essências GRAS possuem grande importância econômica e agregam valor ao produto final. De fato, a importância dos aromas produzidos natural ou sinteticamente reflete-se nos preços, que variam significativamente entre esses aromas. Como exemplo, cita-se a γ -decalactona (aroma de pêssego) que custa US\$ 1400,00 /kg como extrato natural, mas apenas US\$ 75,00 /kg como produto sintético (LIPNIZKI; OLSSON; TRÄGÅRDH, 2002).

O processo de recuperação dos voláteis perdidos durante a concentração do suco e subsequente destilação fracionada da *water phase*, embora empregue tecnologia avançada, já é bem estabelecido junto às grandes indústrias brasileiras de suco de laranja. No entanto, para as indústrias brasileiras de sucos de frutas tropicais, que são na maioria de pequeno e médio porte, essa tecnologia ou ainda não se encontra disponível ou, quando disponível, não foi otimizada em relação às condições operacionais da fábrica como também para cada fruta.

À problemática acima exposta, acrescenta-se ainda o sigilo das informações e o grande número de patentes relacionadas à obtenção de essências naturais. Isso dificulta sobremaneira o acesso de indústrias nacionais de pequeno e médio porte a informações que possam auxiliar na elaboração de essências naturais de boa qualidade sensorial geradas a partir de *water phases*. Neste sentido, pesquisas que identificam compostos voláteis de impacto sobre o aroma de maracujá podem gerar informações importantes para a obtenção dessas essências por empresas nacionais.

A despeito de alguns estudos já terem explorado o perfil e a importância odorífera de compostos voláteis associados ao aroma de maracujá, são raras as pesquisas que utilizaram técnicas olfatométricas para acessar diretamente a importância odorífera desses compostos. Mais raro ainda são as pesquisas que avaliaram o perfil de voláteis e respectivas importâncias odoríferas em *water phases* de maracujá, sobretudo no que se refere àquelas geradas por empresas brasileiras. E, no entanto, somente esse tipo de informação permitirá o levantamento do verdadeiro

potencial das *water phases* nacionais como matérias-primas para a elaboração de essências naturais GRAS de alto valor agregado.

As demandas anteriormente expostas justificam a necessidade e importância do presente estudo o qual utilizou *water phase* industrialmente gerada por empresa brasileira durante a produção de suco concentrado de maracujá. Os objetivos dessa pesquisa foram:

- Caracterizar o perfil de voláteis presentes em “*water phase*”, produzida em uma indústria brasileira de sucos tropicais, através de cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM);
- Determinar a importância odorífera de cada volátil presente na *water phase* de maracujá através da técnica de cromatografia gasosa olfatométrica (CG-O) intitulada Osme;
- Com as informações geradas através dos experimentos acima mencionados, produzir essências naturais GRAS de maracujá através de destilação fracionada da *water phase*, caracterizando sensorialmente a melhor essência e respectivas condições de obtenção da mesma.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Maracujá: produção e potencial de crescimento.

O gênero botânico *Passiflora* apresenta uma extraordinária diversidade de espécies -cerca de 400- sem contar as variedades e os híbridos. A grande maioria delas pode ser encontrada naturalmente em toda a América tropical. Entre tantas espécies diferentes, nem todas produzem frutos comestíveis, e apenas um pequeno número consegue ocupar espaço nos grandes mercados frutíferos nacionais e internacionais. As mais conhecidas e de maior aplicação comercial são basicamente duas: o maracujá-amarelo e o maracujá-roxo. Embora em alguns locais a variedade roxa seja preferida por ser mais doce, menos ácida e mais aromática, ela não é utilizada para a fabricação de sucos, sendo mais consumida *in natura*. Por produzir frutos maiores, possuir maior resistência às pragas e maior produtividade, a variedade amarela obteve mundialmente maior interesse comercial (JÁGTIANI; CHAN; SAKAI, 1988; SHIBAMOTO; TANG; 1990; WINTERHALTER, 1991).

O maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener), também conhecido como “maracujá azedo”, é originário da América tropical sendo uma das mais populares e conhecidas frutas tropicais. Adapta-se facilmente ao meio ambiente em países de clima tropical e produz fruta com alto rendimento de polpa. Possui sabor e aroma exóticos que, juntamente com a alta acidez, oferece grande flexibilidade na adição de açúcar, constituindo-se em uma base forte e interessante para a fabricação de bebidas (sucos concentrados, néctares, licores) e alimentos pertencentes a vários segmentos do mercado, tais como: laticínios (iogurtes, sorvetes), panificação (bolos, doces, recheios), geléias, dentre outros (CÓRDOVA *et al.*, 2005; ITAL, 1980; LEITE; BLISKA; GARCIA, 1994). O consumo *per capita* de maracujá no Brasil passou de 0,28 kg em 1987 para 0,96 kg em 1996, representando aumento de 238% em nove anos. Este aumento, possivelmente decorreu do aumento do consumo *per capita* de sucos e polpas de maracujá (CÓRDOVA *et al.*, 2005).

O Brasil é um dos três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção que superou os 38 milhões de toneladas. A base agrícola da cadeia produtiva das frutas abrange 2,3 milhões de hectares, gera 6 milhões de empregos diretos e indiretos e um PIB agrícola de US\$ 12,3 bilhões. Este setor demanda mão-de-obra intensiva, fixando o homem no campo de forma única, pois permite ganhos suficientes tanto para uma família dentro de pequenas propriedades, como também para os grandes empreendimentos. Nesse setor é possível se alcançar um faturamento bruto entre R\$ 1.000 e R\$ 20.000 por hectare. De fato, para cada US\$ 10.000 investidos em fruticultura, geram-se 3 empregos diretos permanentes e dois empregos indiretos. Visto por outro ângulo, 2,3 milhões de hectares com frutas no Brasil significam 4 milhões de empregos diretos (2 a 5 trabalhadores por hectare) (IBGE, 2005; IBRAF, 2003).

No ano de 2005, a área destinada à lavoura permanente de maracujá no Brasil foi de 37,3 mil/ha, com produção de 479 mil toneladas/ano da fruta (IBGE, 2005). A Bahia é o principal Estado produtor de maracujá (**Figura 1**) seguido do Espírito Santo, São Paulo e Minas Gerais, que juntos responderam por 58% da produção nacional em 2004 (IBGE, 2004). Com relação à produção mundial, não se dispõe de dados estatísticos oficiais, mas sabe-se que o Brasil é, não só o maior produtor, como também o maior consumidor da fruta.

O crescimento da fruticultura como uma opção de divisas para o país motivou o Ministério da Agricultura a criar o "Fundo Passiflora", que visa a integração e a modernização da cadeia produtiva do maracujá. Esse fundo estabelece que serão feitos convênios com universidades e institutos de pesquisa para o desenvolvimento de pesquisas e estudos para melhorar a qualidade das frutas e do suco, além de promoção do produto (FUNDO DE AMPARO A CADEIA PRODUTIVA DE MARACUJÁ NO BRASIL, 2007). As lavouras de maracujá são consideradas como alternativas econômicas promissoras, pois se trata de fruta associada tanto à agroindústria de sucos de frutas como à comercialização para sucos preparados no momento do consumo (GONÇALVES; MOREIRA SOUZA, 2006)

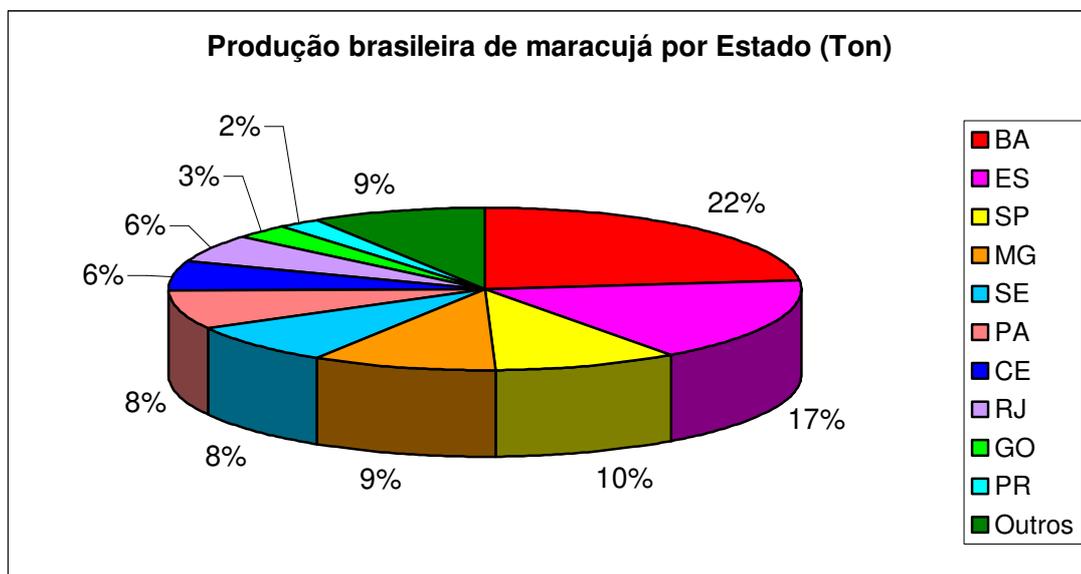


Figura 1. Participação (%) dos maiores estados produtores de maracujá na produção agrícola nacional dessa fruta (Fonte: IBGE, 2004)

No Brasil, o mercado de sucos prontos para beber movimentou, em 2001, R\$ 467 milhões, comercializando 168 milhões de litros de suco não refrigerados. A empresa líder de mercado fechou 2002 com alta de 66% no volume produzido e acréscimo de 90% em sua receita bruta, de R\$ 153 milhões (CAPOZOLI, 2003). Essa indústria processou 127,7 mil ton de maracujá, resultando na produção de 47 mil ton de sucos e 3,8 mil ton de polpas. Esse volume significou naquele ano 22,5% de toda a produção do setor no País, o que mostra a importância econômica do maracujá no mercado nacional (BRASIL, 2003). Dados mais recentes indicaram que em 2004, a produção/consumo de sucos néctares e drinques a base de frutas no Brasil foi de 350 milhões de litros, sendo que o maracujá representou 11% desse setor (SARAIVA, 2005).

Segundo dados disponíveis, a produção nacional de suco de maracujá evoluiu no período entre 1993 e 1997, de pouco menos de 40 mil para quase 80 mil toneladas. Para 2005 a **Figura 2** predizia uma produção próxima a 100 mil toneladas. Entretanto, a

Figura 2 mostra claramente que a parcela destinada ao mercado externo é muito pouco representativa.

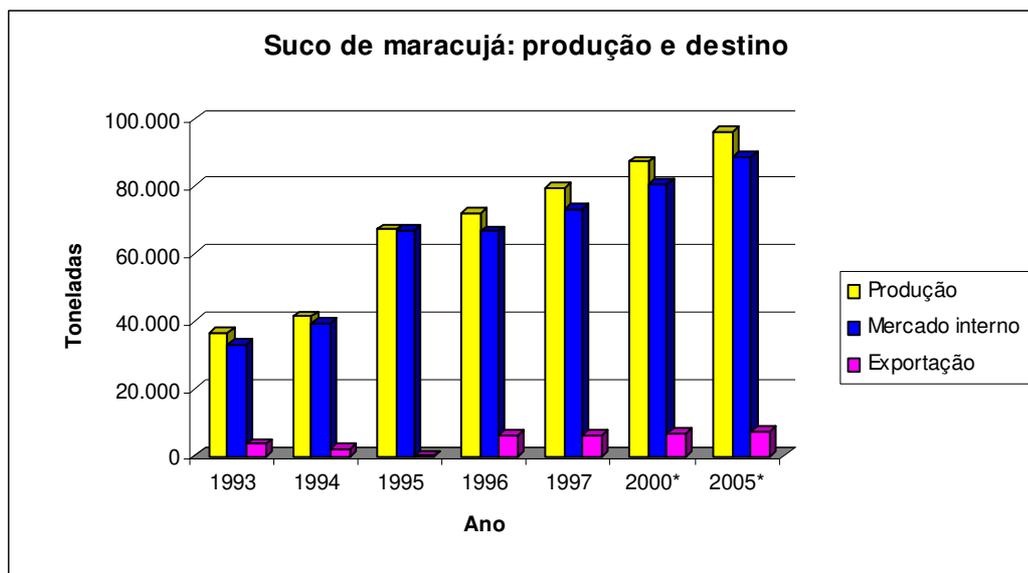


Figura 2. Suco de maracujá: produção e destino entre 1993 e 1997, e expectativas até o ano de 2005. (suco a 50 °Brix em Toneladas). Fonte: Brasil, 2003.

De acordo com Leite, Bliska e Garcia (1994), nos últimos anos, as frutas tropicais e seus sucos têm se firmado no mercado externo, o que representa uma grande oportunidade a ser explorada junto aos consumidores da Europa, Ásia e Estados Unidos. Segundo os citados autores, a popularidade dos produtos à base de maracujá está crescendo, principalmente nos EUA, devido ao sabor exótico e marcante que esta fruta oferece aos consumidores. O mercado mundial, principalmente o europeu, dá preferência ao produto na forma de suco concentrado, uma vez que a fruta *in natura* tem curta vida de prateleira. Paradoxalmente, as exportações brasileiras do suco concentrado de maracujá têm pouca expressão no mercado mundial, sendo este um setor que certamente apresenta grande potencial de crescimento para o Brasil. De fato, este setor não tem se expandido por absoluta falta do produto e de uma política de ampliação desse mercado por parte do Governo e dos grandes produtores nacionais (BAHIA, 1996). Dados recentes indicam que a demanda mundial para o suco de

maracujá concentrado está estimada em cerca de 16 a 18 mil toneladas (SARAIVA, 2005).

Os principais fornecedores de suco de maracujá concentrado são: o Equador, Colômbia, Peru, Brasil e Quênia. Conforme anteriormente mencionado, as exportações brasileiras da fruta e do suco concentrado de maracujá têm pouca expressão no mercado mundial. Os maiores importadores do suco de maracujá são: Reino Unido, República Federal da Alemanha, França, Suíça, Estados Unidos da América e Japão. Esses mercados são muito competitivos e o poder de compra de seus consumidores é bastante elevado, o que abre excelentes perspectivas para as exportações. Isto pode ser evidenciado através de dados comparativos de consumo de sucos prontos para beber (*ready-to-drink*) entre Brasil (abaixo de 2 litros por habitante/ano) e Estados Unidos (cerca de 24 litros habitantes/ano). Dentre os mercados externos a serem explorados, a União Européia, os Estados Unidos da América e o Japão talvez sejam os mais interessantes, pois além de apresentarem grande demanda por gêneros alimentícios em geral, caracterizam-se também por possuir um elevado poder aquisitivo, estabilidade econômica e social. No entanto, deve-se lembrar que países do primeiro mundo representam mercados exigentes em função do alto padrão de qualidade existente para seus produtos, e da intensa competitividade entre seus fornecedores (LEITE; BLISKA; GARCIA, 1994; SARAIVA, 2004).

O suco de maracujá é bastante sensível ao calor porque muitos dos compostos voláteis, responsáveis pelo aroma e sabor exóticos tão apreciados nesse produto, são perdidos durante o processamento da bebida. Na etapa de concentração – na qual ocorre a retirada de água do produto - juntamente com a água, são também arrastados compostos responsáveis pelo aroma e sabor característicos da fruta, o que reduz a qualidade sensorial do produto final (CASIMIR; KEFFORD; WHITFIELD, 1981; CHAN, 1993; WHITFIELD; LAST, 1986).

Assim, notadamente no maracujá, o processo de concentração por evaporação deve ser conduzido de forma a minimizar as perdas dos voláteis para melhor preservar

as características sensoriais do produto. Isso pode ser obtido através da recuperação dos compostos voláteis odoríferos perdidos durante a evaporação e sua posterior reincorporação ao suco concentrado como forma de se obter um produto com melhor qualidade sensorial (TOCCHINI *et al*, 1994).

A recuperação desses compostos ocorre quando os voláteis extraídos por arraste de vapor durante a etapa de concentração do suco, são recuperados em solução aquosa denominada *water phase*, através da condensação do vapor retirado do produto. Assim, a *water phase* é formada por inúmeros compostos aromáticos perdidos e/ou formados no processo de concentração do suco de maracujá ou de qualquer outra fruta. Trata-se de um subproduto das indústrias concentradoras de suco, o qual contém um alto teor de água. Submetendo-se posteriormente a *water phase* a um processo de destilação fracionada, onde vácuo e calor são rigorosamente controlados, essa pode ser concentrada, originando uma essência concentrada natural da fruta que contém: i) alto teor de voláteis de aroma muito similar ao da fruta fresca, ii) alto poder odorífero e qualidade sensorial e, iii) ao ser readicionada ao suco processado, aumenta grandemente a qualidade sensorial e aceitação do mesmo junto aos consumidores (MATTHEWS; BRADDOCK, 1987, REDD; HENDRIX, 1993).

Na indústria de suco concentrado de laranja no Brasil, pertencente a grandes grupos econômicos nacionais e internacionais, esse processo de recuperação de voláteis durante o processamento e posterior recuperação dos mesmos, quer na forma de óleo essencial, quer na forma de essências naturais, está bem desenvolvido, tanto em termos de processo como em termos de equipamentos. Por apresentarem alta qualidade sensorial, esses diferentes subprodutos possuem grande aplicação tecnológica e alto valor comercial (ALMEIDA, 2006; MATTHEWS; BRADDOACK, 1987). Uma vez que tanto *water phases* como as correspondentes essências são geradas a partir do próprio suco, elas são consideradas produtos naturais e são reconhecidas como GRAS - fato muito importante para quem pretende exportar para qualquer país da comunidade européia - não havendo necessidade de declará-las no rótulo quando usadas em produtos alimentícios (REDD; HENDRIX, 1993).

Ao inverso do que ocorre com a indústria cítrica nacional, a indústria de frutos tropicais no Brasil – caju, maracujá, etc - é predominantemente formada por empresas nacionais de médio e pequeno porte. Essas empresas, por deterem baixo conhecimento, assistência e qualificação tecnológica, carecem de essências naturais GRAS que permitam a reconstituição do aroma e sabor de fruta fresca em seus sucos processados. Isto dificulta a competitividade dos sucos de frutas tropicais/exóticas brasileiros junto ao mercado internacional (EMBRAPA, 2001, UNICAMP, 2002).

Entretanto, atualmente existem no Brasil, tanto empresas nacionais que produzem a *water phase* de maracujá e têm interesse em comercializá-la (Nectare, Ind. de Prod. Alimentícios, Ltda, Feira de Santana, BA) como também indústrias nacionais de essências que possuem equipamentos necessários para a destilação e concentração dessas *water phases*, transformando-as em essências naturais de frutas GRAS de alto valor agregado. Infelizmente, nenhuma dessas empresas detém até o momento, conhecimento científico e tecnológico para o desenvolvimento e otimização do processo de destilação, fracionamento e concentração da *water phase* de maracujá em essência natural GRAS de alta qualidade, poder odorífero e valor agregado.

2.2. Compostos voláteis do maracujá amarelo

Um dos primeiros trabalhos sobre os constituintes voláteis do maracujá foi realizado por Hiu e Scheuer (1961), que investigaram os voláteis da fração oleosa do suco de maracujá amarelo, extraídos por destilação-extração simultânea. Foram identificados apenas quatro ésteres: hexanoato de etila, hexanoato de hexila, butanoato de etila e butanoato de hexila. Segundo os autores, esses ésteres compreendiam 95% da fração volátil do óleo, sendo o hexanoato de hexila o principal constituinte (75%). Do mesmo modo, Pruthi (1963) identificou no maracujá amarelo, quantidades significativas desses mesmos quatro ésteres. Entretanto, 40 anos após esses estudos terem sido conduzidos, espetaculares avanços em equipamentos e insumos associados a CG e CG-espectrometria de massas (CG-EM) foram alcançados. Adicionalmente, técnicas CG-Olfatométricas (CGO) como CHARM (ACREE; BARNARD; CUNNINGHAM, 1984),

AEDA (ULRICH; GROSCH, 1987) e Osme (DA SILVA *et al.*, 1993; McDANIEL *et al.*, 1990) foram desenvolvidas, tornando possível um significativo aumento na identificação dos voláteis odoríferos importantes para o aroma e sabor dos alimentos em geral.

Um dos primeiros trabalhos mais abrangente referente à composição de voláteis do maracujá foi feito por Parliment (1972) para a variedade roxa. Nesta pesquisa foram identificados 22 compostos, sendo 12 ésteres, 6 ácidos, 3 álcoois e 1 terpeno. No mesmo ano, Winter e Klöti (1972) publicaram um dos primeiros estudos em que foi utilizada espectrometria de massas associada a cromatografia gasosa para a identificação de voláteis do suco de maracujá amarelo. Com o isolamento dos voláteis feito por destilação-extração por solvente, os autores identificaram 165 compostos voláteis, sendo que 161 foram reportados pela primeira vez no aroma do suco de maracujá amarelo. Os ésteres foram os compostos majoritários (42), seguidos pelos álcoois (26), ácidos (23), cetonas (21), compostos miscelâneos (15), fenóis (13), hidrocarbonetos (11), lactonas (10) e aldeídos (4). Segundo os autores, os compostos hexanoato de etila, α -pineno, linalol, hexanol, benzaldeído, vanilina e eugenol destacaram-se como compostos importantes para o aroma doce e floral do maracujá.

No início dos anos 70, o desenvolvimento de polímeros porosos com características de baixa retenção de água forneceu uma técnica simples para a concentração dos compostos voláteis no *headspace* (WHITFIELD; LAST, 1986). Casimir, Kefford e Whitfield (1981) coletaram seis diferentes frações durante a concentração do suco de maracujá roxo, cultivado na Austrália, que foram incorporadas a seis bebidas de maracujá. Os voláteis foram capturados no *headspace* dessas bebidas e analisados por CG. Foram identificados, aproximadamente, 300 compostos. Adicionalmente, testes paralelos de *sniffing* do efluente cromatográfico indicaram que apenas 22 compostos deveriam contribuir para o aroma do maracujá e, destes, somente 16 apresentavam importância para o aroma e sabor das bebidas, ou seja, produziam aumento na intensidade do aroma da bebida conforme o aumento de sua concentração. Em ordem decrescente de importância odorífera, esses compostos foram identificados como: 6-(but-2'-enilideno)-1,5,5-trimetilciclohexen-1-eno, butanoato de *cis*-

hex-3-enila, butanoato de hexila, *cis*-oct-4-enoato de etila, β -ionona, Edulan I, *cis*-octa-4,7-dienoato de etila, linalol, hexanoato de etila, heptan-2-ol, *cis*-hex-3-enol, alguns compostos contendo enxofre (não identificados), hexanol, 2-nonanona, óxido de rosa e butanoato de metila.

No ano seguinte, Chen e outros (1982) reportaram a identificação por CG-EM de 60 compostos voláteis presentes no *headspace* do suco de três variedades de maracujá (roxo, amarelo e um híbrido) cultivados em Taiwan. Praticamente, 85% dos compostos encontrados eram comuns às três variedades, havendo diferença basicamente na concentração com que eles se encontravam em cada varietal. Os ésteres foram os compostos majoritários, com destaque para o acetato de etila, butanoato de etila, butanoato de hexila e hexanoato de hexila. Os álcoois, aldeídos, cetonas e compostos terpênicos constituíram a outra metade dos voláteis presentes. Não foi empregado nesse estudo nenhum método CG-Olfatométrico (CG-O) que avaliasse a qualidade e o impacto odorífero de cada volátil identificado.

Avaliando o efeito da técnica de isolamento sobre a composição de voláteis em polpa de maracujá, Engel e Tressl (1983) encontraram um perfil de voláteis muito mais diversificados no isolado obtido através da técnica de extração-destilação simultânea à pressão atmosférica, do que no isolado obtido por extração líquido-líquido. Diferentes valores de pH também levaram a diferenças na composição de voláteis. Um segundo objetivo desse estudo foi verificar a formação de compostos de aroma através de precursores não voláteis presentes na polpa do maracujá. Os álcoois monoterpênicos, tais como linalol, α -terpineol, nerol, geraniol, terpinen-4-ol, hotrienol e mircenol estão presentes em maracujá não na forma livre, mas especialmente na forma de ligação glicosídica, os quais podem ser transformados em importantes compostos para o aroma por meio de reações químicas ou enzimáticas.

Toulemonde e Beauverd (1984) também utilizaram a técnica de *headspace* para estudar os voláteis do maracujá amarelo, dentre outras frutas tropicais. Os autores empregaram carvão ativado para a captura dos voláteis e energia de microondas para a

dessorção dos compostos. Dos 119 voláteis identificados, a maioria foi ésteres, sendo alguns, isômeros de compostos previamente descritos (CASIMIR; KEFFORD; WHITFIELD, 1981; CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983).

Kuo e outros (1985) avaliaram diferenças no perfil dos compostos voláteis do suco de maracujá (híbrido) em quatro diferentes condições: suco fresco, suco fresco centrifugado (para retirada do amido), *headspace* do suco gerado durante a centrifugação e suco sem amido pasteurizado. Os voláteis foram isolados por destilação a vácuo, adsorvidos em carvão granular e eluídos com solvente éter/pentano. Cerca de 80 compostos voláteis foram encontrados nas quatro amostras. Compostos de alta volatilidade foram facilmente vaporizados pela força centrífuga, enquanto que aqueles entre baixa e média volatilidade foram menos afetados e permaneceram no suco. O processo de pasteurização causou uma perda de 35% dos voláteis, tendo sido observado que no suco pasteurizado, os voláteis estiveram presentes em menores concentrações, exceto para o linalol e α -terpineol que, ao contrário, aumentaram a concentração após pasteurização. No suco fresco, os ésteres butanoato de hexila, butanoato de etila, butanoato de *cis*-3-hexenila e hexanoato de etila foram os compostos majoritários. Os pesquisadores não utilizaram técnicas olfatométricas para avaliar o poder odorífero desses voláteis.

Mudanças pós-colheita nos componentes voláteis do maracujá híbrido foram estudadas por Chen, Kuo e Wu (1986). Eles investigaram o comportamento quantitativo dos voláteis em 0, 2, 4, 6 e 8 dias pós-colheita. Muitos compostos atingiram o nível máximo de concentração ao redor do 2º dia. De acordo com os autores, o aroma do maracujá é mais aceitável entre o 2º e 4º dia, sendo que no 3º dia se produz o melhor suco. Enzimas envolvidas na síntese dos voláteis estão ativas em torno do 2º e 4º. Por outro lado, enzimas envolvidas em ações hidrolíticas estão ativas entre o 6º e o 8º dia pós-colheita. Houve uma mudança representativa na concentração de alguns componentes entre o 6º e 8º dia, tais como o acetato de etila, o qual usualmente está em grande concentração em frutas passadas. Ao contrário, o butanoato de etila, o qual produz nota de aroma doce, associada ao frescor da fruta, foi abundante em torno do 2º

e 4º dia. No entanto, não foi mencionada a utilização de nenhuma técnica sensorial para avaliar o impacto odorífero desses compostos.

Whitfield e Last (1986) revisaram estudos publicados sobre compostos voláteis encontrados em maracujá até 1984 e, de acordo com os autores, em vários extratos da fruta, até 1984 haviam sido encontrados 271 compostos voláteis, sendo 148 na variedade roxa, 187 na amarela e 80 na híbrida. Os ésteres foram o grupo majoritário para as três variedades.

Uma compilação mais abrangente sobre voláteis associados a maracujá e produtos derivados, reportados na literatura científica até 1990 foi realizada por Shibamoto e Tang (1990). Esta revisão envolveu variedades roxo, amarelo e híbrido, pesquisados tanto na forma de suco enlatado, como polpa e fruta fresca. Duzentos e oito compostos foram mencionados. Os ésteres compuseram o grupo majoritário em todas as variedades de maracujá, com destaque para o butanoato de etila, que apresenta nota frutal/doce, e para o hexanoato de etila, de aroma frutal e floral. Os autores destacaram também alguns monoterpenos, tais como, limoneno, *trans* e *cis*-ocimeno, mirceno e terpinoleno. Apenas dois aldeídos alifáticos foram reportados: hexanal, o qual apresenta odor verde, e esteve presente em quase todos os cultivares, e o furfural, que foi encontrado em grande quantidade em sucos processados, mas, por outro lado, não esteve presente em isolados obtidos por técnica de isolamento *headspace*. A vanilina foi encontrada apenas em maracujá amarelo do Havaí, porém, a β -ionona, que apresenta aroma de madeira e/ou violeta, foi encontrada em muitos cultivares. Em relação aos álcoois, o metanol foi encontrado apenas na variedade roxa da Austrália, enquanto que o etanol foi um dos componentes majoritários no suco do maracujá cultivado na Austrália. O hexanol, que pode conferir uma nota verde ao aroma do maracujá, foi também reportado em todas as variedades. Muitos álcoois terpenos foram reportados em maracujá e produtos derivados, mas segundo Shibamoto e Tang (1990), nenhum deles foi encontrado em quantidades significativas. Uma série de ácidos alifáticos foi reportada, particularmente, na variedade amarela do Havaí. Os ácidos C₂-C₈ podem ter um papel importante no aroma do maracujá, mas essa

significância diminui com o aumento do peso molecular do composto (acima C₉). Dentre os compostos mistos, uma série de fenóis foram encontrados no maracujá amarelo, assim como os Edulans (2,5,5,8a-tetrametil-3,5,6,8a-tetrahidro-2H-1-Benzopirano) I e II que contribuem com forte aroma floral (semelhante a rosa) e alguns isômeros dos megastigmatrienos com aroma semelhante a rosa ou framboesa. Segundo os autores, esses compostos tem contribuição específica para o aroma do suco de maracujá fresco.

Engel e Tressl (1991) investigando maracujá amarelo proveniente do Brasil verificaram a presença de compostos voláteis contendo enxofre em sua estrutura. O isolamento dos voláteis foi feito através da técnica de extração-destilação usando éter/pentano como solvente. Na seqüência, os autores realizaram análise em CG utilizando três tipos de colunas: **i)** coluna capilar Carbowax 20M (25m X 0,25mm) e detector fotométrico de chama seletivo para enxofre (FPD); **ii)** coluna de sílica fundida DB-Wax (60m X 0,32 mm) e detector convencional de ionização de chama (DIC); **iii)** coluna de sílica fundida DB-210 (25 X 0,25mm) e detector DIC. O modo de detecção FPD revelou a presença de sete novos compostos contendo enxofre, que ainda não haviam sido previamente identificados no maracujá: 3-mercaptohexanol e os acetatos, butanoatos e hexanoatos de 3-mercaptohexanila e 3-(metiltio)hexanila, respectivamente. De acordo com os aspectos sensoriais citados pelos autores, esses ésteres exibiram perfil odorífero típico dos compostos sulfurados: desagradável a altas concentrações, e muito frutal e característico de frutas tropicais em diluições apropriadas. Os ésteres mercapto pareceram mais poderosos do que os correspondentes compostos metiltios. De fato, os compostos sulfurados são considerados de grande importância para o aroma do maracujá amarelo, pois apresentam limites de detecção extremamente baixos e aromas bem potentes e característicos. O 3-(metiltio)hexanol e o 2-metil-4-propil-1,3-oxatiano também foram mencionados por Engel e Tressl (1991) como compostos chaves no aroma do maracujá amarelo. Com relação aos enantiômeros, os autores relataram que o 3-mercaptohexanol e o 3-(metiltio)hexanol possuem configuração S na natureza e contribuem para o aroma característico e interessante de frutas tropicais e exóticas. Porém, as formas R dessas substâncias são distintamente fracas e apresentam notas

apenas do tipo herbácea. Neste estudo, a significância aromática desses compostos não foi diretamente acessada por metodologias CG-Olfatométricas.

Narain e Bora (1992) também avaliaram as mudanças pós-colheita em alguns constituintes voláteis relevantes para o aroma do maracujá. Os ésteres butanoato e hexanoato de etila, butanoato de hexila e acetato de etila, assim como o hexanol, benzaldeído e 2-heptanona foram monitorados durante a estocagem da fruta (3, 6, 9, 12 e 15 dias) à temperatura ambiente. A concentração dos ésteres butanoato de etila (responsável pelo aroma doce e indicador de frescor da fruta) e hexanoato de etila decresceram muito pouco até o terceiro dia de armazenamento. Porém, após esse período, a concentração desses ésteres decresceu rapidamente. A concentração do butanoato de etila atingiu seu ponto máximo no 3º dia de estocagem, decaindo nos dias subseqüentes. Também foi observado um contínuo aumento da concentração do acetato de etila e da 2-heptanona até o 15º dia de estocagem. Os autores concluíram que o maracujá amarelo maduro retém suas características de frescor até o 3º dia de colheita. Porém, não foi mencionada a aplicação de qualquer técnica sensorial, notadamente olfatométrica, para acessar diretamente o impacto odorífero dos compostos mencionados no aroma do maracujá.

Pino, Boys e Roncal (1995) avaliaram os compostos voláteis do maracujá amarelo *in natura* e da sua polpa pasteurizada. Eles empregaram a técnica de extração-destilação simultânea, éter etílico como solvente e coluna capilar DB-1 (30 m x 0,32 mm) para a separação dos compostos. Diferentemente de Kuo e outros (1985) que encontraram diferenças nos perfis cromatográficos do maracujá antes e após a pasteurização, esses autores encontraram os mesmos 44 compostos voláteis, e em concentrações similares, tanto na polpa *in natura* como na pasteurizada. Essa ocorrência estava em acordo com o fato de uma equipe sensorial treinada não ter detectado diferença entre as duas polpas. Os autores identificaram 3 álcoois, 2 aldeídos, 6 cetonas, 12 ésteres, 4 ácidos, 13 compostos terpênicos, 3 éteres norterpenóides e 1 lactona. Nenhuma técnica olfatométrica foi utilizada para acessar a importância odorífera dos voláteis identificados. Contudo, considerando aspectos

quantitativos, os autores indicaram os ésteres e os compostos terpênicos como as classes de voláteis de maior importância para o aroma das amostras; com destaque para os ésteres hexanoato de etila e butanoato de hexila, que apresentam aroma frutal e floral e para os terpenos, linalol e α -terpineol, com aroma floral e doce.

Em um estudo realizado por Werkhoff e outros (1998), a química do aroma do maracujá amarelo foi extensivamente avaliada. Para obter-se concentrados aromáticos que contivessem voláteis importantes associados ao aroma do maracujá, quatro diferentes técnicas de isolamento foram empregadas: i) método do *headspace* a vácuo (VHS), ii) método do *headspace* dinâmico (DHS), iii) destilação-extração simultânea à pressão atmosférica (SDE) e, iv) destilação-extração simultânea sob pressão reduzida (SDEV). Os autores também utilizaram detectores específicos para compostos contendo enxofre em sua estrutura e para separação de enantiômeros. Foram identificados, considerando-se as quatro técnicas de extração, 193 compostos voláteis, dentre estes quais sejam: ésteres (73), álcoois (34), cetonas (26), aldeídos (14), hidrocarbonetos (10), lactonas (6) e compostos mistos (15). A extração mais representativa foi obtida utilizando-se a técnica de *headspace* a vácuo, através da qual, aproximadamente, 180 compostos foram detectados, dos quais a maior parte era ésteres. Mais de 100 voláteis sulfurados foram detectados pelo detector fotométrico de chama com modo seletivo para enxofre. Esses compostos estavam presentes em concentrações extremamente baixas, em quantidades traços, dificilmente detectados pelo DIC. Contudo, dos 100 voláteis sulfurados detectados, apenas 47 foram identificados. Desses, 35 ainda não haviam sido reportados na literatura científica como componentes do aroma do maracujá amarelo e 23 nunca haviam sido relatados em aroma de alimentos. Os autores exploraram a importância odorífera de alguns voláteis e sugeriram que os álcoois alifáticos insaturados poderiam ser contribuintes importantes ao aroma global do maracujá, devido ao fato de, em geral, esses voláteis serem descritos como "verde, floral e frutal". Da mesma forma, compostos sulfurados poderiam ter papel importante nas características tropicais do maracujá amarelo. Contudo, nenhuma técnica CG-Olfatométrica foi empregada para validar essas suposições.

Jordán, Goodner e Shaw (2000) estudaram os compostos voláteis presentes na essência aquosa do maracujá amarelo. As essências foram obtidas utilizando-se destilação a vapor e os compostos voláteis foram isolados empregando-se técnica de extração líquido-líquido. Dos 51 componentes voláteis identificados, 57% eram álcoois. Pela primeira vez foi reportado na essência aquosa de maracujá o álcool 3-metil-2-buten-1-ol, que já havia sido identificado em outras frutas como laranja, limão, goiaba e uva. Os autores observaram, com surpresa, que os aldeídos, que possuem importante papel no aroma de muitas frutas e são presença comum na maioria delas, representaram apenas 4,69% dos compostos voláteis totais encontrados na essência de maracujá (2-feniletanal e benzaldeído). Nenhuma metodologia olfatométrica foi aplicada para acessar a importância odorífera de cada volátil identificado.

Uma caracterização do perfil de voláteis na essência aquosa e no suco de maracujá amarelo não pasteurizado foi realizada no mais recente trabalho de Jordán, Goodner e Shaw (2002). Tanto o suco (não pasteurizado) como a essência, foram obtidos da mesma matéria-prima. A essência aquosa foi obtida por um processo de destilação a vapor que utilizou baixa temperatura e curto tempo. Os compostos voláteis tanto do suco de maracujá como da essência foram isolados através de extração líquido-líquido utilizando diclorometano como solvente. A identificação dos voláteis por CG-EM revelou um total de 62 compostos no suco e 34 compostos na essência. Em ambas as amostras, aproximadamente metade dos compostos eram ésteres, os quais foram também os componentes encontrados em maiores concentrações. Segundo os autores, 5 novos compostos foram identificados e quantificados pela primeira vez em maracujá: 3-metil-2-butanona, lactato de etila e 5-hidroximetilfurfural (quantificados apenas no suco), malonato de dietila (quantificado apenas na essência) e 3-penten-2-ol (quantificado nas duas amostras).

A análise das amostras acima mencionadas por CG-O (AEDA) revelou um total de 66 componentes odoríferos, sendo 54 detectados na essência e 55 no suco, dentre esses, de acordo Jordán, Goodner e Shaw (2002), 11 compostos não haviam sido anteriormente detectados por CG-EM. Esses compostos foram identificados pela

primeira vez como contribuintes do perfil aromático do maracujá. Entre eles incluíram-se o acetal, 1,3-dimetilbenzeno e hexanoato de 2-metilbutila. Na essência, dois compostos revelaram-se como os de maior impacto odorífero: hexanoato de 2-metilbutila, que contribuiu com um odor de suor acentuado e hexanoato de hexila, que contribuiu com odor de pêssigo e ameixa. Outros compostos classificados como de impacto odorífero foram: 2-heptanol (purê de batata, fritura), hexanoato de etila (anis, fruta madura) e linalol (doce, frutal, floral, limão). Com respeito ao suco fresco, dois compostos foram relatados como os de maior impacto odorífero: o hexanoato de 2-metilbutila, também encontrado na essência, e o 1,3-dimetilbenzeno, descrito como aroma de noz, medicinal, oleoso.

No mais recente estudo realizado por Narain e outros (2004) sobre compostos voláteis presentes no suco de maracujá amarelo, cultivados no Brasil, os pesquisadores utilizaram a técnica de *headspace* dinâmico (Tenax TA), solvente éter dietílico para dessorção dos voláteis e coluna capilar de sílica fundida DB-WAX (50 m x 0,2 mm x 0,2 µm) para a separação dos compostos voláteis. Foram identificados 48 compostos voláteis, sendo a maioria ésteres. Os voláteis presentes com maior porcentagem de área foram: butanoato de hexila, hexanoato de hexila, 3-pentanona, butanoato de etila, benzaldeído, propanoato de etila, hexanal e octanoato de etila. Os autores não utilizaram qualquer técnica olfatométrica para acessar a importância desses voláteis para o aroma de maracujá.

2.3. *Water phases* como matéria-prima para elaboração de essências naturais

Embora tecnologias de redução da atividade de água em alimentos sejam muito antigas, foi somente em 1920 que o primeiro suco de fruta foi concentrado por evaporação a vácuo (SULC, 1984 apud RAMTEKE *et al.*, 1993). Desde então, a estabilidade microbiológica e a economia em embalagem, transporte e distribuição do produto final, tem sido um incentivo poderoso para o desenvolvimento de sucos concentrados (CASIMIR; KEFFORD; WHITFIELD, 1981; RAMTEKE *et al.*, 1993;

VAILLANT *et al.*, 2001; WHITFIELD; LAST, 1986). Essas vantagens, além de tornarem o produto final disponível fora do período de safra da fruta, facilita a exportação do suco, gerando divisas para os países exportadores e maior disponibilidade de alimentos para as populações dos países importadores.

A otimização de evaporadores destinados a concentração de fluidos pouco viscosos, e de técnicas de evaporação a alto vácuo para a fabricação de materiais perecíveis, como sucos de frutas, ocorreu durante a segunda guerra mundial. Durante esse período evaporadores de filmes descendentes foram desenvolvidos e rapidamente adotados pelas indústrias de sucos (BERRY; VELDHIUS, 1977; RAMTEKE *et al.*, 1993). Apesar de nos últimos 60 anos, novas tecnologias terem sido desenvolvidas para a concentração/desidratação de sucos -como a concentração a frio, a concentração por membranas, a desidratação por liofilização, a desidratação por *spray-dryer*, etc- a evaporação a alto vácuo ainda hoje é o método mais utilizado e economicamente vantajoso (CASIMIR; KEFFORD; WHITFIELD, 1981; KARLSSON; TRÄGÅRDH, 1997; RAMTEKE *et al.*, 1993; THIJSEN, 1970).

No entanto, a concentração dos sucos de frutas por evaporação traz perdas de qualidade para o sabor do produto, pois quando a água é removida por evaporação através do aquecimento do suco, dois tipos de redução da qualidade sensorial do produto podem ocorrer: i) reações químicas entre os constituintes do suco, usualmente em detrimento do aroma e, ii) perda de compostos voláteis, responsáveis pelo aroma e sabor característicos das frutas, alguns dos quais inevitavelmente evaporados junto com o vapor de água (LIPNIZKI; OLSSON; TRÄGÅRDH, 2002; RAMTEKE; EIPESON; PATWARDHAN, 1990; WHITFIELD; LAST, 1986).

De fato, o aroma/sabor é uma das mais importantes características do alimento e está diretamente ligado à qualidade do produto. Alimentos processados que não apresentem mais o aroma e sabor do produto *in natura*, são geralmente rejeitados pelo consumidor (FRANCO; JANZANTTI, 2004). Dessa forma, pesquisadores voltaram-se para essa problemática e o primeiro processo para a recuperação dos voláteis perdidos

durante a concentração dos sucos foi apresentado em 1944 por Milleville e Eskew (apud WALKER, 1961), para a recuperação e utilização do aroma natural do suco de maçã (BOMBEN *et al.*, 1973; RAMTEKE; GURUDUTT; EIPESON, 1993).

O processo, que foi patenteado pelos pesquisadores, baseava-se no conceito clássico de separação entre uma fase líquida e outra gasosa (vapor). Nesse processo, a remoção dos voláteis evaporados junto com a água, é feita com subsequente condensação desses voláteis em uma fase aquosa (*water phase*). A seguir, a *water phase* é concentrada em uma coluna de fracionamento, com a recuperação de uma essência altamente aromática (GUTTERSON, 1970; JOHNSON; VORA, 1983; KARLSSON; TRÄGÅRDH, 1997; REDD; HENDRIX, 1993).

O valor dessa fração volátil recuperada pode ser julgado através do grande sucesso alcançado pelo trabalho de Milleville e Eskew. Em consequência, nos anos seguintes, novos processos de patentes para recuperação de aromas surgiram, estendendo-se para outras frutas. De fato, o mesmo princípio fundamental proposto primeiramente por Milleville e Eskew, com modificações e melhorias em termos de princípios tecnológicos e equipamentos, ainda pode ser encontrado em muitas indústrias processadoras de sucos (RAMTEKE, *et al.*, 1993; WALKER, 1961; WALKER; PATTERSON, 1955).

As poderosas indústrias brasileiras e norte-americanas de sucos cítricos foram as maiores investidoras em processos de recuperação dos voláteis e sua restituição ao produto processado. A restauração parcial da qualidade do aroma/sabor do suco pela adição de suco fresco ao suco concentrado, foi um princípio empregado por essas indústrias em técnicas denominadas “*cut-back*”. Nesta opção de recuperação de aroma/sabor do produto, o suco concentrado a 62 °Brix é diluído até 42 °Brix com suco fresco. Porém, obviamente este não é um método apropriado quando sucos altamente concentrados são requeridos. Por esses motivos, patentes como a de Milleville e Eskew (1944 apud WALKER, 1961) ganharam grande interesse junto aos processadores de suco concentrado.

Extensivos estudos foram realizados com o suco de laranja e, com o seu sucesso comercial na forma de concentrado congelado, criou-se grande interesse nas possibilidades comerciais para os concentrados de outras frutas. As condições ótimas para a obtenção de tais concentrados, tais como as melhores faixas de temperaturas e os equipamentos mais apropriados para a recuperação do aroma natural, foram objetos de inúmeras pesquisas desde 1950 (RAMTEKE *et al.*, 1993; REDD e HENDRIX, 1993; THIJSSSEN, 1970). Da mesma forma, estudos sobre a recuperação do aroma e a elaboração de essências naturais também foram realizados para outras frutas como maçã (WALKER; NIMMO; PATTERSON, 1951), morango (DIMICK; MAKOWER; 1956; WALKER *et al.*, 1954) e ameixa italiana (WALKER; PATTERSON, 1954).

Em 1964 os pesquisadores Byer e Lang (1964 apud PAUL, 1975) com o apoio da “*General Foods Corporation*” também descreveram e patentearam alguns processos e suas aplicações em sucos concentrados de tomate, morango, uva, ameixa e sucos cítricos. Na década de 1970, essências naturais de frutas como limão, lima (MOSHONAS; SHAW; 1972a) e tangerina (MOSHONAS; SHAW; 1972b) também foram investigadas. Diversas pesquisas foram também realizadas buscando a produção de essências a partir da *water phase* e da *oil phase* recuperadas durante a concentração do suco de laranja (MOSHONAS *et al.*, 1972; SCHUTZ *et al.*, 1967; WOLFORD; ALBERDING; ATTAWAY, 1962).

A complexidade dos voláteis presentes em aromas de frutas concorre para a extensa variação na facilidade com que esses voláteis são removidos durante a evaporação. Assim, cada tipo de suco de fruta requer um grau específico de evaporação a fim de que um determinado grupo de voláteis odoríferos evapore do suco e seja recuperado na *water phase*. Por isso, a quantidade de água que deve ser evaporada do suco para que se alcance o grau desejado de separação de um determinado grupo de voláteis odoríferos é a primeira informação básica necessária para que haja sucesso em uma planta de recuperação de aromas (BOMBEN *et al.*, 1973; PAUL, 1975; RAMTEKE *et al.*, 1993; WALKER & PATTERSON, 1954). Conseqüentemente, inúmeras pesquisas contemporâneas têm sido realizadas sobre os

efeitos de algumas variáveis de operação como vácuo, índice de refluxo e temperatura dos condensadores, para a recuperação do aroma de frutas tropicais, como goiaba, abacaxi (RAMTEKE; EIPESON; PATWARDHAN, 1990) e manga (RAMTEKE; GURUDUTT; EIPESON, 1993).

O condensado aquoso contendo voláteis recuperados durante a fabricação de sucos concentrados é referido como *water phase* e, quando concentrados, é chamado de essência. Esses materiais (*water phase* e essência) são reconhecidos pelas autoridades legislativas como parte do suco de fruta dos quais eles originaram e de constituição inteiramente natural. A legislação brasileira define aroma natural como aqueles obtidos exclusivamente mediante métodos físicos, microbiológicos ou enzimáticos, a partir de matérias-primas naturais (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 1997). Portanto, nenhuma declaração no rótulo é requerida quando essas frações são utilizadas para realçar o sabor e aroma do suco processado de fruta (ANVISA, 2002; USFDA 1988, apud REED & HENDRIX, 1993).

De modo geral, aromas naturais são definidos como aqueles isolados diretamente de fonte natural, como plantas ou animais. Aroma idêntico ao natural é aquele produzido sinteticamente, porém, quimicamente idêntico ao natural. Finalmente, aroma artificial é definido como aquele que também é produzido sinteticamente, entretanto, ainda que ele possua o mesmo perfil sensorial e outras características do aroma natural, sua estrutura química é diferente (LIPNIZKI; OLSSON; TRÄGÅRDH, 2002).

Conforme anteriormente mencionado, a *water phase* obtida na etapa de concentração de sucos de frutas pode ser submetida a destilação fracionada, resultando em essências concentradas naturais, ricas em compostos voláteis odoríferos com aroma muito similar ao da fruta fresca. Essências assim obtidas são consideradas aromas naturais e são reconhecidas como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) podendo ser diretamente reincorporadas a sucos vendidos como “naturais de fruta” no mercado externo (MATTHEWS; BRADDOACK, 1987, REDD; HENDRIX, 1993). O

mesmo não ocorre quando se incorporam aos sucos aromas artificiais, dificultando sobremaneira a entrada de seus sucos (reforçados com aromas não naturais) junto ao exigente e competitivo mercado internacional, notadamente o mercado Europeu.

Atualmente, a recuperação de voláteis é um procedimento otimizado e comum em muitas indústrias de sucos de frutas nos países desenvolvidos e nas grandes indústrias nacionais de suco de laranja, pois sucos concentrados sem adição da sua essência natural, são produtos de qualidade sensorial inferior e pouco competitivos no mercado nacional e internacional. Entretanto, processos de recuperação e concentração de voláteis perdidos durante o processamento de sucos tropicais ainda são pouco conhecidos e raramente disponíveis nas indústrias, notadamente nas indústrias brasileiras. Por isso, recentemente, muitos estudos foram conduzidos com essências aquosas de frutas tropicais, produzidas através de processamento patenteado, utilizando baixa temperatura e curto tempo de destilação a vapor. Entre as essências investigadas, encontram-se as essências aquosas de melão (JORDÁN; SHAW; GOODNER, 2001) onde 53 compostos voláteis foram identificados, sendo a maior parte ésteres; essência aquosa de banana (JORDÁN *et al.*, 2001), na qual 43 compostos foram identificados, sendo a maioria também ésteres; essência de kiwi (JORDÁN *et al.*, 2002), tendo sido identificados 30 compostos voláteis, entre os quais os álcoois foram os majoritários; essência aquosa de maracujá (JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002) onde foi encontrado 62 compostos, a maior parte foi ésteres e essência aquosa de goiaba vermelha (JORDÁN *et al.*, 2003) onde foram encontrados 44 voláteis, sendo os ésteres e os álcoois as classes químicas majoritárias.

Essência aquosa de abacaxi também foi investigada por Elss e outros (2005), que encontraram aproximadamente 110 compostos voláteis. Entretanto, segundo os autores, apenas 20% dos compostos recuperados nessa essência continham voláteis comuns aos encontrados no suco da fruta fresca.

O Brasil, como um dos maiores produtores mundiais de frutas vem se destacando, cada vez mais, na fabricação de sucos tropicais, ampliando novas possibilidades de exportação. Com isso, a utilização de aromas naturais de alta

qualidade sensorial e alto poder odorífero é um fator determinante para a obtenção de sucos de frutas de elevada qualidade sensorial e competitividade no mercado externo. Porém, uma das grandes dificuldades na área de recuperação dos aromas das frutas tropicais e sua posterior reincorporação ao suco processado, é a insuficiência de informações referentes aos processos tecnológicos envolvidos e aos voláteis perdidos, formados e recuperados em cada fase do processamento. O sigilo de informações, tanto em empresas como em pesquisas, aliado ao grande número de patentes envolvidas, dificultam a obtenção de dados para a elaboração de essências naturais a partir da recuperação dos aromas perdidos durante a evaporação de sucos de frutas.

O panorama acima exposto agrava-se no caso das indústrias brasileiras de frutas tropicais (caju, maracujá, dentre outras) que, em geral, são formadas por empresas de médio e pequeno porte, as quais, por deterem pouco conhecimento, assistência e qualificação tecnológica, carecem de tecnologia para a recuperação de voláteis e produção de essências naturais (EMBRAPA, 2001; UNICAMP, 2002). Até o momento, constituem-se exceções as grandes empresas brasileiras de frutas tropicais que detêm conhecimento científico e tecnológico para o desenvolvimento e otimização dos processos de destilação, fracionamento e concentração de *water phases* para a produção de essências naturais de frutas tropicais como caju e maracujá. Isso denota a urgência de pesquisas no país que gerem conhecimentos acessíveis para o desenvolvimento dessas tecnologias.

Esforços internacionais e nacionais geraram várias pesquisas sobre o perfil de voláteis que compõe o aroma de maracujá (CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004, WERKHOFF *et al.*, 1998). No entanto, a maioria desses estudos refere-se a voláteis encontrados no suco ou na fruta *in natura* e, ainda assim, apenas um deles acessou a importância odorífera desses compostos por técnicas olfatométricas (JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002). Mais raros ainda são os trabalhos que identificam o perfil de voláteis de *water phases* de maracujá produzidas por indústrias brasileiras. No entanto, o conhecimento gerado por

esse tipo de pesquisa é fundamental para o desenvolvimento de essências naturais a partir dessas *water phases*.

Por outro lado, a identificação dos compostos voláteis importantes para o aroma de um produto é apenas o estágio inicial na elucidação da química do aroma desse produto. Etapas subseqüentes envolvem a determinação de quais voláteis contribuem significativamente para o aroma e a grandeza de sua contribuição. Nesse sentido, poucos avanços têm sido alcançados no que se refere ao perfil de voláteis de importância odorífera presente no suco de maracujá, dado que dos estudos desenvolvidos até o momento, poucos acessaram diretamente a importância odorífera dos voláteis identificados.

2.4. Isolamento de voláteis por extração líquido-líquido e *headspace* dinâmico

A análise de compostos voláteis responsáveis pelo aroma de um alimento envolve a ciência de separação desses voláteis de uma matriz geralmente complexa. Essa separação ocorre por meios físico-químicos e, via de regra, almeja a identificação uma ampla faixa de compostos (SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000). Assim, o uso de metodologias de extração que sejam adequadas para isolar os compostos voláteis de um alimento, é crucial na análise de aromas, pois o perfil qualitativo e quantitativo dos extratos voláteis depende do procedimento de isolamento empregado (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003; SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000).

Na área de química de aromas, intitula-se “isolamento”, a separação dos compostos voláteis dos não voláteis da matriz a ser estudada. Esta etapa é realizada antes da introdução da amostra em um instrumento analítico, e objetiva basicamente a eliminação de interferentes e o ajuste da concentração acima do limite detectável (FRANCO; JANZANTTI, 2004). Injeções da amostra contendo materiais não voláteis, grandes quantidades de água ou ainda outros materiais que podem ser fortemente

adsorvidos na fase estacionária da coluna cromatográfica, podem causar rápida deterioração da coluna (JENNINGS; FILSSOF, 1977; PARLIMENT, 1997).

Os compostos voláteis responsáveis pelo aroma de um alimento são encontrados como uma complexa mistura de compostos orgânicos, de diversas estruturas moleculares, pontos de ebulição, solubilidades, faixas de polaridade, etc. Ésteres, ácidos, aldeídos, terpenos e cetonas são alguns exemplos de compostos voláteis responsáveis pelos aromas de frutas e outros produtos (BOMBEN *et al.*, 1973; SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000; PARLIMENT, 1997; WEURMAN, 1969).

Alimentos e outras amostras, freqüentemente contêm em sua matriz compostos não voláteis como proteínas, lipídeos ou carboidratos, os quais dificultam o processo de isolamento dos compostos voláteis. O efeito da matriz sobre o aroma de um produto e também sobre a técnica de extração e isolamento dos voláteis dessa matriz é grande. Esse efeito decorre de diferenças como: i) a proporção dos voláteis que estão dissolvidos na fase lipídica comparativamente aqueles que estão dissolvidos na fase aquosa da matriz, ii) o grau com que os compostos voláteis estão adsorvidos em outros constituintes da matriz, como os carboidratos; dentre outros (PARLIMENT, 1997; WEURMAN, 1969).

Além das dificuldades acima expostas, acrescenta-se ainda o fato dos voláteis associados ao aroma de um produto estarem, freqüentemente, presentes em quantidades muito pequenas (abaixo de ppm) muitas vezes em traços (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003; PARLIMENT, 1997; TERANISHI; KINT, 1997; THOMAZINI; FRANCO, 2000; WEURMAN, 1969). Dessa forma, não é necessário apenas isolar os compostos voláteis de uma matriz, mas também concentrá-los (PARLIMENT, 1997). Entretanto, a concentração de compostos voláteis em um determinado solvente deve ser realizada de maneira minuciosa, de forma a se evitar a formação de artefatos (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003; FRANCO; JANZANTTI, 2004).

Thomazini e Franco (2000) confirmam que a etapa de isolamento dos compostos voláteis é crítica. Qualquer modificação causada na composição de voláteis da amostra nessa etapa inicial, não poderá mais ser corrigida, por mais sofisticados que sejam os instrumentos utilizados nas etapas subseqüentes. Os autores enfatizam que uma das maiores dificuldades na análise de voláteis é o fato de que esses compostos são suscetíveis a mudanças químicas de vários tipos. Aldeídos são facilmente oxidados a ácidos; terpenos na presença de ácidos podem sofrer rearranjos e isomerização; exposição à luz pode causar foto-oxidação ou rearranjos; e ainda pode ocorrer a polimerização de compostos insaturados (FISHER; SCOTT, 1997). De fato, segundo Teranishi e Kint (1997) o tempo de vida de monoterpenos expostos a luz do dia, varia entre 5 minutos (α -terpineno) a 3 horas (α e β -pineno, sabineno) apenas. Adicionalmente, elevadas temperaturas podem induzir a formação de compostos odoríferos, assim como mudanças de suas concentrações na amostra.

Conseqüentemente, todas as condições empregadas durante o isolamento de voláteis devem não só ser rigorosamente controladas como as mais brandas possíveis, de forma a se evitar oxidações, degradações térmicas e outras mudanças químicas e bioquímicas. Só assim informações representativas do material em estudo podem ser obtidas (FRANCO; JANZANTTI, 2004; SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000).

Ainda que muitos métodos possam ser empregados para isolar os compostos odoríferos, diferentes técnicas oferecem vantagens e limitações específicas (SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000). Por isso, nas últimas 4 décadas vários métodos e técnicas foram desenvolvidos para o isolamento e a identificação de compostos voláteis. Entretanto, apesar dos grandes avanços na tecnologia associada ao isolamento, separação e identificação de voláteis, a determinação da composição química mais representativa dos voláteis odoríferos presentes em uma amostra, é ainda hoje uma tarefa desafiadora (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003).

2.4.1. Extração líquido-líquido

Essa técnica fundamenta-se na separação dos compostos através da partição dos mesmos entre dois líquidos imiscíveis. A simples extração por solvente seguida por concentração em fluxo de nitrogênio, ou evaporador rotativo, foi um dos primeiros métodos utilizados para recuperar os voláteis associados ao aroma de um alimento. Contudo, apesar da simplicidade da técnica, as baixas concentrações desses compostos em alimentos, além do fato de que outros compostos não correlatos podem ser co-extraídos da matriz, têm restringido sua aplicação (SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000). Extração líquido-líquido ainda requer evaporação do solvente o que, em alguns casos, envolve perda ou degradação de alguns componentes, e formação de outros que não estavam originalmente na amostra (ORTEGA-HERAS; GONZÁLES-SANJOSÉ; BETRÁN, 2002). Outra evidente desvantagem da extração líquido-líquido é a possibilidade de formação de emulsão durante a extração, o que pode levar a uma separação deficiente das fases (STEVENSON; CHEN; MILLS, 1996). No entanto, existem pesquisas contemporâneas que utilizam essa técnica, especialmente para a coleta de dados preliminares (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003). De fato, algumas pesquisas recentes demonstram que certos compostos são melhores extraídos com solventes (DA SILVA, *et al.*, 1993; ORTEGA-HERAS; GONZÁLES-SANJOSÉ; BETRÁN, 2002; SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000) fazendo com que essa técnica continue sendo utilizada.

Um dos compostos que é melhor extraído por solvente é o furaneol, que apresenta aroma similar a caramelo ou morango, dependendo da sua concentração, sendo encontrado em muitas frutas e alimentos processados. Sua melhor extração por solvente ocorre devido a sua baixa pressão de vapor em materiais que tem predominantemente água, como é o caso dos alimentos e bebidas. Estudos demonstraram que empregando-se extração por solvente, altos rendimentos de furaneol foram obtidos na extração desse volátil em morangos (6,3mg/L), abacaxi (7,4 mg/L) e manga (0,4 mg/L) (TERANISHI; KINT, 1997). Em uma recente pesquisa sobre aroma do suco e da essência de maracujá, Jordán, Goodner e Shaw (2002) isolaram os

voláteis através da técnica de extração líquido-líquido, identificando importantes compostos associados ao aroma dessa fruta.

Diferentes solventes podem ser utilizados na extração de voláteis, entretanto, usualmente são empregados hidrocarbonetos, hidrocarbonetos halogenados e éteres (TERANISHI; KINT, 1997). As propriedades individuais dos muitos voláteis presentes em uma matriz variam em tal extensão que é improvável que um solvente ideal, ou condições experimentais ideais, possam extrair todos os voláteis na mesma proporção em que eles se encontram na matriz, sem formação de artefatos, etc (WEURMAN, 1969).

A despeito de sua utilização ainda hoje em pesquisas da área de química de aromas, a moderna tendência é a de substituir a extração líquido-líquido por outras metodologias, notadamente devido a necessidade de se reduzir os riscos ambientais e de saúde associados com a manipulação dos solventes que esta técnica requer (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003), como também devido a desvantagem da técnica em extrair da matriz compostos não voláteis, além da necessidade de concentrar os extratos, o que pode levar à formação de artefatos.

2.4.2. Extração por *headspace*

A idéia de analisar os constituintes voláteis (vapores) situados acima de uma matriz sólida ou líquida para estimar a composição da matriz com relação a esses constituintes originou-se muito antes do desenvolvimento da cromatografia gasosa. A primeira menção da utilização desta técnica na literatura da área de química ocorreu no final dos anos 30, em um artigo de Harger, Bridwell e Raney (1939, apud SNOW; SLACK, 2002) em que os autores propunham a determinação do conteúdo de álcool de uma solução aquosa, através da análise do *headspace* da amostra, ou seja, dos compostos em estado gasoso, situados acima da mesma. A análise do *headspace* é geralmente definida como uma extração da fase vapor, que envolve a partição dos

analitos entre um líquido (ou uma fase sólida) e a fase vapor acima do líquido/sólido. Comumente, a mistura da fase vapor contém menos compostos em relação a amostra, por isso, algumas técnicas de análise do *headspace*, concentram os voláteis para futuras análises. Como nas demais técnicas de isolamento, os voláteis extraídos do *headspace* são transferidos para o cromatógrafo gasoso (CG), ou outro instrumento, para subsequente separação e análise (SNOW; SLACK, 2002).

O primeiro uso reportado de análise de *headspace* "estático" associado ao uso de cromatografia gasosa ocorreu no final dos anos 50 (SNOW; SLACK, 2002). O método propunha uma das formas mais simples de se analisar a composição química de um aroma, que é a análise direta de uma porção do ar em contato direto com a fonte odorífera, sem qualquer outro passo de tratamento da amostra. Apesar da rapidez da análise e da pouca manipulação da amostra, a principal desvantagem do método proposto foi a baixa sensibilidade. Se houver pouca ou nenhuma pré-concentração do analito e, considerando que os típicos níveis de concentração dos voláteis no *headspace* da maioria das amostras estão em traços ou ultratraços, a técnica de *headspace* "estático" apresenta limitações óbvias para a análise do perfil de voláteis de muitos alimentos (AUGUSTO; LOPES; ZINI; 2003; ORTEGA-HERAS; GONZÁLES-SANJOSÉ; BETRÁN, 2002).

Para contornar as limitações acima expostas, no início dos anos 70 foi proposta a técnica intitulada "*headspace* dinâmico" e, logo após, a introdução do polímero Tenax[®], forte adsorvente comercialmente disponível (SNOW; SLACK, 2002). Muitos outros polímeros sintéticos, tais como Porapak[®], Chromosorb[®] e Carbopack[®] foram posteriormente introduzidos nas pesquisas de aromas, e são atualmente utilizados como adsorventes para isolamento dos constituintes voláteis presentes no *headspace* de matrizes sólidas ou líquidas (STEVENSON; CHEN; MILLS, 1996). Esses polímeros exibem baixa afinidade pela água e, apesar de nenhum deles ser universalmente apropriado, a escolha do polímero pode ser considerada de acordo com uma classe de voláteis em particular (JENNINGS; FILSOOF, 1977). A dessorção dos voláteis adsorvidos nos polímeros pode ser direta ou reversa, através da eluição dos mesmos

com solvente apropriado, ou por aquecimento do polímero diretamente no injetor do cromatógrafo (GARRUTI, 2001).

As técnicas de *headspace* evoluíram significativamente e, atualmente, os procedimentos baseados na manipulação do *headspace* em contato com o material odorífero são populares e muito apropriados para análises químicas de aromas e fragrâncias (AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003). No entanto, é importante lembrar que a eficiência dessas técnicas depende tanto da pressão de vapor dos compostos voláteis presentes na matriz odorífera, como também de todos os componentes da matriz, principalmente lipídeos, carboidratos e proteínas, os quais exercem influência na liberação dos voláteis (FRANCO; JANZANTTI, 2004; WEURMAN, 1969).

Para o estudo de compostos voláteis odoríferos de alimentos e bebidas, a análise do *headspace* é uma escolha racional, uma vez que são exatamente os voláteis presentes no *headspace* da amostra, os responsáveis pelo aroma do produto. O método é rápido, eficiente e a formação de artefatos é pequena. Para compostos de baixo ponto de ebulição, a análise do *headspace* é particularmente um dos melhores métodos disponíveis (MAARSE, 1991).

No Brasil, a técnica de *headspace* dinâmico, modificada por Franco e Rodriguez-Amaya (1983), alcançou grande popularidade, notadamente para isolar os compostos voláteis de frutas e sucos como graviola, mamão, caju, etc. Esta técnica utiliza baixo vácuo para sucção dos voláteis em armadilha de Porapak[®]. Uma vez otimizada para as condições de operação e para os produtos de interesse, a técnica oferece alta reprodutibilidade, e não altera significativamente a composição original da amostra. A técnica apresenta grande aplicabilidade, desde que as condições ótimas de captura sejam cuidadosamente padronizadas para cada produto estudado. Pelos motivos expostos, numerosos trabalhos envolvendo a metodologia de *headspace* dinâmico por sucção, modificada por Franco e Rodriguez-Amaya (1983), vêm sendo desenvolvidos para o estudo do aroma de frutas e seus sucos. Através dela, Franco (1992) estudou os compostos voláteis da manga e do mamão. Janzantti (1996) empregou a técnica para a

determinação do perfil de voláteis presentes em suco de maçã, Garrutti (2001) utilizou-a para o estudo de compostos voláteis presentes no suco e no vinho de caju. Por sua vez, Alves (2004) empregou a técnica no estudo do aroma de jenipapo e murici.

Para o estudo do perfil de voláteis de maracujá amarelo, alguns trabalhos também utilizaram técnica de *headspace*. Chen e outros (1982) utilizaram a técnica de *headspace* dinâmico (*purge and trap* e Tenax[®] TA) para o estudo de três variedades de maracujá. Werkhoff e outros (1998) avaliaram a eficiência de quatro diferentes técnicas para isolar os compostos voláteis do maracujá amarelo. Esses pesquisadores reportaram que a técnica de *headspace* a vácuo, utilizando gás hélio (*purge and trap*) e Tenax[®] como material adsorvente foi a mais eficiente. Narain e Bora (1992) utilizaram *headspace* dinâmico (*purge and trap*) e Tenax[®] como armadilha para monitorar mudanças pós-colheita em alguns compostos voláteis constituintes do maracujá amarelo. Da mesma forma, Narain e outros (2004) empregaram o *headspace* dinâmico para identificar voláteis presentes em suco de maracujá amarelo cultivado no Brasil.

2.5. Técnicas de cromatografia gasosa olfatométrica (CG-O)

Dentre os avanços anteriormente citados na área de pesquisa de voláteis odoríferos, um dos mais significativos foi sem dúvida o advento das técnicas CG-Olfatométricas (ACREE; BARNARD; CUNNINGHAM; 1984; ULRICH; GROSCH, 1987, McDANIEL *et al.*, 1990). Por esse motivo, muitas pesquisas têm sido conduzidas com o objetivo de se comparar a validade, sensibilidade, reprodutibilidade e facilidade de uso das diversas técnicas CG-Olfatométricas (CG-O) existentes.

A primeira técnica CG-Olfatométrica foi desenvolvida nos anos oitenta por Acree, Barnard e Cunningham (1984). Eles intitularam a nova metodologia de CHARM, a qual determina a importância odorífera de voláteis presentes em isolados aromáticos. Essa técnica avalia sensorialmente os compostos voláteis presentes no efluente cromatográfico, utilizando sucessivas diluições do isolado. O isolado é submetido à avaliação sensorial de julgadores treinados, prosseguindo-se a análise do isolado com

contínuas diluições do mesmo, até que todos os julgadores não percebam mais nenhum odor no efluente cromatográfico. Em CHARM, os indivíduos reportam o tempo inicial no qual um determinado odor começa a ser percebido no efluente cromatográfico, o tempo final em que este odor deixou de ser percebido e a qualidade do odor. Ao final de todas as avaliações, um *software* integra os dados gerados pelos julgadores em todas as diluições do isolado, produzindo um “aromagrama”, que é uma representação gráfica dos voláteis odoríferos percebidos no efluente, muito similar a um cromatograma. As regiões do aromagrama que mostram picos mais altos indicam a presença de voláteis de maior impacto odorífero no aroma (e/ou sabor) do alimento analisado.

Uma técnica alternativa à de CHARM, desenvolvida por Ulrich e Grosch (1987) surgiu logo em seguida à primeira, e foi denominada AEDA. Similarmente a CHARM, em AEDA, o isolado odorífero é seqüencialmente diluído. Os efluentes cromatográficos das várias diluições do isolado são submetidos à avaliação sensorial de julgadores treinados, os quais reportam a presença e a qualidade de cada composto odorífero. A importância odorífera de cada volátil é estimada através de um parâmetro intitulado "valor D" ou "FD", que corresponde à maior diluição do isolado na qual o volátil pode ser ainda detectado pelos julgadores. Segundo essa técnica, quanto maior o valor FD de um volátil, maior sua importância odorífera no aroma e sabor do produto analisado.

A diferença entre CHARM e AEDA é que enquanto AEDA simplesmente determina a máxima diluição em que um composto ainda pode ser detectado no efluente cromatográfico, CHARM mede adicionalmente, o impacto de várias diluições sobre o tempo com que o composto pode ser percebido no efluente cromatográfico. Essas duas técnicas olfatométricas são as mais utilizadas e citadas na literatura científica. Ambas utilizam diluições sucessivas do isolado original, fundamentando-se assim, no conceito de *threshold* para estimar o poder odorífero de cada volátil nele presente.

Entretanto, Da Silva, Lundhal e McDaniel (1994) apresentam fortes críticas a técnicas de diluições sucessivas como CHARM e AEDA. Em termos psicofísicos, essas técnicas fundamentam-se no princípio de que quanto menor o *threshold* de um composto, maior é o seu poder e contribuição odorífera para o produto analisado. Em CHARM e AEDA, o *threshold* é considerado como uma unidade básica de medida, ou seja, segundo elas, o odor de um composto a uma concentração 10 vezes acima de seu *threshold* presente em um determinado meio, será percebido bem mais forte que quando o composto estiver presente em uma concentração apenas 5 vezes acima de seu *threshold*. Este conceito não só é simplista como é incorreto, pois a psicofísica moderna prediz o impacto odorífero de um composto, não através de função linear, mas sim utilizando a Lei de Stevens (STEVENS, 1957, STEVENS; GALANTER, 1957 e STEVENS, 1961) segundo a qual, a intensidade (I) do odor de um composto aumenta com a concentração do mesmo (C) de acordo com a seguinte equação exponencial:

$$I = k (C - T)^n \quad (\text{Equação 1})$$

Na equação 1, “n” é um expoente proporcional ao poder odorífero do composto, T representa seu *threshold* e k é uma constante de proporcionalidade.

Assim, de acordo com a amplamente aceita lei de Stevens, dois diferentes compostos apresentando-se a uma mesma concentração em um dado meio, e possuindo *thresholds* similares, apresentarão diferentes contribuições ao aroma e sabor do meio aonde se encontram, se possuírem diferentes expoentes “n”. Por este motivo, ainda que sejam ferramentas extremamente úteis na identificação de regiões no cromatograma contendo voláteis de importância odorífera, CHARM e AEDA não possuem fundamentação psicofísica sólida (DA SILVA; LUNDHAL; McDANIEL, 1994; DA SILVA; SAMPAIO; BERTOLINI, 2004).

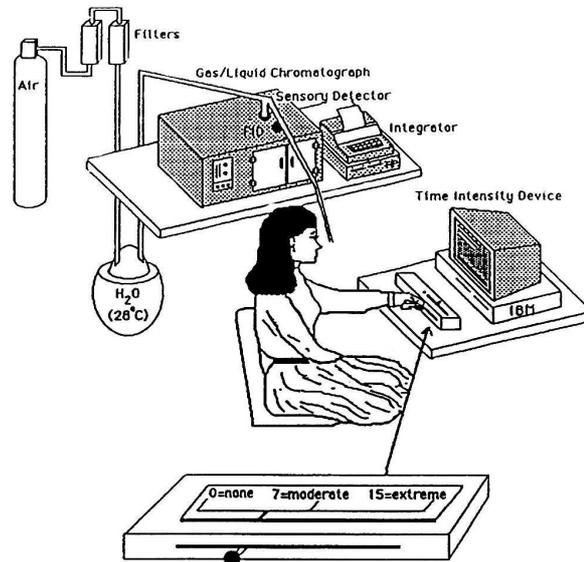
Alternativamente, McDaniel e outros (1990) e Miranda-Lopez e outros (1992) propuseram uma técnica CG-Olfatométrica intitulada Osme, que, diferentemente de CHARM e AEDA, não se fundamenta em diluições sucessivas do isolado odorífero. Em

Osme, os indivíduos avaliam o efluente cromatográfico utilizando a técnica sensorial tempo-intensidade (DA SILVA, 1999). Assim, quando os voláteis cromatográficos deixam a coluna, eles são misturados com ar sintético previamente filtrado em carvão ativado, umidificado e levados até o nariz do julgador. O julgador avalia os efluentes que deixam a coluna e registra em uma escala acoplada a um computador, tanto a intensidade, como o tempo de duração de cada estímulo olfativo (**Figura 3A**).

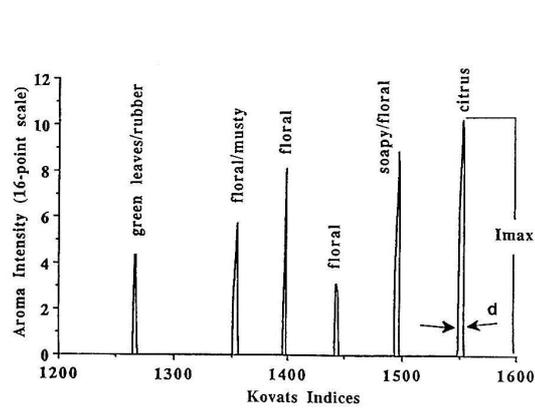
Simultaneamente, o julgador descreve para o analista a qualidade do odor percebido (floral, pútrido, etc.). A escala pode ser linear ou híbrida, sendo ancorada nos extremos, esquerdo e direito, com termos de intensidade como "nenhum" e "muito", respectivamente (DA SILVA *et al.*, 1993; DA SILVA; LUNDHAL; MCDANIEL, 1994; GARCIA, 2000). Após cada análise, um *software* integra os dados coletados, produzindo um aromagrama (**Figura 3B**) onde picos mais altos e/ou com maior área, indicam compostos de maior importância odorífera no isolado e, conseqüentemente, no produto analisado. Tradicionalmente, em Osme, quatro julgadores treinados avaliam cada isolado odorífero em quatro repetições, para que um aromagrama consensual da equipe seja gerado. Os julgadores são treinados com padrões de intensidade, de forma similar ao recomendado por Meilgaard, Civille e Carr (1987) para a técnica Spectrum™.

Algumas das vantagens do uso de Osme podem ser visualizadas na **Figura 4**, a qual apresenta um cromatograma de um isolado odorífero obtido a partir de um alimento à base de milho, e o correspondente aromagrama médio (n = 4 julgadores) produzido através da técnica Osme (DA SILVA *et al.*, 1993).

A **Figura 4** mostra claramente que regiões do cromatograma apresentando picos bem pequenos e com áreas inferiores aos demais picos, quando acessadas através de Osme por julgadores treinados, revelaram possuir compostos voláteis de alto impacto odorífero. Este é o caso das regiões correspondentes aos picos de número 10, 19, 37, 41, 48 e 49, dentre outras. Por outro lado, picos cromatográficos mostrando grandes áreas, como os picos 31, 39 e 42 não se revelaram no aromagrama como regiões contendo voláteis de significativo impacto odorífero no isolado/amostra.



A



B

Figura 3. Arranjo do cromatógrafo para o uso da técnica Osme (3A). Aromagrama obtido através da técnica Osme (3B) (DA SILVA; LUNDHAL; MCDANIEL, 1994).

De modo geral, as **Figuras 3 e 4** demonstram que o aromagrama obtido através de Osme é de interpretação direta e fácil, apresentando grande utilidade na identificação de voláteis de alto impacto odorífero em isolados.

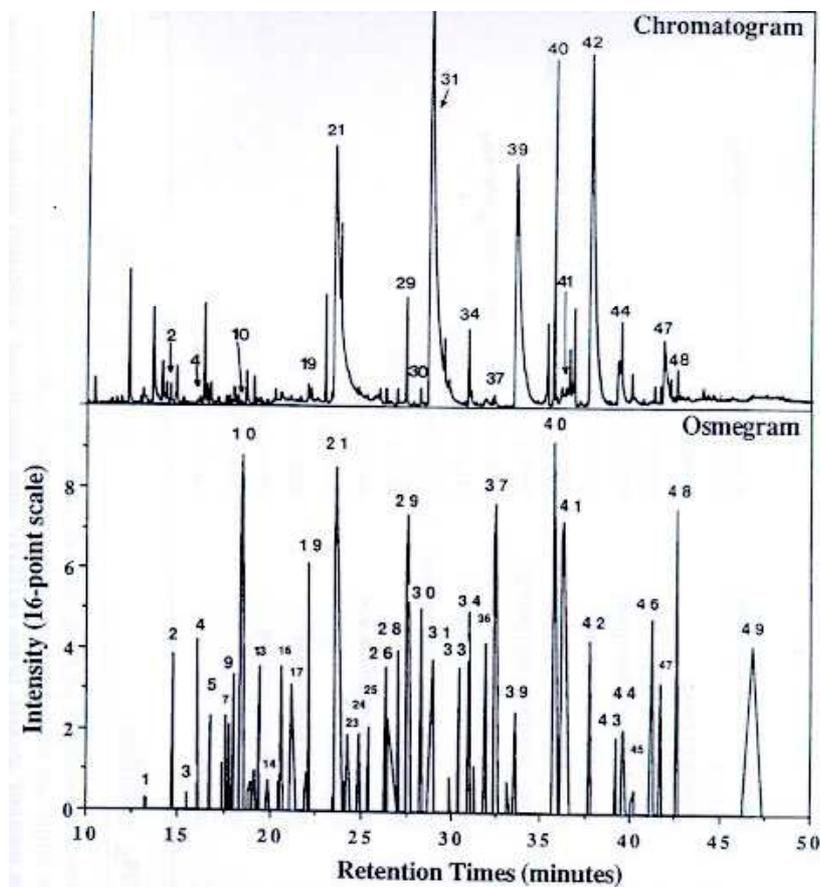


Figura 4. Cromatograma e correspondente aromagrama obtido através da técnica Osme (n1 = 4 julgadores, n2 = 4 repetições) (DA SILVA *et al.*, 1993)

Em um estudo que avaliou a validade e desempenho de OSME, Da Silva, Lundhal e McDaniel (1994) submeteram à avaliação de 4 julgadores treinados, cinco soluções modelos contendo diferentes concentrações de seis compostos odoríferos, quais sejam: sulfito de butila, 1-hexanol, nonanal, caprionato de etila, 2-decanona e linalol (**Figura 5**). Cada julgador avaliou através de Osme, cada solução modelo em quatro repetições. Os autores reportaram que os julgadores foram capazes de estabelecer funções psicofísicas significativas ($p < 0,05$) tanto entre a intensidade do odor *versus* a concentração do composto na solução modelo, como da área do pico odorífero no aromagrama *versus* a concentração do composto na solução modelo.

A **Figura 5** mostra para cada julgador, as funções psicofísicas associadas às áreas de cada composto no aromagrama *versus* suas respectivas concentrações nas soluções modelo. Os coeficientes de determinação das funções psicofísicas (R^2) variaram entre 0,82 e 0,94 e como se pode observar, houve um alto grau de consenso entre os julgadores no sentido que, para todos os julgadores, nonanal e sulfito de butila foram os compostos que apresentaram maior poder odorífero entre os compostos analisados, ou seja: baixas concentrações de nonanal e sulfito de butila mostrando grandes áreas no aromagrama. Hexanal, por outro lado, mostrou o mais baixo poder odorífero, sendo que o julgador de número 3 não conseguiu produzir uma função psicofísica significativa ($p < 0,05$) para este composto.

A despeito de CHARM e AEDA se mostrarem muito valiosas na identificação de compostos de alto impacto odorífero, a ordenação de voláteis segundo sua importância odorífera obtida através destas duas técnicas podem mostrar divergências entre si (ABBOTT *et al.*, 1993, STEPHAN; BUCKING; STEINHART, 2000). Alguns pesquisadores têm encontrado em Osme e/ou técnicas similares, ferramentas mais apropriadas para se avaliar a importância odorífera de compostos voláteis (GUICHARD *et al.*, 1995).

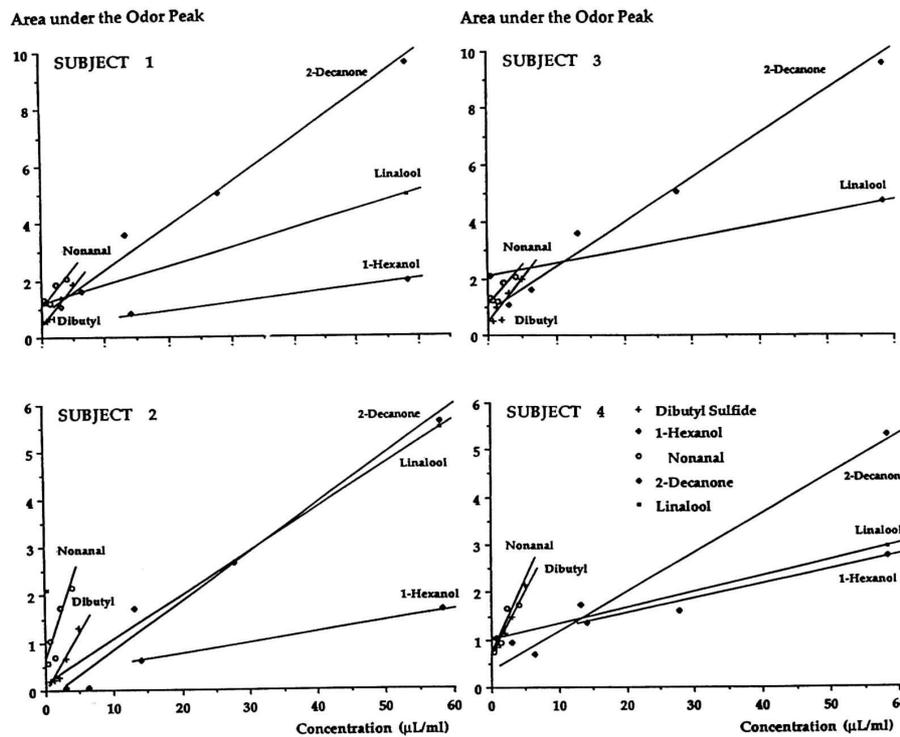


Figura 5. Funções psicofísicas relacionando a área média sob o pico de odor no aromagrama (Osme) gerado por cada julgador *versus* a concentração do composto em uma solução modelo; n= 4 repetições/julgador (DA SILVA; LUNDHAL; MCDANIEL, 1994).

Uma técnica olfatométrica adicional, intitulada OGA (*Olfactometry Global Analysis*), foi proposta por Linsen e outros (1993) e avaliada por Van Ruth, Roozen e Posthumus (1995) e por Ott, Fay e Chaintreau (1997). Essa técnica fundamenta-se na frequência com julgadores não treinados detectam cada composto no efluente cromatográfico. Assim, entre 8 e 12 julgadores não treinados avaliam os efluentes cromatográficos apenas uma vez, reportando a presença e a qualidade de cada composto odorífero percebido. Aromagramas individuais são gerados e somados, gerando um aromagrama final. Altos picos no aromagrama final associam-se a alta frequência de detecção dos respectivos compostos, sugerindo que os mesmos apresentam alta importância odorífera no material analisado.

Com o objetivo de comparar as diversas técnicas CG-olfatométricas existentes, Le Guen, Prost e Demaimay (2000) utilizaram Osme, AEDA e OGA para identificar compostos odoríferos de alto impacto no aroma e sabor de mariscos. Em AEDA, os resultados de dois diferentes julgadores foram computados. Os resultados gerados pelos três métodos foram estatisticamente comparados através do coeficiente de correlação de Pearson. Os pesquisadores reportaram que correlações altamente significativas ($p < 0,0003$) foram observadas entre as três técnicas. Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) variaram entre 0,28 e 0,64. Tomando-se os valores de R^2 para julgar o grau de consenso entre as técnicas, pode-se concluir que o menor grau de consenso foi observado entre as técnicas AEDA e OGA, enquanto que a técnica Osme foi a que melhor correlacionou-se tanto com AEDA como com OGA. As mais graves faltas de consenso entre as técnicas ocorreram para compostos de menor impacto odorífero. De acordo com os autores, isto ocorreu entre os voláteis que apresentavam frequência de respostas < 3 , segundo OGA ou $FD < 3$, segundo AEDA. Osme foi o método que apresentou maior precisão. Em termos de facilidade de uso, Le Guen, Prost e Demaimay (2000) afirmaram que OGA é a mais fácil porque requer menor número de análises, utilizando uma equipe de julgadores que não necessitam ser treinados. Osme foi considerada a técnica de maior dificuldade de uso porque requereu 16 corridas cromatográficas (4 julgadores x 4 repetições) utilizando julgadores que tiveram que ser altamente treinados. De modo geral, os autores recomendaram a utilização de OGA quando o tempo para obtenção dos resultados for um fator importante na pesquisa; entretanto, quando a precisão dos resultados for um fator crucial, o uso de Osme se torna necessário, segundo esses pesquisadores.

Van Ruth e O'Connor (2001) também compararam o desempenho de OGA, AEDA e Osme (apenas o parâmetro I_{max}) e concluíram que AEDA foi a técnica que menos se correlacionou com as duas primeiras. Assim, os resultados obtidos por esses autores também dão suporte à metodologia Osme, em detrimento de AEDA, para avaliação da importância odorífera de voláteis. Possivelmente, o mesmo ocorre com CHARM que se baseia no mesmo princípio de AEDA.

Um dos poucos trabalhos reportados na literatura até ao momento, que acessou a importância dos compostos voláteis presentes em produtos derivados de maracujá (suco e essência) através de técnica CGO, foi o realizado por Jordán, Goodner e Shaw (2002) sendo que os autores utilizaram AEDA e OGA. Desta forma, trabalhos que acessem a importância odorífera de voláteis em maracujá e produtos derivados através de técnicas CGO alternativas, podem ainda trazer importantes contribuições para um maior entendimento do aroma e sabor exóticos desta fruta e dos produtos dela derivados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Matéria-Prima

Doze litros de *water phase* industrial foram fornecidos pela indústria DÖHLER - Natural Foods & Beverage Ingredients, situada na cidade de Limeira, São Paulo. Essa *water phase* foi obtida durante a concentração do suco de maracujá amarelo, realizada em evaporador Gumaco com cinco estágios *Falling Film*. A coleta aconteceu no segundo estágio, à temperatura aproximada de 90 °C, com tempo de retenção de 30 segundos. A amostra foi acondicionada em frascos de vidro âmbar que foram armazenados em freezer (-18 °C) para futuras análises.

3.2. Caracterização sensorial da *water phase* de maracujá

Inicialmente foi realizada uma caracterização sensorial da *water phase* acima descrita. Assim, uma equipe sensorial previamente selecionada e treinada, conforme descrito a seguir, avaliou a intensidade do aroma característico de maracujá e descreveu as notas aromáticas presentes na amostra.

3.2.1. Treinamento e seleção da equipe sensorial

O recrutamento dos provadores foi feito entre funcionários e alunos de pós-graduação da Faculdade de Engenharia de Alimentos, FEA, UNICAMP. Dos voluntários, foram inicialmente selecionados 19 indivíduos, com base na disponibilidade, interesse e boa saúde geral dos candidatos.

Para o treinamento dos indivíduos, foram utilizados maracujás azedos, maduros, adquiridos no comércio local de Campinas. Utilizando-se uma peneira plástica e colher, a polpa foi extraída do fruto e diluída em água nas proporções de 1:60, 1:20, 1:10, 1:6,

1:4 e 1:2 de polpa:água (v/v). Essas amostras foram utilizadas para treinar os indivíduos a avaliarem a intensidade de aroma de suco de maracujá, utilizando uma escala linear de 9 cm (**Figura 6**), ancorada nos extremos, esquerdo e direito, com termos fraco e forte, respectivamente. A diluição 1:60 foi utilizada para ancorar os indivíduos no extremo esquerdo da escala (fraco); enquanto a diluição 1:2 representava o extremo direito (forte). As demais amostras representavam intensidades associadas ao meio da escala, e apresentavam diferenças de intensidade menores entre si, porém, ainda perceptíveis e úteis para treinamento dos indivíduos, conforme recomendado por Meilgard, Civile e Carr (1991).



Figura 6. Apresentação das amostras em sessão de treinamento dos julgadores.

As amostras foram apresentadas em copos tipo tulipa, opacos, codificados com números de três dígitos e tampados com vidro de relógio. Durante o treinamento, as amostras foram alocadas sobre uma escala não estruturada, em pontos correspondentes às suas intensidades na escala, de modo que os julgadores pudessem

treinar tanto a memorização do aroma característico de maracujá, como o uso da escala de intensidade (**Figura 6**).

Aos julgadores era inicialmente solicitado que cheirassem e comparassem as amostras das extremidades para memorizarem os extremos da escala. Posteriormente, eles eram solicitados a familiarizarem-se com as amostras do centro da escala, comparando-as entre si e confirmando ou não se elas se encontravam em ordem crescente de intensidade. Os julgadores participaram de 4 a 5 sessões de treinamento.

Para a seleção dos julgadores que comporiam a equipe treinada, os participantes receberam três amostras de suco de maracujá natural, diluído nas seguintes proporções de polpa em água: 3, 5 e 8% (v/v). Foi pedido que avaliassem a intensidade do aroma característico de maracujá de cada amostra, em três repetições, conforme a ficha apresentada na **Figura 7**.

Nome _____		Data ____/____/____	
Por favor, cheire as amostras da esquerda para a direita e, utilizando a escala abaixo, avalie-as em relação a intensidade do <u>aroma característico de maracujá</u> .			
Amostras			
_____		fraco	forte
_____		fraco	forte
_____		fraco	forte
Comentários: _____			

Figura 7. Ficha utilizada na seleção dos julgadores da equipe sensorial.

Os testes foram realizados no laboratório de Análise Sensorial, do departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Engenharia de Alimentos, Unicamp. Foram

utilizadas cabinas individuais, climatizadas e iluminadas com luz vermelha para mascarar qualquer diferença na aparência das amostras. As amostras (50 mL) foram servidas em copos tipo tulipa, opacos, tampados com vidro de relógio e codificadas com números de três dígitos. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada entre os julgadores.

Com os dados gerados, foi inicialmente realizada para cada julgador uma análise de variância (ANOVA), tendo como fontes de variação: amostra e repetição. Assim, foram computados os níveis de significância (p) para $F_{amostra}$ e $F_{repetição}$ de cada participante. Em seguida, foram calculadas as médias de cada provador para cada amostra. Os dados foram analisados através do programa estatístico “Statistical Analysis Systems” (SAS, 2000).

Para compor a equipe sensorial final foram selecionados os julgadores que apresentaram nível de significância (p) de $F_{amostra} < 0,30$ e nível de significância (p) de $F_{repetição} > 0,05$ e que apresentavam médias consensuais com a equipe (ASTM, 1981).

3.2.2 Análise sensorial da water phase de maracujá

Com uma micropipeta automática (Gilson *Medical Eletronics*), 8 μ L da *water phase* comercial do suco de maracujá foi transferido para uma fita de papel própria para avaliação de essência e perfumes (**Figura 8**). Os julgadores previamente selecionados cheiraram a fita e analisaram a amostra, primeiramente, utilizando uma escala não estruturada de 9 cm ancorada nos extremos com os termos “fraco” e “forte” e, a seguir, foi solicitado, na mesma ficha (**Figura 9**), que os julgadores descrevessem as notas aromáticas percebidas na amostra. O teste foi realizado em cabinas individuais. A intensidade média de aroma de maracujá presente na *water phase* foi computada e os termos descritores das notas aromáticas geradas pelos julgadores foram agrupados.



Figura 8. Análise sensorial dos isolados em fitas apropriadas

Nome _____		Data ____ / ____ / ____	
<p>Por favor, cheire a amostra apresentada e avalie a intensidade do <u>aroma característico de maracujá</u>, utilizando a escala abaixo.</p>			
Amostra			
_____	_____	_____	
	fraco	forte	
<p>Agora, cheire novamente a amostra e descreva as notas aromáticas que você percebe.</p>			
Notas	Descrição		
_____	_____		
_____	_____		
_____	_____		
_____	_____		
Comentários: _____			

Figura 9. Ficha utilizada na avaliação do aroma da *water phase* de maracujá

3.3. Isolamento dos voláteis da water phase através de duas diferentes técnicas

Os compostos voláteis presentes na *water phase* comercial do suco de maracujá foram isolados de acordo com duas distintas metodologias de isolamento: extração com solvente (líquido-líquido) e extração por *headspace* dinâmico por sucção, a fim de comparar, primeiramente, qual das duas técnicas apresentava maior eficiência na extração dos voláteis odoríferos presentes na *water phase*.

3.3.1 Extração líquido-líquido

Os compostos voláteis presentes na *water phase* do suco de maracujá foram primeiramente isolados pela técnica de extração por solvente (líquido-líquido), seguindo-se metodologia utilizada por Wolford, Alberding e Attaway (1962). Em um funil de separação (**Figura 10**) foram colocados 40 mL da *water phase*, adicionando-se em seguida, 5 mL de diclorometano (grau cromatográfico). Após agitação da mistura por 15 minutos, o funil foi deixado em repouso por 20 minutos. A fase mais densa foi cuidadosamente retirada e colocada em um tubo de ensaio com tampa rosqueada. Uma segunda extração da mesma *water phase* foi conduzida com outros 5 mL do solvente, seguindo-se de agitação por 15 minutos, repouso, e novamente a fase mais densa foi retirada e colocada no mesmo tubo de ensaio. Uma terceira (e última) extração foi conduzida da mesma forma que as anteriores, perfazendo o total de aproximadamente 15 mL de extrato recolhido no tubo. Na seqüência, através das bordas do tubo rosqueado foi depositada pequena quantidade de sulfato de sódio, e o tubo colocado no freezer por 2 horas, para que qualquer resíduo de água remanescente no extrato pudesse ser retirado. Em seguida, o extrato resultante foi transferido para outro recipiente e concentrado com fluxo de nitrogênio ultrapuro até, aproximadamente, 0,5 mL.

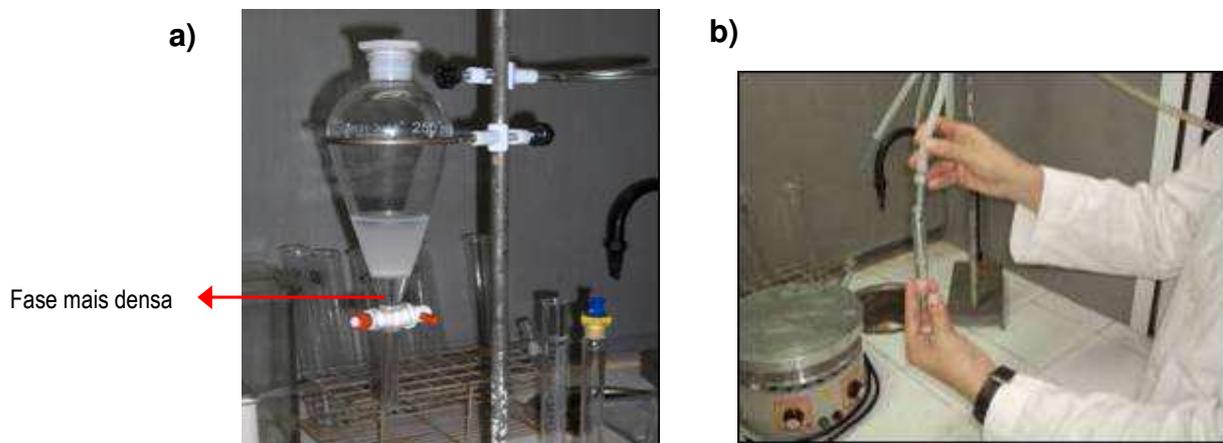


Figura 10. Etapas da extração dos voláteis presentes na *water phase*: a) separação das fases; b) concentração do isolado com fluxo de nitrogênio ultrapuro.

Finalmente, o isolado contendo os voláteis extraídos da *water phase* foi acondicionado em frasco âmbar, vedado com batoque e tampa de rosca e armazenado no freezer (-18 °C) para futuras análises cromatográfica e sensorial.

3.3.2. *Headspace* por sucção

Os voláteis odoríferos presentes na *water phase* foram também isolados empregando o método de enriquecimento dos vapores do *headspace* em polímero poroso por sucção (**Figura 11**), descrito por Franco e Rodrigues-Amaya (1983). Um tubo de vidro pirex (15,5 cm x 4mm Ø externo x 2,4mm Ø interno) foi utilizado como armadilha (*trap*), após ter sido empacotado com 0,1 g de polímero *Porapak* (polímero de etil vinil-divinil benzeno) tipo Q, 80-100 *mesh* (*Waters-Associates*) e condicionado a 170°C por 8 h, sob fluxo de nitrogênio ultrapuro a uma vazão de 40mL/min.

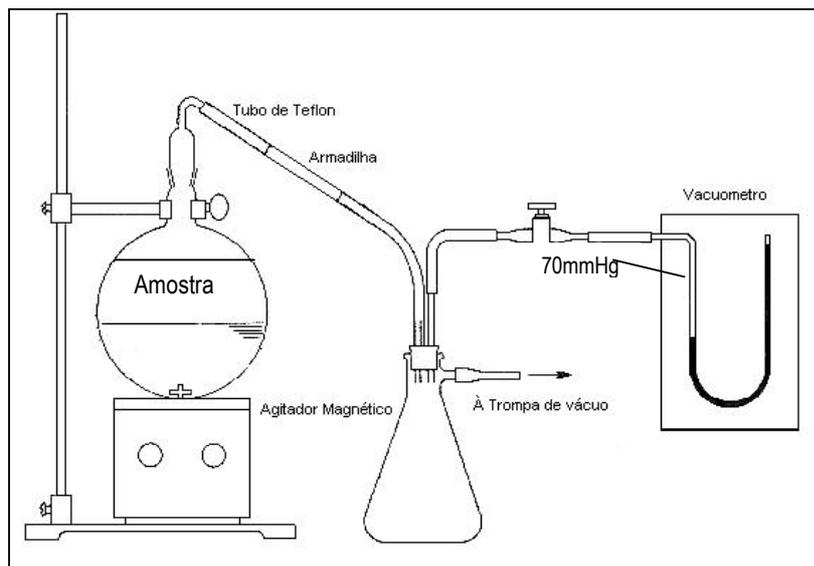


Figura 11. Sistema de captura dos compostos voláteis da *water phase* através da técnica proposta por Franco e Rodrigues-Amaya (1983). (Fonte: Garruti, 2001)

Os voláteis de 150 mL da *water phase* de maracujá foram capturados na armadilha acima descrita por 4h (GARRUTI *et al.*, 2007) sob agitação magnética constante (**Figura 11**) e posterior eluição da armadilha com 300 μ L de diclorometano (grau cromatográfico) diretamente em frasco âmbar, que foi então vedado com batoque e tampa de rosca. O isolado contendo os voláteis extraídos da *water phase* foi armazenado em freezer (-18 °C) para futuras análises cromatográfica e sensorial.

3.4 Análise dos isolados da *water phase* comercial de maracujá

3.4.1. Análise sensorial

Os isolados obtidos pelas duas técnicas de extração foram avaliados pelos julgadores previamente treinados e selecionados. Dessa forma, os julgadores também avaliaram se os voláteis importantes para o aroma de maracujá estavam de fato presentes nos isolados. Com uma micropipeta automática (marca Gilson *Medical*

Eletronics), 8 μL dos isolados foram transferidos para uma fita de papel própria para avaliação de essências e perfumes, codificada com números de três dígitos (**Figura 8**).

Após cheirar o isolado na tira de papel, cada julgador avaliou em uma escala não estruturada (9 cm), ancorada nos extremos com o termos “fraco” e “forte”, a intensidade do aroma característico de maracujá, conforme o modelo de ficha apresentado na **Figura 12**. A avaliação foi realizada em triplicata e aos resultados foram aplicados ANOVA e teste de médias de Tukey, utilizando um nível de significância de $p < 0,05$.

Nome _____		Data ____/____/____	
Por favor, cheire as fitas apresentadas e, utilizando a escala abaixo, avalie-as em relação a intensidade do <u>aroma característico de maracujá</u> .			
Amostras			
_____		fraco	forte
_____		fraco	forte
Comentários: _____			

Figura 12. Modelo da ficha utilizada na avaliação do aroma presente nos isolados.

3.4.2. Análise cromatográfica dos voláteis

Uma alíquota de 2 μL do isolado de cada técnica de isolamento (extração líquido-líquido e *headspace*) foi injetada em um cromatógrafo gasoso Varian (modelo 3600), equipado com coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), de fase moderadamente polar (DB-WAX), com detector de ionização de chama (DIC) e operado no modo *splitless*. Após otimização, as condições cromatográficas de separação foram fixadas da seguinte forma:

- A temperatura inicial da coluna foi programada para 40 °C mantidos por 15 minutos, seguindo-se aumento de 4 °C/min até 220°C, permanecendo nessa temperatura por 25 minutos. O tempo total de corrida foi de 85 minutos;
- O gás de arraste utilizado foi hidrogênio, com fluxo de 1,2 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram de 220 e 250°C, respectivamente.

A quantificação dos compostos voláteis foi feita por normalização.

3.5. Determinação da importância odorífera dos voláteis

Para a avaliação da importância odorífera dos voláteis presentes no isolado da *water phase* foi utilizada a técnica CG-Olfatométrica Osme (McDANIEL *et al.*, 1990) juntamente com um programa computacional intitulado SCDTI (Sistema para Coleta de Dados Tempo-Intensidade) desenvolvido pelas Faculdades de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia Elétrica e Instituto de Computação da UNICAMP (CARDELLO *et al.*, 2003; DA SILVA, 1999).

As condições cromatográficas para a separação dos voláteis presentes no isolado da *water phase* utilizadas para a análise Osme foram idênticas às citadas anteriormente no item **3.4.2**.

Para aplicar a técnica CG-Olfatométrica Osme, o cromatógrafo gasoso foi modificado, desconectando-se a coluna capilar do detector DIC, e conectando-a em um segundo porto aquecido (250 °C). O efluente cromatográfico, após separação na coluna, misturava-se com ar sintético previamente purificado e umedecido. Para tanto, um sistema foi acoplado ao cromatógrafo gasoso, de modo que o ar sintético vindo de um cilindro, era primeiramente umidificado, posteriormente purificado em carvão ativo (**Figura 13**) e então misturado com o efluente cromatográfico dentro de um tubo de vidro silanizado. Finalmente, o efluente cromatográfico diluído no ar sintético

umidificado era levado através do tubo sinalizado (45 cm) até o nariz do julgador, conforme ilustra a **Figura 14**.

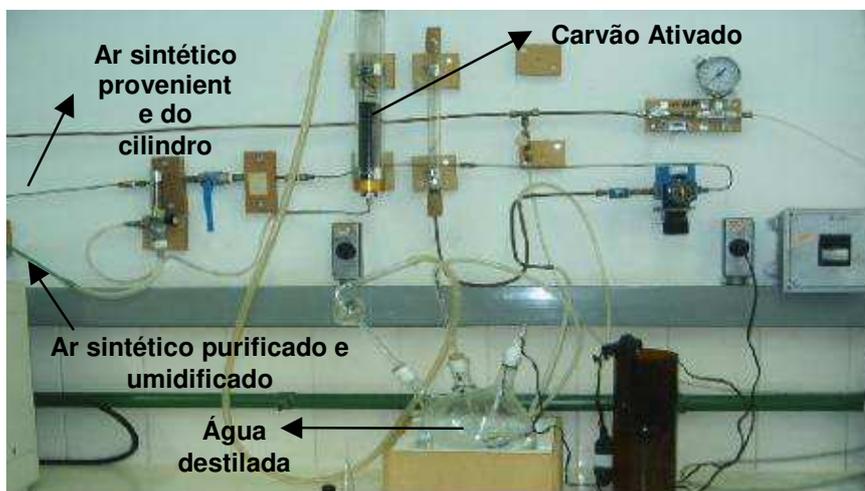


Figura 13. Sistema de umidificação, aquecimento e filtragem do ar sintético proveniente do cilindro para arrastar os voláteis até as narinas do julgador.

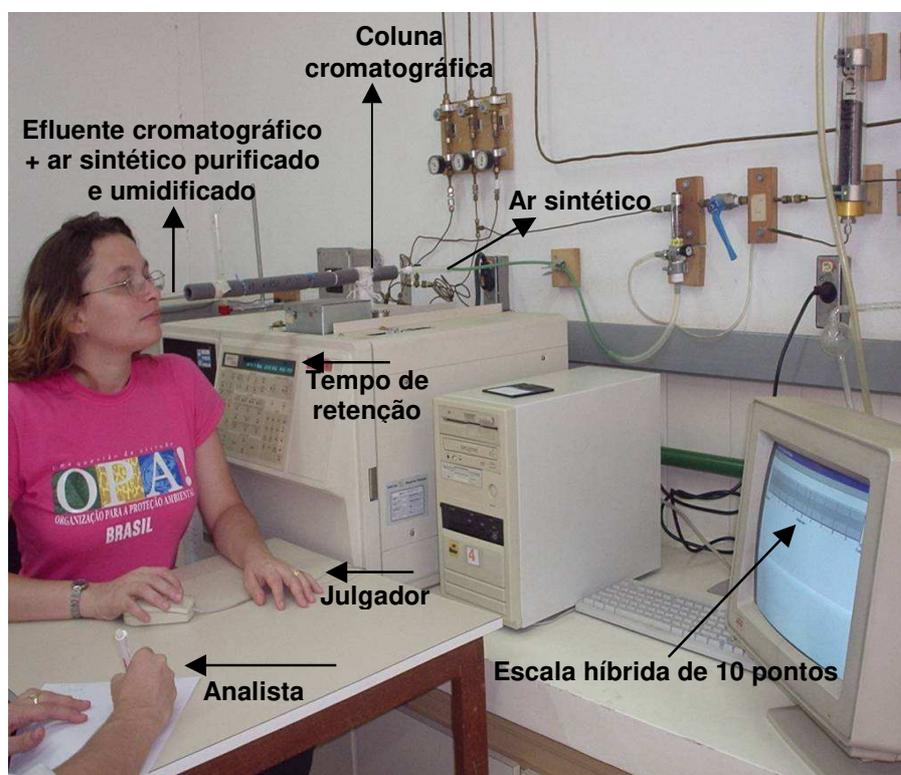


Figura 14. Julgador analisando os odores presentes no efluente cromatográfico utilizando CG-O Osme.

Com o auxílio do *mouse* do computador o julgador marcava em uma escala híbrida de 10 pontos, a qual, visualizada na tela do computador, apresentava 24 cm de comprimento, a intensidade de cada odor percebido no efluente cromatográfico (0 = nenhum e 10 = forte). Simultaneamente, o julgador descrevia para o analista a qualidade do odor percebido (floral, doce, etc). Assim, o analista marcava tanto o termo utilizado pelo julgador para descrever o aroma percebido, como o tempo de retenção em que ele/ela relatava o aroma. Ao término de cada avaliação, o *software* SCDTI integrava os dados gerados produzindo um aromagrama, figura similar a um cromatograma, que permite a visualização da importância odorífera de cada volátil, da forma como foi percebida pelo julgador (**Figura 15**).

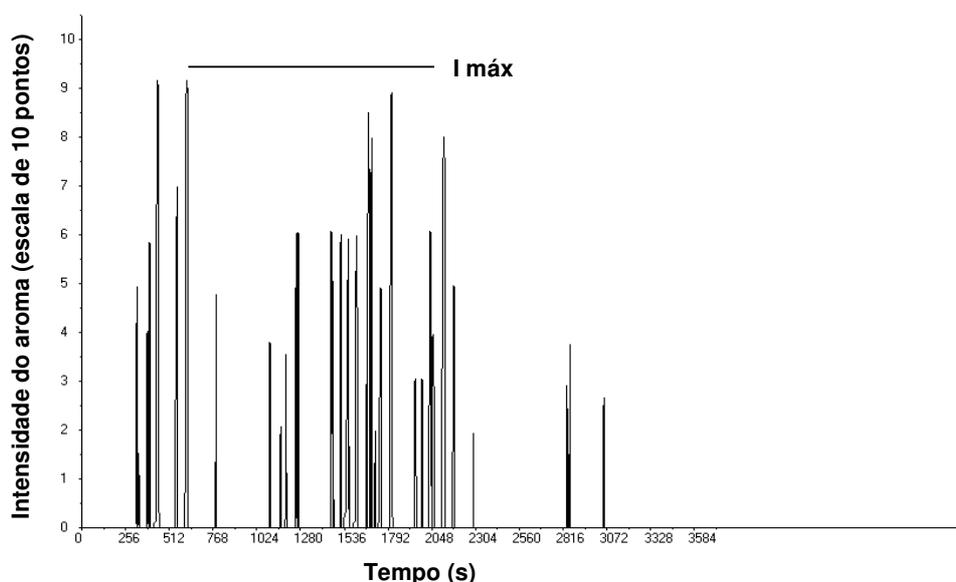


Figura 15. Aromagrama gerado pelo SCDTI após integração dos dados

O aromagrama gerado pelo SCDTI forneceu: i) o tempo (inicial, máximo e final) de duração de cada pico odorífero gerado pelo julgador; ii) a área sob o pico; iii) a intensidade máxima do aroma percebido pelo indivíduo e, finalmente, iv) os termos descritores do odor percebido pelo julgador. Cada julgador analisou o isolado em triplicata. Assim, para cada julgador construiu-se um aromagrama médio, onde apenas os picos que foram reportados em pelo menos duas das triplicatas constavam desse aromagrama. Posteriormente, com o aromagrama médio de cada um dos quatro

mamão, pêra), pó de café, balas (café, hortelã e tutti-frutti), óleo de amêndoa, amendoim torrado, castanha torrada, hipoclorito de sódio, erva-doce, camomila, cânfora, leite de coco, cereal matinal, sabonete, essências (rosas, flor do campo, maçã verde) e gás metano (gás de isqueiro).

O tempo final da corrida foi definido como o tempo máximo onde os julgadores ainda percebiam odor no efluente cromatográfico, o qual constituiu-se a 50 minutos. Para não provocar fadiga sensorial nos julgadores, o tempo total de avaliação de 55 minutos foi dividido em duas partes realizadas em dias distintos: a primeira parte com duração de 27 minutos, referentes aos compostos eluídos entre 5 e 32 minutos; e a segunda parte de 23 minutos, referente aos compostos eluídos entre 32 e 55 minutos.

3.6. Identificação dos voláteis presentes na *water phase* de maracujá

Para a identificação dos compostos voláteis presentes na *water phase* de maracujá, foi utilizado um cromatógrafo gasoso da marca *Shimadzu* (modelo CG17A) acoplado a um espectrômetro de massas modelo QP5000. A temperatura da interface direta foi de 240 °C, com fonte de ionização por impacto de elétrons a 70 eV e varredura realizada entre 35 e 350 m/z. Foi utilizada coluna DB-Wax nas mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente (**item 3.4.2**).

A identificação inicial dos voláteis foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos para cada composto, com aqueles disponíveis na biblioteca Class 5000 Wiley. De modo geral, altas similaridades entre os espectros (aproximadamente 90%) eram consideradas.

A seguir, os índices de retenção de Kovats obtidos experimentalmente no cromatógrafo e no espectrômetro de massas, foram comparados com os índices de Kovats reportados na literatura (ACREE; ARN, 2004; CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983; JENNINGS; SHIBAMOTO, 1980; KUO *et al.*, 1985; NARAIN *et al.*, 2004; WERKHOFF *et al.*, 1998) e que tivessem utilizado coluna de igual polaridade

(DB-WAX ou similares). Para a obtenção dos índices de retenção de Kovats dos voláteis presentes no isolado, foi analisada uma solução de alcanos (C_7 a C_{28}) juntamente com o isolado, nas mesmas condições cromatográficas do **item 3.4.2** (ETTRE, 1964). Adicionalmente, os termos descritores dos odores gerados na CG-olfatometria também foram considerados como ferramentas auxiliares da identificação dos compostos.

Um composto foi considerado “identificado”, quando o espectro de massas obtido experimentalmente coincidia com aquele presente na base de dados da biblioteca do equipamento CG-EM (Class 5000 Wiley) e seu índice de Kovats experimental coincidia com aquele reportado na literatura.

Para os compostos cujo índice de Kovats não foi encontrado na literatura, a identificação foi realizada apenas pela comparação dos espectros de massas do composto com o espectro apresentado pela biblioteca do CG-EM (Class 5000 Wiley). Esses compostos foram então considerados “tentativamente identificados”. Neste caso, exigiu-se, aproximadamente, 90% de similaridade entre os dois espectros.

Compostos com baixas similaridades de espectros e índices de Kovats experimentais incompatíveis com a literatura foram considerados “não identificados” (NI).

Finalmente, um composto foi considerado positivamente identificado quando seu espectro de massas e índice de Kovats coincidia com aqueles obtidos pela análise de um padrão puro nas mesmas condições metodológicas anteriormente descritas.

3.7. Caracterização de essências naturais obtidas por destilação fracionada da *water phase* de maracujá

Após a caracterização sensorial e do perfil de voláteis da *water phase* de maracujá, dez litros da amostra foram enviados para o laboratório de processos

químicos da Faculdade de Engenharia Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC/RS), que utilizando destilações fracionadas, em diferentes condições de processamento (**Tabela 1**), gerou 6 essências de maracujá.

Tabela 1. Parâmetros do processo utilizados na elaboração de seis amostras de essência de maracujá através de destilação fracionada.

Essência	Parâmetros		
	Temperatura	Pressão	Potência
1	32,4°C	0,05 bar	0,05 kW
2	35,0 °C	0,05 bar	1,00 kW
3	36,0 °C	0,10 bar	1,00 kW
4	45,0 °C	0,10 bar	0,13 kW
5	63,7 °C	0,30 bar	0,13 kW
6	93,0 °C	1,00 bar	0,50 kW

3.7.1 Análise sensorial das essências naturais de maracujá

A caracterização sensorial das seis essências naturais de maracujá, descritas na **Tabela 1** foi realizada por uma equipe previamente treinada e selecionada conforme descrito no item **3.2.1**. A *water phase* industrial também foi inserida na análise. Dois atributos sensoriais foram analisados nas essências: impacto inicial do aroma (aroma global) e aroma de maracujá, conforme modelo de ficha apresentado na **Figura 17**. A avaliação foi realizada em triplicata e aos resultados foram aplicados ANOVA e teste de médias de Tukey, utilizando-se um nível de significância de $p \leq 0,05$.

Nome _____ Data ____ / ____ / ____

Nas escalas apresentadas avalie, primeiramente, o Impacto Inicial de Aroma (Aroma Global) e, a seguir, a Intensidade de Aroma de Maracujá. Após, cite todas as notas aromáticas percebidas nas amostras.

Amostra _____

Impacto inicial de aroma	<div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%;"></div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; padding: 0 10px;"> fraco forte </div>
Aroma de maracujá	<div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%;"></div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; padding: 0 10px;"> fraco forte </div>

Comentários: _____

Figura 17. Modelo da ficha utilizada na avaliação do aroma de essências naturais.

3.7.2. Isolamento dos voláteis

Os compostos voláteis presentes nas seis essências naturais (**Tabela 1**) foram isolados pela técnica de extração com solvente (líquido-líquido) conforme descrito no item **3.3.1**. Porém, devido a pouca quantidade disponível das essências (5 mL), a extração foi realizada com quantidades menores da amostra (3 mL) e do solvente (1,5 mL). Cada isolado, com volume final de 0,5 mL, foi acondicionado em frasco âmbar, vedado com batoque e tampa de rosca, e armazenado em freezer (-18 °C) para futuras análises cromatográfica e sensorial.

3.7.2.1. Análise cromatográfica dos isolados

A análise cromatográfica foi realizada no mesmo equipamento e nas mesmas condições especificadas no item **3.4.2**.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Treinamento e seleção da equipe sensorial

O desempenho dos julgadores treinados com relação ao poder discriminativo e repetibilidade de julgamentos nas avaliações de intensidade de aroma de maracujá encontra-se na **Tabela 2**. Nesta tabela, o valor p de F_{amostra} é o parâmetro utilizado para julgar o poder discriminativo do julgador: se $p_{F_{\text{amostra}}}$ é menor ou igual a 0,30, o indivíduo tem poder discriminativo adequado para pertencer à equipe sensorial. Por sua vez, o valor p de $F_{\text{repetição}}$ é o parâmetro utilizado para julgar a repetibilidade do julgador: se $p_{F_{\text{repetição}}}$ é maior ou igual a 0,05, o indivíduo tem repetibilidade adequada para pertencer à equipe sensorial. Dos dezenove julgadores, sete (J_1 , J_6 , J_7 , J_9 , J_{12} , J_{13} e J_{17}) foram eliminados nessa primeira etapa, pois apresentaram problemas na discriminação das amostras ($p > 0,30$), sendo que dois deles (J_7 e J_{12}) também não apresentaram repetibilidade adequada ($p < 0,05$).

Tabela 2. Valores associados ao poder discriminativo (p de F_{amostra}) e repetibilidade (p de $F_{\text{repetição}}$) dos julgadores após período de treinamento. ($n = 19$ indivíduos)

Valor de p	Julgadores									
	J_1	J_2	J_3	J_4	J_5	J_6	J_7	J_8	J_9	J_{10}
F_{amostra}	0,63*	0,10	0,05	0,21	0,01	0,97*	0,41*	0,05	0,93*	0,01
$F_{\text{repetição}}$	0,21	0,13	0,79	0,10	0,28	0,97	0,04*	0,27	0,89	0,79
	J_{11}	J_{12}	J_{13}	J_{14}	J_{15}	J_{16}	J_{17}	J_{18}	J_{19}	
F_{amostra}	0,12	0,35*	0,35*	0,29	0,19	0,06	0,60*	0,09	0,24	
$F_{\text{repetição}}$	0,37	0,02*	0,07	0,70	0,11	0,24	0,74	0,65	0,87	

Valores obtidos por ANOVA (fonte de variação: amostra, repetições) dos dados gerados pelos julgadores.

p de $F_{\text{amostra}} \leq 0,30$ indica julgador com suficiente poder discriminativo

p de $F_{\text{repetição}} \geq 0,05$ indica julgador com suficiente repetibilidade

* Julgadores eliminados na primeira etapa

A **Figura 18** apresenta os valores médios de intensidade dados por cada um dos doze julgadores que mostraram poder discriminativo e repetibilidade adequados, no julgamento de aroma de maracujá em suco natural da fruta a diferentes diluições com água: 3%, 5% e 8%. A **Figura 18** demonstra que três julgadores (J₁₁, J₁₆ e J₁₈) apresentaram falta de consenso com a equipe, dando para o suco diluído a 5%, maior intensidade de aroma de maracujá que para o suco diluído a 8%. Já o julgador J₁₁, deu para o suco diluído a 3% maior intensidade de aroma de maracujá que para o suco diluído a 5%. Esses julgadores foram, portanto retirados da equipe. Dessa forma, a equipe sensorial final foi composta por 9 julgadores.

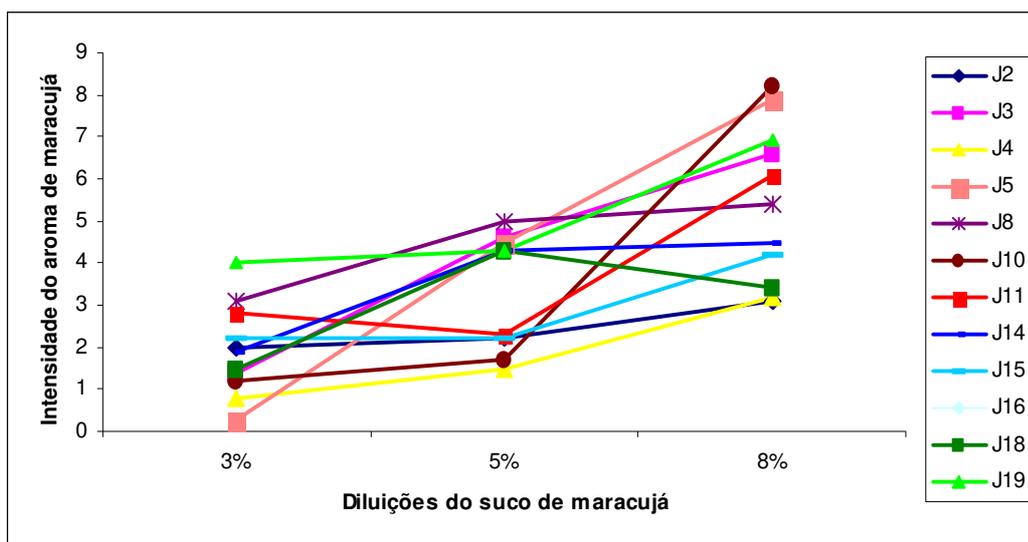


Figura 18. Intensidade média de aroma de maracujá (n = 3 repetições) dada pelos julgadores ao suco de maracujá diluído a 3%, 5% e 8% em água. (0 = aroma fraco de maracujá, 9 = aroma forte de maracujá).

4.2 Caracterização sensorial da water phase de maracujá

A **Tabela 3** apresenta a intensidade média e o desvio-padrão do aroma característico de maracujá, percebido pela equipe sensorial na *water phase* gerada industrialmente e fornecida pela DÖHLER - Natural Foods & Beverage Ingredients.

Conforme pode ser observado, a intensidade média do aroma de maracujá na *water phase* foi de 3,4 indicando que a equipe considerou o aroma de maracujá na *water phase* com intensidade entre “fraca” e “moderada”.

As principais notas aromáticas percebidas pelos julgadores na *water phase* estão agrupadas na **Tabela 4** e indicam que, além de aroma de maracujá, a *water phase* possuía notas aromáticas descritas como: frutal, verde, floral e pungente.

Tabela 3. Intensidade média de aroma de maracujá na *water phase* fornecida pela DÖHLER - Natural Foods & Beverage Ingredients (n = 9 julgadores)

Amostra	Intensidade de aroma de maracujá¹
<i>Water phase</i>	3,40 (\pm 2,47*)

Escala de intensidade: 0= aroma fraco, 9= aroma forte.

* Desvio-padrão

Tabela 4. Notas aromáticas percebidas pelos julgadores na *water phase* fornecida pela DÖHLER - Natural Foods & Beverage Ingredients (n = 9 julgadores)

Termo descritor	Frequência de citação (%)
Verde (mato, grama, maria fedida, eucalipto)	27%
Frutal/cítrico (maçã verde, tamarindo, maracujá)	16,5%
Floral/perfume (flor maracujá, flores, perfume)	16,5%
Solvente/pungente (álcool/acetona)	16,5%
Frutal/doce (tutti-frutti, frutas vermelhas, doce)	14%
Outros (óleo, amêndoa, cozido, terra)	9%

4.3. Caracterização dos isolados de voláteis da *water phase*

4.3.1. Caracterização sensorial

A intensidade de aroma de maracujá presente nos isolados de voláteis extraídos da *water phase* pelas duas técnicas – *headspace* dinâmico e extração líquido-líquido - encontra-se na **Tabela 5**. Conforme pode ser observado, a intensidade média de aroma nos dois isolados situou-se próxima a 5, o que corresponde ao termo “moderado” da escala. Não houve diferença significativa ($p < 0,001$) entre os dois isolados, indicando que os dois métodos extraíram similarmente os compostos voláteis importantes ao aroma da *water phase*.

Tabela 5. Intensidade média de aroma característico de maracujá nos isolados de voláteis extraídos por duas diferentes técnicas de extração (n = 9 julgadores)

Técnica de extração	Aroma de maracujá ¹
Líquido-líquido (diclorometano)	5,20 ^a ($\pm 1,17^*$)
<i>Headspace</i> dinâmico	4,87 ^a ($\pm 1,24^*$)

¹Valores médios; teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (escala: 0 = fraco; 9 = forte)

* Desvio-padrão
DMS=0,91

Assim, de acordo com os resultados obtidos através da análise sensorial (**Tabela 5**), as duas técnicas de extração podem ser utilizadas para o estudo dos voláteis importantes para o aroma da *water phase* analisada no presente estudo.

4.3.2. Perfil de voláteis

Os cromatogramas dos isolados gerados por extração líquido-líquido com diclorometano e pela técnica de *headspace dinâmico* são apresentados na **Figura 19**. Conforme pode ser observado, os perfis cromatográficos dos dois isolados

apresentaram-se bastantes semelhantes; entretanto, o isolado gerado por extração com diclorometano contem maior número de voláteis detectados, podendo-se visualizar a presença de 110 picos (**Figura 19**). Este isolado apresentou maior número de picos, sobretudo após 45 minutos de corrida cromatográfica.

No isolado obtido pela técnica de *headspace* dinâmico foram detectados 73 picos. Esse isolado apresentou compostos com maior área no início do cromatograma (**Figura 19**).

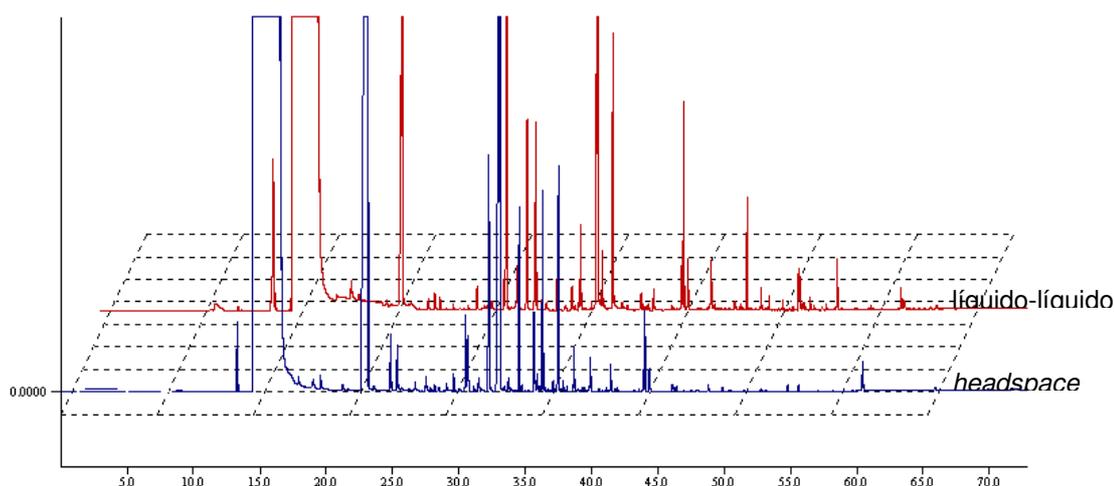


Figura 19. Cromatogramas dos voláteis *da water phase* de maracujá isolados com duas diferentes técnicas: *headspace* dinâmico ■ extração líquido-líquido ■

No entanto, apesar da presença de maior número de picos no isolado obtido pela técnica de extração líquido-líquido comparativamente à técnica de *headspace* dinâmico, a intensidade de aroma característico de maracujá presente nos dois isolados, não mostrou diferença significativa ($p < 0,001$). Isso está de acordo com relatos da literatura, onde tem sido reportado que os isolados obtidos por *headspace* dinâmico geralmente contêm menos compostos do que aqueles obtidos por extração com solvente. Por sua vez, a análise por *headspace*, por motivos óbvios, geralmente apresenta melhores

correlações com julgamentos sensoriais associados ao aroma do produto (SIDES; ROBARDS; HELLIWELL, 2000; FRANCO; JANZANTTI, 2004). No entanto, há compostos que são melhores extraídos com solvente; este é o caso de compostos que mostram baixa pressão de vapor em materiais contendo alto teor água (TERANISHI; KINT, 1997; AUGUSTO; LOPES; ZINI, 2003). Esta ocorrência possivelmente explica a presença, no isolado da *water phase* obtido pela técnica de extração líquido-líquido com diclorometano, daqueles compostos que eluíram após 45 minutos de corrida cromatográfica (**Figura 19**). Vale ressaltar que a *water phase* analisada no presente estudo foi obtida através de destilação e condensação do suco de maracujá durante o processo industrial. Dessa forma, a amostra é constituída apenas por compostos voláteis diluídos em grande quantidade de água. Assim, a técnica de extração por solvente, neste caso, torna-se mais adequada, pois essa técnica concentra esses compostos voláteis eliminando o seu maior interferente, no caso da *water phase*, a água. Portanto, a determinação do perfil de voláteis e sua importância odorífera para a *water phase* foi realizada utilizando-se o isolado obtido por extração líquido-líquido com diclorometano.

4.4. Identificação dos voláteis presentes na *water phase* de maracujá

A **Figura 20** mostra com maior clareza os 110 picos da *water phase* de maracujá registrados pelo detector de ionização de chama (DIC) do cromatógrafo gasoso. Destes, 71 puderam ser identificados, o que representou, aproximadamente, 72 % da área total presente no cromatograma. Para cada pico presente no cromatograma da **Figura 20**, a **Tabela 6** apresenta seu índice de Kovats experimental, o índice de Kovats atribuído pela literatura científica (para os voláteis que puderam ser identificados) e a % de similaridade entre seu espectro experimental e aquele reportado pela biblioteca Class 5000 Wiley. Para os voláteis identificados tentativamente são apresentados apenas os nomes e a % de similaridade entre seu espectro de massas experimental e aquele reportado pela biblioteca. Quinze compostos puderam ser “positivamente identificados” através de seus espectros de massas, índices Kovats e padrões puros.

Isto ocorreu porque este é o primeiro trabalho do grupo de pesquisa com aroma de maracujá e poucos padrões puderam até então ser adquiridos.

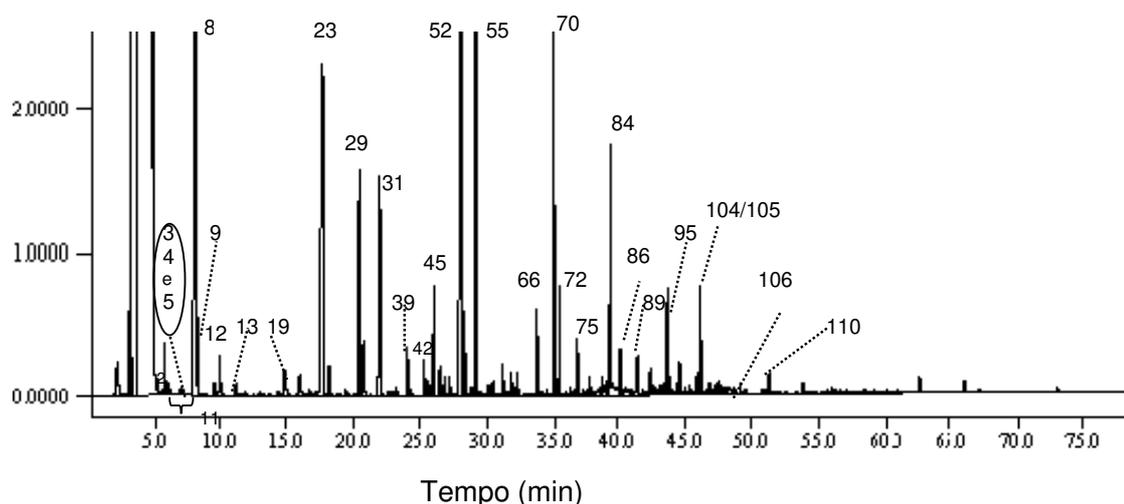


Figura 20. Cromatograma dos voláteis da *water phase* de maracujá isolados por extração líquido-líquido com diclorometano

Tabela 6. Compostos voláteis identificados no isolado da *water phase* de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índice de similaridade com o espectro de massas da biblioteca Class 5000 Wiley.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a	I _{TEOR} ^b	% simil. ^c (espectro)
1	propanoato de etila ^d	<1000	944	86
2	2-pentanona ^d	<1000	980	93
3	butanoato de metila ^d	<1000	975/990	86
4	acrilato de etila ^e	<1000	980	82
5	acetato de isobutila ^d	1009	1000-1015	87
6	NI	1016	—	—
7	NI	1029	—	—
8	butanoato de etila ^f	1037	1025-1028	94
9	NI	1042	—	—
10	2,3 pentanediona ^d	traços	1044-1066	92

Tabela 6. (continuação) Compostos voláteis identificados no isolado da water phase de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índices de similaridade com o espectro de massas biblioteca Class 5000 Wiley.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a	I _{TEOR} ^b	% simil. ^c (espectro)
11	etanoato de butila ^d	1069	1059	97
12	hexanal ^f	1075	1085	95
13	isobutanol ^d	1094	1068-1116	93
14	2-propenoato de etila ^e	1104	NE	97
15	NI	1122	—	—
16	NI	1124	—	—
17	2-pentanol ^d	traços	1091-1116	95
18	valerato de etila ^d	1140	1113-1145	93
19	2-metil-4-pentenal ^e	1146	NE	92
20	<i>cis</i> -3-hexenal ^d	1159	1146	88
21	butanol ^f	1159	1145	94
22	crotonato de etila ^f	1167	1161	92
23	ciclopentanona ^d	1178	1172-1238	96
24	2-heptanona ^d	1183	1174	95
25	hexanoato de metila ^d	1189	1141-1184	95
26	NI	1191	—	—
27	NI	1194	—	—
28	NI	1196	—	—
29	<i>trans</i> 2-hexenal ^d	1208	1207-1223	95
30	Isopentanol ^d	1215	1184	96
31	hexanoato de etila ^f	1239	1227-1233	96
32	NI	1250	—	—
33	NI	1252	—	—
34	2-metil-1-buten-4-ol ^e	1255	NE	90
35	acetato de prenila ^d	1256	1243	89
36	pentanol ^f	1261	1248-1255	95
37	butanoato de isoamila ^d	traços	1259	87
38	NI	traços	—	—

Tabela 6. (continuação) Compostos voláteis identificados no isolado da *water phase* de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índices de similaridade com o espectro de massas biblioteca Class 5000 Wiley.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a	I _{TEOR} ^b	% simil. ^c (espectro)
39	acetato de hexila ^d	1275	1275	96
40	3-hidroxi-2-butanona ^f	1278	1278-1287	91
41	octanal ^d	traços	1278	92
42	<i>trans</i> -3-hexenoato de etila ^d	1298	1269	94
43	ciclopentanol ^d	1302	1283	90
44	acetato de <i>trans</i> -2-hexenila ^d	1306	1315	94
45	acetato de <i>cis</i> -3-hexenila ^d	1315	1275-1300	95
46	NI	1326	—	—
47	2-heptanol ^d	1328	1284	95
48	6-metil-5-hepten-2-one ^d	1334	1335	92
49	2-hexenoato de etila ^d	1343	1305	80
50	<i>cis</i> -óxido de rosa ^d	traços	1337-1339	89
51	3-nonanona ^d	traços	1362	90
52	hexanol ^f	1365	1316-1334	97
53	<i>trans</i> -3-hexen-1-ol ^d	1370	1386	95
54	NI	—	—	—
55	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol ^f	1388	1391	94
56	<i>trans</i> -2-hexenol ^d	1409	1368-1377	93
57	butanoato de hexila ^d	1414	1414	94
58	2-ciclohexenona ^e	1422	NE	89
59	<i>cis</i> -óxido de linalol ^d	1442	1423	94
60	butanoato de <i>cis</i> -3-hexenila ^d	1453	1447	91
61	furfural ^d	1458	1449-1455	84
62	heptanol ^d	1460	1419-1467	94
63	NI	1471	—	—
64	<i>trans</i> -óxido de linalol ^d	1471	1451	90
65	butanoato de <i>trans</i> -2-hexenila ^d	1474	1461	91
66	benzaldeído ^d	1512	1502	95

Tabela 6. (continuação) Compostos voláteis identificados no isolado da *water phase* de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índices de similaridade com o espectro de massas biblioteca Class 5000 Wiley.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a	I _{TEOR} ^b	% simil. ^c (espectro)
67	NI	—	—	—
68	3-hidroxi-butanoato de etila ^d	1526	1507	94
69	acetato de furfurila ^d	1535	1518	88
70	linalol ^f	1553	1506-1537	95
71	1-nonen-3-ol ^d	1569	1520	92
72	octanol ^f	1564	1519/1540	95
73	malonato de dietila ^d	1592	1542	91
74	NI	—	—	—
75	4-terpineol ^d	1602	1559-1585	93
76	edulian I ^d	1608	1620	89
77	NI	1621	—	—
78	2-clorociclohexanol ^e (=contaminante do solvente)	1651	NE	95
79	<i>cis</i> -citral ^d (=neral)	1678	1661	86
80	succinato de dietila ^e	1681	1642	93
81	3-hidroxihexanoato de etila ^e	1681	—	82
82	NI	1688	—	—
83	<i>gamma</i> -caprolactona ^d	1695	1661	90
84	alfa terpineol ^d	1700	1668-1690	94
85	NI	1706	—	—
86	acetato de benzila ^d	1727	1697	93
87	<i>trans</i> -citral 2 ^d	1731	1706-1718	91
88	citronelol ^f	1771	1762	92
89	<i>cis</i> geraniol/nerol ^f	1803	1770	95
90	NI	1812	—	—
91	acetato de 2-fenetila ^e	1814	1785	85
92	NI	1821	—	—
93	NI	1831	—	—

Tabela 6. (continuação) Compostos voláteis identificados no isolado da *water phase* de maracujá, seus respectivos índices de Kovats experimental e teórico, e índices de similaridade com o espectro de massas biblioteca Class 5000 Wiley.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a	I _{TEOR} ^b	% simil. ^c (espectro)
94	NI	1848	—	—
95	ácido hexanóico ^d	1852	1850	96
96	<i>trans</i> geraniol ^f	1856	1847	93
97	diamil éter ^e	1866	NE	89
98	butanoato de benzila ^d	1870	1856	89
99	álcool benzílico ^f	1879	1822-1865	96
100	NI	1885	—	—
101	NI	1898	—	—
102	NI	1913	—	—
103	NI	1932	—	—
104	<i>beta</i> -ionona ^d	1943	1912	87
105	acetato de benzenopropanol ^d	1943	1993	94
106	ácido octanóico ^d	2063	1924-2083	93
107	veridiflorol ^d	2078	2102	87
108	NI	2130	—	—
109	<i>gamma</i> -5-hexil butirrolactona ^e	2145	NE	97
110	acetato de cinamila ^d	2151	2103	90

a: índice de Kovats experimental

b: índice de Kovats encontrado na literatura

c: similaridade do composto com o espectro de massas da biblioteca

d: composto “identificado” por espectro de massas e índice de Kovats

e: composto “tentativamente identificado” (por espectro de massas somente)

f: compostos “positivamente identificados” através de padrões puros

NI: composto não identificado

NE: índice de Kovats não encontrado na literatura.

As classes dos compostos identificados na **Tabela 6** podem ser visualizadas na **Figura 21**, onde se observa que a *water phase* de maracujá foi caracterizada por grande quantidade de ésteres que são conhecidos por sua contribuição com notas frutais ao aroma de vários produtos. Os álcoois foram o segundo maior grupo de voláteis presentes na *water phase* de maracujá, o que está de acordo com vários

trabalhos realizados com os voláteis dessa fruta (CASIMIR; KEFFORD; WHITFIELD, 1981; CHEN *et al.*, 1982; WERKHOFF *et al.*, 1998; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004). Na seqüência, foram encontrados entre os grupos majoritários de voláteis da *water phase*, terpenos, cetonas, aldeídos, óxidos, lactonas, ácidos, éter e outros (compostos miscelâneos). A amostra ainda apresentou 28 compostos não identificados. Alguns desses, representando voláteis possivelmente presentes em quantidades muito pequenas (traços), o que dificulta a sua identificação.

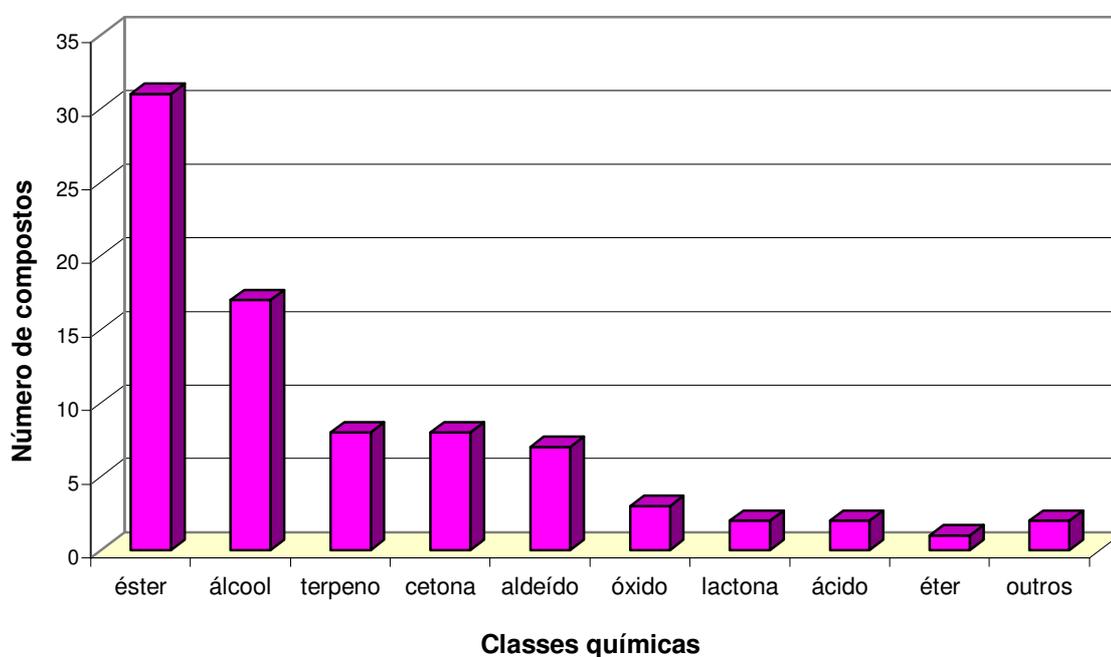


Figura 21. Classes químicas e número dos compostos encontrados na *water phase* de maracujá

Dentre os diferentes voláteis identificados na *water phase* de maracujá, aqueles presentes em maior % de área foram: hexanol (15,5%), butanoato de etila (13,8%), ciclopentanona (9,3%), *cis*-3-hexen-1-ol (5,4%), linalol (4,7%), hexanoato de etila (4,3%), *trans*-2-hexenal (3,9%) e α -terpineol (3,9%).

Entre os ésteres encontrados na *water phase* de maracujá, foram identificados os metílicos e etílicos dos ácidos saturados C₁, C₃-C₆, os etílicos 3-hidroxi dos ácidos saturados C₄ e C₆, os aromáticos dos ácidos saturados C₂ e C₄, dentre outros. Alguns trabalhos recentes com essências de frutas tropicais também reportaram os ésteres como componentes majoritários, com destaque para os acetatos de butila e isobutila em melão (JORDÁN; SHAW; GOODNER, 2001), os acetatos de isobutila e isoamila, em banana (JORDÁN *et al.*, 2001), o butanoato de etila em goiaba vermelha (JORDÁN *et al.*, 2003) e o hexanoato de metila e etila em *water phase* de abacaxi (ELSS *et al.*, 2005).

Na abrangente pesquisa realizada por Werkhoff e outros (1998) com maracujá amarelo, considerando-se os 4 diferentes procedimentos utilizados para isolamento dos voláteis, 193 compostos foram identificados. Quantitativamente, 7 ésteres estiveram presentes como compostos majoritários nas amostras, quais sejam: butanoato de etila, hexanoato de etila, hexanoato de hexila, butanoato de hexila, 3-hidroxi-butanoato de etila, butanoato de *cis*-3-hexenila, hexanoato de *cis*-3-hexenila. Dos compostos mencionados, 5 estiveram presentes na *water phase* de maracujá analisada no presente estudo: butanoato de etila, hexanoato de etila, butanoato de hexila, butanoato de *cis*-3-hexenila e 3-hidroxi-butanoato de etila. Ainda, no trabalho de Werkhoff e outros (1998), segundo os autores, alguns ésteres foram identificados pela primeira vez em maracujá amarelo. Dentre eles, três também foram encontrados na *water phase* de maracujá: acetato de *cis*-3-hexenila, acetato de 2-fenetila e acetato de furfurila. Assim, de modo geral, os resultados do presente estudo apresentam grande concordância com os reportados por Werkhoff e outros (1998).

O acetato de furfurila identificado na presente pesquisa (**Tabela 6**), tido como um composto incomum no aroma de frutas frescas, pode ter sido gerado a partir da reação de esterificação entre um ácido e um álcool presente no maracujá. Essa reação é favorecida em temperatura superior a 70°C, condição facilmente alcançada durante o processamento do suco de maracujá. Esse composto já foi anteriormente caracterizado como possuindo aroma floral (ALVES MOREIRA; TRUGO; DE MARIA; 2000).

No trabalho realizado por Pino, Boys e Roncal (1995) com polpa do maracujá amarelo (fresca e pasteurizada), embora os autores não tenham utilizado nenhuma técnica olfatométrica para avaliar a importância odorífera dos voláteis isolados, fundamentados em dados bibliográficos e na quantidade de cada volátil presente na amostra, os autores reportaram os ésteres e os compostos terpênicos como os grupos de voláteis mais importantes nas amostras, com destaque para os ésteres hexanoato de etila e butanoato de hexila, que apresentam aromas frutal e floral. Esses resultados estão de acordo com o presente trabalho sobre a *water phase* de maracujá, onde esses mesmos dois ésteres também se apresentaram como componentes majoritários.

Casimir, Kefford e Whitfield (1981) destacaram 15 voláteis como de maior importância para o aroma de um híbrido de maracujá. Desses 15 compostos, a maioria foi ésteres, 11 também foram identificados na *water phase* do presente estudo, quais sejam: butanoato de (Z)-3-hexenila, butanoato de hexila, β -ionona, edulan I, linalol, hexanoato de etila, 2-heptanol, (Z)-3-hexenol, hexanol, óxido de rosa e butanoato de metila.

No mais recente estudo realizado por Narain e outros (2004), os 8 voláteis presentes em maior % de área no *headspace* do suco de maracujá foram, respectivamente: butanoato de hexila, hexanoato de hexila, 3-pentanona, butanoato de etila, benzaldeído, propanoato de etila, hexanal e octanoato de etila. Na *water phase* de maracujá do presente estudo, dos compostos citados, apenas o butanoato de etila foi majoritário. Adicionalmente, dos compostos destacados por Narain e outros (2004), alguns voláteis como 3-pentanona e hexanoato de hexila não foram encontrados na *water phase*. Isso pode ter ocorrido tanto em função da não recuperação desses compostos durante a condensação dos voláteis perdidos ao longo da concentração do suco de maracujá. Adicionalmente, ainda podem ter ocorrido reações de redução do hexanoato de hexila. De qualquer forma, a ausência dos citados ésteres na *water phase* do presente estudo, provavelmente, explica o fato de a mesma ter apresentado excessiva intensidade de aroma verde, em detrimento de aroma de maracujá (**Tabela 4**).

Jordán, Goodner e Shaw (2002) ao analisarem suco fresco e essência de maracujá amarelo encontraram, respectivamente, 62 e 34 compostos voláteis. Em ambas as amostras, os ésteres e álcoois foram os grupos majoritários. Na essência, dos ésteres encontrados em maiores concentrações (ppm), destacaram-se o butanoato de etila, propionato de etila, acetato de isoamila, hexanoato de etila e hexanoato de hexila. No suco, os ésteres majoritários foram o butanoato de etila, hexanoato de etila, 3-hidroxi-butanoato de etila e hexanoato de hexila. Os autores reportaram ter identificado pela primeira vez em maracujá dois ésteres, o lactato de etila, encontrado apenas no suco, e o malonato de dietila, encontrado apenas na essência. Esse último composto também foi identificado na *water phase* de maracujá do presente estudo. Desses ésteres mencionados, tanto na essência como no suco de maracujá, o butanoato de etila, o hexanoato de etila e o 3-hidroxi-butanoato de etila também estiveram presentes na *water phase* do presente estudo como componentes majoritários.

Todos os álcoois identificados na *water phase* de maracujá do presente estudo já foram previamente referenciados na literatura científica, embora nem sempre relacionados a aroma de frutas, tais como: o 1-butanol e o 2-metil-1-propanol (WHITFIELD; LAST, 1986; PINO, 1997; WERKHOFF *et al.*, 1998). Os álcoois alifáticos insaturados são importantes contribuintes para o aroma global do maracujá amarelo e geralmente são associados a percepções odoríferas de verde, floral e frutal (WERKHOFF *et al.*, 1998). Na *water phase* do presente estudo, quatro desses compostos foram identificados: 3-penten-2-ol, *cis* e *trans* 3-hexen-1-ol e *trans*-2-hexenol. O hexanol, presente na *water phase* como o composto de maior % de área possui nota verde e é mais rico na casca do que no suco da fruta. Assim, sua presença em alta proporção na *water phase* do presente estudo, pode ter ocorrido tanto devido à excessiva passagem do composto da casca para o suco durante o processo de extração (CHEN *et al.*, 1982) como à sua recuperação privilegiada no processo de obtenção da *water phase*. Esse álcool também foi encontrado como composto majoritário (em concentração) no suco de maracujá fresco analisado por Jordán, Goodner e Shaw (2002).

Os álcoois monoterpênicos, tais como, linalol e α -terpineol, geralmente apresentam aromas floral e doce e foram encontrados na *water phase* de maracujá do presente estudo como componentes majoritários. Esses compostos estão presentes em maracujá não na forma livre, mas na forma glicosídica e podem ser transformados em importantes componentes do aroma por reações químicas e enzimáticas. De acordo com Engel e Tressl (1983) há uma relação entre a degradação de precursores não voláteis (glicosídicos) e a liberação de componentes voláteis do aroma. Essas reações podem ser influenciadas por tratamento térmico como concentração e pasteurização. Para o linalol, Kuo e outros (1985) relataram um aumento na sua concentração após pasteurização do suco. Da mesma forma, Werkhoff e outros (1998) reportaram um acréscimo desse componente na amostra quando a técnica de extração-destilação simultânea foi utilizada para extrair os compostos do maracujá amarelo. A síntese desses compostos também pode ocorrer através da quebra de carotenóides (tetraterpenos). Pino, Boys e Roncal (1995) também encontraram linalol e α -terpineol como um dos principais componentes presentes na polpa do maracujá amarelo.

O álcool isobutanol foi um dos compostos majoritários encontrado na essência de maracujá analisada por Jordán, Goodner e Shaw (2002). Outros álcoois identificados em grandes concentrações nessa essência foram: octanol, linalol e geraniol. Esses compostos também estiveram presentes na *water phase* de maracujá do presente estudo, porém, nesta, o hexanol, o *cis*-3-hexen-1-ol e o linalol foram os álcoois com maiores % de área.

As cetonas identificadas na *water phase* de maracujá já foram previamente encontradas por outros autores em aroma do maracujá (NARAIN *et al.*, 2004; PINO; 1997; SHIBAMOTO; TANG, 1990; WERKHOFF *et al.*, 1998). A cetona cíclica ciclopentanona foi o terceiro volátil presente em maior % de área do cromatograma desta *water phase*. Esses compostos apresentam várias possíveis vias de formação. Experimentos com soluções-modelo de sacarose em solução aquosa de hidróxido de sódio, aquecida entre 115-160 °C por 30 minutos, demonstraram que as cetonas cíclicas formadas poderiam ser provenientes da pirólise da sacarose (ALVES

MOREIRA; TRUGO; De MARIA; 2000). Na *water phase* de maracujá também foi identificada a β -ionona, que é um componente com valor de *threshold* extremamente baixo, que apresenta odor semelhante a violeta. Em altas concentrações ela pode ser um contribuinte significativo para o aroma de um produto (PARLIMENT, 1972). Jordán, Goodner e Shaw (2002) relataram ter identificado pela primeira vez em aroma de maracujá amarelo a cetona 3-metil-2-butanona. Esses autores também encontraram na amostra do suco fresco de maracujá, a cetona 3-hidroxi-2-butanona como um dos compostos mais importantes. Essa cetona também foi identificada na *water phase* de maracujá do presente estudo.

Aldeídos de cadeia longa geralmente apresentam aroma agradável de frutas e flores sendo, via de regra, encontrados nos aromas das mesmas. Os aldeídos mais freqüentemente encontrados em maracujá são: hexanal, benzaldeído, furfural e 5-metilfurfural (CHEN *et al.*, 1982; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004; WINTER; KLÖT, 1972). Desses, os três primeiros também foram encontrados na presente *water phase* analisada. Geralmente no maracujá, o furfural é encontrado em pequenas quantidades. Entretanto, em alguns trabalhos como os de Pino, Boys e Roncal (1995) e o de Werkhoff e outros (1998) os autores verificaram que a concentração desse composto aumenta quando se submete a fruta ou o suco a tratamento térmico ou quando a técnica de extração dos voláteis emprega temperatura. Chen e outros (1982) não detectaram esse composto no *headspace* de suco de maracujá, no entanto, Jordán, Goodner e Shaw (2002) encontraram o furfural no suco fresco, porém, ele não foi detectado na essência do maracujá. Esses autores também reportaram ter identificado pela primeira vez em aroma do suco de maracujá amarelo o aldeído 5-hidroximetilfurfural. O maior número de aldeídos reportados em maracujá refere-se ao trabalho de Werkhoff e outros (1998) no qual os autores identificaram 14 aldeídos, dentre eles, segundo os autores, pela primeira vez em aroma de maracujá amarelo, o *cis*-3-hexenal, o *trans*-2-hexenal e o octanal. Esses três compostos foram também identificados na *water phase* do presente estudo.

Apenas dois ácidos foram encontrados na *water phase* de maracujá analisada: ácido hexanóico e ácido octanóico. Ambos já haviam sido identificados em maracujá amarelo por Winter e Klöt (1972), Casimir, Kefford e Whitfield (1981), Werkhoff e outros (1998) e por Jordán, Goodner e Shaw (2002) que encontraram em considerável quantidade na essência de maracujá, porém, apenas em traços no suco de maracujá. Ácido hexanóico tem sido também reportado como presente em várias frutas tropicais como cupuaçu (BOULANGER; CROUZET; 2000), manga (PINO; MESA, 2006), jenipapo (PINTO *et al.*, 2006) e murici (ALVES; FRANCO; 2003). Ainda assim, Chen e outros (1982) e Narain e outros (2004) utilizando a técnica de *headspace* em suas pesquisas sobre compostos voláteis presentes em maracujá, não identificaram nenhum ácido.

4.5. Voláteis de importância odorífera na *water phase* de maracujá

Cerca de 300 voláteis já foram identificados em maracujá (amarelo, roxo ou híbrido) em seu suco ou essência (CASIMIR *et al.*, 1981; CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983; ENGEL; TRESSL, 1991; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004; PINO; BOYS; RONCAL, 1995; SHIBAMOTO; TANG, 1990; WERKHOFF *et al.*, 1998; WHITFIELD; LAST, 1985; WINTER; KLÖTI, 1972). Contudo, dos trabalhos citados, apenas a pesquisa desenvolvida por Jordán, Goodner e Shaw (2002) acessou diretamente a importância odorífera dos voláteis identificados através de técnicas olfatométricas, neste caso as técnicas OGA e AEDA.

No presente trabalho, a importância odorífera de cada volátil presente no isolado da *water phase* de maracujá pode ser estimada comparando-se a **Figura 22A**, que apresenta o cromatograma da *water phase*, com a **Figura 22B**, que apresenta o respectivo aromagrama obtido através da técnica Osme. Na análise olfatométrica pela técnica Osme, são considerados de maior importância odorífera, os compostos que se apresentam no aromagrama (**Figura 22B**) como picos mais altos (de maior intensidade de odor) e/ou com maior área sob o pico olfatométrico. No presente trabalho, foram

considerados compostos de importância odorífera, aqueles que apresentaram intensidade máxima superior a 4,0, valor correspondente a metade do pico de maior intensidade de aroma (8,0) presente no efluente cromatográfico. Também foram considerados como voláteis de importância odorífera, aqueles compostos que apresentaram área próxima a 60, ou seja, metade do maior valor de área observado no cromatograma (120). Nas **Figuras 22A e 22B**, a numeração dos picos segue a mesma numeração utilizada na **Tabela 6**, tornando fácil verificar quais picos do cromatograma (**Figura 22A**) correspondem a voláteis de maior impacto odorífero no efluente cromatográfico, quais sejam: os picos mais altos e/ou os de maior área da **Figura 22B**.

Neste estudo, assim como em outros que utilizaram a técnica Osme (ALMEIDA, 2006; ALVES, 2004; GARRUTI *et al.*, 2003), os julgadores perceberam a presença de odores em regiões do cromatograma onde o DIC não detectou composto volátil. Essa ocorrência é comum a vários estudos CG-olfatométricos, e não só evidencia a baixa sensibilidade do DIC para vários compostos de importância odorífera, como mostra a importância de se acessar sensorialmente os efluentes cromatográficos em estudos sobre a química dos aromas. No aromagrama do presente estudo (**Figura 22B**), os voláteis não detectados pelo DIC foram identificados como picos associados a letras.

Comparando-se as **Figuras 22A e 22B**, verifica-se que, dos 110 picos detectados no cromatograma, apenas 35 correspondiam a voláteis de importância odorífera. Dos compostos majoritários presentes no cromatograma (**Figura 22A**), apenas o pico 8 (butanoato de etila) apresentou alta intensidade de impacto odorífero no efluente cromatográfico (**Figura 22B**). Porém, outros picos majoritários presentes no cromatograma, como o hexanoato de etila (pico 31) e o hexanol (pico 52), apesar de apresentarem impacto odorífero moderado e baixo, com intensidade de 4,7 e 2,6, respectivamente, também foram considerados compostos importantes para o aroma, pois além de apresentarem considerável área sob o pico e serem percebidos por um longo período de tempo, esses compostos apresentaram aroma de impacto positivo, descritos como cítrico, frutal, verde; e mato, azedinho. Já os compostos ciclopentanona (pico 23) e *trans*-2-hexenal (pico 29), apesar de apresentarem expressivas áreas no

cromatograma, o mesmo não ocorreu com a área sob o pico do aromagrama, além de ambos mostrarem baixo impacto odorífero, com intensidade de 1,2 e 2,1, respectivamente.

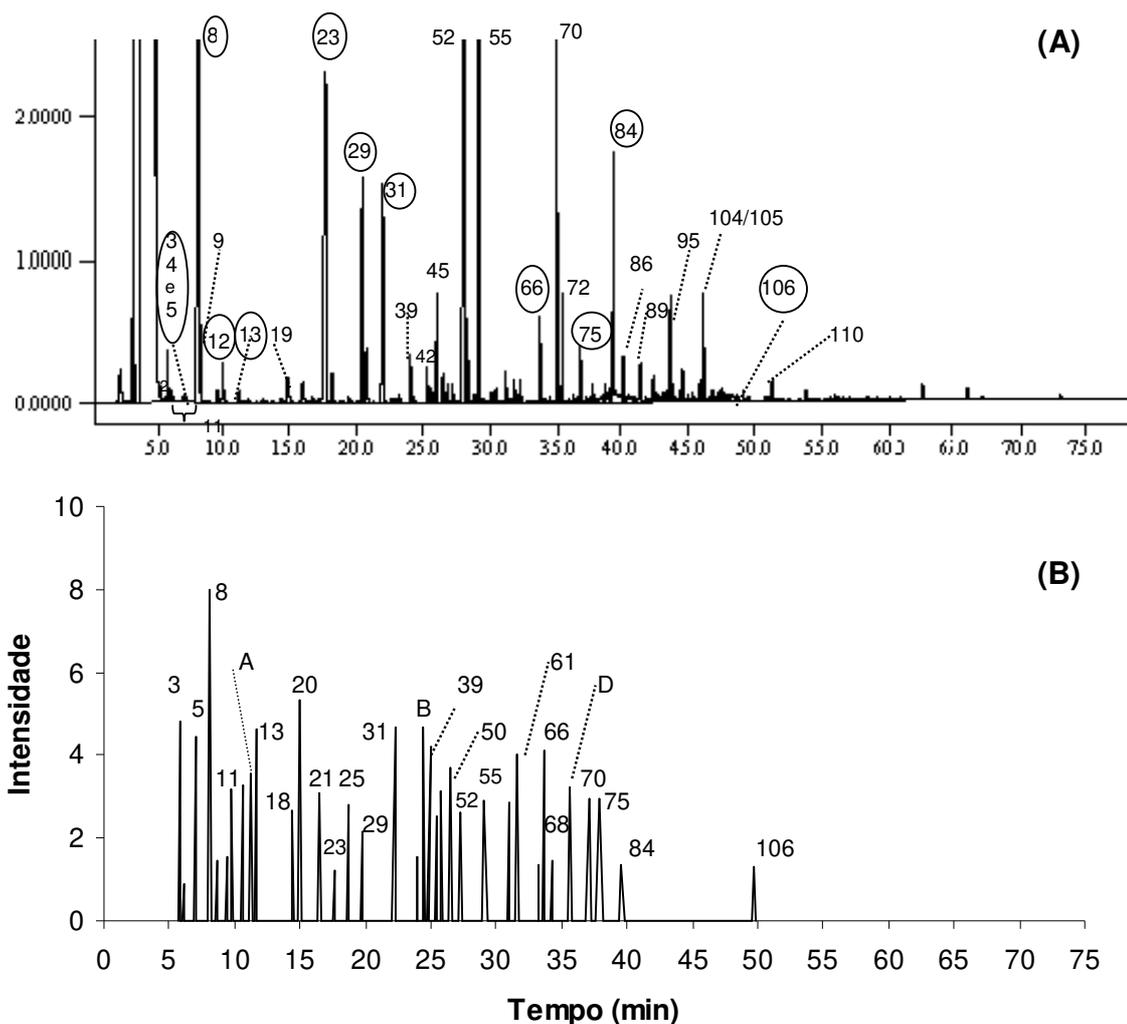


Figura 22. Cromatograma (A) e respectivo aromagrama consensual (B) da *water phase* de maracujá (n1= 4 julgadores, n2 = 3 repetições).

Por sua vez, picos detectados pelo DIC como compostos minoritários (**Figura 22A**) como, por exemplo, os picos 3, 5 e 11, correspondentes aos ésteres butanoato de metila (área de 0,01%), acetato de isobutila (área de 0,009%) e valerato de etila (área

de 0,01%), tratavam-se de voláteis que apresentaram impacto odorífero no efluente cromatográfico. O butanoato de metila e o acetato de isobutila foram detectados pelos julgadores com intensidades moderadas de 4,8 e 4,3, respectivamente, sugerindo que representam importantes compostos para o aroma global da *water phase* de maracujá analisada no presente estudo.

A **Tabela 7** apresenta os voláteis de importância odorífera para a *water phase* de maracujá, a intensidade média com que eles foram detectados no efluente cromatográfico pela equipe sensorial treinada e os termos utilizados pelos julgadores para descrever a qualidade de seus odores. Nessa tabela encontram-se também relacionados os índices de Kovats obtidos através das análises cromatográficas e olfatométricas, a área sob cada pico de odor e o tempo total de duração da percepção do compostos. A numeração dos picos segue a mesma numeração da **Tabela 6**.

A **Tabela 8** agrupa os compostos voláteis mais importantes encontrados na amostra de acordo com as classes dos aromas descritos pelos julgadores, mostrando também a intensidade odorífera média com que cada composto foi percebida pelos julgadores. Conforme pode ser verificado nas **Tabelas 7 e 8**, a maior parte dos termos utilizados pelos julgadores para descrever os voláteis eluídos no efluente cromatográfico da *water phase* refere-se a aromas de impacto positivos, descritos como: doce, frutal, floral e verde. Isso revela que a *water phase* de maracujá possuía muitos voláteis com odores agradáveis, apresentando notas aromáticas florais e frutais, sugerindo fortemente a viabilidade de seu uso para a elaboração de essências naturais GRAS, de alto valor agregado e de grande valia para a indústria de alimentos.

Na *water phase* de maracujá analisada na presente pesquisa, compostos de impacto negativo, tais como os álcoois butanol e isobutanol (descritos como fermentado, maria fedida, plástico), o éster acetato de isobutila (borracha, fio queimado, oil fusel) e os compostos carbonílicos furfural, benzaldeído e ciclopentanona (pó de café, amendoim torrado, grão torrado) também parecem apresentar significativo impacto no aroma global da *water phase* (**Tabela 7**). Isso demonstra a necessidade de se

otimizar o processo de destilação fracionada desta *water phase* na elaboração de uma essência natural a partir da mesma.

Em ordem decrescente de intensidade, os voláteis da *water phase* de maior importância odorífera (intensidade $\geq 4,0$) foram: butanoato de etila (descrito como frutas vermelhas, tutti-frutti, uva e detectado com intensidade média igual a 8,0 em uma escala de 10,0 cm), 3-hexenal (verde, grama, couve, capim; 5,3), butanoato de metila (doce, frutal, cítrico doce; 4,8), hexanoato de etila (descritores; 4,7), pico B, não detectado pelo DIC (grão torrado, pó de café, alho cru; 4,7), isobutanol (oil fusel, fermentado, plástico; 4,6), acetato de isobutila (borracha, fio queimado, plástico; 4,4), acetato de hexila (verde, fruta verde, desinfetante; 4,2), benzaldeído (pó de café, café torrado; 4,1) e furfural (amendoim torrado; 4,0).

Dentre os compostos descritos com notas frutais e doces, os que apresentaram maior importância odorífera foram (**Tabelas 7 e 8**): o butanoato de etila (pico 8, com intensidade média igual a 8,0), que foi o composto odorífero de maior impacto encontrado na *water phase* de maracujá e descrito como frutas vermelhas, tutti-frutti e uva; o hexanoato de etila (pico 31, 4,7), descrito como cítrico, frutal e marolo; o butanoato de metila (pico 3, 4,8), descrito como doce, frutal e tutti-frutti.

Dos compostos descritos com notas verdes/frescor, os de maior impacto odorífero foram (**Tabelas 7 e 8**): o aldeído 3-hexenal (pico 20, 5,3), que foi o segundo mais potente volátil odorífero encontrado na *water phase* e descrito como verde, mato, couve e capim, e o éster acetato de hexila (pico 39, 4,2), descrito como fruta verde, verde e desinfetante de limão.

No presente trabalho, também merecem destaques como compostos odoríferos, o valerato de etila (frutal, floral, maracujá; 2,7), o hexanoato de metila (frutal, maracujá, adocicado; 2,8) e o ácido octanóico (maracujá, suor; 1,3), pois apesar de apresentarem baixo impacto odorífero no efluente cromatográfico, foram descritos como possuindo aroma similar a maracujá, frutal, floral e doce.

Tabela 7. Voláteis de importância odorífera para a *water phase* de maracujá, intensidade com que foram detectados no efluente cromatográfico e termos utilizados pelos julgadores para descrever a qualidade de seus odores.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a Crom	I _{EXP} ^b Osme	I máx	Área (Aromag)	T total (seg)	Termos descritores do odor e número de vezes citado
3	butanoato de metila ^d	<1000	<1000	4,80	24,82	0,13	doce(3), frutal (3), alcoolico, tutti-frutti, cítrico doce,
4	acrilato de etila ^d	<1000	<1000	0,90	2,79	0,07	cândida (2), cloro
5	acetato de isobutila ^d	1009	1020	4,43	35,98	0,18	borracha (2), fio queimado (2), plástico, oil fusel
8	butanoato de etila ^d	1037	1043	8,00	120,40	0,34	Frutas vermelhas, tutti-frutti, picolé de uva
9	NI	1042	1054	1,47	5,30	0,08	frutal (2), doce, bala, frutas vermelhas
10	2,3 pentanediona ^d	traços	1068	1,53	9,98	0,11	frutal, frutas vermelhas
11	acetato de butila ^d	1069	1074	3,17	14,69	0,10	grama (2), verde, hortelã, erva doce, frutal
12	hexanal ^d	1075	1088	3,25	35,11	0,22	grama, mato molhado, mato
A	ND	—	1098	3,54	22,13	0,16	pó de café, café, mato com café
13	isobutanol ^d	1094	1104	4,61	55,09	0,25	oil fusel, álcool isoamílico (fermentado), plástico (2), fio queimado
18	valerato de etila ^d	1140	1143	2,68	19,10	0,17	banana, frutal, floral, maracujá, melão
20	<i>cis</i> -3-hexenal ^d	1159	1150	5,33	84,91	0,32	verde (3), grama, couve, capim, mato
21	butanol ^d	1159	1167	3,06	35,30	0,25	Maria fedida, cândida, oil fusel, fermentado
23	ciclopentanona ^d	1178	1179	1,22	5,85	0,11	tostadinho, grão, torrado
25	hexanoato de metila ^d	1189	1190	2,81	12,52	0,11	frutal (3), maracujá, adocicado
29	<i>trans</i> -2-hexenal ^d	1208	1200	2,14	13,38	0,14	sauna, eucalipto, verde, mato, erva, tempero
31	hexanoato de etila ^d	1239	1248	4,68	76,55	0,33	cítrico, frutal (2), marolo (fruta), verde
36	pentanol ^d	1261	1279	1,55	6,81	0,09	frutal (banana, mamão), esmalte (suave), doce
B	ND	—	1286	4,65	36,12	0,17	grão torrado, pó de café, pão tostado, alho (cru) com café
39	acetato de hexila ^d	1275	1294	4,21	29,52	0,14	verde (galho), fruta verde, verde, desinfetante, Maria fedida
40	3-hidroxi-2-butanona ^d	1278	1303	2,52	19,55	0,17	ardido, madeira, mofo

Tabela 7. (Continuação) Voláteis de importância odorífera para a *water phase* de maracujá, intensidade com que foram detectados no efluente cromatográfico e termos utilizados pelos julgadores para descrever a qualidade de seus odores.

Pico	Composto	I _{EXP} ^a Crom	I _{EXP} ^b Osme	I máx.	Área (Aromag)	T total (seg)	Termo descritor e frequência ^c do aroma
46	NI	1326	1314	3,14	21,02	0,18	grão torrado, corn flakes (2), tostadinho, amendoim
50	óxido de rosa ^d	traços	1332	3,71	38,96	0,26	mamão, creme torta holandesa, baunilha, frutal, doce, esmalte
52	hexanol ^d	1365	1349	2,61	56,65	0,36	desinfetante de limão, mato, azedinho
55	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol ^e	1388	1391	2,89	59,58	0,45	borracha (2), plástico (2)
C	ND	—	1441	2,83	19,15	0,18	pó de café (2), café (2), grão torrado, tostado
61	furfural	1458	1460	4,03	57,43	0,34	amendoim torrado (2)
64	<i>trans</i> -óxido de linalol ^d	1471	1506	1,35	5,19	0,09	floral/mamão
66	benzaldeído ^d	1512	1517	4,12	38,27	0,20	pó de café (2), café torrado
68	3-hidroxi-butanoato de etila ^d	1526	1536	1,47	8,14	0,12	grama, Maria fedida, verde, cânfora
D	ND	—	1578	3,23	71,47	0,37	seco, poeria (2), terra (2)
70	linalol ^d	1553	1625	2,96	40,23	0,43	mamão, cítrico doce, mamão verde, perfume
75	terpinen-4-ol ^d	1602	1652	2,96	95,49	0,59	frutal, banana, perfume, lavanda, mamão
84	<i>alfa</i> -terpineol ^d	1700	1709	1,37	32,81	0,46	flor, perfume doce, mamão
106	ácido octanóico ^d	2063	2094	1,32	13,14	0,22	maracujá, suor

I máx.=intensidade máxima do odor percebido (0= fraco; 10=forte)

a:Índice de Kovats experimental obtido durante a corrida cromatográfica

b: Índice de Kovats experimental obtido durante a corrida olfatométrica, considerando o tempo de intensidade máxima

c: Frequência= número de vezes que o composto foi citado pelos 4 julgadores

NI: Composto não identificado

ND: composto não detectado pelo DIC

d: composto identificado por espectro de massas e índice de Kovats.

e: composto tentativamente identificado (por espectro de massas somente).

Entre os voláteis que apresentaram notas torradas no efluente cromatográfico, os de maior impacto odorífero foram (**Tabelas 7 e 8**): os aldeídos furfural (pico 61, 4,0), descrito como amendoim torrado, o benzaldeído (pico 66, 4,2), descrito como pó de café e café torrado, além de um composto (B) não detectado pelo DIC (IK=1286), porém, percebido no efluente cromatográfico com intensidade média igual a 4,7 e descrito como grão torrado, pó de café e alho cru.

Tabela 8. Principais compostos voláteis odoríferos presentes na *water phase* de maracujá, detectados pela técnica Osme (n = 4 julgadores treinados).

Termos descritores do aroma	Compostos e intensidade odorífera
<p><i>Frutal/Floral</i> Mamão, uva, maracujá, banana, frutas vermelhas, perfume, lavanda, doce, baunilha.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • butanoato de etila (8,0) e de metila (4,8); • hexanoato de etila (4,7) e metila (2,8); • óxido de rosa (3,7); • linalol (3,0).
<p><i>Verde/Frescor</i> Verde, grama, mato, hortelã, cânfora, erva-doce, eucalipto, capim, mato molhado, sauna.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 3-hexenal (5,3); • acetato de hexila (4,2) e de butila (3,2); • hexanal (3,3); • acetato de butila (3,2); • hexanol (2,6).
<p><i>Torrados</i> Café torrado, amendoim torrado, pão tostado, grão torrado, corn flakes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • benzaldeído (4,1), • furfural (4,0); • B (IK = 1286) (4,7); • A (IK = 1098) (3,5); • NI (IK = 1314) (3,4).
<p><i>Outras</i> Cândida, borracha, fio queimado, plástico queimado, fermentado, mofo, ardido, suor.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Isobutanol (4,6); • acetato de isobutila (4,4); • butanol (3,1), <i>cis</i>-3-hexen-1-ol (2,9); • acetoína (2,5).

A e B = compostos não detectados pelo DIC
NI = composto não identificado

Dos compostos que apresentaram impacto odorífero negativo na *water phase*, os de maior intensidade odorífera, segundo a percepção da equipe sensorial, foram (**Tabelas 7 e 8**): o éster acetato de isobutila (pico 5, 4,4) e o álcool isobutanol (pico 13, 4,6), ambos descritos como fio queimado, álcool amílico (oil fusel), plástico queimado e borracha.

Na *water phase* de maracujá, ainda existem dois grupos de compostos que merecem ser comentados, a despeito de terem mostrado baixo impacto odorífero no efluente cromatográfico. Trata-se dos compostos que estão presentes com grande área no aromagrama (**Figura 22A**), tendo sido percebidos no efluente com baixa intensidade de odor, porém, por um longo período de tempo. É possível que esses voláteis representem importantes contribuintes para o aroma global da *water phase*, pois a baixa intensidade com que foram percebidos pode advir tanto de um baixo limiar de detecção (*threshold*), como de um efeito de diluição do composto durante sua eluição. Entre eles destacam-se (**Tabela 7**): o óxido de rosa (pico 50, 3,8) descrito como mamão, doce, frutal e baunilha, o hexanal (pico 12, 3,3) descrito como grama e mato, o terpinen-4-ol (pico 75, 3,0) descrito como frutal, banana, perfume, lavanda e mamão, o linalol (pico 70, 2,9) descrito como mamão, cítrico doce, perfume, o hexanol (pico 52, 2,6) descrito como desinfetante de limão, mato e azedinho e o *cis*-3-hexen-1-ol (pico 55, 2,9) descrito como plástico e borracha.

Comparando-se os resultados da equipe sensorial que avaliou a *water phase* de maracujá (**Tabela 4**) com os resultados da equipe sensorial que avaliou o efluente cromatográfico dessa *water phase* (**Tabelas 7 e 8**), nota-se grande similaridade entre esses dois conjuntos de dados. Dos 35 voláteis odoríferos percebidos pela equipe sensorial treinada no efluente cromatográfico da *water phase* de maracujá (**Tabela 7**), 14 deles (47%) foram descritos como notas frutal, floral e doce. Esse resultado correlaciona-se ao da equipe sensorial que avaliou a *water phase* de maracujá (**Tabela 4**), onde em 40% das vezes, os julgadores utilizaram os mesmos termos descritores (doce, frutal, floral) para descrever o aroma da mesma. Similarmente, os compostos com notas verde/frescor encontrados pela equipe olfatométrica perfizeram,

aproximadamente, 22% do total dos compostos odoríferos (**Tabelas 7 e 8**). Este valor foi muito próximo a proporção de termos como verde, ou frescor, que foram utilizados pela equipe sensorial (27%) para descrever o aroma da *water phase* (**Tabela 4**).

Comparando-se os resultados do presente estudo com aqueles reportados por outros pesquisadores, verifica-se que a maioria dos voláteis encontrados na presente pesquisa já havia sido identificada previamente no maracujá amarelo (CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004; PINO; BOYS; RONCAL, 1995; WERKHOFF *et al.*, 1998). Entretanto, dentre todos os trabalhos citados, apenas no de Jordán, Goodner e Shaw (2002) a importância odorífera dos voláteis foi acessada por técnica CG-olfatométrica, ao invés de ter sido estimada por meios indiretos e suposições fundamentadas em informações bibliográficas.

Pino, Boys e Roncal (1995), considerando a concentração dos voláteis presentes na polpa de maracujá amarelo e em dados sensoriais levantados na literatura científica, reportaram que os ésteres hexanoato de etila e butanoato de hexila (geralmente descritos na literatura como possuindo aroma frutal e floral) e os terpenos linalol e α -terpineol (aroma floral e doce) eram os voláteis mais importantes para o aroma tanto da polpa integral como da polpa pasteurizada de maracujá. Na *water phase* de maracujá deste estudo, de fato, o hexanoato de etila mostrou ser um composto de razoável impacto odorífero (intensidade 4,7), porém, o éster butanoato de hexila não foi percebido pelos julgadores. Por sua vez, os álcoois terpenos α -terpineol (1,4) e linalol (3,0) foram percebidos pelos julgadores com intensidade odorífera entre baixa e moderada, não se encontrando entre os mais importantes voláteis para o aroma da *water phase*. Entretanto, conforme anteriormente mencionado, o α -terpineol e o linalol estiveram presentes na *water phase* de maracujá em grande % de área (**Figura 22A**), indicando que poderiam ser compostos relevantes para o aroma da mesma, a despeito da equipe sensorial ter percebido esses compostos entre intensidade baixa e moderada (**Figura 22A, Tabelas 7 e 8**). Assim, os resultados, de modo geral, apresentam grande concordância com os reportados por Pino, Boys e Roncal (1995). As divergências entre

esses dois trabalhos podem ser atribuídas a: i) diferenças entre as amostras analisadas: enquanto o presente estudo analisou uma *water phase* de maracujá, o estudo de Pino, Boys e Roncal (1995), analisou a polpa da fruta; ii) no presente estudo, a importância odorífera dos voláteis foi diretamente acessada através de técnica olfatométrica (Osme), o que não ocorreu no trabalho de Pino, Boys e Roncal (1995). Outra conclusão importante obtida a partir da comparação entre os dois trabalhos mencionados é que a *water phase* de maracujá analisada neste estudo realmente parece apresentar voláteis importantes, associados ao aroma de maracujá, sugerindo assim, que a mesma pode ser utilizada com sucesso como matéria-prima para a elaboração de essência de maracujá.

Dos 15 compostos reportados por Casimir, Kefford e Whitfield (1981) como de maior importância para o aroma do suco de maracujá roxo, 11 estavam presentes na *water phase* analisada nesse estudo. Esses autores avaliaram a importância odorífera desses compostos utilizando-se dos conceitos de “unidade de odor”. Assim, estabeleceram regressões lineares para os 15 compostos, relacionando o aumento da intensidade do aroma com o aumento da sua concentração. A inclinação da reta associada ao modelo de regressão para cada composto foi denominada pelos pesquisadores de “*flavor impact value*”. Com essas considerações, a contribuição de cada composto dependia tanto da sua concentração, como do valor do seu “*flavor impact*”. Com base nesses critérios, os autores concluíram que a importância odorífera dos voláteis presentes em maracujá roxo decrescia na seguinte ordem: butanoato de *cis*-hex-3-enila, butanoato de hexila, β -ionona, Edulan I, linalol, hexanoato de etila, 2-heptanol, *cis*-3-hexenol, hexanol, óxido de rosa e butanoato de metila. Esses resultados aproximam-se bastante dos encontrados no presente estudo, pois metade dos compostos citados pelos autores como de maior importância odorífera, de fato, foram percebidos pelos julgadores da presente pesquisa como de alta importância odorífera no efluente cromatográfico da *water phase* de maracujá. Porém, a ordem de importância odorífera desses compostos na *water phase* difere daquela sugerida por Casimir, Kefford e Whitfield (1981), sendo que, dos compostos por eles citados, o butanoato de metila foi o de maior importância odorífera na *water phase*, seguido pelo

hexanoato de etila, o óxido de rosa, o linalol, o *cis* 3-hexenol e o hexanol. As inconsistências entre os resultados dos dois estudos foram pequenas, principalmente se considerarmos as: i) diferenças entre as amostras analisadas -enquanto o presente estudo analisou uma *water phase* de maracujá, o estudo de Casimir, Kefford e Whitfield (1981) analisou o suco da fruta; ii) diferenças entre os varietais estudados -enquanto o presente estudo analisou uma *water phase* de maracujá amarelo, o estudo de Casimir, Kefford e Whitfield (1981), analisou o suco de maracujá roxo; iii) diferenças metodológicas de quantificação da importância odorífera dos voláteis -enquanto Casimir, Kefford e Whitfield (1981) utilizaram os conceitos de “unidade de odor” para avaliar a importância odorífera dos voláteis, o presente estudo acessou diretamente a importância odorífera de cada composto no efluente cromatográfico através da técnica CGO Osme (DA SILVA; LUNDAHL; MCDANIEL, 1994; DA SILVA, SAMPAIO, BERTOLINI; 2004; VAN RUTH; O’CONNOR, 2001).

Em um dos poucos estudos que acessaram diretamente a importância odorífera dos voláteis de maracujá, Jordán, Goodner e Shaw (2002) utilizaram tanto as técnicas olfatométricas de *OGA (Olfatometric Global Analysis)* como AEDA. Nos resultados gerados pela análise olfatométrica *OGA*, os autores consideraram como compostos de maior importância odorífera, aqueles detectados no efluente cromatográfico por todos os julgadores em todas as repetições. Assim, na essência de maracujá, dentre os 54 compostos reportados pelos autores como contribuintes para o aroma total da amostra, os de maior importância odorífera foram: acetal (descrito como doce, fruta tropical), acetato de isobutila (ácido, frutal), butanoato de etila (frutal, bala de morango), lactato de etila (cebola, borracha), ácido hexanóico (pesticida e pungente), octanol (casca de batata, fósforo queimado), linalol (doce, floral), acetato de benzila (mentol, madeira, mel) e hexanoato de 2-metil-butila (suor excessivo). Desses nove compostos, apenas três não foram identificados na *water phase* de maracujá do presente estudo, quais sejam: acetal, lactato de etila e hexanoato de 2-metil-butila. Nota-se que, desses três voláteis, apenas o primeiro apresentou impacto odorífero desejável. Dos seis compostos restantes, três também mostraram impacto odorífero no efluente cromatográfico: o butanoato de etila (com intensidade 8,0), descrito como frutas

vermelhas, tutti-frutti, uva, o acetato de isobutila (4,3), descrito como borracha, fio queimado, oil fusel e o linalol (3,0), descrito como mamão, perfume e cítrico doce. Esses resultados sugerem, uma vez mais, que a *water phase* de maracujá estudada apresenta grande potencial como matéria-prima para a elaboração de essência natural dessa fruta.

Para o suco de maracujá, ainda segundo os resultados obtidos através da técnica CG-olfatométrica OGA, Jordán, Goodner e Shaw (2002) ordenaram de forma decrescente em importância para o aroma da amostra, os seguintes compostos: 2-pentanona (descrito como plástico queimado, pungente), acetato de isobutila (solvente e plástico), butanoato de etila (frutal, bala de morango), lactato de etila (cebola, borracha), 1,3 dimetil benzeno (óleo, noz, fritura), hexanoato de etila (anis, fruta madura), álcool benzílico (semente de girassol, herbal), octanol (casca de batata, fósforo queimado), hexanoato de 3-hidroxi etila (floral, maracujá, frutal) e hexanoato de 2-metil butila (suor excessivo). Comparando os resultados reportados por Jordán, Goodner e Shaw (2002) com os do presente estudo, dos 10 voláteis odoríferos mais importantes identificados pelos autores, apenas três deles não foram identificados na *water phase* do presente estudo, quais sejam: lactato de etila, 1,3-dimetil-benzeno e hexanoato de 2-metil butila. Dos 7 compostos restantes, quatro não apresentaram impacto odorífero no efluente cromatográfico da *water phase*: 2-pentanona, álcool benzílico, octanol e hexanoato de 3-hidroxi etila. Assim, dos 10 voláteis mais importantes para o suco de maracujá, segundo os resultados de Jordán, Goodner e Shaw (2002), 3 voláteis mostraram também impacto odorífero entre alto e moderado no isolado da *water phase* do presente estudo: butanoato de etila (apresentando intensidade 8,0 no efluente cromatográfico), hexanoato de etila (4,7) e acetato de isobutila (4,4) (**Figura 22B**).

Por outro lado, quando Jordán, Goodner e Shaw (2002) utilizaram os resultados gerados por AEDA para acessar os voláteis de importância para o aroma da essência de maracujá, o volátil odorífero que apresentou o maior valor de FD, ou seja, maior impacto odorífero sobre a amostra, foi o éster hexanoato de 2-metil-butila, FD= 2187,

descrito como suor excessivo. Outros compostos que apresentaram alto valor FD foram: o hexanoato de hexila (FD= 729, pêssego, ameixa), o linalol (FD= 729 doce, frutal, floral), o 2-heptanol (FD= 243, purê de batata, oleoso) e o hexanoato de etila (FD= 243, anis, fruta madura). Desses cinco compostos mencionados pelos autores, o linalol, o 2-heptanol e o hexanoato de etila também foram detectados na *water phase* de maracujá do presente estudo, porém, entre eles, somente o linalol (3,0), descrito como cítrico doce, mamão, perfume e o hexanoato de etila (4,7), descrito como cítrico, frutal, marolo apresentaram importância odorífera.

Quando Jordán, Goodner e Shaw (2002) utilizaram os resultados gerados por AEDA para acessar os voláteis de importância para o aroma do suco de maracujá, o hexanoato de 2-metil-butila (descrito como suor excessivo) e o 1,3 dimetil benzeno (óleo, fritura, noz) foram os mais importantes, com valor de FD=2187. Três compostos também considerados de impacto odorífero, todos apresentando valor FD=729, foram o furfural (alho, mofo, borracha), o ácido hexanóico (pesticida, pungente) e o álcool fenetila (talco, frutal, floral). Desses cinco compostos de importância odorífera citados por esses autores, o furfural e o ácido hexanóico foram também identificados na *water phase* analisada neste estudo, porém, somente o furfural (4,0) apresentou importância odorífera, sendo que seu aroma foi descrito pelos julgadores como similar a amendoim torrado.

Os únicos compostos que receberam importância odorífera similar através de OGA e AEDA segundo Jordán, Goodner e Shaw (2002) ao acessarem a essência de maracujá foram o hexanoato de 2-metil-butila e o linalol. Para o suco, os compostos considerados similarmente importantes pelas duas técnicas foram o hexanoato de 2-metil-butila e 1,3 dimetil benzeno. De forma geral, nos estudos de Jordán, Goodner e Shaw (2002) o único composto de impacto odorífero encontrado pelas duas técnicas, nos dois tipos de amostra (essência e suco), foi o éster hexanoato de 2-metil-butila, descrito como suor excessivo. Assim, as inconsistências encontradas por esses autores entre os resultados gerados por AEDA e OGA na análise da essência e do suco de maracujá parecem ser maiores que aquelas observadas com relação aos resultados do

presente estudo que, de modo geral, podem ser explicadas pela diferença entre as amostras analisadas e as diferenças entre as técnicas CG-olfatométricas empregadas. Enquanto aqueles autores analisaram essência e suco fresco de maracujá e utilizaram as técnicas OGA (que se baseia na frequência de detecção de um composto no efluente cromatográfico pelos julgadores) e AEDA (que se baseia em diluições sucessivas da amostra), o produto do presente estudo foi uma *water phase* coletada durante o processo de concentração do suco, empregando-se a técnica Osme, uma técnica tempo-intensidade, que avalia a intensidade odorífera e o tempo de percepção de cada composto no efluente cromatográfico.

De modo geral, o presente estudo sobre a *water phase* de maracujá, acessando diretamente a importância odorífera dos voláteis isolados da amostra, gerou resultados que confirmam aqueles reportados por vários outros pesquisadores (CASIMIR KEFFORD; WHITFIELD, 1981; CHEN *et al.*, 1982; ENGEL; TRESSL, 1983; ENGEL; TRESSL, 1991; JORDÁN; GOODNER; SHAW, 2002; NARAIN *et al.*, 2004; PINO; BOYS; ROCAL, 1995; SHIBAMOTO; TANG, 1990; WERKHOFF *et al.*, 1998; WHITFIELD; LAST, 1985; WINTER; KLÖTI, 1972). Esses resultados indicaram que compostos voláteis considerados nesta e em outras pesquisas como importantes contribuintes para o aroma global do suco de maracujá, tais como butanoato de metila, butanoato de etila, hexanal, valerato de etila, hexanoato de metila, hexanoato de etila, óxido de rosa, linalol e α -terpineol foram encontrados na *water phase* de maracujá analisada no presente estudo. Isso denota que *water phases* geradas por empresas brasileiras podem ser subprodutos com grande potencial para a produção de essência natural de maracujá, a qual, por sua vez, possui alto valor agregado e, juntamente com o suco concentrado, pode vir a ser importante fonte de lucros para as empresas brasileiras. Um próximo desafio, seria então otimizar as condições de processamento dessas *water phases*, para a obtenção de essências de maracujá de alta qualidade e poder odorífero.

4.6. Consenso dos julgadores sobre a importância odorífera dos voláteis da *water phase*.

A **Figura 23** apresenta os aromagramas médios de cada um dos quatro julgadores, que avaliaram os efluentes cromatográficos do isolado da *water phase* de maracujá.

Conforme pode ser observado tanto na **Figura 23** como na **Tabela 9**, o número de compostos odoríferos detectados variou consideravelmente entre os julgadores. Enquanto o julgador 1 percebeu 31 picos odoríferos no isolado da *water phase* de maracujá, o julgador 2, de maior sensibilidade odorífera, percebeu 50 picos odoríferos; o julgador 3 percebeu 42 picos e o julgador 4, o de menor sensibilidade odorífera, percebeu 26 voláteis odoríferos. Assim, o julgador 2, apresentou o melhor desempenho (**Tabela 9**), detectando o maior número de compostos, e discriminando-os em termos de intensidades entre os valores 1,0 (fraco) e 8,5 (forte). Esse julgador também mostrou grande sensibilidade para os voláteis que eluíram após 45 minutos de corrida cromatográfica ($IK > 2100$). Esses compostos não puderam ser identificados devido a baixa resolução dos picos no espectro de massas. De fato, muitos dos compostos que eluíram nesse intervalo de tempo de retenção não foram detectados pelo DIC (**Tabela 6**).

Os 4 julgadores apresentaram semelhante sensibilidade olfatória para os compostos que eluíram até o tempo de retenção de 13 minutos ($IK \cong 1100$). Esses compostos foram identificados como sendo: butanoato de metila, acrilato de etila, acetato de isobutila, butanoato de etila, composto NI ($IK \cong 1042/1054$), 2,3-pentanediona, acetato de butila, hexanal, composto ND ($IK \cong 1098$) e isobutanol. Por sua vez, os julgadores 1, 2 e 4 apresentaram baixa acuidade olfatória para detectar os compostos eluídos no intervalo entre os tempos de 13 e 15 minutos. Nesse intervalo, um composto odorífero foi percebido pelo julgador 3. Esse volátil apresentou índice de Kovats aproximado entre 1100 a 1140. Os compostos encontrados em CG-EM nesse intervalo de retenção foram: carbonato de etila, 2 compostos NI e o 2-pentanol. De modo geral,

os 4 julgadores apresentaram acuidade olfatória muito similar para aos compostos que eluam até o tempo de retenção de 40 minutos. A grande diferença de acuidade do julgador 2 com relação aos demais em perceber maior número de odores ocorreu para os compostos que eluam após 40 minutos de separação cromatográfica.

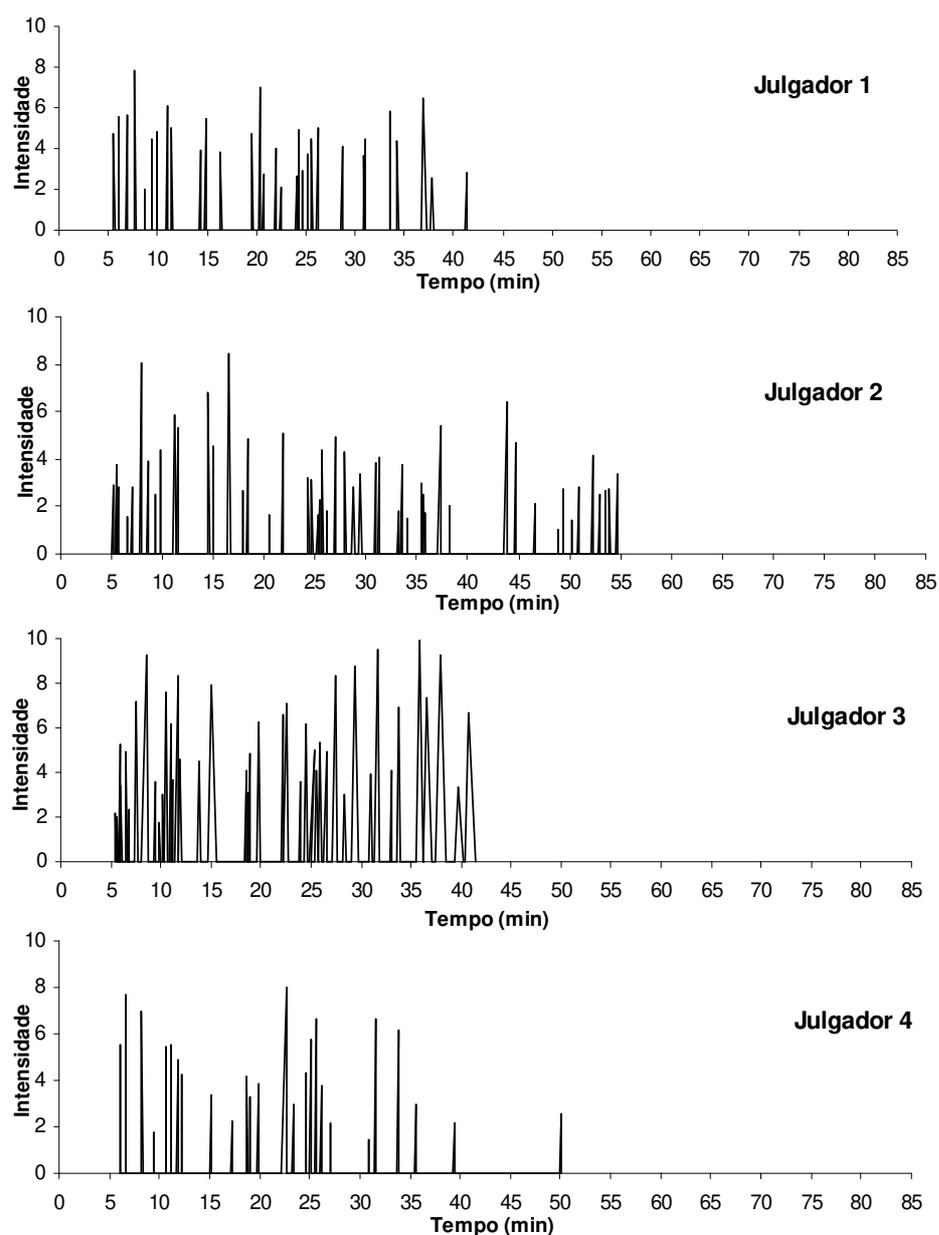


Figura 23. Aromagramas médios de cada julgador gerados pela técnica Osme (n= repetições/julgador).

Tabela 9. Ordenação dos compostos voláteis em valor decrescente de importância odorífera percebidos individualmente pelos julgadores através da técnica Osme

	<i>Julgador 1</i>	<i>Julgador 2</i>	<i>Julgador 3</i>	<i>Julgador 4</i>
49	Butanoato de etila (7,81 ± 0,54)	Butanol (8,45 ± 1,68)	NI (IK = 1587) (9,0 ± 0,11)	Hexanoato de etila (8,03 ± 0,37)
	IK = 1212 (6,98 ± 2,19)	Butanoato de etila (8,03 ± 1,68)	Furfural (9,0 ± 0,86)	Acetato de isobutila (7,69 ± 2,01)
	Linalol (6,46 ± 0,82)	Valerato de etila (6,81 ± 1,44)	4-terpineol (9,0 ± 1,28)	Butanoato de etila (6,94 ± 1,33)
	IK = 1094 (6,11 ± 0,81)	IK = 1862 (6,38 ± 2,89)	Butanoato de etila (9,0 ± 1,05)	Furfural (6,62 ± 2,66)
	Benzaldeído (5,81 ± 1,09)	IK = 1097 (5,83 ± 5,15)	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol (8,75 ± 1,08)	IK = 1309 (6,61 ± 1,13)
	IK = 1017 (5,61 ± 0,99)	Linalol (5,38 ± 4,76)	Hexanol (8,33 ± 2,33)	IK = 1523 (6,15 ± 1,25)
	IK < 1000 (5,57 ± 1,08)	Isobutanol (5,30 ± 1,10)	Isobutanol (8,29 ± 1,83)	Acetato de hexila (5,74 ± 2,14)
	3-hexenal (5,49 ± 0,55)	IK = 1240 (5,06 ± 2,80)	3-hexenal (7,93 ± 1,90)	Butanoato de metila (5,54 ± 1,87)
	ND (IK = 1100) (5,04 ± 0,90)	Óxido de rosa (4,92 ± 2,34)	Hexanal (7,56 ± 1,21)	ND (IK = 1096) (5,49 ± 0,82)
	Óxido de rosa (5,00 ± 0,23)	Hexanoato de metila (4,86 ± 0,27)	IK = 1605 (7,37 ± 1,06)	Hexanal (5,44 ± 0,72)
	ND (IK = 1284) (4,89 ± 1,10)	IK = 1895 (4,68 ± 1,21)	Acetato de isobutila (7,16 ± 2,33)	Isobutanol (4,86 ± 4,21)
	Acetato de butila (4,81 ± 1,20)	3-hexenal (4,53 ± 0,80)	IK = 1253 (7,07 ± 2,33)	ND (IK = 1289) (4,33 ± 1,37)
	E-2-hexenal (4,75 ± 0,82)	ND (IK = 1311) (4,34 ± 2,56)	Benzaldeído (6,94 ± 1,63)	IK = 1113 (4,21 ± 4,28)
	Butanoato de metila (4,72 ± 0,88)	Acetato de butila (4,34 ± 0,70)	IK = 1750 (6,67 ± 5,77)	IK = 1190 (4,19 ± 1,56)
	IK = 1068 (4,48 ± 2,02)	IK = 1365 (4,29 ± 1,19)	Hexanoato de etila (6,62 ± 0,70)	Trans-2-hexenal (3,81 ± 3,79)
	ND (IK = 1309) (4,46 ± 0,67)	IK = 2197 (4,16 ± 1,22)	IK = 1201 (6,21 ± 0,79)	ND (IK = 1321) (3,76 ± 3,26)
NI (ik = 1444) (4,42 ± 0,26)	IK = 1451 (4,03 ± 3,82)	ND (IK = 1288) (6,20 ± 0,91)	3-hexenal (3,38 ± 2,94)	

Tabela 10. (continuação) Ordenação dos compostos voláteis em valor decrescente de importância odorífera percebidos individualmente pelos julgadores através da técnica Osme

	<i>Julgador 1</i>	<i>Julgador 2</i>	<i>Julgador 3</i>	<i>Julgador 4</i>
OS	3-hidroxi-butanoato de etila (4,39 ± 1,64)	NI (IK = 1053) (3,89 ± 1,10)	IK = 1094 (6,18 ± 2,07)	Hexanoato de metila (3,28 ± 0,58)
	IK = 1383 (4,11 ± 2,03)	NI (IK = 1441) (3,79 ± 0,90)	IK = 1314 (5,34 ± 5,01)	IK = 1577 (2,95 ± 3,17)
	Hexanoato de etila (4,05 ± 2,48)	Benzaldeído (3,73 ± 1,12)	Acrilato de etila (5,22 ± 1,61)	IK = 1268 (2,94 ± 0,83)
	Valerato de etila (3,92 ± 0,25)	Butanoato de metila (3,72 ± 1,05)	Acetato de hexila (5,03 ± 1,71)	Ácido octanóico (2,55 ± 2,66)
	Butanol (3,79 ± 3,30)	IK = 2304 (3,37 ± 2,96)	IK = 1007 (4,92 ± 1,08)	Ciclopentanona (2,26 ± 2,16)
	Acetoína (3,72 ± 1,04)	IK = 1400 (3,35 ± 1,36)	Óxido de rosa (4,91 ± 4,32)	Alfa-terpineol (2,17 ± 2,30)
	NI (IK = 1441) (3,63 ± 3,27)	ND (IK = 1284) (3,19 ± 2,76)	IK = 1191 (4,85 ± 2,15)	Hexanol (2,12 ± 2,62)
	Acetato de hexila (2,91 ± 2,53)	Acetato de hexila (3,15 ± 0,51)	IK = 1109 (4,62 ± 2,11)	Acetato de butila (1,73 ± 1,58)
	IK = 1770 (2,82 ± 1,46)	NI (IK = 1575) (3,00 ± 2,88)	IK = 1135 (4,46 ± 2,14)	IK = 1439 (1,46 ± 1,64)
	IK = 1219 (2,74 ± 3,32)	IK < 1000 (2,86 ± 0,71)	IK = 1497 (4,10 ± 3,86)	
	Pentanol (2,60 ± 3,07)	Acetato de isobutila (2,85 ± 0,82)	Acetoína (4,10 ± 3,55)	
	4-terpineol (2,59 ± 2,39)	<i>cis</i> -3-hexen-1-ol (2,82 ± 2,45)	IK 1188 (4,06 ± 1,59)	
	IK = 1252 (2,07 ± 1,80)	IK = 1001 (2,80 ± 0,97)	NI (IK = 1441) (3,91 ± 3,49)	
	NI (IK = 1056) (1,98 ± 1,80)	IK = 2140 (2,79 ± 2,66)	ND (IK = 1097) (3,64 ± 3,18)	
		Ácido octanóico (2,74 ± 2,38)	Pentanol (3,59 ± 0,49)	
		IK = 2273 (2,71 ± 2,36)	2,3 pentanediona (3,59 ± 4,06)	
	IK = 2255 (2,65 ± 2,50)	<1000 (3,43 ± 2,97)		

Tabela 11. (continuação) Ordenação dos compostos voláteis em valor decrescente de importância odorífera percebidos individualmente pelos julgadores através da técnica Osme

<i>Julgador 1</i>	<i>Julgador 2</i>	<i>Julgador 3</i>	<i>Julgador 4</i>
	Ciclopentanona (2,63 ± 2,39)	Alfa-terpineol (3,31 ± 2,96)	
	2,3 pentanediona (2,51 ± 0,45)		
	IK = 1581 (2,51 ± 2,22)		
	IK = 2229 (2,46 ± 2,17)		
	Acetoína (2,26 ± 1,97)		
	IK = 1967 (2,09 ± 1,99)		
	IK = 1665 (2,04 ± 2,05)		
	E-óxido de linalol (1,82 ± 1,67)		
	IK = 1322 (1,78 ± 1,68)		
	IK = 1586 (1,72 ± 1,84)		
	IK = 1214 (1,68 ± 1,54)		
	IK = 1300 (1,63 ± 1,41)		
	Acrilato de etila (1,57 ± 1,37)		
	3-hidroxi-butanoato de etila (1,48±1,52)		
	IK = 2111 (1,38 ± 1,22)		
	IK = 2059 (1,00 ± 0,87)		

Os julgadores apresentaram, no geral, boa repetibilidade na avaliação dos voláteis odoríferos. Isso pode ser evidenciado através dos aromagramas gerados pelo julgador 2 (**Figura 24**), em suas três repetições, e dos dados da **Tabela 10** que apresenta, para esse mesmo julgador, os tempos de retenção (inicial, intensidade máxima e final), a intensidade máxima, a área sob a curva e os respectivos coeficientes de variação (CV).

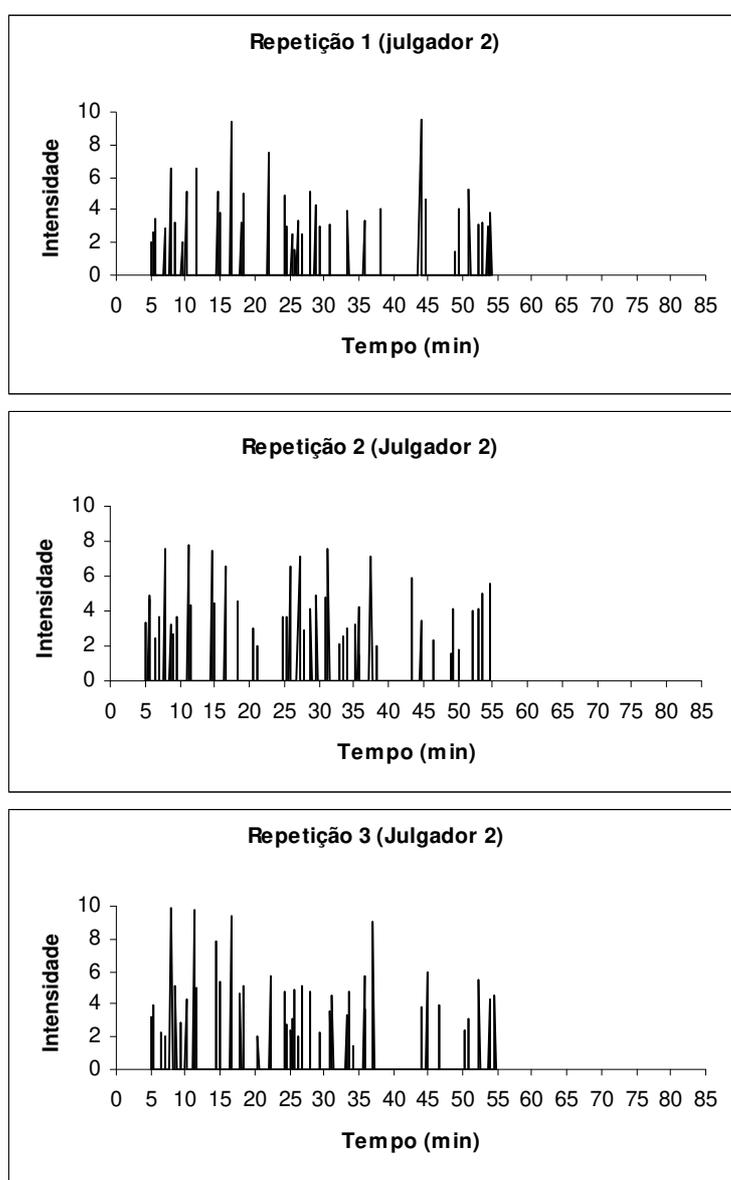


Figura 24. Aromagramas gerados pelo julgador 2, em três repetições, através da técnica Osme.

Na **Tabela 10**, uma excelente repetibilidade do julgador 2 com relação aos tempos em que os voláteis foram percebidos pode ser observada através dos baixos valores de coeficiente de variação (CV) para esses tempos. No entanto, altos CV podem ser observados para os parâmetros de intensidade máxima e áreas sob a curva. De acordo com Pollien (1997), baixa repetibilidade e reprodutibilidade, geralmente, são inerentes às técnicas sensoriais, pois muitos parâmetros podem ser responsáveis por essa variabilidade na resposta. Isso é esperado particularmente nas técnicas olfatométricas, onde os odorantes estão presentes por apenas poucos segundos, contrariamente a outros experimentos sensoriais, onde o julgador pode avaliar o produto durante um longo período.

Maior variabilidade nas respostas sensoriais pode ser observada *entre os julgadores* na percepção de intensidade dos voláteis eluídos no efluente cromatográfico. Neste sentido, a **Tabela 9** mostra grande variabilidade entre os julgadores com relação a ordenação dos voláteis eluídos em termos de impacto odorífero (intensidade) no efluente cromatográfico. De fato, o butanoato de etila, o 3 hexenal e o isobutanol foram os únicos voláteis percebidos por pelos menos 3 julgadores, como um dos 15 voláteis de aroma mais intensos no efluente cromatográfico. Divergências entre os julgadores na ordenação da intensidade dos voláteis de importância odorífera também foram encontradas no trabalho de Alves (2004) e Almeida (2006), embora no trabalho desses autores os resultados foram ligeiramente mais consistentes do que os encontrados no presente estudo.

Tabela 12. Valores médios das variáveis geradas pelo julgador 2 na análise olfatométrica da *water phase* de maracujá através da técnica Osme (n= 3 repetições)

T inicial ¹		T I máx ²		T final ³		Intensidade ⁴		Área ⁵	
min	CV (%)	min	CV (%)	min	CV (%)	cm	CV (%)	-	CV (%)
5,06	0,57	5,09	0,34	5,12	0,58	2,86	24,96	6,71	15,24*
5,40	0,70	5,46	0,62	5,49	0,74	3,72	28,21	13,03	23,22
5,54	0,62	5,63	0,89	5,65	0,71	2,80	34,67	13,07	94,10
6,45	1,80	6,48	1,65	6,50	1,32	1,57	86,77	2,84	110,94
6,95	0,59	7,02	0,72	7,05	0,76	2,85	28,69	11,01	54,33

Tabela 10. (continuação): Valores médios das variáveis geradas pelo julgador 2 na análise olfatométrica da *water phase* de maracujá através da técnica Osme (n= 3 repetições)

T inicial ¹		T I máx ²		T final ³		Intensidade ⁴		Área ⁵	
min	CV (%)	min	CV (%)	min	CV (%)	cm	CV (%)	-	CV (%)
7,69	0,19	7,84	0,79	7,97	1,68	8,03	20,87	104,00	65,37
8,51	0,19	8,59	0,20	8,61	0,11	3,89	28,33	16,10	61,98
9,31	2,02	9,35	2,21	9,37	2,20	2,51	18,05	4,95	17,18
9,78	2,80*	9,86	3,07*	9,89	3,17*	4,34	16,08	20,92	44,96
10,96	0,07	11,22	0,68	11,39	0,12	5,83	88,23	91,47	86,80
11,43	0,18	11,54	0,28	11,61	0,63	5,30	20,69	34,44	28,08
14,38	0,33	14,53	0,38	14,59	0,47	6,81	21,20	57,16	23,33
14,93	0,68	15,02	0,24	15,05	0,29	4,53	17,63	24,37	70,07
16,42	0,20	16,60	0,23	16,68	0,53	8,45	19,86	105,38	56,01
17,87	0,32	17,94	0,19	17,97	0,18	2,63	91,15	11,02	101,33
18,28	0,15	18,35	0,08	18,39	0,11	4,86	5,47*	23,04	23,54
20,45	0,15	20,48	0,20	20,50	0,15	1,68	91,76	3,32	100,78
21,66	2,25	21,81	2,61	21,83	2,65	5,06	55,40	49,73	95,95
24,25	0,20	24,32	0,07	24,36	0,16	3,19	86,62	15,66	97,13
24,61	0,12	24,67	0,17	24,70	0,19	3,15	16,23	12,69	44,07
25,18	0,02	25,28	0,10	25,32	0,02	1,63	86,60	10,35	86,73
25,36	0,69	25,42	0,42	25,43	0,41	2,26	87,29	7,00	147,57
25,60	0,15	25,72	0,45	25,81	0,43	4,34	58,87	40,49	98,36
26,15	0,21	26,18	0,18	26,18	0,14	1,78	94,39	2,60	121,23
26,80	0,09	26,97	0,64	27,02	0,62	4,92	47,47	42,69	85,68
27,86	0,18	27,95	0,14	27,97	0,17	4,29	27,63	19,52	39,75
28,60	0,47	28,77	0,25	28,85	0,26	2,82	86,67	30,94	90,02
29,33	0,28	29,50	0,61	29,55	0,54	3,35	40,55	31,42	76,91
30,82	0,22	30,91	0,22	30,97	0,20	3,79	23,68	23,98	28,35
31,08	0,12	31,28	0,41	31,32	0,48	4,03	94,87	42,02	119,75
33,07	0,32	33,13	0,50	33,16	0,45	1,82	92,07	7,04	113,89
33,43	0,22	33,53	0,41	33,57	0,43	3,73	29,93	23,11	81,74
34,08	0,05	34,11	0,00*	34,12	0,01	1,48	102,93	2,22	125,11
35,37	0,97	35,48	1,12	35,50	1,12	3,00	96,17	18,45	117,76
35,54	0,17	35,68	0,23	35,75	0,17	2,51	88,58	19,28	88,05
35,79	0,13	35,84	0,15	35,86	0,13	1,72	107,11*	4,24	116,57
36,96	0,38	37,26	0,51	37,38	0,78	5,38	88,44	87,09	94,06
38,18	0,27	38,23	0,15	38,26	0,12	2,04	100,79	6,54	149,79
43,59	0,91	43,81	0,98	43,88	1,04	6,38	45,34	103,54	150,15*
44,57	0,14	44,68	0,25	44,78	0,50	4,68	25,89	46,64	114,11
46,52	0,11	46,59	0,24	46,64	0,28	2,09	95,25	12,42	128,82
48,89	0,04	48,91	0,05	48,92	0,06	1,00	87,20	1,23	86,94
49,31	0,25	49,42	0,32	49,44	0,31	2,74	86,60	14,59	88,34

Tabela 10. (continuação): Valores médios das variáveis geradas pelo julgador 2 na análise olfatométrica da *water phase* de maracujá através da técnica Osme (n= 3 repetições)

T inicial ¹		T I máx ²		T final ³		Intensidade ⁴		Área ⁵	
min	CV (%)	min	CV (%)	min	CV (%)	cm	CV (%)	-	CV (%)
50,17	0,16	50,20	0,16	50,20	0,16	1,38	88,54	1,95	89,17
50,74	0,00*	50,87	0,17	50,91	0,23	2,79	95,32	22,72	129,03
52,10	0,24	52,22	0,32	52,31	0,44	4,16	29,25	35,13	99,93
52,87	0,14	52,94	0,08	52,97	0,11	2,46	88,36	10,16	86,61
53,46	0,07	53,53	0,03	53,55	0,01*	2,65	94,32	10,64	119,04
53,79	0,24	53,93	0,31	54,04	0,36	2,71	86,96	26,01	90,88
54,54	0,02	54,64	0,08	54,71	0,03	3,37	87,91	24,38	86,77

¹Tempo de retenção inicial: quando o julgador começou a perceber o aroma

²Tempo de retenção máximo: tempo que corresponde à intensidade máxima do aroma percebido

³Tempo de retenção final: tempo que o julgador deixou de perceber o aroma

⁴Intensidade máxima do odor percebido (0=fraco; 10= forte)

⁵Área sob a curva versus intensidade

* Maior e menor valores do CV (coeficiente de variação) para cada parâmetro

Vários fatores influenciam a variabilidade das respostas sensoriais. A utilização de diferentes porções da escala de intensidade, mesmo por indivíduos treinados é relativamente comum (STONE; SIDEL, 1993; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1987). Os indivíduos não raramente percebem de maneira diferente um mesmo odor, oferecido à mesma concentração. Os odores têm uma alta propensão a serem processados pela memória episódica dos indivíduos e assim, podem ser percebidos diferentemente por diferentes indivíduos. Pesquisas têm mostrado que a reação pessoal a um odor é influenciada por diversos fatores incluindo personalidade, experiência e vivências com relação ao odor. A percepção dos odores não é função apenas do estímulo psicofísico do odorante, mas é também influenciada pela atitude e expectativa que o indivíduo traz consigo para a experiência odorífera (DALTON, 2003). Finalmente, deve se considerar também que os limiares de detecção (*thresholds*) variam grandemente entre indivíduos, variando assim a sensibilidade dos indivíduos a cada odor.

4.7. Caracterização de essências naturais obtidas por destilação fracionada da *water phase* de maracujá.

A **Tabela 11** apresenta a intensidade média dos parâmetros sensoriais que, segundo a equipe sensorial treinada, caracterizam as essências geradas pela destilação fracionada da *water phase*. Conforme pode ser observado através da análise do atributo “impacto global do aroma”, a essência 3 diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) das demais, apresentando a maior média para esse atributo (6,8). Esse resultado indica que houve apenas um ligeiro aumento do poder odorífero dessa essência em relação a *water phase*, que obteve média 5,6 para esse atributo (**Tabela 11**). Já para o atributo “aroma característico de maracujá”, a essência 5 apresentou a maior média (3,8), diferindo significativamente das outras essências ($p \leq 0,05$), porém, não diferindo da *water phase*.

Tabela 13. Caracterização sensorial das essências geradas através da destilação fracionada da *water phase* (n=9 julgadores treinados)

Essências	Variáveis de Processo	Variáveis Sensoriais ¹	
	Temperatura/Pressão/Potência (°C/bar/kW)	Impacto Global do aroma ²	Aroma característico de maracujá ²
1	32,4/0,05/0,05	5,3 ^b	3,0 ^{ab}
2	35,0/0,05/1,00	5,3 ^b	2,0 ^{bc}
3	36,0/0,10/1,00	6,8 ^a	2,8 ^{abc}
4	45,0/0,10/0,13	3,9 ^d	1,6 ^c
5	63,7/0,30/0,13	5,3 ^{cb}	3,8 ^a
6	93,0/1,00/0,50	4,1 ^{c d}	1,7 ^{bc}
<i>Water phase</i>	—	5,6 ^b	3,8 ^a

¹ Escala de 9 pontos: 0=fraco; 9=forte

² Amostras com letras em comum na mesma coluna não apresentam diferença significativa entre si ($p \leq 0,05$)

A **Figura 25** apresenta os perfis cromatográficos das seis essências obtidas pelo processo de destilação fracionada. Conforme pode ser observado, o número de picos (voláteis) variou grandemente entre as essências, em função das condições de processamento das mesmas.

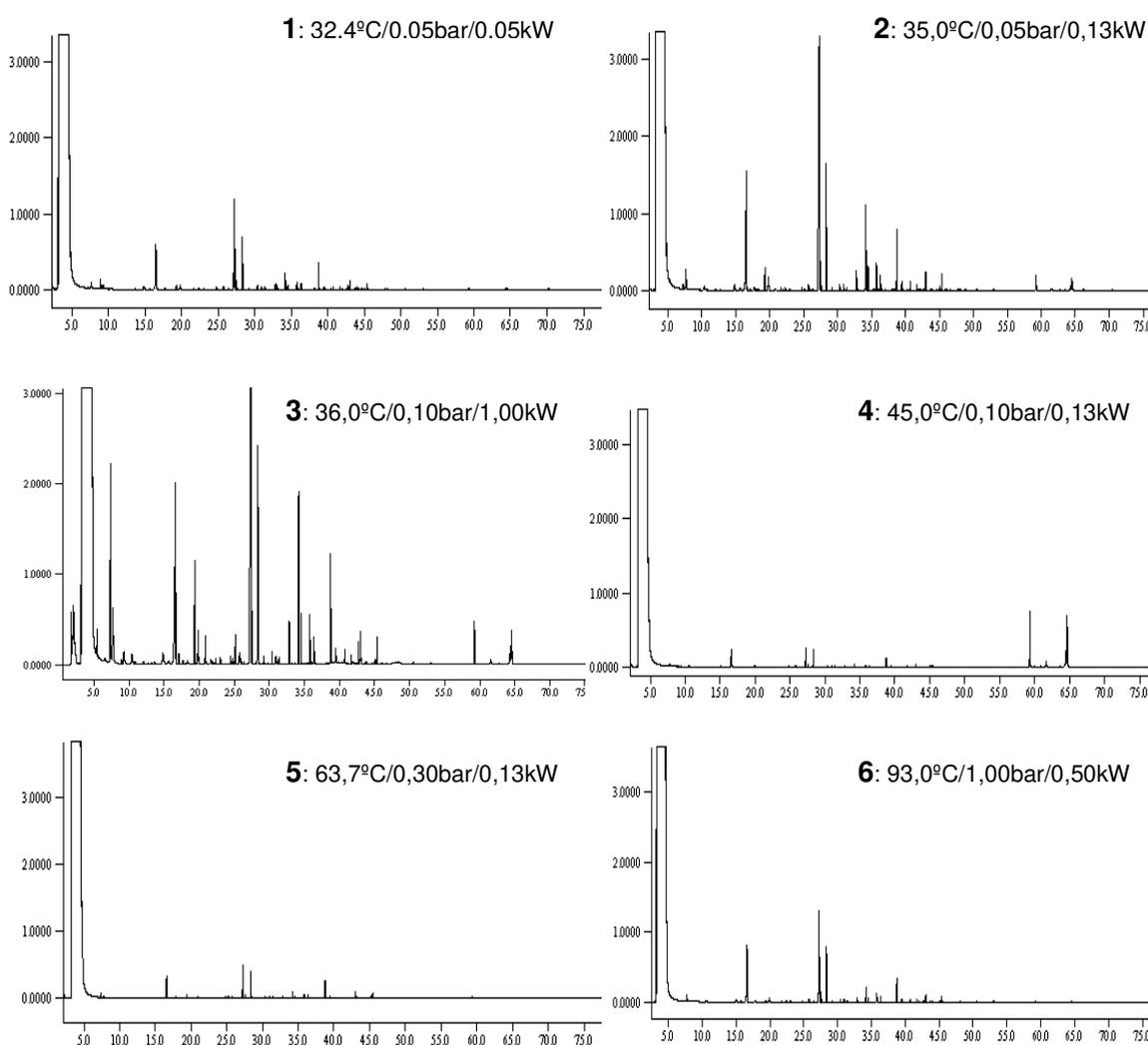


Figura 25. Perfis cromatográficos das essências de maracujá obtidas por destilação fracionada.

Conforme demonstra a **Figura 25**, na essência 1 foram detectados 39 picos; na essência 2, 49 picos; na essência 3, 81 picos; na essência 4, 16 picos e; finalmente nas essências 5 e 6, 30 picos cada. É interessante observar que, de um modo geral, os resultados sensoriais correlacionaram-se com os dados instrumentais gerados pelo CG: a essência 3, que apresentou maior impacto global de aroma, foi também a essência que apresentou maior número de picos cromatográficos. Por sua vez, a essência 4, que apresentou menor número de picos, apresentou também menor impacto global de aroma. Conclusões similares podem ser obtidas comparando-se a essência 3 com as demais essências.

Esses resultados preliminares sugerem que a *water phase* analisada na presente pesquisa não foi suficientemente concentrada pelo processo de destilação fracionada, e que o mesmo apresenta necessidade de ajustes nos seguintes parâmetros:

- Otimização do vácuo no interior do sistema visando a volatilização dos compostos odoríferos em temperaturas menores.
- Otimização das variáveis de temperatura, pressão e potência.
- Otimização da temperatura do condensador.

5. CONCLUSÕES

O presente estudo revelou que a *water phase* de maracujá, um subproduto gerado por uma indústria brasileira durante a concentração do suco de maracujá, contém razoável quantidade de compostos voláteis odoríferos responsáveis pelo aroma exótico de maracujá. A *water phase* analisada na presente pesquisa, se devidamente concentrada por processo de destilação fracionada, apresenta potencial para gerar essência natural de maracujá de adequada qualidade sensorial e alto valor agregado.

Em nosso estudo, 110 picos cromatográficos foram registrados no isolado da *water phase* de maracujá estudada, dos quais, 71 foram identificados, perfazendo 72% da área total do cromatograma. Ésteres e álcoois foram as classes de compostos mais abundantes na amostra. Dentre os voláteis identificados na *water phase*, estavam presentes em maior % de área: hexanol (15,5%), butanoato de etila (13,8%), ciclopentanona (9,3%), *cis*-3-hexen-1-ol (5,4%), linalol (4,7%), hexanoato de etila (4,3%), *trans*-2-hexenal (3,9%) e α -terpineol (3,9%). Muitos desses compostos são comumente associados ao aroma de suco de maracujá fresco.

Dos 110 picos detectados, apenas 35 compostos corresponderam a voláteis de impacto odorífero no efluente cromatográfico. A maior parte dos termos utilizados pelos julgadores para descrever esses voláteis, refere-se a aromas de impacto positivos, descritos como: doce, frutal, floral e verde; confirmando o potencial da *water phase* como matéria-prima de essência natural de maracujá. Também foram percebidos entre os 110 voláteis detectados, compostos de impacto odoríferos negativo, descritos como borracha, fio queimado, Maria fedida e oil fusel, assim como voláteis de notas torradas como café, grão torrado e amendoim torrado. Esses compostos podem ser eliminados da *water phase* através da destilação fracionada da mesma, durante a elaboração da essência natural de maracujá.

Dentre os compostos voláteis odoríferos presentes no isolado da *water phase* de maracujá, os de maior importância odorífera (intensidade $\geq 4,0$), em ordem decrescente de intensidade foram:

- butanoato de etila (com intensidade média igual a 8,0), descrito como frutas vermelhas, tutti-frutti e uva;
- 3-hexenal (5,3), descrito como verde, grama, couve, capim e mato;
- butanoato de metila (4,8), descrito como doce, frutal e cítrico doce;
- hexanoato de etila (4,7), descrito como cítrico, frutal, marolo (fruta) e verde;
- um composto não detectado pelo DIC (4,7), com índice de Kovats próximo a 1288, descrito como grão torrado, pó de café, pão tostado, e alho cru;
- isobutanol (4,6), descrito como oil fusel, fermentado, plástico e fio queimado;
- acetato de isobutila (4,4), descrito como borracha, fio queimado, plástico
- acetato de hexila (4,2), descrito como verde, fruta verde, desinfetante;
- benzaldeído (4,1), descrito como pó de café e café torrado;
- furfural (4,0), descrito como amendoim torrado.

Alguns compostos, apesar de terem apresentado baixa intensidade odorífera no efluente cromatográfico, merecem ser destacados, pois estavam presentes em grande área no aromagrama e/ou foram percebido por um longo período de tempo, indicando que possivelmente podem também ser importantes contribuintes para o aroma global da *water phase* de maracujá. Entre eles encontrava-se o óxido de rosa (3,8), descrito como mamão, doce, frutal e baunilha, o hexanal (3,3), descrito como grama e mato, o terpinen-4-ol (3,0), descrito como frutal, banana, perfume, lavanda e mamão, o hexanol (2,6) descrito como desinfetante de limão, mato e azedinho e o *cis*-3-hexen-1-ol (2,9) descrito como plástico e borracha.

Os resultados do presente estudo sugerem que embora existam voláteis odoríferos que são perdidos durante o processo de concentração do suco de maracujá, muitos compostos como o butanoato de etila, o hexanoato de etila e o 3-hexenal, importantes contribuintes para o exótico aroma frutal, doce, floral e verde do maracujá estiveram presentes na *water phase* de maracujá gerada por uma empresa brasileira. Esses resultados indicam a viabilidade de se produzir essências naturais de maracujá de adequada qualidade odorífera, a partir dessas *water phases* geradas por indústrias nacionais de suco concentrado. Essas essências, além de apresentarem alta demanda, possuem alto valor agregado e, assim, contribuirão não só para aumentar a qualidade sensorial do suco concentrado de maracujá, produzido pelas empresas nacionais, como também para aumentar a lucratividade das mesmas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABBOTT, N.; ETIVANT, P.; ISSANCHOU, S.; LANGLOIS, D. Critical Evaluation of two commonly used techniques for the treatment of data from extract dilution sniffing analysis. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.41, p.1698-1703. 1993.

ACREE, T.E.; ARN, H. Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products. New York State Agricultural Experiment Station. Cornell (EUA): Cornell University. 2004. Disponível em: <<http://www.nysaes.cornell.edu/flavornet/>> . Acesso em 26 jul. de 2005.

ACREE, T. E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D. G. **A procedure for sensory analysis of gas-chromatographic effluents**. Food Chemistry, v.14, p.273-286. 1984.

ALMEIDA, S.B. **Efeito de diferentes aromas cítricos sobre a qualidade e estabilidade sensoriais de suco de laranja pronto para beber**. 2006. 189p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

ALVES, G.L. **Compostos voláteis importantes para o aroma de jenipapo (*Genipa americana* L.) e murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich)** 2004. 136p. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ALVES, G.L.; FRANCO, M.R.B. Headspace gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich). **Journal Chromatography A**, v.985, p.297-301, 2003.

ALVES MOREIRA, R.P.; TRUGO, L.C.; De MARIA, C.A.B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II: Compostos aliáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v.23, n.2, p.195-203, 2000.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM Sp. Tech. Publ. N°758** - Guidelines for the selection and training of sensory panel members, Philadelphia, EUA, 35p, 1981.

AUGUSTO, F., LOPES, A. L., ZINI, C.A. Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 22, n.3, p.160-169, 2003.

BAHIA. GOVERNO DO ESTADO DA BAHIA. SECRETARIA DA IRRIGAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. COORDENAÇÃO DE ECONOMIA RURAL. **Frutas: a caminho de um grande mercado** Salvador. 1996. p.112-123. (série alternativas de investimentos, 3).

BERRY, R.E.; VELDHUIS, K. Processing of oranges, grapefruit and tangerines. *In*: NAGY, S.; SHAW, P.E.; VELDHUIS, M.K. (Eds) **Citrus Science and Technology**, Westport: The AVI Publishing Company, 1977p. 177–252.

BOMBEN, J.L.; BRUIN, S.; THIJSSSEN, H.A.C.; MERSON, R.L. Aroma recovery and retention in concentration and drying of foods. **Advances in Food Research**, v.20, p.1-111, 1973.

BOULANGER, R.; CROUZET, J. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 2. cupuaçu volatiles compounds. **Flavour and Fragrance Journal**, v.15, p.251-257, 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento técnico sobre rotulagem de alimentos embalados. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, 23 de setembro de 2002. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis>>. Acesso em: 11 dez. 2006.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Portaria nº 645, de 16 de dezembro de 1997. *In*: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO (comp.). **Compêndio da legislação de alimentos**: consolidação das normas e padrões de alimentos. 7. rev. São Paulo, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. SECRETARIA DE INFRA-ESTRUTURA HÍDRICA. DEPARTAMENTO DE DESENVOLVIMENTO HIDROGRÁFICO. **Maracujá**. Disponível em: <http://www.irrigar.org.br/publicacoes/frutiseries/frutiseries_2_df.pdf> Acesso em ago. 2003.

CAPOZOLI, R. Sucos prontos retomam ações de marketing. **O Estado de São Paulo**, 28 mar. 2003. Economia, p.14.

CARDELLO, M.A.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; DAMÁSIO, M.H.; LOBÃO, F. Programa sistema coleta de dados tempo-intensidade – SCDTI. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 37(Supl.), p.54-60, 2003.

CASIMIR, D.J.; KEFFORD, J.F.; WHITFIELD, F.B. Technology and flavor chemistry of passion fruit juices and concentrates. **Advances in Food Research**, v. 27, p.243-295, 1981.

CHAN, Jr., H.T. Passion fruit, papaya, and guava juices. *In*: NAGY, S.; CHEN, C.S.; SHAW, P.E. (Ed). **Fruit Juice Processing Technology**. Auburndale: Agscience, 1993. p.335-49.

CHEN, C-C.; KUO, M-C; HWANG, L.S.; WU, J.S-B.; WU, C-M. Headspace components of passion fruit juice. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.30, p. 1211-1215, 1982.

CHEN, C-C.; KUO, M-C; WU, C-M. Chemical changes in the flavor of passion fruit juice during processing and concentration. *In*: FENNEMA, O.R.; CHANG, W-H.; LII, C-Y. (Eds) **Role of chemistry in the quality of processed food**. Westport: Food & Nutrition, 1986. p.187-200.

CÓRDOVA, K. R. V.; BASTOS GAMA, T. M. M. T.; WINTER, C. M. G.; NETO, G. K.; SOSSELA DE FREITAS, R. J. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Flavicarpa *Degener*) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v.23, n.2, p.221-230, 2005.

DALTON, P. How people sense, perceive and react to odors. **Byocycle**, nov, p.26-29, 2003.

DA SILVA, M. A. A. P. Avaliação de atributos sensoriais por técnicas tempo-intensidade. *In*: ALMEIDA, T. C. A.; HOUGH, G.; DAMÁSIO, M. H.; DA SILVA, M. A. A. P. Eds. **Avanços em Análise Sensorial**. São Paulo: Livraria Varela, 1999, pp. 49-61.

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**. New York: Elsevier, 1993, pp. 707-738.

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 Heij, D. G. Eds **Trends in Flavour Research**. Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1994, pp. 191-209

DA SILVA, M. A. A. P.; SAMPAIO, K. L.; BERTOLINI, A. C. CG-olfatometria (CGO): Uma revisão. *In*: FRANCO, M.R.B. **Aroma e Sabor de Alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. p. 29-46.

DIMICK, K.P.; MAKOWER, B. Volatile flavor of strawberry essence. I. Identification of the carbonyls and certain low boiling substances. **Food Technology**, v.2, p.73-75, 1956.

ELSS, S.; PRESTON, C.; HERTZIG, C.; HECKEL, F.; RICHLING, E.; SCHREIER, P. Aroma profiles of pineapple fruit (*Ananas comosus* [L.] Merr.) and pineapple products. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.38, p.263-274, 2005.

EMBRAPA. **Conservação do sabor natural das frutas tropicais em sucos para adequação da sua qualidade às exigências do mercado**. Documento interno Código

014-01/01 relativo à plano de pesquisa apoiado pelo BIRD – Banco Interamericano de Desenvolvimento Regional – 2001. p.103.

ENGEL, K.H.; TRESSL, R. Formation of aroma components from nonvolatile precursors in passion fruit. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.31, p.998-1002, 1983.

ENGEL, K-H.; TRESSL, R. Identification of new sulfur-containing volatiles in yellow passion fruits (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.39, p. 2249-2252, 1991.

ETTRE, L.S. The Kovats retention index system. **Analytical Chemistry**, v.36, p.31-A-41A, 1964.

FISCHER, C., SCOTT, T. **Food Flavours: biology and chemistry**. Cambridge: Royal society of chemistry. 1997. p.1-124.

FRANCO, M.R.B. **Componentes voláteis e sabor de manga (*Mangifera indica* L.) e mamão (*Carica papaya* L.)**. 1992. 173p.Tese (Doutor em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.

FRANCO, M.R.B., JANZANTTI, N.S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. *In*: Franco, M.R.B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. p.17-27.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUES-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatile on Poropak Q by suction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.34, n.3, p.293-99, 1983.

FUNDO DE AMPARO A CADEIA PRODUTIVA DE MARACUJÁ NO BRASIL. História do Passiflora. Disponível em: <http://www.passiflora.org.br/site/p_historico.asp> Acesso em ago. 2007.

GARCIA, L.V. **Efeito do óleo essencial de laranja no aroma e sabor do suco concentrado congelado: a contribuição do consumidor**. 2000. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000. 158p

GARRUTI, D.S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma do vinho de caju**. Campinas, 2001. 218p. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

GARRUTI, D.S.; FRANCO, M.R.B.; DA SILVA, M.A.A.P.; JANZANTTI, N.S.; ALVES, G.L. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice by the osme gas chromatography/olfactometry technique. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.1455-1462, 2003.

GONÇALVES, J.S.; MOREIRA SOUZA, S.A. Fruta da paixão: panorama econômico do maracujá no Brasil. **Informações Econômicas**, v.36, n.12, 29-36.

GUICHARD, H.; GUICHARD, E.; LANGLOIS, D.; ISSANCHOU, S.; ABBOTT, N. GC-sniffing analysis: olfactive intensity measurement by two methods. **Zeitschrift Lebensmittel Untersuchung und-Forschung**, v.201, p.344-350. 1995.

GUTTERSON, M. Flavors from fruit juices. In: GUTTERSON, M (Ed.) **Fruit juice Technology**. New Jersey: Park Ridge. 1970. p.173-181.

HIU, D.N.; SCHEUER, P.J. The volatile constituents of passion fruit juice. **Journal of Food Science**, v.26, p.557-563, 1961

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Banco de Dados Agregados**. Ano 2004. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11>> Acesso em jan. 2007.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Banco de Dados Agregados**. Ano 2005. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11>> Acesso em jan. 2007.

IBRAF (INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS). **Estatísticas**. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>> Acesso em jan. 2007.

ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Maracujá: da cultura ao processamento e comercialização**. São Paulo: Secretaria de Agricultura de São Paulo, 1980. 206p. (Série Frutas Tropicais)

JAGTIANI, J.; CHAN, Jr, H.T.; SAKAI, W.S. Passion fruit. In: JAGTIANI, J.; CHAN, Jr, H.T.; SAKAI, W.S. **Tropical fruit processing**, San Diego: Academic, 1988, chap. 5, p. 149-180.

JANZANTTI, N.S. **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**. 1996. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

JENNINGS, W.G., FILSOOF, M. Comparasion of sample preparation techniques for gas chromatographic analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.25, n.3, p.440-445, 1977.

JENNINGS, W.G., SHIBAMOTO, T. **Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography**. New York: Academic Press, 472p., 1980.

JOHNSON, J D.; VORA, J. D. Natural citrus essences. **Food Technology**, v.37, p. 92–93, 97, 1983.

JORDÁN, M.J.; GOODNER, K.L.; SHAW, P.E. Volatile components in tropical fruit essences: yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims F. *Flavicarpa* degner) and banana (*Musa Sapientum* L.). **Proc. Fla. State Hort. Soc.**, v.113, p. 284-286, 2000.

JORDÁN, M.J.; GOODNER, K.L.; SHAW, P.E. Characterization of the aromatic profile in aqueous essence and fruit juice of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims F. *Flavicarpa* degner) by GC-MS and GC/O. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.50, p. 1523-1528, 2002

JORDÁN, M.J.; MARGARÍA, C.A.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pin guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p. 1421-1426, 2003.

JORDÁN, M.J.; MARGARÍA, C.A.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. Aroma active components in aqueous kiwi fruit essence and kiwi fruit puree by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.50, p. 5386-5390, 2002.

JORDÁN, M.J.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. Volatile components in aqueous essence and fresh fruit of Cucumis melo cv. athena by GC-MS and GC-O. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 5929-5923, 2001.

JORDÁN, M.J.; TANDON, K.; SHAW, P.E.; GOODNER, K.L. Aromatic profile of aqueous banana essence and banana fruit by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and gas chromatography-olfactometry. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p. 4813-4817, 2001.

KARLSSON, H.O.E., TRÄGÅRDH, G. Aroma recovery during beverage processing. **Journal of Food Engineering**. v.34, p.159-178, 1997.

KUO, M-C.; CHEN, S-L.; WU, C-M; CHEN, C-C. Changes in volatile components of passion fruit juice as affected by centrifugation and pasteurization. **Journal of Food Science**, v.50, p.1208-1210, 1985.

LE GUEN, S.; PROST, C.; DEMAIMAY, M. Critical comparison of three olfactometric methods for the identification of the most potent odorants in cooked mussels (*Mytilus edulis*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 1307-1314. 2000.

LEITE, R.S.S.; BLISKA, F.M.M.; GARCIA, A.E.B. Aspectos econômicos da produção e mercado. In: TEIXEIRA, C.G. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**, 2ed. Rev. e Ampl. Campinas. 1994. p.197-262.

LINSSEN, J. P. H.; JANSSENS, G. M.; ROOZEN, J. P.; POSTHUMUS, M. A. Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. **Food Chemistry**, v. 46, p. 367-371. 1993.

LIPNIZKI, F., OLSSON, J., TRÄGÅRDH, G. Scale-up of pervaporation for the recovery of natural aroma compounds in the food industry. Part 1: simulation and performance. **Journal of Food Engineering**, v. 54, p.183-195, 2002.

MAARSE, H. Introduction. *In*: MAARSE, H. (Ed.) **Volatile compounds in food and beverages**. New York: M.Dekker, 1991. p.1-5.

MATTHEWS, R.F.; BRADDOCK, R.J. Recovery and applications of essential oils from oranges. **Food Technology**, Chicago, v.41, n.1, p.57-61, 1987.

McDANIEL, M. R.; MIRANDA-LOPEZ, B. T., WATSON, M.; LIBBEY, L. M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. *In*: Charalambous, G. Ed. **Flavors and off-flavors**. Amsterdam: Elsevier, 1990, pp. 23-36.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Descriptive analysis techniques. *In*: MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Eds. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987, 159p.

MEILGAARD, M., CIVILLE, G.V., CARR, B.T. Selection and training of panel members. *In*: MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. Eds. **Sensory Evaluation Techniques**. 2ed. Boca Raton: CRC Press, 1991, p.135-151.

MIRANDA-LOPEZ, R., LIBBEY, B. T., WATSON, B. T.; MCDANIEL, M. R. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 43, p. 90-92. 1992.

MOSHONAS, M.G.; SHAW, P.E.; Analysis of flavor constituents from lemon and lime essence. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 20, n.5, p. 1029-1030, 1972a.

MOSHONAS, M.G.; SHAW, P.E. Analysis of volatile flavor constituents from tangerine essence. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 20, n.1, p. 70-71, 1972b.

MOSHONAS, M. G.; LUND, E. D.; BERRY, R. E.; VELDHUIS, M. K. Distribution of aqueous aroma components in the orange. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.20, n.3, p.688-690, 1972.

NARAIN, N.; ALMEIDA, J.N.; GALVÃO, M.S.; MADRUGA, M.S.; BRITO, E.S. Compostos voláteis dos frutos de maracujá (*Passiflora edulis* forma flavicarpa) e de cajá (*Spondias mombin* L.) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.2, p.212-216, 2004.

NARAIN, N.; BORA, P.S. Post-harvest changes in some volatile flavour constituents of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Journal of Science and Food Agriculture**, v.60, p.529-530, 1992.

ORTEGA-HERAS, M., GONZÁLES-SANJOSÉ, M.L., BETRÁN, S. Aroma composition of wine studied by different extraction methods. **Analytica Chimica ACTA**, 458, p. 85-93, 2002.

OTT, A.; FAY, L.B.; CHAINTREAU, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, p.850-858, 1997.

PARLIMENT, T.H. Some volatiles constituents of passion fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.20, n.5, p.1043-1045, 1972.

PARLIMENT, T.H. Solvent extraction and distillation techniques. In: MARSILI, R. (Ed.) **Techniques for analyzing food aroma**. New York: M. Dekker: 1997. p.1-26.

PAUL, J.K. Flavors from fruit juices. In: PAUL, J.K (Ed.) **Fruit and vegetable juice processing**. New Jersey: Park Ridge. 1975. p.228-245.

PINO, J.A. Los constituyentes volatiles de la fruta de la passion. **Alimentaria**, marzo, p.73-81, 1997.

PINO, J.A.; BOYS, T.; RONCAL, E. Componentes volatiles Del maracuya (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) y de su pulpa pasteurizada. **Alimentaria**, diciembre, p.57-59, 1995.

PINO, J.A.; MESA, J. Contribution of volatile compounds to mango (*Mangifera indica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, v.21, p.207-213, 2006.

PINTO, A.B.; GUEDES, C.M.; MOREIRA, R.F.A.; De MARIA, C.A.B. Volatile constituents from headspace and aqueous solution of genipap (*genipa americana*) fruit isolated by the solid-phase extraction method. **Flavour and Fragrance Journal**, v.21, p.488-491, 2006.

POLLIEN, P.; OTT, A.; MONTIGON, F.; BAUMGARTNER, M.; MUNOZ-BOX, R.; CHAINTREAU, A. Hyphenated headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, p.2630-2637, 1997.

PRUTHI, J.S. Physiology, chemistry and technology of passion fruit. **Advances in Food Research**. v.12, p. 203-282, 1963.

RAMTEKE, R.S., EIPESON, W.E., PATWARDHAN, M.V. Preparation and properties of aroma concentrates from some tropical fruit juices and pulps. **Journal of Food and Science Technology**, v.27, n.5, p.277-279, 1990.

RAMTEKE, R.S., GURUDUTT, K.N., EIPESON, W.E. Studies on the changes in the volatile aroma composition of *alphonso* mango pulp as affected by aroma recovery process. **Journal of Food and Science Technology**, v.30, n.1, p.48-48, 1993.

RAMTEKE, R.S., SINGH, N.I., REKHA, M.N., EIPESON, W.E Methods for concentration of fruit juices: a critical evaluation. **Journal of Food and Science Technology**, v.30, n.6, p.391-402, 1993.

REDD, J.B.; HENDRIX, C.M. Processing of natural citrus oils and flavor. *In*: NAGY, S.; CHEN, C.S.; SHAW, P.E. (Ed). **Fruit Juice Processing Technology**. Auburndale: Agscience, 1993. p.83-109.

SARAIVA, M. **Exportação de sucos de frutas tropicais. Requerimento de qualidade, barreiras técnicas e sanitárias**. Workshop ALCUE-Food 2005. Disponível em: <<http://www.alcuefood.org/online/site/1366811.php>> Acesso em jan. 2007.

SAS. Statistical Analytical System. SAS Institute Inc. SAS Campus Drive, Cary, Caroline, USA. Version 8.0, 2000.

SCHULTZ, T.H.; BLACK, D.R.; BOMBEN, J.L.; MON, T.R.; TERABISHI, R. Volatiles from oranges. 6. Constituents of the essence identified by mass spectra. **Journal of Food Science**, v. 32, p. 698-701, 1967.

SHIBAMOTO, T.; TANG, C-S. Minor tropical fruits – mango, papaya, passion fruit and guava. *In*: MORTON, I.D.; MACLEOD, A.J. Eds. **Food Flavours**. Part C. The flavour of fruits. Amsterdam: Elsevier, 1990, p. 252-267.

SIDES, A., ROBARDS, K., HELLIWELL, S. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. **Trends in analytical chemistry**. v. 19, n.5, p.322-328, 2000.

SNOW, N.H., SLACK, G.C. Headspace analysis in modern gas chromatography. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 21, Issues 9-10, p. 608-617, 2002.

STEPHAN, A.; BUCKING, M.; STEINHART, H. Novel analytical tools for food flavours. **Food Research International**, v.33, p.199-209.2000.

STEVENS, D. S. On the psychophysical law. **The Psychological Review**, v. 64, p.153-147. 1957

STEVENS, S. S. To honor Fechner and repeal his law. **Science**, v. 133, p. 80-86. 1961.

STEVENS, S. S.; GALANTER, E. H. Ration scales and category scales for a dozen perceptual continua. **Journal of Experimental Psychology** v. 54, p/ 377-411. 1957.

STEVENSON, R.J., CHEN, X.D., MILLS, E. Analyses and binding studies of flavour volatiles. **Food Research International**, v.29, n.3-4, p.265-290, 1996.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. 2nd. Ed. Boston: Academic Press, 1993, 338p.

TERANISHI, R.; KINT, S. Sample preparation. In: MARSILI, R. (Ed.). **Techniques for analyzing food aroma**. New York: M. Dekker: 1997. p.137-152.

THIJSSSEN, H.A.C. Concentration processes for liquid foods containing volatile flavours and aromas. **Journal of Food Technology**. v.5, p.211-229, 1970.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M.R.B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.34, n.1, p.52-59, 2000.

TOCCHINI, R.P.; NISIDA, A.L.A.C.; ASHIZUME, T.; MEDINA, J.C.; TURATTI, J.M. Processamento: produtos, caracterização e utilização In: TEIXEIRA. **Maracujá: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2ed. Rev. e Ampl. Campinas. 1994. p.161-195.

TOULEMONDE, B.; BEAUVERD, D. Headspace analysis: trap desorption by microwave energy application to the volatile components of some tropical fruits. In: ADDA, J. (Ed), **Progress in flavour research**. Amsterdam: Elsevier, 1984. p.533-548.

ULRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Zeitschrift Lebensmittel Untersuchung und-Forschung**, v. 184, p. 277-282. 1987.

UNICAMP. Recuperação e reincorporação do aroma dos sucos de frutas tropicais concentrados por evaporação. **Documento interno** Proc. 04P-09866-2002 relativo a plano de pesquisa apoiado pelo BIRD – Banco Interamericano de Desenvolvimento Regional – 2002. p.65.

VAILLANT, F.; JEATON, E.; DORNIER, M.; O'BRIEN, G.M.; REYNES, M.; DECLoux, M. Concentration of passion fruit juice on an industrial pilot scale using osmotic evaporation. **Journal of Food Engineering**, v.47, p.195-202, 2001.

VAN RUTH, S. M; ROOZEN, J.P.; POSTHUMUS, M.A. Instrumental and sensory evaluation of the flavour of dried french beans (*Phaseolus vulgaris*) influenced by storage conditions. **Journal of Science and Food Agriculture**, v.69, p.393-401, 1995.

VAN RUTH, S. M.; O'CONNOR, C. H. Evaluation of three gas chromatography-olfactometry methods: comparison of odour intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data. **Food Chemistry**, v.74, p.341-347, 2001.

WALKER, L.H. Volatile flavor recovery. *In*: TRESSLER, D.K.; JOSLYN, M.A. (Eds) **Fruit and vegetable juice processing technology**. Westport: The avi publishing company, 1961. p.358-371.

WALKER, L.H.; NIMMO, C.C.; PATTERSON, D.C. Preparation of a frozen apple juice concentrate. **Food Technology**, v.5, p.148-151, 1951.

WALKER, L.H.; PATTERSON, D.C. Preparation of fresh italian prune juice concentrates. **Food Technology**, v.8, p.208-210, 1954.

WALKER, L.H.; PATTERSON, D.C. A laboratory fruit-essence recovery unit. **Food Technology**, v.9, p.87-89, 1955.

WALKER, L.H.; NOTTER, G.H.; McREADY, R.M.; PATTERSON, D.C. A concentration of strawberry juice. **Food Technology**, v.8, p.350-352, 1954.

WERKHOFF, P.; GÜNTERT, M.; KRAMMER, G.; SOMMER, H.; KAULEN, J. Vacuum headspace method in aroma research: flavor chemistry of yellow passion fruits. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.46, p. 1076-1093, 1998.

WEURMAN, C. Isolation and concentration of volatiles in food odor research. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.17, n.2, p.370-84, 1969.

WHITFIELD, F.B.; LAST, J.H. The flavour of the passion fruit – a review. *In*: BRUNKE, E-J. (Ed.). **Progress in essential oil research**. Berlin: Walter de Gruyter, 1986, p.3-48.

WINTERHALTER, P. Fruits IV. *In*: MAARSE, H. (Ed.) **Volatile compounds in food and beverages**. New York: M.Dekker, 1991. p.389-409.

WINTER, M.; KLÖTI, R. Über das aroma der gelben passionsfrucht (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Helvetica Chimica ACTA**, v.55, fasc.6, n.181-182, p.1916-1921, 1972.

WOLFORD, R.W.; ALBERDING, G.E.; ATTAWAY, J.A. Analysis of recovered natural orange essence by gas chromatography. **Agriculture and Food Chemistry**, v.10, n.4, p.297-301, 1962.