



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**MARIA FLÁVIA AZEVEDO DA PENHA**

**INFLUÊNCIA DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA E DA PASTEURIZAÇÃO NO  
PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS LIVRES E GLICOSILADOS DA POLPA DE  
BACURI (*PLATONIA INSIGNIS* MART.).**

**FORTALEZA**

**2014**

**MARIA FLÁVIA AZEVEDO DA PENHA**

**INFLUÊNCIA DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA E DA PASTEURIZAÇÃO NO  
PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS LIVRES E GLICOSILADOS DA POLPA DE  
BACURI (*PLATONIA INSIGNIS* MART.).**

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dra. Deborah dos Santos Garruti

Co-orientador: Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

**FORTALEZA**

**2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- P457i Penha, Maria Flavia Azevedo da.  
Influência da maceração enzimática e da pasteurização no perfil de compostos voláteis livres e glicosilados da polpa de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) / Maria Flavia Azevedo da Penha. – 2014. 75 f. : il., color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Alimentos.  
Orientação: Profa. Dra. Deborah dos Santos Garruti.  
Coorientação: Prof. Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto.
1. Bacuri. 2. Polpa de frutas. 3. Tecnologia de Alimentos. I. Título.

---

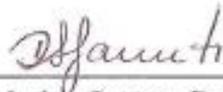
CDD 664

INFLUÊNCIA DA MACERAÇÃO ENZIMÁTICA E DA PASTEURIZAÇÃO NO  
PERFIL DE COMPOSTOS VOLÁTEIS LIVRES E GLICOSILADOS DA POLPA DE  
BACURI (PLATONIA INSIGNIS MART.)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção de  
grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

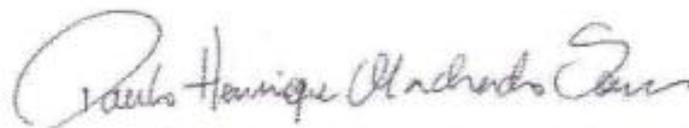
Aprovada em: 27/02/2014.

BANCA EXAMINADORA



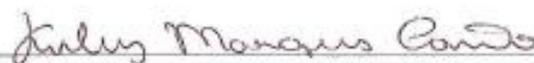
---

Dra. Deborah dos Santos Garruti (Orientadora)  
Embrapa Agroindústria Tropical.



---

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa  
Universidade Federal do Ceará.



---

Dr. Kirley Marques Canuto  
Embrapa Agroindústria Tropical.

A Deus.

Aos meus pais.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por encher minha vida de bênçãos e realizações.

A Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de realizar graduação e mestrado.

A Embrapa Agroindústria Tropical, pela oportunidade de realizar todos os experimentos da minha dissertação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo durante todo o período do mestrado.

Aos meus pais Alice e Pedro por sempre acreditarem em mim e em especial a minha mãe pelo exemplo de garra, determinação, alegria e por ser essa mãe maravilhosa.

Ao Ramiro, meu amor, por estar sempre ao meu lado, me encorajando e dedicando-se para a realização desta etapa.

A minha querida orientadora Deborah dos Santos Garruti por ser essa pessoa generosa, pelo exemplo de profissionalismo, por toda a confiança depositada em mim desde a graduação, pelos ensinamentos e inspiração.

Ao Co-orientador pesquisador Gustavo Adolfo Saavedra Pinto, pelos ensinamentos prestados e por se mostrar sempre disposto a me atender.

Aos membros da banca examinadora, os professores Sueli Rodrigues e Paulo Henrique Machado de Sousa e aos pesquisadores Edy Sousa de Brito, e Kirley Marques Canuto pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos analistas do Laboratório de Produtos Naturais da Embrapa Tigressa e Paulo por sempre estarem dispostos a me ajudar nas análises cromatográficas e sempre com muita simpatia.

A amiga Náyra, por estar comigo desde o início da graduação sempre me dando apoio.

Ao Analista Hilton César Magalhães, pela paciência e auxílio nas análises cromatográficas.

Aos meus amigos Eliardo, Mariana, Marina e Vanderson pelas boas gargalhadas, o ombro amigo e o apoio de sempre.

A minha amiga Marina Rebouças pela valiosa ajuda nas análises estatísticas e por sempre estar disposta a ajudar.

A minha amiga e companheira de mestrado Mariana Benigno, por tornar as horas incansáveis de estudo mais alegres.

A professora Maria do Carmo Passos Rodrigues (Carminha), por me iniciar na vida científica, pela sua orientação na graduação e pelos ensinamentos.

Aos meus amigos do Laboratório de Análise Sensorial e Olfatometria da Embrapa Ana Paula, Àfia, Carol, Darline, Renier pela ajuda e momentos de descontração.

A amiga e supervisora do Laboratório de análise sensorial da Embrapa Idila de Araújo por seu companheirismo, sempre estar disposta a ajudar e pelo seu bom humor.

Ao meu amigo Eric Tobaruela por me ajudar sempre que possível mesmo distante.

Ao amigo Renier Felinto pela ajuda nas extrações e por sempre levantar o meu astral.

A Danielle Ferreira pela ajuda na seleção de julgadores e pela sua simpatia.

A minha equipe de julgadores da olfatometria Darline, Danielle, Hilton e Renier por contribuírem com a minha pesquisa.

Ao Paulo, secretário da coordenação do mestrado, por nos auxiliar nas dúvidas e nos problemas, sempre com bom humor e profissionalismo.

A todos que conheço e que tive a oportunidade de conviver durante todo este período

## RESUMO

O néctar de frutos muito consistentes ou com alto teor de polpa de elevada consistência, segundo a legislação brasileira, deve conter no mínimo 20% de polpa. Esse é o caso do néctar de bacuri, fruto com alto teor de polpa de elevada consistência. Estudos mostram que o néctar de bacuri é melhor aceito pelos consumidores quando o mesmo é produzido com teor de polpa entre 10% e 12%. Para adequar a composição do néctar de bacuri à legislação vigente e atingir a aceitação dos consumidores, Aquino (2012) utilizou a maceração enzimática. O autor atribuiu essas alterações no perfil de compostos voláteis a hidrólise de compostos que estavam ligados glicosidicamente, tornando-os voláteis e aumentando a sua quantidade na fração livre. O objetivo desse estudo foi investigar as alterações ocorridas durante a maceração enzimática e pasteurização no perfil de compostos voláteis livres e ligados (glicosilados) da polpa de bacuri. A polpa de bacuri diluída foi homogeneizada, macerada enzimaticamente e pasteurizada, em cada uma dessas etapas, uma amostra foi retirada para análise de voláteis livres e glicosilados. Para caracterizar o perfil de voláteis livres foi utilizado a técnica de SPME em *headspace* e para o perfil de voláteis glicosilados foi utilizado uma coluna de Amberlite XAD-2. Na análise de compostos voláteis livres foram detectados 41 compostos na amostra homogeneizada, 56 na macerada e 56 na pasteurizada. Observou-se que com a maceração, houve aumento de compostos terpênicos, éteres e hidrocarbonetos e diminuição de aldeídos. A pasteurização, por sua vez, provocou a diminuição de compostos terpênicos, aldeídos e cetonas e o aumento de alcoóis. O estudo apontou que a maceração promoveu o surgimento de novos compostos e também o aumento na área dos picos dos compostos presentes na etapa anterior. Na pasteurização os compostos voláteis permaneceram praticamente os mesmos, ocorrendo apenas uma diminuição na concentração da maioria dos compostos. As classes químicas que apresentaram as maiores perdas foram os terpenos, alcoóis e aldeídos. Para a análise de compostos voláteis glicosilados foram detectados 56 compostos na amostra homogeneizada, 51 na macerada e 38 na pasteurizada. A etapa de homogeneização foi a que apresentou o maior número de compostos voláteis glicosilados. Na polpa macerada a maioria dos compostos diminuiu, chegando, em alguns casos, a quantidades traços ou ainda a não serem detectados, indicando que as enzimas utilizadas na maceração promoveram a quebra das ligações glicosídicas dos compostos voláteis glicosilados,

tornando-os livres. Dentre os compostos voláteis livres, os terpenos e os alcoóis foram os predominantes, enquanto o perfil de compostos voláteis glicosilados foi composto principalmente de ésteres e terpenos. A maceração enzimática influenciou no perfil de voláteis livres e glicosilados, nos livres promoveu a liberação de compostos voláteis que estavam ligados fisicamente na matriz viscosa da polpa e nos glicosilados promoveu a quebra da ligação glicosídica de vários compostos, com a liberação dos respectivos compostos voláteis, como também pela liberação de mais compostos que estavam presos na matriz viscosa. A pasteurização promoveu perdas por volatilização e/ou possível degradação de alguns compostos, como também fez aumentar a concentração de outros.

Palavras-chave: Bacuri; Compostos glicosilados; Maceração enzimática;

## ABSTRACT

The nectar of consistent or very high in high consistency pulp fruit, under Brazilian law, must contain at least 20% pulp. This is the case of bacuri nectar, fruit with high content of high consistency pulp. Studies show that the nectar bacuri is better accepted by consumers when it is produced with pulp content of between 10% and 12%. To adjust the composition of the nectar bacuri the current law and achieve consumer acceptance, Aquino (2012) used the enzymatic maceration. The author attributed these changes to the listing of compounds by hydrolysis of volatile compounds which were bound glycosidically making them volatile and increasing its amount in the unbound fraction. The aim of this study was to investigate the changes during the enzymatic maceration and pasteurization on the free and bound (glycosylated) pulp bacuri volatile compounds profile. The pulp was diluted bacuri homogenized and pasteurized enzymatically macerated in each of these steps, a sample was taken for analysis of free and volatile glycosylated. To characterize the profile of volatile free was used in the headspace SPME technique and the profile of volatile glycosides was used a column of Amberlite XAD-2. In the analysis of free volatile compounds detected in the 41 compounds were homogenized sample, 56 and 56 in the macerating pasteurized. It was observed that with the maceration, an increase of terpene compounds, ethers and hydrocarbons and reduction of aldehydes. The pasteurization, in turn, caused the decrease of terpene compounds, aldehydes and ketones and alcohols increase. The study found that maceration promoted the emergence of new compounds and also the increase in the peak area of the compounds present in the previous step. Pasteurization volatiles were practically the same, with just a reduction in the concentration of most compounds. Chemical classes with the highest losses were terpenes, alcohols and aldehydes. For the analysis of volatile compounds glycosylated compounds were detected in the 56 sample mixed, macerated at 51 and 38 in sanitized. The homogenization step was the one with the largest number of volatile compounds glycosylated. In most pulp macerated compounds decreased, reaching in some cases the traces or amounts not be detected, indicating that the enzymes used in the maceration promoted breaking the glycosidic bonds glycosylated volatile compounds, making them free. Among the free volatile compounds, terpenes and alcohols are predominant, while the profile of volatile compounds is mainly glycosides and terpene ester compound. The enzymatic maceration influence on volatile-free profile and glycosylated in free promoted the release of volatiles that were physically linked in the viscous matrix of pulp glycosylated promoted and breaking the glycosidic linkage of various compounds, with release of the

respective volatiles but also by releasing more compounds that were trapped in the viscous matrix. Pasteurization promoted losses by volatilization and / or degradation of some compounds possible, but also increased the concentration of the other.

Keywords: Bacuri; Glycosylated compounds; Enzymatic maceration;

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Bacuris inteiros e com parte da casca removida .....	5
Figura 2. Sistema de destilação e extração simultânea.....	10
Figura 3. Procedimento para extração por SPE.....	11
Figura 4. Mecanismo de exposição da fibra no <i>headspace</i> . .....	14
Figura 5. Fluxograma do processamento da polpa de bacuri. ....	18
Figura 6. Fluxograma da preparação da polpa para o processamento do néctar de bacuri. ....	20
Figura 7. Homogeneização da polpa de bacuri em reator BIOFLO 3000.....	22
Figura 8. Cromatógrafo gasoso acoplado a um olfatômetro (A) e análise olfatométrica (B) ..	26
Figura 9. Ficha de avaliação de intensidade de aroma. ....	26
Figura 10. Superfície de resposta e curvas de contorno para a intensidade de aroma em função do tempo de equilíbrio versus o tempo de exposição.....	34
Figura 11. Superfície de resposta e curvas de contorno para a quantidade de picos dos cromatogramas em função da temperatura versus o tempo de exposição.....	36
Figura 12. Superfície de resposta e curvas de contorno para a área total dos cromatogramas em função da temperatura versus o tempo de exposição.....	38
Figura 13. Cromatogramas de CG – EM das etapas de processamento da polpa diluída de bacuri: Homogeneização (A), Maceração (B) e Pasteurização (C).....	42
Figura 14. Diferentes classes químicas dos compostos voláteis livres identificados nas amostras estudadas. ....	43
Figura 15. Proposta de formação do hotrienol a partir do composto 2,6- dimetilocta-3,7-dieno-2,6- diol.....	45

Figura 16. ACP dos compostos voláteis livres da polpa diluída de bacuri nas diferentes etapas estudadas.....	46
Figura 17. Cromatogramas de CG – EM para os compostos voláteis glicosilados nas etapas de processamento da polpa diluída de bacuri: Homogeneização (A), Maceração (B) e Pasteurização (C).....	50
Figura 18. Diferentes classes químicas dos compostos voláteis glicosilados identificados nas amostras estudadas. ....	51
Figura 19. ACP dos compostos voláteis glicosilados da polpa diluída de bacuri nas diferentes etapas estudadas.....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização química da polpa de bacuri. ....	6
Tabela 2. Delineamento experimental para obtenção das condições de isolamento (temperatura, tempo de equilíbrio e tempo de exposição) dos compostos voláteis (valores reais e codificados).....	24
Tabela 3. Resultados do delineamento experimental. ....	31
Tabela 4. Efeitos estimados para a intensidade de aroma, quantidade de picos e área total dos cromatogramas.....	32
Tabela 5. Análise de variância para a intensidade do aroma de bacuri. ....	33
Tabela 6. Análise de variância para a quantidade de picos dos cromatogramas. ....	35
Tabela 7. Análise de variância para a área total dos cromatogramas. ....	37
Tabela 8. Compostos voláteis livres da polpa de bacuri diluída nas seguintes etapas do processamento: homogeneização, maceração e pasteurização.....	40
Tabela 9. Compostos voláteis glicosilados da polpa de bacuri diluída nas seguintes etapas do processamento: homogeneização, maceração e pasteurização.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIR	Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas Não Alcoólicas
ACP	Análise de Componentes Principais
ATT	Acidez total titulável
CEAPI	Centro de Abastecimento do Piauí
CG	Cromatógrafo Gasoso
DIC	Detector de Ionização em Chama
EM	Espectrômetro de Massas
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
ND	Não Detectado
NI	Não Identificado
ODP	Olfactory Detection Port
PMPC	Polpa Macerada com Pectinex e Celluclast
PMV	Polpa Macerada com Viscozyme
PMVC	Polpa Macerada com Viscozyme e Celluclast
R <sup>2</sup>	Coefficiente de Determinação
R <sup>2</sup> adj	Coefficiente de Determinação Ajustado
SDE	Destilação-Extração Simultânea
SPE	Extração em Fase Sólida
SPME	Microextração em Fase Sólida
SST	Sólidos Solúveis Totais
Tr	Traços

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1 Bacuri .....	4
2.1.1 Aspectos Gerais .....	4
2.1.2 Composição do Fruto .....	5
2.2 Compostos Voláteis.....	8
2.2.1 Métodos de Isolamento dos Compostos Voláteis.....	9
2.2.2 Separação e Identificação dos Compostos Voláteis .....	14
2.2.3 Compostos voláteis de bacuri.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	18
3.1 Material .....	18
3.1.1 Recepção/Pesagem .....	19
3.1.2 Seleção inicial .....	19
3.1.3 Pré-lavagem.....	19
3.1.4 Seleção final .....	19
3.1.5 Lavagem .....	19
3.1.6 Corte .....	19
3.1.7 Descascamento .....	19
3.1.8 Despolpa.....	20
3.1.9 Embalagem/Armazenamento .....	20
3.2 Maceração enzimática e pasteurização da polpa de bacuri .....	20
3.2.1 Pesagem.....	21
3.2.2 Diluição .....	21
3.2.3 Homogeneização .....	21
3.2.4 Maceração Enzimática (Adição de enzima e Incubação).....	22
3.2.5 Pasteurização.....	22
3.3 Análise dos Compostos Voláteis.....	23
3.3.1 Amostras .....	23
3.3.2 Extração dos componentes voláteis.....	23
3.3.2.1. Extração dos compostos voláteis livres.....	23
3.3.2.1.1 Otimização das condições de isolamento dos compostos voláteis livres .....	23
3.3.2.1.2 Extração dos compostos voláteis glicosilados.....	27

3.3.3	Análise Cromatográfica.....	28
3.3.3.1	Compostos voláteis livres.....	29
3.3.3.2	Compostos voláteis glicosilados .....	29
3.3.4	Identificação dos Compostos Voláteis .....	29
3.3.5	Quantificação dos compostos voláteis .....	30
3.3.6	Análise dos dados.....	30
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
4.1	Otimização das condições de extração dos voláteis livres por SPME .....	31
4.2.	Componentes voláteis livres.....	39
4.3.	Componentes voláteis glicosilados .....	46
4.4.	Componentes voláteis livres versus compostos glicosilados .....	53
5.	CONCLUSÃO .....	53
	REFERÊNCIAS .....	54

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, ultrapassado apenas pela China e Índia, produzindo anualmente cerca de 39 milhões de toneladas de frutos (FAO 2012). A fruticultura brasileira concentra-se principalmente nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul, onde as condições de clima são bem distintas, permitindo o cultivo de um número variado de plantas frutíferas, tanto as tropicais como as de clima temperado (VIEIRA et al., 2011). No entanto, a região Norte apresenta uma grande diversidade de espécies frutíferas nativas e exóticas de excelentes características comerciais, que são utilizadas tanto para consumo *in natura* como matérias-primas de produtos industrializados (AGUIAR, 2006). Dentre essas frutas destaca-se o bacuri (*Platonia insignis* Mart.).

O bacuri é um fruto redondo, com casca grossa, de cor amarelo-citrina e polpa muito viscosa. Apresenta grande potencial para o processamento industrial devido a suas características sensoriais agradáveis e riqueza nutricional, sendo comercializado como polpa congelada para a produção de sorvetes e sucos (SILVA et al., 2010).

Os consumidores brasileiros preferem sucos naturais, preparados na hora do consumo. No entanto, a elaboração manual torna-se inconveniente ao ritmo de vida acelerado da sociedade moderna e por essa razão, o consumidor tem demonstrando grande interesse em sucos prontos para o consumo. Sucos de fruta prontos para beber são bebidas naturais, refrescantes e ainda agregam vantagens nutricionais, o que contribui para sua boa aceitação (FERRAREZI, 2008). No Brasil, o mercado de sucos está em expansão, acompanhando a tendência mundial de consumo de alimentos saudáveis que oferecem saúde, conveniência, inovação, sabor e prazer. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcoólicas (ABIR), durante os últimos 5 anos, as bebidas não-alcoólicas nitidamente ganharam espaço, subindo de 51,6% para 53,2% de participação entre todas as bebidas vendidas no país (ABIR, 2012).

Como o mercado brasileiro se tornou altamente competitivo, as indústrias de sucos estão diversificando a sua linha de produtos. Além dos sucos concentrado, integral e reconstituído, o néctar se tornou outra opção de bebida. Por possuir menor teor de polpa, o preço dos néctares é menor que os preços empregados aos sucos integrais pasteurizados e sucos reconstituídos (PIRILLO e SABIO, 2009; FIGUEIRA et al., 2010). O consumo mundial

de néctares vem crescendo nos últimos anos, passando de 24 bilhões de litros em 2004 para 39 bilhões de litros em 2010 (CITRUS BR, 2014).

Néctar é a bebida não fermentada, obtida da diluição da polpa em água potável e com adição de açúcares ou de extrato vegetais e açúcares, podendo ser adicionada de ácidos, e destinada ao consumo direto (MAPA, 2003). A concentração de polpa no néctar de fruta é regulamentado pela Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003, e determina que o néctar de determinada fruta, cuja quantidade mínima de polpa não tenha sido fixada em Regulamento Técnico específico, deve conter no mínimo 30% da respectiva polpa, exceto no caso de frutas com acidez, consistência ou conteúdo de polpa muito elevados ou sabor muito forte e, que nesses casos, o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 20% (BRASIL, 2003).

Esse é o caso do néctar de bacuri, fruto com alto teor de polpa de elevada consistência. No entanto, Nazaré et al. (2000) conseguiram desenvolver um néctar de bacuri utilizando apenas 12% de polpa, enquanto Silva et al. (2007) relataram que o néctar com 10% de polpa foi a formulação mais aceita pelos consumidores. Para adequar a composição do néctar de bacuri à legislação vigente (20% de polpa) e ao mesmo tempo atingir a aceitação dos consumidores, Aquino (2012) utilizou a maceração enzimática da polpa de bacuri com uma mistura de pectinase e celulase.

A avaliação da qualidade da polpa de bacuri macerada enzimaticamente revelou um aumento de 23,3% no número de compostos voláteis, os quais são responsáveis pelo aroma e sabor de um alimento (AQUINO, 2012). No mesmo trabalho foi ainda observado um aumento de 12% na área total do cromatograma, a qual está relacionada com um aumento na concentração dos compostos. Os autores atribuíram essas alterações no perfil de compostos voláteis pela hidrólise de compostos que estavam ligados glicosidicamente, tornando-os voláteis e aumentando a sua quantidade na fração livre.

No entanto, a composição dos voláteis depende da matriz do alimento, pois podem estar presos pela viscosidade dos hidrocolóides, ou estrutura tridimensional de polissacarídeos e proteínas. Segundo Jones et al. (2008), os compostos voláteis apresentam maior dificuldade de se volatilizarem em meios de alta viscosidade, mas com o processo de maceração ocorre a liquefação do alimento, deixando-o menos viscoso e liberando os compostos voláteis. Segundo Boulanger e Crouzet (2001), as alterações de alguns compostos voláteis podem ser devidas a reações causadas pela ação das enzimas e pelo tratamento térmico em meio ácido.

Assim o objetivo deste estudo foi investigar as alterações ocorridas durante a maceração enzimática e pasteurização no perfil de compostos voláteis livres e ligados (glicosilados) da polpa de bacuri.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Bacuri

#### 2.1.1 Aspectos Gerais

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), espécie arbórea pertencente à família *Clusiaceae*, nativa da região Amazônica, é uma árvore frutífera e madeireira. Seu provável centro de dispersão é o estado do Pará, atingindo também os estados do Maranhão, Tocantins, Goiás, Mato Grosso e Piauí. Ocorre naturalmente em estado silvestre nas matas de terra firme e em vegetação aberta de transição, nas áreas descampadas, sendo raramente encontradas em florestas densas. Indiferente às condições de solos (pobres, arenosos ou argilosos), o bacurizeiro resiste a pronunciadas deficiências hídricas, assim como a temperaturas elevadas. Seu desenvolvimento é bom em áreas litorâneas, pois não exige grandes cuidados operacionais, o que possibilita também o cultivo com baixo custo, em virtude do aproveitamento de solos desgastados por culturas anuais. Sua disseminação ocorre pelas sementes ou por brotações que surgem espontaneamente nas raízes das plantas adultas. A árvore adulta pode alcançar de 15 m a 20 m de altura e pode produzir cerca de 500 frutos por temporada (BEZERRA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2002).

O fruto do bacurizeiro, o bacuri, é uma baga uniloculada, volumosa, com formato arredondado, ovoide ou quase circular de cor amarelo-cítrico (Figura 1), podendo apresentar de 7 cm a 15 cm de comprimento, 5 cm a 15 cm de diâmetro e 100 g a 1000 g de peso, com 50% a 80% de cascas, 12% a 30% de sementes e 4% a 30% de polpa viscosa e muito saborosa. Contém, em seu interior, de 1 a 5 sementes envolvidas pelo endocarpo, que é uma polpa viscosa e constitui a parte comestível do fruto. Alguns tipos, de ocorrência rara, apresentam frutos sem sementes, os quais têm despertado pouco interesse, pois possuem tamanho muito pequeno e baixo teor de sólidos solúveis totais na polpa. A maior parte do bacuri é formada pelo epicarpo e mesocarpo, que em conjunto, constituem a casca do fruto, a qual é de consistência rígido-coriácea e com espessura variando entre 0,7 cm e 2,0 cm (BEZERRA et al., 2005; CARVALHO, NAZARÉ, NASCIMENTO, 2003).

Figura 1. Bacuris inteiros e com parte da casca removida



Fonte: Aquino (2012)

O bacuri tem aproximadamente o tamanho de uma laranja, redondo, com casca grossa, e de cor amarelo-cítrico, contendo polpa branca, viscosa, mucilaginosa, fibrosa, succulenta, com sabor exótico, fortemente atraente, o que confere a esse fruto um grande potencial para os mercados interno e externo, podendo ser utilizado, tanto na forma in natura como para a agroindústria. É possível aproveitar a casca para a elaboração de doces, sorvetes e cremes, o que pode aumentar consideravelmente o rendimento do fruto.

### ***2.1.2 Composição do Fruto***

Aquino (2008) realizou a caracterização química e físico-química da polpa de bacuri, a qual pode ser observada na Tabela 1. Aguiar et al. (2008), trabalhando com frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro, encontraram variações de 9,30 a 15,09 °Brix para o teor de sólidos solúveis totais (SST), valores similares ao apresentado por Canuto et al. (2010). Para a acidez total titulável (ATT), houve uma variação entre os genótipos analisados, com média de 1,46%, resultado semelhante ao verificado por Souza et al. (2001) ao realizar essa mesma análise utilizando diferentes germoplasmas de bacuri. O pH e a relação SST/ATT também variaram bastante, de 2,76 a 3,64 e 4,80 a 34,26, respectivamente. O valor da relação SST/ATT para a polpa do bacuri maduro pode ser considerado elevado quando comparado ao de outros frutos, no mesmo estágio de maturação (TEIXEIRA, 2000).

Segundo Potter (1973), as discrepâncias verificadas na composição do fruto podem ser oriundas de fatores como: genética, ecologia, métodos de cultivo, maturação do fruto e condições de armazenagem. Carvalho et al. (2002), estudando um tipo de bacuri sem sementes, encontraram valores de pH (3,48) e acidez total titulável (1,12) semelhantes aos encontrados para bacuri com sementes (CANUTO et al., 2010; ROGEZ et al., 2004; FONTENELES et al., 2010), embora, em relação à acidez total titulável, Teixeira (2000) tenha registrado valores bem menores. O teor de sólidos solúveis totais (10,2 °Brix) e a relação SST/ATT (9,10) relatados para o bacuri sem sementes foram baixos em relação aos tipos de bacuri com sementes (14°Brix) (AGUIAR, 2006). Com base nesses resultados, os autores puderam concluir que o bacuri sem sementes possui pouco interesse comercial, pois os frutos são pequenos, com casca espessa e polpa com baixo teor de sólidos solúveis totais.

Tabela 1. Caracterização química da polpa de bacuri.

<b>Caracterização</b>	<b>Valores</b>
Umidade (g.100g <sup>-1</sup> )	78,79 ± 1,37
Extrato etéreo (g.100g <sup>-1</sup> )	1,46 ± 0,08
Proteína (g.100g <sup>-1</sup> )	1,31 ± 0,12
Cinzas (g.100g <sup>-1</sup> )	0,38 ± 0,02
Açúcares totais (g.100g <sup>-1</sup> )	10,56 ± 0,24
Açúcares redutores (g.100g <sup>-1</sup> )	5,89 ± 0,27
RIA <sup>1</sup> (g.100g <sup>-1</sup> )	7,59 ± 0,18
Pectina (g.100g <sup>-1</sup> )	3,33 ± 0,19
Hemicelulose (g.100g <sup>-1</sup> )	1,67 ± 0,31
Celulose e lignina (g.100g <sup>-1</sup> )	2,59 ± 0,06
Fenólicos totais (g.100g <sup>-1</sup> )	0,51 ± 0,00
Acidez total titulável (g.100g <sup>-1</sup> )	1,34 ± 0,05
Sólidos solúveis totais (°Brix)	19,87 ± 0,15
Vitamina C (mg.100g <sup>-1</sup> )	3,88 ± 0,00
pH	3,56±0,01
Atividade de água	0,983±0,00

<sup>1</sup>RIA = Resíduos insolúveis em álcool. Fonte: AQUINO (2008).

A comercialização do bacuri é realizada, principalmente, nas centrais de abastecimentos e feiras livre de Belém-PA, São Luís-MA e Teresina-PI, mas a demanda não

tem sido suficiente para atender à demanda crescente do mercado consumidor dessas capitais. A polpa do fruto congelada está alcançando alta cotação em algumas regiões do país e tem despertado a atenção do mercado internacional. É comercializada, principalmente, nas grandes redes de supermercados a preços superiores aos de outras frutas tropicais, como cupuaçu, cajá, goiaba e graviola. Portanto, a médio e longo prazo essa espécie pode se estabelecer como uma nova e excelente alternativa para os mercados interno e externo de frutas exóticas. Por possuir aroma e sabor agradáveis, tornou-se bastante procurado e consumido de diferentes formas tanto como fruta fresca para o consumo in natura como na preparação de cremes, pudins, refrescos, sorvetes, doces, geleias, compotas, bolos e iogurte. Mas apesar de suas diversas utilidades, apenas a polpa tem sido economicamente utilizada, sendo o seu principal produto o néctar (SILVA et al., 2010; SOUZA et al., 2000).

Para a produção do néctar de bacuri é necessária a adição de no mínimo 20% de polpa (Instrução Normativa nº12, de 4 de setembro de 2003) valor exigido pela legislação brasileira, no entanto estudos com néctares de bacuri, encontrados na literatura, revelam formulações contendo concentrações de polpa muito abaixo desse valor. Isso ocorre devido à elevada consistência da polpa, gerada pela grande quantidade de pectina, hemicelulose, celulose e lignina presentes na parede celular dos tecidos da fruta, que torna seus produtos muito espessos, quando formulados de acordo com os Padrões de Identidade e Qualidade estabelecidos.

A produção de néctar de bacuri de acordo com a legislação brasileira pode ser conseguida com a redução da consistência da polpa de bacuri através da técnica da maceração, que utiliza enzimas para reduzir a consistência da polpa a partir da degradação da parede celular dos tecidos da fruta (Silva et al., 2005). No entanto a utilização desta técnica pode provocar alterações no sabor e aroma do fruto, comprometendo a qualidade sensorial do produto final (Pinto, 2006).

No estudo de eficiência da maceração enzimática na polpa de bacuri Aquino (2008) relatou que a polpa macerada sofreu modificações significativas, como redução do teor de pectina, aumento do teor de açúcares redutores totais e de compostos voláteis, verificou ainda através da análise sensorial que é possível formular um néctar de bacuri com pelo menos 20% de polpa por meio da maceração enzimática, atendendo as exigências da legislação brasileira, que diz que o conteúdo de polpa não deve ser inferior a 20% (m/m).

Aquino (2012), estudando a maceração enzimática em néctar de bacuri concluiu que dentro das concentrações estudadas, a melhor combinação foi a aplicação de 40  $\mu\text{L}$  de Viscozyme L/100g de polpa e 100  $\mu\text{L}$  de Celluclast/100g de polpa que atingiram a máxima maceração da polpa de bacuri, acabando totalmente com a sinerese e reduzindo a consistência em torno de 80,12 %.

## 2.2 Compostos Voláteis

O sabor, fator decisivo na escolha e aceitação de um alimento ou bebida, é uma resposta integrada às sensações do gosto e aroma. O gosto é atribuído a compostos não voláteis, percebidos na língua, que determinam os gostos básicos conhecidos como doce, amargo, salgado, ácido e umami. O aroma, por outro lado, é bastante complexo, sendo devido a dezenas e até centenas de compostos voláteis, representantes de diversas classes químicas, com diferentes propriedades físico-químicas e *thresholds* (THOMAZINI & FRANCO, 2000). Assim, o sabor característico do alimento é dado por esses compostos voláteis que impressionam os receptores olfativos através das narinas, antes da ingestão, e através da cavidade retro-nasal, que liga a boca à cavidade olfativa, durante a mastigação e deglutição.

A percepção do aroma não depende de um único composto, mas sim do balanço global entre eles. Nenhum constituinte individual é totalmente responsável pelo aroma característico de um alimento, mas em alguns produtos existem um ou mais componentes que, sozinhos, lembram o seu aroma, e estes são chamados de compostos caráter-impacto. Os demais compostos são os contribuintes que são responsáveis para se obter o sabor característico de um alimento (FRANCO, 2003).

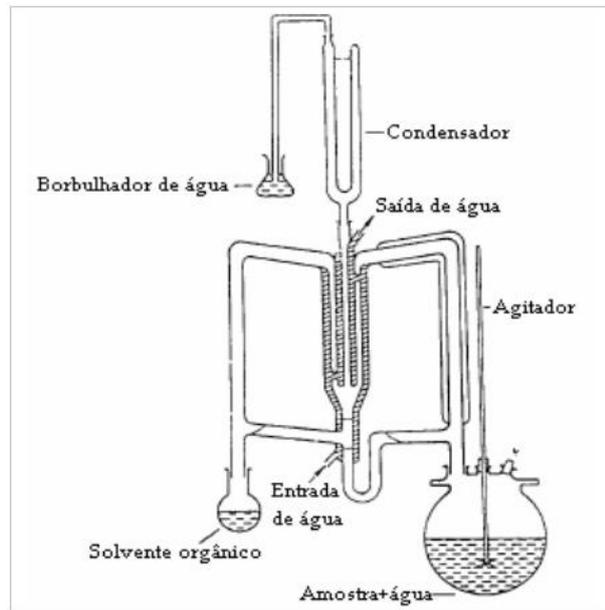
Existem também compostos ligados glicosidicamente, especificamente em frutas, incluindo frutas tropicais, os quais são considerados precursores potenciais de aroma e sabor, podendo ser liberados por hidrólise enzimática ou ácida durante o pré-tratamento ou o processamento industrial dos frutos. A pesquisa desses voláteis glicosilados em frutas é importante para a compreensão da biogênese do sabor durante o amadurecimento de frutos e por abordar uma informação útil para predizer o sabor de produtos de frutas, como sucos e vinhos (PÉREZ et al., 1997).

### 2.2.1 Métodos de Isolamento dos Compostos Voláteis

Os componentes voláteis normalmente são instáveis e termolábeis, e podem, com qualquer aumento de temperatura, sofrer reações químicas, tais como rearranjos, hidrólises, ciclizações, oxidações, entre outras, alterando a composição original de voláteis da amostra (THOMAZINI & FRANCO, 2000). Assim, a etapa de isolamento torna-se um ponto crítico, pois o aumento da temperatura ou aeração excessiva pode acarretar degradação de alguns compostos e/ou formação de artefatos (compostos não presentes na amostra), fazendo com que o aroma analisado não seja mais correspondente ao aroma original do produto. Dessa forma, os métodos de isolamento devem ser eficientes e brandos devido à quantidade, estabilidade e volatilidade desses compostos, de preferência com métodos simples, rápidos e de baixo custo. Dentre os métodos de isolamento tradicionais, a destilação-extração simultânea (SDE) é extensivamente aplicada para análise de compostos voláteis de aromas. Dentre os métodos recentes para análise de voláteis podem se destacar a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) (AUGUSTO, LOPES, ZINI, 2003).

No método de extração SDE o isolamento e a concentração dos voláteis são feitas simultaneamente (Figura 2). A amostra é colocada em um balão e o solvente em outro e ambos são inseridos nas duas extremidades do sistema. Os vapores da amostra e do solvente entram em contato acima do condensador, e após a condensação, escoam para o sifão posicionado no sistema abaixo do condensador. Como o solvente é imiscível com a água cada um deles volta para os respectivos balões, gerando um processo de extração contínuo. Esse sistema objetiva minimizar a degradação dos compostos voláteis de interesse e a formação de artefato através de simples redução do tempo de análise e uso de pouca quantidade de solvente orgânico (FRANCO, 2003).

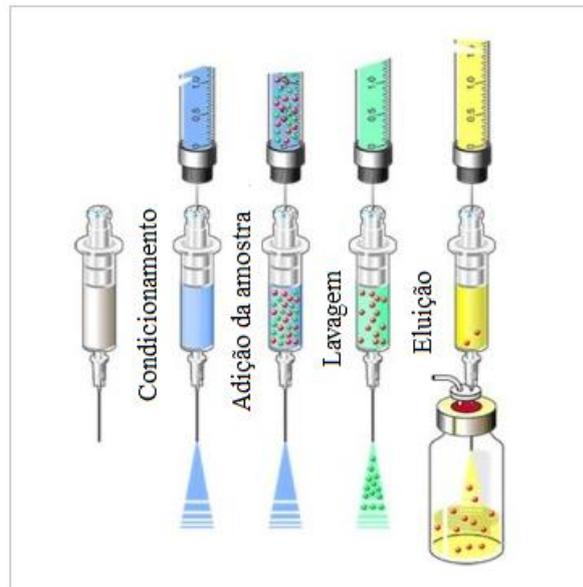
Figura 2. Sistema de destilação e extração simultânea.



Fonte: KUBOTA, 2007

O método de SPE é baseado nos mecanismos de separação de cromatografia líquida de baixa pressão. Nesse método emprega-se uma pequena coluna aberta, denominada cartucho de extração, a qual contém a fase sólida (denominada fase estacionária em cromatografia) que ser de vários tipos de materiais e, dependendo do tipo de interação, pode ser de fase reversa, de fase normal ou adsorção. Os procedimentos de extração são: o condicionamento do cartucho (ou microcoluna), adsorção dos voláteis, a lavagem e a eluição (Figura 3). A amostra é colocada no início do cartucho e aspirada com pequeno vácuo, ou pressionada levemente com uma seringa ou gás de forma a penetrar no cartucho. Após a drenagem de toda a fase líquida, a amostra que fica retida no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente, de forma a coletar apenas os compostos de interesse para análise (LANÇAS, 2004).

Figura 3. Procedimento para extração por SPE.



Fonte: [www.gerstelus.com](http://www.gerstelus.com)

Varias são os métodos aplicados para isolar os compostos voláteis e um único método de isolamento não reflete exatamente o aroma presente em um alimento e suas proporções. Portanto, é necessária a combinação de métodos analíticos quando se deseja obter um perfil completo dos constituintes do aroma de um determinado alimento (REINECCIUS, 2006).

Franco e Janzanti (2004) reportaram duas abordagens para o isolamento dos compostos voláteis de um alimento: a Análise Total, que determina todos os componentes voláteis presentes na matriz do alimento, e a Análise do *Headspace* (espaço vazio formado pela amostra acondicionada em um sistema fechado), que engloba a análise dos componentes voláteis presentes na fase gasosa em equilíbrio sobre a amostra (líquida ou sólida), representando mais fielmente o que é percebido pelo olfato.

Na Análise Total, um método ainda bastante empregado é a destilação-extração simultânea (SDE), desenvolvida por Nickerson e Likens em 1966. Esse sistema é muito empregado pelos pesquisadores, por minimizar a degradação dos compostos voláteis, redução do tempo de análise e utilizar pouca quantidade de solvente, quando comparado com os métodos de extração por solvente. No entanto, o emprego de calor na destilação pode acarretar a formação de artefatos e compostos furânicos. Os compostos gerados incluem ainda

os alcanos, alquenos, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos de cadeia curta, sendo que os três últimos possuem um baixo limiar de detecção (FACUNDO, 2009; WAGNER, 2008).

A Análise do *Headspace* pode ser estática ou dinâmica. Na técnica de *headspace* estático, a amostra é mantida em um recipiente fechado até que atinja o equilíbrio termodinâmico dos compostos voláteis entre a fase líquida ou sólida e a fase gasosa, normalmente à temperatura ambiente, e em seguida uma alíquota da fase gasosa é retirada com uma seringa *gas-tight* e injetada no cromatógrafo gasoso. Para Thomazini e Franco (2000), cromatogramas pobres e limitados a poucos compostos voláteis são obtidos com essa técnica, causados pela presença de analitos em baixas concentrações, devido a suas pressões parciais de vapor serem significativamente menores do que a pressão parcial de vapor da água.

No método de *headspace* dinâmico há uma coleta contínua dos compostos voláteis, realizada por um sistema a vácuo ou pela passagem de um gás inerte. Utiliza-se uma armadilha, recheada com material adsorvente, que coleta e concentra os compostos voláteis. Nesses sistemas, as condições ótimas de coleta dos compostos voláteis dependem do tempo de captura, do tipo e dimensão do polímero da armadilha (THOMAZINI e FRANCO, 2000). Posteriormente, os compostos voláteis são eluídos da armadilha, no sentido oposto ao da coleta, por um solvente orgânico adequado, ou podem ser dessorvidos termicamente no injetor do cromatógrafo.

A análise do *headspace* é um dos melhores métodos disponíveis para análise de compostos com baixos pontos de ebulição. A técnica fornece boa reprodutibilidade e confere a manutenção da integridade química das moléculas, eliminando a formação de substâncias indesejáveis. Desse modo, os voláteis retidos e coletados a partir do *headspace* podem representar e caracterizar fielmente o aroma de um alimento (THOMAZINI, 1998).

Outra técnica mais recente de isolamento de voláteis é a microextração em fase sólida (solid phase microextraction - SPME), desenvolvida por Pawliszyn (1990). SPME (Figura 2) é uma técnica de preparação de amostras, isenta de solvente, que integra extração e concentração, tanto de compostos não voláteis de amostras líquidas, como de compostos voláteis do *headspace* de amostras líquidas ou sólidas. O instrumento utilizado é constituído por uma fibra de sílica fundida recoberta por um polímero, um sólido adsorvente ou uma combinação dos dois, numa única etapa de extração. O uso de SPME apresenta algumas

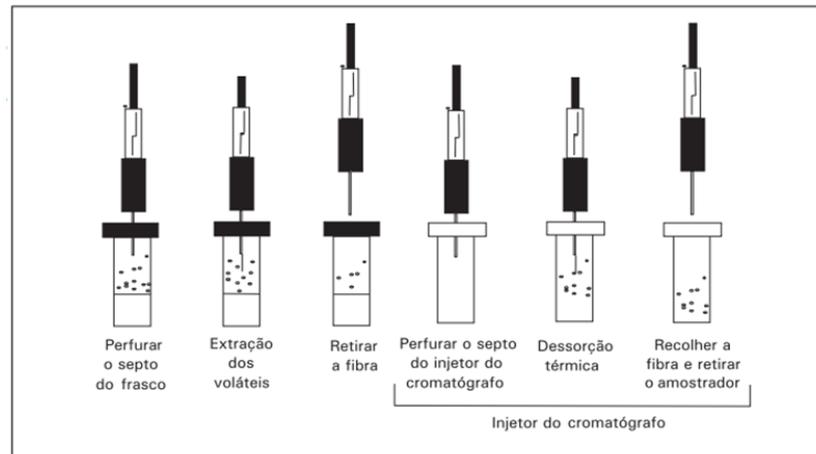
vantagens, como a facilidade de extração de compostos voláteis, rapidez e necessidade de pouca amostra, além de apresentar alta sensibilidade e baixo custo (KATAOKA, LORD e PAWLISZYN, 2000; IBÁÑEZ et al., 1998; PAWLISZYN et al., 1992).

A fibra de sílica é um filamento capilar mantido em uma agulha oca (tubo hipodérmico retrátil). A extremidade exibível da fibra (10–20 mm) é recoberta por um filme (7–100  $\mu\text{m}$ ), cuja natureza química é semelhante à dos recheios de colunas cromatográficas (Ex.: polidimetilsiloxano – PDMS, poliacrilato – PA, carbowax – CW, carboxen – CAR, divinibenzeno – DVB). Esse filme age como uma esponja, concentrando os analitos orgânicos na sua superfície durante a absorção ou adsorção da matriz da amostra. O recobrimento empregado na fibra depende das características físico-químicas (polaridade, peso molecular) dos constituintes de interesse da amostra (KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

A técnica SPME pode ser usada em dois modos: extração direta e *headspace*. Na extração de modo direto, a fibra revestida é inserida diretamente em uma amostra líquida, e os analitos são extraídos diretamente da matriz. No modo *headspace*, a fibra é colocada logo acima do volume da matriz (que pode ser líquida ou sólida) em um frasco fechado. O modo *headspace* é o método usado para análise de compostos voláteis de frutos (KATAOKA et al., 2000; PAWLISZYN et al., 1997).

O mecanismo de extração se dá pela exposição da superfície ativa da fibra no *headspace*, conforme a Figura 4. Primeiramente a amostra, em sistema fechado, começa a liberar os voláteis para o ambiente até que se estabeleça um equilíbrio entre as concentrações dos compostos voláteis na amostra e no espaço superior acima da mesma (*headspace*). Em seguida, a fibra é exposta para que adsorva os voláteis do *headspace*. O tempo de exposição é determinado assim que ocorrer novamente um equilíbrio, agora entre o *headspace* e a fibra exposta. Terminado o tempo de exposição, a fibra é recolhida ao interior do seu suporte (*holder*) e retirada do sistema. As moléculas adsorvidas são, então, expostas diretamente em um cromatógrafo a gás, inserindo-se a fibra no injetor, no qual elas são desorvidas termicamente (KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

Figura 4. Mecanismo de exposição da fibra no *headspace*.



Fonte: CANUTO, GARRUTI, MAGALHÃES, 2011.

### 2.2.2 Separação e Identificação dos Compostos Voláteis

Os compostos voláteis presentes em um alimento são misturas complexas, portanto qualquer que seja o método de isolamento utilizado, a análise requer sua separação, pela aplicação de metodologias ou técnicas bastante seletivas, sensíveis e eficientes (THOMAZINI e FRANCO, 2000).

A cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) é um método físico de separação dos componentes de uma mistura, adequado à pesquisa dos componentes do aroma dos alimentos. Por ser associada às colunas capilares de sílica fundida, a cromatografia gasosa oferece alta resolução e eficiência, tornando possível a análise de centenas de substâncias de uma mesma amostra (FRANCO e JANZANTTI, 2004; GROB, 2004).

A eficiência do processo cromatográfico é influenciada por fatores como: técnica de injeção da amostra, tipo de injetor (*split/splitless*, *on-column* e *programmed temperature vaporizer*), utilização do insersor (*liner*) adequado, espessura e tipo de fase estacionária, comprimento da coluna, bem como o tipo e a velocidade do gás de arraste (WAGNER, 2008).

O objetivo da pesquisa é que vai ditar quais tipos de análise dos constituintes voláteis serão realizados. Assim, quando se deseja apenas quantificar determinados compostos, geralmente aplica-se a Cromatografia Gasosa acoplada a um detector de ionização em chama (CG-DIC), ou outro tipo de detector mais adequado ao composto analisado. Por exemplo,

utiliza-se um detector Fotométrico em Chama (DFC) ou Nitrogênio-Fósforo (DNF) quando se analisa compostos sulfurados e nitrogenados, respectivamente. Mas se o objetivo é a análise qualitativa dos compostos voláteis, o espectrômetro de massas (CG-EM) é o detector mais adequado. Entretanto, outros instrumentos de identificação podem ser aplicados, como o infravermelho próximo e a ressonância magnética nuclear (WAGNER, 2008).

A pesquisa de aromas foi impulsionada com a introdução do espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso. Esse sistema tem se tornado uma das ferramentas principais na pesquisa do aroma, uma vez que alia uma técnica eficiente de separação com uma técnica poderosa de identificação. Nesse sistema, a coluna capilar é introduzida diretamente na fonte de íons do espectrômetro de massas, que fornece informações qualitativas dos analitos (espectro de massas), permitindo identificar e quantificar as substâncias que estão sendo eluídas da coluna cromatográfica. No entanto, o detector de massas tem sua aplicação limitada para a quantificação, pois sua sensibilidade e a faixa linear são muito menores do que em outros detectores (GARRUTI, 2001).

Os espectrômetros de massas acoplados ao cromatógrafo gasoso são aparelhos modernos e sofisticados que permitem obter a varredura dos compostos voláteis. As moléculas no estado gasoso são ionizadas em regiões de alto vácuo ( $10^{-8}$  atm), produzindo íons e fragmentos de íons que são direcionados para um analisador de massa/carga e ao final coletados pelo detector. A representação dos resultados constitui-se de um espectro de massas, o qual mostra a distribuição das espécies iônicas e suas abundâncias relativas. Cada composto, dependendo de sua configuração química, sofre fragmentações particulares, gerando um espectro de massas característico. As características dos espectros de massas são usadas na identificação de uma ampla variedade de compostos orgânicos. Existem bancos de dados que auxiliam na identificação do composto desconhecido por meio da comparação do seu espectro com espectros de padrões puros.

### **2.2.3 Compostos voláteis de bacuri**

Alves e Jennings (1979), estudando os constituintes voláteis de várias frutas amazônicas identificaram, através da destilação-extração simultânea (SDE), a predominância de linalol e seus óxidos *cis* e *trans* na polpa de bacuri e que os compostos linalol, 2-heptanona

e de acetato de *cis*-3-hexenila seriam os responsáveis pelo aroma característico de bacuri. Concluíram que o aroma típico do bacuri não é devido a um único composto, mas é provavelmente o resultado de uma resposta integrada de um amplo espectro de compostos. Villachica et al. (1996) também relataram a presença de linalol e 2-heptanona em polpa de bacuri. Boulanger et al. (1999), por meio da técnica de isolamento SPE, encontraram, na fração livre da polpa de bacuri, álcoois terpênicos, entre eles, o linalol e compostos relacionados, linalol furanóxicos e piranóxicos, hotrienol e vários dimetil-octadiendióis. Foram ainda encontrados grandes quantidades de 4-metoxi-2,5-dimetil-3-(2H)-furanona. Nesse mesmo estudo relatam a presença dos compostos: álcool benzílico, 2-feniletil, (E) linalol furanóxido e glicosídeos (S)-linalol e benzil, 2-feniletil, e rutinosídeo (S)-linalol como os glicosídeos mais importantes na polpa de bacuri.

Boulanger e Crouzet (2001), ao estudarem as alterações dos compostos voláteis da polpa de bacuri durante tratamento com utilizando a técnica simultânea de destilação / extração (SDE) em pH 3 (natural do bacuri) e a pH 7, observaram um aumento da quantidade de terpenos oxigenados e hidrocarbonetos terpenicos e aldeídos em menor quantidade, em relação ao outro método utilizado, o extração em fase sólida (SPE), foram encontrados os compostos: linalol, linalol furanóxicos, R-terpineol, hotrienol, óxido de nerol, geraniol e nerol. Estes resultados podem ser parcialmente explicados pela hidrólise de compostos glicosidicamente ligados identificados na polpa de bacuri. Rearranjos também foram observados durante o tratamento térmico, como por exemplo, a formação de linalol e R-terpineol, compostos resultantes do rearranjo do 2,6-dimetiloct-1-en-3,7-diol. Assim concluíram que as reações de oxidação que ocorreram durante SDE a pH 3, mais particularmente em relação aos óxidos de piranóides de linalol, foram parcialmente resultantes da oxidação não enzimática do linalol. Houve um aumento de furfural e 4-metoxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona foi observado quando o SDE realizou-se em pH de 3. As modificações da concentração de aldeídos alifáticos, conhecidos como compostos de oxidação lipídica, e de ésteres de ácidos graxos foram concordantes com a redução observada de concentrações de ácido palmítico e linoléico durante este tratamento. Além disso, quantidades importantes de 2 - acetil - 1 - pirrolina foram encontradas no extrato obtido por SDE a pH 7.

Aquino 2008, ao pesquisar o efeito da maceração enzimática na polpa de bacuri observou um aumento no número de picos e contagem de área total dos picos do cromatograma na polpa macerada em relação a polpa não macerada.

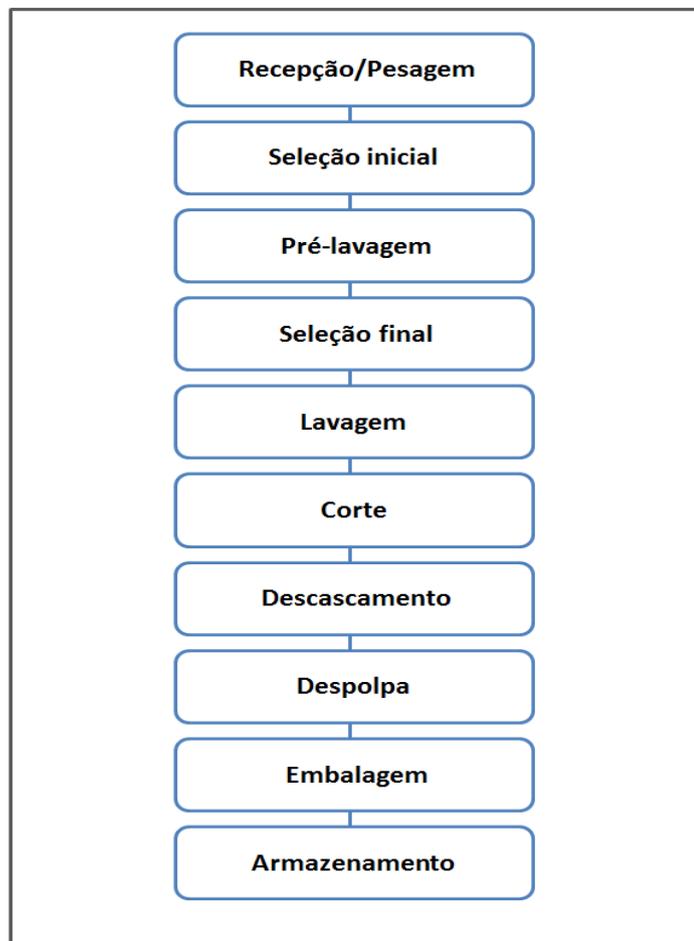
Aquino (2012), estudando os voláteis da polpa de bacuri macerado enzimaticamente encontrou 31 compostos voláteis no isolado da amostra controle (polpa sem adição de enzima), 34 na polpa macerada com viscozyme (PMV), 42 na polpa macerada com viscozyme e celluclast (PMVC) e 37 na polpa macerada com pectinex e celluclast (PMPC). Observou-se um aumento da área do (*E*) óxido de linalol e  $\beta$ -linalol e diminuição da área do decanal após a maceração enzimática. O composto terpeno hotrienol tornou-se um dos compostos com maior contagem de área após a maceração. Relatou ainda que houve um aumento do número de cetonas de 1 (amostra controle) para 4 (PMV), 6 (PMVC) e 3 (PMPC). Esse autor concluiu que algumas dessas mudanças, possivelmente, deveram-se à hidrólise dos compostos glicosidicamente ligados, aumentando a quantidade de compostos na fração livre.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

Foi utilizada polpa de bacuri obtida de frutos adquiridos no Centro de Abastecimento do Piauí (CEAPI), Teresina/PI, e transportados para a Embrapa Agroindústria Tropical, onde foram submetidos ao processamento conforme o fluxograma apresentado na Figura 5.

Figura 5. Fluxograma do processamento da polpa de bacuri.



Fonte: Aquino 2012

### ***3.1.1 Recepção/Pesagem***

Os frutos foram recebidos e pesados no Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical

### ***3.1.2 Seleção inicial***

Foram selecionados os melhores frutos e aqueles muito injuriados ou que se encontravam em fase de senescência muito avançada foram descartados como também pedaços de folhas, caules, pedras e outras sujidades.

### ***3.1.3 Pré-lavagem***

Foi utilizada água corrente para a remoção de terra aderida aos frutos e outras sujidades.

### ***3.1.4 Seleção final***

A seleção final dos frutos teve como finalidade padronizar o seu estágio de maturação, utilizando como critério frutos com casca sem danos e com coloração, predominantemente, amarela.

### ***3.1.5 Lavagem***

Os frutos foram lavados em água contendo  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro livre com imersão de 20 minutos.

### ***3.1.6 Corte***

A abertura dos frutos ocorreu com o auxílio de um martelo de borracha.

### ***3.1.7 Descascamento***

A separação da casca da polpa foi realizada manualmente.

### ***3.1.8 Despolpa***

A polpa foi separada da semente em despoldadeira BONINA modelo 0,25 df .

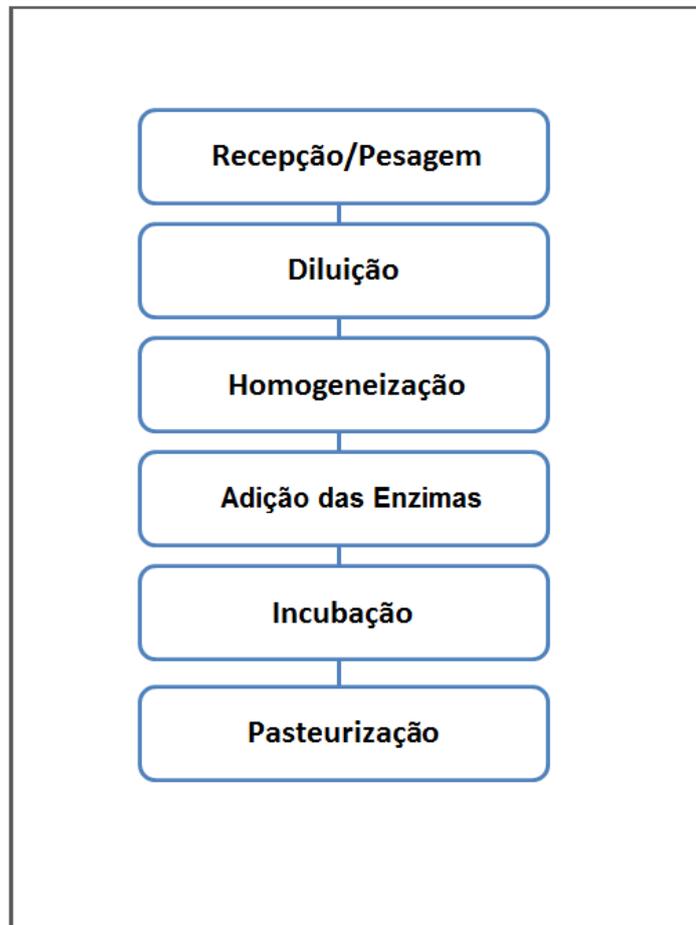
### ***3.1.9 Embalagem/Armazenamento***

A polpa recém-extraída foi embalada em sacos de polietileno, fechados com seladora e finalmente, armazenada em freezer a -20 °C.

## **3.2 Maceração enzimática e pasteurização da polpa de bacuri**

A finalidade da maceração enzimática foi reduzir a consistência da polpa de bacuri para permitir que o néctar dessa fruta atenda aos padrões da legislação vigente (20% de polpa). Essa operação foi realizada com a polpa de bacuri já diluída, como se estivesse sendo preparada para a produção de néctar (embora o processo de produção de néctar não tenha sido concluído), e após a incubação, o material foi pasteurizado para interromper a ação das enzimas. As etapas são apresentadas no fluxograma da Figura 6.

Figura 6. Fluxograma da preparação da polpa para o processamento do néctar de bacuri.



Fonte: Aquino 2012

### ***3.2.1 Pesagem***

Inicialmente foi pesada uma quantidade suficiente de polpa para que a formulação do néctar contivesse 20 % de polpa de bacuri.

### ***3.2.2 Diluição***

A polpa foi diluída com água potável.

### ***3.2.3 Homogeneização***

Foram homogeneizados 4,5 L de polpa diluída durante 2 minutos. Essa etapa foi realizada em um reator BIOFLO 3000 (Figura 7) com capacidade para 12 L,.

Figura 7. Homogeneização da polpa de bacuri em reator BIOFLO 3000.



Fonte: Produção do próprio autor.

### ***3.2.4 Maceração Enzimática (Adição de enzima e Incubação)***

As preparações enzimáticas utilizadas foram Viscozyme L e Celluclast, ambas adquiridas comercialmente. A escolha por essas preparações enzimáticas, bem como a quantidade a ser adicionada, o tempo e temperatura de incubação, foram baseadas no estudo de Aquino (2012). A maceração ocorreu no reator BIOFLO 3000 com capacidade para 12 L, à temperatura de 30°C, por 80 min.

### ***3.2.5 Pasteurização***

Após a maceração enzimática a polpa diluída foi envazada em garrafas de vidro de 250 ml e em seguida foram pasteurizadas. A pasteurização foi realizada em banho-maria a 90 °C por 15 segundos sob constante agitação manual com posterior resfriamento em banho de gelo até a temperatura atingir 52 °C (AQUINO, 2012).

### 3.3 Análise dos Compostos Voláteis

#### 3.3.1 Amostras

Para a identificação e quantificação dos compostos voláteis foram coletadas amostras do néctar de bacuri em diferentes etapas do processamento:

- homogeneização (polpa diluída não macerada);
- maceração (polpa diluída macerada);
- pasteurização

#### 3.3.2 Extração dos componentes voláteis

##### 3.3.2.1. Extração dos compostos voláteis livres

Para a extração dos compostos voláteis livres foi utilizada a técnica de microextração em fase sólida (SPME). Foi empregada neste estudo a fibra de revestimento misto DVB/CAR/PDMS, de 30  $\mu\text{m}$  de espessura de filme e 10 mm de comprimento (Supelco, Bellefonte, PA, USA). A fibra de SPME foi pré-condicionada a 270°C por 60 min no injetor do cromatógrafo gasoso.

As amostras (5 g) foram colocados em um *vial* de 20 g para coleta de voláteis e adicionadas de 5 mL de água deionizada, 300  $\mu\text{l}$  de acetato de butila (padrão interno) e 30% NaCl p.a. para promover a inibição enzimática (no caso das amostras não pasteurizadas) e aumentar a pressão de vapor, facilitando a remoção dos compostos. As análises foram feitas em triplicatas.

##### 3.3.2.1.1 Otimização das condições de isolamento dos compostos voláteis livres

As condições analíticas para o isolamento foram determinadas a partir da metodologia de análise de superfície de resposta (MSR), onde o efeito combinado da temperatura, tempo de equilíbrio ( $T_{\text{Equil}}$ ) e tempo de exposição ( $T_{\text{Expos}}$ ) (variáveis independentes) sobre a intensidade de aroma do extrato, quantidade de picos e área total do cromatograma (variáveis dependentes) foi avaliado através de um delineamento fatorial  $2^3$  completo do tipo composto

central rotacionado com 3 repetições no ponto central (RODRIGUES; IEMMA, 2005), gerando 17 tratamentos (ensaios cromatográficos) (Tabela 2).

Após o tempo de equilíbrio, a fibra de SPME foi introduzida no *vial* através do septo e exposta no *headspace*. Após o término do tempo de exposição da fibra, ela foi recolhida, removida do *vial* e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso para dessorção térmica dos analitos e realização da separação cromatográfica. A quantidade de picos e área total foi obtida do relatório do cromatograma, e as respostas sensoriais (intensidade do aroma do extrato) foram obtidas por meio do olfatômetro Olfactory Detection Port (ODP-3) da Gerstel, acoplado ao injetor do cromatógrafo.

Tabela 2. Delineamento experimental para obtenção das condições de isolamento (temperatura, tempo de equilíbrio e tempo de exposição) dos compostos voláteis (valores reais e codificados).

Ensaio	Valores reais			Valores codificados		
	Temperatura	T. Equilíbrio	T. Exposição	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	31	6	25	-1	-1	-1
2	49	6	25	+1	-1	-1
3	31	24	25	-1	+1	-1
4	49	24	25	+1	+1	-1
5	31	6	55	-1	-1	+1
6	49	6	55	+1	-1	+1
7	31	24	55	-1	+1	+1
8	49	24	55	+1	+1	+1
9	25	15	40	-1,68	0	0
10	55	15	40	+1,68	0	0
11	40	0	40	0	-1,68	0
12	40	30	40	0	+1,68	0
13	40	15	15	0	0	-1,68
14	40	15	55	0	0	+1,68
15	40	15	40	0	0	0
16	40	15	40	0	0	0
17	40	15	40	0	0	0

a. Análise sensorial

Para a análise da intensidade do aroma de bacuri do extrato, foram recrutados 20 voluntários dentre os funcionários e bolsistas da Embrapa Agroindústria Tropical, os quais foram selecionados quanto a sua sensibilidade olfativa. Para tanto, utilizou-se uma solução padrão de hexanoato de etila  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$  diluída cinco vezes de modo serial 1:10, obtendo-se, assim, 6 amostras. Cada diluição foi analisada contra água deionizada através do teste triangular, começando-se com a diluição mais concentrada. Os provadores que erravam o teste eram rejeitados e não participavam mais do teste da diluição seguinte. Foram selecionados os quatro julgadores que acertaram o teste triangular da solução mais diluída, ou seja, conseguiram perceber o odor uma solução de hexanoato de etila a  $0,001 \mu\text{g/L}$ , diferenciando-a da água.

No cromatógrafo gasoso, uma transferência instantânea dos compostos sorvidos na fibra de SPME foi necessária para possibilitar a avaliação do extrato como um todo, evitando o seu fracionamento na coluna. Assim, uma coluna inativada de 1 m de comprimento foi instalada ligando o injetor do cromatógrafo a gás (VARIAN modelo 3800) a um olfatômetro. A vazão na coluna foi de  $1,5 \text{ mL.min}^{-1}$  de gás hidrogênio e o seu efluente rapidamente carregado por nitrogênio até o nariz do provador, através do olfatômetro.

As temperaturas utilizadas no injetor para a dessorção térmica dos voláteis (injetor), na coluna e na base do olfatômetro foram de  $180^\circ\text{C}$ . Individualmente, os provadores colocaram-se à frente do olfatômetro e cheiraram o efluente do sistema (Figura 8). Quando a fibra era exposta no injetor, os compostos voláteis dessorviam-se instantaneamente da fibra e os provadores já respondiam com o estímulo olfatório, marcando em uma escala não estruturada de 9 cm ancorada seus extremos com os termos nenhum e igual ao padrão (Figura 9), comparando com o aroma padrão (bacuri *in natura*), sentido no início da análise. Análise foi realizada em 3 repetições.

Figura 8. Cromatógrafo gasoso acoplado a um olfatômetro (A) e análise olfatométrica (B)



Fonte: Ferreira, 2013

Figura 9. Ficha de avaliação de intensidade de aroma.

Nome: _____	Data: __/__/__
Amostra: _____	Obs.: _____
<p>Por favor, avalie a intensidade do AROMA CARACTERÍSTICO DE BACURI da amostra, utilizando a escala abaixo. Faça um traço vertical no ponto da escala que melhor expressa a sua opinião.</p>	
<p>nenhuma <span style="display: inline-block; width: 100%; border-bottom: 1px solid black; margin: 0 20px;"></span> igual ao padrão</p>	
Comentários: _____	

b. Condições cromatográficas

As condições cromatográficas para a obtenção das respostas número de picos e área total do cromatograma foram as descritas a seguir.

Foi utilizada uma coluna de sílica fundida DB-5, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme da fase ligada de 0,25  $\mu\text{m}$  e injetor do tipo *split/splitless* a uma temperatura de 200  $^{\circ}\text{C}$ , no modo *splitless*. A temperatura do detector de ionização de chama (DIC) foi de 250 $^{\circ}\text{C}$  e o gás de arraste  $\text{H}_2$  foi mantido em fluxo constante de 1,5  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Antes de iniciar as análises com o bacuri foi realizada uma corrida do branco no cromatógrafo nas mesmas condições da amostra.

Com o auxílio da fibra de SPME, os voláteis isolados foram injetados e desorvidos diretamente no injetor. A programação da coluna teve início com temperatura de 50 °C por 8 min., sendo elevada até 110 °C a 4 °C min<sup>-1</sup> e em seguida até 200 °C a 16 °C min<sup>-1</sup>, totalizando 37 minutos de tempo de separação dos compostos.

c. Análise estatística

A relação entre a temperatura, o tempo de equilíbrio e o tempo de exposição na resposta de quantidade de picos, área total do cromatograma e intensidade de aroma foi estabelecida por meio de modelos matemáticos. O modelo utilizado foi uma equação de segunda ordem (Equação 1), em que Y representa as respostas (picos, área e aroma),  $\sum_{i=1}^k \beta_i x_i$  representa o efeito linear,  $\sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2$  o efeito quadrático,  $\sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j>i}^k \beta_{ij} x_i x_j$  o efeito da interação e  $\varepsilon$  o erro.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j>i}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (\text{Equação 1})$$

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar o ajuste da qualidade e a importância dos efeitos linear e quadrático e de interação. Os termos não estatisticamente significativos ( $P > 0,05$ ) foram excluídos do modelo básico e remodelados. Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), o coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{\text{adj}}$ ) e a análise da falta de ajuste foram usadas para avaliar a qualidade dos modelos, e as superfícies de resposta foram gerados. Todas as análises foram realizadas com o programa Statistica 7,0.

### 3.3.2.2 *Extração dos compostos voláteis glicosilados*

A extração dos voláteis ligados glicosidicamente foi realizada pelo método de extração em fase sólida (SPE) segundo metodologias descritas por BOULANGER et al. (1999) e PERÉZ et al. (1997) adaptadas às condições do laboratório (utilizou-se como solvente a mistura de hexano-diclorometano ao invés de pentano-diclorometano; a microdestilação foi

substituída pelo rotaevaporador na concentração do extrato antes da hidrólise enzimática e após a hidrólise utilizou-se nitrogênio gasoso para concentração da amostra).

Uma alíquota de 100 g de polpa foi misturada com 100 mL de água destilada e adicionada do inibidor gluconolactona, para inibir a hidrólise enzimática antes do isolamento dos glicosídeos. A mistura foi centrifugada (Centrífuga refrigerada Heraeus Instruments - modelo Biofuge) a 10000 g durante 30 min a 4°C e filtrada em papel filtro. O suco obtido passou por uma coluna de Amberlite XAD-2 (12,0 x 0,8 cm d.i.), previamente lavada com metanol, em fluxo de aproximadamente 1,5 mL.min<sup>-1</sup>. Em seguida a coluna foi lavada com hexano-diclorometano (2:1 v/v) para retirar os compostos livres. Após essa lavagem, os compostos glicosilados aderidos na coluna foram eluídos com 50 mL de metanol. O eluato foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida a 45°C, e depois redissolvido em 1 mL de tampão citrato-fosfato (pH 5,0) e lavado cinco vezes com hexano-diclorometano (2:1), para remover qualquer composto volátil livre remanescente.

Ao resíduo foi adicionado 1 mL da preparação enzimática (12,5 mg de hemicelulase e 20 mg de β-glucosidase em 1 mL de tampão citrato-fosfato-pH 5,0). Essa mistura foi incubada a 40 °C por 16 h, para hidrolisar as ligações glicosídicas. Após a incubação, a mistura foi resfriada em temperatura ambiente, e logo adicionou-se 10 µg de acetato de butila como padrão interno. Os voláteis liberados pela hidrólise foram extraídos cinco vezes com hexano-diclorometano (2:1) e o extrato foi concentrado até um volume de 300 µL com nitrogênio gasoso. A extração e as análises cromatográficas foram realizadas em triplicatas.

### 3.3.3 Análise Cromatográfica

A análise cromatográfica foi realizada em cromatógrafo gasoso (Varian, modelo CP-3800) acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION versão 6.00. Foi utilizada uma coluna de sílica fundida DB-5, com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme da fase ligada de 0,25 µm e injetor do tipo *split/splitless* a uma temperatura de 250 °C, no modo *splitless*. A temperatura do detector de ionização de chama (DIC) foi de 250°C e o gás de arraste H<sub>2</sub> foi mantido em fluxo constante de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>. Antes de iniciar as análises com o bacuri foi realizada uma corrida do branco no cromatógrafo nas mesmas condições da amostra.

### 3.3.3.1 Compostos voláteis livres

Com o auxílio da fibra de SPME, os voláteis isolados foram injetados e dessorvidos diretamente no injetor. A programação da coluna teve início com temperatura de 35°C por 5 min., sendo elevada até 140 °C a 3 °C min<sup>-1</sup> e em seguida até 200 °C a 15 °C min<sup>-1</sup>, permanecendo 6 min, totalizando 50 minutos de tempo de separação dos compostos.

### 3.3.3.2 Compostos voláteis glicosilados

Com o auxílio de uma seringa, foi injetado 1 µl do extrato concentrado. A programação da coluna teve início com temperatura de 35°C por 5 min, sendo elevada até 150 °C a 5 °C min<sup>-1</sup> e em seguida até 200 °C a 10 °C min<sup>-1</sup>, atingindo uma temperatura final de 250 °C a 10°C min<sup>-1</sup>, permanecendo 12 min, totalizando 50 minutos de tempo de separação dos compostos.

### 3.3.4 Identificação dos Compostos Voláteis

Os compostos voláteis foram identificados no cromatógrafo gasoso (GC2010) da marca SHIMADZU acoplado a um espectrômetro de massas (QP2010). Foi utilizada uma coluna de sílica fundida VF (equivalente a DB-5), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme da fase ligada de 0,25 µm e injetor do tipo *split/splitless* a uma temperatura de 250 °C, no modo *splitless*. E o gás de arraste He foi mantido em fluxo constante de 1,5 mL.min<sup>-1</sup>. Antes de iniciar as análises com o bacuri foi realizada uma corrida do branco no cromatógrafo nas mesmas condições da amostra. A programação de temperatura da coluna foi idêntica à utilizada no item 3.3.3.1 para os compostos voláteis livres, e idênticas à utilizada no item 3.3.3.2 para os compostos voláteis glicosilados. A identificação foi realizada pela comparação dos espectros obtidos com os espectros de padrões puros da biblioteca do próprio equipamento (NIST, 2010) e também pela comparação dos índices de retenção (IR), calculados a partir de uma série homóloga

de alcanos (C7 – C30), com os valores de IR dos compostos mais prováveis, na mesma coluna cromatográfica, relatados na literatura (NIST, 2012; PHEROBASE, 2012).

### 3.3.5 *Quantificação dos compostos voláteis*

#### *Compostos voláteis livres*

Os compostos voláteis foram quantificados utilizando-se o acetato de butila puro como padrão interno, este foi diluído em água até a concentração de 2643  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . A forma de quantificação utilizada foi semi-quantitativa que foi realizada através do cálculo a seguir:

$$\frac{\text{Área do pico da amostra (CG-DIC)} * \text{Concentração do padrão}}{\text{Área do pico do padrão na amostra (CG-DIC)}}$$

#### *Compostos voláteis glicosilados*

Os compostos voláteis glicosilados foram quantificados utilizando-se o acetato de butila puro como padrão interno, este foi diluído em hexano até a concentração de 440,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . A forma de quantificação utilizada foi semi-quantitativa que foi realizada através do cálculo a seguir:

$$\frac{\text{Área do pico da amostra (CG-DIC)} * \text{Concentração do padrão}}{\text{Área do pico do padrão na amostra (CG-DIC)}}$$

### 3.3.6 *Análise dos dados*

Os valores de concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) determinados para cada composto foram submetidos à Análise Multivariada de Análise de Componentes Principais (ACP), separadamente para os compostos livres e ligados, usando o programa XLSTAT-MX Excel software (versão 2011.4.01),

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Otimização das condições de extração dos voláteis livres por SPME

Com base nos resultados obtidos (Tabela 3), foram calculados os efeitos estimados (Tabela 4) para as respostas de intensidade de aroma, número de picos e área total dos cromatogramas. Pode-se observar que apenas os termos lineares das variáveis independentes foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), com exceção do termo quadrático do tempo de exposição para número de picos.

Tabela 3. Resultados do delineamento experimental para as variáveis: intensidade de aroma, número de picos e área total do cromatograma.

Ensaio	Temperatura	T <sub>Equil</sub>	T <sub>Exp</sub>	Intensidade aroma	Número de picos	Área total do cromatograma
1	31	6	25	7,0	75	19175
2	49	6	25	7,5	97	35030
3	31	24	25	8,4	76	18561
4	49	24	25	6,3	93	36267
5	31	6	55	1,0	92	32974
6	49	6	55	1,6	107	41999
7	31	24	55	7,8	90	31297
8	49	24	55	7,2	109	45328
9	25	15	40	6,6	85	22499
10	55	15	40	7,2	111	43796
11	40	0	40	2,6	92	30162
12	40	30	40	7,6	98	36457
13	40	15	15	6,5	79	20942
14	40	15	65	4,2	88	40970
15	40	15	40	6,9	97	34501
16	40	15	40	5,3	93	32519
17	40	15	40	5,9	92	32694

T<sub>Equil</sub> => Tempo de equilíbrio; T<sub>Exp</sub> = Tempo de exposição

Tabela 4. Efeitos estimados para a intensidade de aroma, quantidade de picos e área total dos cromatogramas.

Fatores	Intensidade de aroma		Número de picos		Área total do cromatograma	
	Efeito Estimado	P	Efeito Estimado	P	Efeito Estimado	P
Temperatura (L)	-0,100	0,843	17,163*	0,006	1359,000*	0,002
Temperatura (Q)	0,690	0,299	3,044	0,196	1,074	0,988
Tempo <sub>Equil</sub> (L)	3,075*	0,020	1,032	0,546	188,164	0,087
Tempo <sub>Equil</sub> (Q)	-0,612	0,343	0,884	0,634	12,954	0,863
Tempo <sub>Exp</sub> (L)	-2,292*	0,036	10,622*	0,017	1120,328*	0,002
Tempo <sub>Exp</sub> (Q)	-0,437	0,472	-7,395*	0,043	-156,246	0,142
Temperatura x Tempo <sub>Equil</sub>	-0,948	0,245	-0,250	0,905	171,250	0,158
Temperatura x Tempo <sub>Exp</sub>	0,373	0,587	-1,250	0,572	-262,750	0,077
Tempo <sub>Equil</sub> x Tempo <sub>Exp</sub>	3,043*	0,034	0,750	0,727	25,750	0,772

O efeito da temperatura foi positivo e altamente significativo para área total e número de picos, porém não foi significativo para intensidade do aroma de bacuri, indicando que, dentro da faixa estudada (25 °C a 55 °C), o aumento da temperatura de extração dos voláteis favoreceu a extração dos voláteis, porém não correspondeu a uma variação na intensidade do aroma de bacuri no extrato.

De modo inverso, o tempo de equilíbrio (0 min, 6 min, 15 min, 24 min e 30 min) apresentou efeito positivo significativo para o termo linear do aroma, porém não foi significativo para o número de picos e área total do cromatograma, indicando que a volatilização dos compostos responsáveis pelo aroma do bacuri é imediata, mas o seu enriquecimento no *headspace* é lento e o diferencial de concentração desse enriquecimento na fase gasosa é pequeno, não contribuindo de modo significativo para o aumento da área total do cromatograma.

Das três variáveis estudadas, o tempo de exposição (15 min, 25 min, 40 min, 55 min e 65 min) foi a que apresentou maior influência na extração de voláteis do *headspace* do bacuri, apresentando efeitos significativos em todos os critérios escolhidos para avaliar a eficiência da extração. O tempo necessário para adsorção dos compostos voláteis na fibra de

SPME apresentou efeito negativo para intensidade de aroma e positivo para número de picos e área total do cromatograma. No entanto, o efeito da interação  $T_{\text{Equil}} \times T_{\text{Exp}}$  foi significativo para a intensidade de aroma, indicando uma influência de uma variável na outra, ou seja, o comportamento do tempo de equilíbrio não foi o mesmo para todos os níveis de tempo de exposição estudados, ou vice-versa.

O modelo matemático para a intensidade de aroma de bacuri mostrou-se significativo ( $p \leq 0,05$ ). A falta de ajuste do modelo não foi significativa (Tabela 5) e apresentou-se baixa demonstrando, que o modelo é preditivo. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) indica que o modelo pode explicar até 94,9% da variabilidade das respostas. Assim como no trabalho de Grizotto et al. (2005), os coeficientes da regressão foram ajustados apenas com termos estatisticamente significativos, e um novo modelo estatístico foi construído para descrever a intensidade de aroma de bacuri prevista pelo modelo em função das variáveis apresentadas (Equação 2). O modelo ajustado pode explicar 84,3% da variabilidade das respostas.

$$\text{Aroma} = 13,123 - 0,279 T_{\text{Equil}} - 0,245 T_{\text{Exp}} + 0,011 T_{\text{Equil}} * T_{\text{Exp}} \quad (2)$$

onde: Aroma = intensidade do aroma de bacuri no extrato

$T_{\text{Equil}}$  = Tempo de equilíbrio

$T_{\text{Exp}}$  = Tempo de exposição

Tabela 5. Análise de variância para a intensidade do aroma de bacuri.

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F <sub>Cal</sub>	F <sub>Tab</sub>
Regressão	73,38	9	8,15	14,46*	3,68
Resíduo	3,94	7	0,56		
Falta de ajuste	2,58	5	0,52	0,75	19,3
Erro puro	1,36	2	0,68		
Total	78,39	16			

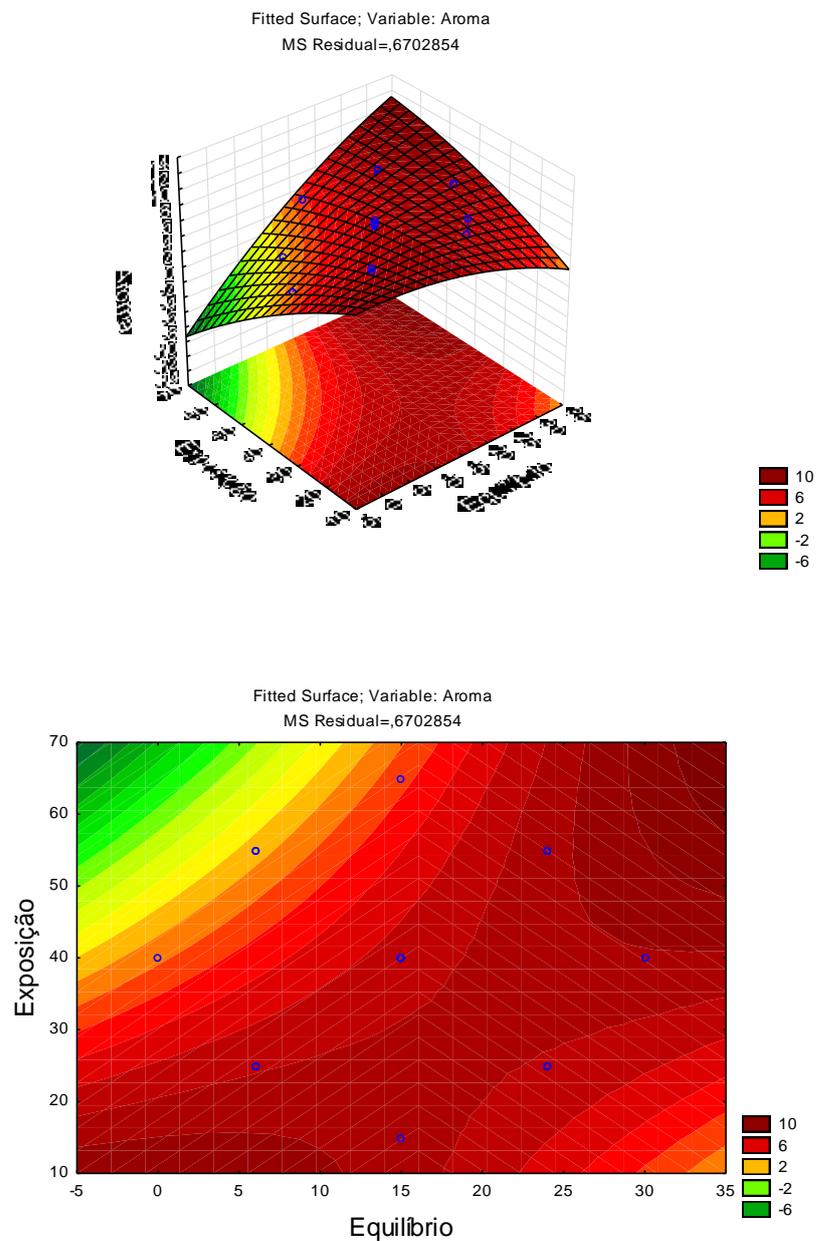
\*Significativo ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

$R^2_{\text{adj}} = 84,3\%$ .

A Figura 10 ilustra a superfície de resposta para o modelo obtido. Observou-se que o tempo de exposição associado ao tempo de equilíbrio apresentou grande influência na intensidade do aroma de bacuri, sendo que os maiores valores de resposta foram encontrados tanto nos níveis mais baixos quanto nos níveis mais altos dessas duas variáveis. Como no caso

de um método analítico, a redução do tempo de análise é sempre desejada, a melhor condição para análise dos voláteis do *headspace* do bacuri foi de 15 minutos para ambos tempo de equilíbrio e tempo de exposição, a qual fornece um extrato de compostos voláteis altamente representativo do aroma característico do bacuri.

Figura 10. Superfície de resposta e curvas de contorno para a intensidade de aroma em função do tempo de equilíbrio versus o tempo de exposição.



Para o número de picos do cromatograma, a ANOVA mostrou significância (intervalo de confiança de 95%) para o modelo de regressão obtido. A falta de ajuste não foi significativa e apresentou-se baixa, demonstrando que o modelo é preditivo. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) indica que o modelo pode explicar até 93,3% da variabilidade das respostas. Os termos não significativos foram excluídos e um novo modelo foi gerado (Tabela 6), com coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{adj}$ ) explicando 89,8% da variabilidade das respostas, sugerindo que o modelo empírico ajusta os dados reais de forma satisfatória, definindo o comportamento real do sistema.

Utilizando-se os coeficientes da regressão ajustados foi construído o modelo estatístico que descreve o número de picos dos cromatogramas previsto pelo modelo em função das variáveis de temperatura, tempo de equilíbrio e tempo de exposição (Equação 3).

$$\text{Picos} = 14,17 + 0,95T + 1,82 T_{\text{Exp}} - 0,02 T_{\text{Exp}}^2 \quad (3)$$

onde: Picos = número de picos dos cromatogramas

T = Temperatura

$T_{\text{Exp}}$  = Tempo de exposição

Tabela 6. Análise de variância para a quantidade de picos dos cromatogramas.

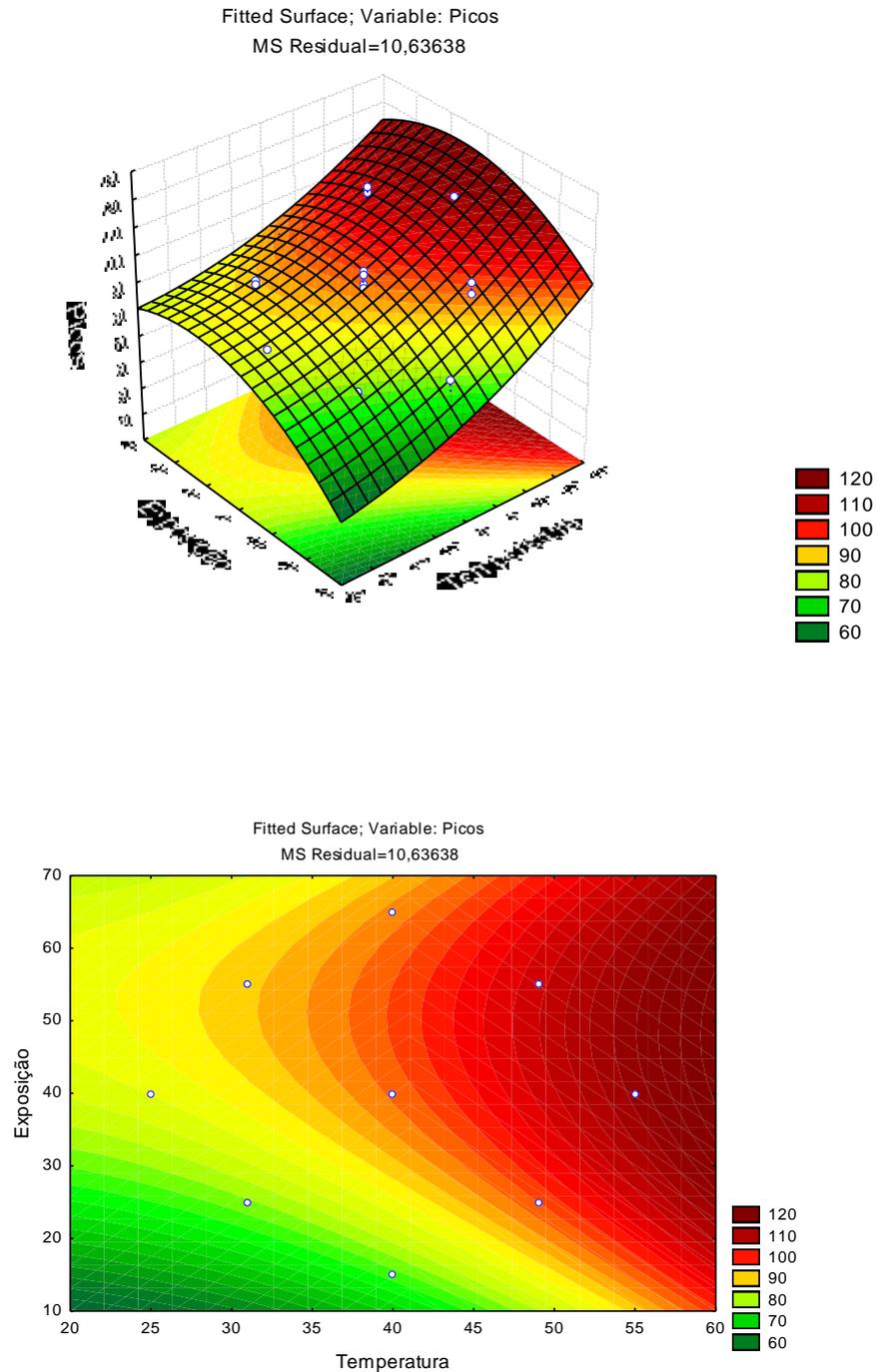
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	$F_{\text{Cal}}$	$F_{\text{Tab}}$
Regressão	1567,08	9	174,12	4,38*	3,68
Resíduo	277,93	7	39,70		
Falta de ajuste	263,93	5	52,79	7,54	19,3
Erro puro	14,00	2	7,00		
Total	4137,52	16			

\*Significativo ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

$R^2_{adj} = 89,8$ .

A Figura 11 ilustra a superfície de resposta para o modelo obtido. Pode-se observar que a temperatura apresentou maior influência no aumento do número de picos que o tempo de exposição, porém o tempo de exposição apresentou efeito positivo para o termo linear e negativo para o termo quadrático, indicando que essa variável atingiu a região máxima (ponto com temperatura de 55 °C com tempo de exposição de 40 min) e um aumento do tempo de exposição poderá diminuir a quantidade de picos no cromatograma.

Figura 11. Superfície de resposta e curvas de contorno para a quantidade de picos dos cromatogramas em função da temperatura versus o tempo de exposição.



A ANOVA mostrou significância no intervalo de confiança de 95% para o modelo de regressão obtido com relação à área total dos cromatogramas. A falta de ajuste do modelo não

foi significativa. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) indica que o modelo pode explicar até 98,6% da variabilidade das respostas.

Como no caso do número de picos, o efeito do tempo de equilíbrio não foi significativo (Tabela 4), e um novo modelo estatístico foi construído (Tabela 7), utilizando-se os coeficientes da regressão ajustados, com coeficiente de determinação ajustado ( $R^2_{adj}$ ) explicando 89,8% da variabilidade das respostas, sugerindo que o modelo empírico ajusta os dados reais de forma satisfatória. Assim, o modelo descreve a área total dos cromatogramas previsto pelo modelo em função das variáveis de temperatura e tempo de exposição (Equação 4).

$$\text{Área} = -1248,44 + 75,50T + 37,35 T_{Exp} \quad (4)$$

onde: Área = Área total dos cromatogramas

T = Temperatura

$T_{Exp}$  = Tempo de exposição

Tabela 7. Análise de variância para a área total dos cromatogramas.

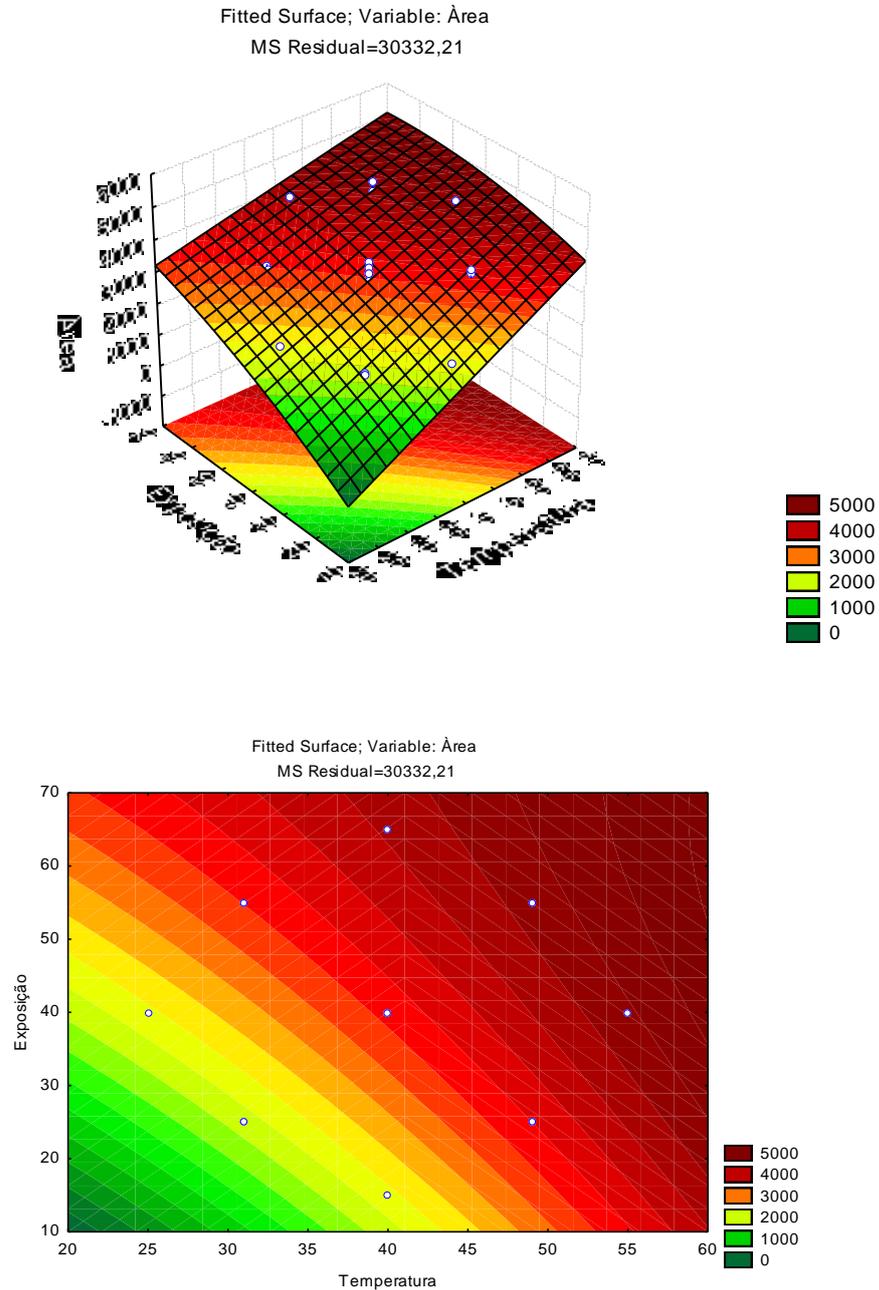
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	$F_{Cal}$	$F_{Tab}$
Regressão	10900472,8	9	1211163,6	38,31*	3,68
Resíduo	221289,2	7	31612,7		
Falta de ajuste	196837,7	5	39367,5	3,22	19,3
Erro puro	24451,5	2	12225,8		
Total	11073306,6	16			

\*Significativo ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ )

coeficiente de variância ajustado ( $R^2_{adj}$ ) = 89,8.

Na Figura 12 observa-se que com o aumento dos fatores temperatura e tempo de exposição houve um considerável aumento na área total dos cromatogramas. Os pontos da superfície de resposta que atingiram a região máxima do plano foram os dos ensaios 6 (temperatura de 49 °C e tempo de exposição de 55 min) e 10 (temperatura de 55 °C e tempo de exposição de 40 min.), e qualquer modificação dessas condições poderá diminuir a área dos cromatogramas. Bencomo et al. (2012) otimizando as condições de isolamento para obtenção do perfil de voláteis da cerveja, relataram que um aumento no tempo de exposição fez aumentar a área do pico do cromatograma.

Figura 12. Superfície de resposta e curvas de contorno para a área total dos cromatogramas em função da temperatura versus o tempo de exposição.



Fazendo-se uma análise conjunta dos resultados, observa-se que, para se obter um cromatograma rico em compostos voláteis do headspace do bacuri, com elevado número de picos e com grandes áreas dos picos é necessário utilizar temperatura e tempo de exposição

elevados (55°C e 40 min de exposição), com mínimo tempo de equilíbrio. No entanto, essa grande quantidade de compostos não é necessária para reproduzir o aroma do bacuri, visto que com apenas 15 minutos de exposição, o aroma de bacuri do extrato atingiu valores elevados de intensidade de aroma. Além disso, observou-se que a temperatura não influenciou na intensidade do aroma. Como os componentes voláteis das frutas são instáveis e termolábeis, ou seja, qualquer aumento de temperatura pode gerar rearranjos, hidrólises, ciclizações, oxidações, entre outras, acarretando em mudanças na composição original de voláteis da amostra, o aroma característico da fruta no extrato torna-se o fator mais importante na avaliação do seu perfil de voláteis.

Assim, na faixa de valores estudados, as condições de isolamento dos compostos voláteis escolhidas para a análise dos compostos do *headspace* do bacuri foram aquelas encontradas nas superfícies de resposta para a intensidade de aroma, que desconsideram o aumento de temperatura e nos mostram que a utilização de 15 minutos de tempo de equilíbrio e 15 minutos de tempo de exposição da fibra de SPME são suficientes para a captura de compostos importantes para o aroma do bacuri.

#### **4.2. Componentes voláteis livres**

A identificação e a quantificação dos compostos voláteis livres, detectados na polpa do bacuri nas etapas de homogeneização, maceração e pasteurização são apresentadas na Tabela 8, e os respectivos cromatogramas na Figura 13. Foram detectados 41 compostos na amostra homogeneizada, dos quais 35 foram identificados; 56 compostos nas amostras macerada e pasteurizada, com 46 compostos identificados em cada.

Dentre as classes químicas dos compostos identificados, os terpenos foram os mais abundantes (14), seguidos de álcoois (12), hidrocarbonetos (7), aldeídos (6), éteres (5), cetonas (3) e ésteres (2). A Figura 14 mostra o número de compostos de cada classe química de acordo com cada etapa estudada. Com a etapa de maceração, houve aumento de compostos terpênicos, éteres e hidrocarbonetos e diminuição de aldeídos. A pasteurização, por sua vez, provocou a diminuição de compostos terpênicos, aldeídos e cetonas e o aumento de álcoois.

Os compostos majoritários presentes na polpa de bacuri diluída (etapa homogeneização) foram os terpenos linalol (álcool monoterpênico, pico 30), seu óxido (Z)-óxido de linalol (pico 28) e um estereoisômero do óxido de linalol desidrogenado (pico 22), 2-heptanona (pico 14),  $\alpha$ -metoxitolueno (pico 23) e 1-butanol (pico 3). O pico do linalol foi o maior pico do cromatograma, porém ele co-eluiu com outro composto. Sabe-se que não se tratava apenas de linalol, pois o espectro de massas se modificava ao longo do pico, porém não foi possível identificar o outro composto. Assim, esse pico foi identificado como linalol + NI (não identificado).

Boulangier, Chassagne e Cruzet (1999) também relataram o linalol e os compostos derivados Z-linalol furanosídeo e Z-linalol piranosídeo, como sendo os majoritários na polpa de bacuri, além de um diol (3,7-dimethyl-2,6-octadienol), uma furanona (4-methoxy-2,5-dimetil-3(2H)-furanona) e o limoneno. No presente trabalho não foi detectado o Z-linalol furanosídeo, mas os compostos Z-óxido de linalol piranosídeo e limoneno foram encontrados como compostos minoritários e o diol e a furanona foram detectados em quantidades traços apenas nas polpas de bacuri macerada e pasteurizada. Alves e Jennings (1979) também encontraram linalol e (Z)-óxido de linalol como majoritários. Para Villachica et al. (1996), o linalol é a substância responsável pelo sabor e o aroma do bacuri e o 2-heptanona seria um composto contribuinte no aroma da polpa de bacuri. Franco (2003) provou, através de olfatométrica dos compostos voláteis de bacuri, que o linalol e o hexanoato de metila são os principais responsáveis pelo aroma da fruta, no entanto, o éster (pico 16) não foi detectado, no presente trabalho, na polpa de bacuri in natura diluída, apenas após a maceração enzimática.

Tabela 8. Compostos voláteis livres da polpa de bacuri diluída nas seguintes etapas do processamento: homogeneização, maceração e pasteurização.

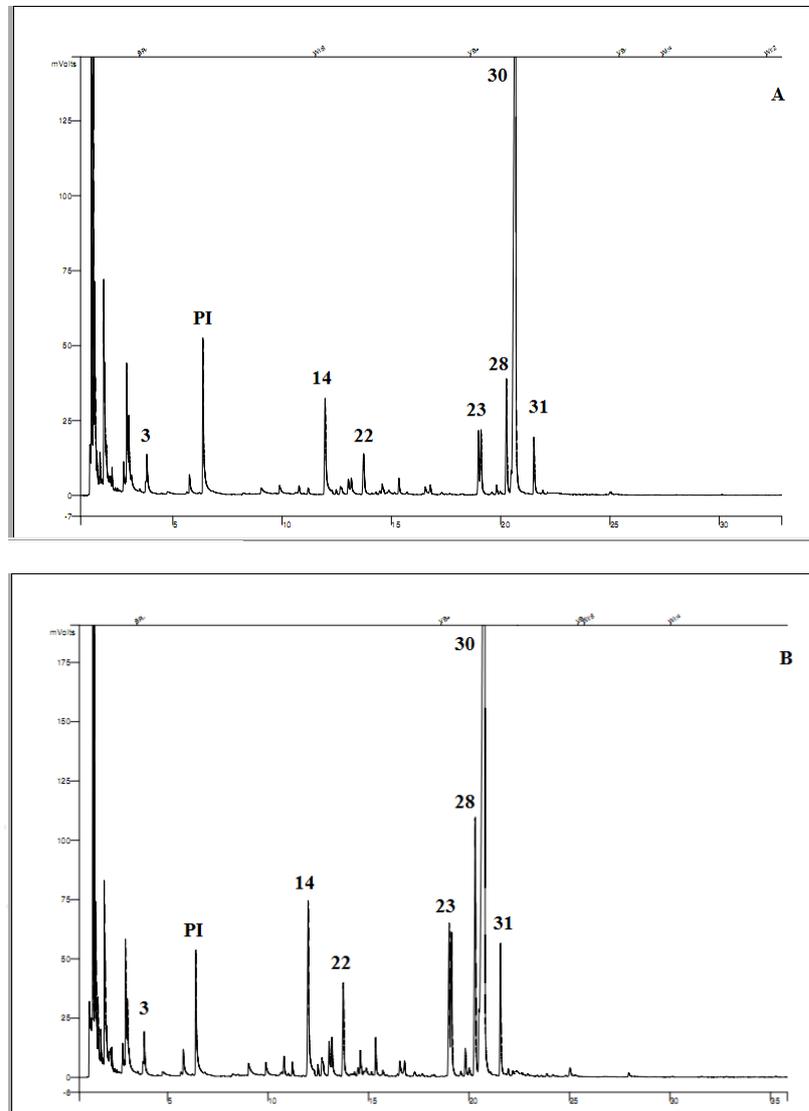
Pico	IK - EM	Composto	Concentração ( $\mu\text{g/L}$ )		
			Homogeneização	Maceração	Pasteurização
1	<700	isopropanol	44,26	12,83	53,61
a	<700	acetato de metila	nd	tr	nd
b	<700	2-butanol	nd	tr	nd
c	<700	2-metil-3-buten-2-ol	nd	tr	Tr
2	<700	(Z,Z)-2,4-hexadiena	196,90	214,05	79,86
3	<700	1-butanol	727,89	938,96	223,94
4	<700	1-penten-3-ol	208,13	229,69	15,27

5	701	3-pentanona	11,04	19,84	13,16
6	748	2-metil-1-butanol	13,65	tr	tr
7	764	(E)-2-pentenal	26,32	67,01	50,24
8	771	tolueno	382,48	588,72	1687,29
d	778	(Z)-2-penten-1-ol	nd	tr	tr
e	801	octano	nd	tr	tr
9	805	hexanal	8,87	tr	24,89
10	860	(E)-2-hexenal	401,45	532,93	198,98
11	861	(Z)-3-hexen-1-ol	284,81	484,38	375,92
12	872	(E)-2-hexen-1-ol	137,07	326,96	219,05
13	876	1-hexanol	105,20	250,50	172,88
14	893	2-heptanona	1477,93	3217,26	1277,77
15	907	2-heptanol	9,93	27,49	240,70
16	931	hexanoato de metila	nd	155,31	131,13
17	946	NI	94,94	234,41	194,77
18	950	NI	nd	246,81	102,65
19	962	NI	230,22	549,39	303,12
20	968	benzaldeido	319,07	734,23	465,53
21	970	NI	nd	tr	23,15
22	974	2-eteniltetrahidro-2,6,6-trimetil-2H-pirano	734,19	1726,43	1134,70
23	990	$\alpha$ -metoxitolueno	973,84	2205,41	943,64
24	992	mircenol	323,34	663,12	166,81
f	995	1,2,3-trimetil-benzeno	nd	tr	tr
g	1001	(E)-2-(2-pentenil)furano	nd	tr	tr
h	1007	octanal	tr	tr	tr
i	1027	NI	tr	tr	tr
25	1033	limoneno	34,11	93,28	109,94
26	1042	(Z)-ocimeno	239,13	498,50	180,20
27	1052	(E)-ocimeno	36,16	116,91	96,47
j	1063	4-metoxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona	nd	tr	tr
k	1074	(E)-óxido de linalol	tr	tr	tr
l	1084	NI	tr	tr	tr
m	1087	1-metil-4-(1-metiletilideno)-ciclohexeno	nd	nd	tr
n	1087	terpinoleno	tr	tr	nd
28	1089	(Z)-óxido de linalol	2473,87	4156,71	627,60
29	1092	o-isopropeniltolueno	146,02	124,18	tr
30	1102	linalol + NI	11964,12	23559,68	11780,61
31	1105	hotrienol	687,89	1663,25	527,62
32	1112	(Z)-Rose óxido	43,44	73,52	17,94
33	1115	2-feniletanol	tr	32,99	13,89
o	1125	NI	nd	tr	tr
p	1133	(E,E)-2,6-Dimetil-1,3,5,7-octatetraeno	nd	nd	tr
34	1140	NI	116,83	185,31	200,11
q	1156	3,6-dihidro-4-metil-2-(2-metil-1-propenil)-2H-pirano	tr	tr	tr
35	1173	óxido de linalol piranosídeo	8,48	21,34	17,86

r	1178	$\alpha$ ,4-dimetil-3-ciclohexeno-1-acetaldeido	nd	tr	tr
s	1186	NI	tr	tr	tr
t	1189	( <i>p</i> )-cimen-9-ol	nd	nd	tr
u	1191	NI	nd	tr	tr
36	1196	$\alpha$ -terpineol	61,58	95,80	14,14
v	1254	( <i>Z</i> )-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	nd	tr	tr
37	1409	( <i>E</i> )- $\alpha$ -bergamoteno	24,07	tr	tr

(\*) Padrão interno nd= não detectado no CG-DIC NI= não identificado letras de a-h representam compostos detectados apenas no CG-EM

Figura 13. Cromatogramas de CG – EM das etapas de processamento da polpa diluída de bacuri: Homogeneização (A), Maceração (B) e Pasteurização (C).



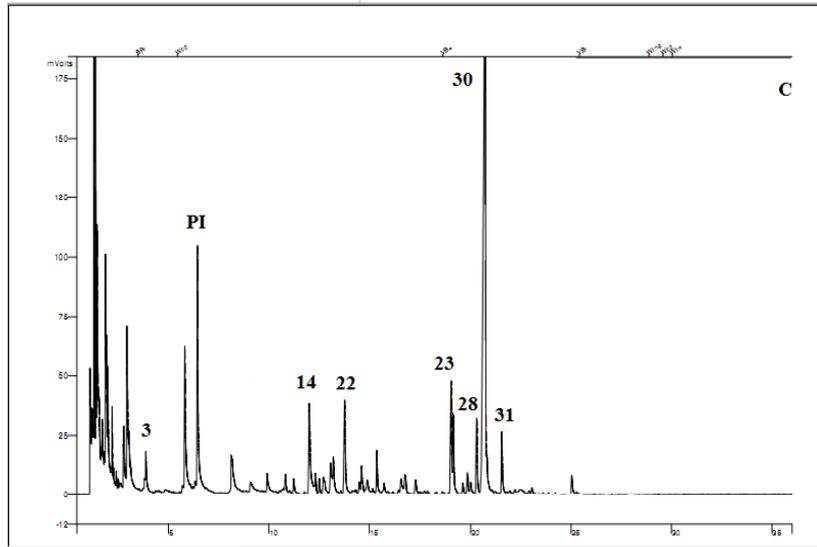
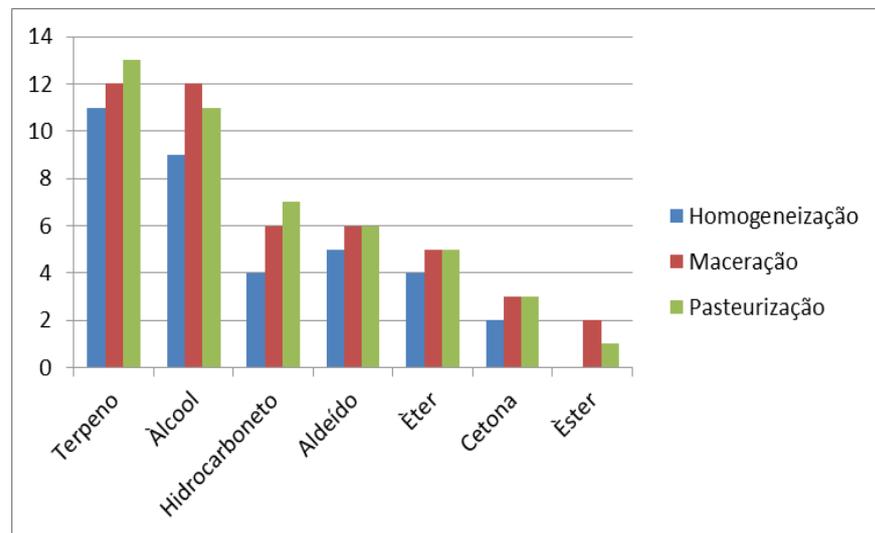


Figura 14. Diferentes classes químicas dos compostos voláteis livres identificados nas amostras estudadas.



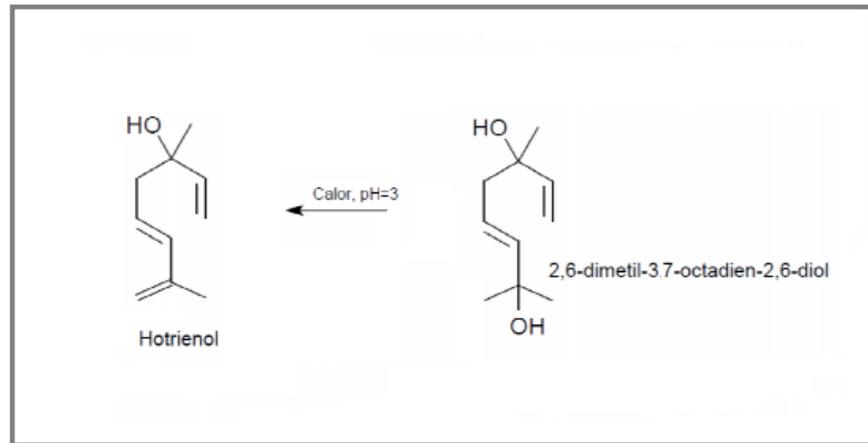
Como podemos observar na Tabela 8, além do hexanoato de metila, a etapa de maceração enzimática promoveu o surgimento de outros compostos: acetato de metila (pico a), 2-butanol (pico b), 2-metil-3-buten-2-ol (pico c), (Z)-2-penten-1-ol (pico d), octano (pico e), 1,2,3-trimetil-benzeno (pico f), (E)-2-(2-pentenil)-furanona (pico g), um acetaldeído (pico r) e a furanona (pico j) e o diol (pico v) já mencionados. A atuação das enzimas também fez aumentar a concentração da grande maioria dos compostos presentes na polpa, com destaque

para os compostos de importância odorífera para o aroma do bacuri: linalol e 2-heptanona (VILLACHICA et al., 1996; FRANCO, 2003), hexanol e Z-3-hexen-1-ol (BOULANGER et al., 1999). Resultado semelhante foi encontrado por Aquino (2012), que ao estudar a ampliação da escala na produção de néctar de bacuri com aplicação de preparações enzimáticas comerciais, concluiu que durante a maceração enzimática, houve um aumento na quantidade de picos e contagem de área de alguns picos do cromatograma de compostos voláteis da polpa de bacuri.

O composto hotrienol teve um aumento considerável do tamanho de sua área após a etapa de maceração, passando de  $687,89 \mu\text{g.L}^{-1}$  na homogeneização para  $1663,26 \mu\text{g.L}^{-1}$  na maceração. Segundo Boulanger e Crouzet (2001), o hotrienol pode ser produzido por rearranjo não enzimático do 2,6- dimetilocta-3,7-dieno-2,6- diol em meio ácido (Figura 15).

Após a etapa de pasteurização, os compostos voláteis permaneceram praticamente os mesmos, ocorrendo apenas uma diminuição na concentração da maioria dos compostos. As classes químicas que apresentaram as maiores perdas foram os terpenos, álcoois e aldeídos; no entanto o isopropanol (pico 1) e o 2-heptanol (pico 15) estão entre os compostos que aumentaram a sua concentração após a pasteurização. Outro composto que aumentou muito com o tratamento térmico foi o tolueno (pico 8), que passou a ser composto majoritário, menor apenas que o linalol. Outros compostos foram detectados apenas na polpa pasteurizada: (*p*)-cimen-9-ol (pico t) e dois hidrocarbonetos cíclicos insaturados (picos m e p), indicando que podem ser produtos de rearranjos ou ciclizações devido à alta temperatura empregada nessa etapa.

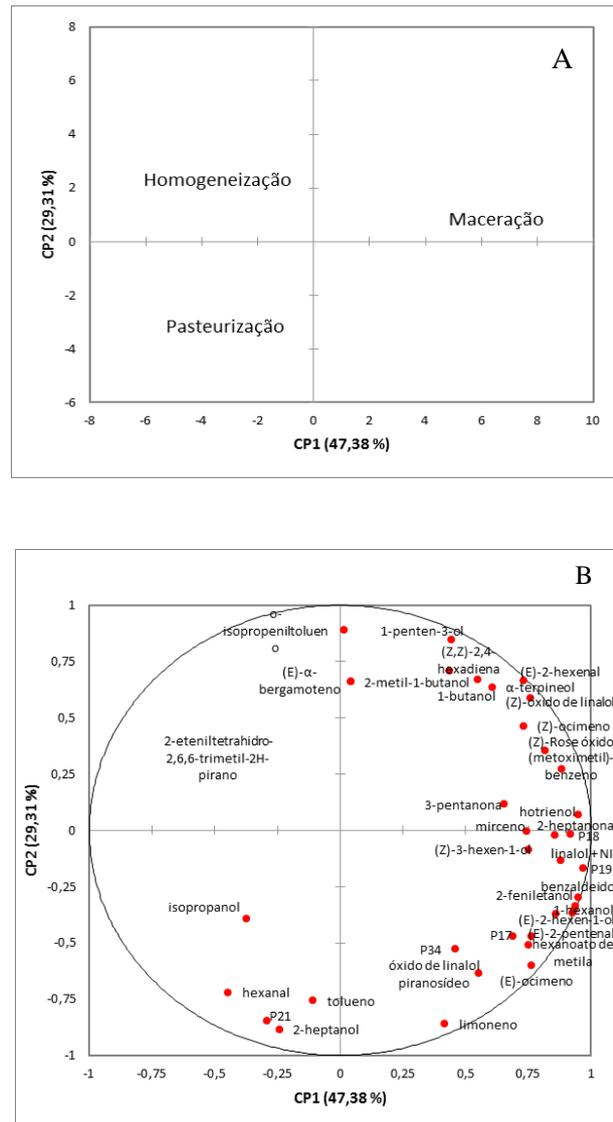
Figura 15. Proposta de formação do hotrienol a partir do composto 2,6- dimetilocta-3,7-dieno-2,6- diol



Para melhor visualizar as diferenças entre o perfil de voláteis da polpa de bacuri diluída, macerada e pasteurizada, os dados foram submetidos à análise multivariada de componentes principais (ACP). Observa-se na Figura 16 que os Componentes 1 e 2 explicaram juntos 77,96 % da variação entre as amostras, indicando que os compostos identificados discriminaram satisfatoriamente as amostras analisadas. O gráfico da Figura 16A apresenta as coordenadas das amostras. Pode-se observar que as amostras de polpa de bacuri ficaram bem separadas, cada uma em um quadrante diferente, indicando que as amostras apresentaram diferentes perfis de compostos voláteis. No gráfico da Figura 16B estão as coordenadas das variáveis (vetores), ou seja, dos compostos voláteis. Analisando-se os dois gráficos simultaneamente observa-se que a polpa macerada apresentou um perfil mais rico que as demais, pois está situada no lado direito da Componente 1, onde está a grande maioria dos compostos voláteis, indicando que essa amostra possui maior concentração desses compostos. Como visto na Tabela 8, processo de maceração enzimática promoveu a liberação de alguns compostos que não estavam presentes no headspace da polpa diluída e também o aumento da concentração de outros compostos. No entanto, com a pasteurização, ocorreu uma diminuição na concentração de grande número desses compostos. Isso era esperado pelo efeito do aquecimento do produto e a consequente volatilização desses compostos altamente voláteis. Por outro lado, o tratamento térmico provocou o aumento dos compostos localizados

no quadrante inferior esquerdo da Figura 16B: isopropanol, hexanal, tolueno, 2-heptanol e um composto não identificado (pico 21).

Figura 16. Análise de componentes principais - ACP dos compostos voláteis livres da polpa diluída de bacuri nas diferentes etapas estudadas.



### 4.3. Componentes voláteis glicosilados

A identificação e as concentrações dos compostos voláteis glicosilados detectados na polpa do bacuri nas etapas de homogeneização, maceração e pasteurização são apresentadas na Tabela 9, e os respectivos cromatogramas na Figura 17. Foram detectados 56 compostos na

amostra homogeneizada, porém apenas 22 foram identificados; 51 compostos na amostra macerada, dos quais 20 foram identificados e 38 compostos na pasteurizada, com apenas 16 identificados.

As classes químicas dos compostos identificados foram: ésteres (6), terpenos (6), éteres (5), álcoois (4), aldeídos (2), cetonas (2), hidrocarbonetos (1), ácidos carboxílicos (1) e fenóis (1). A Figura 18 apresenta o número de compostos de cada classe química de acordo com cada etapa estudada. Na etapa de maceração houve um aumento no número de ésteres e aldeídos, enquanto que na etapa de pasteurização foi detectado mais um terpeno e uma cetona.

Os compostos voláteis glicosilados majoritários na polpa de bacuri diluída (etapa homogeneização) foram: 3-penten-2-ol (pico 1), acetato de isobutila (pico 2), linalol (pico 10), 2,3-dihidrobenzofurano (pico 21), 4,5-dimetoxi-6-(2-propenil)-1,3-Benzodioxole (pico 36) e diversos compostos não identificados (picos 22, 27, 30, 35 e 41).

Para facilitar a visualização das diferenças entre os perfis de compostos voláteis ligados das amostras de bacuri, os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP) (Figura 19). Os Componentes 1 e 2 explicaram 65,27% da variação ocorrida entre as amostras, indicando que os compostos detectados discriminaram satisfatoriamente as amostras analisadas.

A amostra homogeneizada (polpa diluída) caracterizou-se por apresentar maior concentração dos compostos localizados nos quadrantes do lado direito da Componente 1, com destaque para os éteres 5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4H-piran-4-ona, 2,3-dihidrobenzofurano e 4-metoxi-6-(2-propenil)-1,3-benzodioxole, os terpenos linalol,  $\alpha$ -terpineol e (E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol, a cetona benzofenona, o acetaldeído e seu derivado  $\alpha$ , 4-dimetil-3-ciclohexeno-1-acetaldeído, o 2-metoxi-benzil álcool e os picos 16, 18, 27, 33, 35, 40 e 41.

Na polpa macerada a maioria dos compostos diminuiu, chegando, em alguns casos, a quantidades traços ou ainda a não serem detectados (Tabela 9), indicando que as enzimas utilizadas na maceração promovendo a quebra das ligações glicosídicas dos compostos voláteis glicosilados, tornando-os livres. Logo eles não foram detectados na metodologia utilizada para extração dos compostos voláteis glicosilados.

Tabela 9. Compostos voláteis glicosilados da polpa de bacuri diluída nas seguintes etapas do processamento: homogeneização, maceração e pasteurização.

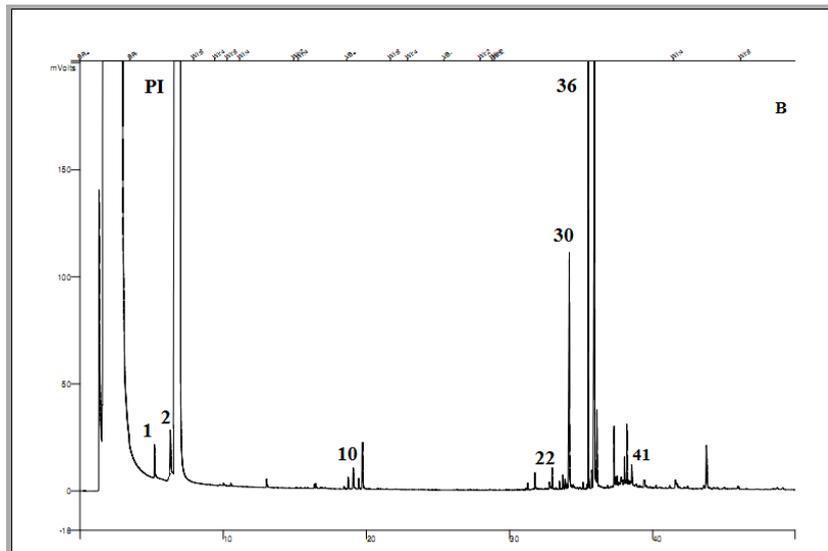
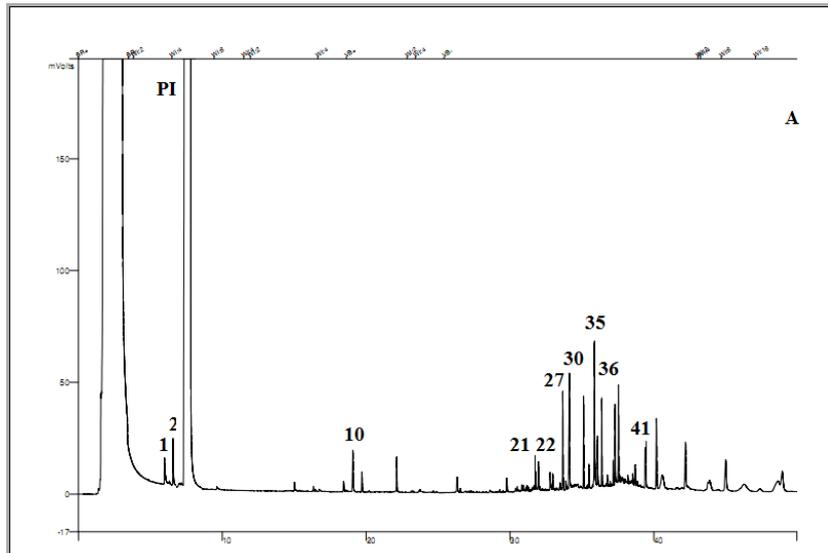
Pico	IK - EM	Composto	Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		
			Homogeneização	Maceração	Pasteurização
a	<779	Ciclohexano	nd	tr	tr
1	<779	pent-3-en-2-ol	4,55	5,94	5,00
2	779	acetato de isobutila	3,56	16,78	tr
b	862	2-hexenal	nd	tr	nd
3	886	n-butil éter	nd	0,15	nd
4	912	propionato de butila	0,33	0,39	tr
5	930	3-metil-4-heptanona	0,27	0,44	tr
c	949	NI	tr	tr	tr
d	952	NI	tr	tr	tr
e	997	NI	tr	tr	tr
6	1039	álcool benzílico	0,54	1,41	1,25
7	1062	5-hidroxi-2-(hidroximetil)-4H-piran-4-ona	1,06	0,28	tr
8	1074	(Z)-óxido de linalol	0,76	0,41	2,07
9	1079	NI	1,16	0,61	1,98
f	1081	NI	nd	tr	nd
g	1086	NI	nd	tr	nd
h	1089	(E)-óxido de linalol	nd	nd	tr
10	1100	linalol	4,53	1,73	tr
11	1104	NI	nd	3,60	8,42
12	1116	2-feniletanol	1,47	1,57	tr
13	1128	NI	nd	22,82	8,67
14	1177	$\alpha$ ,4-dimetil-3-ciclohexeno-1-acetaldeido	0,42	tr	tr
15	1182	NI	0,29	tr	tr
16	1191	NI	1,34	tr	tr
17	1198	$\alpha$ -terpineol	0,89	tr	tr
18	1206	NI	1,03	tr	tr
19	1215	NI	0,40	tr	tr
20	1220	NI	0,47	tr	nd
21	1220	2,3-dihidro-benzofurano	3,07	nd	tr
22	1232	NI	2,92	1,99	2,81
23	1254	(E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	1,20	tr	tr
24	1260	NI	0,44	tr	nd
25	1288	álcool 2-metoxibenzílico	1,55	tr	tr
26	1293	p-cimen-3-ol	0,49	0,93	0,27
27	1297	NI	5,99	tr	tr
28	1299	NI	2,83	10,00	7,08
29	1312	NI	0,57	1,58	2,09

i	1345	NI	nd	nd	tr
j	1365	NI	nd	nd	tr
k	1366	NI	nd	nd	tr
l	1393	NI	nd	nd	tr
30	1451	NI	39,00	43,05	36,54
31	1509	2,4-bis(1,1-dimetiletil)-fenol	0,47	tr	tr
32	1526	4-metoxi-6-(2-propenil)-1,3-benzodioxole	0,58	tr	tr
33	1546	NI	0,91	tr	nd
34	1600	NI	0,45	0,89	0,33
35	1621	NI	20,34	tr	tr
36	1626	4,5-dimetoxi-6-(2-propenil)-1,3-Benzodioxole	11,35	78,60	33,19
37	1642	benzofenona	2,34	nd	tr
38	1717	NI	2,48	1,13	tr
39	1726	tetradecanoato de metila	2,00	7,02	35,92
40	1757	NI	1,83	0,30	tr
m	1770	NI	nd	tr	tr
n	1867	NI	nd	tr	tr
o	1906	NI	nd	nd	tr
41	1911	NI	5,07	1,38	tr
42	1927	hexadecanoato de metila	nd	6,10	tr
43	1962	ácido n-hexadecanóico	0,83	40,04	6,54
44	2019	NI	0,32	0,20	tr
45	2051	NI	0,58	1,13	4,34
46	2103	(Z)-9-octadecenoato de metila	nd	6,98	3,53
p	2129	octadecanoato de metila	nd	tr	tr
47	2141	NI	nd	0,37	tr
q	2170	NI	nd	tr	nd
48	2183	NI	nd	0,61	nd
r	2260	NI	nd	tr	tr
s	2285	NI	nd	nd	nd
49	2314	NI	nd	0,38	nd
t	2322	NI	nd	tr	nd
u	2393	NI	nd	tr	tr
w	2415	NI	nd	nd	nd
50	2443	NI	nd	0,29	nd
v	2452	NI	nd	tr	tr
x	2499	NI	nd	tr	tr
51	2542	NI	nd	0,61	nd
y	2560	NI	nd	tr	tr
z	2567	NI	nd	tr	nd
aa	2575	NI	nd	tr	tr

bb	2599	NI	nd	tr	nd
cc	2818	NI	nd	nd	tr

nd= não detectado no CG-DIC NI= não identificado letras de a-z representam compostos detectados apenas no CG-EM

Figura 17. Cromatogramas de CG – EM para os compostos voláteis glicosilados nas etapas de processamento da polpa diluída de bacuri: Homogeneização (A), Maceração (B) e Pasteurização (C).



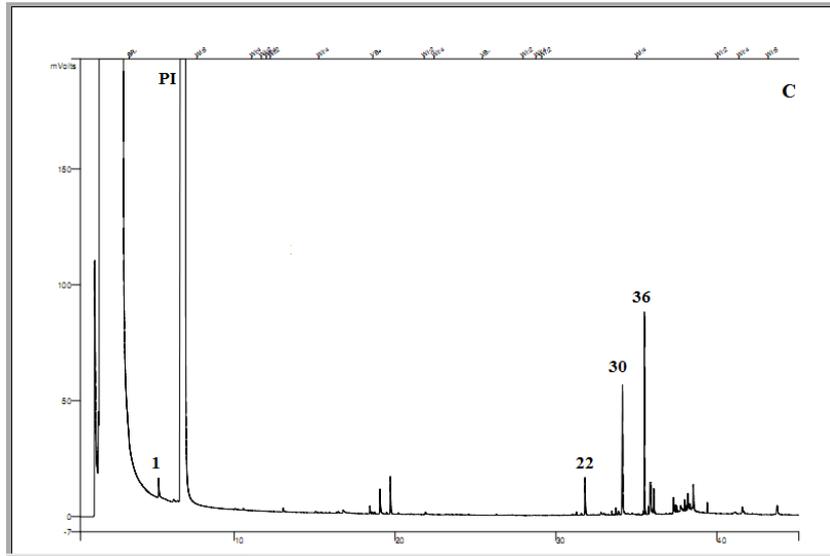


Figura 18. Diferentes classes químicas dos compostos voláteis glicosilados identificados nas amostras estudadas.

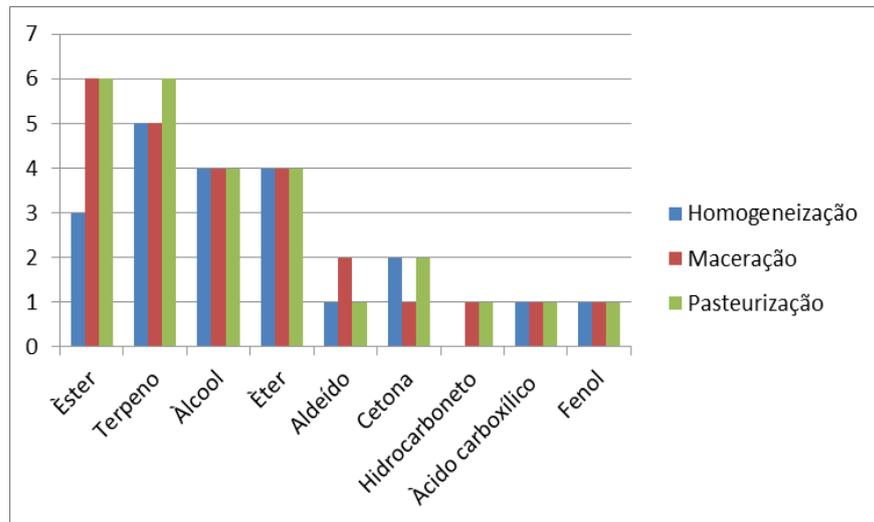
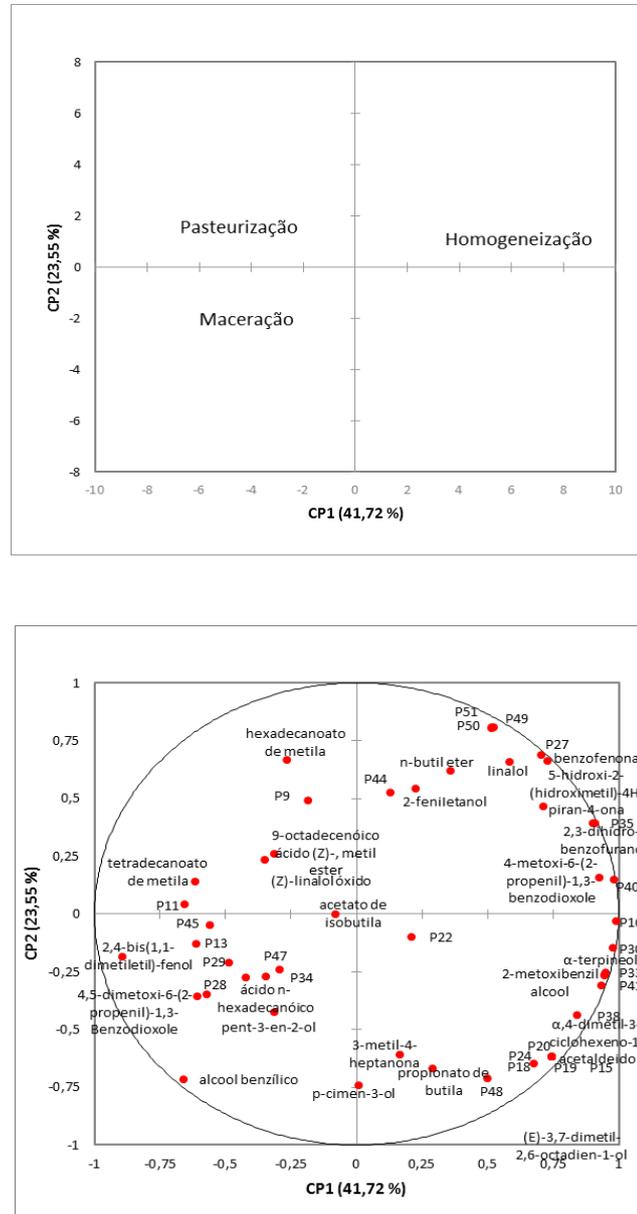


Figura 19. Análise de componentes principais - ACP dos compostos voláteis glicosilados da polpa diluída de bacuri nas diferentes etapas estudadas.



Por outro lado, os seguintes compostos foram concentrados na polpa macerada: acetato de isobutila, álcool benzílico, 4,5-dimetoxi-6-(2-propenil)-1,3-benzodioxol, tetradecanoato de metila, hexadecanoato de metila, ácido hexadecanóico e alguns compostos não identificados (picos 28, 29, 30, 34). Outros foram detectados somente após a maceração, como os ésteres hexadecanoato de metila, Z-9-octadecenoato de metila e octadecanoato de metila e diversos picos não identificados (Tabela 9). Esses compostos provavelmente estavam

presos na matriz viscosa do bacuri, e foram liberados com a redução da viscosidade pelas enzimas de maceração.

As amostras maceradas e pasteurizadas apresentaram perfis de voláteis glicosilados semelhantes, no entanto o processo de pasteurização causou perdas na maioria dos compostos, com exceção dos compostos (Z)-óxido de linalol, tetradecanoato de metila e os compostos não identificados 9, 11, 29 e 45, os quais aumentaram após a pasteurização.

#### **4.4. Componentes voláteis livres versus compostos glicosilados**

Comparando os perfis dos compostos voláteis livres e glicosilados da polpa de bacuri nas etapas estudadas, observou-se que apenas os compostos livres linalol e  $\alpha$ -terpineol, que aumentaram a concentração na polpa macerada, foram encontrados entre os compostos glicosilados que diminuíram a sua concentração após a maceração.

Assim, presume-se que os compostos que aumentam a concentração ou surgem após a maceração enzimática estavam presos na matriz de forma física, devido à alta viscosidade da polpa. Segundo Jones et al. (2008), os compostos voláteis apresentam maior dificuldade de se volatilizarem em meios de alta viscosidade, e como o processo de maceração liquefaz a polpa deixando-a menos viscosa, os compostos presos nessa matriz foram liberados.

## **5. CONCLUSÃO**

Dentre os compostos voláteis livres encontrados na polpa de bacuri, os terpenos e os álcoois foram os predominantes, enquanto o perfil de compostos voláteis glicosilados foi composto principalmente de ésteres e terpenos.

A maceração enzimática da polpa de bacuri influenciou positivamente o perfil de voláteis livres, pois promoveu a liberação de compostos voláteis que estavam ligados fisicamente na matriz viscosa da polpa.

Os compostos voláteis glicosilados da polpa de bacuri também sofreram influência da maceração enzimática, tanto pela quebra da ligação glicosídica de vários compostos, com a liberação dos respectivos compostos voláteis, como também pela liberação de mais compostos que estavam presos na matriz viscosa.

A etapa de pasteurização da polpa de bacuri promoveu mudanças nos perfis dos compostos voláteis livres e glicosilados, pois o calor envolvido nesse processo fez com que ocorressem perdas por volatilização ou possível degradação de alguns compostos, como também fez aumentar a concentração de outros.

## REFERÊNCIAS

ABIR - **Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de bebidas não alcoólicas**. Disponível em: <<http://abir.org.br/2011/10/24/dados-de-mercado-2011/>>. Acesso em: 13 Dez. 2012.

AGUIAR, L. P.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; SOUZA, V. A. B. Caracterização física e físico-química de frutos de diferentes genótipos de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 28(2): 423-428, abr.-jun. 2008.

AGUIAR, L. P. **Qualidade e potencial de utilização de bacuris (*Platonia insignis* Mart.) oriundos da região meio-norte**. 2006. 123 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, 2006.

ANDRÉS, A. I.; CAVA, R.; RUIZ, J. Monitoring volatile compounds during dry-cured ham ripening by solid-phase microextraction coupled to a new direct-extraction device. **J. Chromatogr. A**, 963: 83-88, 2002.

AQUINO, A. C. **Estudo da ampliação da escala na produção de néctar de bacuri (*Platonia insignis* Martius) com aplicação de preparações enzimáticas comerciais**. 2012. 192 p. tese (Doutorado em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, 2012.

AQUINO, A. C. **Eficiência da maceração enzimática da polpa de bacuri (*Platonia insignis* Mart.)**. 2008. 115 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, 2008.

AUGUSTO, F.; LOPES, A. L.; ZINI, C. A.; Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances. **Trends in Analytical Chemistry**, v.22, p. 160-168, 2003.

BARBOSA, M. M.; PINTO, G. A. S.; BRITO, E. S.; RODRIGUES, R. D. P. Avaliação da eficiência de maceração enzimática no bagaço do pedúnculo do caju para a obtenção de carotenoides. CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 18., 2010, Foz do Iguaçu (PR). **Anais...** Foz do Iguaçu (PR): Hotel Rafain Palace Hotel & Convention Center, 2010. p. 830-837.

BEZERRA, G. S. A.; MAIA, G. A.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUZA FILHO, M. S. M. Potencial agroeconômico do bacuri: revisão. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 23, n. 1, jan./jun. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução – RDC nº 205, de 14 de novembro de 2006. Estabelece Regulamento Técnico sobre Enzimas e Preparações Enzimáticas para Uso na Produção de Alimentos Destinados ao Consumo Humano. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 17 de novembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 12, de 4 de setembro de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 9 de setembro, Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 3.510, de 16 de junho de 2000. Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto no 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 19 jun, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 2.314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 05 set, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da comissão intersetorial de bebidas e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, DF, 15 julho, 1994.

BOULANGER, R.; CROUZET, J. Changes of volatile compounds during heating of bacuri pulp. **J. Agric. Food Chem.**, 49, 5911–5915, 2001.

BOULANGER, R.; CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. Free and bound flavor components of Amazonian fruits.1: Bacuri. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, p. 303-311, 1999.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. dos S.; MAGALHAES, H. C. R. **Microextração em fase sólida: métodos analíticos práticos para extração de compostos voláteis de frutas**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011. 3 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 166).

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, Dezembro 2010.

CARVALHO, J. E. U.; NAZARÉ, R. F. R.; NASCIMENTO, W. M. O. Características físicas e físico-químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) com rendimento industrial superior. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 25, n. 2, p. 326-328, Agosto 2003.

CARVALHO, J. E. U.; ALVES, S. M.; NASCIMENTO, W. M. O.; MÜLLER, C. H. Características físicas e químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sem sementes. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 2, p. 573-575, agosto 2002.

CITRUS BR. Consumo mundial de néctar. Disponível em: <<http://www.citrusbr.com/>>. Acesso em: 04 Fev. 2014.

CORREIA, A. A. S. **Maceração enzimática da polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.)**. 2010. 106p. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, 2010.

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; TOMÉ, A. R.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; FREITAS, R. M. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart.(Bacuri) one pilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, p. 678–684, 2011.

FACUNDO, H. V. V. **Mudanças no perfil sensorial e de voláteis do suco de abacaxi concentrado durante o processamento**. 2009. 82p. Dissertação (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará – UFC, Fortaleza, 2009.

FARIÑA, L. S. C.; RODRIGUES, J. M. M. A.; HENRIQUES, M. H. F.; SARAIVA, R. J. L. Otimização do rendimento do sumo de cenoura durante o processo produtivo. **Rev. Bras. Tecnol. Agroind.**, Campus Ponta Grossa, v.1, n.1, p. 64-81, 2007.

FAO – Food and Agricultural Organization. **World production of fruits (2012)**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 04 Fev. 2014.

FERRAREZI, A. C. **Interpretação do consumidor, avaliação da intenção de compra e das características físico-químicas do néctar e do suco de laranja pronto para beber**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araraquara – SP, 2008.

FIGUEIRA, R.; NOGUEIRA, A. M. P.; VENTURINI FILHO, W. G.; DUCATTI, C.; QUEIROZ, É. C.; PEREIRA, A. G. S. Análise físico-química e legalidade em bebidas de laranja. **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 21, n. 2, p. 267-272, abr./jun. 2010.

FONTENELE, M. A.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; ALVES, R. E.; SOUSA, P. H. M.; SOUZA, V. A. B. Conservação pós-colheita de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sob refrigeração e embalado em PVC. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 292-296, mai/jun, 2010.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma of minor tropical fruits. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 20, p. 358–371, 2005.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Aroma de Frutas Tropicais: Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). **Aroma e sabor de alimentos: Temas atuais**. São Paulo, Editora Varela, 2004.

GARRUTI, D. S. **Composição de voláteis e qualidade de aroma de vinho de caju**. 2001. 204p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

GROB, R. L.; KAISER, M. A. **Qualitative and Quantitative Analysis by Gas Chromatography**. In: Modern Practice of Gas Chromatography, ch 8, Fourth Edition (eds R. L. Grob and E. F. Barry), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. 2004.

IBÁÑEZ, E.; LÓPEZ-SEBÁSTIAN, S., RAMOS, E., TABERA, J., REGLERO, G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 281-286, 1998.

JONES, P. R.; GAWEL, R.; FRANCIS, I. L.; WATERS, E. J. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. **Food Quality and Preference**, v. 19, n. 6, p. 596–607, 2008.

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

LANÇAS, F.M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RiMa, 2004. 96p.

MORTON, J. Bakuri. In: MORTON, J. F. (ed.). **Fruits of warm climates**. Miami: FL, 1987, 308 p. Disponível em: <<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/bakuri.html>>. Acesso em: 07 Dez. 2012.

NICKERSON, G. B.; LIKENS, S. T. Gas chromatographic evidence for the occurrence of hop oil components in beer. **J. Chromatogr.**, 21: 1-5, 1966.

NIST – National Institute of Standards and technology. **Índice de Kovats**. Disponível em: <http://webbook.nist.gov/chemistry/>. Acesso em 15 Dez. 2012.

NOVOZYMES. **Novozymes Latin America Ltda**. Disponível em: <[http://www.novozymes.com.br/produtosesolucoes\\_produtos.htm](http://www.novozymes.com.br/produtosesolucoes_produtos.htm) >. Acesso em: 07 Dez. 2012.

OLIVEIRA, F. C.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; SOARES, É. B. Métodos para acelerar a germinação de sementes de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 24, n. 1, p. 151-154, abril 2002.

PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. L.; KILLAN, L. M.; BUCHHOLZ, K. D. Automation and optimization of solid-phase microextraction. **Anal. Chem.**, 64: 1960-1966, 1992.

PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Anal. Chem.**, 62: 2145-2148, 1990.

PÉREZ, A. G.; CERT, A.; RÍOS, J. J.; OLÍAS, J. M. Free and Glycosidically Bound Volatile Compounds from Two Banana Cultivars: Valery and Pequeña Enana. **J. Agric. Food Chem.** v. 45, p. 4393–4397, Sevilla, Spain, 1997

PHEROBASE. **Índice de Kovats**. Disponível em: <http://www.pherobase.com/>. Acesso em 15 Dez. 2012.

PINTO, L. G. C.(2006), **Efeito do processamento sobre o perfil sensorial e os constituintes voláteis do suco de acerola (Malpighia glabra L.)**. Trabalho de conclusão de curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

PIRILLO, C. P.; SABIO, R. P. 100% suco: nem tudo é suco nas bebidas de frutas. **Hortifruti Brasil**, Piracicaba, v. 8, n. 81, p. 6–13, 2009.

PORTE, A.; REZENDE, C. M.; ANTUNES, O. A. C.; MAIA, L. H. Redução de aminoácidos em polpas de bacuri (*Platonia insignis* Mart), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willd ex-Spreng Schum) e murici (*Byrsonima crassifolia* L.) processado (aquecido e alcalinizado). **Acta Amazonica**, v. 40 (3), p. 573 – 578, 2010.

POTTER, N.N. **Food Science**. Westport: Avi, 1973. 489 p.

PRESTES, R. A.; ALMEIDA, D. M.; BARISON, A.; PINHEIRO, L. A.; WOSIACKI, G. Caracterização por ressonância magnética nuclear de sucos de maçã obtidos por preparações enzimáticas. **Quím. Nova**, São Paulo, vol.35, n.6, 2012.

REINECCIUS, G. Choosing the correct analytical technique in aroma analysis. In: VOILLEY, A. & ETIÉVANT, P. **Flavour in food**. (Eds.), CRC Press, Boca Raton, p.81-95, 2006.

RÉVILLION, J. P. P. Inovação e diferenciação de produtos agroindustriais. In BADEJO, M. S. **Gestão e planejamento de organizações agroindustriais**. 1.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2011. 95p.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia seqüencial de planejamentos**, Campinas, SP: Casa do Pão Editora, 2005, 326 p

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; SOUZA, J. N. S.; SILVA, E. M.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Eur Food Res Technol.** 218:380–384. 2004.

SAKHO, M.; CHASSAGNE, D.; CROUZET, J. African Mango Glycosidically Bound Volatile Compounds. **J. Agric. Food Chem.**, 45, p.883-888, 1997.

SILVA, V. K. L.; FIGUEIREDO, R. W.; BRITO, E. S.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, E. A. T. Estabilidade da polpa do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) congelada por 12 meses. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 34, n. 5, p. 1293-1300, set./out., 2010.

SILVA, R. G.; CHAVES, M. C. L.; ARNHOLD, E.; CRUZ, C. D. Repetibilidade e correlações fenotípicas de caracteres do fruto de bacuri no Estado do Maranhão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 587-591, 2009.

SILVA, E. G.; BORGES, M. F.; MEDINA, C.; PICCOLI, R. H.; SCHWAN, R. F. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Research**, v.5, n.9, p.859-865, 2005.

SOUZA, V. A. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; ARAÚJO, E. C. E.; ALVES, R. E. D. O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.). Jaboticabal: Funep, 72p, 2000. (Serie Frutas Nativas, 11).

SOUZA, V. A. B.; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; LIMA, P. S. C. Variabilidade de características físicas e químicas de frutos de germoplasma de bacuri da Região Meio-Norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.23, n.3, p.677-683, 2001.

TEIXEIRA, G.H. de A. **Frutos do bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.): caracterização, qualidade e conservação**. 2000. 106p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

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.

THOMAZINI, M. **Compostos voláteis de sucos provenientes da fruta e polpa congeladas de umbu (*Spondias tuberosa*, Anacardiaceae)**. 1998. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 1998.

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 3, p. 888-897, Setembro 2011.