

PRINCIPAIS SUBSTÂNCIAS RESPONSÁVEIS PELO AROMA DE MANGAS COMERCIAIS BRASILEIRAS IDENTIFICADAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO/OLFATOMETRIA/ ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Diógenes C. Lopes, Sandra Regina Fraga e Claudia M. Rezende*

Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro - Cidade Universitária - Ilha do Fundão - Centro de Tecnologia - bloco A - 6º andar - 21945-970 - Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 23/10/97; aceito em 22/4/98

AROMA IMPACT SUBSTANCES ON COMMERCIAL BRAZILIAN MANGOES BY HRGC-O-AEDA-MS. Six Brazilian commercial mangoes were analysed by HRGC-O-AEDA-MS, viz., *Carlota*, *Haden*, *Espada*, *Coração de boi*, *Rubi* and *Tommy Atkins*. All them showed ethyl butanoate as the main aroma character impact compound by AEDA evaluation. The ethyl esters of 2 and 3-methylbutanoic acids are also important, the main contribution in *Carlota* variety being 2(S) enantiomer. In *Rubi* variety, both 2(R) enantiomer and 3-methyl isomer contributes to the caprylic fruity note observed. In four varieties, viz., *Haden*, *Espada*, *Rubi* and *Tommy Atkins*, δ -3-carene showed to be the second impact aroma compound presented. In *Tommy Atkins* variety, α -pinene also has a significant contribution, mainly due to its (1R,5R)(+)-enantiomer.

Keywords: impact aroma compounds; Brazilian mangoes; aroma extract dilution analysis.

INTRODUÇÃO

As diferentes condições climáticas encontradas no extenso território brasileiro levam à grande diversificação de culturas agrícolas nele observadas. Embora a fruticultura represente apenas 5% da área cultivada no país, o Brasil é considerado hoje o maior produtor mundial de frutas, tanto em volume produzido quanto em diversidade¹. Ainda assim, apenas 1 a 2% da produção brasileira de frutas frescas é exportada, levando o país ao 20º lugar entre os países exportadores².

Dentre as dez frutas de destaque na produção brasileira encontram-se o abacate, o abacaxi, a banana, a laranja, o limão, a maçã, o mamão, a manga, a melancia e a uva. Quanto ao teor nutritivo, destacam-se nesta lista a banana, devido aos altos teores de K, Ca e P, e também a manga, pelos seus altos teores de vitamina A.

Muito embora as culturas de destaque na economia brasileira sejam a laranja e banana, a produção de manga só é inferior à da Índia e do Paquistão. No entanto, o Brasil tem todas as condições para ser o maior exportador de mangas do mundo, tendo em vista nossas condições climáticas diversificadas, que permitem a colheita da fruta ao longo dos meses de setembro a março, enquanto que nos países do sudeste asiático, a colheita se restringe a julho, agosto e setembro.

A manga é originária do sudeste da Ásia, sendo cultivada na Índia há mais de 4000 anos³. No Brasil, foi introduzida na Bahia pelos portugueses no início da colonização, espalhando-se rapidamente por todo país.

Culturas comerciais de mangas são observadas em todo território brasileiro, com destaque para as regiões nordeste e sudeste. Sua perfeita adaptação ao solo e clima brasileiros é ainda bem representada pelas mangueiras que arborizam fartamente a cidade de Belém do Pará, protegendo seus habitantes do calor equatorial intenso.

Do período da colonização até os dias de hoje, estima-se um número aproximado de 350 variedades conhecidas em solo brasileiro³. Dentre estas, encontram-se variedades originárias do velho mundo, outras mais recentemente importadas, algumas

oriundas de cruzamentos aleatórios nos campos e outras geneticamente induzidas, buscando a melhoria de variedades de alto valor agregado. Todos estes fatores contribuem para a suposição de que a mangueira, *Mangifera indica*, é a espécie frutífera que apresenta o maior número de variedades no planeta³.

No período de outubro a março, são observadas nas feiras livres e mercados de todo território nacional mangas dos mais variados tamanhos, formatos e pesos, desde 100g até 1kg/fruta. Apesar de toda diversidade, o consumidor é invariavelmente atraído pelo aroma e sabor típicos das mangas, seja qual for a sua variedade.

Muito embora o odor primário seja caracteristicamente o mesmo em todas as variedades de mangas, até hoje não foi possível caracterizar, dentre os inúmeros constituintes voláteis já identificados, quais substâncias são responsáveis por este aroma inconfundível.

Os primeiros estudos sobre constituintes voláteis presentes em mangas foi desenvolvido em cultivares da Índia^{4,5}, mostrando principalmente a presença de hidrocarbonetos e álcoois monoterpênicos além de ésteres e lactonas de até dez átomos de carbono, também observados em outras frutas. Desde então, inúmeros trabalhos vem sendo realizados na tentativa de identificação dos voláteis presentes em mangas de diversos países como Venezuela⁶, Filipinas⁷, Egito⁸, E.U.A.⁹, Austrália¹⁰ e Cuba¹¹. Curiosamente, não há relato sobre a composição química dos constituintes voláteis em mangas brasileiras, muito embora sua expressividade comercial seja indiscutível.

Os primeiros trabalhos de identificação de voláteis em mangas utilizaram a técnica de extração e destilação simultâneas do tipo Likens/Nickerson¹² ou Likens/Nickerson modificada^{13,14}. Apesar da grande aceitabilidade destas técnicas, a alta temperatura empregada para realizar o arraste a vapor leva, com frequência, à introdução de artefatos oriundos da degradação dos açúcares presentes, sendo observados derivados furânicos como furfural, 5-metilfurfural e 2-acetilfurano⁵.

Ainda assim, os primeiros trabalhos utilizando estas técnicas tiveram um enorme impacto pela análise exaustiva dos constituintes químicos voláteis presentes em frutas. A investigação dos extratos de mangas egípcias por CG/EM levou à identificação de 114 substâncias em 2 variedades diferentes, das quais 81 inéditas nesta espécie frutífera⁸.

*e-mail: crezende@iq.ufrj.br

A avaliação sensorial dos constituintes voláteis de mangas já se fazia na tentativa de caracterização das substâncias importantes do aroma percebido. Estudos incessantes buscavam correlacionar as substâncias identificadas por espectrometria de massas (associada aos respectivos índices de retenção), suas características sensoriais e suas contribuições ao aroma total da fruta⁶. Como resultado, os principais constituintes voláteis com grande contribuição ao aroma de mangas foram identificados como hidrocarbonetos monoterpênicos. Em cultivares venezuelanos, o aroma foi associado principalmente ao δ -3-careno⁶. Nas variedades egípcias *Alphonso* e *Baladi*, foram enfatizados o β -mirceno e o *cis*-ocimeno⁸. Outros monoterpênicos importantes no aroma de algumas variedades, e que foram observados como constituintes majoritários na composição de alguns extratos, foram o limoneno⁸ e o α -terpinoleno^{10,15}.

Mais tarde, estudos comparativos entre as técnicas de destilação e extração simultâneas (SDE) e de captura de voláteis em adsorvente (*headspace* dinâmico) permitiram observar grandes alterações na composição dos extratos de voláteis em função da técnica utilizada. A captura de voláteis da variedade *Bowen* (Austrália) levou à caracterização do butanoato de etila como constituinte volátil de maior concentração no extrato, ao lado do α -terpinoleno¹⁰. Uma diminuição marcante na concentração dos ésteres pela técnica de SDE foi também verificada. Embora um grande número de ésteres já tivesse sido caracterizado em mangas, a soma de suas áreas relativas não chegava a 15%, contra 50 a 90% de hidrocarbonetos monoterpênicos¹⁰. Isto poderia ser explicado, à princípio, pelas diferenças entre as técnicas utilizadas. Este exemplo reforça a necessidade de se investigar constituintes voláteis em alimentos por técnicas de amostragem diferenciadas, já que fatores como temperatura, velocidade de liberação dos voláteis pela matriz e seus coeficientes de partição entre a fase aquosa majoritária em frutas e a fase gasosa (ambiente) provocam profundas modificações no perfil qualitativo e quantitativo destes extratos.

Além dos ésteres alifáticos, as lactonas, apesar de quantitativamente minoritárias, também tem lugar de destaque na composição dos voláteis de mangas. A contribuição de uma mistura de α e δ -lactonas foi evidenciada quando de sua adição a polpas de mangas¹⁶.

Atualmente, existe consenso de que não é possível atribuir o aroma de mangas a um grupo restrito de substâncias. Ainda assim, o uso de técnicas olfatométricas mais modernas nos permite observar outros aspectos na avaliação sensorial de frutas.

A contribuição de uma substância ao aroma de um alimento tem sido freqüentemente avaliada pela associação da cromatografia gasosa de alta resolução a um detector olfativo (CGAR-O), o qual pode ser um *nariz eletrônico*, já programado para avaliar sensorialmente os efluentes da coluna cromatográfica, ou simplesmente um tubo aquecido por uma fita ligada a um controlador de temperatura (*sniffing-port*), através do qual o avaliador treinado analisa o aroma dos constituintes que eluem da coluna cromatográfica. A avaliação do aroma de cada substância permite separar, rapidamente, os compostos de odor ativo daqueles inativos, ou seja, daqueles sem odor na concentração de análise. Neste ponto, deve-se ressaltar a necessidade de avaliação dos extratos em mais de uma coluna cromatográfica, avaliando a melhor resolução cromatográfica alcançada e, conseqüentemente, o perfil sensorial de todas as substâncias isoladamente, já que a co-eluição entre constituintes importantes no aroma pode levar a conclusões errôneas quanto à contribuição real dos aromas presentes.

Os métodos tradicionais de avaliação sensorial não permitem, entretanto, que se alcance precisão na comparação da intensidade relativa entre os aromas ativos de uma amostra. Para tal fim, o uso de técnicas de diluição associadas a um *sniffing port*, como a CHARM (*combined hedonic response measurement*)¹⁷ e a AEDA

(*aroma extract dilution analysis*)^{18,19} se faz necessária. Nestas técnicas, sucessivas diluições do extrato original, na razão de 1:1 com o solvente inicial, permitem avaliar por cromatografia gasosa-olfatometria as substâncias com aroma persistente nos mais altos graus de diluição. Estas substâncias são então caracterizadas como as de maior impacto naquela amostra, em função de sua concentração e de seu limiar de percepção ou *threshold* aromático (concentração mínima percebida pelo nariz humano). Estas técnicas vem sendo aplicadas para determinar importantes constituintes no aroma de alimentos naturais e processados^{20,21}.

Neste trabalho, identificamos as substâncias de maior impacto no aroma de seis variedades de mangas comercializadas no Estado do Rio de Janeiro, utilizando a associação da cromatografia gasosa quiral de alta resolução/olfatometria por AEDA/espectrometria de massas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tentativa de isolamento dos constituintes voláteis por destilação/extração simultâneas levou ao aparecimento de notas de aroma* com características cozidas, lembrando fruta passada e descaracterizando os extratos frente às frutas frescas. Do mesmo modo, a opção pela técnica de extração líquido/líquido introduziu no extrato uma nota de aroma acentuadamente adocicada, incomum na fruta fresca. A investigação das possíveis substâncias responsáveis por esta nota adocicada levou à identificação do 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-(2H)-furanona (*furaneol*) por co-injeção em coluna DB-5 e DB-WAX (5% fenilpolimetilsiloxano e carbowax 20M respectivamente, J&W Co.). O *furaneol* é um importante *flavor* usado na indústria alimentícia, com características de caramelo em seu aroma, já tendo sido caracterizado em mangas tanto na forma livre⁵ quanto como glicosídeo²².

Por fim, a técnica de escolha para analisar os constituintes voláteis representativos no aroma das mangas foi o *headspace* estático. Embora a amostragem exija um tempo longo, em função da baixa concentração de substâncias presentes e da ausência de agente externo para deslocar o equilíbrio entre as fases (como vácuo ou corrente de ar), o extrato final obtido manteve as características olfatométricas originais das seis variedades estudadas. O aquecimento controlado das frutas durante o *headspace*, na tentativa de deslocamento do equilíbrio, também descaracterizou os extratos frente às frutas frescas.

Apesar da indiscutível importância de se conhecer qualitativa e quantitativamente a composição aromática de um alimento, a literatura mostra que esta é uma tarefa árdua em *headspace*, tanto dinâmico quanto estático. Entretanto, o múltiplo *headspace* estático (MHE) parece reduzir enormemente a perda de acurácia e vem sendo aplicado com sucesso na quantificação de voláteis²⁵.

O *headspace* estático por nós utilizado forneceu, para a mesma quantidade inicial de frutas fatiadas, amostradas sempre no mesmo recipiente, à mesma temperatura e no mesmo número de horas, extratos passíveis de comparação em relação às áreas relativas obtidas por CGAR.

Na Tabela 1 são relacionados os constituintes químicos majoritários identificados nos extratos de *headspace* das seis variedades de mangas analisados por CGAR-EM com seus índices de retenção e suas áreas relativas em CGAR. O perfil cromatográfico das seis variedades pode ser observado na Figura 1.

* O aroma de um alimento, invariavelmente complexo, se constitui na soma de diversos odores, associados às substâncias presentes na composição daquele alimento. Os odores mais característicos e nitidamente percebidos pelo aromista são ditos **notas do aroma** global.

Tabela 1. Constituintes majoritários presentes nas seis variedades de mangas estudadas (CGAR-EM), seus índices de retenção(IR) e suas áreas relativas(%) em CGAR(coluna DB-5).

No.	Substâncias	IR ^a	Haden	Carlota	Espada	Coração de boi	Rubi	Tommy Atkins
1	Propanoato de etila	714	0,2	1,9	<0,1	0,3	<0,1	<0,1
2	Butanoato de metila	724	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
3	Butanoato de etila	800	1,6	50,2	3,4	24,1	2,8	0,6
4	n.i.	814	-	12,7	-	4,7	-	-
5	2- <i>E</i> -butenoato de etila	838	0,6	4,9	0,5	3,4	0,9	0,1
6	2-Me-butanoato de etila	842	0,1	0,1	0,1	0,2	<0,1	<0,1
7	3-Me-butanoato de etila	846	0,2	<0,1	0,1	0,2	0,1	<0,1
8	Butanoato de propila	896	<0,1	-	-	-	-	-
9	α -Pinoeno	939	0,3	0,3	0,8	0,4	1,4	15,0
10	2-Me-2-butenoato de etila	940	0,3	-	-	0,2	-	-
11	Canfeno	953	-	-	-	-	-	2,0
12	β -Pinoeno	980	-	-	-	-	-	3,0
13	β -Miraceno	991	2,6	2,1	5,9	59,0	3,5	-
14	Hexanoato de etila	996	-	1,3	-	0,3	-	-
15	δ -3-Careno	1011	78,3	-	7,7	-	76,8	65,5
16	α -Terpineno	1018	0,1	-	-	-	-	-
17	β -Felandreno	1031	-	-	0,9	-	-	-
18	Limoneno	1031	3,8	-	2,8	2,0	5,0	4,5
19	β -Ocimeno	1050	-	-	-	0,63	-	-
20	δ -Terpineno	1062	-	-	-	-	0,2	0,4
21	α -Terpinoleno	1088	5,6	-	65,3	-	5,0	4,8
22	Octanoato de etila	1195	0,9	3,4	0,6	0,6	-	0,2
23	α -Cubebeno	1351	-	-	0,2	-	-	-
24	β -Cubebeno	1390	-	0,2	-	-	-	-
25	α -Gurgujeno	1409	-	-	0,3	-	-	0,2
26	<i>t</i> -Cariofileno	1418	-	1,4	1,0	0,5	5,0	6,0
27	α -Guaieno	1439	-	0,6	2,0	1,0	0,7	-
28	Aromandreno	1439	-	-	-	1,30	-	-
29	α -Humuleno	1454	-	-	0,5	-	-	-
30	β -Selineno	1485	-	0,6	-	-	-	0,5
31	Valenceno	1491	-	1,8	-	-	-	-
32	α -Selineno	1494	-	-	2,1	-	-	-

^a - índices de retenção em coluna DB-5 (de acordo com a referência 30)

n.i.- não identificado

Em todas as variedades foi possível evidenciar a presença de vários ésteres caracterizando o aroma tipicamente frutal** de mangas, sendo observados em todos os extratos propanoato de etila, butanoato de metila, butanoato de etila, 2(*E*)-butenoato de etila, 2-metilbutanoato de etila e 3-metilbutanoato de etila. Segundo a técnica de AEDA, o butanoato de etila é o único constituinte percebido por CGAR-O na mais alta diluição em todos os extratos, sendo caracterizado como a substância de maior impacto no aroma de todas as variedades, apesar de sua contribuição minoritária em área relativa em algumas variedades, o que caracteriza seu baixo *threshold* ou alta capacidade aromatizante. O aroma frutal percebido tem ainda grande contribuição dos ésteres propanoato de etila e butanoato de metila nos seis extratos. Nas variedades *Espada*, *Haden* e *Coração de Boi*, a AEDA aponta os ésteres 2 metilbutanoato de etila e

3-metilbutanoato de etila com contribuição importante ao aroma frutal. Na variedade *Carlota*, o aroma frutal lembrando maçã, observado na região cromatográfica onde praticamente co-eluem os isômeros 2 e 3-metilbutanoato de etila em coluna DB-5, pôde ser associado ao isômero de posição 2-metil, tanto por co-injeção quanto pelo tipo de aroma percebido, apesar da baixa concentração e dificuldade de identificação por espectrometria de massas. Na verdade, este aroma estaria associado ao enantiômero 2(S), já que o enantiômero 2(R) possui aroma frutal rançoso, o que também é observado para o isômero de posição 3-metil^{27,28}. A confirmação da contribuição do enantiômero 2(S)-metilbutanoato de etila no aroma da variedade *Carlota* foi obtida pela análise em cromatografia gasosa com fase quiral em coluna CICODEX (ciclodextrina permetilada, J&W Co.). Na variedade *Rubi*, onde se percebe características rançosas no aroma, a análise por CGAR-quiral mostrou contribuição do enantiômero 2(R) preferencialmente ao 2(S), juntamente ao isômero de posição 3-metilbutanoato de etila em seu aroma.

Outros ésteres foram ainda identificados por espectrometria de massas/índices de retenção. Apesar de seu aroma frutal observado na avaliação pelo *sniffing-port*, estes não foram apontados como substâncias de alto impacto no aroma dos extratos analisados por AEDA, possivelmente devido a seus limiares de percepção mais altos²⁹.

** Na química do aroma, há duas propriedades sensoriais importantes para o odor percebido: intensidade (fraco, moderado ou intenso) e qualidade (floral, frutal, madeiroso, verde, amargo, etc). O aroma frutal é característico das frutas em geral, não estando diretamente associado a uma ou outra fruta específica, e as notas de aroma mais típicas e intensas estão normalmente associadas a ésteres de 3 a 8 átomos de carbono²⁶.

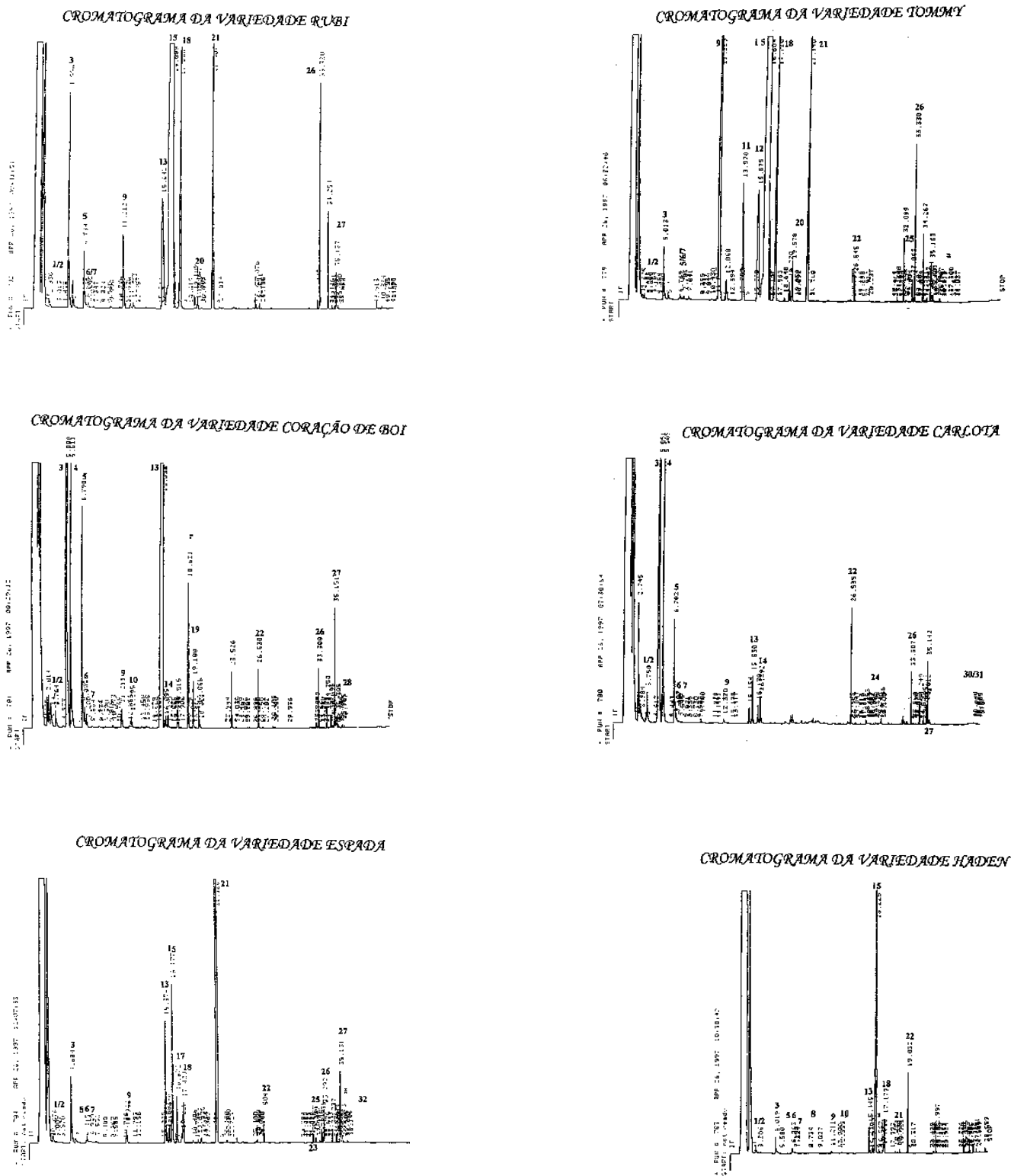


Figura 1. Cromatogramas relativos às seis variedades de mangas estudadas, obtidos por CGAR em coluna DB-5 (25m, 0,25 μ , 0,25 mm).

A nota de aroma verde*** característica de mangas, embora secundária em relação às notas frutais, foi correlacionada a hidrocarbonetos monoterpênicos. Dentre estes, a maior contri-

buição ao aroma verde nas variedades *Tommy Atkins*, *Haden*, *Espada* e *Rubi* se deve ao δ -3-careno. Nestas, a técnica de AEDA sugere este monoterpeneo como a segunda substância de maior impacto no aroma total dos extratos, o que estaria associado à alta concentração deste constituinte, já que seu limiar de percepção é bem superior ao do butanoato de etila (constituente de maior impacto em todos os extratos), conforme verificado pela avaliação dos padrões por CGAR-O. Embora a relação em área

*** O aroma verde ou as notas que o compoem fazem lembrar o frescor de capim recém-cortado. No caso de mangas, a nota verde mais típica lembra o odor de uma folha de mangueira recém-esmigalhada.

entre δ -3-careno: α -terpinoleno seja 7,7:65,3 na variedade *Espada* (Tabela 1), não foi observada contribuição significativa do α -terpinoleno por AEDA nas diluições analisadas, o que novamente pode ser explicado pelas diferenças em seus limiares de percepção. Na variedade *Tommy Atkins*, esta segunda posição do δ -3-careno é dividida com o α -pineno. Segundo a AEDA, o α -pineno tem ainda contribuição significativa no aroma das variedades *Espada* e *Coração de Boi*, muito embora estudos anteriores não tenham enfatizado sua contribuição ao aroma de outras variedades de mangas estudadas.

A análise do extrato de *headspace* da variedade *Tommy Atkins* por CGAR quiral/olfatometria permitiu avaliar a grande contribuição do enantiômero (1R,5R)-(+)- α -pineno ao aroma verde através da co-injeção e avaliação olfatométrica de padrões em coluna CICLODEX, apesar deste estar presente em menor concentração em relação ao enantiômero (1S,5S)-(-) (15% do (+)- α -pineno). Mesmo tendo notas de aroma bastante semelhantes, a análise dos padrões enantioméricos por CGAR-O permitiu verificar que o enantiômero (-) é mais resinoso que o enantiômero (+), o qual apresenta mais frescor, estando de acordo com a avaliação olfatométrica desta variedade.

Nas variedades *Carlota* e *Coração de boi*, de aroma caracteristicamente mais frutal e menos verde, a maior contribuição ao aroma verde se deve ao β -mirceno. Embora este monoterpene esteja presente em quase todos os extratos analisados, sua contribuição como substância de impacto no aroma é percebida apenas na ausência de outros monoterpenos de maior atividade aromática.

CONCLUSÃO

Extratos voláteis frutais apresentam centenas de substâncias aromáticas na sua composição, muito embora várias delas não tenham representatividade no aroma global percebido.

O uso de uma técnica olfatométrica mais seletiva, como a AEDA, permitiu a identificação das substâncias de aroma mais potentes e significativas em extratos de mangas comerciais brasileiras. As seis variedades estudadas revelaram ter o butanoato de etila como constituinte de aroma mais potente em todos os extratos, obtidos por *headspace* estático. Ao lado deste, as notas frutais principais foram ainda relacionadas aos ésteres propanoato de metila, butanoato de etila, 2-metilbutanoato de etila e 3-metilbutanoato de etila. A cromatografia gasosa quiral de alta resolução-AEDA, associada à co-injeção de padrões, revelou a contribuição significativa do enantiômero 2(S)-metilbutanoato de etila no aroma da variedade *Carlota*, enquanto que na variedade *Rubi* as notas frutais rançosas foram associadas ao enantiômero 2(R)-metilbutanoato de etila juntamente ao isômero de posição 3-metilbutanoato de etila.

Dentre as notas verdes, destacam-se os monoterpenos δ -3-careno, α -pineno e β -mirceno, em variedades distintas, como as substâncias de maior impacto logo após o butanoato de etila. Na variedade *Tommy Atkins* foi verificada a grande contribuição do enantiômero (1R,5R)-(+)- α -pineno ao aroma verde, através da co-injeção e avaliação olfatométrica dos padrões em cromatografia gasosa quiral de alta resolução-AEDA.

O conhecimento das substâncias de maior impacto no aroma de mangas, assim como de outras possíveis frutas investigadas pela associação CGAR quiral/olfatometria-EM traz importantes subsídios para o aprimoramento científico dos *aromistas* técnicos, os quais são ainda suportados pelo empirismo desta ciência tão abstrata e desconhecida que é a *ciência do aroma*.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Equipamentos

CGAR- olfatometria realizada em cromatógrafo HP 5890-A. O compartimento para avaliação sensorial (*sniffing port*) foi

adaptado ao cromatógrafo através de um tubo de aço aquecido por fita de aquecimento ligada a controlador de temperatura (T_{tubo} : 200°C). O tubo divisor de fluxo usado, conectado à saída da coluna capilar, foi de 1:5.

Foram utilizadas colunas capilares DB-5(J&W), DB-WAX(J&W) e CICLODEX (ciclodextrina permetilada, J&W). As análises por CGAR-EM foram realizadas em cromatógrafo HP5987-A.

2. Obtenção dos extratos de mangas por *headspace* estático

Cada 2,5 kg das seis variedades de mangas estudadas (*Carlota*, *Haden*, *Espada*, *Coração de Boi*, *Tommy Atkins* e *Rubi*) foram fatiadas no sentido longitudinal após lavagem com água destilada. A seguir, as fatias da casca e polpa foram introduzidas num erlenmeyer de 04 litros o qual foi então fechado com um dedo frio contendo gelo seco. Durante um período de 07 horas a 20°C, o dedo frio foi removido a cada 20 minutos, raspado o material depositado na superfície fria do vidro para um béquer e lavado com 2 ml de diclorometano (grau resíduo de pesticida). Após o final da amostragem, o material foi seco em sulfato de sódio P.A. e concentrado a 40°C numa aparelhagem de destilação com cabeça de Claisen e dedo frio resfriado a 3°C, até o volume final de 2 ml.

3. Condições cromatográficas em CGAR

T_{inj} 260°C, T_{DIC} 280°C, modo de injeção splitless por 0.5 min, gás de arraste H_2 . Coluna DB-5 (25m, 0,25 μ , 0,25 mm). T_{inicial} 32°C por 10 min, 2°C/min, 50°C, 4°C/min, 70°C/min, 7°C/min, 250°C por 15 min. Coluna DB-WAX (25m, 0,25 μ , 0,25 mm). T_{inicial} 60°C por 15 min, 2 °C/min até 220°C por 15 min. Coluna CICLODEX (25m, 0,25 μ , 0,25 mm), análise dos ésteres 2S e 2R-butanoato de etila: 30°C por 15 min, 2°C/min até 180°C por 10 min.; análise de (+) e (-)- α -pineno: realizada nas mesmas condições da coluna DB-5 até 180°C por 10 min.

4. Condições cromatográficas em CGAR-EM

T_{fonte} 200°C, impacto de elétrons a 70 eV. Coluna DB-5, condições cromatográficas idênticas às utilizadas em CGAR, item 3 acima.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Universitária José Bonifácio, ao CNPq, ao PRONEX/FINEP no.41.96.00911.00 ref. 4002-96 e a FAPERJ pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Carraro, A. F.; Cunha, M. M.; *Manual de Exportação de Frutas*. MARA/ SDR- FRUPEX/ IICA; Brasília, 1994.
2. Carraro, A. F.; Cunha, M. M.; *Brazilian Fruits: An Illustrative Guide for Importers*. MARA/ SDR- FRUPEX/ IICA; Brasília, 1994.
3. Gomes, P.; *Fruicultura Brasileira*. Nobel; São Paulo, 1978.
4. Angelini, P.; Bandyopadhyay, C.; Rao, B. Y. K.; Ghosh, A. S.; Bazinet, M. L.; *33rd Annu. Meet. Inst. Food Technol* **1973**, Paper 366.
5. Hunter, G. L. K.; Bucek, W. A. ; Radford, T.; *J. Food Sci.* **1974**, 39, 900.
6. Mac Leod, A. J.; Troconis, N. G.; *Phytochemistry* **1982**, 21, 2523.
7. Bautista, J. G., III; Balagot, A. H. ; Meinbam, E. J.; *J. Food Sci. Technol.* **1982**, 61, 102.
8. Engel, K. H ; Tressl, R.; *J. Agric. Food Chem.* **1983**, 31, 796.
9. Mac Leod, A. J. ; Snyder, C. H.; *J. Agric. Food Chem.* **1985**, 33, 380.

10. Bartley, J. P.; Schwede, A.; *J. Food Sci.* **1987**, *52*, 353.
11. Pino, J.; Rosado, A.; Sanchez, R.; *Nahrung* **1989**, *33*, 709.
12. Likens, S. T.; Nikerson, G. B.; *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* **1964**, *5*.
13. MacLeod, A. J.; Cave, S. J.; *J. Sci. Food Agric.* **1975**, *26*, 351.
14. Schultz, T. H.; Flath, R. A.; Mon, T. R.; Eggling, S. B.; Teranish, R.; *J. Agric. Food Chem.* **1977**, *25*, 446.
15. MacLeod, A. J.; MacLeod, G.; Snyder, C. H.; *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2189.
16. Wilson, C. W., III; Shaw, P. E.; Knight, R. J., Jr.; *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 1556.
17. Acree, T. E.; Barnard, J.; Cunningham, D. G.; In *Analysis of Volatiles*, de Gruyter, Ed.; Nova Iorque, 1984, p. 251-267.
18. Ullrich, F.; Grosch, W.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1987**, *184*, 277.
19. Grosch, W.; *Trens Food Sci. Technol.* **1993**, *4*, 68.
20. Schieberle, P.; *Recent Developments in Methods for Analysis of Volatile Flavor compounds and their precursors*. In *Characterization of food: emerging methods*. Goankar, A., Ed.; Elsevier; Amsterdam, 1995, p. 403-431.
21. Kersch, R.; Grosch, W.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.* **1997**, *204*, 3.
22. Sakho, D.; Chassagne, D.; Crouzet, J.; *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 883.
23. Pyssalo, T.; Honkanen, E.; Hirki, T.; *J. Agric. Food Chem.* **1979**, *27*, 19.
24. Pickenhagen, W.; Velluz, A.; Passerat, J.-P.; Ohloff, G.; *J. Sci. Food Agric.* **1981**, *32*, 1132.
25. Maggio, A.; Milana, M. R.; Denaro, M.; Feliciani, R.; Gramiccioni, L.; *J. High Resol. Chromatogr.* **1991**, *14*, 618.
26. Rossiter, K. J.; *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3201
27. Boelens, M. H.; Boelens, H.; Gemert, L. J.; *Perfume and Flavorist* **1993**, *18*, 2.
28. Koppenhoefer, B.; Behnisch, R.; Epperlein, U.; Holzschuh, H.; Bernheuter, A.; Piras, P.; Roussel, C.; *Perfume and Flavorist* **1994**, *19*, 1.
29. Grosch, W.; *Fl. Fragr. J.* **1994**, *9*, 147.
30. Adams, R. P.; *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry*. Allured Publishing. Co., Carol Stream, 1995.