



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 1677-1907

Dezembro, 2001

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 4

Compostos voláteis do sabor de pseudofrutos de cajueiro ano precoce (*Anacardium occidentale* L.) CCP-76

Deborah dos Santos Garruti
Maria Regina Bueno Franco
Maria Aparecida A.A.P. da Silva
Natalia Soares Janzantti
Gisele Letícia Alves

Fortaleza, CE
2001

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria Tropical

Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici

Caixa Postal 3761

Fone: (85) 299-1800

Fax: (85) 299-1803

Home page www.cnpat.embrapa.br

E-mail sac@cnpat.embrapa.br

Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente: Oscarina Maria da Silva Andrade

Secretário-Executivo: Marco Aurélio da Rocha Melo

Membros: Francisco Marto Pinto Viana, Francisco das Chagas

Oliveira Freire, Heloisa Almeida Cunha Filgueiras,

Edineide Maria Machado Maia, Renata Tiekko Nassu,

Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo

Supervisor editorial: Marco Aurélio da Rocha Melo

Revisor de texto: Maria Emília de Possídio Marques

Normalização bibliográfica: Rita de Cassia Costa Cid

Foto da capa: Cláudio de Norões Rocha

Editoração eletrônica: Arilo Nobre de Oliveira

1ª edição

1ª impressão (2001): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP - Brasil. Catalogação-na-publicação

Embrapa Agroindústria Tropical

Compostos voláteis do sabor de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) CCp-76. / Deborah dos Santos Garrutti... [et al.]. Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2001.

29 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1677-1907; n. 4).

1. Caju-Pedúnculo. 2. Compostos voláteis. 3. Química do sabor. 4. Cromatografia gasosa-olfatometria. 5. *Anacardium occidentale*. I. Garrutti, Déborah dos Santos. II. Série.

CDD 634.573

© Embrapa 2001

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	16
Conclusões	27
Referências Bibliográficas	28

Compostos voláteis do sabor de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) CCP-76

Deborah dos Santos Garruti¹

Maria Regina Bueno Franco²

Maria Aparecida A.A.P. da Silva³

Natalia Soares Janzantti⁴

Gisele Letícia Alves⁵

Resumo

Os constituintes voláteis do *headspace* de pseudofrutos de cajueiro anão precoce irrigado do clone CP76 foram analisados, durante duas safras consecutivas, por cromatografia gasosa de alta resolução e identificados por cromatografia gasosa-espectrometria de massas. Cinco julgadores analisaram os efluentes usando a técnica Osme, para determinar a importância de cada composto para o aroma característico do caju. Foram detectados 63 compostos, dos quais 51 foram identificados. O caju CP76 caracterizou-se por uma elevada quantidade de metil e etil ésteres. Os ésteres isovalerato de metila, isovalerato de etila, butanoato de metila, butanoato de etila, *trans*-2 butenoato de etila e 3-metil valerato de metila, juntamente com alguns compostos não identificados foram responsáveis pelo aroma doce, frutal e de caju. Cis-3-hexenol, hexanal e 2-metil-2-pentenal apresentaram diferentes notas verdes. O detector de ionização de chama não detectou compostos sulfurados, porém a análise olfatométrica revelou regiões do cromatograma onde odores sulfurosos puderam ser percebidos. O odor desagra-

¹ Eng. Alimentos, M.Sc., Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici, CEP 60511-110 Fortaleza, CE. deborah@cnpat.embrapa.br

² Licenc. em Química, D.Sc., Prof.ª Assistente da Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA/Unicamp. Departamento de Ciência de Alimentos, FEA/Unicamp, CEP 13083-970 Campinas, SP.

³ Eng. Alimentos, Ph.D., Prof.ª Assistente da Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA/Unicamp. Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição, FEA/Unicamp.

⁴ Farm. Bioquím., M.Sc., doutoranda da Unicamp.

⁵ Eng. Alimentos, M.Sc., doutoranda da Unicamp.

dável mais intenso no pseudofruto do caju foi atribuído ao ácido 2-metil butanóico, o qual foi descrito como fedido.

Termos para indexação: compostos voláteis, química do sabor, caju, pedúnculo, *Anacardium occidentale*, cromatografia gasosa-olfatometria.

Compostos voláteis do sabor de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) CCP-76

Abstract

The headspace volatile components of cashew apples from a commercial Brazilian dwarf genotype were separated by high resolution gas chromatography and identified by GC-MS. Five judges evaluated the GC effluents using the Osme technique, in order to determine the importance of each compound to the characteristic cashew aroma. Among the 63 detected compounds, 51 were identified. The main class of compounds was the methyl and ethyl esters. Esters methyl 3-methyl butanoate, ethyl 3-methyl butanoate, methyl butanoate, ethyl butanoate, ethyl *trans*-2-butenoate and methyl 3-methyl pentanoate, together with some unidentified compounds were important to the sweet, fruity and cashew-like aroma. *Cis*-3-hexenol, hexanal and 2-methyl-2-pentenal presented different green notes. The flame ionization detector did not detect sulfur compounds, but olfactometric analysis revealed chromatographic regions where sulfur-like odors could be perceived. The most intense unpleasant odor in cashew apple was due to 2-methyl butanoic acid, which was described as very stinky.

Index terms: Volatile compounds, flower chemistry, cashew apple, *Anacardium occidentale*, gas chromatography-olfactometry.

Introdução

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

O primeiro estudo publicado sobre os voláteis do pedúnculo de caju foi realizado por MacLeod & Troconis (1982), com cajus frescos da Venezuela, utilizando a técnica de destilação-extração simultânea. O grupo de compostos predominante foi o dos hidrocarbonetos terpênicos (38%), sendo o 3-careno o composto majoritário (24,3%). Foram também detectados cinco aldeídos que juntos corresponderam a 26% dos voláteis totais. Baseando-se nas concentrações presentes e na qualidade do aroma de cada composto determinadas pela técnica *sniffing*, os pesquisadores consideraram importantes os seguintes compostos, que foram assim descritos: hexanal como “grama”, o 3-careno como “frutal”, “enjoativo”, o limoneno com *trans*-2-hexenal juntos, descritos como “verde”, “grama” e benzaldeído como “amêndoas verdes frescas” e “caju”. No entanto, os próprios autores concluíram que os resultados do *sniffing* não foram suficientes para fazer deduções positivas quanto a quais compostos seriam particularmente importantes para a formação do aroma característico do caju.

Posteriormente, analisando os constituintes voláteis do suco de caju proveniente do Brasil, através da técnica de *headspace* dinâmico, Maciel et al. (1986) obtiveram resultados bastante distintos. Dentre os 52 compostos detectados, a principal classe foi a dos ésteres. Os majoritários foram os ésteres etílicos dos ácidos acético, 3-metil butanóico e hexanóico. Os aldeídos e terpenos apresentaram-se em baixo número e concentração. Foi, ainda, detectada a presença de dimetil sulfeto, dimetil dissulfeto e dimetil trissulfeto. A avaliação sensorial dos efluentes cromatográficos, através da técnica *sniffing* evidenciou que, individualmente, nenhum dos compostos foi capaz de duplicar o aroma típico do caju. Entretanto, os autores atribuíram aos ésteres butanoato de metila, butanoato de etila e isovalerato de etila o aroma doce e frutal, e aos ácidos isovalérico e

isobutírico o odor “pungente e azedo”, sugerindo ainda que os compostos sulfurados também são importantes para o aroma do caju.

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

Na tentativa de suplantiar as limitações da técnica de *sniffing*, outras técnicas de CG-olfatometria têm sido desenvolvidas, como Charm™ (Acree *et al.*, 1984), AEDA (Schieberle & Grosh, 1987) e Osme (McDaniel *et al.*, 1990; Miranda-Lopez *et al.*, 1992). Charm™ e AEDA, apesar de serem capazes de localizar regiões no cromatograma que registram voláteis importantes para o aroma do produto, sofrem críticas por serem fundamentadas em medidas de *threshold* para estimar a potência odorífera dos compostos voláteis (Da Silva *et al.*, 1994), em desacordo com as leis da psicofísica moderna. Já com a técnica Osme (‘cheiro’ em grego), o julgador sensorial, ao mesmo tempo em que descreve a qualidade do aroma, registra a intensidade do aroma percebido diretamente em uma escala de tempo-intensidade.

O objetivo deste trabalho foi estudar a composição de compostos voláteis do *headspace* do suco de caju do clone CP-76 e determinar quais são importantes para a formação do seu aroma característico, através da técnica de cromatografia gasosa-olfatometria Osme, a qual possibilita a quantificação da intensidade odorífera de cada composto. Dentre os clones de cajueiro anão precoce comercializados pela Embrapa, o cajueiro CP-76 apresenta as melhores características do pseudofruto (pedúnculos), como tamanho grande, coloração avermelhada e baixa adstringência. A árvore, de porte baixo, permite a colheita manual conservando, assim, a integridade do pseudofruto, o qual pode ser aproveitado tanto para consumo *in natura* como para a industrialização (sucos, bebidas e doces).

Material e Métodos

● Amostragem e preparo da amostra

Foram estudados três lotes de pseudofrutos do cajueiro anão precoce do clone CP-76, em duas safras consecutivas (1998 e 1999). O material analisado, cultivado sob irrigação, era proveniente do Campo Experimental de Paraipaba (Ceará), da Embrapa Agroindústria Tropical. Para a realização das análises, os lotes compostos por cinco quilos de pseudofrutos maduros foram transportados via aérea para os laboratórios da UNICAMP, em três semanas consecutivas. O material recebido foi selecionado e dividido em três amostras. Cada amostra foi triturada em liquidificador e trezentos gramas do suco, adicionados de NaCl p.a. 30% p/p para inibir possíveis reações enzimáticas, foram colocados em balão de fundo redondo do sistema de captura de voláteis (Figura 1).

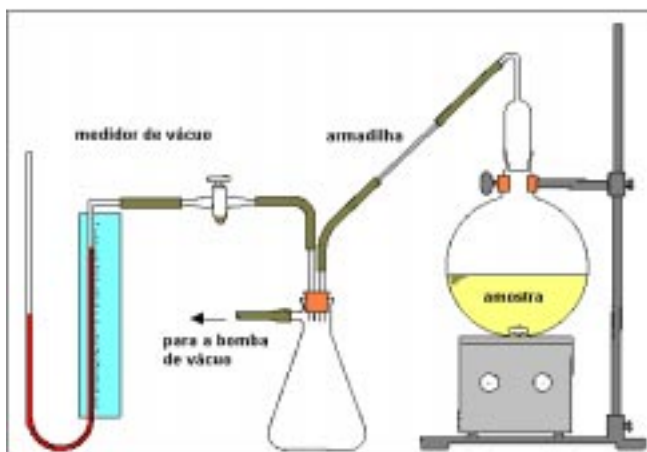


Fig. 1. Sistema de captura dos compostos voláteis do *headspace* por sucção.

● Isolamento dos compostos voláteis

Os compostos voláteis do suco do caju foram isolados através de adsorção em polímero poroso pela técnica de enriquecimento em *headspace* dinâmico, por sucção, segundo metodologia descrita por Franco & Rodriguez-Amaya (1983). Os voláteis foram capturados em polímero Porapak Q, 80-100 mesh, da Waters Associates, sob vácuo de aproximadamente 70 mm Hg por 2 horas e, posterior-

mente, eluídos com 300 mL de acetona (grau análise de resíduos), dando origem a um isolado.

● Análise cromatográfica

Foram injetados 2,0 mL de cada isolado em cromatógrafo gasoso VARIAN modelo 3800 acoplado a um microcomputador equipado com o programa STAR WORKSTATION, nas seguintes condições cromatográficas: coluna de sílica fundida de 30 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno com fase ligada Carbowax 20M de 0,25 mm (VA-wax, da Varian); gás de arraste: hidrogênio a 1,5 mL/min, injetor: *splitless* a 200 °C, detector de ionização de chama (DIC) a 250 °C, programação da coluna: T_{inicial} 50 °C, mantida por 8 minutos, elevação até 110 °C a 4°/min, T_{final} 200 °C atingida a 16°/min.

● Identificação dos compostos voláteis

Os isolados dos voláteis do suco foram analisados em um cromatógrafo gasoso SHIMADZU modelo 17-A, equipado com um detector de massas modelo QP-5000, nas mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente utilizando hélio como gás de arraste, temperatura do detector 250 °C e voltagem de ionização 70 eV.

O Índice de Kovats de cada composto foi utilizado como um dado complementar para a confirmação da identidade dos compostos. Sendo comparados àqueles descritos na literatura (Jennings & Shibamoto, 1980) ou obtidos via “Internet” (Acree & Heinrich, 2000). Compostos para os quais não foi possível encontrar o Índice de Kovats teórico foram considerados “tentativamente identificados”.

● Cromatografia Gasosa-Olfatometria

Os efluentes cromatográficos foram submetidos à análise sensorial através da técnica Osme (McDaniel et al., 1990; Miranda-Lopez et al., 1992; da Silva et al., 1992) para determinação da importância odorífera dos compostos voláteis presentes no isolado de caju.

O sistema de cromatografia gasosa-olfatometria utilizado está esquematizado na Figura 2. Para a avaliação sensorial dos eluentes, a coluna foi transferida do DIC para uma outra base de detector (somente a base, sem o detector) mantida à mesma temperatura utilizada no DIC. Um tubo de vidro previamente siliconizado

foi instalado no topo dessa base (Figura 3) e revestido externamente com manta de fibra de vidro e papel alumínio para manter o aquecimento e evitar a condensação dos voláteis no tubo (Figura 4). Os efluentes cromatográficos foram misturados ao ar proveniente de um cilindro, previamente umidificado, aquecido a 28 °C e purificado com carvão ativado (Figura 5). A razão de fluxo do ar foi padronizada em 4 L/min e monitorada por um rotâmetro instalado após a saída do filtro de carvão ativo.

Assim, os compostos separados pela coluna cromatográfica e carregados pelo ar que fluía pelo tubo de vidro foram submetidos à análise sensorial por cinco (5) julgadores, os quais foram instruídos a respirar normalmente enquanto estivessem inalando os efluentes cromatográficos. Os julgadores foram previamente selecionados para aroma de caju, na etapa de padronização da metodologia de isolamento dos voláteis (Franco et al., 1998). O treinamento constou de análises prévias, com a própria amostra.

A análise olfatométrica teve duração de 30 minutos e cada julgador realizou a análise em três repetições, em dias diferentes. Cada vez que um odor era percebido, o julgador respondia ao estímulo movimentando uma escala de tempo-intensidade de 0 a 10 cm utilizando o *mouse* do computador (Figura 6). Ao mesmo tempo em que utilizava a escala, o julgador descrevia verbalmente a qualidade dos odores percebidos e o pesquisador anotava também o tempo inicial no qual o aroma era percebido.

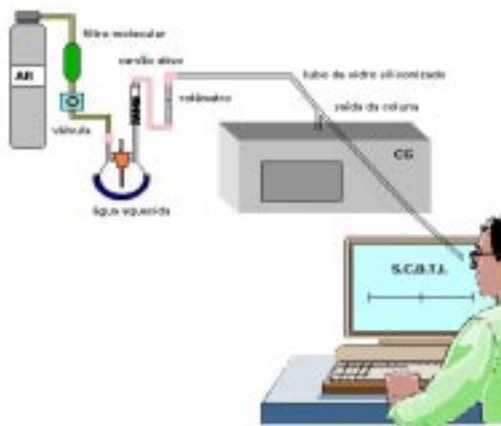


Fig. 2. Ilustração do sistema de CG - Olfatometria (Osme).



Fig. 3. Vista superior do encaixe do tubo de vidro sobre a saída da coluna.



Fig. 4. Detalhe da manta térmica para manter o aquecimento do tubo de vidro.



Fig. 5. Sistema de umidificação, aquecimento e filtragem do ar que vem do cilindro para arrastar os compostos voláteis até as narinas do julgador.



Fig. 6. Análise olfatométrica através da técnica OSME. Detalhe do julgador percebendo o aroma e utilizando o mouse do computador para registrar a sua intensidade diretamente na tela do monitor.

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

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

Para avaliar o desempenho da equipe sensorial e auxiliar a localização dos picos, foi introduzido, no isolado de compostos voláteis do *headspace* do suco do

caju, um padrão interno de Índice de Kovats e aromas bem conhecidos. Foi escolhido o linalol, que eluiu em uma região praticamente “vazia” do cromatograma.

- Análises estatísticas

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

Resultados e Discussão

- Identificação e porcentagens relativas dos compostos voláteis

O uso da cromatografia gasosa de alta resolução permitiu a detecção de 63 picos nas amostras das duas safras analisadas. Nas Figuras 7 e 8 são mostrados os cromatogramas típicos do suco de pseudofrutos do caju do clone CP-76, em cada safra. A Tabela 1 apresenta, para cada composto, os índices de Kovats, as porcentagens de área relativa médias do cromatograma e aromagrama, a intensidade máxima do odor (I_{\max}) e a descrição do aroma. Os íons majoritários de cada um dos compostos identificados, obtidos pela espectrometria de massas, são apresentados no Anexo 1. Compostos para os quais não foi possível obter o valor do Índice de Kovats teórico e, portanto, identificados somente por CG-EM, foram considerados “tentativamente identificados”. Compostos identificados por meio de padrões puros foram chamados de “positivamente identificados”.

Não foi possível quantificar, em algumas corridas cromatográficas, os compostos numerados de 1 a 3, por não separarem do pico do solvente, ou do pico vizinho. Também, não foi possível quantificar, na safra 1998, os picos 27 a 31, os quais, além de não apresentarem boa resolução, ou seja, não se separaram em todas as corridas, frequentemente invertiam suas posições, deixando dúvidas quanto a sua correta identificação.

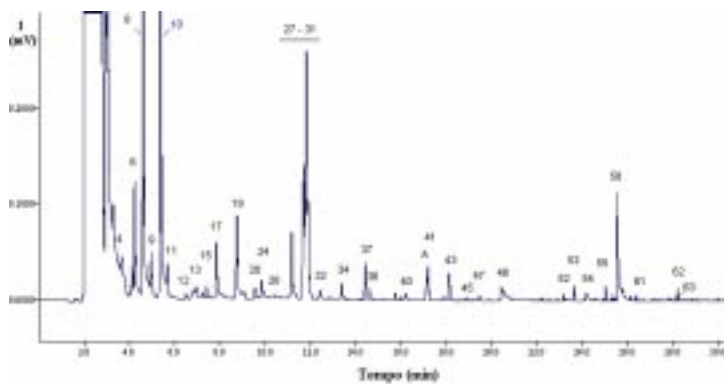


Fig. 7. Cromatograma típico dos voláteis do suco do caju, safra 1998.
A = pico da impureza da acetona.

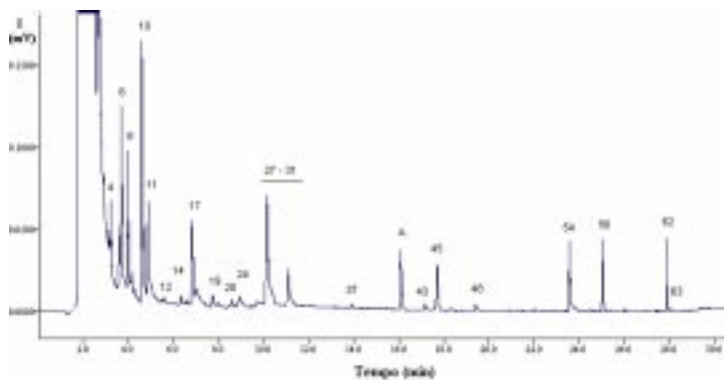


Fig. 8. Cromatograma típico dos voláteis do suco do caju, safra 1999.
A = pico da impureza da acetona.

Tabela 1. Compostos odoríferos e não odoríferos, detectados por FID e Osme, em suco de pedúnculos de caju CP-76.

Pico	I _{exp}	Composto	Descritores	1998	1999	I _{MAX}	Área % (Osme) ^d
				Área % (FID)			
a	-	-	cândida, caju-ameixa	nd	nd	1,18	0,26
1	< 1000	acetato de etila	caju-ameixa, solvente, ruim, roupa molhada	1,80	nq	4,88	3,12
2	< 1000	propanoato de etila	doce, lembra caju	nd-0,43	nq-0,35	1,23	0,27
3	< 1000	NI	doce, esmalte, plástico, chiclete, fruta	nd-0,65	nq-0,60	5,23	2,67
4	< 1000	butanoato de metila	doce, fruta, fruta passada, caramelo	0,55	1,70	3,72	1,39
b	1005	-	plástico, adocicado, abacaxi, irritante	nd	nd	3,48	1,95
5	1016	NI	doce, tuti-fruti, esmalte, morango	nd-0,11	tr-2,86	3,82	2,29
6	1025	isovalerato de metila	caju, doce, plástico, ruim	7,55	7,64	5,20	3,68
7	1035	NI	plástico, fedido, podre, doce	2,94	tr	3,16	1,51
8	1042	butanoato de etila	doce, caju, tuti-fruti, esmalte, éster	13,02	5,50	4,79	3,35
9	1057	2-metil butanoato de etila	caju, doce, floral, fruta, maçã	2,22	1,22	4,41	1,77
10	1075	isovalerato de etila ^b	caju, doce, guaraná, fruta, maduro	15,27	14,18	5,13	4,34
11	1087	hexanal	verde, mato, grama	1,80	10,81	6,54	4,46
12	1103	2-butenato de metila	não detectado por Osme	0,26	0,29	-	-
13	1111	acetato de isoamila ^b	plástico, ruim, solvente, verde	2,22	0,92	3,52	2,90
14	1135	3-metil valerato de metila	doce, caju, fruta	tr-0,32	nd-0,4	3,42	1,40
15	1140	N-valerato de etila ^b					
16	1143	NI		nd-0,15	nd		

Continua.

Continuação da Tabela 1.

Pico	Iexp	Composto	Descritores	1998	1999	I _{MAX}	Área % (Osme) ^d
				Área % (FID)			
17	1149	2-metil-2-pentenal ^a	verde folha, grama, verde, mato, caju verde	2,13	14,71	5,03	4,83
18	1157	1-butanol	não detectado por Osme	nd-tr	nd-1,85	-	-
19	1169	<i>trans</i> -2-butenato de etila ^b	caju, doce, fruta madura, tuti-fruti	6,21	0,79	4,58	2,64
20	1181	3-metil-valerato de etila ^a	caju, desagradável, acre lembra caju, doce	0,38	0,38	1,79	1,52
21	1183	N-acetato de amila	lembra caju, doce	nd-0,11	nd-0,19	0,50	0,15
22	1188	hexanoato de metila	caju, doce, sauna	nd	0,64	1,75	1,10
23	1189	NI	não detectado por Osme	tr	tr-0,43	-	-
24	1190	2-metileno butanoato de metila ^a	não detectado por Osme	0,86	1,24	-	-
25	1194	NI	não detectado por Osme	nd-0,48	nd-0,26	-	-
26	1197	3-hexanol	não detectado	nd-0,11	0,54	-	-
27	1214	<i>trans</i> -2-hexenal	percevejo, amêndoa, doce, flor	nq	14,27	4,54	2,95
28	1222	hexanoato de etila ^b	fruta, doce, caju, menta	nq	1,44	2,40	1,02
29	1229	2-metil-2-butenato de etila	caju, doce, frutal, menta, bolo de abacaxi	nq	2,62	3,62	1,66
30	1232	2-hexanol	não detectado	nq	nd-tr	-	-
31	1237	3-metil-1-butanol	caju passado, caju-ameixa, desagradável	nq	3,23	1,93	0,59
32	1260	1-pentano ^b	não detectado por Osme	nd-0,82	nd-0,26	-	-
33	1272	2-hexenoato de metila ^a	não detectado por Osme	tr	nd-0,14	-	-
34	1278	octanal	eucalipto, cítrico, óleo de amêndoas, menta, verde	tr	tr	3,00	1,46
35	1284	<i>trans</i> -3-hexenoato de etila	verde, seco	1,61	tr-0,46	1,60	1,03
36	1295	NI	cola, mofo, pano molhado, caju	tr-0,51	nd	2,94	1,81

Continua.

Continuação da Tabela 1.

Pico	Iexp	Composto	Descritores	1998	1999	I _{MAX}	Área % (Osme) ^d
				Área % (FID)			
37	1298	3-hidroxi-2-butanona	adocicado, bom, leve	1,18	0,20	0,27	0,07
38	1325	6-metil-5-heptenona	não detectado por Osme	0,34	nd-0,21	-	-
39	1328	<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	doce	0,30	nd-0,12	0,32	0,08
40	1336	NI	não detectado por Osme	0,26	nd-tr	-	-
c	1359	-	enxofre, desagradável, gás de cozinha, podre	nd	nd	4,55	2,01
41	1362	1-hexanol ^b	não detectado por Osme	0,74	nd-0,14	-	-
42	1378	NI	não detectado por Osme	nd-0,16	nd-0,45	-	-
43	1367	<i>cis</i> -3-hexenol	verde, fruta, ácido, cítrico	tr-1,93	0,99	6,26	5,06
44	1380	nonanal ^b	doce, perfume, óleo de amêndoas	nd-0,14	nd	3,29	1,87
45	1391	2-butoxi-etanol	lembra caju, suave	nd-0,15	tr-3,35	0,62	0,69
46	1417	NI	plástico, maria fedida, estranho	nd-tr	nd-tr	1,47	0,57
47	1429	octanoato de etila ^b	fruta, coco, perfume, flor	0,22	nd-0,35	2,50	1,71
d	1438	-	madeira, flor, fruta madura	nd	nd	0,98	0,26
48	1447	ácido acético	ácido, acético, estragado	0,97	0,65	2,09	1,15
e	1457	-	plástico, roupa molhada	nd	nd	1,96	2,65
49	1477	<i>alfa</i> – copaeno	não detectado por Osme	nd-tr	nd	-	-
50	1490	decanal	não detectado por Osme	nd-tr	nd-tr	-	-
51	1498	benzaldeído ^b	plástico, verde, mato, fruta	nd-tr	nd-0,34	2,92	0,91
f	1528	-	batom sem perfume, madeira	nd	nd	1,93	0,63
52	1547	2-hidroxi-4 metil-pentanoato de etila	não detectado por Osme	0,25	nd-0,17	-	-
PI	1559	linalol (padrão interno)	mamão, perfume, jasmim	-	-	6,45	-
53	1567	1-octanol ^b	não detectado por Osme	tr-0,39	nd-tr	-	-

Continua.

Continuação da Tabela 1.

Pico	lexp	Composto	Descritores	1998	1999	I _{MAX}	Área % (Osme) ^d
				Área % (FID)			
54a	1583	NI (composto da mistura não resolvida)	floral, perfume, verde, cítrico	nd-0,35		4,85	2,23
54b	1592	NI (composto da mistura não resolvida)	picante, pimentão, verde, flor		2,74	0,80	0,37
54c	1605	NI (composto da mistura não resolvida)	caju, fruta, caju verde, essência artificial, frescor			7,72	6,87
55	1636	acetofenona	caju passado, desagradável	0,21	0,15	0,57	0,20
56	1653	benzoato de etila	não detectado por Osme	nd-0,12	nd-tr	-	-
57	1666	ácido 3-metil butanóico	não detectado por Osme	nd-tr	nd-0,15	-	-
58	1674	ácido 2-metil butanóico ^b	fedido, ruim, roupa molhada, suor, chulé	2,87	3,44	7,89	9,03
59	1689	NI	percevejo, plástico	0,32	tr-0,24	0,95	0,28
60	1731	4-etil benzaldeído ^b	ruim, caju	nd-0,14	nd-0,48	0,97	0,92
61	1750	<i>gamma</i> -hexalactona	cera, verde, ácido	tr-0,18	nd-0,27	0,66	0,88
g	1839	-	caju, desagradável, ácido	nd	nd	0,73	0,56
62	>1900	NI	não detectado por Osme	nd-0,18	1,33	-	-
63	>1900	<i>delta</i> -octalactona	doce, coco	nd-0,11	tr-0,74	0,96	1,43
h	>1900	-	leite de mamão, arruda, ruim	nd	nd	1,02	0,20

NI = não identificado

^a = tentativamente identificado

nd = não detectado por FID

nq = não quantificado por problemas de resolução ou identificação

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

I_{MAX} = Intensidade máxima do odor

^b = identificado por espectrometria de massas e Índice de retenção

^c = positivamente identificado

^d = Osme foi realizado somente na safra 1999

A análise de variância realizada em conjunto, para as duas safras, mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) para a maioria dos picos detectados. Pela análise da Tabela 1 observou-se que foram detectados mais picos nos cromatogramas do suco do caju da safra 1998 (61 picos) que nos cromatogramas da safra 1999 (58 picos). Desses picos, 56 foram detectados em ambas as safras. As amostras da primeira safra apresentaram maior intensidade para a maioria dos compostos. Os picos que não apareceram na segunda safra podem estar em concentrações abaixo do limite de detecção do aparelho.

Levando-se em consideração o total de compostos detectados nas duas safras analisadas, a composição de voláteis do *headspace* do suco do caju foi caracterizada por uma grande quantidade de ésteres, 8 aldeídos, 9 álcoois, 5 cetonas e lactonas, 3 ácidos, 1 terpeno, e 12 compostos não identificados.

Os ésteres apresentaram-se em séries quimicamente relacionadas, sendo detectados ésteres etila dos ácidos carboxílicos saturados C_2-C_6 e C_8 juntamente com os mesmos ésteres metila de C_4-C_6 . Também estiveram presentes 2-butenosatos de metila e etila, isovaleratos de metila e etila e 3-3-metil-valeratos de metila e etila.

Na safra 1998, os compostos majoritários foram isovalerato de etila (15,27%), butanoato de etila (13,02%), isovalerato de metila (7,55%), *trans*-2-butenosato de etila (6,21%), ácido 2-metil butanóico (2,87%), 2-metil-butanoato de etila (2,22%), 2-metil-2-pentenal (2,13%), hexanal (1,80%) e um composto não identificado, numerado como pico 7 (2,94%). Alguns compostos entre os picos 27 a 31 também foram majoritários.

Na safra 1999 os compostos majoritários foram 2-metil-2-pentenal (14,71%), *trans*-2-hexenal (14,27%), isovalerato de etila (14,18%), hexanal (10,81%), isovalerato de metila (7,64%), butanoato de etila (5,5%), ácido 2-metil butanóico (3,44%) e 3-metil-1-butanol (3,23%).

Os resultados obtidos foram bastante semelhantes aos apresentados por Maciel et al. (1986), os quais utilizaram também a técnica de *headspace* dinâmico, no que se refere à grande quantidade e variedade de ésteres de metila e etila detectados. Esses autores também detectaram os compostos 3-hidroxi-2-butanona, 3-metil-butanol, 3-hexenol, benzaldeído, octanol, acetofenona, ácido 3-metil butanóico e g-hexalactona.

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

• Qualidade do aroma dos compostos voláteis por CG-Olfatometria

A Figura 9 apresenta o aromagrama consensual comparado ao cromatograma do isolado utilizado na análise olfatométrica. O aromagrama revelou uma grande concentração de compostos odoríferos no começo do cromatograma, ou seja, na região dos compostos mais voláteis, dois compostos de alta intensidade de aroma na região central do cromatograma (compostos c e 43) e mais alguns compostos de elevada importância odorífera na região de Índice de Kovats entre 1500 e 1700. Observou-se, ainda, que na região correspondente ao pico 54 foram percebidos três picos odoríferos distintos, confirmando a suspeita anterior de que o pico 54 corresponde a uma mistura de compostos.

Observou-se que praticamente todos os picos majoritários do cromatograma apresentaram também alta intensidade de aroma, como é o caso dos compostos 1, 6, 8, 10, 11, 17, 27, 28 e 58. Entretanto, a análise dessa figura evidencia que a importância odorífera de uma substância volátil não está necessariamente relacionada com a concentração do composto na amostra, pois compostos presentes no cromatograma em baixa porcentagem relativa ou até mesmo em quantidades traços apresentaram expressiva importância odorífera, como os compostos 3, 5, 9, 13, 14, 15, 16, 19, 36, 43, 51 e 54. Alguns dos compostos odoríferos, detectados pela equipe sensorial, não foram detectados pelo DIC (picos identificados por letras no aromagrama).

Os julgadores perceberam três picos odoríferos distintos (54a, 54b, 54c) na região do cromatograma correspondente ao pico 54, cujo espectro de massas foi

indicativo de composto terpênico. No trabalho de Maciel et al. (1986) existem três compostos terpênicos na mesma região de Índice de Kovats entre 1580 e 1600, muito próximos entre si, dos quais dois não foram identificados, e um é o cariofileno, o qual foi também detectado por MacLeod & Troconis (1982). Bicalho (2000) também detectou três sesquiterpenos, muito próximos um do outro, utilizando uma coluna HP-5. É provável que o pico 54, no presente trabalho, seja uma mistura desses três compostos que eluíram juntos devido à programação de temperatura utilizada na coluna.

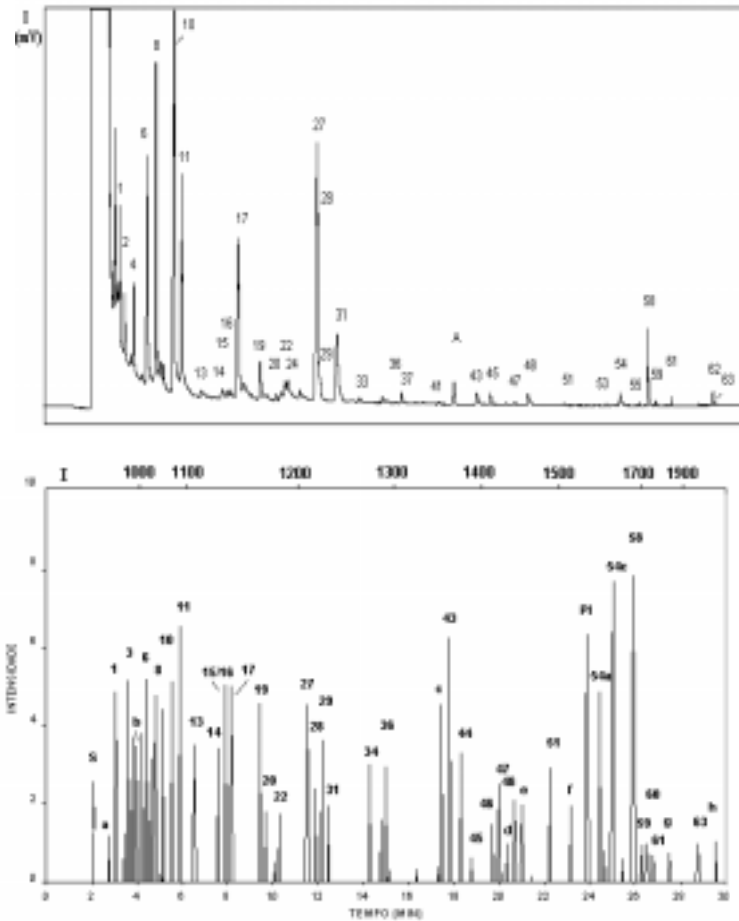


Figura 9. Cromatograma (A) e aromagrama consensual (B) do suco do caju.

A = impureza da acetona.

Letras no aromagrama (a - h) representam compostos não detectados pelo FID.

S = solvente.

PI = Padrão interno.

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

Foram considerados como principais contribuintes para o aroma do caju os compostos que apresentaram os maiores valores de I_{\max} (entre 6 a 8, em uma escala de 10 cm): ácido 2-metil butanóico (pico 58) descrito como “fedido, suor, chulé”; pico 54c, descrito como “caju, fruta”; hexanal (pico 11), descrito como “verde, mato, grama”; e o *cis*-3-hexenol (pico 43), descrito como “verde, fruta”.

Grande parte dos compostos odoríferos do isolado do suco de caju apresentou uma intensidade de odor moderada (3,5 a 5,5), principalmente os ésteres de metila e etila do começo do cromatograma. Isovalerato de metila (pico 6), isovalerato de etila (pico 10), butanoato de etila (pico 8), *trans*-2-butenoato de etila (pico 19), 2-metil butanoato de etila (pico 9), butanoato de metila (pico 4), 3-metil valerato de metila (pico 14) e 2-metil-2-butenoato de etila (pico 29), em ordem decrescente de intensidade, foram descritos como “caju”, “doce”, “floral”, “fruta”. N-valerato de etila (pico 15) foi percebido, juntamente com o pico 16 (não identificado), como tendo aroma de “mato”, “verde”, “grama”, “flor”. A mesma descrição foi dada pelos julgadores para o aldeído 2-metil-2-pentenal (pico 18).

Alguns picos, apesar de terem sido registrados com baixa a moderada intensidade de odor, foram percebidos por um longo período de tempo, apresentando elevada área sob o pico, e foram considerados como importantes contribuintes para o aroma global do caju. Picos 3 e 5, foram considerados importantes para o aroma doce, sendo ambos descritos como “doce, esmalte, fruta, essência (chiclete, morango)”. Outros compostos desse grupo foram 3-metil-valerato de etila (descrito como “caju, acre”); octanal (“eucalipto, cítrico, óleo de amêndoas, menta”); nonanal (“doce, perfume, óleo de amêndoas”) e octanoato de etila (“fruta, coco, perfume, flor”).

O suco de caju apresentou diversos compostos de alto poder odorífero, os quais não foram detectados pelo cromatógrafo (FID), mas foram percebidos pela equipe do Osme (compostos identificados por letras minúsculas). Especialmente importantes foram os compostos **b** e **c**, com moderadas intensidade de odor e área sob o pico. Pico **b** foi descrito como “plástico, doce, abacaxi, irritante”, e pode ser a 2-pentanona, mencionada no trabalho de Maciel et al. (1986). De acordo com a literatura (Sanchez et al., 1992; Acree & Arn, 2000), esse composto apresenta um aroma doce, frutal, etéreo, com uma nota de acetona (o que poderia explicar o descritor “irritante”), e possui Índice de Kováts em coluna polar ($I_{\text{PEG } 20\text{M}}$) de 992 (Jennings & Shibamoto, 1980). O pico **c** foi descrito como “enxofre, gás butano, desagradável”, com Índice de Kováts olfatométrico de 1359. Esse composto pode ser o DMTS (dimetil trissulfeto), também detectado por Maciel et al. (1986), o qual apresenta $I_{\text{PEG } 20\text{M}}$ 1377.

Outros compostos sulfurados, citados por Maciel et al. (1986), parecem ter sido também detectados pelos julgadores sensoriais: o composto **a** (‘cândida’) pode ser o DMS (dimetil sulfeto), que tem $I_{\text{PEG } 20\text{m}}$ 853, podendo também ser o responsável pelos descritores desagradáveis (ruim, roupa molhada) encontrados junto com o acetato de etila ($I_{\text{PEG } 20\text{m}}$ 872). O dimetil dissulfeto (DMDS), com $I_{\text{PEG } 20\text{m}}$ 1090, está numa região de compostos com intenso poder aromático, podendo estar misturado a algum deles. O termo “ruim” utilizado para o acetato de isoamila (que tem aroma doce, de banana) poderia levantar suspeitas da presença do DMDS. Ao longo do aromagrama, os julgadores puderam perceber compostos de aromas desagradáveis misturados com os compostos odoríferos, mas que foram registrados como um único pico no cromatograma. Esse fato é indicativo de que o caju possui muitas outras substâncias sulfuradas que não puderam ser detectadas com o FID.

Alguns compostos foram responsáveis por outras notas aromáticas desagradáveis no aroma de caju. O ácido 2-metil butanóico apresentou um odor ruim forte e prolongado, sendo o pico odorífero de maior intensidade e maior área no aromagrama do caju. Os picos 7, 31, 36, 46, 59 e 60, entre outros, descritos com termos como “plástico, fedido, fruta estragada, roupa molhada e maria-fedida”, apresentaram, individualmente, aromas de baixa intensidade, porém, em conjunto, não podem ser descartados como contribuintes para o aroma característico do caju.

Conclusões

- Nas amostras de suco de pseudofrutos de cajueiro do clone CP-76, analisadas nas safras de 1998 e 1999, por cromatografia gasosa de alta resolução, foram detectados 63 compostos voláteis, dos quais 51 foram identificados, correspondendo a mais de 85% da área relativa total;
- A classe química predominante entre os compostos detectados é a dos ésteres, principalmente ésteres de metila e etila de ácidos carboxílicos saturados C₂-C₆.
- Os compostos voláteis mais importantes para a formação do aroma característico do caju podem ser agrupados em quatro categorias principais:
 - a) ésteres e outros compostos não identificados, do começo do cromatograma, relacionados com os descritores “caju”, “doce” e “fruta”: isovalerato de etila, isovalerato de metila, butanoato de etila, *trans*-2-buteneoato de etila, butanoato de metila, 3-metil valerato de metila, e os picos 3 e 5;
 - b) compostos responsáveis por diferentes notas verdes: *cis*-3-hexenol, 2-metil-2-pental e hexanal;
 - c) compostos 49a e 49c, provavelmente sesquiterpenos, responsáveis por forte aroma “floral” e “caju”, respectivamente;
 - d) compostos associados com descritores de odor desagradáveis: ácido 2-metil butanóico, 3-metil-1-butanol e outros compostos não identificados ou não detectados pelo FID.

Referências Bibliográficas

ACREE, T.E.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D.G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chemistry**, v.14, n.4, p.273-286, 1984.

ACREE, T.E.; ARN, H. **Flavornet – Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products**. Disponível em : < URL:<http://www.nysaes.cornell.edu/flavornte/chem.html>> Consultado em: 20 jun 2000.

BICALHO, B.; PEREIRA, A.S.; NETO, F.R.A.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Application of high-temperature gas chromatography-mass spectrometry to the investigation of glycosidically bound components related to cashew apple (*Anacardium occidentale*, L. var. nanum) volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.4, p.1167-1174, 2000.

Da SILVA, M.A.A.P.; LUNDHAL, D.S.; McDANIEL, M.R. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfactometry technique. In: MAARSE, H.; van der HERG, D.G. (Ed.) **Trends in flavor research**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. p. 191-209.

FRANCO, M.R.B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Trapping of soursop (*Annona muricata*) juice volatile on Poropak Q by suction. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.34, n.3, p.293-299, 1983.

FRANCO, M.R.B.; GARRUTI, D.S.; DA SILVA, M.A.A.P. Time and solvent optimization for the trapping of the volatile compounds of cashew juice and wine by suction on Poropak Q. **Revista Cubana de Quimica**, v.10, p.273-274, 1998.

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

MACIEL, M.I.; HANSEN, T.J.; ALDINGER, S.B.; LABOWS, J.N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.34, n.5, p.923-927, 1986.

MACLEOD, A.J.; TROCONIS, N.G. Volatile flavor componentes of cashew apple (*Anacardium occidentale*). **Phytochemistry**, v.21, n.10, p.2527-2530, 1982.

McDANIEL, M.R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: CHARALAMBOUS, G. (Eds.) **Flavors and off-flavors**. Amsterdam: Elsevier, 1990. p.23-36.

MIRANDA-LOPEZ, R.; LIBBEY, L.M.; WATSON, B.T.; McDANIEL, R.M. Identification of additional odor-active compounds in Pinot Noir wines. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.43, n.1, p.90-92, 1992.

SANCHEZ, N.B.; LEDERER, C.L.; NICKERSON, G.B.; LIBBEY, L.M.; McDANIEL, M.R. Sensory and analytical evaluation of beers brewed with three varieties of hops and an unhopped beer. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.) **Food science and human nutrition**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 403-426.

SAS **Statistical Analysis System** versão 6.08. Cary: The SAS Institute, 1992.

SCHIEBERLE, P.; GROSCH, W. Evaluation of the flavor of wheat and bread by aroma extract dilution analysis. **Zeitschrift Lebensmittel Unters Forschung**, v.182, n.2, p.111-113, 1987.