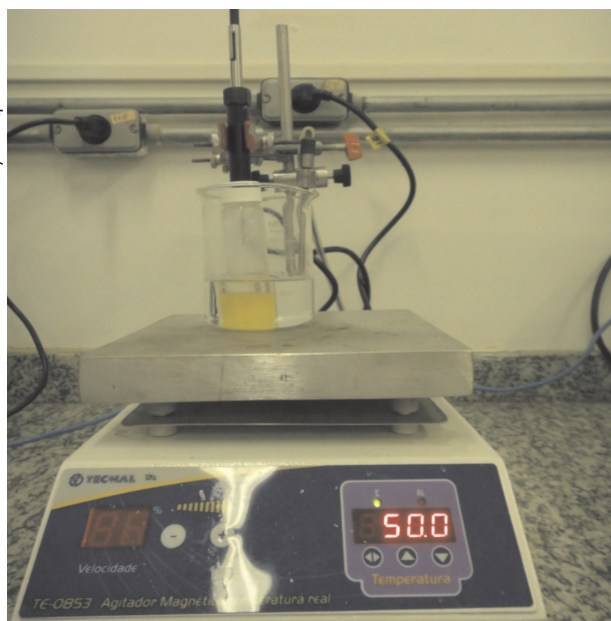


Foto: Kirley Marques Canuto



## Microextração em Fase Sólida: Método Analítico Prático para Extração de Compostos Voláteis de Frutas

Kirley Marques Canuto<sup>1</sup>  
Deborah dos Santos Garruti<sup>2</sup>  
Hilton César Rodrigues Magalhães<sup>3</sup>

### Introdução

Em frutas, como em qualquer outro alimento, o aroma é uma das propriedades mais apreciadas pelo consumidor. Contudo, além da satisfação hedônica, o aroma também pode apresentar outras funções pertinentes, tais como: indicar o estado de conservação adequado e o estágio de maturação desejável, além de sinalizar perdas nutricionais decorrentes da degradação térmica. Em razão disso, a caracterização e monitoramento dos compostos químicos que compõem o aroma são de fundamental importância para o controle de qualidade de frutas e de seus produtos derivados (PLUTOWSKA, 2007; KATAOKA et al., 2000).

O aroma de frutas é constituído por compostos voláteis de baixo peso molecular (PM) e de baixa polaridade, pertencentes a diversas

classes químicas: ácidos carboxílicos, aldeídos, ésteres, lactonas, álcoois e éteres de cadeias alquílicas curtas, terpenos (principalmente mono e sesquiterpenos), além de compostos aminados ou sulfurados, em menor escala (FRANCO, 2003). As análises de separação e identificação destes compostos são feitas em instrumentos de cromatografia gasosa (CG) e de espectrometria de massas (EM), respectivamente, sendo precedidas por uma operação de extração. Os compostos voláteis podem ser extraídos através de diferentes métodos, entre eles a Microextração em Fase Sólida (MEFS, ou SPME, sigla em inglês), uma técnica analítica moderna para a extração de voláteis.

SPME é uma técnica de preparação de amostras, isenta de solvente, que integra extração e concentração de compostos voláteis e não voláteis de líquidos ou *headspace* (espaço formado pela

<sup>1</sup>Farmacêutico, D. Sc. em Química orgânica, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici, CEP 60511-110 Fortaleza, CE, kirley@cnpat.embrapa.br

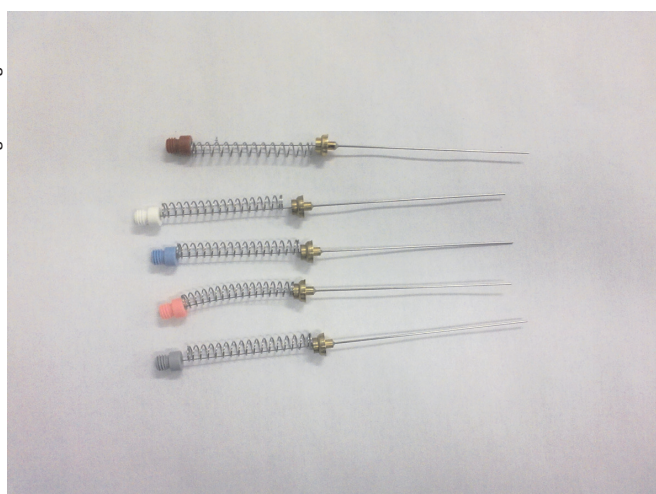
<sup>2</sup>Engenheira de alimentos, D. Sc. em Ciência de alimentos, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, deborah@cnpat.embrapa.br.

<sup>3</sup>Farmacêutico-bioquímico, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, hilton@cnpat.embrapa.br

amostra acondicionada em um sistema fechado) em uma fibra de sílica fundida recoberta por polímero, um sólido adsorvente ou uma combinação dos dois, numa única etapa de extração. (ALPENDURATA, 2000; KATAOKA et al., 2000).

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, poliácrlato – 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. Na extremidade oposta do dispositivo, existe uma espécie de parafuso (hub), que é usado para conectar a fibra ao amostrador (holder), possuindo uma cor específica para cada tipo de revestimento de fibra (Figura 1) (KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

Foto: Hilton César Rodrigues Magalhães

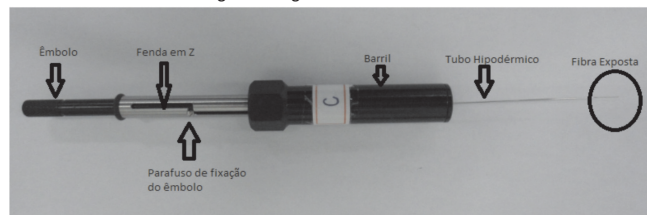


**Figura 1.** Conjunto de fibras de SPME. A cor do Hub identifica o tipo de revestimento de fibra.

A fibra é um dispositivo frágil. Neste sentido, para tornar seu uso mais prático, ela é incorporada a um amostrador (holder), que é um suporte (uma espécie de seringa modificada) que sustenta o dispositivo da fibra de modo que ela seja facilmente manipulável (Figura 2). A fibra é presa a um êmbolo, na extremidade oposta, deixando o tubo hipodérmico exposto, o qual além de proteger a fibra, funciona como agulha na perfuração dos septos dos recipientes das amostras. O movimento do êmbolo para baixo

permite que a fibra seja exposta da agulha no momento da extração (momento em que há a captação dos compostos) ou dessorção térmica (momento em que os compostos são retirados da fibra). Ao mover o êmbolo para cima, a fibra é protegida na agulha, principalmente durante o armazenamento e a penetração de septos no momento da captura ou da dessorção (PAWLISZYN et al, 1997; KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

Foto: Hilton César Rodrigues Magalhães

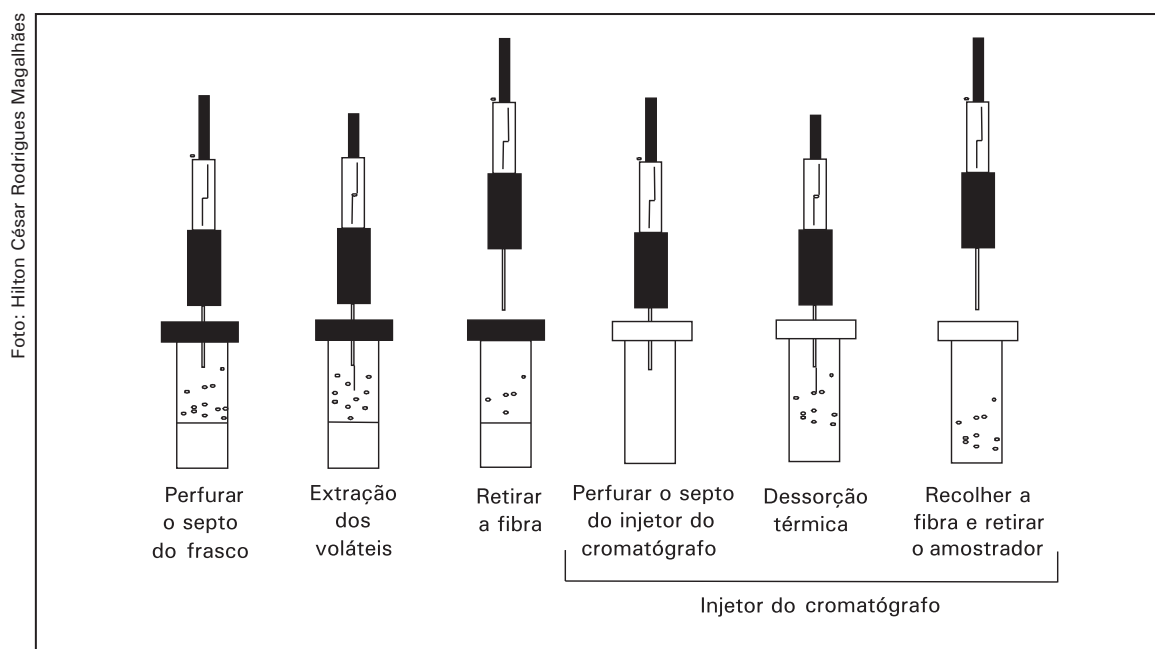


**Figura 2.** Amostrador com fibra exposta.

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

O mecanismo de extração se dá pela exposição da superfície ativa da fibra no *headspace*, conforme a Figura 3. Um equilíbrio de extração se estabelecerá entre as concentrações dos compostos voláteis da amostra no espaço superior acima da mesma (*headspace*) e o revestimento da fibra. O tempo de extração é determinado assim que ocorrer esse equilíbrio, após o qual as moléculas na fase vapor são aderidas ao filme apropriado. As moléculas adsorvidas são analisadas diretamente em um cromatógrafo a gás, inserindo-se a fibra no injetor, no qual elas são termicamente dessorvidas (KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000).

O recobrimento empregado depende das características físico-químicas (polaridade, peso molecular) dos constituintes de interesse da amostra (KATAOKA et al., 2000; VALENTE e AUGUSTO, 2000). A Tabela 1 mostra a fibra recomendada para cada tipo de analito.



**Figura 3.** Captura e dessorção de voláteis com o uso da técnica de SPME.

**Tabela 1.** Composição química da fibra mais adequada de acordo com as características físico-químicas do analito.

Tipo de analito	Fibra recomendada
Gases e voláteis de PM 30-225	75 $\mu\text{m}$ /85 $\mu\text{m}$ Car/PDMS
Voláteis de PM 60-275	100 $\mu\text{m}$ PDMS
Voláteis, aminas e nitro-aromáticos PM 50-300	65 $\mu\text{m}$ PDMS/DVB
Semivoláteis polares PM 80-300	85 $\mu\text{m}$ PA
Voláteis apolares PM 125-600	7 $\mu\text{m}$ PDMS
Semivoláteis apolares PM 80-500	30 $\mu\text{m}$ PDMS
Álcoois e compostos polares PM 40-275	65/70 $\mu\text{m}$ CW/DVB
Compostos odoríferos C3-C20 PM 40-275	50/30 $\mu\text{m}$ DVB/Car/PDMS

Fonte: Supelco, 2005.

SPME tem sido aplicada com êxito em análises de diferentes tipos de alimento como sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas, leite, hortaliças, frutas, mostrando-se uma ferramenta analítica útil na caracterização do aroma e na detecção de contaminantes ambientais, microbiológicos e de substâncias indesejáveis geradas durante processos tecnológicos (KATAOKA et al., 2000).

Em relação a outras metodologias, SPME exhibe vantagens competitivas. Hidrodestilação e arraste

a vapor, métodos convencionais, resultam em elevados rendimentos e volatilização de compostos de alto PM, entretanto produzem frequentemente artefatos (compostos inexistentes na constituição original). Na extração por Fluido Supercrítico, compostos de alto ponto de ebulição ou fortemente ligados à matriz podem ser extraídos de forma amena, todavia este método não é eficiente para substâncias polares (FRANCO, 2003; GARRUTI, 2006). Abaixo, seguem os principais aspectos positivos da técnica SPME.

### Vantagens do uso da técnica de SPME

(PLUTOWSKA, 2007; KATAOKA et al., 2000)

- Revela de modo mais fidedigno a constituição química do aroma da fruta, em virtude de não utilizar aquecimento nem solvente, fontes de substâncias artificiais e contaminantes;
- Alta sensibilidade, pois a análise é feita apenas com moléculas dispersas no *headspace*, requer quantidades ínfimas de analito;
- Praticidade, uma vez que o preparo da amostra é simples, levando poucos minutos, além de ser compatível com as análises de separação/identificação (CG/EM).

O presente trabalho visa a demonstrar a eficiência e praticidade da SPME como técnica para caracterização química do aroma de frutas. Neste experimento, a técnica foi aplicada para análise de manga. A metodologia empregada neste experimento foi a mesma empregada pelos autores para a determinação do perfil de compostos voláteis de manga 'Tommy Atkins', em diferentes estádios de maturação (CANUTO et al., 2009).

### Materiais

- Fruta
- Bastão de vidro
- Proveta de 10 mL
- Béquer 500 e 250 mL
- Frasco de vidro com tampa rosqueável e septo
- Faca de aço inoxidável
- Suporte metálico com garra
- Água destilada
- Cloreto de sódio (NaCl) PA
- Amostrador de SPME (Supelco)
- Fibra de SPME (50/30  $\mu\text{m}$  DVB/Carboxen/PDMS- Supelco)

### Equipamentos

- Balança semianalítica
- Microprocessador doméstico.
- Agitador magnético com aquecimento
- Cromatógrafo a gás/espectrômetro de massas (Shimadzu QP-2010).

### Procedimento experimental

#### Preparação da amostra

Corte a fruta, previamente lavada e descascada, em pequenos pedaços. Selecione uma porção da polpa e pese-a (44 g) em um béquer de 500 mL, utilizando uma balança semianalítica. Após isso, adicione ao béquer 100 mL de solução saturada de NaCl, preparada através da dissolução de cerca de 35g deste sal em água destilada (100 mL). Agite a mistura manualmente no béquer, em seguida, transfira-a para um microprocessador doméstico para completar a homogeneização. Utilizando uma proveta, meça uma alíquota de 8mL do suco e transfira-a imediatamente para um frasco de 40 mL. Tampe o frasco e mantenha-o hermeticamente fechado até o momento da análise.

#### Pré-condicionamento da fibra

Esta operação objetiva a remoção de contaminantes e ativação do adsorvente, devendo ser efetuada segundo as condições descritas no manual do fabricante, as quais são específicas para cada tipo de fibra. Monte o amostrador de SPME, carregando-o com a fibra selecionada. Introduza o amostrador na porta do injetor do cromatógrafo. Exponha a fibra pressionando o êmbolo até que o seu pino possa ser fixado. Mantenha a fibra exposta à temperatura e por tempo recomendados, neste caso a 270 °C durante 1h. Finalizado este período, recolha a fibra, desencaixando o pino do êmbolo, e retire o amostrador.

#### Extração dos compostos voláteis

Monte o sistema de extração acomodando um béquer, contendo água destilada, sobre a placa aquecedora do agitador magnético, junto a um suporte metálico. Quando a temperatura da água atingir 50 °C, mergulhe cerca de metade do frasco da amostra no béquer, prendendo-o a uma garra. Abra a tampa somente para inserir uma pequena barra magnética, acione o agitador e mantenha o sistema sob agitação durante 5min. Após este período, desligue a agitação e introduza o amostrador de SPME no frasco da amostra, perfurando o septo da tampa. Em seguida, exponha a fibra sem permitir que ela toque a amostra, posicionando-a no centro do *headspace*. Para isto, pressione o êmbolo até que o seu pino possa ser fixado. Se necessário, ajuste o nível do amostrador e prenda-o a outra garra. Mantenha a fibra exposta por 20 min. Após este tempo, recolha a fibra,

desencaixando o pino do êmbolo. Remova o amostrador.

### Análise cromatográfica

Insira o amostrador na porta do injetor do cromatógrafo, previamente aquecido a 250 °C, repetindo o procedimento de exposição da fibra. Proceda à dessorção térmica dos compostos voláteis durante 1min. A partir deste ponto, a análise transcorre tal como o modo de rotina.

Fotos: Kirley Marques Canuto

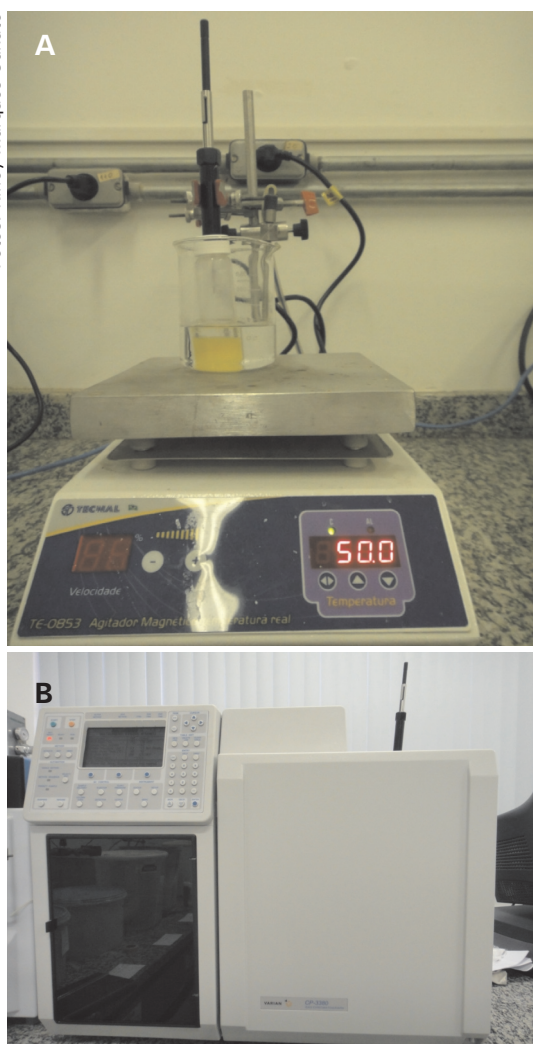


Figura 4. Extração de voláteis (A); análise cromatográfica (B).

### Observações:

A fibra pode ser reutilizada até cem vezes, dependendo da aplicação e cuidados tomados.

O *liner* do injetor do cromatógrafo deve ser trocado por um outro específico em análises de SPME, o qual, devido a ser mais estreito do que o convencional, possibilita um maior aproveitamento dos voláteis dessorvidos no injetor do cromatógrafo. Adquirir um *liner* compatível com a marca/modelo do injetor.

## Referências

ALPENDURATA, M. F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 889, p. 3-14, 2000.

CANUTO, K. M.; SOUZA-NETO, M. A.; GARRUTI, D. S. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação de manga 'Tommy Atkins' produzida no vale do São Francisco. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, p. 2377-2381, 2009.

FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 246 p.

GARRUTI, D. S. Fruits aroma. In: CARIOCA, J. O. B.; MARX, F.; JONAS, R. (Ed.). **Perceptions on food and nutrition**. Fortaleza: Edições UFC, 2006. Cap. 25.

KATAOKA, H.; LORD, H.; PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 880, p. 36-62, 2000.

PAWLISZYN, J.; PAWLISZYN, B.; PAWLISZYN, M. Solid Phase Microextraction (SPME), *The Chemical Educator*, Nova York, v. 2, n. 4, p. 1-7, 1997.

PLUTOWSKA, B.; WARDENCKI, W. Aromagrams- aromatic profiles in the appreciation of food quality. *Food Chemistry*, Barking, v. 101, p. 845-872, 2007.

SUPELCO. **Catálogo de Cromatografia** - produtos para análise & purificação, 2005. 856 p.

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. *Química Nova*, São Paulo, v. 23, p. 523-530, 2000.

### Comunicado Técnico, 166

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria Tropical**  
Endereço: Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici,  
CEP 60511-110 Fortaleza, CE  
Fone: (0xx85) 3391-7100  
Fax: (0xx85) 3391-7109 / 3391-7141  
E-mail: vendas@cnpat.embrapa.br

1ª edição (2010): *on line*

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Antonio Teixeira Cavalcanti Júnior  
**Secretário-Executivo:** Marco Aurélio da R. Melo  
**Membros:** Diva Correia, Marlon Vagner Valentim Martins, Arthur Cláudio Rodrigues de Souza, Ana Cristina Portugal Pinto de Carvalho, Adriano Lincoln Albuquerque Mattos e Carlos Farley Herbster Moura.

### Expediente

**Supervisor editorial:** Marco Aurélio da Rocha Melo  
**Revisão de texto:** Lucas Almeida Carneiro  
**Editoração eletrônica:** Arilo Nobre de Oliveira  
**Normalização bibliográfica:** Rita de Cassia Costa Cid