



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DO
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

Amanda Lemes Silveira

**Belo Horizonte-MG
2014**



**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA TECNOLÓGICA**

**IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DO
PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.)**

Amanda Lemes Silveira

Monografia apresentada ao Curso de Química Tecnológica do CEFET-MG como parte das exigências da disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II (TCC II).

Orientador: Prof^a. Dra. Ana Maria de Resende Machado

Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Ana Maria de Resende Machado (orientadora)

Prof^a Dra. Adriana Akemi Okuma

Prof. Dr. Cleverson Fernando Garcia

Monografia aprovada em 19 de fevereiro de 2014

**Belo Horizonte-MG
2014**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pelo dom da vida e por tantas bênçãos recebidas.

Agradeço ao Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, pela minha formação e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização do curso.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais), pelo apoio financeiro em projetos de iniciação científica.

À professora orientadora Ana Maria de Resende Machado, pelo apoio e incentivo durante todo o curso, sobretudo para realização deste trabalho. Sua dedicação e profissionalismo são dignos de uma verdadeira educadora.

Agradeço à todos os professores do Departamento de Química, em especial à Adriana Akemi Okuma e ao Cleverson Garcia, por tantas ideias trocadas e por suas aulas inspiradoras. Aos técnicos administrativos, em especial ao Alisson e à Késsia, sempre dispostos a ajudar.

À todos que contribuíram com a aquisição das amostras, fundamentais para realização do trabalho.

Aos colegas de sala, com os quais dividi muitas alegrias e também momentos de tensão e angústia. Agradeço em especial à Marina, Quel, Mari, Juliana, Claudinha, Júlia e André, pela generosidade e pelas risadas!

Agradeço à minha família e amigos. Aos meus pais, que sempre torceram pelo meu sucesso e em nenhum momento deixaram de acreditar. Ao Vinícius, por toda paciência, compreensão e companheirismo.

À todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

CEFET – MG - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

CG-EM – Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CP1 – Primeira componente principal

CP2 – Segunda componente principal

DMAPP – Pirofosfato de dimetil-alila

GC-MS - Gas Chromatography - Mass Spectrometry

IK - Índice de Kovats

IPP – Pirofosfato de isopentenila

LRI - Índice de retenção linear

MEFS – Microextração em Fase Sólida

PCA - Principal component analysis

PDMS - Polidimetilsiloxano

SPME - Solid Phase Microextraction

LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Figura 1 – Pequizeiro (Esquerda). Flor do pequizeiro (Direita).	3
Figura 2 - Fruto do pequi com casca.....	4
Figura 3 - Fruto do pequi.	4
Figura 4 – Fórmulas estruturais de carotenoides presentes no pequi.	7
Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides.	8
Figura 6 – Fórmulas estruturais dos compostos mais abundantes obtidos por Damiani (2006): (1) ácido hexanóico, (2) hexanoato de etila, (3) 2-hexenoato de etila, (4) <i>cis</i> - β -ocimeno, (5) octanoato de etila, (6) 2-octenoato de etila e (7) decanoato de etila.	9
Figura 7 - Amostrador de SPME para extração e dessorção de analitos para análise por cromatografia gasosa.....	11
Figura 8 - Mapa das cidades onde foram coletadas as amostras de pequi..	16
Figura 9 - A) Montagem da extração. B) Detalhe do cartucho contendo a amostra.....	17
Figura 10 - A) Montagem para adsorção dos compostos voláteis da polpa do pequi. B) Detalhe do suporte para o “vial” e suporte da fibra.	18
Figura 11 - Cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas.	19
Figura 12 - Ésteres identificados na polpa de pequi e nos óleos.	28
Figura 13 - Rota biossintética de ésteres por ação da enzima álcool aciltransferase (ATT).....	29
Figura 14 - Terpenos identificados nas amostras de pequi e de óleos.	31
Figura 15 - Rota biossintética do <i>cis</i> - β -ocimeno, a partir do pirofosfato de isopentenila (1) e do pirofosfato de dimetil-alila (2).	32
Figura 16 - Álcoois identificados nas amostras de pequi e de óleos.....	32
Figura 17 - Ácidos orgânicos identificados nas amostras de pequi e de óleos.	33
Figura 18 - Aldeído identificado nas amostras de pequi e de óleos.	33
Figura 19 - A) Cromatograma total da amostra A9, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) <i>cis</i> - β -ocimeno, (3) octanoato de etila. B) Cromatograma ampliado da amostra A9.	35
Figura 20 - A) Cromatograma total da amostra de óleo comercial, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) octanoato de etila,	

(3) <i>cis</i> - β -ocimeno. B) Cromatograma ampliado da amostra de óleo comercial.....	36
Figura 21 - A) Cromatograma total da amostra de óleo extraído por Soxhlet, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) octanoato de etila, (3) <i>cis</i> - β -ocimeno. B) Cromatograma ampliado da amostra de óleo extraído.	37
Figura 22 - Gráfico de dispersão dos escores das componentes principais CP1 e CP2 dos compostos voláteis das amostras de pequi.....	39
Figura 23 - Gráfico de dispersão dos escores das componentes principais CP1 e CP2 dos compostos voláteis das amostras de pequi e de óleos de pequis.	41

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Compostos identificados nas amostras de pequi e de óleo de pequi e seus respectivos tempos de retenção médios (TR), índice de kovats tabelado (IKtab) e índice de kovats calculado (IKcal).	22
Tabela 2 - Compostos identificados nas amostras de pequi e de óleo de pequi e seus respectivos tempos de retenção médios (TR) e área relativa.	25
Tabela 3 - Valores das componentes principais para as polpas de pequi....	39
Quadro 1. Grupos observados das amostras de pequi.....	40

RESUMO

IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS DO PEQUI (*Caryocar brasiliense* Camb.) SILVEIRA, A. L.; MACHADO, A. M. de

O objetivo deste trabalho foi analisar o perfil volátil de frutos do pequi, utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Foram estudadas as polpas de frutos coletados em dez cidades de Minas Gerais, um óleo comercial e um óleo extraído pelo método de Soxhlet, utilizando solvente hexano. A extração dos compostos voláteis dos frutos foi realizada pela técnica de microextração em fase sólida (SPME), no modo "headspace", para concentração desses compostos. A fibra utilizada foi a PDMS. Foram identificados 38 compostos, entre eles: ésteres, terpenos, álcoois, ácidos carboxílicos e um aldeído. As diferentes técnicas de extração dos compostos voláteis mostraram influência sobre a composição química dos mesmos. Observou-se que o óleo comercial apresentou menor perda de compostos voláteis, comparando-se com o óleo extraído por Soxhlet. Considerando a origem das amostras, o tratamento estatístico por PCA permitiu o agrupamento de pelo menos dois grupos entre as amostras de polpa de pequi e de óleos, que pode ser explicado por diversos fatores, como práticas de cultivo, condições de temperatura e os tipos de extração do óleo.

Palavras-chave: voláteis, pequi, cerrado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Pequi.....	3
2.2 Composição química do pequi	5
2.3 Compostos voláteis do pequi	8
2.4 Microextração em Fase Sólida	10
2.5 Análise por CG-EM	12
2.6 Análise de Componentes Principais	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Amostragem.....	16
3.2 Extração do óleo.....	17
3.3 Extração dos compostos voláteis por SPME	18
3.4 Condições da análise cromatográfica	19
3.5 Identificação dos compostos por meio do índice de kovats	20
3.6 Análise multivariada.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	21
4.1 Caracterização e identificação de compostos voláteis por CG-EM após extração prévia por SPME.....	21
4.2 Análise de Componentes Principais	38
5. CONCLUSÕES	42
6. REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

O cerrado é o segundo maior ecossistema do Brasil, ocupando cerca de 25% do território nacional, e possui grande biodiversidade de fauna e flora (ROESLER *et al.*, 2007; LOPES, *et al.*, 2012). O fruto de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) se destaca como uma das espécies mais representativas desse bioma e a sua ocorrência abrange o Distrito Federal e os estados da Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Pará, Piauí, Paraná, São Paulo e Tocantins (RAMOS, 2010).

O pequi é uma espécie de grande interesse socioeconômico e muito utilizado pela população do cerrado, constituindo uma importante fonte de renda e alimentação, em função do seu elevado valor alimentício, medicinal e ornamental. Devido aos múltiplos usos do fruto, o seu interesse comercial está crescendo, chegando à comercialização de 538.687 kg do fruto na Central de Abastecimento de Minas Gerais no ano de 2012 (CEASAMINAS, 2012).

Devido à importância cultural, comercial e gastronômica da espécie, muitos estudos estão sendo realizados a cerca do seu valor nutricional. As pesquisas mostram que o pequi é altamente calórico, rico em lipídios, carotenoides, proteínas, carboidratos, fibras e vitamina C (BELO, 2009).

O pequi ainda apresenta aroma forte e característico. O aroma e o sabor são formados por uma mistura complexa de inúmeros compostos, principalmente os voláteis, que apresentam intensidades e concentrações diferentes, sendo importantes critérios de qualidade das frutas e de seus subprodutos. No fruto, os compostos voláteis são formados durante a maturação, a colheita, o período pós-colheita e o armazenamento, e a sua produção depende de diversos fatores, como a variedade da espécie e o tipo de tratamento empregado (BELO, 2009).

Estudos envolvendo os compostos voláteis do fruto do pequizeiro são encontrados na literatura, os quais verificaram o perfil desses compostos constituído predominantemente por ésteres. Entretanto, poucos são os trabalhos em que se utilizaram a técnica de microextração em fase sólida (MEFS) do inglês Solid Phase Micro Extration (SPME) para extrair os

compostos voláteis do pequi e identificá-los por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) do inglês Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).

Tendo em vista a importância cultural, econômica, nutricional e social do fruto de pequi para a população das cidades pertencentes ao bioma Cerrado, os objetivos deste trabalho foram desenvolver uma metodologia de análise para compostos voláteis por SPME e caracterizar o perfil dos componentes voláteis da polpa do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) e de duas amostras de óleos do fruto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pequi

O pequi é uma árvore típica do cerrado brasileiro sendo o pequi um dos frutos com maior valor econômico na região, devido ao seu elevado grau de aproveitamento (RAMOS e SOUZA, 2011; MARIANO *et al.*, 2009). No cerrado está presente uma grande variedade de frutos. Esses frutos são consumidos no estado natural ou na forma de bolos, biscoitos, licores, sucos e doces (DAMIANI *et al.*, 2009).

O pequi é uma planta arbórea (Figura 1), com aproximadamente 10 m de altura, apresentando tronco de casca áspera e rugosa e ramos grossos, folhas verdes e flores branco-amareladas (DEUS, 2008). Pertence à classe Magnoliopsida (Dicotyledonae), ordem Guttiferales, família Caryocaraceae e ao gênero *Caryocar* L., que abrange cerca de 20 espécies, sendo que ao menos oito têm ocorrência no Brasil (RAMOS e SOUZA, 2011; DEUS, 2008).



Figura 1 – Pequi (Esquerda). Flor do pequi (Direita).

Uma maior proporção de plantas é formada por meio da polinização cruzada, comparando-se com a autopolinização. As flores são visitadas por uma variedade de espécies de insetos e aves, que têm a função de agentes

polinizadores como mariposas, beija-flores e abelhas, sendo o processo de polinização mais eficiente realizado por morcegos (SILVA *et al.*, 2009).

A floração do pequizeiro ocorre nos períodos chuvosos, com alta em setembro e a frutificação ocorre entre novembro e fevereiro. A sua produção é influenciada pelas diferenças climáticas, principalmente no período de pós-floração (DEUS, 2008).

O pequi é um fruto drupóide verde, possui epicarpo coriáceo carnoso, envolvido pelo mesocarpo amarelo claro e algumas sementes (Figura 2). O fruto maduro apresenta casca com a mesma cor verde-amarelada amolecida (DEUS, 2008). Depois de partida a casca, encontra-se até quatro caroços que apresentam polpa amarelada (Figura 3).



Figura 2 - Fruto do pequi com casca.



Figura 3 - Fruto do pequi.

O pequi, também conhecido como piquiá, pequerim, amêndoa-de-espinho, almendro e barbasco (DAMIANI, 2006), é um fruto que apresenta

características sensoriais marcantes, tendo um aroma muito exótico. O seu nome vem do tupi e significa “casca espinhenta” (DAMIANI *et al.*, 2009).

O aproveitamento do pequi é quase integral. O mesocarpo externo (casca) é consumido por animais bovinos e utilizado na indústria de tintas (DEUS, 2008). A farinha da casca é muito rica em fibra alimentar, carboidratos e minerais, como magnésio, cálcio, manganês e cobre. No entanto, mais estudos são necessários para caracterizar esta farinha a fim de analisar o seu desempenho como ingrediente ou como matéria prima (SIQUEIRA *et al.*, 2012). A polpa, juntamente com o caroço, é utilizada no preparo dos pratos típicos, como geléias, doces e licores e ração animal. Também é extraído o óleo, que é comestível. Já a amêndoa é utilizada para consumo “in natura”, na extração do óleo, fabricação de sabão, e na indústria de cosméticos. Também é utilizada na medicina popular para o tratamento de algumas doenças respiratórias (MIRANDA-VILELA *et al.*, 2008). A amêndoa apresenta elevado valor nutricional e devido ao seu tamanho e aparência, tem potencial para utilização no mercado de amêndoas (RAMOS e SOUZA, 2011). Além disso, a madeira é utilizada na fabricação de móveis (DEUS, 2008).

2.2 Composição química do pequi

O pequi é uma importante fonte e veículo de nutrientes de grande utilização pela população do Cerrado (CORDEIRO, 2012).

Vários estudos a cerca do valor nutricional do pequi são encontrados na literatura. Segundo Ramos e Souza (2011), a polpa da espécie *Caryocar coriaceum* apresenta cerca de 31,5 % de umidade, 2,8 % de cinzas, 33,5 % de gordura, 3,3 % de proteína bruta, 5,3 % de fibra bruta e 57,3 % de carboidratos totais, sendo o valor energético de aproximadamente 320 kcal 100 g⁻¹. Em trabalho em que se avaliou a composição de ácidos graxos em polpa de frutas do cerrado (LOPES *et al.*, 2012), a polpa do pequi apresentou teor de lipídios de aproximadamente 30 % sendo predominantes os ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido monoinsaturado oléico (C18:1 cis-9), seguido do ácido palmítico que é saturado (DEUS, 2008).

Análises de vitaminas mostram que tanto a polpa, quanto a amêndoa são ricas em compostos pró-vitamínicos A, vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e niacina) e C (ácido ascórbico) (DEUS, 2008).

Quanto aos teores de minerais, Ramos e Souza (2011) observaram uma elevada concentração de potássio na polpa e na amêndoa, 460 e 965 mg 100 g⁻¹, respectivamente. A amêndoa apresenta alto teor de fósforo (1008 mg 100 g⁻¹).

Paula-Junior *et al.* (2006) demonstraram as atividades leishmanicida, antimicrobiana do extrato das folhas de pequi (*Caryocar brasiliense*). Desta forma, o óleo de pequi apresenta aplicabilidade na área cosmética (PIANOVSKI *et al.*, 2008).

Alguns estudos identificaram carotenoides na espécie *Caryocar brasiliense*. Estes metabólitos conferem proteção à pele impedindo a lipoperoxidação, evitando desta maneira a formação de radicais livres e conseqüentemente retardando envelhecimento cutâneo.

No óleo de pequi verifica-se a presença de diversos ácidos graxos como o palmítico, oléico, mirístico, palmitoléico, esteárico, linoléico e linolênico (PIANOVSKI *et al.*, 2008). A presença destas substâncias na pele é fundamental para manutenção da hidratação cutânea. O óleo de pequi também é usado na medicina popular para o tratamento de problemas oftalmológicos, relacionados à deficiência de vitamina A, devido ao elevado teor de carotenoides na polpa (MIRANDA-VILELA *et al.*, 2008).

Além do β-caroteno, o pequi contém outros carotenoides, tais como o licopeno, ζ-caroteno, β-criptoxantina, zeaxantina, violanxantina, luteína neoxantina, apresentados na Figura 4 (p. 7), e outros como criptoflavina e mutatoxantina (MIRANDA-VILELA *et al.*, 2008).

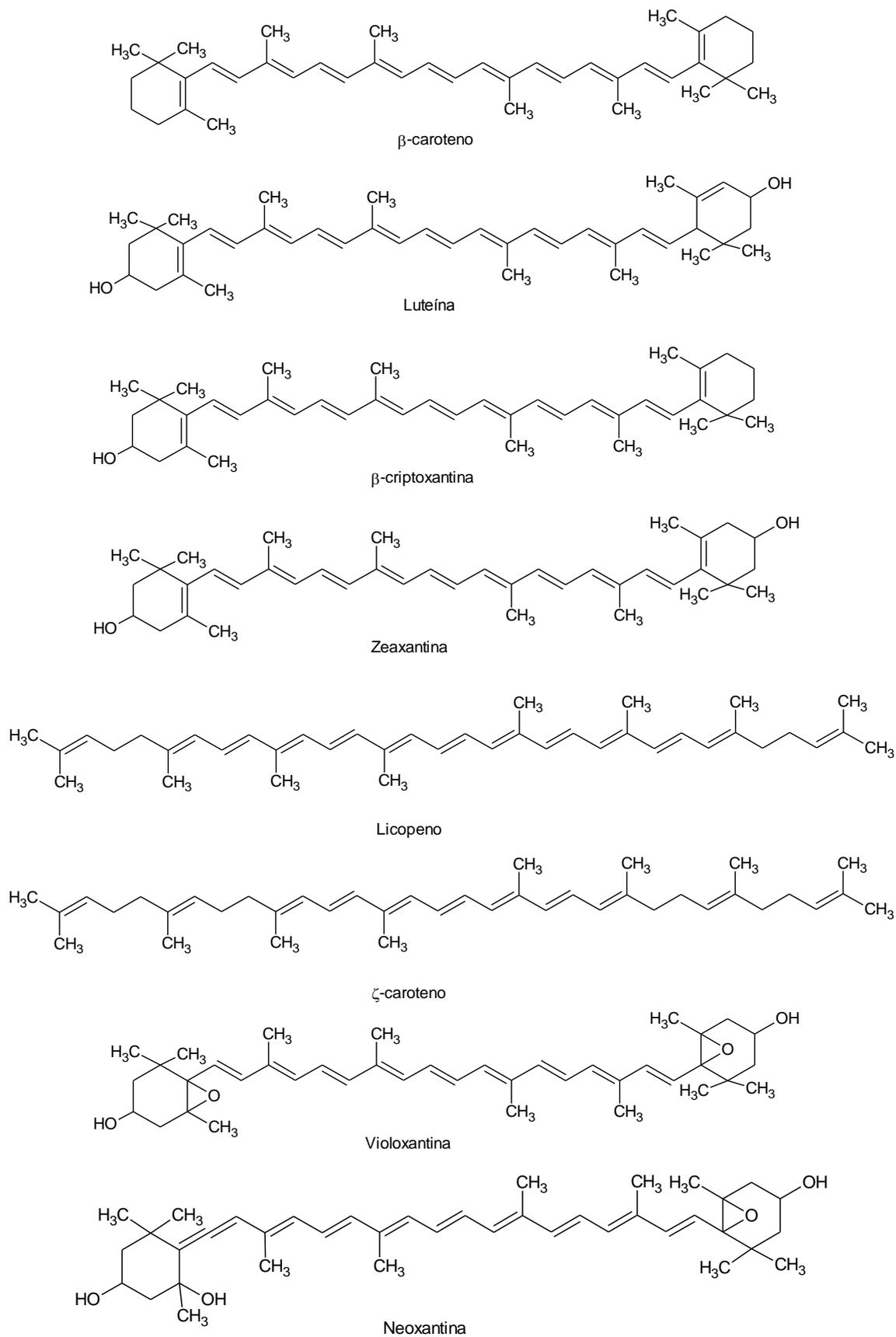


Figura 4 – Fórmulas estruturais de carotenoides presentes no pequi.

A polpa de pequi também é rica em compostos fenólicos, como flavonoides (Figura 5) e saponinas, elevando as propriedades antioxidantes do fruto (MIRANDA-VILELA *et al.*, 2008).

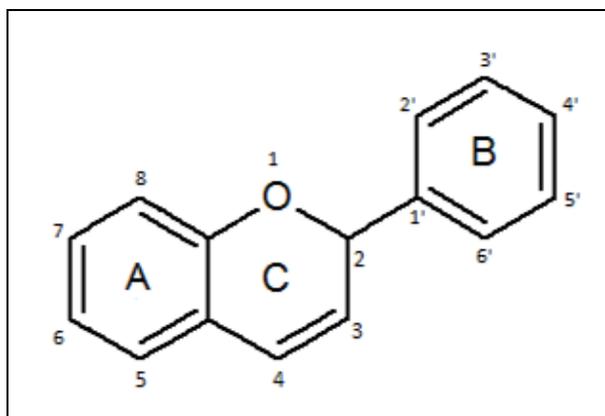


Figura 5 - Estrutura básica dos flavonoides.

2.3 Compostos voláteis do pequi

Os compostos voláteis, determinantes para o aroma, são substâncias que apresentam baixas temperaturas de ebulição e massa molecular e pertencem a diversas classes de compostos, como os ésteres, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e terpenos que podem ser derivados de ácidos graxos, aminoácidos e carotenoides (DAMIANI, 2006 e CORDEIRO, 2012).

O aroma é um dos principais atributos na aceitação ou não de um alimento e sua composição volátil é importante no desenvolvimento de produtos e para a investigação de possíveis mudanças ocorridas durante seu processamento (CORDEIRO, 2012).

Os ácidos graxos são importantes precursores de compostos voláteis de determinadas frutas. Neste caso, os compostos voláteis são formados por meio das enzimas lipoxigenases e hidroperóxido liase, principalmente, sobre o ácido linoléico (18:2) e linolênico (18:3) (CORDEIRO, 2012).

Os álcoois, ácidos e ésteres são formados pelo metabolismo de aminoácidos, que inicialmente origina os aldeídos, os quais são convertidos a álcoois, ácidos carboxílicos ou ésteres (CORDEIRO, 2012). Os ésteres voláteis presentes nas frutas também podem ser formados a partir de

ácidos graxos, por meio da reação entre álcoois e AcilSCoA catalisada pela enzima álcool aciltransferase (CORDEIRO, 2012).

Diversos compostos do aroma podem ser resultados da degradação de carotenoides como a β -ionona formada a partir do β -caroteno e a β -damascenona obtida a partir da neoxantina (CORDEIRO, 2012).

Vários trabalhos são encontrados na literatura a cerca dos compostos voláteis presentes no pequi. Damiani (2006) analisou a influência do processamento mínimo no perfil volátil do fruto de pequi, armazenado em diferentes temperaturas. O óleo essencial dos frutos minimamente processados foi extraído por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger modificado. Posteriormente, o óleo foi submetido à análise por GC-MS. Foram identificados sete componentes predominantes, os quais apresentaram maiores áreas. São eles: ácido hexanóico, hexanoato de etila, 2-hexenoato de etila, *cis*- β -ocimeno, octanoato de etila, 2-octenoato de etila e decanoato de etila. Os compostos hexanoato de etila e octanoato de etila foram relacionados como os determinantes para o aroma característico do fruto. Na Figura 6 são apresentadas as fórmulas estruturais dos compostos mais abundantes obtidos por Damiani (2006).

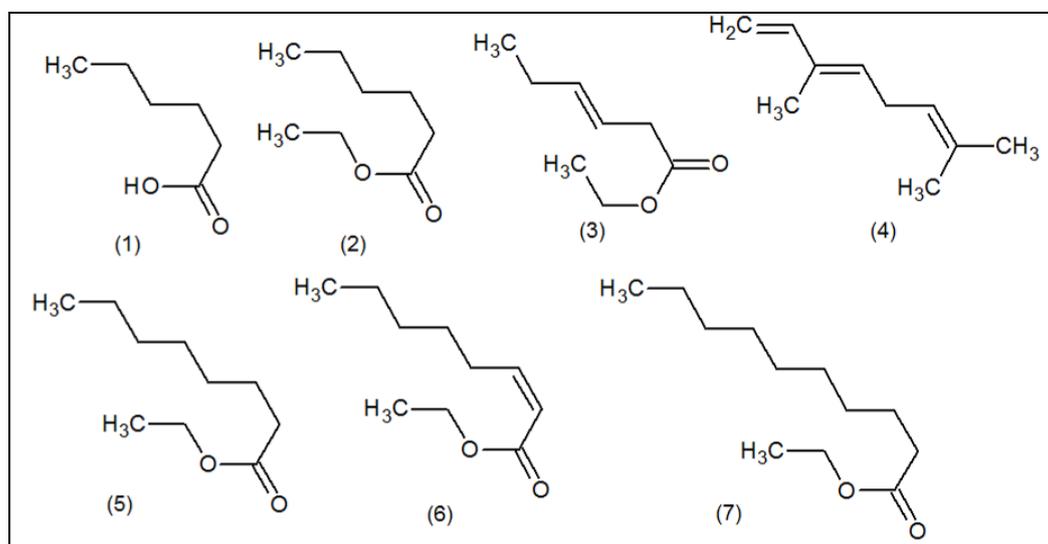


Figura 6 – Fórmulas estruturais dos compostos mais abundantes obtidos por Damiani (2006): (1) ácido hexanóico, (2) hexanoato de etila, (3) 2-hexenoato de etila, (4) *cis*- β -ocimeno, (5) octanoato de etila, (6) 2-octenoato de etila e (7) decanoato de etila.

Cordeiro (2012) estudou as características físicas e químicas de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) nativos de diferentes regiões do estado de Mato Grosso. O óleo essencial dos frutos foi extraído por hidrodestilação em aparelho de Clevenger e submetido à análise por GC-MS. Foram identificados 21 compostos voláteis, sendo a classe química mais abundante a dos ésteres seguido pelos terpenos e álcoois. Dentre os ésteres, o hexanoato de etila foi o constituinte químico predominante, seguido pelo (E)- β -ocimeno. O octanoato de etila foi o segundo éster mais abundante.

Belo (2009) separou e identificou no pequi, os compostos voláteis presentes no "headspace" por meio da técnica de microextração em fase sólida (SPME), o que permitiu a discriminação dos genótipos de pequizeiro estudados. Neste trabalho foram identificados 77 compostos, sendo 35 ésteres, 12 hidrocarbonetos, 11 terpenos, 6 cetonas, 4 álcoois, 4 ácidos carboxílicos, 3 lactonas, 1 aldeído e uma pirazina.

2.4 Microextração em Fase Sólida

A SPME é uma técnica de preparação de amostra que incorpora a extração e concentração em uma só etapa, sem a utilização de qualquer solvente, o que minimiza as perdas de compostos voláteis. Os analitos são diretamente extraídos e concentrados na fibra de extração (VIEIRA, 2007; MORÉS, 2009). A SPME é uma técnica de fácil aplicação, baixo custo, demanda pequeno volume de amostra e é rápida, além de respeitar o meio ambiente, uma vez que não é utilizado nenhum tipo de solvente orgânico. O método é empregado para análise de amostras biológicas, ambientais e de alimentos e bebidas (MORÉS, 2009).

O procedimento envolve duas etapas: a primeira de extração e a segunda de dessorção. Na etapa de extração ocorre a migração do analito presente na amostra para a fibra até o equilíbrio. Este processo pode ocorrer por adsorção ou absorção, dependendo do tipo de fibra utilizada (MORÉS, 2009).

Para o processo de extração, coloca-se um volume de amostra em um "vial" hermeticamente fechado. Em seguida, o septo é perfurado e é introduzida a

seringa no "vial". Expõe-se a fibra na amostra em tempo previamente estabelecido. Depois de finalizada a extração, a fibra é recolhida ao interior da seringa que é retirada do "vial". Com a fibra retraída, a seringa é injetada no cromatógrafo e a fibra é exposta para dessorção. Terminada a dessorção, a fibra é novamente recolhida (Figura 7).

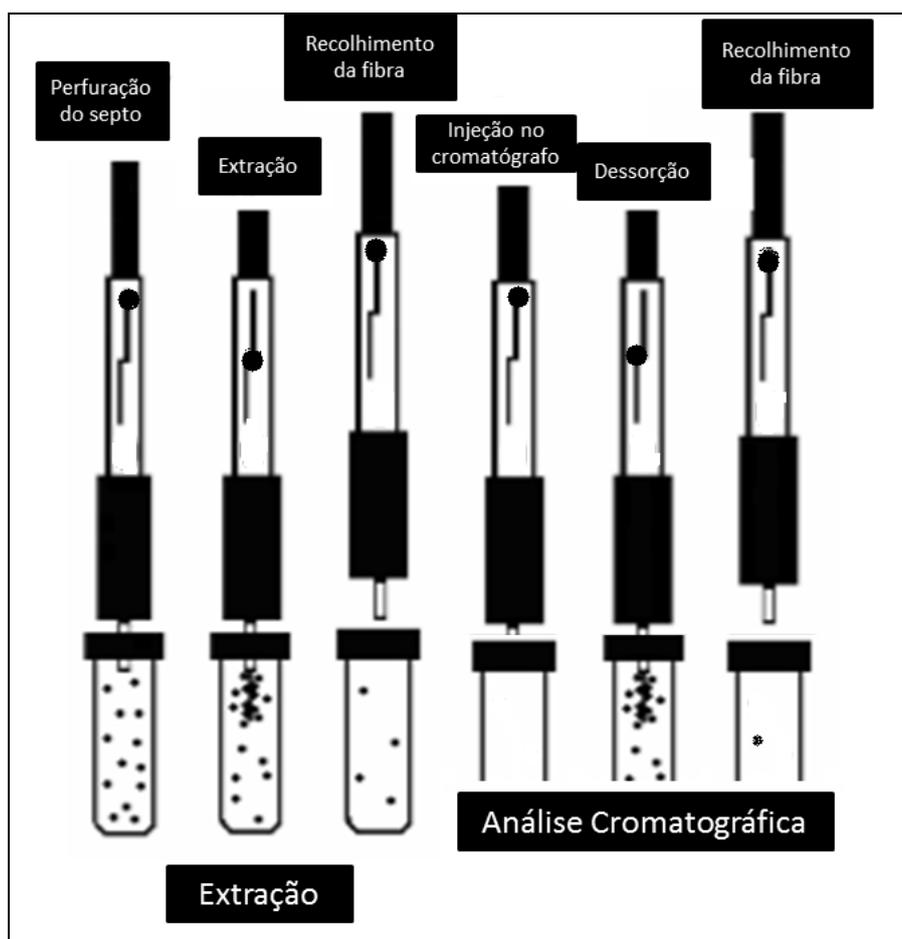


Figura 7 - Amostrador de SPME para extração e dessorção de analitos para análise por cromatografia gasosa.

FONTE: MORÉS (2009) modificado.

Antes da utilização da fibra, deve-se proceder ao condicionamento no injetor do cromatógrafo a uma determinada temperatura e durante certo período de tempo, de acordo com as instruções do fabricante (VIEIRA, 2007). A escolha da fibra está relacionada com a natureza do analito de interesse. A seleção é baseada na polaridade e volatilidade dos compostos. As principais fibras disponíveis no mercado são a polidimetilsiloxano

(PDMS), poliacrilato (PA) Carbowax (CW), Carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB), polidimetilsiloxano divinilbenzeno (PDMS/DVB) dentre outras (MACHADO, 2010).

A extração por SPME pode ser realizada de dois modos: o modo "headspace" e a imersão direta. A escolha depende da polaridade e volatilidade dos analitos em questão. Os compostos voláteis são mais estudados por "headspace" sendo analisados por CG-EM. Por outro lado, os compostos menos voláteis são frequentemente estudados por imersão direta, onde a fibra é imersa no líquido, seguido de análises por cromatografia gasosa ou cromatografia líquida (VIEIRA, 2007).

Na SPME, controlam-se diversos parâmetros, como revestimento da fibra, temperatura de extração, tempo de extração, pH, força iônica do meio, velocidade de agitação e tempo de dessorção (MACHADO, 2010).

Geralmente o pH da matriz deve ser ajustado para aumentar a recuperação da extração do analito sobre a fibra, de acordo com a natureza do analito. A adição de sal pode melhorar a eficiência da extração, principalmente para os analitos mais polares. O aumento da força iônica provoca redução na solubilidade do analito na matriz, facilitando a sua extração pela fibra, fenômeno chamado de "salting out" (MACHADO, 2010).

Alguns trabalhos nos quais se utilizou SPME para análises do pequi são encontrados na literatura, como Belo (2009), que separou e identificou compostos voláteis presentes no pequi, o que permitiu a discriminação dos genótipos de pequizeiro estudados.

A SPME estava associada somente à cromatografia em fase gasosa, constituindo uma metodologia de caracterização da composição volátil de uma ampla gama de produtos. No entanto, o seu uso com cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem se tornado uma excelente alternativa para análise de compostos não voláteis (MACHADO, 2010).

2.5 Análise por CG-EM

A cromatografia gasosa é um método de separação baseada na partição da substância entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna capilar. Ao realizar-se uma análise por

cromatografia gasosa, a amostra é solubilizada em solventes orgânicos, vaporizada e injetada no cromatógrafo. A eluição é realizada por um fluxo de fase móvel gasosa inerte, que transporta o analito através da coluna (SKOOG *et al.*, 2006).

A identificação dos compostos presentes na amostra pode ser realizada por meio da comparação entre o seu tempo de retenção e o tempo de retenção de padrões. Outra maneira de identificar as substâncias é por meio do cálculo do índice de Kovats. O índice Kovats é calculado em condições de análise isotérmicas da temperatura do forno do cromatógrafo. Quando se utilizam temperaturas programadas de coluna, um valor similar é calculado utilizando os números extraídos de seus algoritmos. Este valor é o índice de retenção linear (LRI), que é obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do componente em estudo ao tempo de retenção de dois padrões (geralmente hidrocarbonetos) eluídos antes e após o pico do composto de interesse, ou seja, obtêm-se um tempo relativo de eluição de um determinado componente em relação a uma série de alcanos. O LRI é calculado utilizando-se a Equação 1.

$$\text{LRI} = 100 [(t_c - t_n)/(t_{n+1} - t_n) + n] \quad (1)$$

onde:

LRI - índice de retenção linear;

t_c - tempo de retenção do composto de interesse;

t_n - tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes da substância de interesse;

t_{n+1} - tempo de retenção do hidrocarboneto que elui após a substância de interesse;

n - número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes da substância de interesse.

Na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, as moléculas são bombardeadas no estado gasoso, sob vácuo, por um fluxo de elétrons, produzidos por filamentos de tungstênio. O impacto dos elétrons

com as moléculas produz os fragmentos da molécula, espécies iônicas, os quais são encaminhados para um analisador de massas (SKOOG *et al.*, 2006). Quando a separação na análise cromatográfica é boa, a espectrometria de massas fornece um espectro de massas para cada pico, ou seja, para cada substância. O espectro de massas indica a massa molar e o padrão de fragmentação, que pode ser comparado com os espectros encontrados na biblioteca do programa, por meio de propostas de probabilidade quanto à identidade da substância analisada.

2.6 Análise de Componentes Principais

Em função do elevado número de variáveis envolvidas em algumas análises, técnicas estatísticas multivariadas são utilizadas para identificar os fatores que causam significativa influência sobre os resultados das análises.

As análises multivariadas são as técnicas estatísticas que analisam simultaneamente múltiplas medidas sobre o objeto de investigação. Todas as variáveis devem ser aleatórias e inter-relacionadas de maneira que seus efeitos não podem ser significativamente interpretados separadamente. O objetivo da análise multivariada é medir, explicar e prever o grau de relação entre as variáveis estatísticas (HAIR *et al.*, 2009).

São técnicas multivariadas: Análise de componentes principais e análise dos fatores comuns; Regressão múltipla e correlação múltipla; Análise discriminante múltipla e regressão logística; Análise de correlação canônica; Análise multivariada de variância e covariância; Análise conjunta; Análise de agrupamentos; Mapeamento percentual; Análise de correspondência; e modelagem de equações estruturais e análise fatorial confirmatória (HAIR *et al.*, 2009).

A Análise de Componentes Principais (PCA) pode ser utilizada para analisar inter-relações entre um grande número de variáveis e explicá-las em termos de suas dimensões inerentes comuns. O objetivo da análise é a condensação das informações contidas nas variáveis em um conjunto menor com a mínima perda de informações. A PCA consiste na transformação dos dados em suas componentes mais relevantes nas primeiras dimensões, por meio de combinações lineares das variáveis

originais, em eixos denominados principais (HAIR *et al.*, 2009). Os componentes principais, ou eixos principais, não são correlacionados entre si e apresentam variabilidades decrescentes. Os valores de amostras são expressos em somas lineares dos dados originais multiplicados por um coeficiente que descreve cada componente principal. Esses novos valores são os escores.

O método de PCA mostra-se uma excelente técnica de redução linear de dimensão. Essa redução é vantajosa para compressão, visualização dos dados, redução do cálculo necessário e em fases de processamento posteriores (BELO, 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostragem

Pequis maduros foram coletados, nas cidades de Bocaiuva (A1), Brumadinho (A2), Curvelo (A3), Guaraciama (A4), Inhaúma (A5), Inimutaba (A6), Matozinhos (A7), Montes Claros (A8), Morro da Garça (A9), Santo Hipólito (A10) (Figura 8), ao acaso, sem rachaduras no epicarpo, injúrias e podridões. Para cada amostra foram preparadas triplicatas para a extração. Uma amostra de óleo comercial foi adquirida na cidade de Bocaiuva (O1). As coletas ocorreram nos meses de dezembro de 2013 e janeiro de 2014. Após seleção prévia, os frutos foram acondicionados em congelador, a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.



Figura 8 - Mapa das cidades onde foram coletadas as amostras de pequi.

Os frutos foram levados para o Laboratório de Química Orgânica do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), Belo Horizonte, onde foram descongelados e deles foram extraídas as polpas, através de cortes finos, realizados manualmente, com auxílio de facas, para realização das análises.

3.2 Extração do óleo

O óleo (O2) dos pequis minimamente processados (aproximadamente 50 g) foi extraído por um extrator de Soxhlet, por 5 horas, utilizando o hexano como solvente extrator, condições adaptadas de Deus (2008). Em seguida, o solvente foi evaporado em rotaevaporador e o óleo acondicionado em frasco de vidro âmbar e armazenado em freezer a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a realização da análise cromatográfica. A montagem da extração é mostrada na Figura 9.

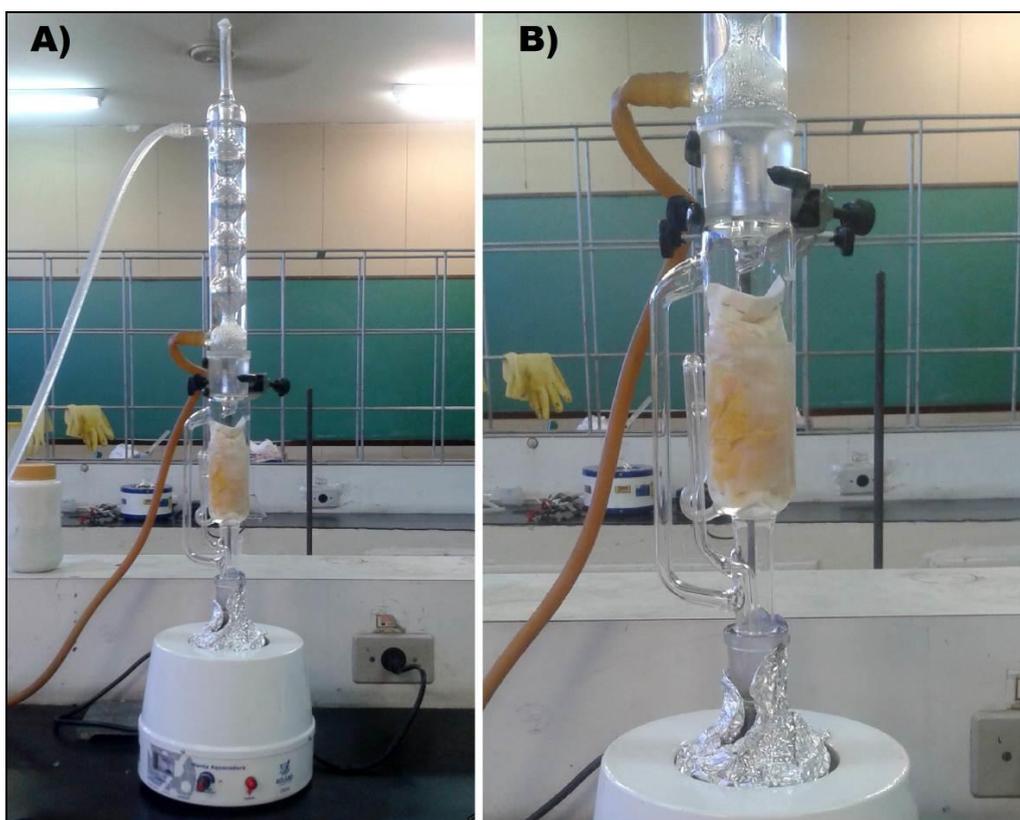


Figura 9 - A) Montagem da extração. B) Detalhe do cartucho contendo a amostra.

3.3 Extração dos compostos voláteis por SPME

O condicionamento das fibras de microextração PDMS (100 μm) foi realizado no injetor do cromatógrafo, a temperatura de 240 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos, de acordo com recomendações do fabricante.

Em cada extração, mediram-se aproximadamente 2,0 g da polpa do pequi e colocaram-se em "vials" de 20 mL. Os frascos foram fechados com lacre de alumínio e septo de borracha. Na análise dos óleos, foram medidos 2,0 g nos "vials" de 20 mL (BELO, 2009).

Realizou-se um aquecimento a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 10 minutos em cada amostra antes da exposição da fibra. Após esse período de aquecimento, a fibra foi exposta no modo "headspace" a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos. A montagem realizada para adsorção dos compostos consiste em uma chapa aquecedora, um suporte metálico para "vial", garra para suporte da fibra e termômetro (Figura 10). Em seguida, a fibra foi inserida no injetor do cromatógrafo a 250 $^{\circ}\text{C}$, por 10 minutos, para dessorção dos compostos voláteis coletados (BELO, 2009).

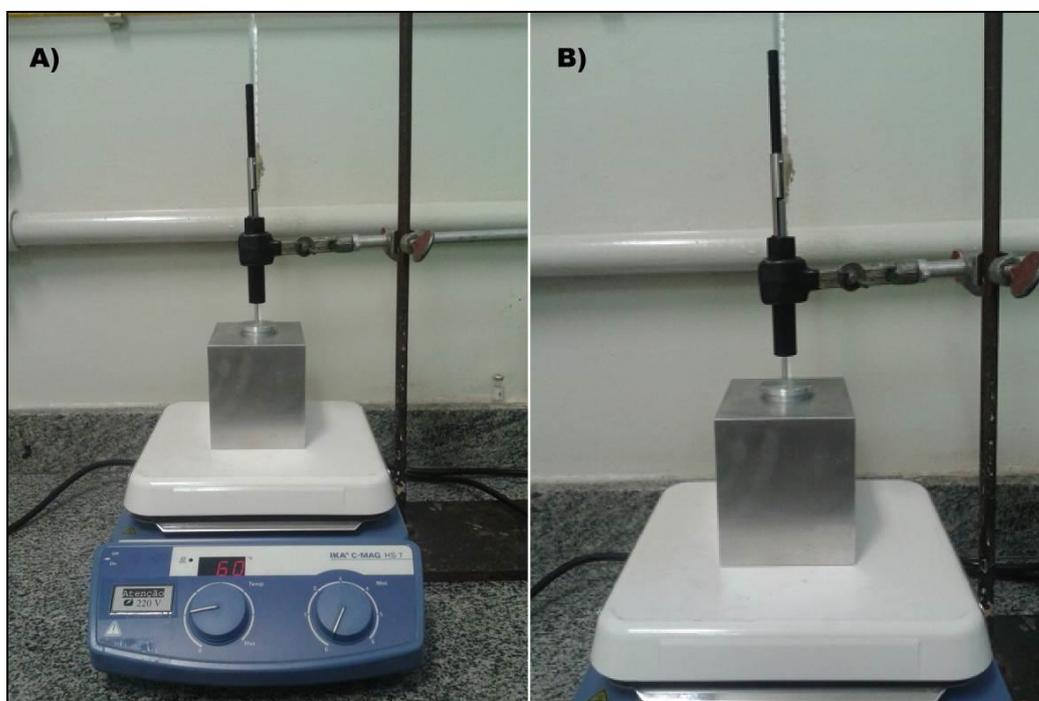


Figura 10 - A) Montagem para adsorção dos compostos voláteis da polpa do pequi. B) Detalhe do suporte para o "vial" e suporte da fibra.

3.4 Condições da análise cromatográfica

As condições definidas para o cromatógrafo a gás durante as análises foram as seguintes: temperatura do injetor de 250 °C; injeção em modo "splitless"; temperatura da fonte de íons de 200 °C; temperatura da interface de 280 °C. O programa de aquecimento de 40 °C por 5 minutos, gradiente de 2,5 °C min⁻¹ até 125 °C, gradiente de 10 °C min⁻¹ até 145 °C, isoterma por 3 minutos, condições adaptadas de Belo (2009). A coluna cromatográfica utilizada foi a coluna capilar HP-5MS (5% fenilmetilsiloxano; 30 m x 250 µm x 0,25 µm), hélio com um fluxo constante de 1 mLmin⁻¹. O aparelho utilizado foi um cromatógrafo a gás, Agilent Technologies 7890A acoplado a um espectrômetro de massas, Agilent Technologies 5975C inert MDS equipado com Triple-Axis Detector (Figura 11).



Figura 11 - Cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas.

3.5 Identificação dos compostos por meio do índice de Kovats

A identificação dos componentes voláteis da polpa de pequi foi realizada por comparação dos índices de retenção relativos com os dos espectros de massas presentes na biblioteca do aparelho. Os índices de retenção relativos foram calculados por meio da injeção de uma mistura de hidrocarbonetos lineares de oito a trinta carbonos e com aplicação da equação do índice de retenção linear (Equação 1)(p. 13).

O parâmetro Match que consiste em um fator numérico de comparação entre um composto desconhecido e de espectros de massas de compostos da biblioteca foi usado na identificação dos compostos voláteis, sendo considerado como satisfatório um valor superior a 600 (BELO, 2009).

3.6 Análise multivariada

As médias das áreas dos picos dos compostos identificados em cada amostra, obtidos na análise cromatográfica, foram transferidos para o programa estatístico Minitab 6.0, no qual foram realizadas as análises de componentes principais. Foram investigadas 12 amostras, representadas por suas cidades de origem, e as áreas médias das 38 substâncias identificadas na análise.

Para realização desta análise, retiraram-se todos os compostos que estavam presentes nas amostras de polpa e ausentes nas amostras de óleos. A mesma análise também foi realizada mantendo-se os compostos e o mesmo resultado foi observado. Utilizou-se matriz de covariância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização e identificação de compostos voláteis por CG-EM após extração prévia por SPME

A fibra PDMS é apolar, portanto, há uma maior interação com os compostos apolares. Desta forma, esperava-se a identificação de um maior número de compostos apolares nas amostras de polpa e de óleo de pequi.

Na Tabela 1 (p. 22) estão relacionados os compostos identificados na fração volátil da polpa de pequi e dos óleos de pequi, bem como os tempos de retenção médios, os índices de kovats tabelados e os índices de kovats calculados para cada amostra.

Tabela 1 - Compostos identificados nas amostras de pequi e de óleo de pequi e seus respectivos tempos de retenção médios (TR), índice de kovats tabelado (IKtab) e índice de kovats calculado (IKcal).

Composto	TR (min)	IKtab ¹	IKcal ²											
			A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	O1	O2
Butano-2,3-diol	6,62	747,5	-	798	-	-	-	-	-	797	-	-	-	-
Butanoato de etila	6,95	794	803	803	804	803	804	804	804	803	804	804	804	-
2-metilbutanoato de etila	9,12	829	-	842	843	842	843	842	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de metila	12,85	904	909	909	909	909	910	909	908	909	910	909	-	909
β-mirceno	16,53	979	-	-	-	-	975	-	975	-	-	-	-	-
Hexanoato de etila	17,38	976	987	990	991	993	990	989	990	988	991	990	988	995
L-limoneno	18,59	1014	1012	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -β-ocimeno	19,29	1034	-	1024	-	-	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	-
Hexanoato de isopropila	19,30	1026	1024	-	1025	1025	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	19,69	992	1031	1031	1031	1031	-	1031	1032	1031	1031	1032	1031	1032
<i>cis</i> -β-ocimeno	19,89	1041	1034	1035	1035	1035	1038	1035	1036	1035	1035	1035	1035	1036
β-terpineno	20,36	1036	-	1043	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanoato de isoamila	20,37	1041	-	-	-	1044	-	-	-	-	-	-	-	-
(3E,5E)-Nona-3,5-dien-7-in-2-ol	22,08	1112	1074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de propila	22,63	1079	1084	1084	1084	1084	1084	1084	1084	1084	1084	1084	1084	-
Heptanoato de etila	22,83	1082	1088	1088	1087	1088	1088	1088	1088	1087	1088	1087	1088	1088
Álcool feniletílico	23,62	1083,7	-	1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(3E,5E)-2,6-dimetilocta-1,3,5,7-tetraeno	24,07	1134	-	1110	-	-	1110	-	1110	-	-	-	-	-
Octanoato de metila	24,31	1109	-	-	1114	-	-	-	-	1114	1114	-	-	-
β-pironeno	24,51	997	-	-	1118	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-pironeno	24,52	1080	-	1118	-	1118	1118	-	1118	1118	-	-	1118	-
Terpinoleno	24,53	1180	-	-	-	-	-	1118	-	-	1118	1118	-	-
Hexanoato de butila	24,73	1165	-	-	1121	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de isobutila	25,18	1140	-	-	1134	1122	-	-	-	1141	-	-	1122	-

/ Continua

Tabela 1 (Final)

(4E,6Z)-2,6-dimetilocta-2,4,6-trieno	25,20	1126	-	1130	-	-	1130	1130	1130	1130	1130	1130	1130	-
Ácido octanóico	27,81	1173	-	1177	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -4-octenoato de etila	27,96	1167	-	1179	1179	1179	-	1180	1179	1179	1180	-	-	1180
Octanoato de etila	28,46	1175	1188	1188	1189	1189	1188	1188	1188	1188	1189	1188	1189	190
Hexanoato de 1-etilpropila	29,44	1218	1206	-	1206	1206	-	-	-	1206	-	-	-	-
β-ciclocitral	29,55	1204	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1208	-	-
2-metilbutanoato de hexila	30,54	1223	1226	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -2-octenoato de etila	31,62	1241	-	1245	1245	1245	-	1245	1245	1245	1245	1245	1245	1245
Hexanoato de isoamila	31,86	1253	1249	-	1249	1249	-	-	-	-	-	-	1249	-
Hexanoato de 2-metilbutila	32,08	1236	-	-	-	1253	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido nonanóico	39,21	1268	-	1381	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoato de etila	40,08	1382	1396	1396	1396	1396	1396	1397	1396	1396	1396	-	1397	1397
Dodecanal	40,59	1402	-	-	-	-	-	-	1405	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -β-farneseno	41,71	1440	-	-	-	-	-	-	-	1426	-	-	-	-

¹ Índice de kovats tabelado (The NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Version 2.0 f.)

² Índice de kovats calculado a partir da Equação 1.

Foram identificados 38 compostos, das classes: ésteres, terpenos, álcoois, ácidos carboxílicos e aldeído. Na Tabela 2 (p. 25) são apresentadas as áreas relativas para cada composto identificado nas amostras de pequi e de óleos essenciais.

Observou-se que houve uma variação no perfil dos compostos voláteis na polpa, óleo comercial e óleo extraído por Soxhlet. Houve 23 compostos que apareceram somente nas amostras extraídas da polpa. Um grupo de seis compostos foi identificado nas amostras de pequi e no óleo comercial. Enquanto que dois compostos foram identificados nas amostras de polpa de pequi e somente no óleo extraído com solvente. E, por último, observou-se que um grupo de sete compostos aparece em quase todas as amostras da polpa e estes mesmos compostos estavam presentes nos dois óleos. São eles: hexanoato de etila, *trans*-2-hexenoato de etila, *cis*- β -ocimeno, heptanoato de etila, octanoato de etila, *trans*-2-octenoato de etila e decanoato de etila. Estes compostos possivelmente apresentam potencial para diferenciação na PCA.

Tabela 2 - Compostos identificados nas amostras de pequi e de óleo de pequi e seus respectivos tempos de retenção médios (TR) e área relativa.

Composto	TR	Área relativa (%)											
		A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	O1	O2
Butano-2,3-diol	6,62	-	0,35	-	-	-	-	0,21	-	-	-	-	-
Butanoato de etila	6,95	0,43	1,86	0,78	3,60	1,07	2,92	1,05	1,98	0,92	2,05	-	-
2-metilbutanoato de etila	9,12	-	0,85	0,53	0,45	0,18	0,28	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de metila	12,85	0,14	0,04	2,35	0,91	0,24	0,48	0,40	0,51	2,76	1,91	-	1,16
β-mirceno	16,53	-	-	-	-	0,30	-	0,04	-	-	-	-	-
Hexanoato de etila	17,38	86,29	81,81	83,56	80,09	53,97	79,14	78,15	78,71	72,85	85,72	82,55	82,40
L-limoneno	18,59	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -β-ocimeno	19,29	-	0,68	-	-	2,10	0,29	0,93	0,34	0,36	0,27	0,55	-
Hexanoato de isopropila	19,30	0,21	-	0,92	1,57	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -2-hexenoato de etila	19,69	0,16	0,60	0,85	0,50	-	0,18	0,74	1,23	0,63	0,39	0,56	0,80
<i>cis</i> -β-ocimeno	19,89	0,50	5,76	0,97	1,91	26,68	3,48	12,77	3,39	4,07	4,54	6,31	2,06
β-terpineno	20,36	-	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanoato de isoamila	20,37	-	-	-	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-
(3E,5E)-Nona-3,5-dien-7-in-2-ol	22,08	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de propila	22,63	0,29	0,08	0,27	0,41	0,11	0,24	0,12	0,09	0,15	0,12	0,31	-
Heptanoato de etila	22,83	0,21	0,11	0,21	0,38	0,14	0,10	0,09	0,18	0,34	0,09	0,22	0,35
Álcool feniletílico	23,62	-	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(3E,5E)-2,6-dimetilocta-1,3,5,7-tetraeno	24,07	-	0,05	-	-	0,35	-	0,11	-	-	-	-	-
Octanoato de metila	24,31	-	-	0,11	-	-	-	-	0,07	0,24	-	-	-
β-pironeno	24,51	-	-	0,09	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-pironeno	24,52	-	0,55	-	0,18	2,17	-	1,12	0,29	-	-	0,24	-
Terpinoleno	24,53	-	-	-	-	-	0,23	-	-	0,28	0,45	-	-
Hexanoato de butila	24,73	-	-	0,32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de isobutila	25,18	-	-	0,09	1,17	-	-	-	0,06	-	-	0,08	-

/ Continua

Tabela 2 (Final)

(4E,6Z)-2,6-dimetilocta-2,4,6-trieno	25,20	-	0,35	-	-	1,01	0,06	0,72	0,17	0,16	0,15	0,11	-
Ácido octanóico	27,81	-	0,19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -4-octenoato de etila	27,96	-	0,06	0,23	0,10	-	0,19	0,03	0,34	0,35	-	-	0,49
Octanoato de etila	28,46	8,37	3,87	7,33	6,62	3,85	8,98	1,25	7,19	16,34	0,56	8,58	12,40
Hexanoato de 1-etilpropila	29,44	0,03	-	0,12	0,10	-	-	-	0,03	-	-	-	-
β-ciclocitral	29,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,21	-	-
2-metilbutanoato de hexila	30,54	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -2-octenoato de etila	31,62	-	0,12	0,16	0,04	-	0,04	0,03	0,16	0,39	0,06	0,14	0,30
Hexanoato de isoamila	31,86	0,06	-	0,03	0,06	-	-	-	-	-	-	0,06	-
Hexanoato de 2-metilbutila	32,08	-	-	-	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido nonanóico	39,21	-	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoato de etila	40,08	0,06	0,11	0,08	0,03	0,10	0,20	0,07	0,04	0,10	-	0,10	0,06
Dodecanal	40,59	-	-	-	-	-	-	0,02	-	-	-	-	-
<i>cis</i> -β-farneseno	41,71	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-

Os ésteres foram os compostos mais abundantes na fração volátil da polpa de pequi, contribuindo com mais de 50 % do total de compostos identificados. Este resultado corrobora com os resultados obtidos em trabalhos prévios (BELO, 2009; DAMIANI, 2006; CORDEIRO, 2012). Os ésteres são considerados a classe mais importante de constituintes do aroma de diversas frutas.

Foram identificados 20 ésteres nessa análise, dos quais o butanoato de isoamila, hexanoato de butila, hexanoato de 1-etilpropila e 2-metilbutanoato de hexila ainda não haviam sido reportados anteriormente. As fórmulas estruturais dos ésteres identificados são apresentadas na Figura 12 (p. 28).

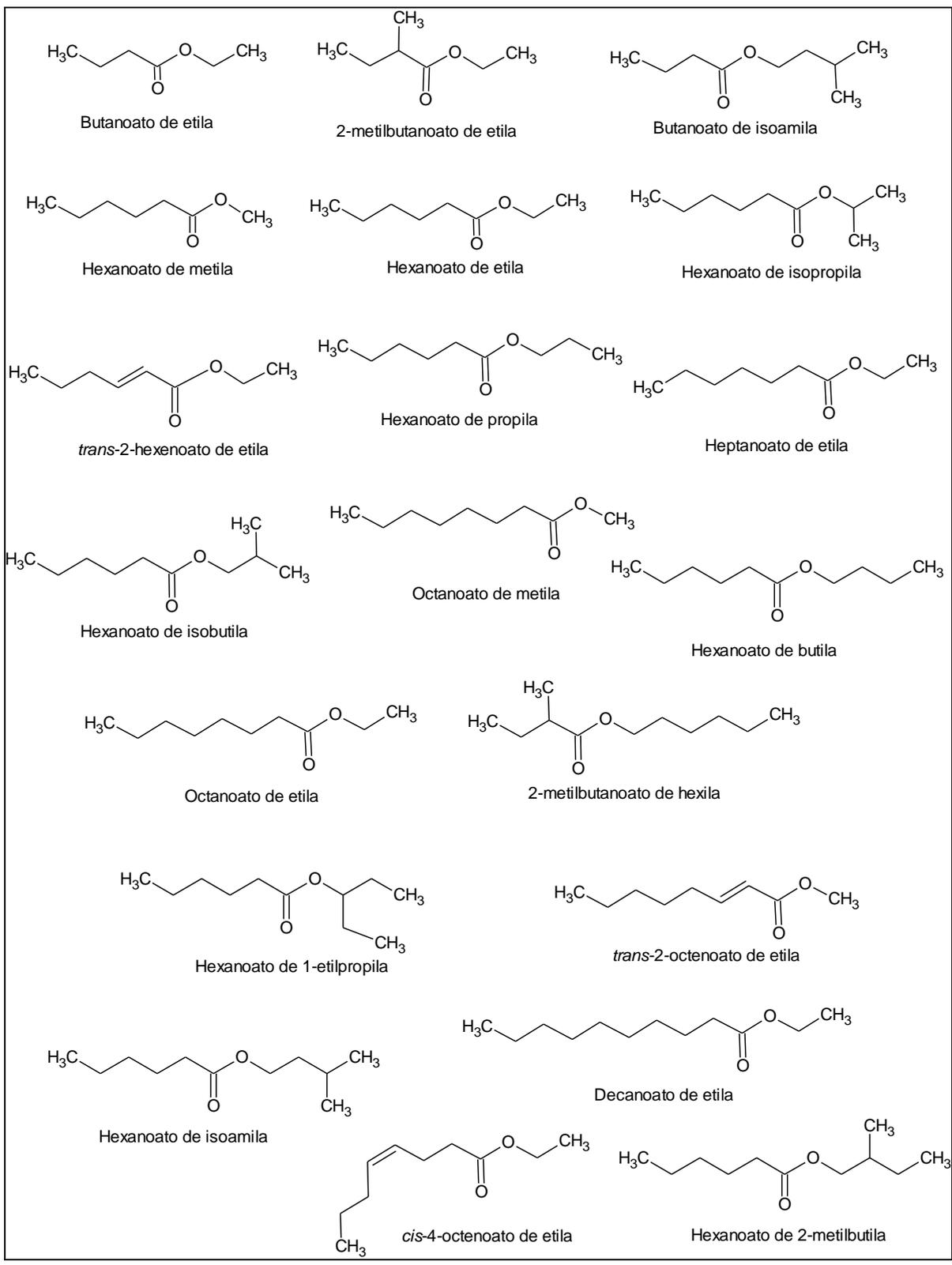


Figura 12 - Ésteres identificados na polpa de pequi e nos óleos.

Os ésteres são formados pela reação entre ácidos, por meio da via do acetato, e álcoois correspondentes, derivados do metabolismo de ácidos graxos e aminoácidos. A reação é catalisada pela enzima álcool aciltransferase (ATT) (NÓBREGA, 2003; DAMIANI, 2006; CORDEIRO, 2012). A rota biossintética é mostrada na Figura 13.

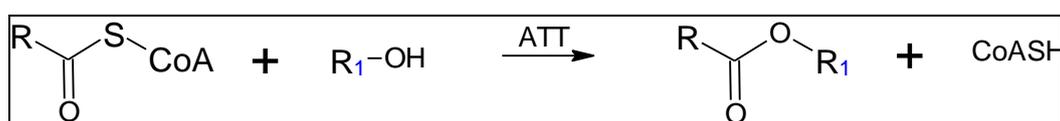


Figura 13 - Rota biossintética de ésteres por ação da enzima álcool aciltransferase (ATT).

Os ésteres com cadeia carbônica longa apresentam menor volatilidade e maior valor de limiar de odor, sendo a sua contribuição sensorial possivelmente relacionada a textura oleosa e ao sabor e não ao aroma. Por outro lado, os ésteres de cadeia curta são relacionados ao aroma do fruto. Ésteres como butanoato de etila e hexanoato de etila são descritos como frutados, sendo os etílicos e acetatos importantes devido aos aromas agradáveis (NÓBREGA, 2003).

A presença de ésteres e ácidos orgânicos pode ser explicada pelo metabolismo de lipídios. Os ácidos linolênico (18:2) e linoleico (18:3) são oxidados pela enzima lipoxigenase e depois são clivados pela enzima hidroperóxido liase (HPL) para formar estes compostos (CORDEIRO, 2012).

O composto mais abundante em todas as amostras analisadas foi o hexanoato de etila, apresentando pico cromatográfico de maior área e intensidade. Este resultado corrobora com obtido por Belo (2009), Cordeiro (2012) e Damiani (2006). Em trabalho realizado por Geöcze (2011), onde foram analisados os óleos essenciais, extraídos por hidrodestilação, de amostras de pequi dos estados de Minas Gerais, Maranhão e Tocantins, observou-se que apenas nas amostras de Tocantins o éster hexanoato de etila não foi o componente mais abundante.

O hexanoato de etila pode ser considerado de impacto no aroma característico do pequi. É importante ressaltar que nem sempre o composto majoritário pode ser considerado o composto de impacto na amostra. O hexanoato de etila apresenta odor frutal e também foi identificado nos

frutos de murici (REZENDE e FRAGA, 2003), ameixa (PINO e QUIJANO, 2012) e maracujá (MACORIS *et al.*, 2011).

O segundo éster mais abundante foi o octanoato de etila, resultado que corrobora com o obtido por Belo (2009) e Cordeiro (2012). Este composto é encontrado nos óleos essenciais de muitas frutas e é utilizado na indústria como flavorizante (GEÖCZE, 2011).

Foram identificados 12 terpenóides (Figura 14) (p. 31), constituindo mais de 30 % do total de compostos voláteis. Destes compostos, apenas três também foram identificados por Belo (2009), a saber: *cis*- β -ocimeno, 2,6-dimetilocta-2,4,6-trieno e β -ciclocitral. Neste trabalho, Belo (2009) identificou o composto dendrolasin como um dos compostos mais abundantes, utilizando o mesmo método de extração realizado neste trabalho.

Os terpenos são frequentemente encontrados no aroma floral de diversas espécies, inclusive como constituintes majoritários. A maior ocorrência de determinados compostos reforça a presença de sinalizadores químicos específicos no processo de polinização, o que pode acontecer com os isômeros do ocimeno (REZENDE *et al.*, 2004).

Esses compostos são importantes para caracterização de algumas frutas, uma vez que a sua biossíntese e a biodegradação de carotenoides também contribuem para o aroma típico (UENOJO *et al.*, 2007).

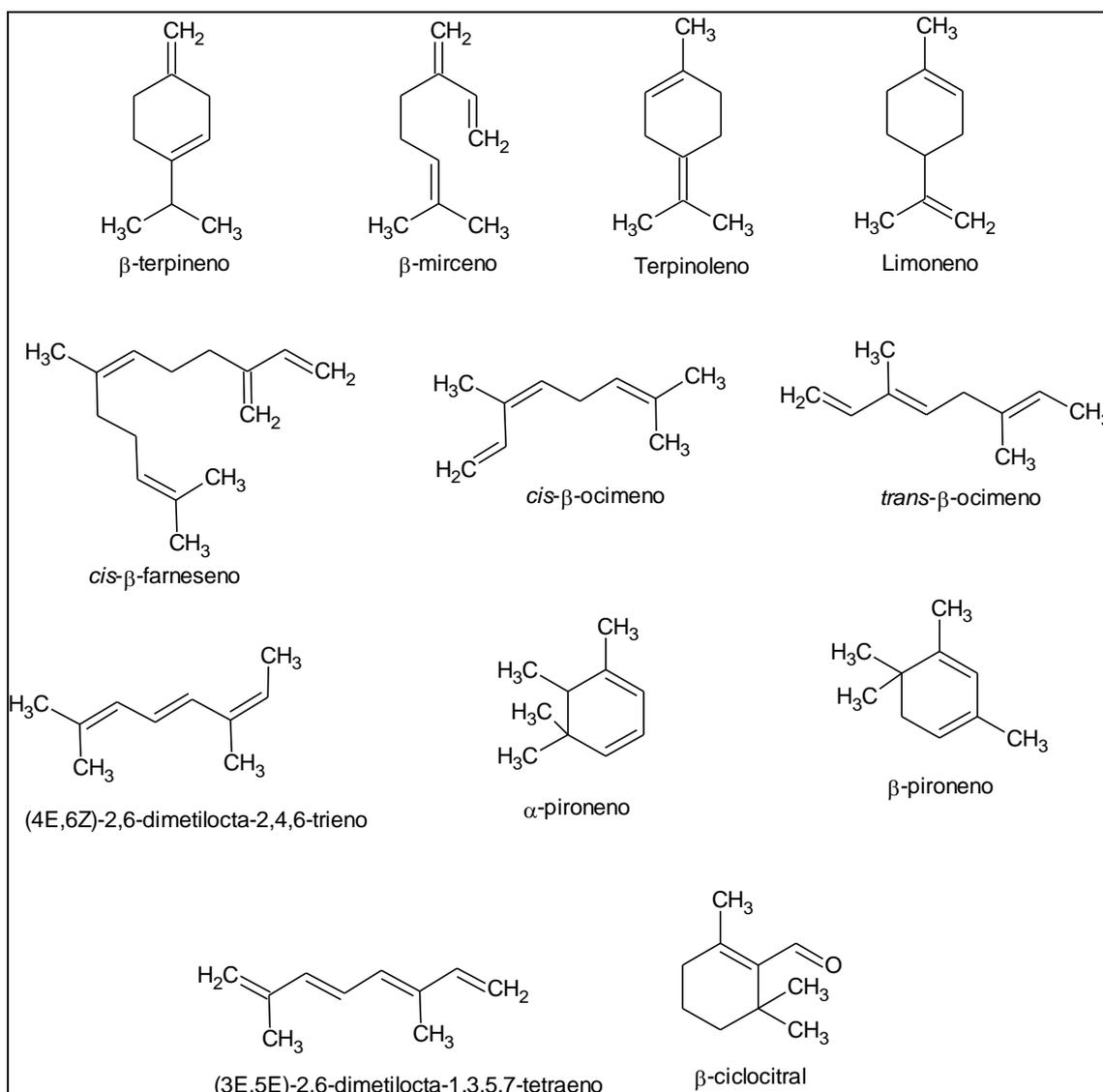


Figura 14 - Terpenos identificados nas amostras de pequi e de óleos.

O *cis*- β -ocimeno foi o composto mais abundante desta classe e o segundo nesta análise. Este resultado corrobora com os resultados de Belo (2009) e é diferente do obtido por Cordeiro (2012), que identificou o seu isômero (*trans*- β -ocimeno) como segundo mais abundante. Em trabalho realizado por Geöcze (2011), apenas o *trans*- β -ocimeno foi identificado em amostras de óleos essenciais provenientes do estado do Maranhão e em amostras do estado de Minas Gerais este isômero foi mais abundante que o *cis*- β -ocimeno.

O *cis*- β -ocimeno também foi identificado em amostras de pimenta (POTZERNHEIM *et al.*, 2006), de flores e folhas do pau-brasil (REZENDE *et al.*, 2004), cagaita (DUARTE *et al.*, 2010) e gabioba (VALLILO *et al.*, 2006). Este composto apresenta odor pungente, devido a sua estrutura insaturada (GEÖCZE, 2011). É um derivado da via do mevalonato, sendo formado por meio da reação entre os derivados do ácido mevalônico: pirofosfato de dimetil-alila (DMAPP) e pirofosfato de isopentenila (IPP). Sua rota biossintética é apresentada na Figura 15.

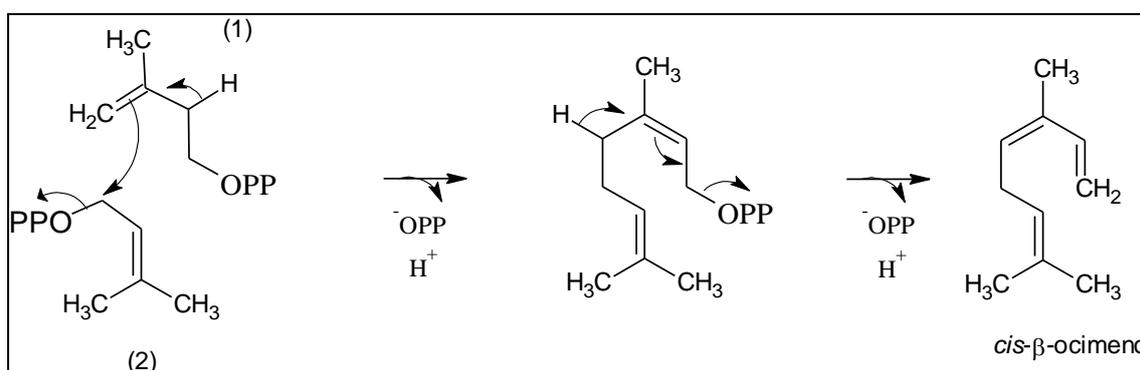


Figura 15 - Rota biossintética do *cis*- β -ocimeno, a partir do pirofosfato de isopentenila (1) e do pirofosfato de dimetil-alila (2).

Foram identificados 3 álcoois nas amostras analisadas: (3E,5E)-Nona-3,5-dien-7-in-2-ol, Butano-2,3-diol e álcool fenilético (Figura 16). Sendo o último também identificado por Belo (2009).

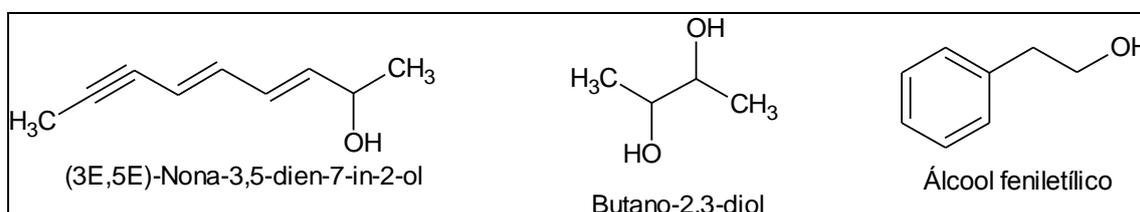


Figura 16 - Álcoois identificados nas amostras de pequi e de óleos.

O álcool fenilético é um composto com odor de rosas, encontrado em óleos essenciais de algumas espécies. Este álcool é utilizado na indústria de alimentos como aromatizante em sorvetes, gomas de mascar e outros

produtos. E ainda pode ser utilizado como precursor para produção de outros flavorizantes (FABRE *et al.*, 1998).

Foram identificados 2 ácidos orgânicos: ácido octanóico e ácido nonanóico. (Figura 17). Os ácidos carboxílicos têm propriedades organolépticas importantes, contribuindo na textura e palatabilidade, sendo o sabor azedo característico desta classe de compostos. Os ácidos de quatro a oito átomos de carbono apresentam odor desagradável. Entretanto, em pequenas concentrações, esses compostos são responsáveis pelo aroma agradável de muitas fragrâncias (FIORUCCI *et al.*, 2002).

O ácido octanóico, também conhecido com ácido caprílico, é encontrado no leite materno. É utilizado industrialmente na produção de ésteres para aplicação na indústria de perfumes e também apresenta propriedades antimicrobianas.

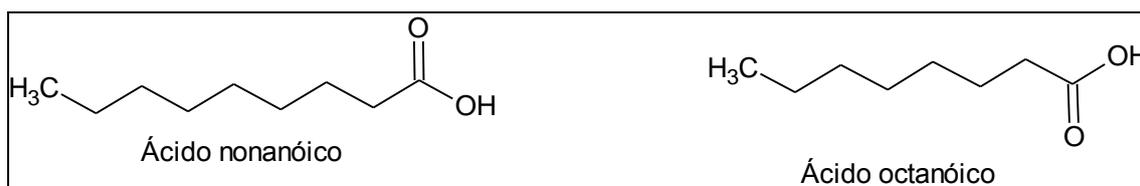


Figura 17 - Ácidos orgânicos identificados nas amostras de pequi e de óleos.

Nesta análise foi identificado apenas um aldeído, o dodecanal (Figura 18). Este composto não havia sido reportado anteriormente e foi identificado em folhas de *Machilus zuihoensis*, sendo a sua atividade antifúngica associada à presença deste composto, entre outros (HO *et al.*, 2012).

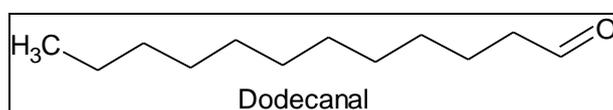


Figura 18 - Aldeído identificado nas amostras de pequi e de óleos.

A variação nos compostos identificados, bem como das áreas relativas, pode ser atribuída às diferentes regiões de procedência das amostras. Além das condições climáticas, as práticas na colheita, manuseio, e tipo de nutrição também podem influenciar na composição de voláteis (CORDEIRO,

2012 e DAMIANI, 2006). A síntese de metabólitos secundários, em geral, é influenciada por fatores ambientais, tais como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, incidência de descargas atmosféricas, ação de patógenos e processos mecânicos. Portanto, as diferenças observadas quanto aos compostos identificados em diversos trabalhos podem ser explicadas por esses fatores ambientais, que também podem sofrer alterações significativas nas diferentes safras.

Outro aspecto importante a se considerar é o estágio de amadurecimento do fruto. O pequi é um fruto climatérico, portanto sua vida útil é muito pequena. O fruto normalmente é colhido no chão, depois de amadurecer e cair do pequizeiro. O fruto torna-se macio e entra em processo de deterioração rapidamente. A coleta do fruto na árvore, ou seja, a derrubada dos frutos sem que estes tenham completado o seu processo de maturação, é considerado um fator que contribui para a redução da qualidade do fruto (SANTOS, 2008). Os frutos foram coletados depois de maduros, mas não se sabe por quanto tempo estes ficaram caídos no chão. Desta forma, é desconhecido o grau de amadurecimento dos frutos utilizados nesta análise.

Na Figura 19 (p. 35) são apresentados os cromatogramas total e ampliado da amostra A9, onde foram identificados majoritariamente os compostos hexanoato de etila (1), *cis*- β -ocimeno (2) e octanoato de etila (3), no qual apresentam áreas relativas de 53,97 %, 26,68 % e 3,85 %, respectivamente. No cromatograma ampliado observa-se a presença de pelo menos 16 picos cromatográficos.

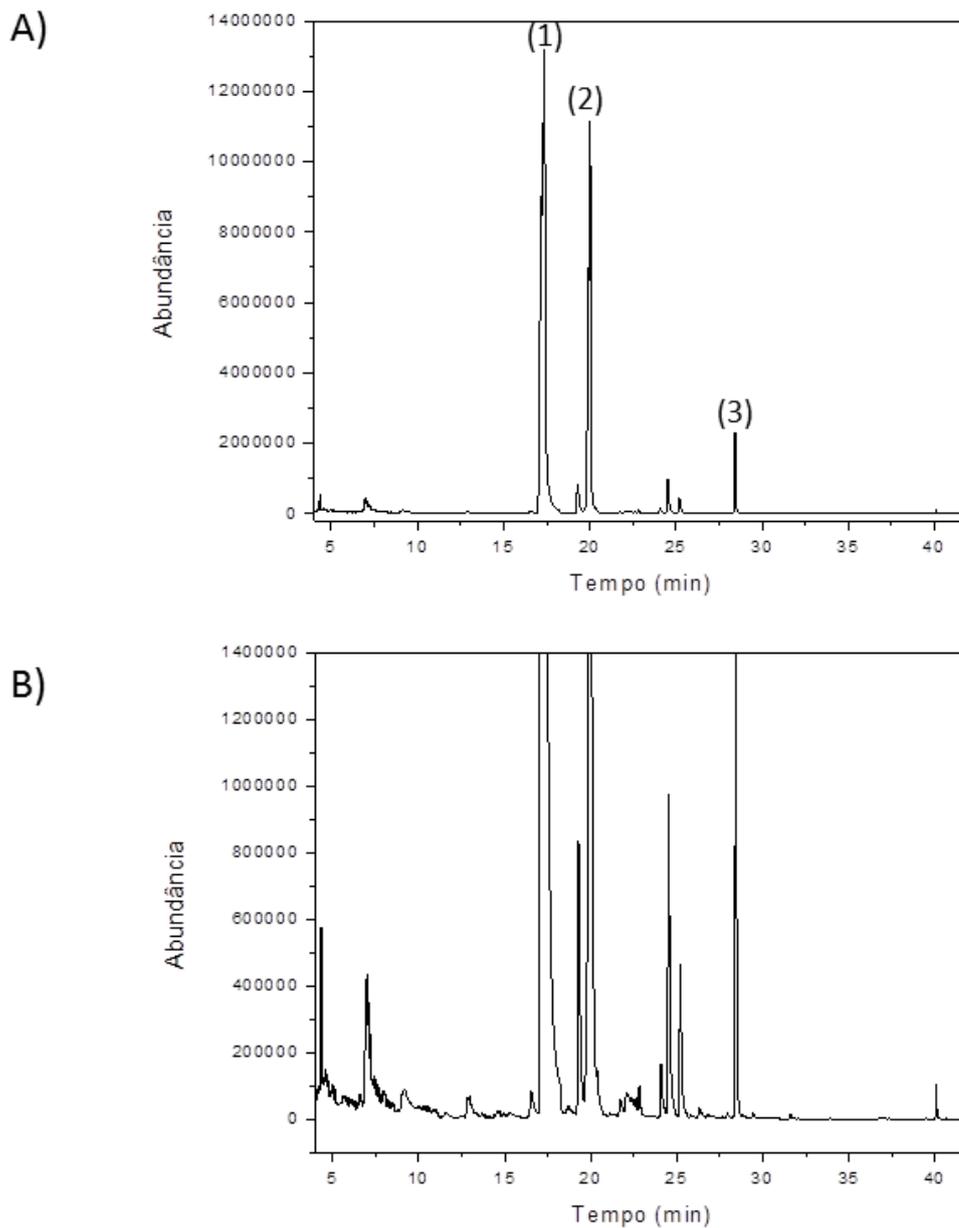


Figura 19 - A) Cromatograma total da amostra A9, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) *cis*- β -ocimeno, (3) octanoato de etila. B) Cromatograma ampliado da amostra A9.

Nas Figuras 20 e 21 (p. 36 e p. 37), são mostrados os cromatogramas totais e ampliados das amostras de óleo comercial e de óleo extraído pelo método de Soxhlet, respectivamente, onde foram identificados majoritariamente os compostos hexanoato de etila (1), octanoato de etila (2) e *cis*- β -ocimeno (3).

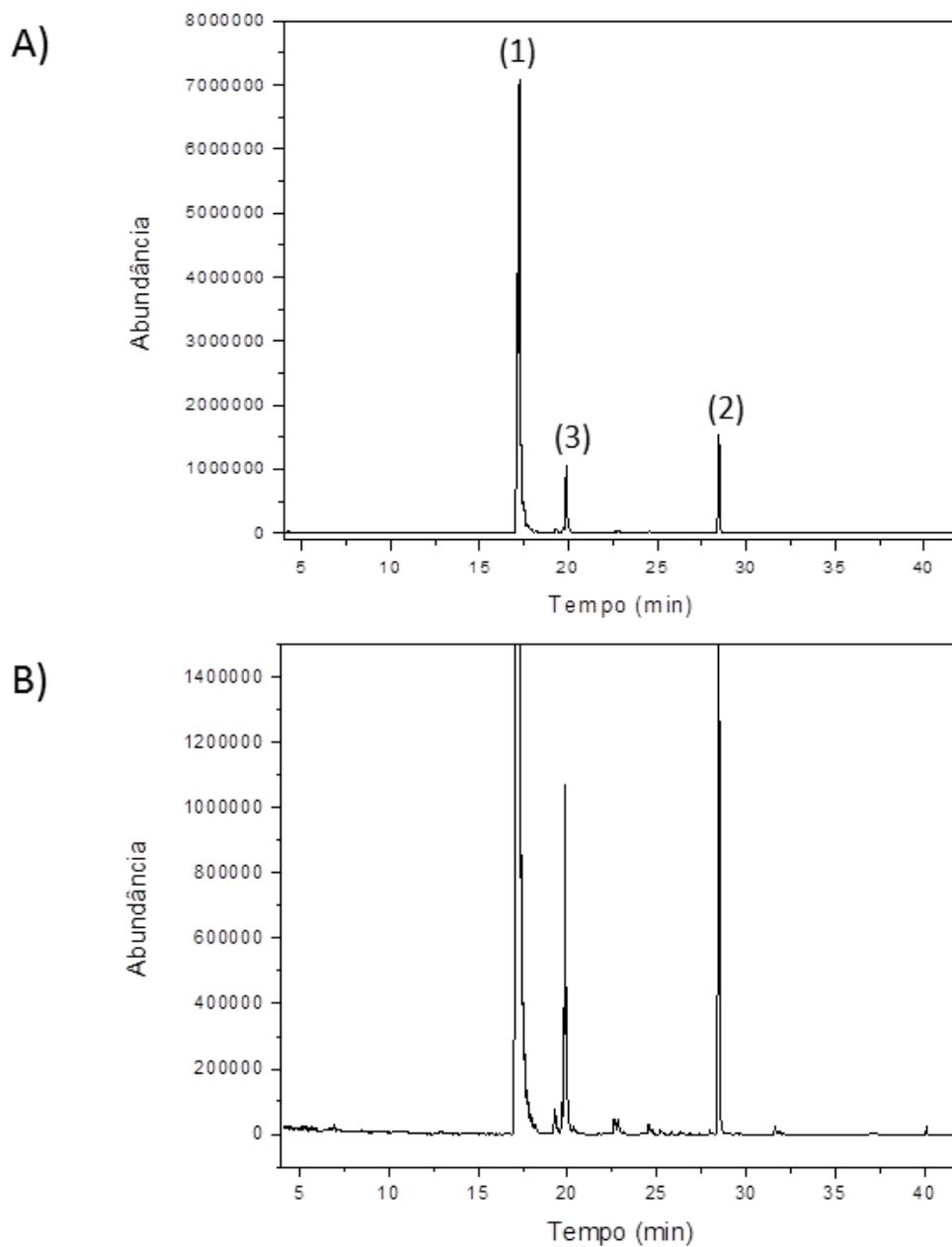


Figura 20 - A) Cromatograma total da amostra de óleo comercial, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) octanoato de etila, (3) *cis*- β -ocimeno. B) Cromatograma ampliado da amostra de óleo comercial.

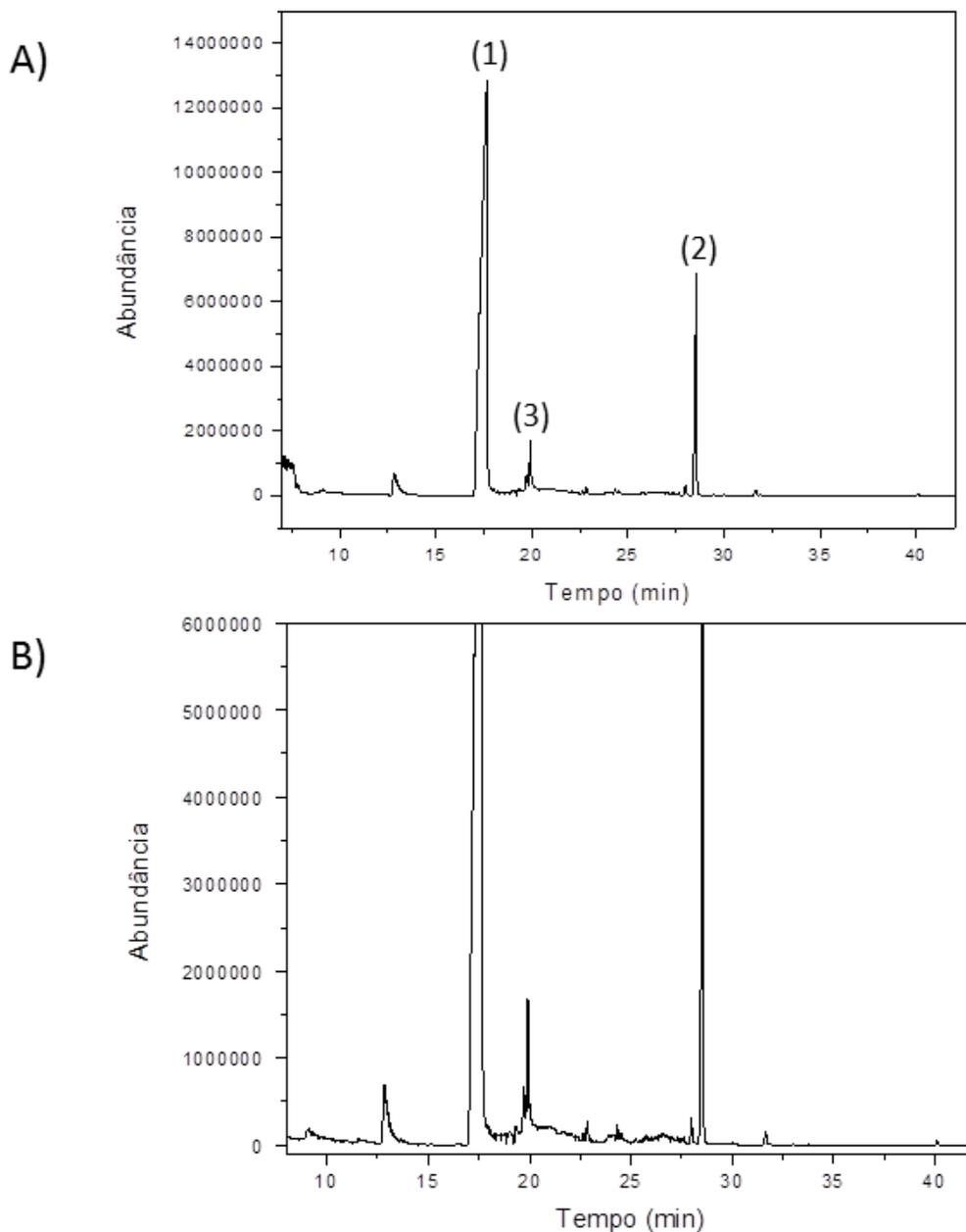


Figura 21 - A) Cromatograma total da amostra de óleo extraído por Soxhlet, compostos mais abundantes: (1) hexanoato de etila, (2) octanoato de etila, (3) *cis*- β -ocimeno. B) Cromatograma ampliado da amostra de óleo extraído.

Observou-se uma diferença nas abundâncias dos compostos majoritários na amostra de óleo extraído por Soxhlet, comparando-se com a amostra de óleo comercial. Os compostos hexanoato de etila (82,40 %), octanoato de etila (12,40 %) e *cis*- β -ocimeno (2,06 %) apresentaram área relativa de 96,85 % na amostra de óleo extraído por Soxhlet, enquanto que na amostra de óleo comercial a área relativa foi de 97,44 %. Na amostra de

óleo comercial, a área relativa de *cis*- β -ocimeno foi maior (6,31 %) e de octanoato de etila foi menor (8,58 %). O óleo comercial pode ser extraído por meio da fervura dos frutos em água e posterior separação do óleo na água ou por prensagem a frio. Por se apresentar bastante pastoso e consistente, acredita-se que o método utilizado foi o de prensagem. Considerando este método de extração, observa-se que há uma concentração dos compostos e maior conservação destes.

O óleo extraído por Soxhlet (O2) é proveniente da amostra de Morro da Garça (A9). Como pode ser observado na Tabela 2 (p. 25), na polpa da amostra A9 foram identificados 15 compostos, já na amostra do óleo extraído por Soxhlet (O2) foram identificados nove compostos, sendo que todos apresentaram área relativa menor, comparando-se com a amostra A9, exceto os compostos hexanoato de etila, *trans*-2-hexenoato de etila, heptanoato de etila e *cis*-4-octenoato de etila. Este resultado pode ser explicado pela sensibilidade da técnica de SPME em relação à extração por Soxhlet. Além de não gerar resíduos, as condições de aquecimento são mais amenas. A extração por Soxhlet utiliza temperatura mais elevada, o que pode alterar a composição química dos voláteis, principalmente quando se trata de substâncias termolábeis.

4.2 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais realizada com as amostras das polpas de pequi apresentou a condensação da maior parte da informação dos dados originais nas duas primeiras componentes principais (Tabela 3) (p. 39). A porcentagem da variabilidade total dos dados foi de 98,9 %, sendo que a primeira componente principal (CP1) explicou 87,9% da variação e a segunda componente principal (CP2) 11,0%.

Tabela 3 - Valores das componentes principais para as polpas de pequi.

Componente	Autovalor	% Total	% Cumulativa
1	$5,293 \times 10^{27}$	87,9	87,9
2	$6,667 \times 10^{21}$	11,1	98,9
3	$5,550 \times 10^{20}$	0,9	99,9
4	$4,593 \times 10^{19}$	0,1	99,9
5	$2,693 \times 10^{19}$	0	100

O gráfico de dispersão de escores das áreas dos compostos voláteis do pequizeiro, obtido pelo software Minitab 6.0, para a primeira e segunda componentes é apresentado na Figura 22. Observam-se amostras com tendência a formar agrupamentos, sendo observados, pelo menos dois grupos e três amostras isoladas (Quadro 1) (p. 40).

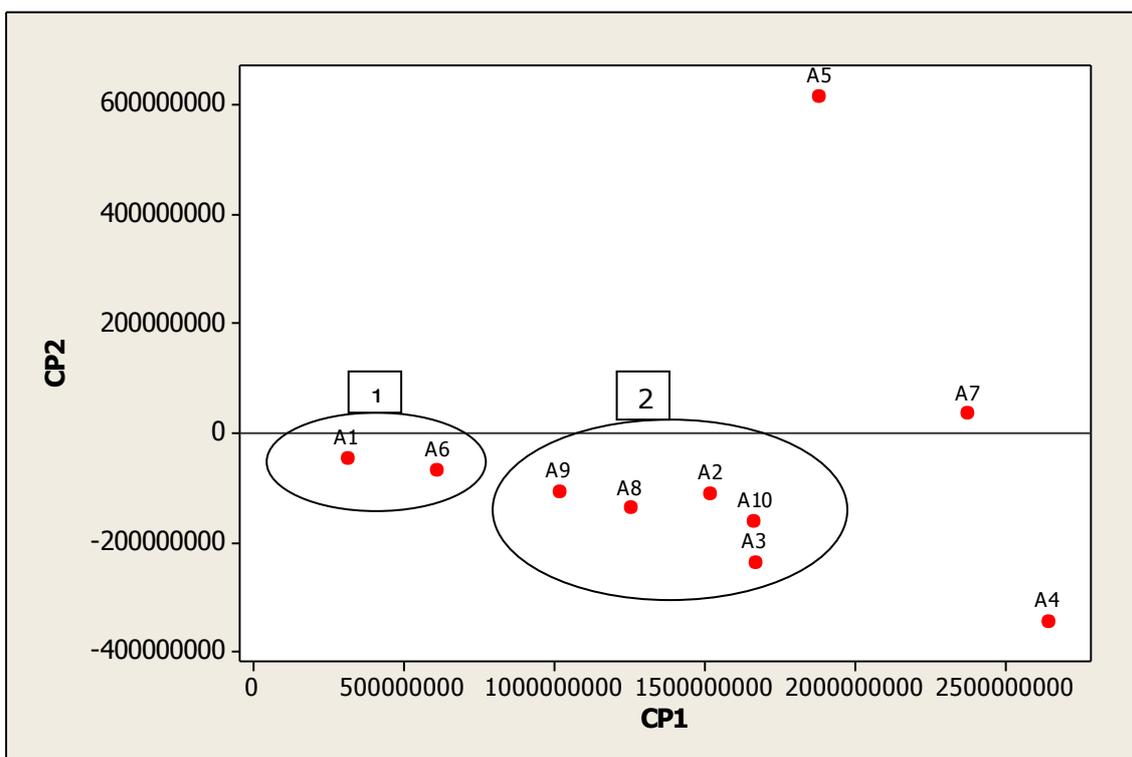


Figura 22 – Gráfico de dispersão dos escores das componentes principais CP1 e CP2 dos compostos voláteis das amostras de pequi.

Quadro 1. Grupos observados das amostras de pequi.

Grupos	Amostras	Cidade
1	A1	Bocaiuva
	A6	Inimutaba
2	A9	Morro da Garça
	A8	Montes Claros
	A2	Brumadinho
	A10	Santo Hipólito
	A3	Curvelo
3	A5	Inhaúma
4	A7	Matozinhos
5	A4	Guaraciama

Observa-se que a localização geográfica, aparentemente, não é um fator determinante na caracterização do perfil volátil dos frutos, uma vez que, apenas as amostras de Morro da Garça, Santo Hipólito e Curvelo apresentaram tendência a se agrupar, juntamente com as amostras de Montes Claros e Brumadinho. Já as amostras de Bocaiuva e de Inimutaba, que também se agruparam, são consideradas não muito distantes.

A idade das árvores, índice pluviométrico, tipo de solo, grau de amadurecimento do fruto e as técnicas de cultivo podem influenciar na formação de compostos voláteis, qualitativamente e quantitativamente. Apesar de ser uma árvore nativa do cerrado, muitos pequizeiros são plantados e cultivados conforme práticas de cada indivíduo. Estes fatores também devem ser considerados na análise dos agrupamentos.

A análise de componentes principais realizada com as amostras das polpas de pequi e as amostras de óleos apresentou a condensação da maior parte da informação dos dados nas duas primeiras componentes principais. A porcentagem da variabilidade total dos dados foi de 98,8 %, sendo que a CP1 explicou 90,1 % da variação e a CP2 8,7 %.

O gráfico de dispersão de escores apresentado na Figura 23 (p. 41) foi obtido da análise de componentes principais das amostras de polpa de pequi e dos óleos de pequi.

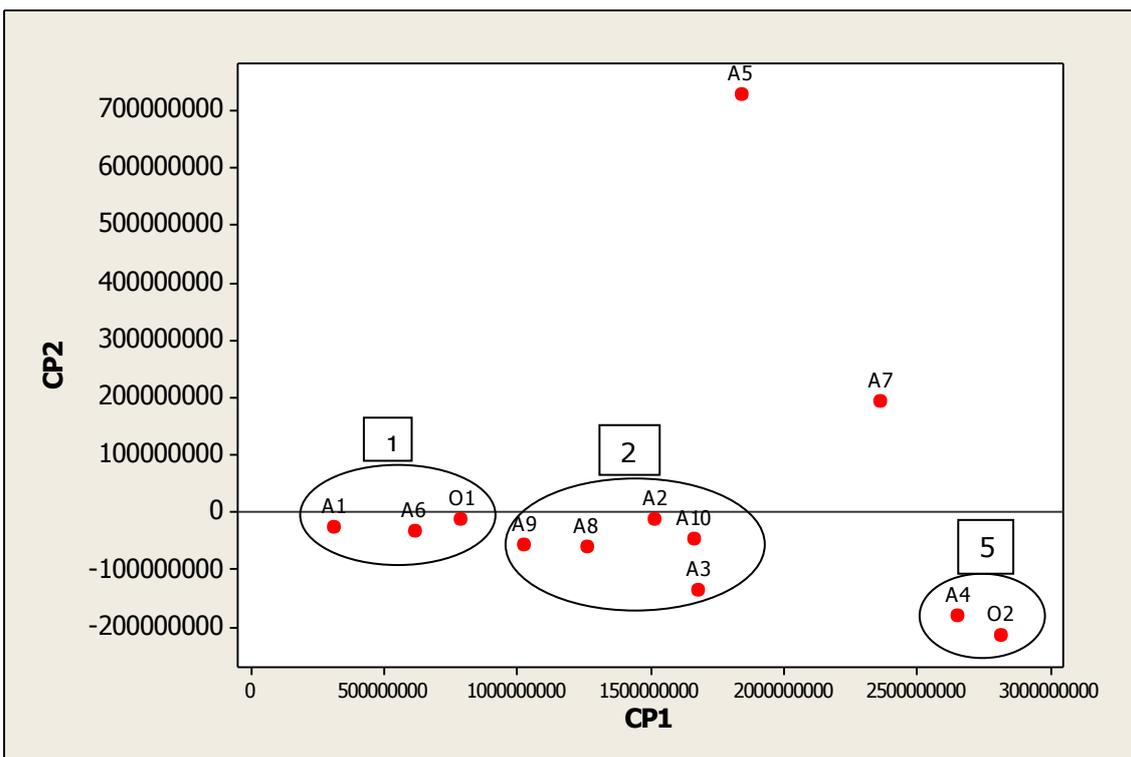


Figura 23 - Gráfico de dispersão dos escores das componentes principais CP1 e CP2 dos compostos voláteis das amostras de pequi e de óleos de pequi.

Observou-se uma tendência de agrupamento da amostra de óleo comercial (O1) próximo aos grupos 1 e 2. Essa amostra foi adquirida no município de Bocaiuva (A1) e o provável método de extração (prensagem a frio) pode ser a explicação para a conservação dos componentes voláteis do fruto.

A amostra de óleo extraída por Soxhlet apresentou tendência a agrupamento no grupo 5. Este óleo foi extraído da polpa da amostra de Morro da Garça (A9), mas agrupou-se próximo à amostra proveniente de Guaraciama (A4), cidade do norte Minas Gerais, que apresenta clima quente. Tal agrupamento pode ter acontecido em função da perda de voláteis que ocorre na extração pelo método de Soxhlet.

É importante ressaltar que os óleos foram extraídos por métodos diferentes. Desta forma, é possível se inferir que na extração do óleo pelo método de prensagem há uma maior conservação dos compostos voláteis presentes na polpa do fruto, pois esta amostra pode ser agrupada no grupo da amostra de sua cidade de origem. O aquecimento prolongado ou a interação com o solvente podem ter contribuído para degradação de compostos e/ou formação de outros compostos, no caso da extração por Soxhlet.

5. CONCLUSÕES

Em todas as amostras de polpa de pequi e de óleos analisados, os ésteres foram a classe de compostos predominante, seguido dos terpenos. O composto mais abundante foi hexanoato de etila.

A análise de componentes principais permitiu a comparação de 38 compostos voláteis em dez amostras de polpa e duas amostras de óleo de pequi, simultaneamente, com redução da informação para duas componentes principais, facilitando a interpretação dos dados obtidos.

Observou-se que a localização geográfica onde foram coletadas as amostras não foi determinante para a formação de todos os agrupamentos pelo perfil de compostos voláteis. A idade das árvores, o índice pluviométrico, o tipo de solo, o grau de amadurecimento do fruto e as técnicas de cultivo podem influenciar na formação de compostos voláteis, tanto qualitativamente quanto quantitativamente.

O agrupamento da amostra de óleo comercial próximo ao grupo da cidade onde foi adquirido reforça a ideia de que a extração artesanal promove uma maior conservação dos componentes voláteis do fruto. Em contrapartida, a amostra de óleo extraído por Soxhlet apresentou tendência a agrupamento distante do grupo da amostra de origem. Neste caso, o aquecimento prolongado ou a interação com o solvente podem ter contribuído para degradação de compostos e/ou formação de outros compostos. Por outro lado, a técnica de SPME apresenta maior sensibilidade, não gera resíduo e as condições de aquecimento são mais amenas, o que promove uma maior caracterização dos compostos voláteis na polpa do fruto de pequi.

6. REFERÊNCIAS

AMBROSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. de A. C. e S.; FARO, Z. P. de. Carotenóides com alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**. v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.

BELO, R. F. C. **Caracterização de genótipos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pelo perfil cromatográfico de voláteis**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CEASAMINAS. CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. Acompanhamento de Produtos do ano de 2012. Estado / País: MINAS GERAIS. 2012. Disponível em: <<http://www.ceasaminas.com.br/>>. Acesso em 12 nov. 2013.

CORDEIRO, M. W. S. **Caracterização física e química de frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de diferentes regiões do estado de Mato Grosso**. 2012. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

DAMIANI, C. **Qualidade de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) minimamente processado, armazenado sob diferentes temperaturas**. 2006. 126 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DAMIANI, C.; VILAS BOAS, E. V. de B.; FERRI, P. H.; PINTO, D. M.; RODRIGUES, L. J. Volatile compounds profile of fresh-cut peki fruit stored under different temperatures. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 29, n. 2, p. 435-439, 2009.

DEUS, T. N. de. **Extração e caracterização de óleo do pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) para uso sustentável em formulações cosméticas óleo/água (O/A)**. 2008. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Produção Sustentável) - Universidade Católica de Goiás, Goiânia.

DUARTE, A. R.; Naves, R. R.; Santos, S. C.; Seraphin, J. C.; Ferri, P. H. Genetic and environmental influence on essential oil composition of *Eugenia dysenterica*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 21, n. 8, p. 1459-1467, 2010.

FABRE, C. E.; BLANC, P. J.; GOMA G. 2-Phenylethyl alcohol: an aroma profile. **Perfum Flavor**. v. 23, n. p. 43-45, 1998.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Ácidos Orgânicos: dos Primórdios da Química Experimental à Sua Presença em Nosso Cotidiano. **Química Nova na Escola**. v. , n. 15, p. 6-10, 2002.

GEÖCZE, K. C. **Análise exploratória de carotenoides, óleos essenciais e triacilglicerídios do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) de municípios brasileiros situados no bioma cerrado**. 2011. 229 p. Tese (Doutorado em *Doctor Scientiae*) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

HAIR Jr, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDRESON, R. E.; TATHAM, R. L. *Análise Multivariada de Dados*, Tradução da 6ª ed. Norte-Americana, Bookman, 2009.

HO, C-L; LIAO, P-C; SU, Y-C. Composition and antimicrobial activities of the leaf essential oil of *Machilus zuihoensis* from Taiwan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. .22, n. 2, p. 277-283, 2012.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**. v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

LIMA, V. L. G. de; MÉLO, E. de A.; LIMA, D. E. da S. Fenólicos e Carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agricola**. v. 59, n. 3, p. 447-450, 2002.

LOPES, R. M.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B.; GOMES, I. da SILVA, AGOSTINI-COSTA, T. da SILVEIRA. Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 34, n. 2, p. 635-640, 2012.

MACHADO, A. M. de R. **Carbamato de etila, acroleína e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos: caracterização e quantificação em cachaças provenientes de cana-de-açúcar com adubação nitrogenada e acondicionadas em vidros e “bombonas” de Pead**. 2010. 269 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MACORIS, M. S.; JANZANTTI, N. S.; GARRUTI, D. dos S.; MONTEIRO, M. Volatile compounds from organic and conventional passion fruit (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) pulp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 31, n. 2, 2011.

MARIANO, R. G. de B.; COURI, S.; FREITAS; S. P. Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* camb (Pequi) pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 31, n. 3, p. 637-643, 2009.

MIRANDA-VILELA, A. L.; RESCK, I. S.; GRISOLIA, C. K. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. **Genetics and Molecular Biology**. v. 31, n. 4, p. 956-963, 2008.

MORÉS, S. **Determinação de compostos voláteis em cachaça por microextração em fase sólida**. 2009. 61 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MORITZ, B.; TRAMONTE, V. L. C. Biodisponibilidade do licopeno. **Revista de Nutrição**. v. 19, n. 2, p. 265-273, 2006.

NAVES, M. M. V. Beta-caroteno e câncer. **Revista de Nutrição**. v. 11, n. 2, p. 99-115, 1998.

NÓBREGA, I. C. da C. Análise dos compostos voláteis da aguardente de cana por concentração dinâmica do "headspace" e cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, n. 2, p. 210-216. 2003.

PAULA-JUNIOR, W. de; ROCHAL, F. H.; DONATTI, L.; FADEL-PICHETH, C. M. T.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16(Supl.), p. 625-630, 2006.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S. da; LIMA, C. G.; SILVA, K. K. da; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R. de, MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 2, p. 249-259, 2008.

PINO, J. A.; QUIJANO, C. E. Study of the volatile compounds from plum (*Prunus domestica* L. cv. Horvin) and estimation of their contribution to the fruit aroma. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 32, n. 1, 2012.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F.. Análise dos óleos essenciais de três espécies de Piper coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n. 2, p. 246-251, 2006.

RAMOS, K. M. C. **Variabilidade genética e uso dos frutos de pequi (*Caryocar coriaceum* WITTM.) na região meio-norte do Brasil**. 2010. 100 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Piauí, Teresina.

RAMOS, K. M. C.; SOUZA, V. A. B. Características físicas e químico-nutricionais de frutos de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) em populações naturais da região meio-norte do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 2, p. 500-508, 2011.

REZENDE, C. M.; FRAGA, S. R. G. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 14, n. 3, p. 425-428, 2003.

REZENDE, C. M.; CORRÊA, V. F. S.; COSTA, A. V. M.; CASTRO, B. C. S.; ALVES R. J. V. Constituintes químicos voláteis das flores e folhas do pau-brasil (*Caesalpinia echinata*, Lam.). **Química Nova**. v. 27, n. 3, p. 414-416, 2004.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

SANTOS, M. R. L. dos. **Efeitos da radiação gama do ^{60}Co em frutos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SILVA, S. M.; BRAIT, J. D. de A.; FARIA, F. P.; SILVA, S. M.; OLIVEIRA, S. L.; BRAGA, P. F.; SILVA, F. M. de S. M. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás – Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 29, n. 4, p. 771-777, 2009.

SIQUEIRA, B. dos S.; ALVES, L. D.; VASCONCELOS, P. N.; DAMIANI, C.; JÚNIOR, M. S. S. Pectina extraída de casca de pequi e aplicação em geleia light de manga. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 34, n. 2, p. 560-567, 2012.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. Fundamentos de Química Analítica, Tradução da 8ª ed. Norte-Americana, Thomson Learning Ltda, 2006.

UENOJO, M.; JUNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Carotenóides: Aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**. v. 30, n. 3, p. 616-622, 2007.

VALLILO, M. I.; Lamardo, L. C. A.; Gaberlotti, M. L.; Oliveira, E.; Moreno, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessedes) O.Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006.

VIEIRA, A. F. C. S. **Aplicação de Métodos Quimiométricos aos Resultados de Técnicas Hifenadas para Caracterização da Aguardente de Cana-de-açúcar de Cabo Verde.** 2007. 81 p. Tese (Mestrado em "Métodos Instrumentais e Controlo da Qualidade Analítica") - Universidade de Aveiro, Aveiro.

