

Caracterização dos compostos voláteis do kiwi empregando-se HS-SPME/CG-MS

Characterization of kiwifruit volatile compounds using HS-SPME/GC-MS

Caracterización de los compuestos volátiles de kiwi empleando HS-SPME/GC-MS

Recebido: 10/11/2020 | Revisado: 16/11/2020 | Aceito: 20/11/2020 | Publicado: 26/11/2020

Drielle Alves da Assunção

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2282-2692>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: d.allvees@gmail.com

Beatriz Gomes Pinto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0273-5476>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: beatriz.gomes2014@hotmail.com

Ana Cláudia Duarte Leal

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2244-2128>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: anaclaudiacaca@hotmail.com

Rodinei Augusti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9448-9518>

Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil

E-mail: augusti.rodinei@gmail.com

Júlio Onésio Ferreira Melo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7483-0942>

Universidade Federal de São João Del-Rei, Brasil

E-mail: onesiomelo@gmail.com

Sabrina Alves Ramos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7808-0731>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: sabrinaalvesramos@gmail.com

Mauro Ramalho Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9565-2244>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: mauroramalhosilva@yahoo.com.br

Michely Capobiango

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6016-4969>

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Brasil

E-mail: michely@pucminas.br

Resumo

O fruto kiwi (*Actinidia deliciosa*) possui maior importância comercial dentre as 70 espécies do gênero *Actinidia*. Quando maduro, o kiwi produz um conjunto de compostos voláteis que compõem o aroma característico e o sabor doce da variedade da *Actinidia deliciosa*, sendo muito apreciados pela população. O presente estudo teve como objetivo detectar os compostos voláteis em amostras de um cultivar comercial de kiwi utilizando a microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME) combinada com a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS). Por este método foram encontrados 10 compostos voláteis, sendo estes das classes químicas dos álcoois, aldeídos, ésteres, terpenos e cetonas. Os ésteres representaram a classe química predominante, correspondendo a 57,10% da composição relativa dos compostos voláteis identificados. Conclui-se que a caracterização dos compostos voláteis do kiwi foi eficaz pelo emprego da HS-SPME/CG-MS, permitindo identificar que a classe química predominante nesse fruto é representada por ésteres.

Palavras-chave: *Actinidia deliciosa*; Compostos voláteis; Microextração em fase sólida; CG/MS.

Abstract

The kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) has greater commercial importance among the 70 species of the genus *Actinidia*. When ripe, the kiwi produces a set of volatile compounds that make up the characteristic aroma and sweet taste of the *Actinidia deliciosa* variety, being highly appreciated by the population. The present study aimed to detect volatile compounds in samples of a commercial kiwi cultivar using solid phase microextraction in headspace mode (HS-SPME) combined with gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). By this method, 10 volatile compounds were found, these of the chemical classes of alcohols, aldehydes, esters, terpenes and ketonas. Esters represented the predominant chemical class, corresponding to 57.10% of the relative composition of the volatile compounds identified. It was concluded that the characterization of volatile compounds of kiwi was effective by the use of HS-SPME/CG-MS, allowing to identify that the predominant chemical class in this fruit is represented by esters.

Keywords: *Actinidia deliciosa*; Volatile compounds; Solid phase microextraction; GC/MS.

Resumen

El fruto de kiwi (*Actinidia deliciosa*) posee mayor importancia comercial entre las 70 especies del género *Actinidia*. Cuando está maduro, el kiwi produce un conjunto de compuestos volátiles que conforman el aroma característico y el sabor dulce de la variedad *Actinidia deliciosa*, siendo muy apreciados por la población. El presente estudio tuvo como objetivo detectar los compuestos volátiles en muestras de un cultivo comercial de kiwi utilizando la microextracción en fase sólida en modo de espacio de cabeza (HS-SPME) combinada con la cromatografía de gases junto con la espectrometría de masas (CG/MS). Mediante este método, fueron encontrados 10 compuestos volátiles, pertenecientes a las clases químicas de los alcoholes, aldehídos, ésteres, terpenos y cetonas. Los ésteres representaron la clase química predominante, correspondiente al 57,10% de la composición relativa de los compuestos volátiles identificados. Se concluye que la caracterización de los compuestos volátiles del kiwi fue efectiva mediante el uso de HS-SPME/CG-MS, permitiendo identificar que la clase química predominante en esta fruta está representada por ésteres.

Palabras clave: *Actinidia deliciosa*; Compuestos volátiles; Microextracción en fase sólida; CG/MS.

1. Introdução

O gênero *Actinidia* engloba mais de 70 espécies de plantas, mas apenas algumas são de importância comercial como a *Actinidia deliciosa*. Essa espécie é de origem chinesa e o nome do seu fruto, kiwi, resultou da associação de sua casca aveludada e cor castanha com a cor de um pássaro noturno, não voador, natural da Nova Zelândia (Iensen et al., 2013). O kiwi possui numerosos pêlos no epicarpo, polpa verde, sabor doce e ácido, e também apresenta altos teores de vitamina C, potássio, magnésio, fibras e ácido fólico (Garcia et al., 2012).

O kiwi é cultivado em áreas de clima temperado, localizadas em latitudes entre 25° e 45°, sendo a China, Itália, Nova Zelândia, Chile e Grécia os maiores produtores do mundo (Garcia et al., 2012). No Brasil, o kiwi é cultivado nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Minas Gerais e nas regiões serranas do Espírito Santo (Iensen et al., 2013). O total estimado de vendas anuais desse fruto excede 10 bilhões de dólares em todo o mundo (Wu et al., 2019). Segundo Tang et al. (2017), a área de cultivo do kiwi na China é superior a 0,24 milhão de hectares com produção anual em torno de 1,8 milhões de

toneladas. Já no Brasil, os quivizais ocupam a um tamanho médio de 2,16 hectares com produtividade média de 15,1 toneladas por hectare e as variedades mais cultivadas, em ordem decrescente são: ‘Elmwood’, ‘Bruno’, ‘Golden King’, ‘MG06’, ‘Month’, ‘Farroupilha’ e ‘Yellow King’ (Silveira et al., 2015).

Quando maduro, o kiwi produz um conjunto de compostos orgânicos voláteis que são basicamente pertencentes às classes dos aldeídos e ésteres (Mitalo et al., 2019). O aroma característico e o sabor doce da variedade *Actinidia deliciosa* são muito apreciados pela população (Garcia et al., 2012). Segundo Felipe e Bicas (2017), o aroma de cada alimento é constituído a partir do conjunto dos compostos voláteis por meio da concentração ou combinação destes.

A extração dos compostos voláteis dos frutos pode ser realizada pelo emprego da microextração em fase sólida no modo *headspace* (HS-SPME). A SPME foi desenvolvida por Arthur e Pawlczyn em 1990, sendo considerada uma extração em fase sólida em miniatura. Neste método, os processos de extração e pré-concentração dos analitos acontecem em microescalas, baseando-se em um procedimento de equilíbrio entre as fases aquosa da amostra, polimérica da fibra SPME e gasosa do *headspace* do frasco (Arthur & Pawlczyn, 1990; Toffoli & Lanças, 2016). As vantagens desse método de extração estão associadas ao seu baixo custo analítico, simplicidade, ausência de solventes e pela alta capacidade de adsorção de diferentes classes de compostos resultante dos diversos tipos de revestimentos das fibras SPME (Silva et al., 2019).

O objetivo deste estudo foi caracterizar os compostos voláteis presentes no fruto kiwi por microextração em fase sólida no modo *headspace* combinada com a cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas quadrupolo.

2. Metodologia

Os frutos maduros de kiwi foram adquiridos em supermercado na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais. Para a extração HS-SPME utilizou-se fibra Polidimetilsiloxano/Divinilbenzeno (PDMS/DVB – 65 µm) da marca Sigma Aldrich (São Paulo, SP, Brasil).

2.1 Preparo das amostras

Os frutos adquiridos foram transportados para o Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). As amostras foram lavadas em água corrente e sanitizadas em solução de hipoclorito de sódio (200 mg L^{-1}) por 15 min com posterior enxague em água corrente. Após essa etapa, os frutos foram descascados e a polpa homogeneizada utilizando-se um mixer (Arno, São Paulo, Brasil) sendo, posteriormente, armazenada em frascos com fechamento hermético em freezer a $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h.

2.2 Extração dos compostos voláteis

A extração dos compostos voláteis da polpa de kiwi foi realizada conforme procedimento descrito por Silva et al. (2019), utilizando a HS-SPME. Para isso, 0,5 g da amostra foi transferido para frascos de 20 mL, os quais foram fechados com lacre de alumínio e septo de borracha. Em seguida, estes frascos foram colocados em blocos de aquecimento de alumínio (8,5 cm x 10 cm) que estavam sobre uma placa de aquecimento e a fibra foi inserida e exposta nos mesmos para a adsorção das substâncias voláteis. As condições de extração empregadas consistiram em um pré-aquecimento de 5 min da amostra à $60 \text{ }^\circ\text{C}$, em seguida a fibra foi exposta por 12 min para adsorção dos compostos voláteis.

Após a adsorção dos compostos voláteis pela HS-SPME, a fibra foi introduzida diretamente no injetor do cromatógrafo gasoso com detector de espectrometria de massas (CG/MS para a partição e identificação das substâncias extraídas.

2.3 Identificação dos compostos voláteis

A análise das substâncias voláteis foi realizada utilizando cromatógrafo a gás (Trace GC Ultra) acoplado a um espectrômetro de massas (Polaris Q) da Thermo Scientific (San Jose, CA), com analisador do tipo “ion-trap” com injetor *split/splitless*, no modo *splitless*. A temperatura do injetor foi $250 \text{ }^\circ\text{C}$ com dessorção de 5 min, temperatura da fonte de íons de $200 \text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura da interface de $275 \text{ }^\circ\text{C}$. O hélio foi usado como gás de arraste a um fluxo de 1 mL min^{-1} e os compostos orgânicos voláteis foram separados utilizando uma coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano), $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ }\mu\text{m}$ (Agilent Technologies INC, Alemanha). O aquecimento inicial do forno foi de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5

min, sendo aumentado $2,5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $125\text{ }^{\circ}\text{C}$ e, posteriormente, $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $245\text{ }^{\circ}\text{C}$ e mantidos por 3 min.

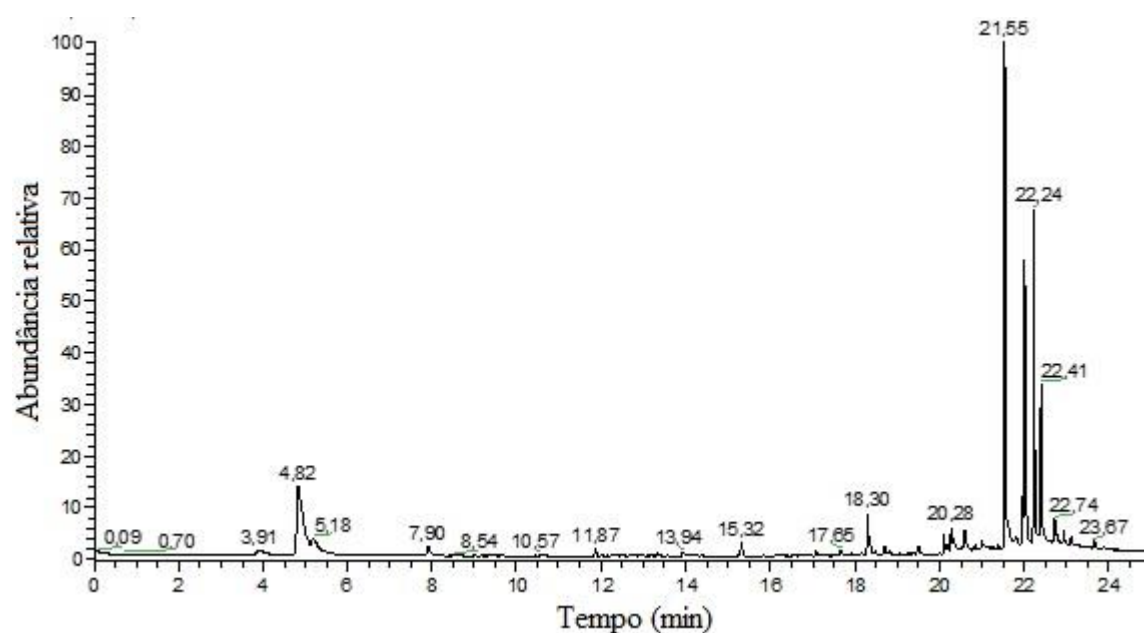
A aquisição dos dados ocorreu no modo *FullScan* com faixa de 50 a 350 *m/z*, obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), a uma energia de 70 eV. O *software* Xcalibur versão 1.4 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) foi utilizado para a coleta dos dados.

A identificação foi realizada por meio da comparação dos dados obtidos com os disponíveis na Biblioteca NIST (*National Institute of Standards and Technology*) e nos estudos de Zhuang (et al., 2019), Mitalo et al. (2019), Rondan-Sanabria et al. (2019) e Santoni et al. (2013).

3. Resultados e Discussão

O cromatograma contendo os compostos voláteis da amostra de kiwi, obtido por meio da HS-SPME/CG-MS, está representado na Figura 1.

Figura 1. Cromatograma de amostra de kiwi utilizando a HS-SPME/CG-MS.



Fonte: Autores.

Foram encontrados no total 10 compostos voláteis de diferentes classes químicas, entre eles, álcoois, aldeídos, ésteres, terpenos e cetonas (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos voláteis encontrados no kiwi pelo emprego da HS-SPME/CG-MS.

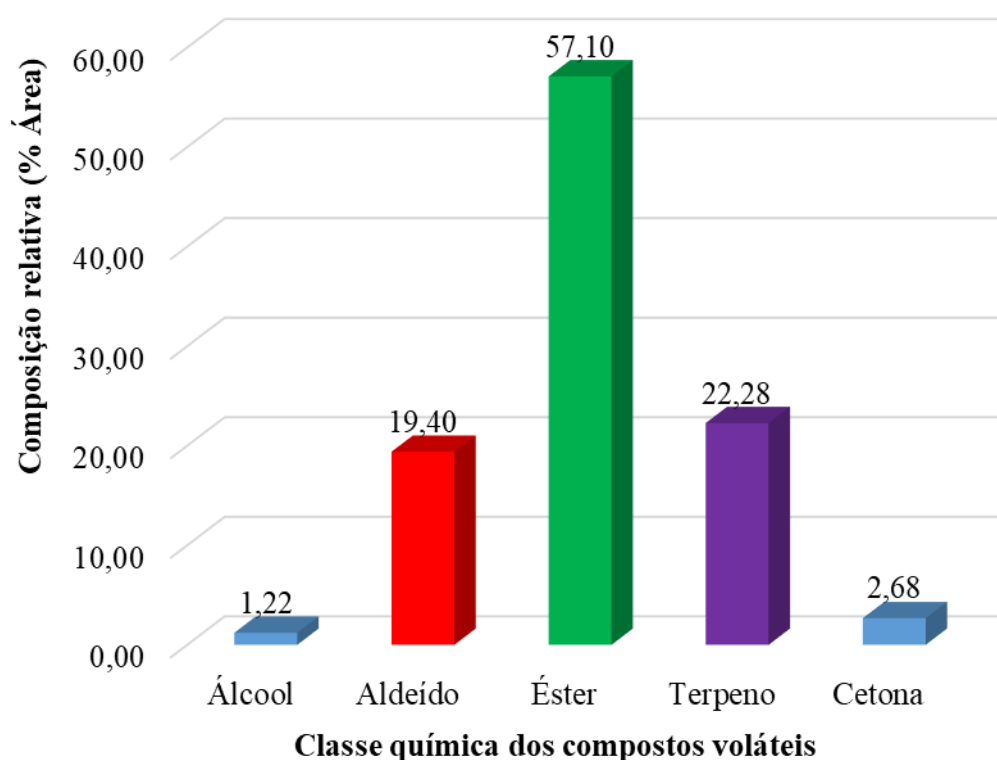
Nº	TR	Composto volátil	CAS	Fórmula Molecular	Classe química
1	3,91	2-Hexen-1-ol	928-94-9	C ₆ H ₁₂ O	Álcool
2	4,82	2-Hexenal	6728-26-3	C ₆ H ₁₀ O	Aldeído
3	5,18	Decanal	112-31-2	C ₁₀ H ₂₀ O	Aldeído
4	7,91	Hexanoato de etila	123-66-0	C ₈ H ₁₆ O	Éster
5	13,33	3-Careno	13466-78-9	C ₁₀ H ₁₆	Monoterpeno
6	17,09	Óxido de cariofileno	1139-30-6	C ₁₅ H ₂₄ O	Sesquiterpeno
7	17,65	Ledol	577-27-5	C ₁₅ H ₂₆ O	Sesquiterpeno
8	20,28	Ionona	8013-90-9	C ₁₃ H ₂₀ O	Cetona
9	21,52	Salicilato de metila	89-46-3	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	Éster
10	22,24	Longipineno	5989-08-2	C ₁₅ H ₂₆	Sesquiterpeno

TR = Tempo de Retenção. Fonte: Autores.

Sabe-se que o aroma de cada alimento pode ser proveniente de uma única molécula ou da combinação de vários compostos voláteis. Os componentes da classe éster são uma parte importante do aroma característico do kiwi maduro, tais como, o hexanoato de etila que é conhecido pelo seu odor doce frutado (Bicas et al., 2011; Carvalho et al., 2014; Felipe & Bicas, 2017; Zhuang et al., 2019; Mitalo et al., 2019). Considerando compostos de outras classes químicas presentes neste fruto, o aldeído 2-hexenal possui odor de folha verde enquanto o terpeno óxido de cariofileno apresenta odor amadeirado (Kunishima et al., 2016).

Considerando a composição relativa das classes químicas encontradas no kiwi, os ésteres foram predominantes (57,10%), seguido dos terpenos com 22,28%, dos aldeídos com 19,40% e por último os álcoois com apenas 1,22% (Figura 2). A abundância de ésteres em frutos é muito comum e relatada por vários autores em estudos sobre perfis de substâncias voláteis de diversos frutos (Rondan-Sanabria et al., 2019).

Figura 2. Área relativa (%) das classes químicas dos compostos voláteis identificados no kiwi empregando a HS-SPME/CG-MS.



Fonte: Autores.

No estudo realizado por Mitalo et al. (2019), utilizou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para avaliação do perfil dos compostos orgânicos voláteis do kiwi durante seu amadurecimento quando submetido a alguns tratamentos, tais como, o armazenamento em baixa temperatura (5 °C) e o emprego de um análogo do etileno (propileno) e de um inibidor da ação do etileno (1-metilciclopropeno). Os principais compostos voláteis detectados também foram da classe dos ésteres, contudo, essas substâncias foram diferentes quando comparadas à presente pesquisa. Mitalo et al. (2019) identificaram os ésteres butanoato de etila e butanoato de metila, enquanto no presente estudo foram encontrados o hexanoato de etila e o salicilato de metila.

Em um estudo realizado por Zhuang et al. (2019), os compostos voláteis de três cultivares de kiwis (Juntai, Jintão e Maohua) coletados na cidade de Wuhan localizada na China foram avaliados por CG/MS. Os autores identificaram 20 substâncias voláteis, das quais o acetaldeído, o etanol e o furfural foram os principais compostos encontrados nos três tipos de kiwis, os quais não foram encontrados no presente estudo.

Santoni et al. (2013) avaliaram o efeito de parâmetros de cultivo sobre alguns compostos voláteis do kiwi (hexanal, 2-hex-enal, hexan-2-ol, butirato de etila e hexanol), tendo observado que o teor dessas substâncias diminuiu com o período de armazenamento. No presente estudo, o (*E*) 2-Hexenal foi um composto encontrado similar ao relatado por Santoni et al. (2013), e este autor o descreve com um aroma herbáceo e de amêndoa.

Notaram-se diferenças entre os compostos voláteis do kiwi encontrados nos estudos disponíveis na literatura. Sabe-se que diversos fatores podem influenciar o perfil de substâncias voláteis dos frutos, dentre eles, a variedade do fruto e seu grau de maturação, o manuseio pré e pós-colheita, a temperatura empregada no armazenamento, além das condições analíticas como os parâmetros de extração dos compostos (Jiang & Song, 2010).

4. Considerações Finais

O método HS-SPME/GC-MS mostrou-se eficiente para a extração e identificação dos compostos voláteis das amostras de kiwi. Foram identificadas 10 compostos voláteis pertencentes à classes químicas dos álcoois, aldeídos, cetonas, terpenos e ésteres. Os ésteres representam a classe química predominante, correspondendo a 57,10% da composição relativa dos compostos voláteis identificados.

Deste modo, sugere-se pesquisas futuras avaliando a estabilidade dos compostos voláteis presentes na polpa de kiwi após a sua utilização como ingrediente em produtos alimentícios.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Referências

Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19), 2145-2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>

Bicas, J. L., Molina, G., Dionísio, A. P., Barros, F. F. C., Wagner, R., Maróstica JR, M. R., & Pastore, G. M. (2011). Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. *Food Research International*, *44*, 1843-1855. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.012>

Carvalho, D. S., Bogusz Junior, S., Dionisio, A. P., Maróstica Junior, M., Godoy, H. T., & Pastore, G. M. (2014). Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions to determine fruity-aroma compounds produced by *Neurospora sitophila*. *Analytical Methods*, *6*, 7984-7988. <https://doi.org/10.1039/C4AY01111B>

Felipe, L. O., & Bicas, J. L. (2017). Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*, *39*(2), 120-130. <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>

Garcia, V. C., Quek, S. Y., Stevenson, R. J., & Winz, R. A. (2012). Kiwifruit flavour: A review. *Trends in Food Science & Technology*. New Zealand, *24*, 82-91. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.012>

Iensen, D., Santos, I. V., Quast, E., Quast, L. B., & Raupp, D. S. (2013). Desenvolvimento de Geleia de Kiwi: Influência da Polpa, Pectina e Brix na Consistência. *UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde*, *15*, 369-375. <https://revista.pgsskroton.com/index.php/JHealthSci/article/view/575>

Jiang, Y., & Song, J. (2010). *Fruits and Fruit Flavor: Classification and biological characterization*. In: Hui, Y. H. Handbook of fruit and vegetable flavors. New Jersey: John Wiley & Sons, 3-23.

Kunishima, M., Yamauchi, Y., Mizutani, M., Kuse, M., Takikawa, H., & Sugimoto, Y. (2016). Identification of (Z)-3:(E)-2-isomerases essential to the production of the leaf aldehyde in plants. *Journal of Biological Chemistry*, *291*, 14023-14033. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.726687>

Mitalo, O. W., Tokiwa, S., Kondo, Y., Otsuki, T., Galis, I., Suezawa, K., Doan, A. T., Nakano, R., Ushijima, K. K., & Kubo, Y. (2019). Low temperature storage stimulates fruit softening and sugar accumulation without ethylene and aroma volatile production in kiwifruit. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00888>

Rondan-Sanabria, G. G., Garcia, A. J. C., Montaña, H. S. P., Arias, E. C. S., & Narain, N. (2019). Compostos voláteis da acerola (*Malpighia emarginata*) obtidos por HS-SPME em dois estágios de maturação. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(1), 266-274. <https://doi.org/10.19084/RCA18065>

Santoni, F., Barboni, T., Paolini, J., & Costa, J. (2013). Influence of cultivation parameters on the composition of volatile compounds and physico-chemical characteristics of kiwi fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3):604-610. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5850>

Silva, M. R., Bueno, G. H., Araújo, R. L. B., Lacerda, I. C. A., Freitas, L. G., Morais, H. A., & Melo, J. O. F. (2019). Evaluation of the influence of extraction conditions on the isolation and identification of volatile compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica*) using HS-SPME/GC-MS. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(2), 379-387. <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180187>

Silveira, S. V., Garrido, L. R., Gava, R., Santos, R. S. S., Nickel, O., Lazzarotto, J. J., & Fiovaranço, J. A. (2015). Diagnóstico do Sistema de Produção do Quivi em Pomares de Farroupinha/RS: Principais Demandas. Bento Gonçalves: *Embrapa Uva e Vinho*, 93, 1-53. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/130724/1/Doc93.pdf>

Tang, P., Zhang, Q., & Yao, X. (2017). Comparative transcript profiling explores differentially expressed genes associated with sexual phenotype in kiwifruit. *Plos One*. 1, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00888>.

Toffoli, A. L., & Lanças, F. M. (2016). Recentes avanços da microextração em fase sólida no tubo (in-tube SPME) e sua aplicação em análises ambientais e alimentícias. *Scientia Chromatographica*, 7(4), 297-315. <http://dx.doi.org/10.4322/sc.2016.011>

Wu, H., Ma, T., Kang, M., Ai, F., Zhang, J., Dong, G., & Liu, J. (2019). A high-quality *Actinidia chinensis* (kiwifruit) genome. *Horticulture Research*, 6(117), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41438-019-0202-y>

Zhuang, Z., Chen, M., Niu, J., Qu, N., Ji, B., Duan, X., Liu, Z., Liu, X., Wang, Y., & Zhao, B. (2019). The manufacturing process of kiwifruit fruit powder with high dietary fiber and its laxative effect. *Molecules*. China, 24(21), 1-14. <https://doi.org/10.3390/molecules24213813>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Drielle Alves da Assunção – 20%

Beatriz Gomes Pinto – 15%

Ana Cláudia Duarte Leal – 15%

Rodinei Augusti – 10%

Júlio Onésio Ferreira Melo – 10%

Sabrina Alves Ramos – 10%

Mauro Ramalho Silva – 10%

Michely Capobiango – 10%