



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS**  
**PRO-REITORIA DE POS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AIRLA CARLA PIRES DE SIQUEIRA**

**PERFIL VOLÁTIL DAS TANGERINAS MURCOTT (*Citrus*  
*reticulata* x *Citrus sinensis*) E PONKAN (*Citrus reticulata* BLANCO)  
POR SPME E SBSE.**

**SÃO CRISTÓVÃO**

**2019**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE – UFS  
PRO-REITORIA DE POS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**AIRLA CARLA PIRES DE SIQUEIRA**

**PERFIL VOLÁTIL DAS TANGERINAS MURCOTT (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) E PONKAN (*Citrus reticulata* BLANCO)  
POR SPME E SBSE.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Narendra Narain

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Terezinha Santos Leite Neta

**São Cristóvão/SE**

**2019**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S618p

Siqueira, Airla Carla Pires de

Perfil volátil das tangerinas murcott (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) e ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) por SPME e SBSE / Airla Carla Pires de Siqueira ; orientadora Narendra Narain. – São Cristóvão, SE, 2019.

75 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Tangerinas – Ponkán - Murcott. 3. Compostos voláteis. I. Narain, Narendra, orient. II. Título.

CDU: 664.8.03:634.322

**AIRLA CARLA PIRES DE SIQUEIRA**

**PERFIL VOLÁTIL DAS TANGERINAS MURCOTT (*Citrus reticulata* x  
*Citrus sinensis*) E PONKAN (*Citrus reticulata* BLANCO) POR SPME E SBSE.**

Dissertação de mestrado aprovada no  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos em 27 de  
fevereiro de 2019.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Narendra Narain  
Orientador/ PROCTA - UFS

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana  
Examinador Interno/PROCTA-UFS

---

Dr<sup>a</sup>. Maria Terezinha Santos Leite Neta  
Examinador Externo/LAF-UFS

São Cristóvão/SE  
2019

**AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a DEUS por ter, antes mesmo do meu nascimento, planejado todo o meu caminho. Sua Onipresença em todos os momentos me dão a certeza da sua Fidelidade.

Aos meus pais (Siqueira e Agelisa) e irmã Andressa, pelos momentos de amor, carinho e diversão e por sempre estarem torcendo por mim, apoiando e dando suas opiniões realistas e construtivas.

Ao meu querido esposo, Jonh Paulo, pelo amor, carinho, paciência e incentivo. Apostando em mim sempre mesmo quando eu não acreditava mais.

À meu orientador Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>o</sup> Narendra Narain, pela confiança, orientação e paciência ao decorrer da realização deste trabalho.

A minha co-orientadora Dr<sup>a</sup> Maria Terezinha pela confiança, disponibilidade, dedicação e incentivo primordiais na realização deste trabalho. Sem seu auxílio eu não teria chegado até aqui. Muito obrigada!!

Aos membros da banca examinadora pelo aceite e contribuições a este trabalho.

Aos meus companheiros do LAF-GC, Mônica, Rafael, Hannah, Raquel e Júnior pelos auxílios durante a realização do trabalho e pelos momentos de carinho e descontração.

Aos meus colegas de laboratório, Juliete, Elizabeth, Augusto, Cecília e Najara pelas experiências trocadas.

A toda equipe do Laboratório de Análise de Flavor e do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela contribuição direta ou indireta em meu trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

OBRIGADA!

“Não to mandei eu? Esforça-te, e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o SENHOR teu Deus é contigo, por onde quer que andares.”

(Josué 1:9)

SIQUEIRA, A. C. P. Perfil Volátil das Tangerinas Murcott (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) E Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) por SPME E SBSE. São Cristóvão: Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Sergipe; 2019.

## RESUMO

O Brasil é o maior produtor de frutas cítricas, sendo elas os principais produtos da cadeia de exportação agroindustrial. O cultivo das tangerinas ocupa a segunda posição entre os cítricos mais produzidos no país e possui a maior faixa de adaptação climática uma vez que são plantas flexíveis as variações da temperatura ambiente. O consumo da tangerina é muito apreciado pelo brasileiro na sua forma *in natura*, tendo um predomínio refrescante e um grande valor nutricional, já que é rica em vitaminas e fibras. Existem diversas variedades de tangerina ao redor do mundo, sendo as duas mais consumidas as variedades “Ponkan” e “Murcott”. No entanto, não foram encontrados trabalhos que apresentassem as diferenças nas composição volátil dessas variedades. Assim sendo, o objetivo desse trabalho foi analisar e identificar os compostos voláteis da polpa de duas variedades de Tangerina: Ponkan e Murcott *in natura* por cromatografia gasosa por meio das técnicas SPME (*Solid Phase Micro-Extraction*) e SBSE (*Stir Bar Sorptive Extraction*); percebendo assim as diferenças aromáticas entre elas. A extração da polpa foi feita de frutos maduros das duas variedades. Foram realizadas as análises químicas: umidade, cinzas, lipídeos, pH, proteínas, acidez total e sólidos solúveis, segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. A determinação dos compostos voláteis foi realizada pela técnica de SPME (e SBSE utilizando duas fases de “twisters”: PDMS (*Polydimethylsiloxane*) e EG-Silicone (*Polyethylenglycol*). Sendo utilizada a data base do NIST (*National Institute of Standards and Technology*) e o índice de retenção para a identificação dos compostos. As polpas de ponkan e murcott apresentaram diferenças significativamente entre si para os parâmetros de pH, acidez, teor de sólidos solúveis, lipídeos, cinzas, ratio e umidade, sendo similares para cada variedade em outros trabalhos da literatura. Para as análises de compostos voláteis, foram identificados por SPME 52 e 67 compostos, respectivamente, sendo os compostos de maior área o D-limoneno (69,837%) e  $\gamma$ -terpineno (10,792%) para a Ponkan e D-linomeno (90,17%) para a Murcott. A técnica de SBSE extraiu para o twister PDMS com a tangerina ponkan 68 e 102 compostos, nos modos submerso e “headspace”, respectivamente. Enquanto que para a variedade murcott foram identificados 52 e 34 compostos, nos modos submerso e headspace, respectivamente. Para os twisters com fase EG-silicone a quantidade de compostos foi menor em decorrência da menor afinidade da fase com os compostos extraídos.

Os compostos em maior presença detectados pela técnica de SBSE foram o D-limoneno (45-75%), linalol (10-25%) e  $\alpha$ -terpineol (2-10%) para todos os twisters nas duas variedades de tangerina. Concluiu-se diante desse trabalho que a técnica mais eficiente foi a SBSE com a fase extratora PDMS, pois teve uma boa recuperação dos compostos voláteis, principalmente na variedade da Ponkan.

**Palavras-chave:** Ponkan. Murcott. Compostos Voláteis. SBSE. SPME.

SIQUEIRA, A. C. P. Volatile Profile of Tangerines Murcott (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) And Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) By SPME and SBSE. São Cristóvão: Postgraduate Program in Food Science and Technology, Federal University of Sergipe, 2019.

## ABSTRACT

Brazil is the largest producer of citrus fruits, being the main products of the agroindustrial export chain. The cultivation of powdered fruit is a second blend between citrus and flexible varieties such as room temperature. The consumption of tangerine is much appreciated by Brazilians in its fresh form, having a refreshing predominance and a great nutritional value, since it is rich in vitamins and fibers. There are different varieties of tangerine around the world, being two popularly consumed varieties of Ponkan and Murcott. However, no papers have been published that analyzed the volatile constituents of fruits of these varieties. Thus, this work was undertaken to determine the volatile compounds of the pulp of two varieties of tangerine: Poncán and Murcott by gas chromatography using the SPME (*Solid Phase Micro-Extraction*) e SBSE (*Stir Bar Sorptive Extraction*). Pulp extraction was carried out from mature fruits of the two varieties. The chemical analyses were performed for moisture, ash, lipids, pH, proteins, total acidity and soluble solids, according to the analytical norms of the Adolfo Lutz Institute. Two volatiles extraction procedures were by the SPME and SBSE technique using two phases of twisters (PDMS and EG silicone). A National Institute of Standards and Technology (NIST) database was used for the identification of the compounds. The two pulps differed in pH, acidity, solids content, lipids, ash, ratio and moisture. For the analysis of volatiles, 52 and 67 compounds were identified by SPME with the largest area of D limonene (69.837%) and  $\gamma$ -terpinene (10.792%) for Ponkan and D-linomeno (90.17% for a Murcott The SBSE technique extracted by using twister PDMS with a tangerine and 68 and 102 compounds in the submerged and headspace modes, respectively. The highest concentrations of volatile compounds detected by the SBSE technique were D-limonene (45-75%), linalool (10-25%), and  $\alpha$ -terpineol (2-10%) for all twisters in the two mandarin varieties. It was concluded that the work of a more efficient technique was a SBSE with a PDMS extraction phase, for a good recovery of volatile compounds, mainly in the Ponkan variety.

**Keywords:** Ponkan. Murcott. Volatile Compounds. SBSE. SPME

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b> Produção Mundial de tangerinas, 2002.....	20
<b>Figura 2-</b> Produção de Tangerinas no Brasil.....	21
<b>Figura 3-</b> Tangerina Ponkan .....	22
<b>Figura 4-</b> Tangerina Murcott.....	20
<b>Figura 5-</b> Esquema geral de um cromatógrafo a gás.....	26
<b>Figura 6-</b> Dispositivo de SPME com detalhes da técnica de extração.....	28
<b>Figura 7-</b> Métodos de extração por SPME: extração direta (esquerda) e extração indireta (direita). .....	29
<b>Figura 8-</b> Modos de extração na técnica de SBSE: a) imerso e b) Headspace.....	30
<b>Figura 9-</b> Fluxograma experimental.....	30
<b>Figura 10-</b> Gráfico de número de compostos extraídos por técnica de separação .....	53
<b>Figura 11-</b> Recuperação das classes de compostos de aroma para a técnica de SPME. ....	50
<b>Figura 12-</b> Recuperação das classes de compostos de aroma para a técnica de SBSE. ....	51
<b>Figura 13-</b> Recuperação dos compostos de aroma para a variedade Ponkan.....	56
<b>Figura 14-</b> Recuperação dos compostos de aroma para a variedade Murcottt .....	57

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Caracterização química das tangerinas Ponkan e Murcott.....	34
<b>Tabela 2-</b> Compostos voláteis identificados nas tangerinas Ponkan e Murcott por SPME.....	36
<b>Tabela 3-</b> Compostos voláteis identificados na tangerina Ponkan e Mucrott por SBSE/PDMS-Submerso e Headspace.....	40
<b>Tabela 4-</b> Compostos voláteis identificados nas tangerinas Ponkan e Murcott por SBSE/EG-Silicone-Submerso e Headspace.....	46

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

**SPME** - Solid Phase Micro-Extraction.

**SBSE** - Stir Bar Sorptive Extraction

**HSSE** – Head Space Sorptive Extraction

**EG-Silicone** - Polyethylenglycol

**PDMS** - Polydimethylsiloxane

**HS** – Head Space

**IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**IAL** – Instituto Adolfo Lutz

**NIST** - National Institute of Standards and Technology

**CEASA** – Centro de Abastecimento de Sergipe

**CEAGESP** - Centro de Abastecimento de São Paulo

**EMBRAPA** - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**CO<sub>2</sub>** – Dióxido de Carbono

**LC** – Cromatografia Líquida

**GC** – Cromatografia Gasosa

**PPT** – Partes por Trilhão

**IRL<sub>LIT</sub>** – Índice de Retenção Linear de literatura

**IRL<sub>CAL</sub>** – Índice de Retenção Linear Calculado

**NaOH** – Hidróxido de Sódio

**TDU** - Thermal Desorption Unit

**AOAC** - Association of Official Agricultural Chemists

**MS** –Mass Spectrum

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	Geral.....	18
2.2	Específicos.....	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1	Tangerina.....	19
3.1.1	Tangerina Ponkan.....	21
3.1.2	Tangerina Murcott.....	22
3.2	Aroma.....	23
3.3	Cromatografia a Gás.....	24
3.4	Extração dos compostos voláteis.....	26
3.4.1	SPME - <i>Solid Phase Micro Extraction</i> .....	27
3.4.2	SBSE - <i>Stir Bar Sorptive Extraction</i> .....	29
3.5	Identificação e quantificação de compostos voláteis.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1	Matéria-Prima.....	34
4.2	Métodos.....	35
4.2.1	Umidade.....	35
4.2.2	Cinzas.....	35
4.2.3	pH.....	35
4.2.4	Atividade de Água.....	35

4.2.5	Proteínas.....	35
4.2.6	Lipídeos.....	35
4.2.7	Sólidos Solúveis (°BRIX) .....	36
4.2.8	Acidez .....	36
4.2.9	Identificação da composição química e dos compostos .....	36
4.2.9.1	SBSE.....	36
4.2.9.2	SPME .....	37
4.10	Análises estatísticas.....	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	39
5.1.	Caracterização química das tangerinas Ponkan e Murcott.....	39
5.2.	Perfil volátil das tangerinas Ponkan e Murcott por SPME.....	40
5.3.	Perfil volátil das tangerinas Ponkan e Murcott por SBSE .....	42
5.3.1	Tangerina Ponkan e Murcott em PDMS – Headspace e Submerso .....	43
5.3.2	Tangerina Ponkan e Murcott em EG-Silicone – Submerso e Headspace.....	48
5.4.	Comparação entre as técnicas de SPME e SBSE.....	52
6	CONCLUSÃO .....	59
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção de 40 milhões de toneladas ao ano, mas participa com apenas 2% do comércio global do setor, o que mostra o forte consumo interno (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2010). A citricultura é o ramo que mais se destaca na fruticultura mundial, o que faz dos citros as frutas mais produzidas no mundo. O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas e o segundo maior de tangerinas (EPAMIG, 2016). Em 2009, as exportações do complexo citrícola totalizaram 2,15 milhões de toneladas de produtos, correspondendo a US\$ 1,84 bilhões em receita, representando a cerca de 3% das exportações do agronegócio brasileiro (NEVES *et al.*, 2010).

As tangerinas fazem parte do segundo grupo dos frutos mais importantes da citricultura mundial, com uma produção de 24 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2015) e ocupam uma extensa faixa de adaptação climática entre os citros cultivados, uma vez que são plantas semelhantemente tolerantes as temperaturas ambientes extremas. Entre as cultivares mais exploradas, ressaltam-se variedades do grupo das satsumas (*C. unshiu*), das mexericas (*C. deliciosa* Tenore), das reticulatas (*C. reticulata* Blanco), tais como a Ponkan, Dancy e Cravo, além de alguns híbridos distintos, como o tangor Murcott (*C. reticulata* x *C. sinensis*) e o tangelo Lee [*C. reticulata* x (*C. paradisi* Macf. x *C. reticulata*)] (FIGUEIREDO, 1991; PIO *et al.*, 2005). De todas as variedades encontradas nos pomares brasileiros, a tangerina Ponkan e o tangor Murcott são as de maior relevância, seguidas de Cravo e seleções de mexericas (BASTIANEL *et al.*, 2014).

A variedade Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) é uma das tangerinas mais populares e apreciadas pelos brasileiros para consumo *in natura*. Além de ser importante fonte de vitaminas e fibras, as tangerinas Ponkan vêm sendo reconhecidas por conterem metabólitos secundários incluindo antioxidantes como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides, limonoides que são importantes para a nutrição humana (JAYAPRAKASHA; PATIL, 2007).

A tangerina Murcott pertence à família Rutaceae e é um híbrido da tangerina (*Citrus Reticulata* Blanco) com laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osb.), apresenta algumas características apreciáveis como cor laranja profunda tanto na casca, quanto na polpa, bom tamanho e um gosto muito apreciado, resistência ao transporte, alto rendimento de suco e

potencial para industrialização (BORGES & PIO, 2003; DONADIO, 1999). Os frutos de tangerina apresentam 12,6° Brix, 0,92% de acidez e ratio médio de 13,7, representando 20% das tangerinas plantadas no Estado de São Paulo, sendo a segunda mais cultivada (PIO *et al.*, 2005).

O aroma apresenta-se como um dos atributos de qualidade mais pesquisados devido às inúmeras sensações olfativas geradas pelas distintas moléculas de uma fruta, sendo sua intensidade influenciada por diversos fatores pré e pós-colheita, bem como ponto de maturação, manipulação, variedade e outros fatores (WEI *et al.*, 2011). A caracterização do perfil aromático pode representar uma ferramenta útil para avaliar a qualidade organoléptica e garantir a autenticidade de um produto. Portanto, a identificação dos compostos voláteis que caracterizem e sejam adequados para diferenciar qualitativamente produtos alimentares de vários países e regiões, é um requisito crucial na regulamentação de produtos alimentícios aumentando assim a confiança do consumidor. Ésteres de ácidos carboxílicos são componentes de aromas naturais utilizados na indústria alimentícia que contribuem na formação e acentuação dos aromas em alimentos, como por exemplo os ésteres butirato de etila e acetato de isoamila que são encontrados respectivamente no morango e na banana (PASTORE *et al.*, 1997).

O aroma fresco e agradável da tangerina provém de uma combinação de diversos compostos voláteis. Ele não é tão bem conhecido como o da laranja, mas parece ser derivado de uma mistura de classes químicas, especialmente terpenos e terpenóides lipossolúveis (PÉREZ-LOPÉZ & CARBONELL-BARRACHINA, 2006). Apesar da existência de trabalhos acerca da determinação da composição volátil de diferentes variedades de tangerinas como, por exemplo, “W. Murcott Afourer”, Odem, Or, Ponkan e Murcott (OBENLAND *et al.*, 2011; OBENLAND *et al.*, 2013; BORGES & PIO, 2003;) não foram encontrados estudos que reportem através do perfil volátil as diferenças entre as variedades de tangerina utilizando diferentes técnicas de extração.

Diante do exposto sobre a importância dos citros na economia do Brasil, esse trabalho teve como objetivo estudar o perfil volátil de duas variedades da tangerina utilizando as técnicas de extração por SPME e SBSE. Embora existam trabalhos na literatura sobre o perfil volátil da tangerina por SPME, não foram encontrados trabalhos por SBSE e nem comparando as duas técnicas com as duas variedades usadas nessa pesquisa.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Analisar e identificar os compostos voláteis da polpa de duas variedades de Tangerina: Ponkan e Murcott *in natura* por cromatografia gasosa por meio das técnicas SPME e SBSE; percebendo assim as diferenças aromáticas entre elas.

### 2.2 Específicos

- Caracterizar físico-quimicamente as duas variedades de tangerina: Ponkan e Murcott;
- Extrair os compostos voláteis por SPME; e identificá-los utilizando como parâmetros por comparação o Banco de Dados do NIST e o índice de retenção da literatura;
- Extrair os compostos voláteis por SBSE, no modo submerso e headspace, utilizando o twister de fase PDMS; e identificá-los utilizando como parâmetros por comparação o Banco de Dados do NIST e o índice de retenção da literatura;
- Extrair os compostos voláteis por SBSE, no modo submerso e headspace, utilizando o twister de fase EG-silicone; e identificá-los utilizando como parâmetros por comparação o Banco de Dados do NIST e o índice de retenção da literatura;
- Avaliar qual a melhor fase do twister para extração de compostos voláteis das duas variedades de tangerina por SBSE;
- Avaliar qual a melhor técnica de extração dos compostos voláteis das duas variedades de tangerina;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Tangerina

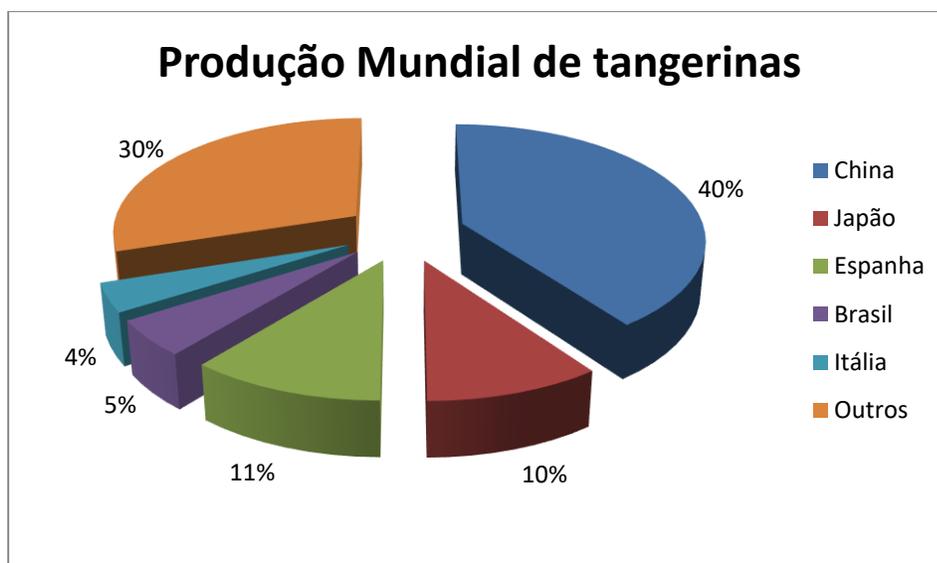
As frutas cítricas são originárias principalmente das regiões subtropicais e tropicais do sul e sudeste da Ásia, incluindo áreas da Austrália e África. Foram levadas para a Europa na época das Cruzadas e chegaram ao Brasil trazidas pelos portugueses, no século XVI (DIRCEU JUNIOR, 2005). O gênero *Citrus* spp. pertence à família Rutaceae, subfamília Aurantioideae, tribos Citreae, subtribo Citrinae, com mais 12 gêneros (SWINGLE, 1943; SWINGLE & REECE, 1967), os quais têm seus prováveis centros de origem na Ásia. Espécies desse gênero e outras correlacionadas manifestam compatibilidade genética, produzindo híbridos que, muitas vezes, foram caracterizados como espécies puras (SWINGLE & REECE, 1967).

A citricultura é o ramo que mais se evidencia na fruticultura mundial, o que faz dos citros as frutas mais produzidas no mundo. O cultivo dos citros foi introduzido no Brasil ainda no período colonial, e desde então passou a ter grande importância nos hábitos de consumo da população brasileira (COUTO *et al.*, 2010). Os frutos cítricos são não climatéricos, pobres em reservas de amido, sofrendo poucas mudanças na qualidade interna durante o armazenamento. O armazenamento, normalmente, reduz os ácidos acumulados convertendo-os a açúcares e CO<sub>2</sub> usados na respiração (DAVIES & ALBRIGO, 1994).

Sendo considerado o quarto maior produtor mundial de tangerinas, o Brasil tem aproximadamente 52 mil hectares plantados e produção anual aproximada de 960 mil toneladas e os maiores estados produtores são: São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Minas Gerais (FAO, 2016). O estado de São Paulo corresponde a 38% desta produção (TEIXEIRA *et al.*, 2014). Segundo dados da FAO (2016), o plantio da tangerina beneficia em torno de 26 mil empregos diretos no país, sendo considerado apenas a produção para o cultivo da fruta *in natura*, desempenhando um grande papel econômico e social. A localização geográfica do Brasil permite o desenvolvimento de uma citricultura tropical (predominância de temperaturas altas) a partir da linha do equador até as proximidades do paralelo 20, latitude sul (Espírito Santo) e, também, uma citricultura em temperaturas mais amenas, em terras que vão desde o paralelo 20 até o Rio Grande do Sul (EMBRAPA, 2007).

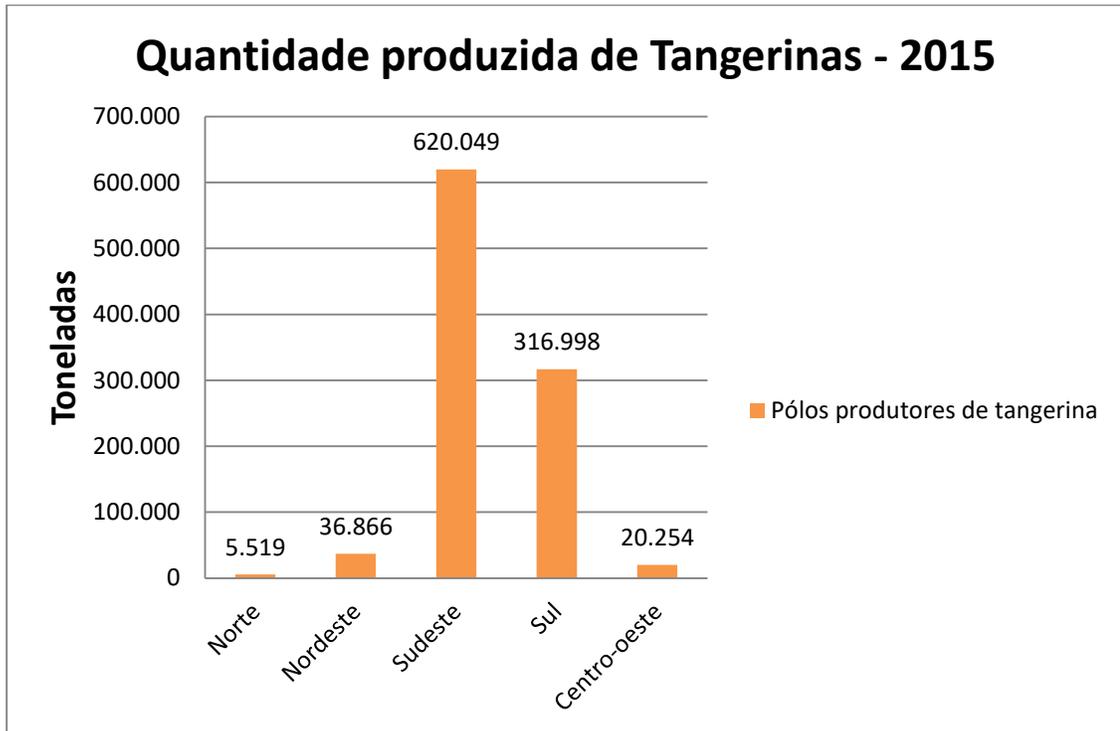
O Brasil é um dos maiores produtores de tangerina do mundo, ficando atrás da China, Espanha e Japão (Figura 1). No mercado nacional, a região sudeste o principal polo produtor e a região sul como o segundo polo produtor da fruta (Figura 2) (IBGE – Produção Agrícola Municipal, 2015).

**Figura 1-** Produção Mundial de tangerinas, 2002.



Fonte: Adaptação de Amaro & Caser (2003).

**Figura 2-** Produção de Tangerinas no Brasil



Fonte: IBGE (2015).

### 3.1.1 Tangerina Ponkan

A Ponkan é originária da Ásia (HODGSON, 1967), e constitui um dos grupos de tangerinas mais cultivada no mundo: China, Japão, Filipinas (Batangas) e Índia (Nagpur Suntara) e também é a mais popular no Brasil (SAUNT, 2000; PIO *et al.*, 2005). Suas árvores são de porte médio, com crescimento ereto, ricas mas têm uma disposição a variação na produção. Sua casca solta e o sabor doce torna seu consumo *in natura* bastante apreciada (PIO *et al.*, 2006).

A tangerina Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) pertencente à família das Rutáceas é considerada uma fruta pouco suculenta, aparentemente grande, de forma globulosa e achatada, com casca fina e pouco aderente, que assim como a polpa, apresenta coloração alaranjada (DETONI *et al.*, 2009). É a mais apreciada para o consumo *in natura*, por apresentar sabor agradável e facilidade de descascar (*easypeeler*), o que torna suas características externas muito importantes, como aparência, firmeza e ausência de defeitos (BASTIANEL, 2013; PIO *et al.*, 2001). Por ser uma fruta não climatérica, a tangerina Ponkan precisa ser colhida em estágio adequado de maturação. De acordo com Chitarra; Chitarra (2005), o estágio ótimo de maturação

de um fruto ocorre quando o conteúdo de açúcares e ácidos, bem como o volume de suco, apresentam composição desejável. A principal época de maturação se dá entre os meses de maio e junho. Os frutos da Ponkan apresentam de 5-8 sementes, peso médio de 138 g, 43% de rendimento em suco, 10,8° Brix, 0,85% de acidez e ratio médio de 12,7 (PIO *et al.*, 2005). São ricas em fibras, sais minerais como o potássio, cálcio, magnésio e fósforo e ainda o beta-caroteno aumentando a resistência às infecções. Aliada a uma dieta saudável, combate ao envelhecimento diminuindo os riscos de câncer e doenças cardiovasculares e neurodegenerativas bem como Alzheimer, pois contém compostos antioxidantes, que atuam na inativação dos radicais livres (PELISSARI, 2013).

Pio *et al.*, (2001), Costa (1994), Parente *et al.*, (1993), Ramalho (2005), estudaram a tangerina Ponkan na sua composição físico-química.

**Figura 3-** Tangerina Ponkan



### **3.1.2 Tangerina Murcott**

A tangerina Murcott pertence à família Rutaceae e é um híbrido da tangerina (*Citrus Reticulata* Blanco) com laranja doce (*Citrus sinensis* [L.] Osb.) que teve a origem em um pomar abandonado no Departamento de Agricultura dos Estados Unidos e que foi anunciado pela primeira vez por Charles Murcott Smith. Suas árvores e frutos possuem as características de uma tangerina típica: alto vigor, crescimento ereto e folhas lanceoladas entre outras (DAVIES & ALBRIGO, 1994). Os frutos da Murcott apresentam grande quantidade de sementes, em média 20, peso médio de 140 g, 48% de rendimento em suco, 12,6° Brix, 0,92% de acidez e ratio médio

de 13,7, tendo como destino o mercado de frutas frescas, interno e externo, como para a indústria (PIO *et al.*, 2005). Seu período produtivo é entre agosto e setembro.

**Figura 4-** Tangerina Murcott



### **3.2 Aroma**

O interesse por aromas não é uma novidade para o homem, pois relatos históricos afirmam que desde a época do antigo Egito já eram empregadas especiarias e seus derivados no preparo dos alimentos a milhares de anos (TRAJANO *et al.*, 2009).

Conforme a Resolução nº 104, de 14 de maio de 1999, os aromas por definição são substâncias ou misturas com propriedades odoríferas e/ou sápidas, capazes de conferir ou intensificar o aroma e/ou sabor dos alimentos e são classificados como naturais ou sintéticos. A sua presença está em quantidades pequenas na composição dos alimentos, bebidas, rações, cosméticos, remédios, e apresentam mais de um grupo químico como, álcoois, éteres, cetonas, ALDEÍDOS, ÉSTERES, FENÓIS (BRASIL, 2017).

O aroma é o domínio sensorial perceptível pelo órgão olfativo via nasal e retronasal. Os compostos voláteis dos alimentos se desprendem do alimento através da degustação e ativam os receptores no epitélio olfativo, localizado no dorso da cavidade nasal, no septo e nos turbinados superiores, estruturas ósseas que formam um fluxo aéreo turbulento, que permite a presença dos compostos voláteis pelas células olfativas (ARAÚJO *et al.*, 2011).

Segundo Paravinisi *et al.*, (2014), um dos principais impulsionadores da aceitação dos produtos alimentícios é o aroma representando assim um grande desafio para a indústria de alimentos.

O aroma e o sabor são alguns dos atributos de qualidade das frutas e de seus subprodutos mais estudados. Estes atributos são formados por uma mistura de diversas substâncias voláteis pertencentes a várias classes químicas presentes em quantidades reduzidas nos alimentos, que apresentam qualidades de aroma, intensidades e concentrações diferentes (BELO, 2009). O conhecimento da composição de voláteis associada às ferramentas sensoriais permite selecionar os compostos importantes para descrever a qualidade de um determinado fruto ou produto (DAMIANI, 2006).

Os compostos característicos do aroma são formados pela combinação de centenas de substâncias voláteis de baixo peso molecular conjunto aos mais tipos de classes de produtos químicos incluindo os álcoois, ésteres, cetonas, aldeídos e terpenos que podem ser derivados de ácidos graxos, aminoácidos e carotenóides (SCHWAB *et al.*, 2008).

O gosto do suco da tangerina é caracterizado pela presença de açúcares como a sacarose, glicose e frutose, ácidos cítrico, málico e succínico, além de fenólicos e limonóides que conferem o amargor e a adstringência (TIETEL *et al.*, 2011). Já o aroma fresco e agradável do suco de tangerina vem de uma combinação de diversos compostos voláteis, especialmente terpenos e terpenóides lipossolúveis (PÉREZ-LÓPEZ & CARBONELL-BARRACHINA, 2006).

### **3.3 Cromatografia a Gás**

A cromatografia foi inventada e denominada pelo botânico russo Mikhail Tswett no começo do século XX. Ela é uma técnica de fácil execução, onde baseia-se em um método de separação que encontra aplicação em todos os ramos da ciência. Ela foi aplicada para separar vários pigmentos de plantas como xantofila e clorofila, no qual as soluções desses componentes passaram por uma coluna de vidro empacotada com carbonato de cálcio suavemente dividido. Os compostos separados apareciam como bandas coloridas na coluna, o que ajudou para a escolha do nome do método (chroma: cor; graphien: escrever). A técnica de cromatografia de uma forma geral, pode ser aplicada para a identificação de compostos (comparação de compostos ou por

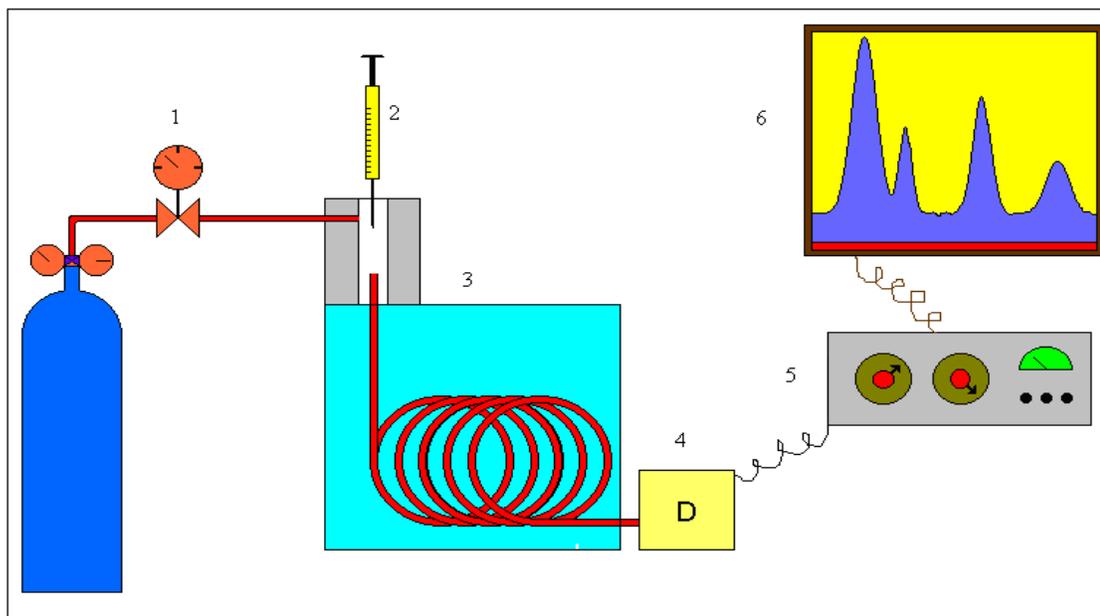
comparação com padrões previamente existentes), para a purificação (separação de substâncias indesejáveis) e para a separação de componentes de uma mistura (SKOOG, 2002).

A classificação dos métodos cromatográficos varia de acordo com a natureza da fase móvel e da fase estacionária. Assim, a cromatografia pode ser classificada em cromatografia gasosa (GC) quando a fase móvel é um gás e a fase estacionária pode ser líquida ou sólida; e em cromatografia líquida (LC) quando a fase móvel é um líquido e a fase estacionária é sólida (CASTANHO, 2011). A cromatografia a gás é uma técnica que permite acoplar diferentes detectores, possibilitando a análise de misturas complexas com rapidez, elevada resolução e sensibilidade. Além disto, as colunas usadas nesse tipo de cromatografia têm um elevado número de pratos teóricos o que permite uma alta eficiência e seletividade (CUNHA, 2007).

Na cromatografia a gás, as substâncias voláteis são levadas por um gás na coluna, se misturando com a fase estacionária (líquida ou sólida) que está ligada a um material sólido, como é mostrado da figura 5. Ao injetar um mistura de substâncias no cromatógrafo gasoso, cada componente pertencente à mistura pode se misturar e se distribuir entre o gás transportador (gás de arraste) e o adsorvente, de forma distinta. Essa interação, caso haja, permite que cada componente seja retirado na coluna em diferentes tempos e temperaturas, dando a oportunidade da separação e distinção de cada substância da mistura (PEREIRA, 2007).

A análise cromatográfica é sujeita a fase estacionária e ao método de análise utilizado, pois o tempo de retenção pode ser diferente para o mesmo composto variando estes fatores. Para a identificação correta do composto utiliza-se o índice de retenção que é baseado na análise de um padrão, normalmente uma série de alcanos. O índice mais utilizado é o índice de Kovats. Para análises com programação de temperatura, o índice mais adequado é o índice Aritmético, também chamado de índice Linear (ADAMS, 2007).

**Figura 5-** Esquema geral de um cromatógrafo a gás



1: regulador de fluxo; 2: injetor da amostra; 3: coluna; 4: Detector; 5: Amplificador do sinal; 6: Registro do sinal.

Atualmente, o preparo de amostras têm buscado métodos de extração que não utilizem solventes ou que pelo menos empregue apenas um volume reduzido dos mesmos. Uma nova técnica de extração empregando PMDS, denominada de *Stir Bar Sorptive Extraction* (extração sortiva em barras de agitação) foi recentemente criada por Baltussen e sua equipe (BALTUSSEN, 1999). O procedimento se dá da seguinte forma: Uma barra magnética é inserida na fase aquosa a ser analisada e a extração/concentração dos compostos de interesse ocorre durante o processo de agitação. Depois de algum tempo, a barra é removida da solução aquosa e os compostos são extraídos e logo depois analisados (BICCHI, 2000).

### **3.4 Extração dos compostos voláteis**

A etapa de extração da composição volátil de um alimento é muito complexa mas é considerada a mais importante. Qualquer aumento de temperatura, nessa etapa, pode causar reações ou rearranjos na composição original do aroma. Isso se deve as diferentes propriedades químicas que os aromas possuem como também a sua quantidade pequena presente na amostra. Existem várias técnicas de isolamento (headspace estático e dinâmico, extração e destilação

simultânea, *Purge and Trap*, SPME (*Solid Phase Micro Extraction*), SBSE (*Stir Bar Sorptive Extraction*), cujos procedimentos têm suas limitações, como tempo e temperatura, favorecendo a degradação e a perda dos compostos de interesse, além da introdução de artefatos. Devido a estes fatores, autores reportam o uso de técnicas específicas de extração dos compostos voláteis para as mais diferentes matrizes.

Das técnicas acima citadas para a extração dos compostos voláteis, as técnicas SPME E SBSE apresentam maior aplicação por apresentarem as seguintes vantagens: sensibilidade, especificidade, não utilização de solventes, pouco volume de amostra necessário e facilidade de extração dos compostos voláteis.

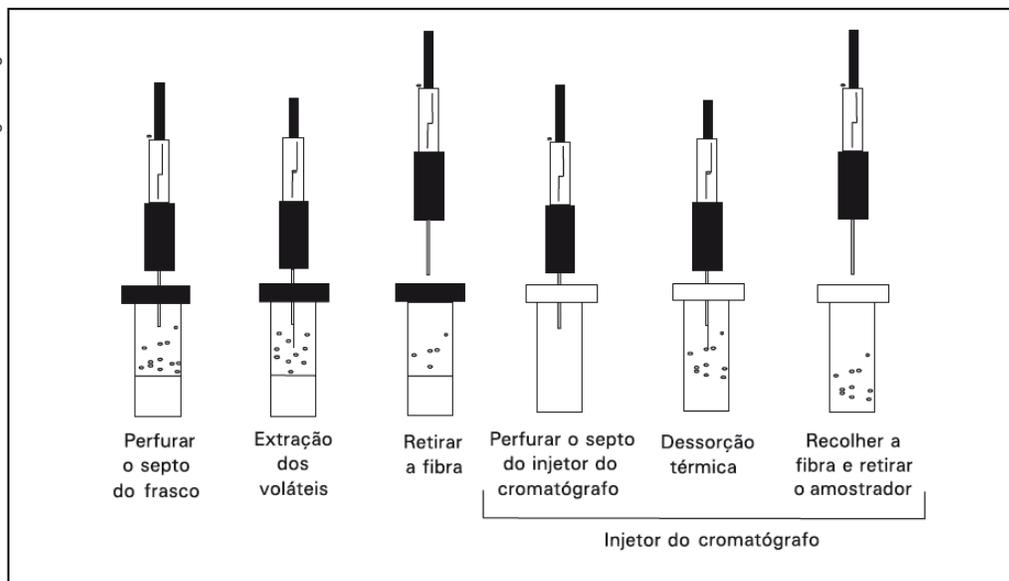
### **3.4.1 SPME - Solid Phase Micro Extraction**

A técnica de SPME (*Solid Phase Micro Extraction*) foi desenvolvida por Pawliszyn em 1997. Ela consiste na extração rápida, sendo de fácil utilização e que tem como vantagem adicional a aplicação direta do analito no cromatógrafo, utilizar pequeno volume de amostra, alta sensibilidade, além de que a injeção da amostra permanece livre de solventes e contaminantes (PAWLISZYN *et al.*, 1992; KATAOKA *et al.*, 2000; KOZIEL & NOVAK, 2002; VESELY *et al.*, 2003; DENG *et al.*, 2014). além disso, a SPME proporciona rapidez e praticidade na análise dos autênticos constituintes químicos de sabor da fruta (KATAOKA *et al.*, 2000).

A metodologia é baseada na técnica de sorção (absorção e/ou adsorção). A dessorção é realizada diretamente com a exposição no injetor aquecido de um cromatógrafo a gás, onde os analitos sofrem desorção térmica e são posteriormente analisados (ZHANG *et al.*, 2007; BOSH-FUSTÉA *et al.*, 2007). O método de SPME é uma ferramenta sensível e poderosa para a caracterização de compostos orgânicos voláteis em matrizes complexas (IBÁÑEZ *et al.*, 1998; HAYASAKA *et al.*, 2003). As primeiras publicações nessa área foram de Berardi & Pawliszyn (1989) e Arthur & Pawliszyn (1990). O sistema básico para SPME (Figura 6) consiste de um “holder”, um êmbolo e uma agulha de aço. Quando o êmbolo é deslocado para baixo, a haste metálica é exposta, e na extremidade dessa haste contêm a sílica recoberta pelo polímero com diferentes fases estacionárias, podendo ser polímero (polidimetilsiloxano - PDMS, poliacrilato - PA, divinilbenzeno - DVB ou carbowax - CW) ou de um sólido adsorvente (carvão ativo

microparticulado = carboxen - CAR). A espessura do revestimento e a sua natureza ( polar, apolar, bipolar, semipolar, e a dotada de triplo revestimento de polaridade intermediária são as principais características que governam a seletividade e a eficiência da extração (DAMASCENO, 2007). A depender das características dos analitos, deve-se escolher o revestimento da fibra.

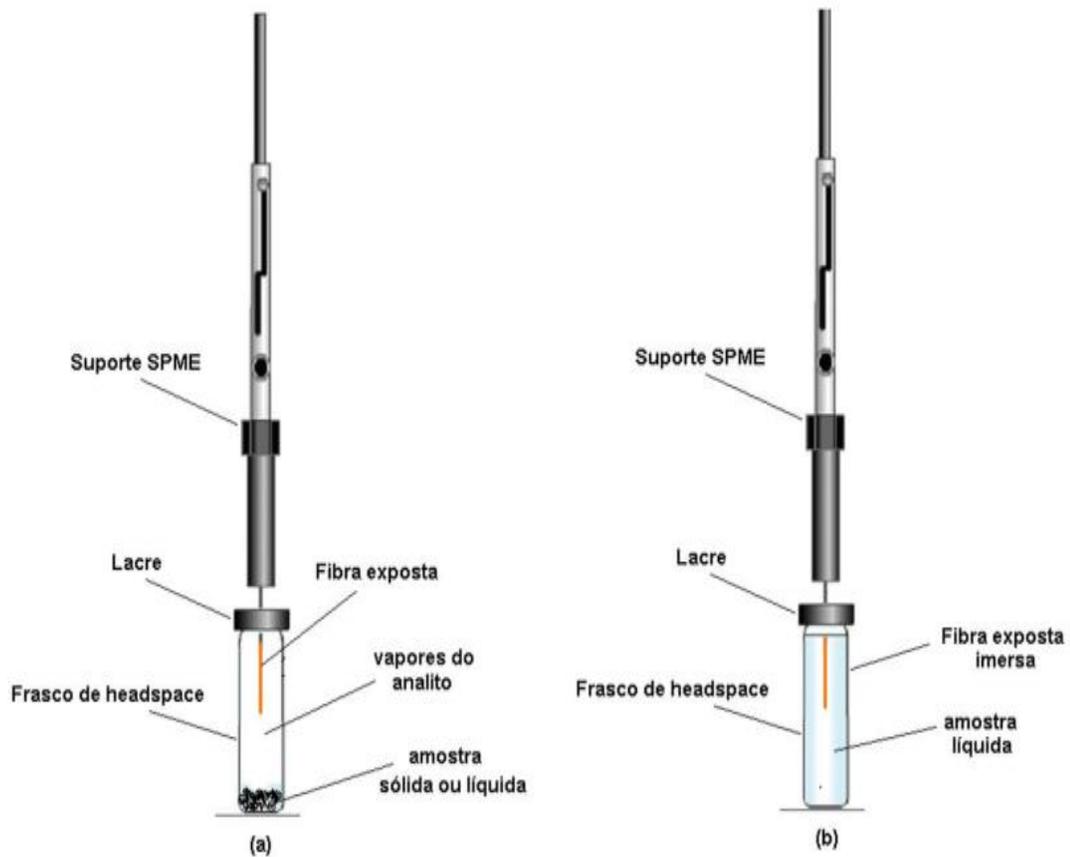
**Figura 6-** Dispositivo de SPME com detalhes da técnica de extração.



Fonte: CANUTO *et al.* (2011).

A extração por SPME pode ser feita por dois métodos: a extração direta e a indireta. Na extração direta, a fibra é mergulhada diretamente na amostra líquida, e é indicada para analitos pouco voláteis. Para compostos de alta volatilidade, a extração indireta é a mais utilizada, conhecida como *headspace* (HS), onde a fibra é exposta à atmosfera confinada dentro do recipiente que contém a amostra, deste modo a vida útil da fibra é prolongada, já que ela não é imersa na amostra, (BATISTA, 2010).

**Figura 7-** Métodos de extração por SPME: extração direta (a) e extração indireta (b).



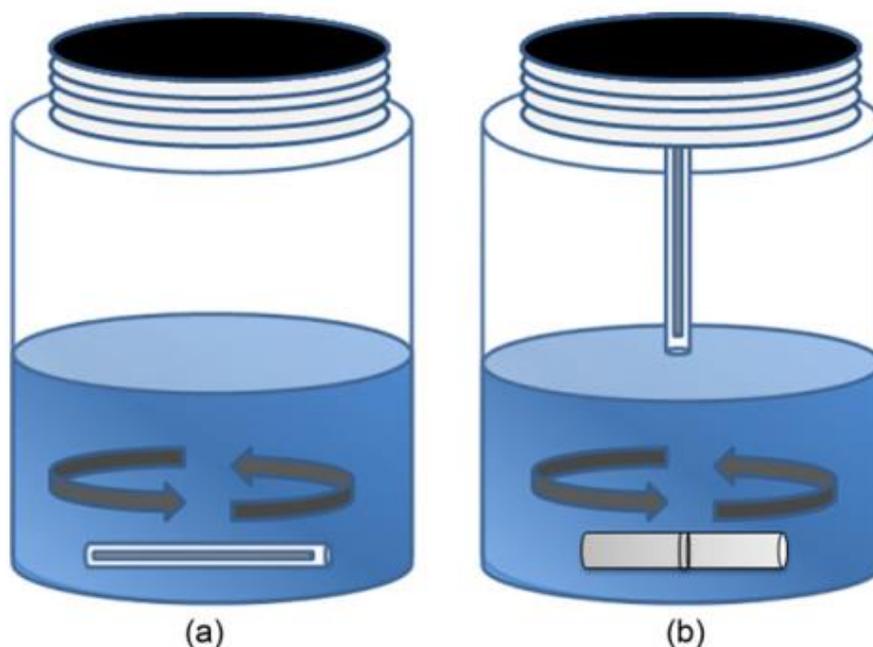
Fonte: BATISTA, 2010

### 3.4.2 SBSE - *Stir Bar Sorptive Extraction*

A técnica de SBSE/HSSE (*Stir Bar Sorptive Extraction/ Headspace Sorptive Extration*) que foi introduzida em 1999 por Baltussen *et al.* (1999) como um novo e promissor método para a extração de compostos. Esta técnica é baseada na extração sortiva dos analitos da matriz em uma fase com um líquido não-miscível. A fase PDMS é a mais usada para a extração na técnica de SBSE, que é bem conhecida na cromatografia a gás por apresentar termoestabilidade, podendo assim ser usada em uma ampla faixa de temperatura (220-320°C), e possuir propriedades interessantes de difusão (PRIETO *et al.*, 2010).

O princípio da extração por SBSE consiste em dois passos fundamentais: a extração ou enriquecimento dos analitos da amostra para a barra magnética e a retroextração ou dessorção dos mesmos da fase polimérica para o sistema cromatográfico. A extração por SBSE pode ser realizada em dois modos: a) imerso na amostra e b) Na forma de *Headspace*, como mostrado na Figura 8.

**Figura 8-** Modos de extração na técnica de SBSE: a) imerso e b) Headspace.



Fonte: PRIETO *et al.* (2010).

A técnica de SBSE é constituída por barras de agitação magnética (*twister*) incorporadas dentro de tubos de vidro selados e revestidos no exterior que podem contar com dois tipos de fase: PDMS (*Polidimetilsiloxane*) e PEG (*PolietilenoGlicol*). O volume substancial envolvido de PDMS, comparativamente às fibras de SPME (até 0,5  $\mu\text{L}$  para espessuras de filme de 100  $\mu\text{m}$ ), promove uma razão de fase menor entre a fase polimérica e o volume da amostra, favorecendo o aumento da capacidade de adsorção, podendo nesta circunstância serem alcançadas recuperações quantitativas por SBSE, em particular para solutos apolares. Esta abordagem torna possível incrementar a sensibilidade num fator compreendido entre 50 e 250 vezes, quando comparado com a técnica de SPME, conseguindo diminuir muitas vezes os limites de detecção para níveis de

sub-traços (ppt) (NOGUEIRA, 2012). A técnica de SBSE, especialmente utilizando o *twister* com fase PDMS, mostrou-se eficaz quando se deseja quantificar compostos em quantidades de traços em amostras com características apolares a médio polar, contendo compostos voláteis e semi voláteis, especialmente em matrizes aquosas. De acordo com Nogueira (2012), a eficiência da técnica pode ser afetada pela complexidade da matriz analisada, portanto é imprescindível o uso de otimização e validação de metodologias de extração, a fim de determinar o comportamento analítico da amostra.

A técnica de extração por SBSE clássica por muito tempo utilizou *twisters* de fase PDMS devido a suas características especiais como possibilidade de trabalhar em temperatura ambiente (temperatura de transição vítrea  $<40^{\circ}\text{C}$ ), estabilidade térmica ( $> 350^{\circ}\text{C}$ ) e excelente difusividade e permeabilidade, sendo considerado a melhor fase extratora para o SBSE (BALTUSSEN *et al.*, 2002). No entanto, a fase PDMS possui limitações, como o baixo poder de recuperação de compostos com alta polaridade (DAVID *et al.*, 2019). Na busca de suprir essa deficiência encontrada com a fase PDMS novos revestimentos foram desenvolvidos. Um dos revestimentos desenvolvidos, para uma maior recuperação de compostos altamente polares, foi o filme com fase de Polietilenoglicol (PEG), conhecida comercialmente como EG silicone (GILART *et al.*, 2013).

A predileção da fase EG-silicone por compostos mais específicos, com características polares, foi avaliada por Aparicio *et al.*, (2017) que usaram com sucesso uma barra de agitação revestida com silicone EG com velocidade de agitação reduzida (600 rpm) para uma ampla gama de poluentes prioritários incluindo compostos perfluorados, plastificantes, nonilfenóis, retardadores de chama de alquilsulfonatos lineares (LAS), produtos farmacêuticos e filtros UV, compostos esses com características polares.

Nos últimos anos, vêm sendo desenvolvidas fases alternativas para o revestimento de *twister* para extração de SBSE com a finalidade de aplicá-las na extração de solutos mais polares (DAVID *et al.*, 2019). Parte desse interesse é catalisada pela necessidade de desenvolver métodos para poluentes emergentes mais polares, como pesticidas polares, resíduos de produtos farmacêuticos e produtos de higiene pessoal (GILART *et al.*, 2013).

### 3.5 Identificação e quantificação de compostos voláteis

A identificação dos compostos voláteis de amostras peculiares é feita basicamente pelo uso de espectrometria de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso mais as informações fornecidas por índices de retenção e uso de padrões puros analisados sob as mesmas condições cromatográficas. No espectrômetro de massas, o analito recém eluído da coluna cromatográfica sofre a ação de uma fonte ionizante, fragmentando-se em íons, onde são encaminhados ao analisador para classificação e quantificação de acordo com sua razão massa/carga, fornecendo um espectro de massas que é característico de cada composto. Os compostos voláteis presentes na amostra são identificados por comparação dos espectros obtidos com os espectros de massas de substâncias puras arquivados em bases de dados específicos como o do Banco de Dados do NIST (FRANCO, JANZANTTI 2004; LANÇAS, 1993; MCLAFFERTY, 1994).

O espectrômetro de massas é acoplado ao final da coluna cromatográfica, de onde os componentes previamente separados emergem diretamente para a câmara de ionização, onde sofrem uma fragmentação gerando íons que são analisados e representados pelo espectro de massas. As fontes de ionização mais comumente utilizadas são as de impacto de elétrons e de ionização química. As moléculas dos componentes são segmentadas e seguem para o analisador de massas, onde são detectadas e identificadas. Normalmente, os detectores quadrupolos e íon trap (armadilhas de íons) são utilizados como analisadores de massas (SKOOG, 2009).

A identificação dos compostos voláteis é obtido através do índice de retenção. Esse índice, é um componente obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do componente em estudo com o tempo de retenção de dois padrões, geralmente hidrocarbonetos eluídos antes e após o pico do composto de interesse. Para a determinação dos índices de retenção geralmente uma mistura padrão de n-alcenos é injetada no sistema CG-EM operando nas condições cromatográficas idênticas das amostras e seus respectivos tempos de retenção são utilizados como padrões externos de referência para o cálculo do índice de Kovats (I) e do índice de retenção linear (LRI - Linear Retention Index) em conjunto com o tempo de retenção de cada substância de interesse (INCZEDY *et al.*, 1998; JENNINGS, SHIBAMOTO, 1980).

A quantificação dos compostos voláteis pode ser desenvolvida por padronizações internas ou externas. Na interna, uma pequena quantidade de uma substância (padrão interno) é inserida

em cada padrão e amostra e a razão entre as áreas do pico do analito e do padrão interno funcionam como parâmetro analítico. Na padronização externa, são realizadas uma série de soluções-padrão de composições semelhantes a concentração do analito da amostra. Um gráfico em função da concentração é obtido utilizando a altura dos picos, onde pode ser encontrado no cromatograma dos padrões. A curva atingida deve ser uma reta que passa pela origem e a concentração da amostra é gerada a partir da equação dessa reta (RIBANI, LANÇAS, 2004).

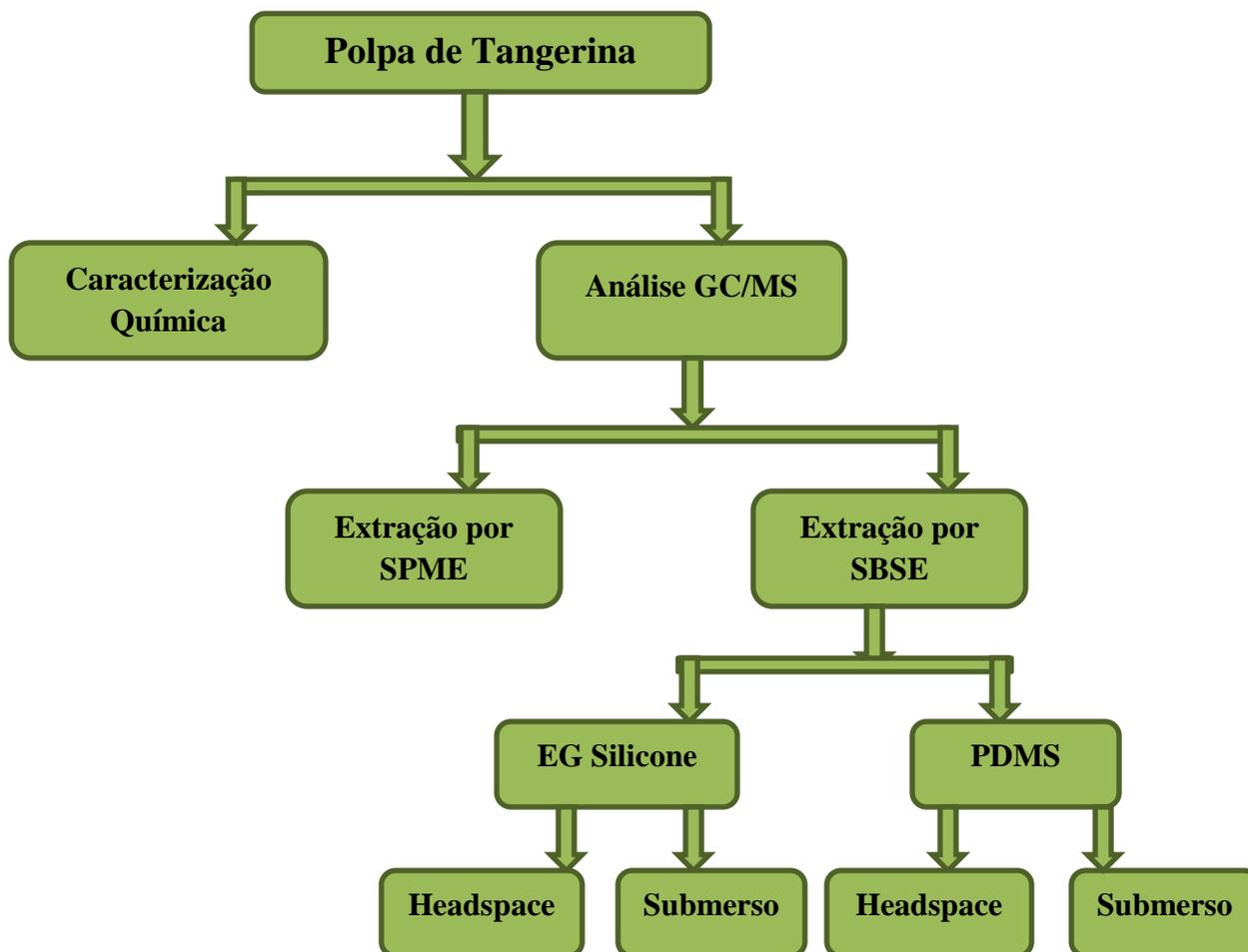
## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado de acordo com a sequência apresentada no fluxograma da Figura 9.

### 4.1 Matéria-Prima

Neste trabalho foram utilizadas as polpas das duas variedades de tangerina (Murcott e Ponkan). Os frutos foram comprados no CEASA – Centro de Abastecimento de Aracaju. A seleção da fruta foi realizada visualmente através da integridade física, coloração, buscando uma maior homogeneidade no estágio de maturação maduro. Foi feita a higienização da fruta e logo em seguida foram despulpados e as polpas homogêneas em um liquidificador e armazenadas sob refrigeração para manter o máximo de integridade possível. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 9- Fluxograma experimental



## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Umidade**

A umidade das amostras foi determinada em triplicata pelo método gravimétrico, onde foi usada balança analítica com precisão de 0,0001g, utilizado cadinho de porcelana e estufa de circulação de ar (Marconi MA035/2) sob temperatura de 105°C até peso constante. O teor de umidade foi expresso em gramas de água para 100g de amostra. A determinação de umidade foi segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

### **4.2.2 Cinzas**

Foram utilizados cadinhos de porcelana previamente tarados a 500°C em mufla, nos quais foram pesados 5g da amostra. Inicialmente a amostra foi incinerada em placa aquecedora e posteriormente colocada na mufla. A pesagem foi feita até a obtenção do peso constante (IAL, 2008).

### **4.2.3 pH**

Foi utilizada a medição pelo potenciômetro diretamente na amostra. Foi pesado 10g da amostra diluída em 100mL de água destilada. A mistura foi homogeneizada e posta em contato com o bulbo do pHmetro ( Marca: Hanna), previamente calibrado com soluções tampão 4, 7 e 10 (IAL, 2008).

### **4.2.4 Atividade de Água**

A atividade de água foi determinada através do equipamento Aqualab (Dew Point 4TEV), com metodologia prevista pela AOAC (2007).

### **4.2.5 Proteínas**

A determinação foi feita pelo método de Kjeldahl onde foi pesado 2g da amostra, na qual a matéria orgânica foi decomposta pelo ácido sulfúrico e mistura catalítica. A amostra foi digerida em tubos digestor e a titulação foi feita com ácido clorídrico (0,1M). O fator de correção utilizado para transformação do nitrogênio em protídios foi de 6,25 (IAL, 2008).

### **4.2.6 Lipídeos**

Foram pesados 2g da amostra em cartuchos para Soxhlet e foi deixado em refluxo por período de 6 horas em balões de fundo chato previamente tarados em estufa a 105°C. O solvente

utilizado foi o éter etílico. O balão com o extrato foi transferido para estufa a 105° C até peso constante (IAL, 2008).

#### **4.2.7 Sólidos Solúveis (°BRIX)**

Foi colocada uma amostra homogeneizada sob o refratômetro portátil (MOD TR-30 ATC), previamente calibrado com água destilada. A leitura foi feita e observada temperatura da amostra para adicionar fator de correção, método descrito no item 315/IV ( IAL, 2008).

#### **4.2.8 Acidez**

A determinação da acidez foi realizada através da titulação potenciométrica com NaOH 0,1M, tendo o ponto de equivalência pela medida do pH da solução na faixa entre 8,2- 8,4. Método 311/IV, descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### **4.2.9 Identificação da composição química e dos compostos**

##### **4.2.9.1 SBSE**

A extração utilizando a técnica de *stir bar sorptive extraction* (SBSE) foi realizada seguindo metodologia otimizada e validada por Herrera *et al.*, (2016), onde foram colocados 10 mL da amostra em um vial de 40 mL e utilizando os *twisters*: o de polidimetilsiloxano Apolar (PDMS-Apolar) e o EG-Silicone (Polar), sendo a extração feita em dois métodos: submerso e headspace. Em seguida, o vial foi levado a uma chapa magnética, na qual a amostra ficou sob agitação por 1 hora em 1000 rpm.

Os compostos voláteis capturados pela técnica de SBSE foram desorvidos no sistema através de uma TDU (*Thermal Desorption Unit*) da marca GERSTEL (Germany), com a seguinte programação: CIS: Temp. inicial: -100°C; Delay: 0,01 min; Taxa de temp.: 10°C/s; Temp. final: 230°C; TDU: Temp. inicial: 40°C; Delay: 0,10 min; Taxa de temp.: 60°C/min; Temp. final: 230°C; Tempo de espera: 3min; Temperatura da *Transferline*: 250°C; *Sample mode*: Standard; Mode de fluxo: *Splitless*.

As amostras foram analisadas em cromatógrafo a gás da marca Agilent (Modelo 7890B GC System) acoplado a espectrômetro de massas da marca Agilent (Modelo 5977<sup>a</sup> MSD) com coluna apolar HP-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O índice de retenção dos compostos foi calculado com a injeção de uma série de alcanos (C7-C30) nas condições analíticas idênticas e a

comparação dos espectros foi realizada com a ajuda da biblioteca do NIST. A temperatura inicial foi de 35° C durante 10 minutos, tendo uma faixa de temperatura analítica de 50° C a 260° C, a uma taxa de 5°C/min. A temperatura na fonte de íons foi de 280° C e a temperatura no MS quadrupolo foi de 150° C.

#### 4.2.9.2 SPME

A extração dos compostos voláteis da tangerina foram extraídos por SPME ocorreu conforme metodologia de Yu, *et al.* (2017), onde foram transferidos 2 g de polpa para um vial de 20 mL contendo 0,2 g de cloreto de sódio (NaCl), 10 mL de água destilada e uma barra de agitação magnética. Em seguida, o vial foi selado com um septo de silicone e imerso em um banho de água a temperatura constante de 40 °C. A amostra foi continuamente agitada durante 10 min a 40°C, para atingir o equilíbrio, antes de expor a fibra ao *headspace*. Após o período de equilíbrio, a fibra foi exposta ao *headspace* do vial durante 30 minutos a fim de adsorver os compostos voláteis da amostra. Durante o processo de extração, a amostra permaneceu em agitação e à temperatura de 40°C. Posteriormente, a fibra foi recolhida para dentro do holder e introduzida no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas e mantida durante 7 min para a dessorção completa dos compostos voláteis da tangerina.

Os compostos voláteis foram injetados em um cromatógrafo a gás (marca AGILENT modelo 7980C) acoplado a um espectrômetro de massas (MS), voltagem de ionização de 70 eV. Os compostos foram separados em coluna capilar: DB-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm). As condições utilizadas no sistema do GC-MS foram: temperatura inicial do forno 40°C, aumentando-se 4°C por minuto até atingir 230°C, para em seguida subir até 260°C, a uma taxa de 100°C por minuto e permanecendo nessa temperatura por 11,70 minutos, totalizando um corrida de 60 minutos. A temperatura do injetor foi fixada em 250°C. Foi empregado hélio como gás de arraste na vazão de 1,0mL por minuto no sistema de injeção *splitless*. A temperatura da linha de transferência foi de 260°C e a faixa de “scanning” de massa foi de 35 a 350 u.m.a. Os compostos foram identificados através da comparação dos espectros de massas com o banco de dados “NIST” (*National Institute of Standards & Technology, E.U.A*) e pelos índices de retenção linear, calculados com base nos tempos de retenção de uma série de n-alcenos, analisados nas condições idênticas de separação.

#### **4.10 Análises estatísticas**

Os resultados obtidos na caracterização físico-química foram tratados estatisticamente pela análise de variância ( $p < 0,05$ ) utilizando o programa STATISTICA 12.0.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1. Caracterização química das tangerinas Ponkan e Murcott.

Os resultados obtidos para as análises físico-químicas para as duas variedades de tangerinas estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1-** Caracterização química das tangerinas “Ponkan” e “Murcott”

<b>Características</b>	<b>Ponkan</b>	<b>Murcott</b>
Acidez (%) em ácido cítrico	0,576 <sup>a</sup> ± 0,025	1,406 <sup>b</sup> ± 0,083
pH	3,983 <sup>a</sup> ± 0,006	3,153 <sup>b</sup> ± 0,175
aw	0,985 <sup>a</sup> ± 0,001	0,981 <sup>a</sup> ± 0,004
Teor de sólidos solúveis (°Brix)	8,017 <sup>a</sup> ± 0,182	7,033 <sup>b</sup> ± 0,061
<i>Ratio</i>	13,911 <sup>a</sup> ± 0,344	5,012 <sup>b</sup> ± 0,314
Umidade (%)	89,74 <sup>a</sup> ± 0,003	88,31 <sup>b</sup> ± 0,008
Lipídios (%)	0,65 <sup>a</sup> ± 0,001	0,82 <sup>b</sup> ± 0,0003
Cinzas (%)	0,49 <sup>a</sup> ± 0,0003	1,00 <sup>b</sup> ± 0,001
Proteínas (%)	4,82 <sup>a</sup> ± 0,010	4,16 <sup>a</sup> ± 0,005

\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Como exposto pela tabela 1, as variedades de tangerina Ponkan e Murcott diferiram significativamente entre si para os valores de acidez, pH, teor de sólidos solúveis, umidade, lipídeos e cinzas. A acidez, calculada em relação ao ácido cítrico, das polpas de ponkan e murcott apresentaram a maior diferença, nos valores, entre os parâmetros analisados, indicando que a tangerina murcott possui uma maior acidez quando comparada a ponkan. O teor de acidez elevado para a tangerina murcott pode ser explicado em função do grau de maturação do fruto, uma vez que à medida que o fruto amadurece o teor de ácido cítrico diminui, assim sendo pode-se constatar com resultado que a variedade murcott apresentava um estado de maturação “de vez”, quando comparado ao estágio de maturação maduro da ponkan. Os valores de pH e teor de sólidos solúveis encontrados por este trabalho para a variedade ponkan estão em concordância para o reportado por Belo *et al.*, (2018) para esta mesma variedade com valores de pH e teor de sólidos solúveis de 4,12 e 8,017, respectivamente e para a tangerina mucorte com os valores encontrados por Pacheco *et al.*, (2017) de 4,1 para pH e 12,6 para sólidos solúveis.

Melo *et al.* (2013), afirmaram que a relação entre sólidos solúveis e acidez, conhecida como ratio, é um importante indicativo de sabor pois reflete a proporção entre açúcares e ácidos dos frutos. Para as variedades estudadas nesse trabalho os valores de ratio para ponkan e murcott

foram de 13,9 e 5,012, respectivamente. Estes valores indicam que a tangerina ponkan encontravam-se dentro do padrão de qualidade para o consumo humano que recomenda mínimo de 9,0 para a de relação sólidos solúveis/acidez total titulável para frutas cítricas, enquanto que a tangerina murcott apresentou um ratio muito baixo em decorrência de sua alta acidez (CEAGESP, 2011).

Para o conteúdo de lipídeos, umidade e cinzas, as variedades de tangerina apresentaram diferença significativa entre si, como apresentado na tabela 1. No entanto, os valores estão similares aos reportados em outros trabalhos encontrados na literatura para as duas variedades, como os reportados por Belo *et al.*, (2018), Pacheco *et al.*, (2017) e Sdiri *et al.*, (2012) nas faixas de 0,3 – 0,9% para lipídeos; 4-5% para proteínas e 0,5-1,5% para cinzas. As variações no conteúdo desses componentes ocorrem devido ao fornecimento de nutrientes por parte do solo, condições de plantio e desenvolvimento.

## **5.2. Perfil volátil das tangerinas Ponkan e Murcott por SPME**

Os compostos voláteis extraídos para as tangerinas Ponkan e Murcott por SPME, utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS, são apresentados na tabela 2. No total foram identificados 35 compostos na variedade Ponkan e 38 compostos na variedade Murcott, sendo em sua maioria terpenos, ésteres, aldeídos e álcoois. Os dois maiores compostos encontrados na Ponkan foram o D-Limoneno e o  $\gamma$ -Terpineno, totalizando aproximadamente 80% da área relativa do cromatograma. Já na Murcott, o composto majoritário foi o D-Limonene, correspondendo a mais de 90% da composição do perfil volátil. Quando comparado a outros estudos sobre a composição volátil dessas variedades de tangerina encontrados na literatura, o número de compostos encontrados foi maior, como por exemplo o trabalho de Perez *et al.*, (2006) que encontraram 32 compostos em uma variedade de tangerina Hernandina e Dhamawan *et al.*, (2007) que identificaram 42 compostos em um cruzamento de variedades de tangerinas.

Moshonas & Shaw (1997) introduziram o primeiro estudo para desvendar a natureza do suco da tangerina. Com 15 variedades de tangerina, eles geraram um banco de dados e identificaram 42 compostos voláteis importantes para o sabor da fruta como o limoneno, mirceno, linalol e  $\gamma$ -terpeno. Elmaci & Altug (2005) relataram que o limoneno e o  $\gamma$ -terpineno eram responsáveis por aproximadamente 88 % dos voláteis na variedade das tangerinas turcas. No presente estudo, na variedade da Ponkan também foram encontrados estes mesmos compostos em maior quantidade e na variedade da Murcott o D-limoneno predominou. De

acordo com o trabalho de Yu *et. al.*, (2017), a Murcott apresentou alto nível de limoneno (92,29%) e uma baixa quantidade de  $\gamma$ -terpineno. Já a Ponkan, apresentou quantidades menores de D-limoneno (79,4%) e de  $\gamma$ -terpineno (4,27%). Esses resultados são semelhantes aos encontrados neste estudo.

**Tabela 2-** Compostos voláteis identificados nas tangerinas Ponkan e Murcott por SPME

IRL <sub>Lit.</sub>	IRL <sub>Calc.</sub>	COMPOSTOS	PONKAN (X $\pm$ SD)	MURCOTT (X $\pm$ SD)
<b><i>Terpenos</i></b>				
941	930	$\alpha$ -pineno	0,85 $\pm$ 0,31	0,35 $\pm$ 0,09
981	973	$\beta$ -pineno	0,35 $\pm$ 0,22	1,49 $\pm$ 0,36
991	986	$\beta$ -myrcene	5,77 $\pm$ 1,08	ND
1028	1036	D-limoneno	67,77 $\pm$ 10,09	90,08 $\pm$ 2,05
1047	1040	(E)-ocimeno	0,18 $\pm$ 0,05	ND
*	1047	8-p-menthadien-1,2-diol	0,11 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,01
1042	1051	(Z)-ocimeno	0,03 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,00
1058	1063	$\gamma$ -terpineno	10,52 $\pm$ 2,34	0,16 $\pm$ 0,05
1078	1064	p-cimeneo	0,39 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,03
1088	1080	terpinoleno	2,81 $\pm$ 0,12	0,44 $\pm$ 0,04
1100	1109	linalool	1,26 $\pm$ 0,32	1,97 $\pm$ 0,64
1457	1470	humuleno	0,11 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,00
1182	1172	terpinen-4-ol	0,43 $\pm$ 0,14	0,41 $\pm$ 0,17
1172	1176	levomenthol	0,11 $\pm$ 0,08	ND
1195	1190	$\alpha$ -terpineol	0,39 $\pm$ 0,10	0,15 $\pm$ 0,01
1222	1222	(E)-carveol	ND	0,01 $\pm$ 0,00
1229	1236	citronellol	0,33 $\pm$ 0,06	0,06 $\pm$ 0,03
1245	1244	D-carvona	ND	0,38 $\pm$ 0,11
1242	1248	L-carvona	ND	0,04 $\pm$ 0,02
1256	1259	3-carvomentenol	ND	0,03 $\pm$ 0,02
1300	1294	carvacrol	0,08 $\pm$ 0,06	ND
1367	1370	$\alpha$ -copaeno	ND	0,02 $\pm$ 0,01
1424	1422	caryophylleno	ND	0,05 $\pm$ 0,01
1435	1446	$\gamma$ -elemeno	0,19 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,00
1453	1459	acetona de geronila	0,19 $\pm$ 0,13	0,04 $\pm$ 0,00
1498	1599	$\alpha$ -selineno	0,08 $\pm$ 0,02	ND
1504	1505	cis- $\alpha$ -bisabolene	0,03 $\pm$ 0,01	ND
1546	1517	elemol	0,14 $\pm$ 0,05	0,07 $\pm$ 0,04
1622	1621	$\gamma$ -eudesmol	0,92 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01
1649	1646	$\beta$ -eudesmol	ND	0,02 $\pm$ 0,01
<b><i>Ésteres</i></b>				
605	< 700	acetato de etila	ND	1,44 $\pm$ 0,40
998	996	hexanoato de etila	0,19 $\pm$ 0,06	0,36 $\pm$ 0,07
1383	1380	hexanoato de hexila	0,04 $\pm$ 0,00	0,03 $\pm$ 0,00
1291	1306	(R)-acetato de lavanda	0,13 $\pm$ 0,05	0,02 $\pm$ 0,00
<b><i>Álcoois</i></b>				
861	855	1-hexanol	ND	0,39 $\pm$ 0,14
974	984	1-heptanol	ND	0,08 $\pm$ 0,00

735	751	3-metil-1-butanol	ND	0,19 ± 0,16
855	852	(Z)-3-hexen-1-ol	0,01 ± 0,00	0,30 ± 0,10
1070	1077	1-octanol	0,40 ± 0,14	ND
1272	1180	1-decanol	ND	0,13 ± 0,07
<b>Aldeídos</b>				
799	801	hexanal	0,12 ± 0,04	0,06 ± 0,02
854	852	(E)-2-hexenal	0,18 ± 0,22	0,09 ± 0,04
900	910	heptanal	0,07 ± 0,06	0,06 ± 0,02
1103	1103	nonanal	0,82 ± 0,04	0,04 ± 0,00
1209	1201	decanal	1,48 ± 0,29	ND
1407	1405	dodecanal	0,18 ± 0,03	ND
<b>Fenóis</b>				
1444	1463	2,4-di-terc-butilfenol	0,29 ± 0,01	0,04 ± 0,00

\* : Não encontrado na literatura. ND: Não Determinado.

Barboni *et al.*, (2009) quantificaram 44 compostos voláteis em sucos de várias tangerinas híbridas, sendo o limoneno e  $\gamma$ -terpineno, os compostos de maior contribuição no aroma desses híbridos, sugerindo ainda que a razão entre esses dois compostos poderia ser usada para discriminar diferentes híbridos de cruzamentos entre tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) e Clementine (*Citrus reticulata* × *Citrus sinensis*).

Pérez-Lopez *et al.*, (2006) quantificaram 12 voláteis do aroma do suco de duas variedades de tangerinas espanholas e concluíram que o limoneno, mirceno, sabineno,  $\alpha$ -pineno e linalol foram os compostos predominantes nestes sucos. Além disso, eles sugeriram que o limoneno, linalol,  $\alpha$ -terpineol e terpinen-4-ol podem ser utilizados como parâmetros de controle de qualidade em sucos de tangerina, uma vez que um aumento no conteúdo desses dois compostos podem aumentar devido ao processamento nos sucos, diminuindo a aceitação pelo consumidor, já que os mesmos são caracterizados por aumentarem a intensidade pelo sabor cítrico, terpenico, em frutas cítricas, mesmo em pequenas concentrações. Para este trabalho foram encontrados na composição volátil por SPME a presença do linalool,  $\alpha$ -terpineol e terpinen-4-ol nas duas variedades de tangerina estudadas, sendo que para a tangerina murcott, a concentração do linalool foi maior (1,97%), em comparação a ponkan (1,26%), ocasionando possivelmente uma maior acidez da polpa de tangerina murcott, como demonstrado nas análises físico-químicas.

### 5.3. Perfil volátil das tangerinas Ponkan e Murcott por SBSE

As extrações das duas variedades de tangerina apresentadas neste estudo por SBSE foram feitas com dois tipos de twister: o PDMS e o EG-Silicone; e com cada tipo foram analisados em duas situações: Headspace e Submerso.

### 5.3.1 Tangerina Ponkan e Murcott em PDMS – Headspace e Submerso

Os compostos voláteis identificados das variedades estudadas neste trabalho por SBSE/PDMS- submerso e headspace, estão apresentados na tabela 3. Foram encontrados 52 compostos para a variedade ponkan em ambos os modos submerso e headspace. Enquanto que, para a variedade murcott foram encontrados 37 e 31 compostos voláteis nos modos submerso e headspace, respectivamente. Os compostos majoritariamente encontrados foram o D-limoneno e linalool, assim como encontrado nas extrações por SPME realizadas nesse trabalho. Para a variedade Ponkan as concentrações de D-limoneno e linalool foram, no modo submerso, 66,02% e 10,40%, respectivamente. Enquanto que para o modo headspace as concentrações desses compostos foram 56,31% para o limoneno e 13,04% para o linalool. Na variedade murcott foram encontradas o D-limoneno e linalool, nas concentrações de 20,40% e 25,48%, respectivamente no modo submerso. Para o método de extração por headspace, foram encontrados 70,67% para o D-limoneno e 12,12% para o linalool. Em frutas com características cítricas, os principais compostos voláteis são o limoneno e o linalol, que são considerados marcadores voláteis de aroma cítrico (TAO *et al.*, 2012).

Não foram encontrados trabalhos utilizando SBSE para determinação de voláteis de tangerina das variedades ponkan e murcott. A maior parte dos trabalhos desenvolvidos para análise de frutas cítricas por SBSE foi reportada apenas para a análise de agrotóxicos em laranja (BLASCO *et al.*, 2002), conservantes em suco de laranja (XU *et al.*, 2013) e tiabendazol em amostras de citros (TURIEL & MARTIN-STEBAN, 2012).

Um dos pioneiros estudos encontrados foram os realizados por Herrera *et al.*, (2016) que desenvolveram um método por SBSE para determinação de compostos voláteis em sucos de laranja frescos, industriais e da variedade “Nadorcott” de tangerina, onde a condição analítica mais adequada para a extração dos compostos estudados foram: volume de amostra 10 mL, tempo de extração 60 min, velocidade de agitação 1800 rpm, NaCl quantidade 30% (peso / volume) e comprimento do twister 10 mm. O método mostrou-se adequado para a determinação do aroma de suco de laranja, sendo o limoneno o principal composto volátil em todas as amostras estudadas, mesmo resultado obtido para as variedades de tangerinas estudadas.

Herrera *et al.*, (2016), o limoneno foi o composto volátil mais abundante (acima de 90% do total) encontrado, e nas três amostras de suco de laranja frescos, sua concentração estava

acima da faixa linear da curva de calibração utilizada para quantificação utilizada (acima de 33,00 mg/L). O  $\alpha$ -pineno foi encontrado em maior concentração na amostra de tangerina em comparação com os três sucos de laranja frescos analisadas. Para este trabalho foram encontrados valores de área para o  $\alpha$ -pineno para a ponkan nos modos submerso e headspace foram 0,12% e 2,67%, respectivamente. Para a murcott, o  $\alpha$ -pineno foi encontrado apenas na amostra por headspace na concentração de 0,37%.

As concentrações de  $\alpha$ -terpineol e 4-vinilguaiacol para a tangerina ponkan, neste estudo, foram de 8,24% para o modo de extração submerso e 3,68% para o modo de extração no headspace. Enquanto que para a variedade murcott os valores de concentração foram de 7,10% no modo submerso e 2,59% para o modo headspace. Uma maior concentração do  $\alpha$ -terpineol para a tangerina ponkan pode estar relacionado ao aroma mais suave e com mais notas frutais cítricas, quando comparado ao aroma da tangerina murcott, caracterizado como “menos doce”. Em relação ao 4-vinilguaiacol, este composto foi encontrado apenas na extração da tangerina murcott no modo submerso com uma concentração de 3,43%, contribuindo possivelmente para um aroma menos intenso a nota cítrica.

O principal grupo químico encontrado no suco de frutas cítricas são os terpenos, com o limoneno, um monoterpeneo, como principal composto do grupo, cuja concentração é de até 40 a 90% da concentração total (BRAT *et al.* 2003; HERRERA *et al.*, 2016). Outros terpenos também podem ser encontrados no aroma de frutas cítricas que podem ser utilizados para caracterizar a qualidade do seu aroma. O  $\alpha$ -terpineol tem sido relatado em suco espremido fresco proporcionando um aroma frutado e adocicado, mas quando sua concentração é alta, devido à sua formação por degradação oxidativa do limoneno, contribui com um sabor não desejável semelhante ao terpênico (BALDWIN *et al.*, 2012). O 4-vinilguaiacol é outro terpeno derivado da decomposição do ácido ferúlico inodoro e contribui para um caráter de “fruta velha” e “podre” quando seu teor é superior a 100 ppb (ROUSSEF *et al.*, 1992; WALSH *et al.*, 1997). Ambos os compostos são geralmente considerados como sabores desagradáveis em sucos de laranja e são produzidos por abuso térmico durante o processamento ou armazenamento a alta temperatura (MCGORRIN *et al.*, 2007).

**Tabela 3** - Compostos voláteis identificados na tangerina Ponkan e Murcott por SBSE/PDMS-Submerso e Headspace;

IRLit.	IRL <sub>Calc.</sub>	COMPOSTOS	PONKAN ( $\bar{X} \pm SD$ )		MURCOTT ( $\bar{X} \pm SD$ )	
			SBSE-PDMS	HSSE-PDMS	SBSE-PDMS	HSSE-PDMS
		<i>Terpenos</i>				
941	934	$\alpha$ -pineno	0,12 $\pm$ 0,07	2,67 $\pm$ 0,50	ND	0,37 $\pm$ 0,06
981	976	$\beta$ -pineno	0,18 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,24	0,55 $\pm$ 0,54
991	992	$\beta$ -myrceno	0,62 $\pm$ 0,05	1,08 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,01	1,65 $\pm$ 0,30
1022	1026	<i>o</i> -cymeno	0,12 $\pm$ 0,06			
1028	1033	<i>D</i> -limoneno	66,02 $\pm$ 14,58	56,31 $\pm$ 10,97	20,40 $\pm$ 13,13	70,67 $\pm$ 16,35
1047	1040	( <i>E</i> )-ocimeno	0,21 $\pm$ 0,14	0,69 $\pm$ 0,17	ND	0,40 $\pm$ 0,01
*	1047	8-p-menthadien-1,2-diol	ND	ND	1,28 $\pm$ 0,62	ND
1042	1051	( <i>Z</i> )-ocimeno	0,14 $\pm$ 0,00	0,56 $\pm$ 0,05	ND	0,17 $\pm$ 0,02
1058	1061	$\gamma$ -terpineno	1,96 $\pm$ 0,10	6,25 $\pm$ 0,29	ND	ND
1088	1090	terpinoleno	0,26 $\pm$ 0,08	1,57 $\pm$ 0,08	ND	0,49 $\pm$ 0,06
1100	1103	linalool	10,40 $\pm$ 2,81	13,04 $\pm$ 2,13	25,48 $\pm$ 2,30	12,12 $\pm$ 1,92
1128	1123	( <i>E</i> )-p-2,8-menthadien-1-ol	0,51 $\pm$ 0,03	0,39 $\pm$ 0,06	3,92 $\pm$ 0,29	0,39 $\pm$ 0,02
1138	1138	cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	0,31 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,04	2,94 $\pm$ 0,30	0,23 $\pm$ 0,00
1144	1148	cis-verbenol	0,13 $\pm$ 0,08	0,07 $\pm$ 0,04	ND	ND
1172	1176	levomenthol	ND	0,08 $\pm$ 0,00	ND	ND
1182	1181	terpinen-4-ol	2,05 $\pm$ 1,01	1,70 $\pm$ 0,20	6,65 $\pm$ 0,02	1,30 $\pm$ 0,31
1195	1195	$\alpha$ -terpineol	8,24 $\pm$ 1,27	3,68 $\pm$ 0,30	6,16 $\pm$ 0,77	0,83 $\pm$ 0,28
1200	1213	carveol	0,04 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,03	4,18 $\pm$ 0,84	ND
1208	1204	( <i>Z</i> )-carveol	0,28 $\pm$ 0,08	0,11 $\pm$ 0,00	0,44 $\pm$ 0,05	0,30 $\pm$ 0,12
1222	1222	( <i>E</i> )-carveol	1,00 $\pm$ 0,68	0,42 $\pm$ 0,06	5,05 $\pm$ 0,75	ND
1229	1231	citronellol	1,49 $\pm$ 0,95	1,05 $\pm$ 0,16	1,08 $\pm$ 0,11	ND
1235	1237	metiltimol	0,13 $\pm$ 0,07	0,35 $\pm$ 0,06	ND	ND
1240	1244	$\beta$ -citral	0,09 $\pm$ 0,06	0,08 $\pm$ 0,04	ND	ND
1245	1244	<i>D</i> -carvona	0,02 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,02	ND	ND
1242	1248	l-carvona	0,48 $\pm$ 0,31	ND	0,57 $\pm$ 0,12	ND
1253	1257	geraniol	0,26 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,05	ND	ND
1256	1259	3-carvomentenol	0,16 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,07	0,04 $\pm$ 0,00	ND
1272	1279	aldeído de perila	0,52 $\pm$ 0,32	0,32 $\pm$ 0,10	ND	ND

1300	1294	carvacrol	0,60 ± 0,36	0,21 ± 0,05	ND	0,03 ± 0,01	
1367	1370	α-copaeno	ND	ND	ND	ND	
1424	1429	caryophylleno	0,92 ± 0,19	0,74 ± 0,14	ND	0,09 ± 0,01	
1435	1440	γ-elemeno	ND	0,09 ± 0,00	ND	NDN	
1453	1455	acetona de geranila	0,92 ± 0,20	0,53 ± 0,13	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,00	
1457	1463	humuleno	0,07 ± 0,05	0,20 ± 0,00	ND	0,09 ± 0,00	
1488	1496	β-eudesmene	0,09 ± 0,00	0,20 ± 0,04	ND	ND	
1500	1505	α-selineno	0,06 ± 0,00	0,14 ± 0,06	ND	ND	
<b>Ésteres</b>							
605	< 700	acetato de etila	ND	ND	0,14 ± 0,01	1,14 ± 0,28	
998	1001	hexanoato de etila	0,29 ± 0,05	0,73 ± 0,20	1,02 ± 0,20	1,05 ± 0,08	
1291	1306	(R)-acetato de lavanda	1,07 ± 0,00	ND	1,16 ± 0,70	ND	
1380	1381	decanoato de etila	1,07 ± 0,00	0,87 ± 0,15	0,29 ± 0,05	0,51 ± 0,13	
1383	1387	hexanoato de hexila	0,06 ± 0,00	0,16 ± 0,00	0,91 ± 0,15	0,88 ± 0,21	
1927	1927	hexadecanoato de metila	0,11 ± 0,06	ND	0,06 ± 0,02	ND	
1994	1995	hexadecanoato de etila	0,12 ± 0,07	ND	0,03 ± 0,00	ND	
2026	2026	palmitato de isopropila	0,86 ± 0,46	ND	ND	ND	
<b>Álcoois</b>							
860	878	(Z)-3-hexen-1-ol	0,14 ± 0,02	0,43 ± 0,18	5,48 ± 0,05	2,34 ± 1,15	
864	863	3-hexen-1-ol	0,09 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,04 ± 0,00	ND	
735	751	3-methyl-1-butanol	ND	ND	3,89 ± 0,24	3,81 ± 2,88	
974	980	1-heptanol	ND	ND	0,71 ± 0,11	ND	
1070	1074	1-octanol	0,96 ± 0,03	1,21 ± 0,16	2,32 ± 0,06	0,67 ± 0,03	
1171	1174	1-nonanol	0,12 ± 0,07	ND	ND	ND	
<b>Aldeídos</b>							
799	802	hexanal	0,53 ± 0,02	0,99 ± 0,41	0,68 ± 0,02	0,72 ± 0,19	
900	903	heptanal	0,05 ± 0,03	0,15 ± 0,05	0,12 ± 0,04	0,02 ± 0,02	
1002	957	benzeneacetaldeído	ND	ND	0,46 ± 0,07	ND	
1103	1106	nonanal	0,41 ± 0,02	0,44 ± 0,13	1,46 ± 0,42	1,00 ± 0,23	
1209	1207	decanal	0,38 ± 0,19	1,14 ± 0,15	ND	0,72 ± 0,07	
1314	1308	undecanal	ND	0,13 ± 0,02	ND	ND	
854	858	(E)-2-hexenal	ND	0,19 ± 0,12	0,11 ± 0,08	0,03 ± 0,00	
957	960	(Z)-2-heptenal	0,06 ± 0,05	0,11 ± 0,00	0,24 ± 0,03	0,02 ± 0,00	

1269	1261	( <i>E</i> )-2-decenal	ND	0,04 ± 0,00	ND	ND	
1380	1381	( <i>E</i> )-4,5-epoxy-( <i>e</i> )-2-decenal	0,15 ± 0,01	ND	ND	ND	
1407	1410	dodecanal	0,04 ± 0,00	0,19 ± 0,03	ND	ND	
<b>Ácidos</b>							
746	753	ácido acético	ND	0,14 ± 0,01	ND	ND	
1761	1764	ácido tetradecanóico	ND	0,38 ± 0,28	ND	ND	
1973	1965	ácido hexadecanóico	ND	0,67 ± 0,48	ND	ND	
<b>Furanos</b>							
798	773	furfural	ND	ND	ND	ND	
1025	981	furaneol	ND	ND	ND	ND	
1188	1071	5-hydroxymethylfurfural	ND	ND	ND	ND	
<b>Fenóis</b>							
1280	1228	2-methoxy-4-vinilfenol	ND	ND	3,43 ± 1,28	ND	
1444	1463	2,4-di-tert-butylphenol	0,19 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,31 ± 0,18	0,20 ± 0,01	
<b>Cetonas</b>							
986	989	6-methyl-5-hepteno-2-ona	0,14 ± 0,08	0,30 ± 0,02	0,31 ± 0,02	ND	

\*: não encontrado na literatura; IRL<sub>Lit.</sub>: Índice de retenção linear de literatura; IRL<sub>Calc.</sub>: Índice de retenção linear calculado; SBSE: Stir Bar Sorptive Extraction; PDMS: Polydimethylsiloxane; HSSE: Head Space Sorptive Extraction.

Uma combinação de mais de 100 compostos contribui para o aroma do suco de diversas frutas cítricas. Estes compostos são aldeídos, ésteres, álcoois alifáticos, terpenos, cetonas e ácidos carboxílicos. Os aldeídos contribuem para o aroma de citros com, notas verdes, gordurosas e metálicas, enquanto os ésteres seriam responsáveis para as notas frutais presentes em muitos suco cítricos frescos (PLOTTO *et al.*, 2008; PÉREZ CACHO e ROUSEFF, 2008). Já foram reportados na literatura, mais de trinta compostos foram identificados como aromatizantes em citrus. Entre eles, butanoato de etila, hexanal, hexanoato de etila, octanal, nonanal, decanal, acetaldeído, etanol,  $\alpha$ - pineno e mirceno são os mais relatados (HINTERHOLZER e SCHIEBERLE, 1998; BAZMORE *et al.*, 1999; BUETTNER e SCHIEBERLE, 1999, 2001<sup>a,b</sup>; REGA *et al.*, 2003; MAHATTANATAWEE *et al.*, 2005; ARENA *et al.*, 2006; BERLINET *et al.*, 2007; OBENLAND *et al.*, 2008, 2009; PLOTTO *et al.*, 2008; QIAO *et al.*, 2008; SELLI e KELEBEK, 2011; TIETEL *et al.*, 2011; MIYAZAKI *et al.*, 2012; CHUNG *et al.*, 2012). Neste trabalho foram encontrados compostos pertencentes as classes citadas acima, como por exemplo, acetato de etila, hexanoato de etila; heptanal; hexanal; nonanal, octanal, 1-heptanol; 3-metil-1butanol, para todas as variedades de tangerina estudadas.

### **5.3.2 Tangerina Ponkan e Murcott em EG-Silicone – Submerso e Headspace**

Os compostos voláteis das duas variedades de tangerinas identificados com o EG-Silicone no modo submerso e headspace está descrito na tabela 4. Pode-se observar que a quantidade de compostos extraídos na fase EG silicone foi menor quando comparado à quantidade de compostos extraídos com a fase PDMS. Em relação à quantidade de compostos extraídos, a variedade ponkan apresentou uma maior quantidade de compostos extraídos, 26 identificados, pela fase EG silicone no modo submerso, contra 17 identificados, na variedade murcott. Já para o método de extração headspace a variedade que teve mais compostos extraídos foi a murcott, com 32 compostos, enquanto que a ponkan teve 13 compostos identificados. O composto identificado em maior concentração com o EG-silicone foi o limoneno para as duas variedades, nos dois modos de extração headspace e submerso, 59,52% e 73,86%, para a ponkan, no modo submerso e headspace, respectivamente. Enquanto que, para a variedade murcott as concentrações no modo submerso e headspace foram de 60,53% e 52,77%, respectivamente.

Para este trabalho, a quantidade reduzida de compostos extraídos pela fase EG silicone pode ser explicada, devido a menor presença de compostos voláteis polares na extração. Muitos compostos voláteis possuem polaridade intermediária ou características totalmente apolares, o

que facilitaria sua adsorção pela fase PDMS, com características apolares. Outra recomendação para o EG silicone é a recomendação de sua utilização em headspace, imobilizado no líquido (e usando uma barra de mistura inerte) ou usá-lo em combinação com uma barra de mistura PDMS clássica, já que é menos estável que o revestimento PDMS clássico, permitindo assim um maior poder de extração (OCHIAI, *et al.*, 2013).

A fase EG-silicone foi usada com sucesso na extração de fenóis não derivados, demonstrando uma afinidade superior em comparação com o PDMS (CACHO *et al.*, 2013; CACHO *et al.*, 2014). Esse sucesso na extração de fenóis pode ser comprovado neste trabalho, já que para o composto 2-methoxy-4-vinylphenol (4-vinilguaiacol) encontrado apenas na tangerina murcott a concentração desse composto (5,47%) foi maior na fase extratora EG silicone com do que na fase PDMS (3,43%).

**Tabela 4** - Compostos voláteis identificados nas tangerinas Ponkan e Murcott por SBSE/EG-Silicone-Submerso e Headspace;

IRL <sub>Lit.</sub>	IRL <sub>Calc.</sub>	COMPOSTOS	PONKAN (X ± SD)		MURCOTT (X ± SD)	
			SBSE-EG-Silicone	HSSE-EG-Silicone	SBSE-EG-Silicone	HSSE-EG-Silicone
		<i>Terpenos</i>				
941	934	α-pineno	0,48 ± 0,08	3,55 ± 0,18	ND	1,70 ± 0,10
1028	1033	D-limoneno	59,52 ± 17,24	73,86 ± 25,75	60,53 ± 10,86	52,77 ± 27,23
1047	1040	(E)-ocimeno	ND	ND	ND	0,29 ± 0,05
*	1047	8-p-menthadien-1,2-diol	4,63 ± 0,36	ND	2,46 ± 0,78	0,21 ± 0,01
1058	1061	γ-terpineno	2,91 ± 1,78	3,52 ± 0,21	ND	4,93 ± 0,79
1100	1103	linalool	7,42 ± 2,49	7,42 ± 2,01	9,58 ± 2,72	6,77 ± 1,21
1128	1123	(E)-p-2,8-menthadien-1-ol	4,14 ± 0,42	ND	ND	0,81 ± 0,01
1138	1138	cis-p-mentha-2,8-dien-1-ol	3,23 ± 1,62	1,53 ± 0,08	0,24 ± 0,06	0,56 ± 0,21
1182	1181	terpinen-4-ol	4,51 ± 0,86	2,07 ± 0,35	3,09 ± 0,19	0,96 ± 0,88
1195	1195	α-terpineol	7,10 ± 2,42	2,52 ± 0,66	3,28 ± 5,79	1,08 ± 0,13
1208	1204	(Z)-carveol	4,80 ± 2,43	1,04 ± 0,10	0,04 ± 0,01	0,30 ± 0,02
1220	1213	carveol	4,35 ± 1,40	ND	ND	ND
1222	1222	(E)-carveol	ND	ND	0,12 ± 0,05	1,89 ± 0,11
1245	1244	D-carvona	ND	ND	0,03 ± 0,00	0,14 ± 0,13
1242	1248	l-carvona	1,66 ± 0,06	ND	ND	ND
1256	1259	3-carvomethenone	ND	ND	0,08 ± 0,01	ND
1272	1279	aldeído de perila	ND	ND	0,01 ± 0,00	ND
1300	1294	carvacrol	ND	ND	ND	0,01 ± 0,00
1424	1429	caryophylleno	ND	ND	ND	0,03 ± 0,00
1453	1455	acetona de geranila	0,32 ± 0,03	ND	ND	0,07 ± 0,02
		<i>Ésteres</i>				
998	1001	hexanoato de etila	ND	0,05 ± 0,01	0,81 ± 0,38	0,64 ± 0,10
1380	1381	decanoato de etila	0,90 ± 0,18	ND	0,01 ± 0,00	ND
1383	1387	hexanoato de hexila	0,01 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00
		<i>Álcoois</i>				

863	878	(Z)-3-hexen-1-ol	ND	ND	ND	2,22 ± 0,56
735	751	3-methyl-1-butanol	ND	ND	0,02 ± 0,01	1,64 ± 0,13
974	980	1-heptanol	ND	ND	ND	0,34 ± 0,02
1070	1074	1-octanol	3,26 ± 0,27	1,99 ± 0,38	ND	0,75 ± 0,02
<b>Áldeídos</b>						
799	802	hexanal	1,25 ± 0,02	ND	ND	ND
900	903	heptanal	ND	ND	ND	1,24 ± 0,66
999	934	octanal	ND	ND	ND	0,31 ± 0,01
1002	957	benzeneacetaldeído	1,17 ± 0,99	ND	ND	ND
1103	1106	nonanal	0,60 ± 0,02	1,05 ± 0,52	ND	0,53 ± 0,04
1209	1207	decanal	ND	1,46 ± 0,26	ND	0,28 ± 0,04
1314	1308	undecanal	ND	ND	ND	0,04 ± 0,00
1407	1410	dodecanal	0,17 ± 0,05	ND	ND	0,02 ± 0,00
<b>Ácidos</b>						
746	753	ácido acético	ND	ND	1,76 ± 0,31	1,84 ± 0,05
1973	1965	ácido hexadecanóico	1,78 ± 0,81	ND	ND	ND
<b>Furanos</b>						
798	773	furfural	9,72 ± 2,33	ND	ND	0,33 ± 0,08
1025	981	furaneol	2,41 ± 0,18	ND	ND	ND
1188	1071	5-hydroxymethylfurfural	8,40 ± 1,07	ND	ND	ND
<b>Fenóis</b>						
1280	1228	2-methoxy-4-vinifenol	ND	ND	5,47 ± 0,97	ND
1444	1463	2,4-di-tert-butilfenol	0,34 ± 0,04	ND	ND	0,25 ± 0,02
<b>Cetonas</b>						
986	989	6-methyl-5-hepteno-2-ona	0,63 ± 0,03	ND	ND	9,41 ± 3,84

\*: não encontrado na literatura; IRL<sub>Lit.</sub>: Índice de retenção linear de literatura; IRL<sub>Calc.</sub>: Índice de retenção linear calculado; SBSE: Stir Bar Sorptive Extraction; PDMS: Polydimethylsiloxane; HSSE: Head Space Sorptive Extraction.

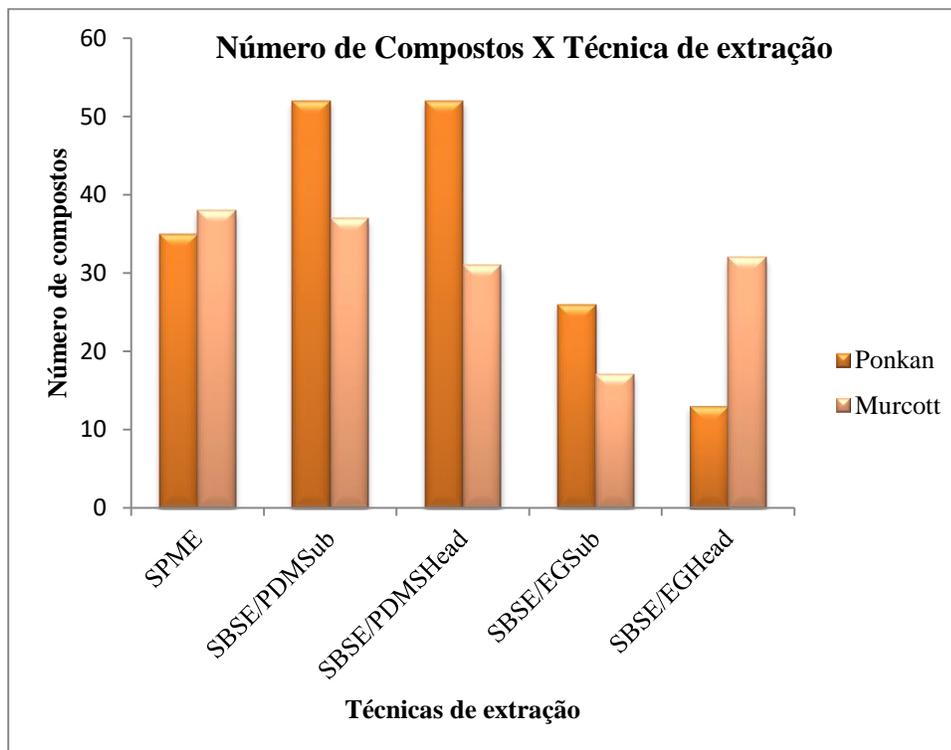
#### 5.4. Comparação entre as técnicas de SPME e SBSE

A caracterização e diferenciação da variedade ou origem dos frutos e produtos derivados pela análise de sua composição volátil têm sido amplamente relatadas. Portanto, a escolha da técnica de extração desses compostos, é uma das etapas mais importantes na análise do aroma. A depender da técnica é possível atingir uma recuperação maior dos compostos que formam o aroma da amostra e assim obtendo um perfil volátil mais fiel ao aroma real da amostra. Ao longo dos anos, as técnicas de extração de compostos voláteis vêm evoluindo, com o objetivo de aumentar seu poder de extração e eliminar a utilização de solventes químicos. Nesse contexto, duas técnicas de extração vêm ganhando atenção devido a sua capacidade de extração, são elas SPME e SBSE.

A maioria das pesquisas tem se dedicado à análise do HS com o SPME (RIU-AUMATELL *et al.*, 2004; STEFFEN e PAWLISZYN, 1996; WANG *et al.*, 2009) e em menor extensão, com o SBSE ( BICCHI, CORDERO, LIBERTO, SGORBINI, & RUBIOLO, 2008). Logo, estudos comparativos entre as duas técnicas podem fornecer melhores informações sobre o aroma e ajudar na escolha de qual extração utilizar.

Pode-se observar, como apresentado na figura 10, que neste trabalho a quantidade de compostos extraídos foi maior na técnica de SBSE, quando comparado a técnica de SPME. Foram extraídos pela técnica de SPME 35 compostos para a variedade Ponkan e 38 para a variedade Murcott. Enquanto que, para a técnica de SBSE foram extraídos 52 compostos utilizando o twister PDMS para a variedade Ponkan e 37 compostos para a variedade Murcott no modo submerso e 31 compostos no modo headspace para nesta mesma fase extratora. Para as análises com a fase EG silicone os resultados foram inferiores a todas as outras técnicas, já que foram extraídos apenas 26 compostos no modo submerso e 13 compostos no modo headspace para a variedade Ponkan. Já para a variedade Murcott, nesta fase, foram 17 compostos no modo submerso, número abaixo do encontrado para o mesmo modo de extração na fase PDMS, entretanto, para o modo de extração headspace utilizando fase EG, a quantidade de compostos foi similar ao encontrado nesse mesmo modo de extração para a fase PDMS.

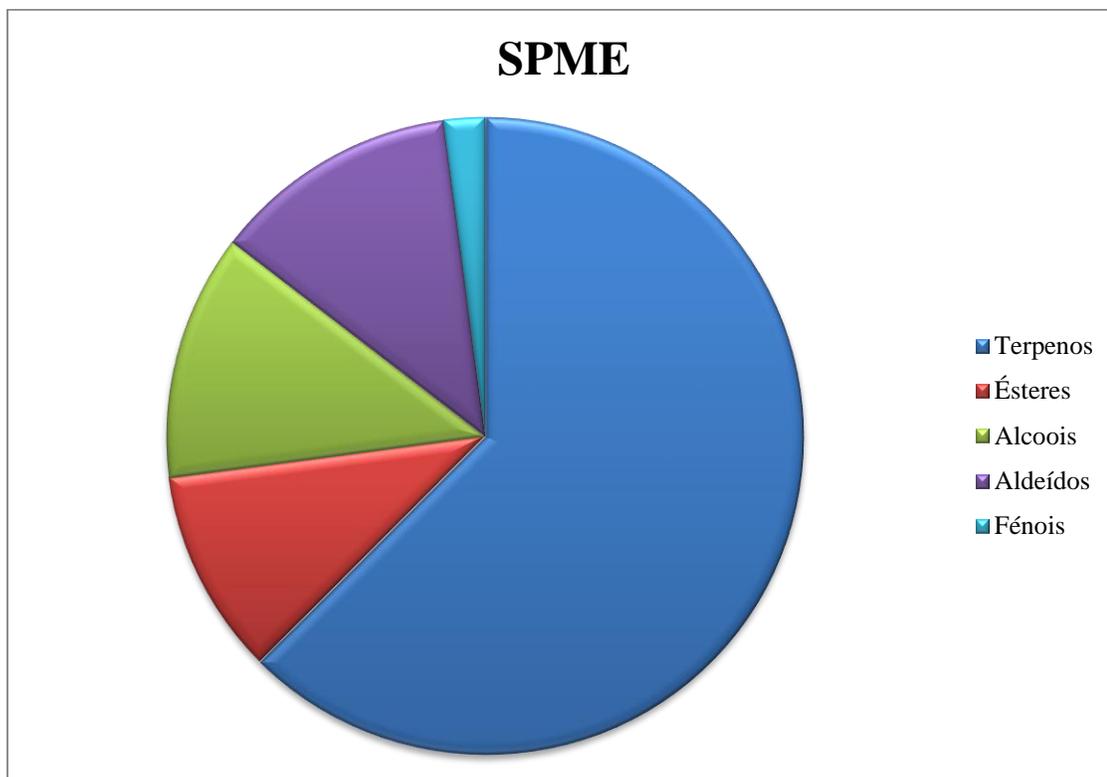
**Figura 10-** Gráfico de quantidade de compostos extraídos por técnica de separação



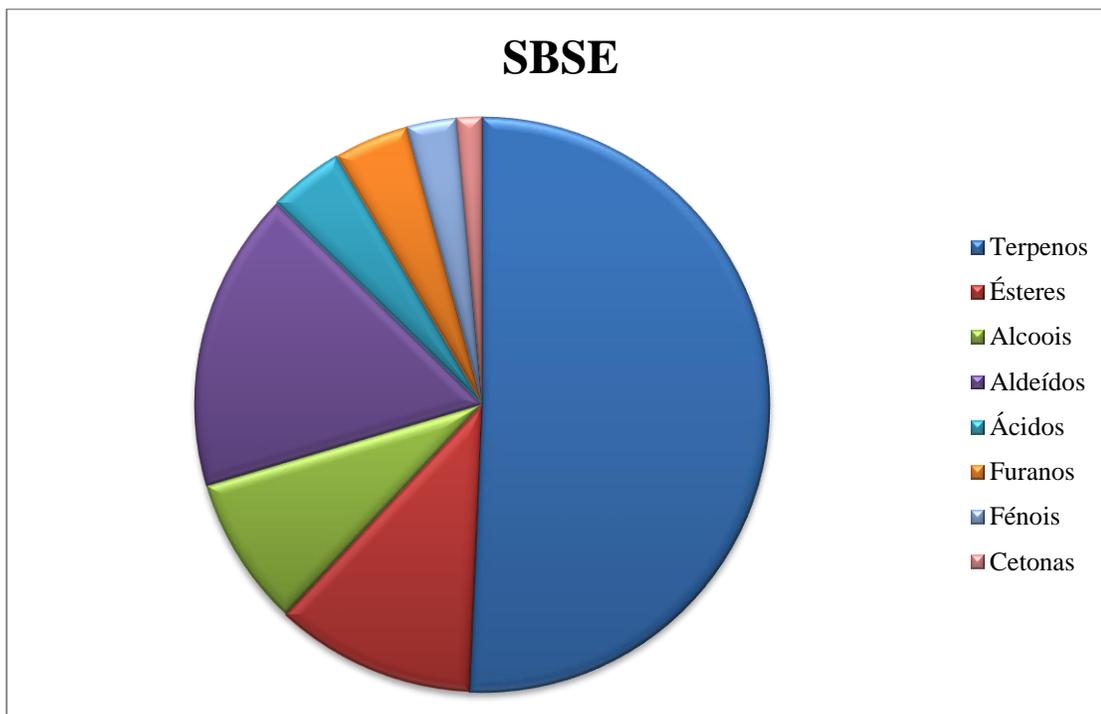
A maior capacidade de compostos voláteis extraídos pela extração por SBSE pode ser explicada devido ao maior volume da fase polimérica utilizado na SBSE, com esta técnica é possível obter maiores recuperações, maior capacidade de amostragem e menores limites de detecção em comparação com o SPME (BICHI *et al.*, 2002; POOP *et al.*, 2003; MAGGI *et al.*, 2008).

As maiores recuperações dos compostos obtidas com a técnica SBSE-PDMS em comparação com aquelas obtidas com a fibra de SPME-PDMS são exclusivamente devidas ao maior volume de revestimento polimérico. Ambos os sistemas operam no modo de sorção, e o enriquecimento é controlado pelas constantes de particionamento de água (orvapor) /PDMS dos analitos. Para este trabalho os maiores valores de recuperação por classe de compostos pode ser observado nos gráficos das figuras 11 e 12 por técnica de extração.

**Figura 11-** Recuperação das classes de compostos de aroma para a técnica de SPME.



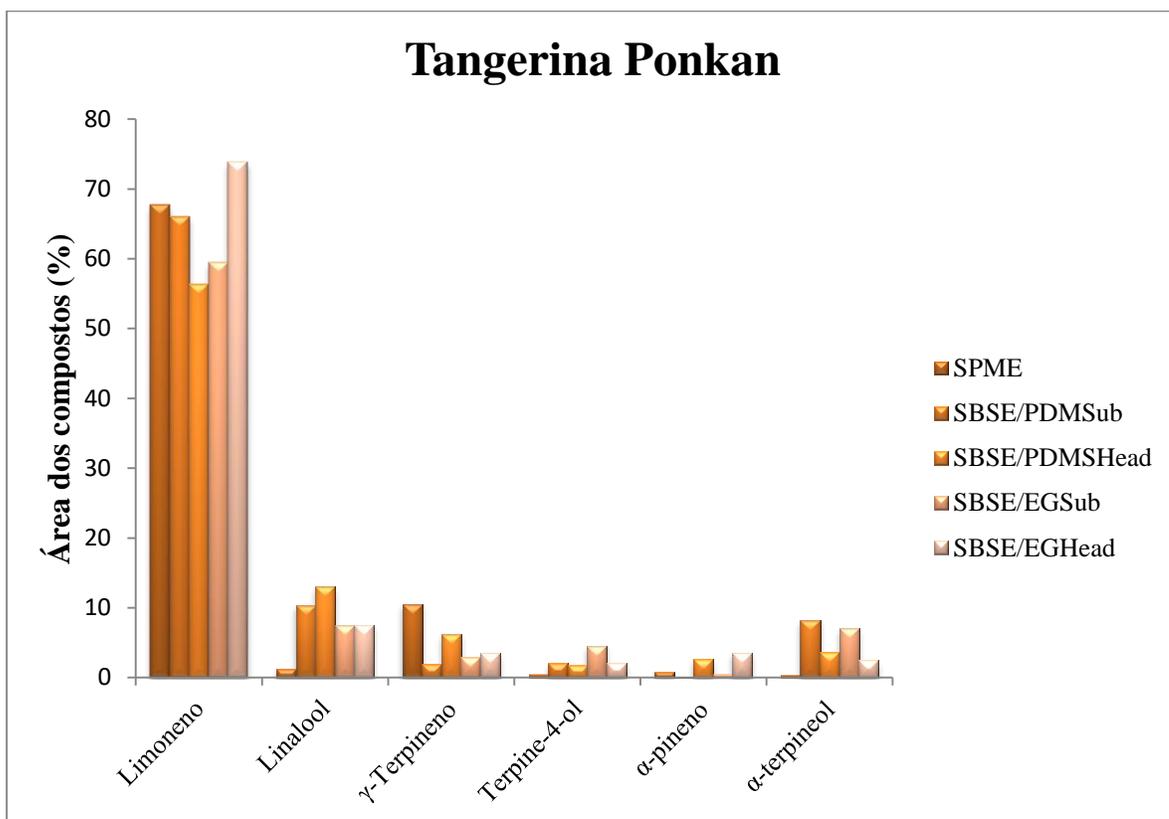
**Figura 12-** Recuperação das classes de compostos de aroma para a técnica de SBSE.



Vários autores observaram que as fibras mais eficazes de SPME, com recuperação simultaneamente alta de analitos apolares e polares, eram aquelas contendo PDMS (operando no modo de sorção) com um ou dois outros componentes (DVB ou Carboxen), operando principalmente no modo de adsorção (BICCHI *et al.*, 2002; ROBERTS *et al.*, 2000). Este fenômeno depende principalmente das características físicas da superfície do adsorvente, de sua interação específica com cada analito e das interações mútuas competitivas entre os analitos e o adsorvente. HSSE e SBSE geralmente dão boas recuperações qualquer que seja a natureza dos compostos e, embora PDMS seja um polímero de polaridade relativamente baixa, discrimina menos do que os analitos de SPME com diferentes estruturas e polaridades amostradas de uma matriz complexa ou os mesmos analitos amostrados de diferentes matrizes (BICCHI *et al.* 2002).

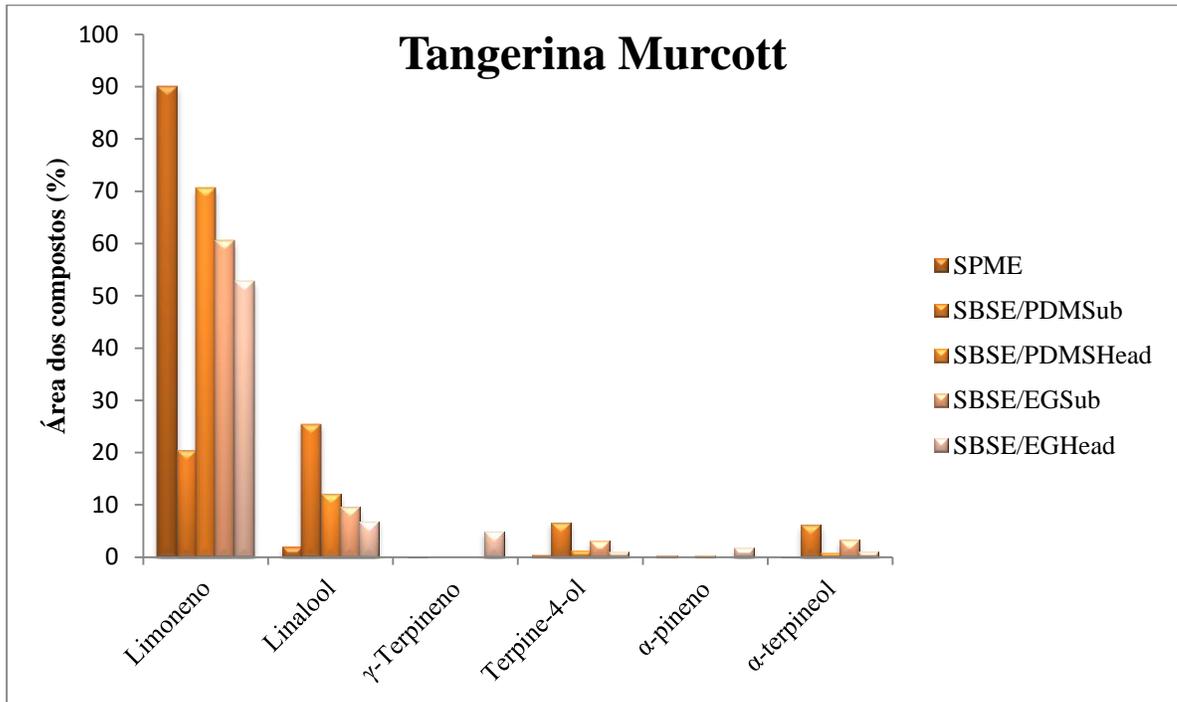
A eficiência de recuperação dos compostos, entre as técnicas, pode ser observada pela concentração dos compostos que caracterizam a qualidade e especificidade do aroma da tangerina e de outras frutas cítricas, como pode ser observado nas figura 13 e 14.

**Figura 13-** Recuperação dos compostos de aroma para a variedade Ponkan



Outra vantagem da técnica de SBSE é sua capacidade de retenção de compostos voláteis e semi-voláteis por trabalhar nos modos de extração submerso e headspace. Permitindo assim uma maior capacidade de reter diferentes compostos. Caso contrário acontece na SPME, onde quando um composto é adsorvido na fibra em grande quantidade, acaba por gerar uma competitividade no fase da fibra dificultando a adsorção de compostos em concentrações menores (GILART *et al.*, 2013).

**Figura 14-** Recuperação dos compostos de aroma para a variedade Murcott



Apesar das diversas vantagens do SBSE ainda é difícil encontrar pesquisas que tratem da análise direta do suco de frutas - uma matriz que contém tanto voláteis quanto semivoláteis. De fato, as aplicações mais notáveis desta técnica para matrizes aquosas foram para o café (BICCHI *et al.*, 2002), uísque, (DEMYTTENAERE, SÁNCHEZ MARTÍNEZ, VERHÉ, SANDRA, & DE KIMPE, 2003) sendo também aplicado em matrizes sólidas como fruta crua (MALOWICKI, MARTIN, & QIAN, 2008; SALINAS, ZALACAIN, PARDO e ALONSO, 2004).

Bicchi *et al.*, (2002) avaliando a eficiência das técnicas de SBSE e SPME para a análise de café arábica normal e torrado encontraram que as barras de agitação PDMS sempre mostraram maior capacidade de concentração do que as fibras de SPME aplicadas. As recuperações de barra de agitação estão entre 20 e 80 vezes mais altas comparadas àquelas da fibra HS-SPME PDMS, o que foi inteiramente devido ao maior volume de revestimento de PDMS.

Uma das vantagens das barras de agitação PDMS é que elas podem ser usadas indiferentemente para SBSE ou HSSE sem afetar a eficácia da amostragem, proporcionando assim correlação entre a composição do espaço de topo e da amostra, em particular entre aqueles

componentes com volatilidades diferentes caracterizando a matriz organoléptica com características como, por exemplo, cheiro e sabor (DAVID *et al.*, 2019).

A principal desvantagem da técnica de SBSE é sua pouca variedade de fases disponíveis comercialmente para a extração, apenas duas (PDMS e EG Silicone). No entanto essa é uma das vantagens da técnica de SPME, a possibilidade de utilização de uma ampla gama de revestimentos para extração. Na prática, entretanto, o PDMS é a fase mais popular no modo de imersão, enquanto o DVB/Carboxen/PDMS é frequentemente usado no modo de headspace para compostos voláteis. Outros polímeros comercialmente disponíveis são pouco utilizados (HAWTHORNE *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 1996).

Concluindo, ambas as técnicas são simples e fáceis de automatizar e não requerem qualquer etapa preliminar de preparação de amostras, evitando o uso de solventes tóxicos ou prejudiciais ao meio ambiente. As barras de agitação PDMS mostraram melhor capacidade de concentração do que todas as fibras SPME.

## 6. CONCLUSÃO

De um modo geral, diante dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir em relação aos objetivos específicos deste trabalho que:

- A caracterização química mostrou-se dentro das faixas encontradas para cada parâmetro analisado na literatura, exceto pela acidez da Murcott que apresentou valor muito abaixo do demonstrado em outros trabalhos para essa variedade;
- Foram extraídos por SPME e identificados para a variedade Ponkan 35 compostos voláteis e para a variedade Murcott, 38 compostos;
- Para as extrações por SBSE foram extraídos e identificados para a Ponkan 52 compostos para ambos os modos submerso e headspace para a fase PDMS enquanto que para a fase EG silicone foram encontrados 26 e 13 compostos, nos modos submerso e headspace, respectivamente;
- Para as extrações por SBSE foram extraídos e identificados para a Murcott 37 e 31 compostos para os modos submerso e headspace, para a fase PDMS, respectivamente. Enquanto que para a fase EG silicone foram encontrados 17 e 32 compostos, nos modos submerso e headspace, respectivamente;
- A melhor fase extratora na técnica SBSE foi a PDMS, que extraiu mais compostos que a fase EG silicone;
- A SBSE provou ser uma técnica, mais eficiente que a SPME na recuperação dos compostos voláteis das duas variedades de tangerina.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/spectrometry**. 4<sup>o</sup> edition. Illinois: Allure. 804p., 2007.

**ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 129 p., 2010.

APARICIO, I., MARTIN, J., MALVAR, J. L., ALONSO, E. Stir bar sorptive extraction and liquid chromatography mass spectrometry determination priority pollutants in waters. **Journal of Chromatography A**, v. 1500, 2017, p. 43-52.

ARAÚJO, W. M. C. **Alquimia dos alimentos**. Brasília: Editora Senac-DF, 2011. 500p.

ARENA, E., GUARRERA, N., CAMPISI, S., 2006. Comparison of odour active compounds detected by gas-chromatography-olfactometry between juices from different orange varieties. **Food Chemistry**. 98, 59-63.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the agricultural chemists**. 11th ed. Revisada. Washington, 2007.

BALDWIN, A. E., BAI, J., PLOTTO, A., CAMERON, G. Effect of extraction method on quality of orange juice: hand-squeezed commercial-fresh and processed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, p. 2029-2042, 2012.

BALTUSSEN, E., SANDRA, P., DAVID, F., CRAMERS, C. Stir Bar sorptive extraction, a novel extraction technique or aqueous samples: theory and principles. **Journal of Microcolumn Separations**., v.11, p.737-747, 1999.

BALTUSSEN, E., CRAMERS, C. A., SANDRA, P. J. F. Sorptive sample preparation-a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 373, p. 3-22, 2002.

BARBONI, T., LURO, F., CHIARAMONTI, N., DESJOBERT, J. M., J. Volatile composition of hybrids Citrus juices by headspace solidphase microextraction/gas chromatography/mass spectrometry. **Food Chemistry**, 2009, 116, 382-390.

BASTIANEL, M. IV Dia de Citros de Mesa: foco em qualidade de fruto. **Informativo Centro de Citricultura**, Cordeirópolis, n. 218, 4 p. jul. 2013.

BASTIANEL, M.; SIMONETTI, L.M.; SCHINOR, E.H.; GIORGI NETO, R.O.; De NEGRI, J.D.; GOMES, D.N.; AZEVEDO, F.A. Avaliação do banco de germoplasma de mexericas com relação às características físico-químicas e suscetibilidade à mancha marrom de alternária. **Bragantia**, v. 73, p. 23-31, 2014a.

BATISTA, A. D. **Fibras para SPME (Microextração em Fase Sólida) recobertas com sílicas modificadas por grupos vinila**. 2010. 64p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BAZMORE, R., GOODNER, K., ROUSEFF, R., 1999. Volatiles from unpasteurized and excessively heated orange juice analyzed with solid phase microextraction and GC-Olfactometry. **Journal of Food Science**. 64, 800-803.

BELO, R. F. C. **Caracterização de genótipos de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) pelo perfil cromatográfico de voláteis**. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BELO, A. P. M.; MORGADO, C. M. A.; SOUZA, E. R. B.; OGATA, T.; PEREIRA, C. C. O.; JUNIOR, L. C. C. Comparative and organic analysis and characterization of varieties of tangerines. **Scientia Horticulturae**., p. 102-108, 2018.

BERLINET, A., GUICHARD, K., FOURNIER, N., DUCRUET, V., 2007. Effect of pulp reduction and pasteurization on the release of aroma compounds in industrial orange juice. **Journal of Food Science**. 72, 535-543.

BICCHI, C., CODERO, C., IORI, C., RUBIOLO, P. Headspace sorptive extraction (HSSE) in the headspace analysis of aromatic and medicinal plants. **Journal of High Resolution Chromatography**., v.23, n.9, p. 539-546, 2000.

BICCHI, C., OIRI, C., RUBIOLO, P., SANDRA, P. Headspace Sorptive Extraction (HSSE), Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE), and Solid Phase Microextraction (SPME) Applied to the Analysis of Roasted Arabica Coffee and Coffee Brew. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2002, 50, 449–459.

BLASCO, C., FONT, G., PICÓ, Y. Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 970, 1-2, p. 201-212, 2002.

BORGES, R. S., PIO, R. M. Comparative study of the mandarin hybrid fruit characteristics: Nova, Murcott and Ortanique in Capão Bonito SP, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura** Vol.25, n.3, Jaboticabal .2003.

BOSCH-FUSTÉA, J.; RIU-AUMATELL, M.; GUADAYOL, J. M.; CAIXACH, J.; LÓPEZ-TAMAMES, E.; BUXADERAS, S. Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis. **Food Chemistry**, v.105, p. 428–435, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998**. Regulamento Técnico Referente à Informação Nutricional Complementar. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/legis>>. Acesso em: 10 de outubro de 2017.

BRAT, P., REGA, B., ALTER, P., REYNES, M., BRILLOUET, M. J. Distribution of Volatile Compounds in the Pulp, Cloud, and Serum of freshly squeezed Orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2003, 51 (11), pp 3442-3447.

BUETTNER, A., SCHIEBERLE, P. Evaluation of aroma differences between hand-squeezed juices from Valencia Late and Navel oranges by quantitation of key odorants and flavor reconstitution experiments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 2387-2394. 2001a.

BUETTNER, A., SCHIEBERLE, P., 2001b. Evaluation of key aroma compounds in hand-squeezed grapefruit juice (*Citrus paradisi* Macfadyen) by quantification and flavor reconstitution experiments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49, 1358-1363.

CACHO, J. J., CAMPILIO, N., VINAS, P., CORDOBA, H. M. Stir bar sorptive extraction with EG-Silicone coating for bisphenols determination in personal care products by GC-MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 78-79 (2013), 255-260.

CACHO, J. J., CAMPILIO, N., VINAS, P., CORDOBA, H. M. Stir bar sorptive extraction polar coatings for the determination of chlorophenols and chloroanisoles in wines using gas chromatography and mass spectrometry. **Talanta**, 118, (2014), p. 30-36.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. S.; MAGALHAES, H. C. R. Microextração em Fase Sólida: Método Analítico Prático para Extração de Compostos Voláteis de Frutas. **Comunicado Técnico 166**. Embrapa Agroindústria Tropical, 5p, 2011.

CASTANHO, J (SD); <http://jacintocastanho.planetaclix.pt/cromatografia.htm> (Acedido a 23/10/2017).

CEAGESP - Programa brasileiro para a melhoria dos padrões comerciais e embalagens de hortigranjeiros centro de qualidade em horticultura. Campinas, 2011.

CHEONG, K.W.; TAN, C.P.; MIRHOSSEINI, H.; HAMID, N.S.A.; OSMAN, A.; BASRI, M. Equilibrium *headspace* analysis of volatile flavour compounds extracted from soursop (*Anona muricata*) using solid phase microextraction. **Food Research International**, 43, 1267–1276., 2010.

CHITARRA, M. I. F. **Tecnologia e qualidade pós-colheita de frutos e hortaliças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000. 68p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. (Ed.). Lavras: UFLA, 2005.

CHUNG, H., CHUNG, W. Y., YOO, E. S., CHO, S. K., OH, S. K., KIM, Y. S., 2012. Characterization of volatile aroma-active compounds in Dangyooja (*Citrus grandis* Osbeck). **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, 55, 133-136.

COSTA, L. **Qualidade pós-colheita de citros**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 17, n. 80, p. 45-51, 1994.

COUTO, M. A. L., GUIDOLIN, S.; BRAZACA, C. Quantification of vitamin C and antioxidant capacity of citrus varieties. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. Campinas.v. 30, p. 15-19, 2010.

CUNHA, S. **Autenticidade e Segurança de Azeites e Azeitonas: Desenvolvimento de metodologias cromatográficas para o doseamento de triacilgliceróis, fitosteróis, tocoferóis/tocotrienóis e pesticidas**. Dissertação (Doutorado). Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. 1-394, 2007.

DAMASCENO, F. C. **Microextração em fase sólida no modo headspace aplicada ao estudo de substâncias voláteis de plantas infestadas por galhas foliares entomógenas**. 2007. 143 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.

DAMIANI, C. **Qualidade e perfil volátil de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) minimamente processado, armazenado sob diferentes temperaturas**. 2006. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

DAVID, F., OCHIAI, N., SANDRA, P. Two decades of stir bar sportive extraction: A retrospective and future outlook. **Trends in Analytical Chemistry**, 112, p. 102-111, 2019.

DAVIES, F.S.; Albrigo, L.G. Crop production in horticulture 2. **Citrus**. London: CAB INTERNATIONAL, 1994. 254p.

DELAHUNTY, C. M.; EYRES, G.; DUFOUR, J. P. Review: Gas chromatography-olfactometry. **Journal of Separation Science**, v. 29, p. 2107-2125, 2006.

DEMYTTENAERE, J. C.R., MARTÍNEZ, J. I. S., VERHÉ, R., SANDRA, P., KIMPE, N. Analysis of volatiles of malt whisky by solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 985, n. 1-2, p. 221-231, 2003.

DENG, J., YANG, Y., WANG, X., LUAN, T. Strategies for coupling solidphase microextraction with mass spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 55, p. 55–67. 2014.

DETONI, M. R. Influência do sol nas características físicas e químicas da tangerina “Ponkan” cultivada do oeste do Paraná. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 624-628, mar/abr. 2009.

DONADIO, L.C. Exigências para Exportação de Citros. In: simpósio internacional de fruticultura produção e qualidade de frutos cítricos. 1., 1999, Botucatu. **Anais** p. 3346.

ELMACI, Y.; ALTUG, T. Flavor characterization of tree mandarin cultivars (Satsuma, Bodrum, Clementine) by using GC/MS and flavor profile analysis techniques. **Journal of Food Quality**, 2005, 28, 163-170.

EMBRAPA (2007). Disponível em: <[http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosBahia\\_2ed/importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosBahia_2ed/importancia.htm)>. Acesso em: 8 nov. 2017.

EPAMIG- Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais . **CITROS** – tangerina.2015. Disponível em < <http://epamig.br> >. Acesso em: 27 ago. 2017.

ETTIÉVANT, P. X.; CALLEMENT, G.; LANGLOIS, D.; ISSNCHOU, S. COQUIBUS, N. Odor intensity evaluation in gas chromatography-olfactometry by Finger Span method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, V. 47, p.1673-1680, 1999.

FAO – Food and Agriculture Organization. Faostat: Statistical database. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>> Acesso em 10 novembro 2017.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.2015. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/535/default.aspx#ancor>>. Acesso em: 10 set. 2017.

FIGUEIREDO, J.O. RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.; POMPEU JR., J.; AMARO, A.A. (eds.). Variedades-copa de valor comercial. **Citricultura Brasileira**. Campinas, Fundação Cargill, P. 228-64.1991.

FRANCO, M. R. B.; JANZANTTI, N. S. Avanços na metodologia instrumental da pesquisa do sabor. Cap. 1, p. 17-28. In: FRANCO, M. R. B. (Ed.). **Aroma e sabor de alimentos: temas atuais**. São Paulo: Editora Varela, 2004.

FULLER, G. H.; TISSERAND, G. A., STELTENK, R. Gas chromatograph with human sensor – perfumer model. Ann. N. Y. **Academy of Sciences of the United States of America.**, 116, p. 711-714, 1964.

GERRETZEN, J.; BUYDENS, L. M. C.; TROMP-VAN DEN BEUKEL, A. O.; KOUSSISSI, E.; BROUWER, E. R.; JANSEN, J. J.; SZYMANSKA, E. A novel approach for analyzing gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry data. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, V. 146, p. 290-296, 2015.

GILART, N., MIRALLES, N., MARCÉ, R. M., BORULL, F., FONTANALS, N. Novel coatings for stir bar sorptive extraction to determine pharmaceuticals and personal care products in environmental waters by liquid chromatography and tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 774. p. 51-60, 2013.

GOODNER, K.; ROUSEFF, R. In: **Practical Analysis of Flavor and Fragrance Materials. Gas Chromatography/Olfactometry - GC/O**. Wiley, p. 69-90, 2011.

GOSTELOW, P.; PARSONS, S. A.; STUETZ, R.M. Odour measurements for sewage treatment works. **Food Research International**, v. 35, n.03, p. 579-597, 2001.

HAYASAKA, Y., MANAMARA, K., BALDOCK, G. A., TAYLOR, R. L., & POLLNITZ, A. P. Application of stir bar sorptive extraction for wine analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.375, p.948–955. 2003.

HERRERA, C., CASTRO, R., BARROSO, G. C., GUERRERO, D. E. Development of a stir bar sorptive extraction method for the determination of volatile compounds in orange juices. **Journal of Separation Science**, v. 39, p. 3586-3593, 2016.

HINTERHOLZER, A., SCHIEBERLE, P. Identification of the most odour-active volatiles in fresh, hand-extracted juice of Valencia Late oranges by odour dilution techniques. **Flavour and Fragrance Journal**, 1998, p. 49-55.

HODGSON, R.W. Horticultural varieties of citrus. In: Walter, R., Leon, D.B., Herbert, J.W. (Eds.). **The Citrus Industry History**, World distribution, Botany, Varieties. Riverside, p. 431–591, 1967.

IBÁÑEZ, E.; LOPÉZ-SEBASTIÁN, S.; RAMOS, E.; TABERA, J.; REGLERO, G. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. **Food Chemistry**, v. 63, p. 281-286, 1998.

INCZEDY, J.; LENGYEL, T.; URE, A. M. **Compendium of Analytical Nomenclature: Definitive Rules 1997, “The Orange Book”**. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 1998.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos - IAL**. 4<sup>o</sup> Edição, 2008.

JANZANTTI, N. S.; MARCORIS, M. S.; GARRUTI, D. S.; MONTEIRO, M. Influence of the cultivation system on the aroma of the volatile compounds and total antioxidant activity of passion fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2010.

JAYAPRAKASHA, G. K.; PATIL, B. S. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 410-418, 2007.

JENNINGS, W. G.; SHIBAMOTO, T. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Gas Chromatography. **Academic Press Books**, 1980. 472p.

KATAOKA, H.; LORD, H.L.; PAWLISZYN, L. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v.880, p. 35-62, 2000.

KOZIEL, A., NOVAK, I. Sampling and sample-preparation strategies based on solid-phase microextraction for analysis of indoor air. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 21, p. 840–850. 2002.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia em fase gasosa**. ed. 1. São Carlos: Acta Eventos, 1993. 240 p.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa Editora, 46p. 2004.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: Packer, L., Douce, R. (Eds.). **Methods in Enzimology**. London: Academic Press, v.148, p.350-81, 1987.

LINSSEN, J. P. H.; JANSSENS, G. M.; ROOZEN, J. P.; POSTHUMUS, M. A. Combined gas chromatography and sniffing pot analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. **Food Chemistry**, v. 46, p.367-371, 1993.

MACHIELS, D.; VAN RUTH, S. M.; POSTHUMUS, M. A.; ISTASSE, L. Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. Elsevier. **Talanta**, v. 60, p. 755-764, 2003.

MAHATTANATAWEE, K., ROUSEFF, R., VALIM, M. F., NAIM, M., 2005. Identification and aroma impact of norisoprenoids in orange juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, 393-397.

MALOWICKI, S. M. M., MARTIN, R., QUIAN, M. C. Volatile composition in raspberry cultivars grown in the pacific northwest determined by stir bar sorptive extraction-gas

chromatography-mass spectrometry, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2008, 56 (11), pp 4128-4133.

MCDANIEL, M. R.; MIRANDA-LOPEZ, R.; WATSON, B.T.; MICHEALS, N.J.; LIBBEY, L.M. Pinot Noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. In: Flavors and off flavors. Charalambous, G. (Ed.); **Elsevier Science Publishers**: Amsterdam, p.2336, 1990.

MCLAFFERTY, F. W. **Interpretation of mass spectra**. Mill Valley: N. Turno, 1994. 293 p.

MCGORRIN, R. J., in: MARSILI, R. (ed.), Flavor, fragrance and odor analysis, 2<sup>nd</sup> edition. CRC Press, Boca Raton 2011, pp. 207-248.

MCNAIR, H. M.; MILLER, J.M. **Basic gas chromatography**. 2<sup>o</sup> edição. Nova Jersey: John Wiley & Sons, 239p., 2009.

MELO, A. P. C.; SELEGUINI, A.; VELOSO, V. R. S. Caracterização física e química de frutos de araçá (*Psidium guineense* Swartz). **Scientific Journal in agricultural and Environmental sciences**, v. 4, n. 1, p. 91-95, 2013.

MINTEGUIAGA, M.; UMPIÉRREZ, N.; FARIÑA, L.; FALCÃO, M. A.; XAVIER, V. B.; CASSEL, E.; DELLACASSA, E. Impact of gas chromatography and mass spectrometry combined with gas chromatography and olfactometry for the sex differentiation of *Baccharis articulata* by the analysis of volatile compounds. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 17, p. 3038-3046, 2015.

MIYAZAWA, T. M. **Compostos voláteis da Uvaia (*Eugenia pyriformis* cambess)**. Dissertação (Mestrado). Departamento de Alimentos e Nutrição. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Araraquara, São Paulo, 2009.

MOSKOWITZ, H.R. **Applied sensory analysis of foods**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 259p.

MOSHONAS, M.G.; SHAW, P.E.; Quantification of volatile constituents in mandarin juices and its use comparison with orange juices by multivariate analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1997, 45, 3968-3972.

NARAIN, N.; ALMEIDA, J. N.; GALVÃO, M. S.; MADRUGA, M. S.; BRITO, E.S. Compostos voláteis dos frutos maracujá (*Passiflora edulis* forma flavicarpa) e de cajá (*Spondias mombin* L) obtidos pela técnica de headspace dinâmico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 24, n.2, p. 212-216, 2004.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. Exportações citrícolas. In: NEVES, M. F. **O Retrato da citricultura brasileira**. FEA /USP Ribeirão Preto, 2010. p. 17-20. Elaboração: Markestrat - Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégia.

NOGUEIRA, J.M.F. Extração Sortiva em Barra de Agitação (SBSE): uma metodologia inovadora para microextração estática. **Scientia Chromatographica**, v.4, n.4, p.259-269, 2012.

OBENLAND, D., COLLIN, S., MACKEY, B., SIEVERT, J. & ARPAIA, M.L. Storage temperature and time influences sensory quality of mandarins by altering soluble solids, acidity and aroma volatile composition. **Postharvest Biology and Technology**, 59, 187–193, 2011.

OBENLAND, D., COLLIN, S., MACKEY, B., SIEVERT, J. & ARPAIA, M.L. Mandarin flavor and aroma volatile composition are strongly influenced by holding temperature. **Postharvest Biology and Technology**, 82 (2013), pp. 6-14.

OCHIAI, N., SASAMOTO, K., IEDA, T., DAVID, F., SANDRA, P. Multi-stir bar sorptive extraction for analysis of odor compounds in aqueous samples. **Journal Chromatography A**, 1315 (2013), p. 70-79.

PACHECO, C. A.; AZEVEDO, F. A.; BARROS, V. N. P.; CRISTOFANI-YALI, M.; VERRUMA-BERNARDI, M. R. Fremont - IAC 543: tangerine with potential for the brazilian market. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, n. Spe., (e-436), 2017.

PARAVISINI, L. Caramel odor: Contribution of volatile compounds according to their odor qualities to caramel typicality. **Food Research International**, v.57, p.79-88, Marc. 2014.

PARENTE, T. V.; WECHSLER, F. S.; BORGIO, L. A.; REZENDE, L. P. Comportamento da tangerineira Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) sobre 14 porta-enxertos do Distrito Federal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 15, n. 1, p. 35-41, 1993.

PASTORE, G. M.; MACEDO, G. A. Lipases microbianas na produção de ésteres formadores de aroma. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 17 (2):115-119, 1997.

PAWLISZYN, J.; ARTHUR, C. L.; KILLAN, L. M.; BUCHHOLZ, K. D. Automation and optimization of solid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, v.64: p. 1960-1966, 1992 .

PELLISSARI, L. Q. Tangerina ponkan é rica em antioxidantes e diminui o risco de Alzheimer. Centrais de abastecimento do Espírito Santo – CEASA/ES. Disponível em: Acesso em 30 Set. 2017.

PEREIRA, D. C. F. **Deteção de Subprodutos da Desinfecção com cloro em água dessalinizada**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. 1-139, 2007.

PEREZ-CACHO, P. R.; ROUSEFF, R. Fresh squeezed orange juice odor: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 48:681–695(2008).

PÉREZ-LÓPEZ, A. G.; CARBONELL-BARRACHINA, A. A. Volatile odour components and sensory quality of fresh and processed mandarin juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2006, 86, 2404-2411.

PIO, R. M., AZEVEDO, F.A.; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O.; CASTRO, J.L. Características da variedade Fremont quando comparadas com as das tangerinas 'Ponkan' e 'Clementina Nules'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 222-226, 2006.

PIO, R.M.; FIGUEIREDO, J.O.; STUCHI, E.S.; CARDOSE, S.A.B. Variedades copas. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, .2005, 929 p.

PIO, R.M.; KEIGO, M.; FIGUEIREDO, J.O. Características do fruto Span Americana (*Citrus reticulata* Blanco): Uma tangerina do tipo “Poncãn” de maturação precoce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.23, n.2, p.325-329, ago.2001.

PLOTTO, A.; MARGARIA, C. A.; GOODNER, K. I.; BALDWIN, E. A., 2008. Odour and flavor thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: esters and miscellaneous compounds. **Flavor Fragrance Journal**, 23, 398-406.

POLLIEN, P.; FAY, L.B.; BAUMGARTNER, M.; CHAINTREAU, A. First attempt of odorant quantitation using gas chromatography-olfactometry. **Analytical Chemistry**, v.71, n.23, p.5391-5397, 1997.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In:CITROS. Campinas, **Instituto Agrônomo e Fundag**, p.63-104.2005.

PRIETO, A.; BASAURI, O.; RODIL, R.; USOBIAGA, A.; FERNÁNDEZ, L.A.; ETXEBARRIA, N.; ZULOAGA, O. Stir-bar sorptive extraction: A view on method optimisation, novel applications, limitations and potential solutions. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p.2642–2666, 2010.

QIAO, Y., XIE, B. J., ZHANG, Y., FAN, G., YAO, X. I., PAN, S. T., 2008. Characterization of aroma active compounds in fruit juice and peel oil of Jinchen sweet orange fruit (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) by GC-MS and GC-O. **Molecules**, 13, 1333-1344.

RAMALHO, A. S. T. M. **Sistema funcional de controle de qualidade a ser utilizado como padrão na cadeia de comercialização de Laranja Pêra (*Citrus sinensis* L.Osbeck)**. 91 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.

REGA, B., FOURNIER, N., GUICHARD, E., 2003. Solid phase microextraction (SPME) of orange juice flavor: odor representativeness by direct gas chromatography olfactometry (D-GC-O). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 7092-7099.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. F. S.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n.5, p. 771-780, 2004.

RIU-AUMATELL, M., CASTELLARI, M., LÓPEZ-TAMAMES, E., GALASSI, S., BUXADERAS, S. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. **Food Chemistry**, v. 87, n.4, p. 627-637, 2004.

ROUSEFF, R. L., DETTWEILER, G. R., SWAINE, R. M., ZEHAVI, M. U. Solid-phase extraction and HPLC determination of 4-vinyl guaiacol and its precursor, ferulic acid, in orange juice. **Journal of Chromatographic Science**, v. 30, pp. 383-387, 1992.

SALINAS, M. R., ZALACAIN, A., PARDO, F., ALONSO, G. L. Stir bar sorptive extraction applied to volatile evolution during vitis vinifera ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2004, 52 (15), pp 4821-4827.

SAUNT, J. **Citrus varieties of the world: an illustrated guide**. Norwick: Sinclair International, 2000, 160p.

SCHIEBERLE, P.; Grosch, W. Evaluation of the flavor of wheat and rye. **Z. Lebensm.-Unters. Forsch**, V. 184, p. 111-113, 1987.

SCHWAB, W.; DAVIDOVICH-RIKANATI, R.; LEWINSOHN, E. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. **The Plant Journal**, Malden, v. 54, n. 4, p. 712-732, 2008.

SELLI, S., KELEBEK, H., 2011. Aromatic profile and odour-activity value of blood orange juices obtained from Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Industrial Crops and Products**. 33, 727-733.

SIQUEIRA, AZEVEDO; SIQUEIRA, BJERK. Introdução à cromatografia com ênfase em material Biológico. Porto Alegre: Edipucrs,2003.

SDIRI, S., BERMEJO, A., ALEZA, P., NAVARRO, P., SALVADOR, A. Phenolic composition, organic acids, sugars, vitamin C and antioxidant activity in the juice of two new triploid late-season mandarins. **Food Research International** 49, 462–468, 2012a.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1055 p.

SKOOG; HOLLER; NIEMAN. **Princípios de análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

STEFFEN, A., PAWLISZYN, J. Analysis of flavor volatiles using headspace solid-phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 44 (1996), pp. 2187-2193.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. Academic Press:New York.1993, 338p.

SWINGLE, W.T. The botany of Citrus and its relatives in the Orange subfamily. In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.) **The Citrus Industry**. Berkeley and Los Angeles: University of California Press, 1943. V. 1, p. 128-474.

SWINGLE, W.T.; REECE, P.C. The botany of citrus and its wild relatives. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.). **The Citrus Industry**. Berkeley and Los Angeles: University of California, 1967. V. 1, p. 190-430.

TAO, N.; AO, T.; LIU, Y.; HUANG, S. Effect of sucrose-based polymers on quality of Satsuma mandarin fruit (*Citrus unshiu* Marc. Cv. Miyagawa Wase). **Int. Journal of Food Science and Technology**, 47 (2012), pp. 997-1003.

TEIXEIRA, J.P.F.; Marques, M.O.M.; Pio, R.M. Caracterização dos óleos essenciais em frutos de nove genótipos de tangerina. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, 2014, 35, 1, 1-10. DOI: 10.5935/2236-3122.20140001.

TIETEL, Z.; LEWINSOHN, E.; FALLIK, E.; PORAT, R. Elucidating the roles of ethanol fermentation metabolism in causing off- flavors in Mandarins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2011, 59 (21), pp 11779–11785.

TRAJANO, V. N. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2009, v.29, n.3, p.542-545.

TURIEL, E., ESTEBAN, M. A. Molecularly imprinted stir bars for selective extraction of thiabendazole in citrus samples. **Journal of Separation Science**, v. 35, p. 2962-2969, 2012.

ULLTICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intense volatile flavor compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung**, v. 184, p. 277-282.

VAN RUTH, S. M. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. **Biomolecular Engineering**, V. 17, I. 4-5, p. 121-128, 2001.

VESELY, P., LUSK, L., BASAROVA, G., SEABROOKS, J., RYDER, D. Analysis of aldehydes in beer using solid-phase microextraction with on fiber derivatization and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 51, p. 6941–6944. 2003.

XAVIER, V. B. **Investigação sobre compostos voláteis de espécies de Baccharis nativas do Rio Grande do Sul**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e

Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Brasil. Porto Alegre, 2011.

XU, Q., CHEN, L. L., RUAN, X., CHEN, D., ZHU, A., CHEN, C., RUAN, Y. The draft genome of sweet Orange (*Citrus sinensis*). **Nature Genetics**, v. 45, p. 59-66, 2013.

ZHANG, Z. M.; ZENG, D. D.; LI, G. K. The study of the aroma profile characteristics of durian pulp during storage by the combination sampling method coupled with GC-MS. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 71-77, 2006.

WALSH, M., ROUSEFF, R., NAIM, R. Determination of furaneol and p-vinylguaiacol in orange juice employing differential UV wavelength and fluorescence detection with a unified solid phase extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, pp. 1320-1324, 1997.

WANG, Y., YANG, C., LI, S., YANG, L., WANG, Y., ZHAO, J., JIANG, Q. Volatile characteristics of 50 peaches and nectarines evaluated by HP-SPME with GC-MS. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 356-364, 2009.

WEI, C. Characteristic aroma compounds from different pineapple parts. **Molecules**, v. 16, n. 6, p. 5104-5112, 2011.

YU, Y.; BAI, J.; CHEN, C.; PLOTTO, A.; BALDWIN, E.; GMITTER, F. Comparative analysis of juice volatiles in selected mandarins, mandarin relatives and other citrus genotypes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2018; 98: 1124–1131.