



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DE VOLÁTEIS DE PIMENTA TABASCO POR HS-SPME

W.S. Mesquita¹; A.B. Luz²; L.C. Da Silva¹; R.C.A. Pereira³; D.S. Garruti³

1- Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais – Universidade Estadual do Ceará – Centro de Ciências e Tecnologia – CEP: 60.714-903 – Fortaleza – CE – Brasil, Telefone: +55 (85) 3101-9766 – e-mail: (luanacarvalho@hotmail.com; wiviansm@gmail.com);

2 – Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Ceará – Centro de Ciências da Saúde CEP: 60430-160 – Fortaleza – CE – Brasil, Telefone: +55 (85) 3366-8008 - e-mail: (alynebarroso@gmail.com)

3-Embrapa Agroindústria Tropical – CEP: 60511-110 – Fortaleza-CE – Brasil, Telefone: +55 (85) 3391-7232 - Fax: +55 (85) 3391-7109 – e-mail: (rita.pereira@embrapa.br; deborah.garruti@embrapa.br);

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi realizar uma comparação do desempenho das condições de extração de voláteis do headspace de pimentas pela técnica de microextração em fase sólida (HS-SPME), descritas na literatura, para uso em pimentas Tabasco. Foram testadas cinco condições variando três fatores influentes para a captura de voláteis: tempo de equilíbrio, tempo de exposição da fibra (extração) e temperatura do sistema. As análises foram realizadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (CG-FID). As variáveis medidas foram número de picos e área total do cromatograma. Os melhores resultados para extração dos compostos voláteis foram obtidos com a amostra submetida à temperatura de 65 °C, tempo de extração 45 min e sem tempo de equilíbrio.

ABSTRACT - The objective of this study was to compare the performance of the extraction conditions of pepper headspace volatiles by microextraction in solid phase technique (HS-SPME) described in the literature to use in Tabasco peppers. Five conditions were tested varying three influential factors in extracting volatiles: equilibrium time, fiber exposure time (extraction) and system temperature. The analyses were performed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). The measured variables were peak number and chromatogram total area. The best results for extraction of volatiles, were obtained with the sample under temperature of 65 °C, extraction time 45 min without equilibration time.

PALAVRAS-CHAVE: aroma; cromatografia em fase gasosa; *Capsicum frutescens*; padronização.

KEYWORDS: aroma; gas chromatography; *Capsicum frutescens*; standardization.

1. INTRODUÇÃO

As pimentas do gênero *Capsicum* apresentam expressiva importância econômica e social para o agronegócio mundial, com mais de 200 espécies cultivadas em todo o mundo (Mosquera e



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section IV International Technical Symposium

Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 • FAURGS • GRAMADO/RS

Mendez, 1994). Devido às suas características de pungência, aroma e cor, essas pimentas são largamente utilizadas como tempero na culinária (Whitfield e Last, 1991). *Capsicum frutescens*, comumente conhecida como pimenta vermelha, Tabasco ou Malagueta, é uma das pimentas mais utilizadas para esse fim (Duarte et al., 2004; Bontempo, 2007). É consumida in natura, em conserva e na forma de molhos (Carvalho et al., 2006); seus frutos são pequenos, vermelhos e possuem sabor bastante forte e picante. Além disso, a pimenta Tabasco possui um aroma característico e agradável, realçando o sabor de muitos alimentos (Haymon e Aurand, 1971).

Os fatores de qualidade mais importantes da pimenta *Capsicum* são a sua pungência e cor, no entanto, um volume crescente de pesquisas sobre a avaliação da qualidade dos alimentos tem abordado a caracterização dos compostos voláteis, a fim de compreender o aroma dos alimentos (Luning et al., 1994; Cremer e Eichner, 2000; Ruth et al., 2003). A análise do perfil de voláteis de um alimento envolve quatro etapas, sendo elas, a extração dos compostos voláteis, a separação, a identificação e a análise sensorial. Dentre as diversas técnicas utilizadas para a extração dos compostos voláteis, a micro-extração em fase sólida do headspace (HS-SPME- *solid phase micro- extraction*) vem sendo amplamente utilizada por apresentar vantagens, como rapidez de extração, simplicidade, possibilidade de trabalhar com pequenas quantidades da amostra, ausência de solventes orgânicos, baixo custo, transferência direta dos analitos no injetor do cromatógrafo, dentre outras (Kataoka et al., 2000).

O desempenho da técnica HS-SPME depende de vários fatores, como a natureza química dos compostos a serem extraídos, a escolha correta do material da fibra de extração, da temperatura a que o sistema é submetido durante a extração, do tempo para formação do *headspace* (tempo de equilíbrio) e do tempo de exposição da fibra. Sendo assim, quando vários fatores influenciam na resposta do sistema, uma padronização das condições de extração torna-se necessária para selecionar as variáveis que potencializam a extração dos compostos em questão.

Existem na literatura diversos trabalhos sobre a otimização e adaptações das condições de captura de voláteis por HS-SPME, para diversas espécies de pimenta, com condições bem distintas que vão de 30 a 80 minutos de tempo de exposição da fibra, 40 °C a 65 °C de temperatura, com e sem tempo de equilíbrio (Mazida et al., 2005; Sousa et al., 2006; Alves et al., 2010; Bogusz Junior et al., 2011; Garruti et al., 2013). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma comparação do desempenho das condições descritas em cada um desses trabalhos para selecionar a condição mais adequada para extração dos compostos voláteis da pimenta Tabasco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das Amostras

A cultivar de pimenta BRS Avaí, utilizada no presente trabalho, originou-se de seleção recorrente fenotípica, na população original Tabasco Macllhenny (TM), introduzida e cultivada no Ceará nos anos 2000 pela Embrapa Agroindústria Tropical. As amostras foram colhidas no Horto da Embrapa, lavadas em água corrente, moídas até a forma de pasta, pesadas (5 g), acondicionadas em vials de 20 mL e mantidas congeladas (-18 °C) até a realização das análises.

2.2. Isolamento dos Compostos Voláteis

A extração dos compostos voláteis da pimenta Tabasco foi realizada pelo método de concentração de vapores em espaço confinado (headspace) através da técnica de microextração em fase sólida (SPME). A fibra de SPME utilizada foi a de revestimento misto DVB/CAR/PDMS Supelco (Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA), com espessura de 30 µm de filme e 10 mm de comprimento.



As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás, marca Varian 3800 CG, com detector FID. O pré-condicionamento da fibra foi realizado a 240 °C por 15 minutos no injetor do cromatógrafo. A coluna utilizada foi a RTX-5, de polaridade intermediária. A programação de temperatura iniciou com 50 °C, alcançando 120 °C com taxa de 5 °C/min e atingindo temperatura final de 180 °C a 2 °C/min.

2.3. Condições de Extração por HS-SPME

Foram testadas 5 condições de extração de voláteis de pimentas da literatura (tratamentos), sendo 3 referentes a trabalhos de otimização das condições de extração (Mazida et al., 2005; Sousa et al., 2006; Bogusz Junior et al., 2010) e duas que realizaram adaptações (Alves et al., 2010; Garruti et al., 2013;). Na Tabela 1 encontram-se descritas as condições de extração utilizadas no presente trabalho para tempo de equilíbrio, tempo de exposição da fibra e temperatura de extração, com seus respectivos autores.

2.4. Análise Estatística

Os dados para número de picos e área total do cromatograma foram submetidos à análise estatística descritiva com cálculo de média e desvio padrão, além de Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$) para determinar diferença entre as médias, utilizando o programa estatístico Statistical Analytical Systems (SAS) Versão 6.11 (SAS, 1996). Uma análise multivariada de Componentes Principais (ACP) também foi aplicada à tabela das médias para melhor visualização da variabilidade entre os tratamentos, utilizando o programa XLSTAT®, versão 6.11.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentadas as médias do número de picos e da área total para cada uma das cinco condições testadas quanto à capacidade de captura da fração volátil da pimenta BRS-Avaí (*Capsicum frutescens*), bem como o resultado do teste de médias. A condição 1 apresentou baixos resultados para número de picos e área total do cromatograma, porém sem diferir significativamente de algumas das condições testadas. Essa condição utilizada por Mazida et al. (2005), de apenas 30 minutos de exposição da fibra (captura) a 60 °C e sem tempo de equilíbrio, foi insuficiente para que os voláteis se desprendessem completamente da amostra, preenchessem o *headspace* e fossem adsorvidos pela fibra. Todas as demais condições obtiveram resultados semelhantes entre si, porém foi possível fazer algumas observações a respeito dos parâmetros testados.

A condição utilizada por Sousa et al. (2006) apresentou melhores resultados em relação à condição 1 devido ao tempo e temperatura mais elevados. Comparando seus resultados com o desempenho da condição utilizada por Alves et al. (2010), observa-se ainda que o aumento do tempo para formação do *headspace* não aumentou significativamente a área total e o número de picos, mostrando que não é necessário se fazer um tempo de equilíbrio antes da extração.

Bogusz Junior et al. (2011) fizeram uma extensa otimização dos parâmetros de extração dos voláteis para diversas pimentas, resultando em um método com baixa temperatura, tempo de equilíbrio de 15 min e longo tempo de captura (80 min). No entanto, o número de picos e área total para a pimenta BRS Avaí analisada por essa condição não se diferenciaram em relação às outras, demonstrando que essa estratégia não foi eficaz para o aumento da extração de voláteis.

Da mesma forma, a condição de Garruti et al. (2013) emprega um maior tempo de extração com uma temperatura mais baixa, obtendo resultados satisfatórios, mas não superiores aos obtidos com a condição de Sousa (2006), que utiliza menor tempo de extração e temperatura mais alta. Portanto, pode-se inferir que a temperatura mais alta favorece a liberação dos voláteis da pimenta que ficam presos à fase oleosa da matriz. Além disso, como o tempo de captura é menor, a matriz não é exposta por um longo período de tempo à alta temperatura evitando a formação de artefatos e/ou degradação de voláteis termolábeis (Franco, 2003). Segundo Valente e Augusto (2000), altas temperaturas do sistema aumentam



a volatilização dos compostos, facilitando sua saída da matriz e reduzindo o tempo necessário para atingir o equilíbrio.

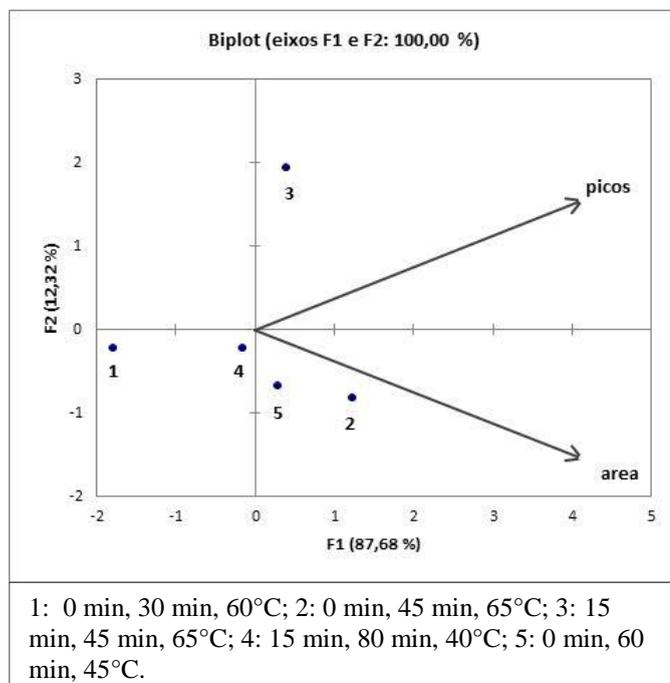
A Figura 1 apresenta a representação *biplot* dos tratamentos e das variáveis nas duas primeiras componentes principais, as quais responderam por 100% da variância. Observa-se que os resultados da análise de variância foram confirmados, com as condições 2, 3 e 5 localizadas no lado positivo da F1, onde estão os vetores apontando para a região de aumento das variáveis número picos e área total. A condição 1, por ter apresentado os menores valores para ambas as variáveis, ficou localizada no lado oposto. Nesse tipo de análise, as diferenças entre os tratamentos são maximizadas, o que explica o deslocamento da condição 3 para o quadrante superior direito, mais próximo ao número de picos e mais afastada da área total.

Tabela 1. Médias do número de picos e área total de cinco condições de extração dos voláteis

Condição de captura	RB	t. equil.	t. exp.	T°C	NP	A (x 10 ⁶)
1	Mazida et al. (2005)	0	30	60	106 ± 4 b	14,3 ± 0,1 b
2	Sousa et al. (2006)	0	45	65	126 ± 6 a	22,4 ± 5,2 a
3	Alves et al. (2010)	15	45	65	128 ± 8 a	17,8 ± 0,8ab
4	Bogusz et al. (2011)	15	80	40	118 ± 8ab	18,4 ± 2,4ab
5	Garruti et al. (2013)	0	60	45	120 ± 18ab	19,9 ± 2,9 a

RB: Referências bibliográficas; t. equil.: tempo de equilíbrio; t. exp.: tempo de exposição; T°C: temperatura (°C); NP: número de picos; A: área total do cromatograma (x 10⁶).

Figura 1. ACP das cinco condições de extração dos compostos voláteis da pimenta BRS-Avaí.





4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, a melhor condição para extração dos compostos voláteis do *headspace* da pimenta Tabasco é temperatura de 65 °C, tempo de extração de 45 min e sem tempo de equilíbrio, visto que apresenta resultados satisfatórios e possui menor tempo de análise. Vale ressaltar que esse é um trabalho inicial, necessário para a identificação dos voláteis da BRS-Avaí e de diferentes progênies de pimenta Tabasco, bem como para a determinação dos compostos com maior importância odorífera por meio de CG-Olfatometria.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, V. C. C., Pinto, N. O. F., Penha, M. F. A., Garruti, D. S. (2011). Perfil e impacto odorífero de compostos voláteis da pimenta BRS Seriema: uma nova varietal de C. Chinense. In: 9º *Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos*, Campinas: FEA-UNICAMP.
- Bogusz Junior, S., De Melo, A.M.T., Zini, C.A., Godoy, H.T. (2011). Optimization of the extraction conditions of the volatile compounds from chili peppers by headspace solid phase micro-extraction. *Journal of Chromatography A*, 1218, 3345-3350.
- Bontempo, M. (2007). *Pimenta e seus benefícios à saúde*. São Paulo: Alaúde,
- Carvalho, S. I., Bianchetti, L. B., Ribeiro, C. S. C., Lopes, C. A. (2006). *Pimentas de gênero Capsicum no Brasil*. Brasília: Embrapa Hortaliças, série Documentos, (94), 27.
- Cremer, D. R., Eichner, K. (2000). Formation of volatile compounds during heating of spice paprika (*Capsicum annuum*) powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (6), 2454-2460.
- Duarte, C., Moldão-Martins, M., Gouveia, A. F., Da Costa, S. B., Leitão, A. E., Bernardo-Gil, M. G. (2004). Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). *J. Of. Supercritical Fluids*, 30, 155-161.
- Franco, M. R. B. *Aroma e sabor de alimentos: temas atuais*. São Paulo: Varela, 2003. 246 p.
- Garruti, D.S., Pinto, N.O.F, Alves, V.C.C, Penha, M.F.A., Tobaruela, E.C., Araújo, I.M.S. (2013). Volatile profile and sensory quality of new varieties of *Capsicum chinense* pepper. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 33, 102-108.
- Haymon, L.W., Aurand, L.W. Volatile constituents of Tabasco Peppers. (1971). *J. Agr. Food Chem*, 19 (6), 1131-1134,
- Kataoka, H., Lord, H.L., Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, 880 (1-2), 35-62.
- Luning, P. A., De Rijk, T., Wichers, H.J., Roozen, J.P. (1994). Gas chromatography, mass spectrometry and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (*Capsicum annuum*) at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42 (4), 977-983.
- Mazida, M.M., Salleh, M.M., Osman, H. (2005). Analysis of volatiles aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 427-437.
- Mosquera, M. I. M., Mendez, D. H. (1994). Formation and transformation of pigment during the fruit ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola and agridulce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 38-44.
- Ruth, V., Boscaini, E., Mayr, D., Pugh, J., Posthumus, M. (2003). Evaluation of three gas chromatography and two direct mass spectrometry techniques for aroma analysis of dried red bell peppers. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223-224, 55-65.
- Sousa, E.T., Rodrigues, F.M., Martins, C. C., Oliveira, F. S., Pereira, P.A.P., Andrade, J.B. (2006). Multivariate optimization and HS-SOME/GC-MS analysis of VOCs in red, yellow and purple varieties of *Capsicum chinense* sp. Peppers. *Microchemical Journal*. 82, 142-149.



Valente, A.L.P., Augusto, F. (2000). Microextração por fase sólida. *Química Nova*. 23, 523-530.

Whitfield, F. B., Last, J. H.. Vegetable. In: H. Maarse et al. (Eds), *Volatile Compounds in food and Beverages*, Dekker, New York, pp. 203-281, 1991.