



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA**

DENISLEY GENTIL BASSOLI

**IMPACTO AROMÁTICO DOS
COMPONENTES VOLÁTEIS DO CAFÉ SOLÚVEL:
UMA ABORDAGEM ANALÍTICA E SENSORIAL**

LONDRINA
2006

DENISLEY GENTIL BASSOLI

**IMPACTO AROMÁTICO DOS
COMPONENTES VOLÁTEIS DO CAFÉ SOLÚVEL:
UMA ABORDAGEM ANALÍTICA E SENSORIAL**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação, em Ciência de Alimentos, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva.

Londrina
2006

DENISLEY GENTIL BASSOLI

**IMPACTO AROMÁTICO DOS
COMPONENTES VOLÁTEIS DO CAFÉ SOLÚVEL:
UMA ABORDAGEM ANALÍTICA E SENSORIAL**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Rui Sérgio dos Santos Ferreira da Silva
- Presidente / Orientador

Prof^a. Dr^a. Natália Soares Janzantti - Titular

Prof^a. Dr^a. Inar Alves de Castro - Titular

Prof^a. Dr^a. Sandra Helena Prudencio Ferreira -
Titular

Prof^a. Dr^a. Marta de Toledo Benassi - Titular

Londrina, 09 de março de 2006

DEDICATÓRIA

À minha família, em especial KAÍSA, BRUNA e MARLENE, aos amigos... presentes de todas as horas...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. RUI SÉRGIO DOS SANTOS FERREIRA DA SILVA, pelo comprometimento e dedicação durante sua orientação.

À Prof^a. Dr^a. MARTA DE TOLEDO BENASSI, pela ajuda e orientação preciosas.

À Companhia Iguaçu de Café Solúvel, que permitiu a realização deste trabalho.

Ao pessoal da Pesquisa e Desenvolvimento da Companhia Iguaçu de Café Solúvel, amigos e colegas, por toda a cooperação ao longo do trabalho.

Aos amigos e a todos que, de diversas formas, contribuíram para a concretização deste trabalho.

A meus pais, pelos exemplos, pela memória.

BASSOLI, Denisley G. **Impacto aromático dos componentes voláteis do café solúvel**: uma abordagem analítica e sensorial. 2006. 238f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

RESUMO

A aplicação de métodos instrumentais e analíticos cada vez mais sofisticados tem aprimorado a avaliação objetiva do aroma, característica determinante da qualidade de alimentos e de sua aceitabilidade, tendo sido detectados mais de oitocentos componentes voláteis no café torrado, mas com escassa informação disponível para café solúvel. Atualmente, a produção mundial de café solúvel é de aproximadamente quinhentas mil toneladas, sendo o Brasil um importante produtor. O café solúvel é obtido a partir do café torrado, que tem os componentes hidrossolúveis extraídos e secos. Durante seu processamento, ocorrem diversas perdas aromáticas, distanciando sua qualidade do café de coador. Recentemente, há uma tendência da melhoria da qualidade do café solúvel, que pode representar um melhor posicionamento de vendas nos mercados. Essa melhoria da qualidade da percepção pelos consumidores está vinculada não só ao conteúdo aromático do produto, como também à sua qualidade intrínseca. Muitos componentes voláteis de alimentos são sensorialmente irrelevantes e métodos empregados mais recentemente têm permitido aos pesquisadores a identificação e quantificação de um número comparativamente pequeno de compostos de aroma relevantes. A composição da fração volátil do café solúvel tem sido pouco estudada, reforçando a necessidade de se obter mais detalhes sobre as sutis diferenças das técnicas produtivas aplicáveis e entre produtos, orientadas para a percepção e a preferência dos consumidores. Empregando uma abordagem integrando técnicas analíticas e sensoriais em amostras nacionais e internacionais, este trabalho tem por proposta identificar os principais componentes do aroma do café solúvel e seu impacto sensorial, os quais permitirão o desenvolvimento focado de alternativas tecnológicas para melhoria do aroma do produto, com potenciais reflexos econômicos em sua comercialização. Os compostos voláteis foram isolados pelas técnicas de *headspace* e SPME, e então identificados através de cromatografia gasosa acoplada a detector de massas. Foi utilizada a técnica de GC-FID/O para a descrição sensorial qualitativa dos voláteis pelo método do Perfil Livre, com resultados comparados aos obtidos utilizando um nariz eletrônico. A análise estatística dos dados obtidos foi realizada empregando a Análise de Procusto Generalizada. Foram detectados analiticamente até 429 compostos voláteis nas sete amostras analisadas, sendo que 132 foram percebidos sensorialmente, sendo 69 com identificação positiva. Entre estes, 24 puderam ser quantificados e 22 foram apontados como de relevante impacto sensorial. Propuseram-se doze grupos sensoriais para definição do espaço sensorial para cafés solúveis. O nariz eletrônico apresentou-se como ferramenta funcional para a classificação de cafés solúveis.

Palavras-chave: Compostos voláteis. Impacto aromático. Café solúvel. Olfatometria. SPME. GC-MS. GC/O. OSME. Perfil Livre. Nariz eletrônico.

BASSOLI, Denisley G. **Key volatile components of soluble coffee aroma: an analytical and sensorial approach.** 2006. 238f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2006.

ABSTRACT

The application of more and more sophisticated instrumental and analytical methods has been perfecting the objective aroma evaluation, a determinant characteristic in food quality and its acceptance, having been detected more than eight hundred volatile components in roasted coffee, however scarce information is available about soluble coffee. Presently, soluble coffee world production is approximately five hundred thousand tons, being Brazil an important producer. Soluble coffee is obtained starting from roasted coffee beans that have their water soluble compounds extracted and dried. During its processing, several aromatic losses happen, causing a quality downgrade when comparing it to the respective brewed coffee. Recently, there is a tendency towards quality improvement of soluble coffee, representing a better sales positioning on the market. This improvement on consumer's quality perception is linked with both the overall product aroma content and its intrinsic quality. From the sensorial point of view, many food volatile components are irrelevant and more recent methods allowed researchers to identify and quantify a comparatively smaller number of relevant aroma compounds. The composition of the volatile fraction of soluble coffee has not been deeply studied, reinforcing the need to obtain more details on the subtle differences of the applicable productive techniques and among products, always guided towards consumer's perception and preference. Considering an approach that understands analytical and sensorial techniques for both Brazilian and international products, this work aims to identify the main components of the soluble coffee aroma and their sensorial impact, that shall allow the focused development of technological alternatives for aroma enhancement that would potentially reflect on the economics of its commercialization. The volatile components were isolated via headspace and SPME techniques and then identified by GC-MS. The GC-FID/O technique was used for the volatiles qualitative sensorial description by the Free Profile method, with results compared with those obtained using an electronic nose device. The statistical analysis of the sensorial data obtained will be computed by the Generalised Procrustes Analysis. On the seven samples tested, up to 429 volatile compounds were analytically detected, being 132 detected on the sensory analysis, 69 with positive identification. Among these, 24 were quantified and 22 indicated to be of sensorial impact. Twelve sensorial groups were proposed to define a sensorial space for instant coffees. The electronic nose tested proved to be a functional tool to classify instant coffees.

Keywords: Volatile compounds. Flavour impact. Soluble coffee. Olfactometry. SPME. GC-MS. GC/O. OSME. Free Choic Profile. Electronic nose

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição por estado da produção cafeeira brasileira referente aos anos 2001/2002 (em milhares de sacas de 60kg).....	29
Figura 2 – Fluxograma simplificado do processamento industrial do café solúvel.....	33
Figura 3 – Fluxo genérico simplificado para análise e identificação de componentes voláteis	38
Figura 4 – Representação esquemática da utilização da fibra na análise extrativa com SPME.....	48
Figura 5 – Representação do <i>holder</i> e da fibra utilizada na técnica de SPME.....	49
Figura 6 – Esquema do funcionamento do sistema olfativo humano.....	67
Figura 7 – Esquema do funcionamento de um nariz eletrônico	67
Figura 8 – Visão geral da metodologia empregada para análise dos componentes aromáticos	76
Figura 9 – Equipamentos utilizados pelos julgadores nas análises de olfatométrica com a técnica de OSME.....	238
Figura 10 – Nariz eletrônico empregado nos testes.....	238
Figura 11 – Representação da Equação (10) – Influência da temperatura e do tempo de extração na resposta cromatográfica - Valores previstos (sobre a reta) versus observados(o)	108
Figura 12 – Representação das curvas de nível da Equação (10), método HS-SPME.....	109
Figura 13 – Exemplo típico de cromatograma obtido empregando a técnica HS-SPME – GC-MS, com as melhores condições operacionais empregadas - Amostra 5.....	122
Figura 14 – Variância residual dos julgadores nas duas principais dimensões.....	125
Figura 15 – Configuração das respostas das amostras para o julgador A.....	125
Figura 16 – Configuração das respostas das amostras para o julgador B.....	125
Figura 17 – Configuração das respostas das amostras para o julgador C.....	126
Figura 18 – Configuração das respostas das amostras para o julgador D.....	126
Figura 19 – Configuração das respostas das amostras para o julgador E.....	126

Figura 20 – Configuração consensual para a equipe de cinco julgadores	127
Figura 21 – Exemplo típico do gráfico de respostas do nariz eletrônico – Amostra 7	128
Figura 22 – Variância residual dos tempos empregados nas análises empregando o nariz eletrônico para as duas principais dimensões	129
Figura 23 – Configuração consensual para o nariz eletrônico	130
Figura 24 – Exemplo típico da combinação das técnicas de GC-MS com GC/O, 160através da comparação entre o cromatograma (parte superior) e o osmegrama (parte inferior) obtidos (Amostra 1 – Julgador D)	144

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Características gerais do cultivo de café no Brasil (safra 2003/2004)..	30
Quadro 2 – Propriedades gerais características de odores em alimentos	37
Quadro 3 – Comparação de algumas técnicas de isolamento de voláteis orgânicos para aplicação em cromatografia gasosa	40
Quadro 4 – Técnicas extrativas e analíticas empregadas na identificação de componentes voláteis identificados em vários alimentos e variedades botânicas	204
Quadro 5 – Comparação de extração de voláteis utilizando as técnicas de SPME e <i>headspace</i> dinâmico na análise de refrigerantes tipo cola.....	42
Quadro 6 – Principais técnicas analíticas empregadas na identificação de componentes voláteis encontrados em cafés	206
Quadro 7 – Exemplos de fases estacionárias comumente empregadas em cromatografia gasosa.....	44
Quadro 8 – Descrição de sistemas de detecção universal na cromatografia gasosa, empregados	45
Quadro 9 – Técnicas extrativas e analíticas empregadas para análise de voláteis em alimentos e tipos de colunas cromatográficas empregadas, identificadas em referências recentes m análise de alimentos.....	209
Quadro 10 – Comparação da técnica extrativa de SPME com outras técnicas extrativas.....	47
Quadro 11 – Aplicações recomendadas para as diferentes fibras de SPME.....	49
Quadro 12 – Limites de percepção de alguns componentes voláteis encontrados em cafés torrados	54
Quadro 13 – Componentes voláteis de alto impacto aromático encontrados em cafés	56
Quadro 14 - Descritores sensoriais empregados para café e alguns espaços sensoriais propostos	61
Quadro 15 – Grupos de descritores sensoriais empregados para cafés	61
Quadro 16 – Descrições olfativas associadas aos componentes voláteis presentes em alimentos e bebidas.....	62

Quadro 17 – Descritores sensoriais empregados para componentes voláteis em alimentos.....	210
Quadro 18 – Descrição olfativa associada aos componentes voláteis presentes em café	212
Quadro 19 – Descritores sensoriais empregados para os componentes voláteis identificados como de impacto relevante no aroma em café torrado ...	213
Quadro 20 – Recomendações básicas para aplicação da técnica de Perfil Livre	65
Quadro 21 – Utilização da técnica do Perfil Livre para a avaliação de aromas de alimentos e bebidas	66
Quadro 22 – Comparação esquemática entre características do nariz humano e do nariz eletrônico	68
Quadro 23 – Resumo das recomendações para validação de metodologia	215
Quadro 24 – Descrição das amostras de cafés solúveis analisadas	77
Quadro 25 – Fibras utilizadas na etapa de desenvolvimento do método de extração por SPME	81
Quadro 26 – Fatores estudados na otimização da extração por SPME	82
Quadro 27 – Fatores de variação empregados na verificação da robustez da fase extrativa (SPME).	88
Quadro 28 – Fatores de variação empregados na verificação da robustez da fase analítica (GC-MS).....	88
Quadro 29 – Concentrações iniciais empregadas para os compostos voláteis utilizados na verificação da linearidade.....	89
Quadro 30 – Características de desempenho da metodologia analítica e respectivos critérios de aceitação adotados.....	96
Quadro 31 – Delineamento empregado nas avaliações das amostras, para cada julgador sensorial	100
Quadro 32 – Padrões de grau cromatográfico dos compostos voláteis de interesse disponíveis.....	103
Quadro 33 – Protocolo de extração de íons para compostos analisados para interpretação dos espectros de massa obtidos por cromatografia (GC-MS).....	103
Quadro 34 – Mistura de hidrocarbonetos-padrão empregados na determinação dos índices de retenção lineares, sob fluxo de 1,3 ml/min (He 5,0 analítico, de pureza 99,999%).....	104

Quadro 35 – Características da fibra escolhida para as análises de SPME	111
Quadro 36 – Classes de compostos genericamente identificados.....	132
Quadro 37 – Compostos de identificação provável identificados para os quais se arbitraram somente valores das áreas cromatográficas superiores a 2%.....	133
Quadro 38 – Faixa de concentrações encontradas para as amostras 1 a 7 de café solúvel em pó, comparadas com a literatura.....	141
Quadro 39 – Componentes com identificação provável e positiva, com os respectivos descritores sensoriais empregados para as sete amostras analisadas	146
Quadro 40 – Grupos olfatométricos propostos	147
Quadro 41 – Distribuição de componentes identificados por olfatometria dentro dos diversos grupos sensoriais propostos	224
Quadro 42 – Dimensões da qualidade do aroma em cafés solúveis	150
Quadro 43 – Similaridades de composição dos compostos de alto impacto aromático, observadas para as amostras de café solúvel	151
Quadro 44 – Compostos com impacto aromático identificados genericamente nas amostras de cafés solúveis estudadas.....	153
Quadro 45 – Componentes voláteis de alto impacto encontrados em alimentos e fatores de diluição	155
Quadro 46 – Estrutura planar, massa molar, ponto de ebulição e confirmação da detecção com coluna cromatográfica equivalente à empregada neste trabalho, para os 88 compostos caracterizados como de alto impacto aromático, detectados por olfatometria nas amostras de café solúvel em pó estudadas.....	231
Quadro 47 – Limites de percepção dos componentes de impacto aromático, percebidos na saída do olfatometro, expressos em µg/kg – Amostra 7, coluna INNOWax, HS-SPME (bebida), 2,8g	157
Quadro 48 – Componentes aromáticos encontrados pelos julgadores A, B, C, D e E, com concentrações odoríferas máximas ($I_{máx}$) superiores ou iguais a 50%.....	158

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção (em milhares de sacas de 60kg) e preços (em dólares americanos) de café por espécie, para as safras de 2002 a 2004.....	28
Tabela 2 – Composição química aproximada do café solúvel	32
Tabela 3 – Classes químicas de compostos voláteis do café torrado.....	35
Tabela 4 – Concentração de alguns compostos voláteis encontrados em cafés solúveis	36
Tabela 5 – Limites de detecção e precisão de técnicas de concentração de voláteis	42
Tabela 6 – Delineamento central composto empregado na otimização do método HS-SPME, com a Fibra 57348-U	83
Tabela 7 – Delineamento fatorial completo 2^3 com repetições no ponto central – fase extrativa (SPME).	88
Tabela 8 – Delineamento fatorial completo 2^2 com repetições no ponto central - fase analítica (GC-MS	89
Tabela 9 – Desenvolvimento do método SPME / GC-MS através do delineamento central composto com inclusão de pontos centrais	106
Tabela 10 – Estimativa dos efeitos principais significativos sobre a área cromatográfica total (HS-SPME, fibra 57348-U) empregando-se os fatores codificados (unidades de área cromatográfica.....	107
Tabela 11 – Análise de variância da Equação (10), método HS-SPME, fibra 57348-U	108
Tabela 12 – Comparativo das unidades de área cromatográfica corrigida para alguns compostos voláteis encontrados – Método HS/SPME - Parâmetro de Integração: limite inicial de detecção igual a 14	110
Tabela 13 – Unidades de áreas cromatográficas totais obtidas para cada fibra testada - Desenvolvimento do Método HS-SPME (Parâmetro de Integração: limite inicial de detecção igual a 14	111
Tabela 14 – Resultados do teste de conformidade para o sistema GC-MS empregado	113
Tabela 15 – Exemplo típico dos compostos voláteis utilizados na verificação da linearidade.....	113
Tabela 16 – Exemplo típico dos resultados da linearidade de compostos.....	114

Tabela 17 – Resultados do teste de repetibilidade (precisão) – unidades de área cromatográfica	115
Tabela 18 – Resultados do teste de exatidão – Teste de Recuperação	116
Tabela 19 – Fatores de variação para verificação da robustez na fase extrativa ...	117
Tabela 20 – Fatores de variação para verificação da robustez na fase analítica (GC-MS).....	117
Tabela 21 – Resultados da robustez – variáveis independentes – (Fase Extrativa	118
Tabela 22 – Resultados da robustez – variáveis independentes (Sistema GC-MS)	118
Tabela 23 – Resultados de limite de detecção e limite de quantificação	119
Tabela 24 – Curvas de calibração com padrão externo	122
Tabela 25 – Exemplo típico da resposta dos sensores (S) do equipamento nariz eletrônico PEN2 - (Faixa de análise entre 8 e 12 segundos) – Amostra 1.....	128
Tabela 26 – Resultados da área cromatográfica, expressos como porcentagem em relação às unidades de área cromatográfica total por amostra, encontrada nos cromatogramas das amostras 1 e 2, indicando compostos com identificação provável, e respectiva faixa dos tempos de retenção por composto.....	216
Tabela 27 – Resultados da área cromatográfica, expressos como porcentagem em relação às unidades de área cromatográfica total por amostra, encontrada nos cromatogramas das amostras 3 a 7, indicando compostos com identificação provável, e respectiva faixa dos tempos de retenção por composto.....	220
Tabela 28 – Resumo sinóptico para as sete amostras analisadas, analiticamente consideradas de identificação provável.....	133
Tabela 29 – Comparativo dos índices de retenção lineares (IRL) encontrados para colunas de idêntica polaridade à coluna INNOWax	134
Tabela 30 – Concentrações dos compostos voláteis com identificação positiva presentes nos cafés solúveis analisados pela técnica de HS-SPME – determinação no pó (em mg/kg).....	139

Tabela 31 – Concentrações dos compostos voláteis com identificação positiva presentes nos cafés solúveis analisados pela técnica de HS-SPME (bebida) – determinação na bebida (em µg/kg.....	140
Tabela 32 – Número total de descritores sensoriais empregados por julgador e para o consenso entre todos os descritores empregados.....	143
Tabela 33 – Número de componentes voláteis detectados pelos julgadores	143
Tabela 34 – Total de compostos com impacto aromático para as sete amostras estudadas de cafés solúveis	154
Tabela 35 – Exemplo típico do comparativo dos valores de OAV dos voláteis de impacto encontrados (HS-SPME) – Julgador B - Amostra 7.....	160

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E NOTAÇÕES

- ABIC** - Associação da Indústria Brasileira de Café
- ABNT** - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ACP** - Análise de componentes principais
- ADQ** - Análise descritiva quantitativa
- AEDA** - *Aroma extraction dilution analysis* - análise de aroma por diluição do extrato, técnica de análise sensorial p. 36*
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AOAC** - Association of Official Analytical Chemists
- ASIC** - Association Scientifique Internationale du Café
- ASTM** - American Society for Testing and Materials
- CAFÉ IGUAÇU** - Companhia Iguaçu de Café Solúvel
- CAR** - Carboxen - Sólido adsorvente (carvão ativo microparticulado) para recobrimento de fibras nas análise de SPME
- CAS** - Número de registro do *Chemical Abstract Service*
- CHARM® analysis** - *Combined hedonic response measurement* - sistema de GC/O desenvolvido no laboratório de química de aromas da New York State Agricultural Experiment Station em Geneva p. 36
- CWB** - Polidimetilsiloxano ou Carbowax® – polímero para recobrimento de fibras em análise de SPME
- DVB** - Divinilbenzeno – polímero para recobrimento de fibras em análise de SPME
- ECF** - European Coffee Federation
- FD** - *Dilution factor* - Fator de diluição, que reflete a relação da concentração do odorante no extrato inicial para sua concentração no extrato mais diluído e no qual o odor ainda pode ser detectado por GC/O p. 36
- FID** - *Flame ionization detector* - Detector de ionização de chama
- GC** - *Gas chromatography* - Cromatografia gasosa ou a gás
- GC/O** - *Gas chromatography coupled to olfactometry* - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a olfatomia p. 32
- GC-Charm® analysis** - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a Charm® analysis
- GC-FID** – *Gas chromatography with flame ionization detector* - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a detector de ionização de chama

GC-FID/O - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a detector de ionização de chama e olfatometria

GC-FID/sniffing - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a detector de ionização de chama e *sniffing*

GC-MS - *Gas chromatography coupled to a selective mass detector* - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a detector de massa

GC-sniffing - Cromatografia gasosa ou a gás acoplada a avaliação sensorial dos gases efluentes (*sniffing*)

GPA - *Generalised Procrustes Analysis*- Análise de Procrusto generalizada p. 42

Headspace - No caso, espaço livre de um recipiente, na parte superior de uma amostra p. 15

HRGC - *High resolution gas chromatography* - Cromatografia a gás de alta resolução (com colunas capilares)

HS-SPME - Extração de aromas de amostra pela técnica de SPME no *headspace* do pó p. 58

HS-SPME (bebida) - Extração de aromas de amostra pela técnica de SPME no *headspace* da bebida do café HS-SPME (bebida)

Html - *HyperText Markup Language* - Linguagem utilizada para a criação de páginas na World Wide Web

http:: - *HyperText Transfer Protocol* - Protocolo utilizado na Internet para transferência das páginas www

ICH - International Conference on Harmonization

ICO - International Coffee Organisation

Imáx Intensidade odorífera máxima de um componente volátil p. 78

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IRL - Índice de Retenção Linear – empregado na confirmação de compostos voláteis em cromatografia gasosa com condições não isotérmicas p. 30

ISSO - International Organization for Standardization

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry

JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

LD - Limite de determinação p. 68

LQ - Limite de quantificação p. 68

MS - *Mass detector, Mass spectrometry* - Detector seletivo de massas, Espectrometria de massas

NIR - *Near infra-red spectroscopy* – Espectroscopia no infra-vermelho próximo

NIST *National Institute of Standards and Technology*

NMR - *Nuclear Magnetic Resonance* - Ressonância nuclear magnética

OAV - *Odour Activity Value* - Valor de atividade odorífera p. 33

PA - Poliacrilato – polímero de recobrimento de fibras em análise de SPME

PC - *Personal Computer* - Computador pessoal

PDMS - Polidimetilsiloxano – polímero de recobrimento de fibras em análise de SPME

SDBS - Spectral Database for Organic Compounds

SBSE - *Stir bar sorptive extraction* - Extração por sorção sob agitação com barra

SDE - *Simultaneous distillation and extraction* - Destilação e extração com solvente simultânea p. 18

SIM - *Selected ion monitoring* - Técnica em espectrometria de massa usando monitoramento de íons selecionado

SPME - *Solid Phase Micro-Extraction* - Micro extração em fase sólida p. 18

SPME-GC - Micro extração em fase sólida acoplada a cromatografia a gás

Threshold - Limite de percepção sensorial p. 32

USDA - United States Department of Agriculture

* Referências das páginas no texto para maiores detalhes de algumas siglas mais utilizadas

LISTA DE SÍMBOLOS

Kg – Quilograma

L - Litro

Mg – Micrograma

ml – Mililitro

Ng - Nanograma

Pg - Picograma

μg – Micrograma

μl - Microlitro

μm - Micrometro

(Z), (E), (E,E), E,Z - Isômeros geométricos, (Z) cis e (E) trans.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1 BREVE HISTÓRIA DO CAFÉ	26
2.2 O CAFÉ SOLÚVEL	26
2.3 CAFÉ ASPECTOS ECONÔMICOS	27
2.4 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA	29
2.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROCESSAMENTO DO CAFÉ SOLÚVEL	31
2.6 AROMAS EM ALIMENTOS	33
2.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO AROMA DO CAFÉ	34
2.8 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS	36
2.8.1 Metodologias de Isolamento dos Componentes Voláteis	39
2.8.2 Metodologia Analítica para Caracterização e Identificação Química dos Componentes Voláteis	43
2.8.3 Métodos para Enriquecimento da Fração Volátil	46
2.8.3.1 Fundamentos da técnica de SPME	47
2.8.4 Identificação dos Componentes Voláteis	52
2.9 COMPONENTES VOLÁTEIS DE ALTO IMPACTO	54
2.10 INTEGRAÇÃO OLFATO E TÉCNICAS ANALÍTICAS	57
2.11 DESCRITORES SENSORIAIS	60
2.12 ANÁLISE SENSORIAL	63
2.12.1 Recrutamento, Seleção e Treinamento de Julgadores Sensoriais	63
2.12.2 A Metodologia do Perfil Livre	64
2.13 O EMPREGO DO NARIZ ELETRÔNICO COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS	67
2.14 AVALIAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA	71
2.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA	72
2.16 TENDÊNCIAS E DESAFIOS NA INVESTIGAÇÃO DE AROMAS NO CAFÉ SOLÚVEL	73
3 OBJETIVOS	75
3.1 GERAL	75
3.2 ESPECÍFICOS	75

4 MATERIAL E MÉTODOS	76
4.1 MATÉRIA – PRIMA	77
4.2 MÉTODOS	78
4.2.1 Análises Físico-Químicas	78
4.2.1.1 Condições gerais empregadas	78
4.2.1.1.1 Condições cromatográficas empregadas	79
4.2.1.2 Extração dos voláteis empregando a técnica de HS-SPME	80
4.2.1.3 Metodologia de determinação analítica dos voláteis - GC-MS / GC-FID	83
4.2.1.4 Análise sensorial dos voláteis - análise olfatométrica – GC-FID/O GC/O	84
4.2.1.5 Análise dos voláteis pelo nariz eletrônico	86
4.2.1.6 Validação da metodologia analítica HS-SPME acoplada a GC-MS	87
4.2.1.6.1 Robustez	87
4.2.1.6.2 Linearidade	89
4.2.1.6.3 Limite de detecção e de quantificação	90
4.2.1.6.4 Repetibilidade (Precisão)	91
4.2.1.6.5 Exatidão e especificidade do método (ensaios de recuperação)	91
4.2.1.7 Determinação do teor de umidade do café torrado, do café torrado e granulado e dos cafés solúveis.	92
4.2.1.8 Determinação da distribuição granulométrica do café torrado e granulado..	92
4.2.1.9 Determinação do teor de sólidos solúveis	93
4.2.2 Preparo das Amostras de Cafés Solúveis	93
4.2.3 Preparo das Amostras para Análise Olfativa e Empregando o Nariz Eletrônico	94
4.2.4 Análises Estatísticas	95
4.2.5 Protocolo Geral de Validação	96
4.2.6 Análise Sensorial	97
4.2.6.1 Seleção e familiarização dos julgadores com a técnica do Perfil Livre	97
4.2.6.2 Avaliação sensorial das amostras	99
4.2.6.3 Avaliação das amostras de cafés	100
4.2.6.4 Classificação da qualidade das amostras de cafés	101
4.3 DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE PERCEPÇÃO SENSORIAL	101
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS	101
4.4.1 Critérios de Identificação Analítica Adotados	104
4.4.2 Critério de Quantificação Adotado	105

5 RESULTADOS	106
5.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO HS-SPME.....	106
5.2 DETERMINAÇÃO DOS VOLÁTEIS NA BEBIDA.....	112
5.3 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA HS- SPME.....	112
5.3.1 Teste de Conformidade do Sistema GC-MS	112
5.3.2 Linearidade.....	113
5.3.3 Repetibilidade (Precisão)	114
5.3.4 Exatidão - Ensaio de Recuperação	115
5.3.5 Robustez	116
5.3.5.1 Extração	117
5.3.5.2 Determinação analítica GC-MS.....	117
5.3.5.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	119
5.4 COMENTÁRIOS E RECOMENDAÇÕES GERAIS SOBRE A VALIDAÇÃO	120
5.4.1 Condições Analíticas Empregadas.....	120
5.5 QUANTIFICAÇÃO DOS PADRÕES DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS.....	121
5.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL	123
5.7 RESULTADOS DO NARIZ ELETRÔNICO	127
5.8 COMPARATIVO ENTRE OS DADOS SENSORIAIS E OS RESULTADOS DO NARIZ ELETRÔNICO	130
5.9 RESULTADOS DE IDENTIFICAÇÃO	131
5.10 QUANTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS SELECIONADOS.....	139
5.11 COMPOSTOS IDENTIFICADOS – OLFATOMETRIA	142
5.12 LIMITES DE PERCEÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS.....	157
5.13 COMPARATIVO DOS VALORES DE OAV E CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS ENCONTRADAS	158
6 CONCLUSÕES	162
7 CONTRIBUIÇÕES SIGNIFICATIVAS	164
7.1 EM RELAÇÃO AO OBJETIVO GERAL DO TRABALHO	164
7.2 EM RELAÇÃO AOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO TRABALHO	165
7.3 OUTRAS CONTRIBUIÇÕES	165
8 SUGESTÃO PARA ESTUDOS FUTUROS	166

REFERÊNCIAS	168
GLOSSÁRIO	201
ANEXOS	203
ANEXO 1	204
ANEXO 2	208
ANEXO 3	210
ANEXO 4	215
ANEXO 5	216
ANEXO 6	224
ANEXO 7	231
ANEXO 8	238

1 INTRODUÇÃO

A importância do café na economia global não deve ser minimizada. É a matéria prima de uma das bebidas mais aceitas no mundo, a mais popular depois do chá (MAEZTU et al., 2001). Os negócios relacionados ao café são dos mais importantes para o comércio mundial, há muitos anos, perdendo em valor somente para a *commodity* petróleo (NOGUEIRA et al., 2000). Seu cultivo mundial compreende diretamente pelo menos vinte milhões de pessoas, sem falar em processamento, comercialização e distribuição, sendo crucial às economias e à política de muitos países em desenvolvimento para os quais as exportações do café constituem parte substancial da balança econômica de exportação, em alguns países representando acima de oitenta por cento do total (SCHENKER, 2000). Constitui importante fonte de divisas para o Brasil, com investimentos anuais de aproximadamente 4,5 bilhões de reais no campo. Do total da colheita nacional, menos da metade é absorvido pelo mercado interno, sendo o restante exportado principalmente para o Japão, Estados Unidos e Europa. O café é um produto negociado em bolsas de mercadorias e de mercados futuros, sendo as mais destacadas as de Londres e a de Nova Iorque, respectivamente para o café robusta e para o café arábica.

O consumo anual mundial aproxima-se de 110 milhões de sacas de 60 quilogramas, e a expectativa de produção para a safra 2004/5 é de 118 milhões, considerando os cinquenta países membros da *International Coffee Organization* (ICO, 2004c). Destes, ao redor de uma dúzia tem capacidade para produzir café solúvel, volume este relativamente inferior mas de elevado valor agregado, estimando-se atualmente a produção mundial de café solúvel ao redor das 500 mil toneladas por ano, em suas várias formas de apresentação, pó, aglomerado, liofilizado, extratos concentrados, como ingrediente em misturas para preparo de bebidas lácteas e outras aplicações.

O Brasil ocupa a liderança no mercado exportador de café solúvel, tendo atingido em 2003 a marca de 49,5% do total (GANES, 2004).

O aquecimento de alimentos leva à formação de aromas característicos e atraentes ao consumidor, não restritos ao caso do café. Não é de surpreender que numerosas investigações tenham sido realizadas para identificar

voláteis que evoquem as características desses odores. A torração é geralmente definida como o tratamento térmico a seco de alimentos com a intenção de gerar compostos de aroma torrado, desenvolver cor, e freqüentemente, criar uma textura crocante (SCHENKER, 2000). Essa intenção explicita a diferença entre torração e simples secagem (PERREN, 1995). Durante o processamento para a obtenção do café solúvel, ocorrem várias transformações e perdas aromáticas que, juntamente aos processos térmicos sofridos, modificam quantitativa e qualitativamente a fração de compostos voláteis, diferenciando-o do referencial que é a bebida produzida diretamente a partir do café torrado e moído, popularmente denominada de café de coador.

O significado do aroma como uma das características determinantes da qualidade de alimentos, torna sua avaliação objetiva uma das tarefas mais importantes na indústria de alimentos. No café, o aroma consiste de componentes de uma grande variedade de grupos funcionais e essa composição depende de fatores como espécie e variedade, condições de crescimento e colheita, armazenagem, intensidade de torra e tipo de torrador, além das demais condições de processo (CLARKE e MACRAE, 1985a). Foram identificados em cafés torrados mais de oitocentos compostos voláteis, o que coloca o café entre os materiais usados como alimento ou bebida de maior complexidade em termos da composição volátil (SHIBAMOTO, 1992; ILLYCAFÉ, 2003).

Entre as técnicas empregadas, a combinação da cromatografia a gás acoplada com olfatométrica tem sido empregada para diversos alimentos, incluindo o café torrado, na identificação dos compostos relevantes ao estímulo final percebido pelo olfato humano. Também têm sido empregados sensores especiais que procuram reproduzir, pelo menos parcialmente, a resposta do olfato humano a compostos voláteis, denominados de “nariz eletrônico”.

Em geral, diversos componentes voláteis presentes são sensorialmente pouco importantes e os métodos empregados mais recentemente têm possibilitado aos pesquisadores a identificação e quantificação de um número comparativamente pequeno de compostos de aroma relevantes, determinantes do odor percebido (BLANK, SEN e GROSCH, 1992; SEMMELROCH et al., 1995). Com base nesse conhecimento, foram feitas as primeiras recombinações de sucesso para simular aromas considerados típicos (SEMMELROCH e GROSCH, 1996; CZERNY, GROSCH e MAYER, 1999).

A busca pela aproximação do aroma do café solúvel ao do café de coador tem sido constante, e em geral, meta importante dos processos de aumento

da intensidade dos aromas presentes no café solúvel ou mesmo da sua aromatização. Uma das alternativas tecnológicas que podem ser adotadas para aumentar a percepção aromática do café solúvel é a adição de compostos voláteis naturais, recuperados em alguma fase do processamento. Os produtos assim melhorados são vendidos com substancial incremento no preço de venda ao consumidor, com grande potencial industrial. De fato, embora ainda relativamente distantes do café de coador, alguns produtos presentes no mercado internacional já utilizam técnicas de aromatização sofisticadas.

Entretanto, contrariamente ao café torrado, a composição da fração volátil e sensorialmente relevante do café solúvel tem sido pouco estudada. Tais constatações reforçam a necessidade de um melhor conhecimento a respeito dos compostos do aroma do café e de se obter mais informações sobre as sutis, mas importantes, diferenças entre produtos e as técnicas preparativas que orientam a percepção e a preferência dos consumidores (HAESSELBARTH e ULLRICH, 2002).

No Brasil, uma alternativa para aplicação de técnicas de aromatização parece ser possível através do conhecimento da composição dos voláteis presentes em café solúvel e de seus respectivos impactos aromáticos, bem como da sua caracterização química e sensorial.

Dentro do contexto do trabalho, o capítulo (1) apresenta uma revisão bibliográfica do café e do café solúvel, abrangendo sua história, aspectos econômicos e classificação botânica do café, seu processamento e composição química, os aromas em alimentos e particularmente o aroma do café, análise e identificação dos componentes voláteis incluindo os que apresentam impacto aromático, a integração da olfação com técnicas analíticas, os descritores sensoriais empregados e detalhes sobre a técnica do Perfil Livre, seguida pelo uso da ferramenta nariz eletrônico na determinação dos componentes voláteis, finalizando com detalhes sobre a validação de metodologias e aplicação da análise estatística.

O capítulo (2) apresenta os objetivos do trabalho, sendo que os materiais e métodos empregados constituem o capítulo (3). No capítulo (4) temos a apresentação de resultados e discussão, ficando o capítulo (5) para a conclusão do trabalho e as contribuições significativas para o capítulo (6). Sugestões de trabalhos futuros vêm apresentadas no capítulo (7). Os aspectos normativos e tipográficos do trabalho estão em conformidade com MÜLLER e CORNELSEN (2003) e RIBEIRO (2005). As unidades de medida seguiram as notações apresentadas por ANTAS, 1984.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BREVE HISTÓRIA DO CAFÉ

A estória de como o cultivo e o hábito de consumo da bebida que conhecemos como café disseminou-se ao redor do mundo é uma das maiores e, quiçá, mais românticas na história da civilização. Teria começado na atual Etiópia, onde a árvore de café provavelmente se originou, na província de Kaffa, havendo relatos de que seu cultivo teria começado por volta do ano 575, no atual Iêmen. Há várias lendas cercando a descoberta das propriedades de grãos de café torrados. Uma delas, a de Kaldi, conta que um pastor etíope teria ficado espantado com o comportamento vívido de suas cabras após mascarem as frutas vermelhas do café, obtendo efeitos similares ao prová-las (TAKASAGO, 1999). Para maiores detalhes históricos do café, recomenda-se o material disponível em ICO (2004a).

2.2 O CAFÉ SOLÚVEL

De história bem mais recente, o café solúvel já era consumido na Inglaterra e nos Estados Unidos antes de 1900. Apesar de vendido pela primeira vez em 1901 na exposição Pan Americana, somente em 1903 o químico Satori Kato de Chicago recebeu patente nacional pelo processo de produção do pó de café solúvel. Em 1906, o químico inglês George Constant Washington inventou o primeiro café instantâneo produzido em larga escala, introduzido no mercado em 1909. Seguindo o ocorrido com o café torrado e moído, suprido na guerra civil norte-americana, e que fora adotado após 1832 em substituição ao rum, durante a primeira guerra mundial o café solúvel foi considerado como um dos artigos de subsistência mais importantes, sendo toda a produção disponível adquirida pelo exército. O produto era bastante escuro e grudento. Em 1930, empregando baterias de percoladores, comercializa-se café instantâneo misturado com 50% de açúcares de milho. O produto resistia melhor à umidade, era mais claro e de melhor fluidez. O primeiro

café solúvel liofilizado foi inventado em 1938 por uma empresa Suíça como parte do plano de ajuda ao governo brasileiro para resolver seu problema do excesso de produção de café. Durante a Segunda Guerra Mundial, os soldados americanos receberam café solúvel em sua ração gerando demanda que propiciou o aparecimento de novos fabricantes. Imediatamente no pós-guerra, a secagem a vácuo cede lugar à atomização em câmaras de secagem. Por volta de 1950, começa a produção em larga escala, com rendimentos mais altos e produto em pó de boa fluidez sem adição de outros carboidratos. Em 1968 é introduzido o café solúvel aglomerado, basicamente para melhorar a solubilidade comparada à do produto em pó, reduzindo a espuma formada (ABOUT, 2004).

Aliado à força propulsora da melhoria da qualidade experimentada pelo café torrado e moído em tempos recentes, o desenvolvimento de novas tecnologias, como a recuperação de aromas, tem propiciado a criação de novos tipos de cafés solúveis com mais sabor de café, atingindo em alguns casos níveis de qualidade próximos a cafés de coador. Nesse cenário, cafés solúveis especiais, como por exemplo Carte Noire[®] e Gold Blend[®], terão melhores chances, com perspectivas de aumento de consumo já evidentes, como recentemente ocorre na Alemanha, Itália e Espanha, além dos países emergentes (GANES, 2004).

Em previsão recente feita por especialistas, a projeção para os próximos dez anos é de que 52% do crescimento do consumo total de café seja representado pelo café solúvel (NEUMANN, 2005).

2.3 CAFÉ – ASPECTOS ECONÔMICOS

Após período de declínio, o consumo do café vem apresentando características de recuperação, estável em grandes consumidores como Alemanha e Inglaterra e com crescimento significativo na Grécia, Áustria e Suíça (ECF, 2003).

Em 1995, o café assumiu a segunda posição entre as bebidas mundialmente consumidas, logo após a água, sendo o consumo mundial superior a 820 bilhões de xícaras por ano (PETRACCO, RICCIA e LIVERANI, 2005; GILLET, 2005).

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de café verde, sendo responsável por mais de um terço da produção mundial em 2004 (Tabela 1). A produção mundial de café solúvel é relativamente menor, cerca de 15%. A distribuição do consumo anual de café per capita é de 443 e 34 xícaras, respectivamente, para café torrado e moído e para café solúvel (WAIGEL, BASSOLI e TICOULAT, 2003).

Tabela 1 – Produção (em milhares de sacas de 60kg) e preços (em dólares americanos) de café por espécie, para as safras de 2002 a 2004

Tipo	2002		2003		2004	
	<i>arábica</i>	<i>robusta</i>	<i>arábica</i>	<i>robusta</i>	<i>arábica</i>	<i>robusta</i>
América Central e do Norte	16.348	37	17.098	40	16.845	44
América do Sul	53.565	11.572	39.902	4.208	45.808	7.878
Brasil (arábica + robusta)	48.480		28.820		38.264	
África	6.691	8.077	6.361	7.227	8.432	6.763
Ásia e Oceania	4.278	21.356	4.122	24.138	3.662	24.229
PRODUÇÃO MUNDIAL	80.889	41.035	67.488	35.608	74.753	39.351
Preços médios (US\$/saca)**	75,27	34,16	86,12	45,03	104,98	43,35
Grandeza econômica global (US\$ bilhões)***	6,09	1,40	5,81	1,60	7,85	1,71

Fonte: ICO (2005).

** Bolsas de Nova Iorque e Londres, respectivamente para arábica e robusta

*** Resultado do produto entre a produção mundial e o respectivo preço médio vigente

O consumo brasileiro interno de café aumentou cerca de 90% nos últimos quinze anos superando quinze milhões de sacas de 60 quilogramas, e o país conta ainda com um parque industrial que excede a sete empresas de café solúvel, estimando-se o consumo brasileiro de café solúvel ao redor de 9.500 toneladas em 2004, o que representa pouco mais de 0,8% do consumo nacional (ABIC, 2005). Este valor encontra-se bem abaixo de outros países com perfil semelhante ao Brasil, indicando grande potencial de aumento. As taxas de crescimento têm sido elevadas, sendo a projeção para o ano 2005 em relação a 2004 de pelo menos 4,0%. Cerca de 90% do consumo é do produto na sua forma aglomerada segundo ACNIELSEN (2004), situação propícia para o emprego de processos de aromatização para obtenção de produtos mais sofisticados.

Maiores detalhes sobre o panorama do café no Brasil podem ser encontrados em RIBEIRO, 2005.

2.4 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

Define-se café verde como “café cru, semente seca da planta café”, café torrado como “café obtido torrando o café verde”, e café solúvel como sendo “produto seco, solúvel em água, obtido exclusivamente de café torrado por métodos físicos usando água como o único agente de transporte não derivado de café” (ISO, 2003).

A taxonomia do gênero *Coffea* é a seguinte: Eukaryota - Plantae - Tracheophyta - Angiospermae - Dicotyledonae - Gentianales - Rubiaceae - Coffea (LYCAEUM, 2004). A família Rubiaceae tem aproximadamente quinhentos gêneros e sete mil espécies, incluindo membros como gardênias e plantas produtoras de quinino e outras substâncias úteis, como por exemplo, alcalóides usados para fins estimulantes, cardiotônicos e diuréticos.

As plantas do café são cultivadas na região chamada de cinturão tropical, localizado entre os Trópicos de Câncer e de Capricórnio, caracterizada por temperaturas médias de 20 graus Celsius, índice pluviométrico entre 1500 e 1600 mm ao ano e solo fértil (TAKASAGO, 1999). A Figura 1 apresenta as principais áreas brasileiras de produção cafeeira.



Fonte: CAFÉ IGUAÇU (2003)

Figura 1 - Distribuição por estado da produção cafeeira brasileira referente aos anos 2001/2002 (em milhares de sacas de 60kg)

O gênero *Coffea* é o que tem maior destaque econômico conforme CLIFFORD e WILLSON (1985) e WRIGLEY (1988), compreendendo mais de setenta espécies segundo SCHENKER (2000) e três subgêneros: Coffea (com cerca de noventa subespécies), Psilanthropsis (uma subespécie) e Baracoffea (quatro subespécies), sendo este último mais próximo do gênero Psilanthus do que do subgênero Coffea. As duas espécies de café economicamente mais importantes são Coffea arabica Linnaeus (café arábica) – que representa cerca de 65% da produção mundial – e Coffea canephora Pierre (café robusta). Outras duas espécies cultivadas em escala muito menor são Coffea liberica (café liberica) e Coffea dewevrei (café excelsa) (BRAND, 1999 e VIDAL, 2001).

Para o Coffea arabica as variedades mais conhecidas são ‘Typica’ e ‘Bourbon’, mas destas, muitas linhagens e diferentes cultivares foram desenvolvidos, como Caturra (Brasil e Colômbia), Mundo Novo (Brasil), Tico (América Central), anão San Ramon e *Blue Mountain* (Jamaica). A planta média do café arábica é um arbusto grande com folhas ovais verde-escuras, geneticamente diferente das outras espécies, tendo quatro conjuntos de cromossomos ao invés de dois. As frutas são ovais e maturam entre sete e nove meses. Em geral, contêm duas sementes lisas, os grãos de café. Cresce por toda a América Latina, África Central e Setentrional, Índia e com alguma extensão na Indonésia. Já o Coffea canephora tem por variedade mais difundida a Robusta, que freqüentemente substitui sua denominação (SCHENKER, 2000). Encontrado em forma selvagem no Congo em 1898, é um arbusto ou árvore pequena que cresce até dez metros de altura, com sistema radicular não profundo e frutas arredondadas que levam até onze meses para amadurecer. Suas sementes são ovais e menores que aquelas do café arábica. É cultivado na Indonésia, Vietnã e Uganda entre outros conforme NAGAMATO (2001) e no Brasil, onde é conhecido como Conilon (CLIFFORD e WILLSON, 1985; WRIGLEY, 1988) (Quadro 1).

Espécies botânicas	85% arábica, 15% robusta (conilon)
Regiões produtoras*	Leste, oeste e sul do país
Período de colheita	Março a outubro
Preparação	Métodos via seca e via úmida
Produção total	28 460 000 sacas de 60 kg
Exportação total	25 685 000 sacas de 60 kg

Fonte: ICO (2004c).

* Em treze estados brasileiros, sendo que quatro representam 88% da produção nacional

Quadro 1 - Características gerais do cultivo de café no Brasil (safra 2003/2004)

O cafeeiro inicia a produção de frutos entre dois e cinco anos do plantio, mantendo-se produtivo por até sessenta anos. As floradas são similares ao jasmim em cor e odor e a fruta demora cerca de nove meses para amadurecer. Estima-se que cerca de quinze bilhões de plantas cresçam mundialmente em aproximadamente 100.000 km² de plantações (PHATNAV, 2004). As duas maiores espécies de café, Coffea arabica e Coffea canephora var Robusta, diferem consideravelmente em preço, qualidade e aceitação dos consumidores. Cafés arábica, muitas vezes considerados como de qualidade superior em relação ao aroma e sabor e maior aceitação em todos os mercados mundiais, são caracterizados por alguma acidez e aroma intenso enquanto cafés robusta apresentam amargor e sabor de terra e madeira típicos. Mistura de cafés, anteriores ou posteriores a torra, visam produzir bebidas de melhor qualidade do que a obtida partindo de componentes individuais (LAGO, 2001; ROCHA et al., 2003).

2.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROCESSAMENTO DO CAFÉ SOLÚVEL

A composição química do café verde depende das condições ambientais, das práticas culturais, da época de colheita, do clima, do solo e principalmente da sua origem genética. A altitude e o sombreamento também afetam significativamente os componentes do aroma do café (SCHOLZ et al., 2000). O café é composto por mais de 700 componentes, incluindo alcalóides como a cafeína, minerais, ácidos clorogênicos, ácidos alifáticos, lipídeos, carboidratos e aminoácidos (SOBOLÍK et al., 2002). O café verde passa pelo processo de torração, que envolve muitas reações complexas com mecanismos ainda relativamente pouco definidos, entre as quais aparecem reações pirolíticas, resultando no aroma que lhe é característico (OOSTERVELD, VORAGEN e SCHOLS, 2003). A quantidade e a composição dos precursores de aroma e sabor têm, portanto, um efeito relevante na qualidade final do produto torrado, e conseqüentemente no café solúvel (DE MARIA et al., 1994).

A partir do café torrado, são utilizadas tradicionalmente colunas extratoras na industrialização do café solúvel, em processo que pode ser considerado como contra corrente, em batelada ou semicontínuo, de onde é obtido o

extrato hidrossolúvel de café. O teor de sólidos solúveis do extrato de café assim obtido é relativamente baixo, e por razões econômicas, é aumentado em processos de concentração pela remoção da água, seguindo-se secagem por aspensão em torre de secagem ou por liofilização. De fato, tal elevação no teor de sólidos solúveis pode também propiciar melhoria na retenção dos componentes voláteis na etapa de secagem (THIJSSSEN, 1970).

A composição química do café solúvel aparece na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição química aproximada do café solúvel

Componente	Intervalo de variação (%)
Polissacarídeos	50,0 a 65,0 %
Oligossacarídeos	0,7 a 5,2 %
Lipídios	0,2 a 1,6 %
Proteínas	12,6 a 21,0 %
Aminoácidos	0,0 a 6,0 %
Ácidos clorogênicos	5,2 a 7,4 %
Cafeína	2,8 a 5,1 %
Minerais	8,8 a 10,0 %
Ácidos húmicos	15,0 %
Água	0 a 5,0 %

Fontes: CLARKE e MACRAE (1985a), PATARROYO (2003) e USDA (2004).

O fluxograma típico da produção do café solúvel aparece representado na Figura 2, que destaca possíveis fontes de recuperação de componentes voláteis e pontos do processamento nos quais supostamente pode ser realizada a reintrodução dos aromas recuperados para a aromatização do café solúvel. Exemplificando, os aromas recuperados na torração seriam proporcionalmente incorporados durante a secagem, aumentando o conteúdo de voláteis no produto final, visando obter uma melhor qualidade aromática.

É de se esperar que o teor de voláteis do café solúvel seja reduzido quando comparado ao do café torrado, pois, além deste último apresentar a matriz não volátil juntamente com os compostos voláteis, a quantidade de material não volátil solubilizado é cerca de duas e meia vezes superior no caso do café solúvel, somando-se a esses fatores os tratamentos térmicos a que é submetido o café solúvel durante seu processo de obtenção.

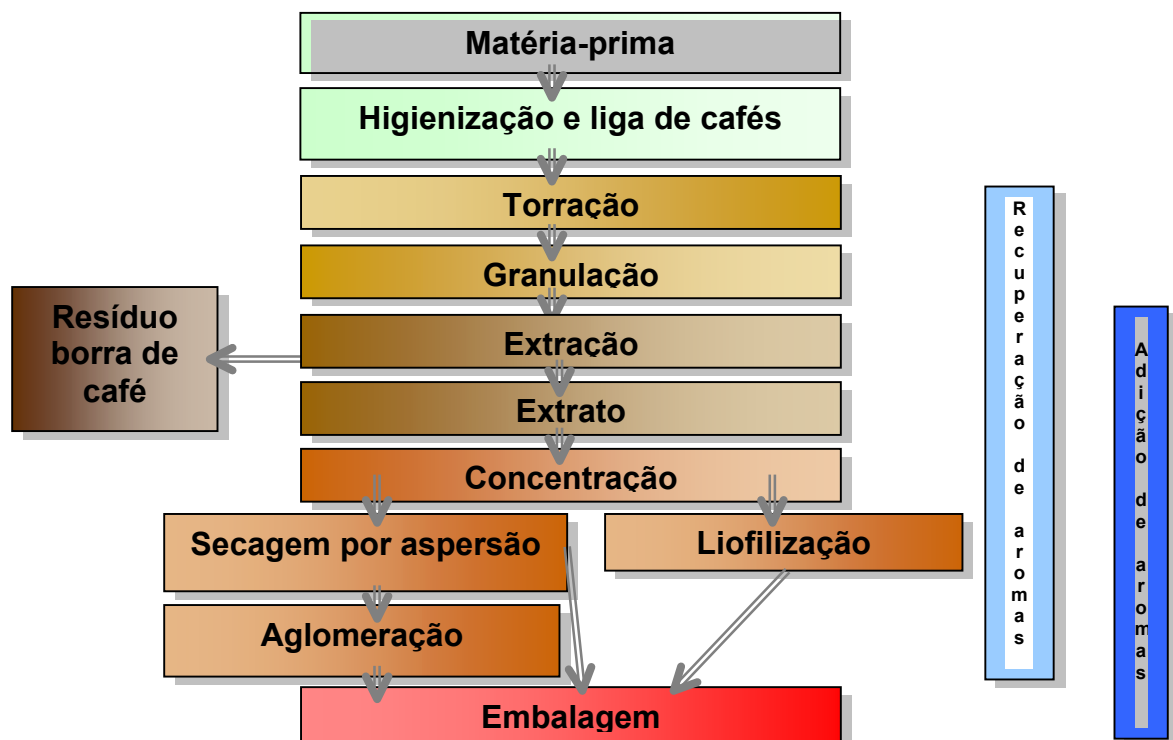


Figura 2 - Fluxograma simplificado do processamento industrial do café solúvel

2.6 AROMAS EM ALIMENTOS

O aroma dos alimentos é bastante complexo e o olfato humano pode discriminar entre milhares de compostos voláteis (MIN, 2004a). O aroma é responsável por 70 a 75% da resposta global do sabor, ficando a porcentagem remanescente para o gosto, reforçando ainda mais a importância dos aromas (SPEER, KURZROCK e KÖLLING-SPEER, 2005).

O termo odor refere-se aos efeitos biológicos, físicos e psicológicos causados pela interação entre estimulantes químicos – aromas e fragrâncias – e os sistemas olfativos das criaturas vivas (AUGUSTO, LOPES e ZINI, 2003).

Num alimento, o sabor característico é também dado pela presença dos compostos voláteis que chegam até aos receptores olfativos através da cavidade retro-nasal, que conecta a cavidade oral à olfativa (GARRUTI et al., 2001). A percepção do odor é multimodal, envolvendo outras sensações, incluindo o paladar e a relativamente suave irritação da estimulação do nervo trigeminal (GÓMEZ, 2002).

O estudo do sabor pode contribuir na compreensão dos mecanismos pelos quais o sabor característico se forma a partir de precursores não voláteis, na formação de sabores indesejados durante a armazenagem, na descoberta de como o sabor característico é perdido ou modificado durante o processamento ou na criação de novas formulações de aromas de maior fidelidade ao aroma natural do alimento (FRANCO, 2000).

De maneira genérica, as concentrações de compostos odoríferos presentes em alimentos são mínimas e freqüentemente o produto sob investigação tem que ser submetido a um pré-tratamento antes da separação ou da remoção dos compostos voláteis da matriz não volátil. O processamento do alimento logicamente afeta e altera a composição aromática do mesmo, pela perda de certos componentes por transformação ou degradação e pela formação de outros. Exemplificando, GONG, FUNG e LIANG (2004) demonstraram que a composição dos óleos essenciais de gengibre é significativamente alterada, quantitativa e qualitativamente, por simples secagem.

2.7 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO AROMA DO CAFÉ

Nas últimas duas décadas, significativo progresso no entendimento químico dos aromas foi alcançado, com a aplicação de métodos instrumentais e analíticos cada vez mais sofisticados. Conseqüentemente, o número de componentes voláteis isolados tem aumentado constantemente. Usualmente os odores de alimentos apresentam entre 50 e 250 compostos voláteis, com uma ampla faixa de pontos de ebulição.

No caso do café, na atualidade, cerca de 1000 componentes já foram detectados e alguns especialistas da área sugerem que dezenas de compostos poderão ser ainda identificados (MOREIRA, TRUGO e DE MARIA, 2000).

Inúmeros trabalhos sobre a composição química e os processos de geração de aromas no café torrado estão disponíveis, devidamente refinados na revisão compreensiva de FLAMENT (2002). São várias as classes de compostos voláteis presentes no café torrado (Tabela 3).

Os voláteis de cafés solúveis tem sido objeto de escassas publicações, com menção para cafés liofilizados entre 11 e 14 componentes incluindo aldeídos, cetonas e álcoois de baixo peso molecular e mais recentemente cerca de 80 compostos empregando carvão ativo como adsorvente (CLARKE e MACRAE, 1985a).

Tabela 3 - Classes químicas de compostos voláteis do café torrado

Classe química	Número de compostos	Classe química	Número de compostos
Hidrocarbonetos alifáticos	35 ¹	Pirazinas	91 ⁵
Hidrocarbonetos aromáticos	32 ¹	Quinoxalinas	11 ¹
Álcoois alifáticos	16 ¹	Furanos	126 ⁴
Álcoois aromáticos	2 ¹	Pironas	4 ⁵
Aldeídos alifáticos	18 ³	Oxazóis	35 ⁴
Aldeídos aromáticos	11 ³	Tióis	6 ¹
Cetonas alifáticas	62 ³	Sulfetos	15 ¹
Cetonas aromáticas	6 ³	Disulfetos	10 ¹
Ácidos	28 ⁴	Trissulfetos	3 ¹
Ésteres	33 ⁴	Tioésteres	2 ¹
Lactonas	9 ²	Tiofenos	31 ²
Anidridos	3 ⁶	Ditiolanos	2 ¹
Aminas alifáticas	12 ³	Tiazóis	27 ²
Aminas aromáticas	5 ³	Acetais	1 ⁶
Imidas	1 ¹	Nitrilos	2 ¹
Pirróis	69 ⁵	Oximas	1 ¹
Piridinas	20 ⁴	Fenóis	49 ⁴
Quinolinas	4 ¹	Indóis	4 ¹
Éteres	2 ⁶	Outros	20 ⁴
		TOTAL	818

Fontes: ¹CLARKE e MACRAE (1985a), ²DE MARIA, MOREIRA e TRUGO (1999), ³MOREIRA, TRUGO e DE MARIA (2000), ⁴CLARKE e VITZTHUM (2001), ⁵FLAMENT (2002) e ⁶MONROY (2005).

A Tabela 4 apresenta teores de alguns componentes voláteis encontrados em cafés solúveis.

Tabela 4 - Concentração de alguns compostos voláteis encontrados em cafés solúveis

Composto	Concentração (em mg/kg)
Sulfeto de hidrogênio	0,010 ²
Metanotiol	0,022 ²
Etanal	0,710 ¹
Furano	0,004 ¹
Propanal	0,038 ¹
Propanona	0,550 ¹
2-metilfurano	0,008 ¹
Etanol	Não detectado ²
Metanol	0,030 ²
2,3-butanodiona (diacetil)	0,240 ¹
2-butanona	0,110 ¹

Fontes: ¹CLARKE e MACRAE (1985a) e ²MOREIRA, TRUGO e DE MARIA (2000)

Para mais detalhes sobre os compostos voláteis de café verde e torrado pode-se consultar os trabalhos de HOLSCHER e STEINHART (1995) e FLAMENT (2002).

2.8 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS

A qualidade de um método analítico é determinada pela qualidade de suas etapas, função inicial da técnica de amostragem com a qual se seleciona uma fração presumivelmente representativa da amostra primária. Nesta fração deve-se identificar e quantificar analitos, que são os componentes químicos que a definem. Quando se empregam técnicas cromatográficas para análise de tais analitos, quase nunca se recomenda analisar quimicamente matrizes na forma bruta, pois estas costumam apresentar e gerar interferentes, tais como compostos particulados não voláteis, termodegradáveis, água, etc., em quantidades incompatíveis com as colunas cromatográficas e detectores, além de mascarar os valores reais a serem obtidos. Para contornar tais problemas, são empregados procedimentos de preparo de amostra, com os quais se procuram isolar e concentrar os analitos em níveis adequados, além de obter um nível de limpeza da amostra que não comprometa a sua análise química e a integridade dos equipamentos utilizados. Além do objetivo claro em uma análise de alimento, os aspectos ligados à sua composição, presença

de aditivos, de contaminantes e de produtos de transformação durante o processamento são importantes na definição das melhores técnicas a empregar (FRANCO, 2003). Basicamente, as etapas para a pesquisa do sabor de alimentos são:

- a) isolamento dos compostos voláteis;
- b) separação por cromatografia gasosa de alta resolução;
- c) análise sensorial;
- d) identificação dos compostos voláteis.

Os voláteis podem ser avaliados em duas fases: (1^a) compreendendo todos os componentes voláteis do alimento (chamada de análise total) e (2^a) na fase gasosa em equilíbrio com o produto alimentício (denominada *headspace*), responsável pelo odor percebido. Entretanto, a fase vapor pode não conter uma quantidade de compostos voláteis suficiente para a análise, sendo essa a principal dificuldade encontrada nas investigações de aromas. As duas abordagens não são excludentes e sim complementares (FRANCO, 2000).

Para isolar e concentrar voláteis de alimentos é importante ressaltar as propriedades características dos odores, conforme o Quadro 2, abaixo.

1. A complexidade da mistura de compostos odoríferos presentes na maioria dos produtos alimentícios;
2. As baixas concentrações nas quais esses compostos estão geralmente presentes;
3. A reatividade química e a labilidade térmica desses componentes, a influência do oxigênio;
4. A polaridade dos compostos de aromas;
5. A grande faixa de pontos de ebulição dos componentes e suas volatilidades, a diferença das potenciais odoríferos de componentes diferentes à luz do objetivo específico;
6. As grandes diferenças na quantidade relativa dos componentes individuais e a distribuição de voláteis pelo produto;
7. A presença de grandes quantidades de voláteis que não produzem sensação olfativa (p.ex. água), abrangendo o estado físico e a composição geral do produto.

Fonte: MAARSE et al. (1994).

Quadro 2 - Propriedades gerais características de odores em alimentos

Com base nessas características, os seguintes parâmetros gerais devem ser considerados para cada caso:

- a) os voláteis devem ser isolados do alimento da forma mais completa possível;
- b) artefatos e contaminantes têm que ser mantidos em nível mínimo. Precauções devem ser tomadas para que voláteis mais lábeis não sofram reações ou se decomponham e nenhum volátil deve ser gerado a partir dos constituintes não voláteis do alimento;
- c) os dados de recuperação de métodos relevantes devem ser verificados, preferivelmente.

Evidentemente, cada tipo de componente de aroma será mais bem analisado empregando-se metodologia apropriada tanto à sua composição química quanto à sua matriz, evitando a formação de artefatos e fornecendo uma aproximação autêntica para a composição do aroma. Por exemplo, métodos de baixo impacto no isolamento de aroma são preferidos para concentração de aromas de frutas e flores. Podem, no entanto, não se adequar para aromas de alimentos que já tenham sido submetidos a tratamento térmico (MAARSE et al., 1994). Em geral, o procedimento empregado na análise e identificação de componentes voláteis segue o fluxo simplificado, apresentado na Figura 3, composto de várias etapas e técnicas adequadas.

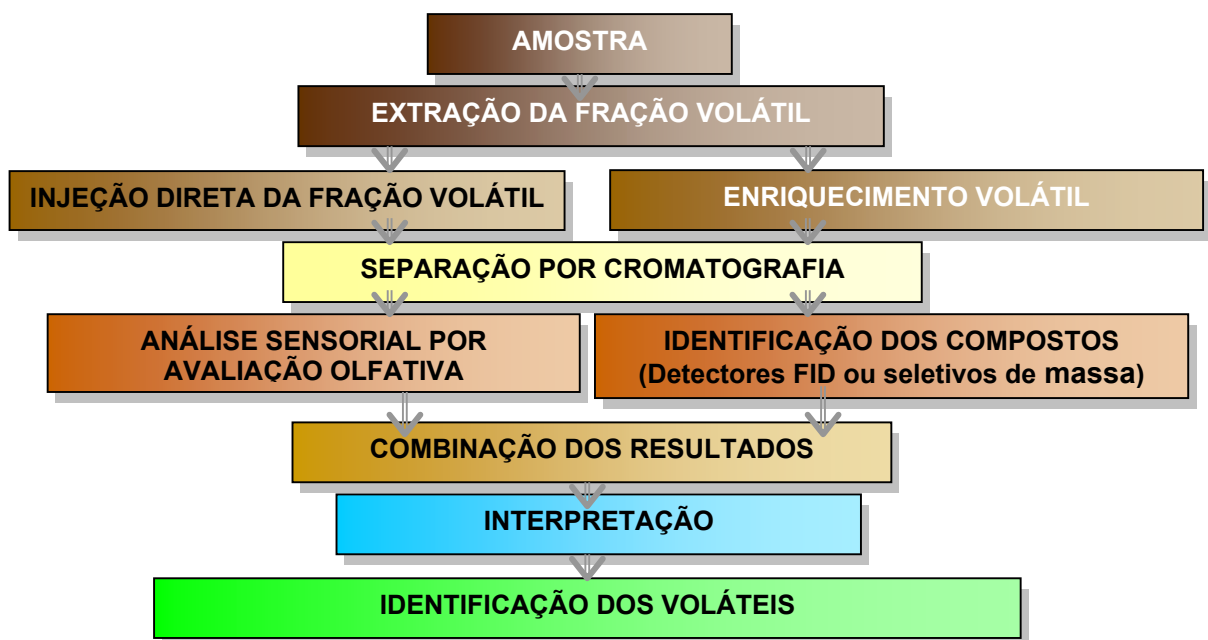


Figura 3 - Fluxo genérico simplificado para análise e identificação de componentes voláteis

Uma revisão metodológica da análise e identificação dos compostos voláteis do aroma de cafés verde e torrado pode ser encontrada em BLANK, SEN e GROSCH (1992).

2.8.1 Metodologias de Isolamento dos Componentes Voláteis

Inúmeras técnicas vêm sendo aplicadas na extração de compostos e componentes voláteis de alimentos, com o intuito de permitir sua análise. Dependendo do método usado para a coleta e concentração do aroma, os resultados podem variar significativamente em termos da composição final e da mistura dos componentes obtidos. Essencialmente, dispõe-se de duas alternativas para o isolamento de voláteis diretamente de produtos alimentícios. O primeiro está baseado na volatilidade dos compostos considerados, incluindo vários procedimentos de destilação para separar a fração volátil da matriz não volátil. Alternativamente, considera-se como base o coeficiente de partição dos voláteis entre o alimento e um agente extrator (FRANCO, 2000).

As condições de isolamento devem ser adaptadas à estabilidade dos voláteis, o que significa que temperaturas baixas devem ser aplicadas se os voláteis forem termicamente sensíveis e que o oxigênio deve ser excluído caso exista susceptibilidade à oxidação. De fato, isto também é extensível à matriz não volátil do alimento. Outro critério é a concentração dos voláteis, uma vez que ela determina a quantidade de material a ser processado de modo a obter quantidades suficientes dos compostos odoríferos de interesse. A concentração, bem como o objetivo da análise, deve ser considerada por ocasião da seleção dos métodos de preparação de um odor concentrado.

Grandes quantidades de voláteis devem ser isoladas se compostos desconhecidos devem ser identificados. Para tal, os procedimentos de isolamento e concentração precisam ser quantitativos e reproduzíveis. MANURA e OVERTON (1999) compararam técnicas de extração ou isolamento de voláteis orgânicos, conforme o Quadro 3.

	Matriz	Tamanho da amostra (gramas)	Limite de detecção	Preparação	Faixas de temperaturas dos pontos de ebulição analisáveis (°C)					
					-100	0	100	200	300	400
<i>Headspace</i>	Líquida Sólida	0,1 a 10	mg/kg	Automática 5 a 10 minutos	X	X				
<i>Purge and trap</i>	Gasosa Líquida Sólida	5 a 1000	µg/kg	Manual 10 a 30 minutos			X	X		
SPME	Gasosa Líquida	0,1 a 10	ng/kg	Automática 5 a 15 minutos			X	X		
Extração com solvente	Líquida Sólida	0,1 a 10	µg/kg	Manual Superior a 30 minutos			X	X	X	X
Extração com fluido supercrítico	Líquida Sólida	0,1 a 10	µg/kg	Automática 10 a 60 minutos				X	X	X
Extração térmica direta	Sólida	0,1 a 10	µg/kg	Manual 1 a 2 minutos	X	X	X	X	X	
			Característica dos compostos →		Gás	Volátil	Semi-volátil	Não-volátil		

Fonte: MANURA e OVERTON (1999).

Quadro 3 - Comparação de algumas técnicas de isolamento de voláteis orgânicos para aplicação em cromatografia gasosa

Parece razoável afirmar que o estado físico do alimento seja um critério importante. Sob esse enfoque, os produtos alimentícios podem ser divididos em três grupos:

- a) produtos sólidos;
- b) produtos líquidos em base aquosa;
- c) gorduras e óleos.

Normalmente, poucas informações sobre a natureza e a concentração dos voláteis no produto estão disponíveis, de maneira que, tendo por referência o Quadro 2, os critérios 1 a 4 não ajudam muito na seleção do método apropriado para isolamento. Portanto, essa eleição é determinada pelo estado físico e pela composição do produto sob investigação, critério 7, (Quadro 2) levando em conta o objetivo da análise, conforme o critério 5 (Quadro 2) e a distribuição dos voláteis no produto pelo critério 6 (Quadro 2) (MAARSE et al., 1994).

Os voláteis de produtos sólidos ou de produtos líquidos em uma base de água podem ser retirados por destilação a vapor (que pode ser feita sob vácuo), extração ou por combinação de destilação e extração simultânea (SDE),

onde o extrato é concentrado removendo o solvente por destilação, além de outras técnicas, como *headspace* (AUGUSTO, LOPES e ZINI, 2003).

Em geral, os componentes voláteis dos alimentos não apresentam concentrações suficientes para os métodos de análise direta e, sendo de isolamento seletivo, alguns compostos são mais favorecidos que outros. A seletividade torna impossível separar todos os compostos quantitativamente por uma só técnica. Portanto, algumas vezes mais de uma técnica deve ser aplicada, por exemplo, isolar os voláteis de altos pontos de ebulição por extração com solvente e os de baixos pontos de ebulição por uma técnica de aeração. Para maiores detalhes comparativos sobre as metodologias de extração de voláteis MIN (2004b) é uma fonte recomendável.

O Quadro 4 (Anexo 1) apresenta exemplos recentes para alguns alimentos e outros substratos, das técnicas extrativas e analíticas empregadas na detecção de seus componentes voláteis, bem como informações sobre alguns dos componentes identificados.

Ao confrontar os métodos de *headspace* dinâmico, de extração com solvente e de destilação sob vácuo com extração simultânea, como técnicas de determinação de compostos voláteis em molho de soja, algumas similaridades foram obtidas, mas compostos altamente voláteis somente foram detectados através do *headspace* dinâmico, enquanto as outras técnicas conduziram a um espectro mais amplo nas classes químicas detectadas (WANAKHACHORNKRAI e LERTSIRI, 2003).

Estudo comparativo das técnicas extrativas para café colombiano torrado e moído, especificamente extração com dióxido de carbono supercrítico, extração e destilação simultâneas e recuperação em óleo sob pressão, demonstrou por testes sensoriais dos extratos que esta última técnica seria a mais representativa (SARRAZIN et al., 2000).

ELMORE, ERBAHADIR e MOTTRAN (1997) fizeram, ainda, a comparação do método de *Solid Phase Micro-Extraction* (SPME ou Microextração em Fase Sólida, MEFS) usando fibra de sílica revestida de material absorvente com o *headspace* dinâmico e de armadilha de polímeros porosos absorventes, conforme resultados apresentados no Quadro 5.

	SPME	Headspace dinâmico
Sensibilidade	<ul style="list-style-type: none"> • inadequada para amostras sólidas. • aparecem mais picos de artefatos (devido ao insuficiente condicionamento das fibras e contaminação com o septo de Teflon®). 	<ul style="list-style-type: none"> • o <i>headspace</i> apresentou-se sobrecarregado, levando a picos com formato e resolução pobre.
Faixa de volatilidades	Apesar dos cromatogramas serem qualitativamente similares, algumas diferenças nas quantidades relativas de voláteis foram encontradas.	
Reprodutibilidade	Não foram encontradas diferenças.	
Conclusões	Para análise direta dos principais componentes voláteis, o SPME seria o método de escolha, mas para análise de traços somente o <i>headspace</i> dinâmico seria adequado.	

Fonte: ELMORE, ERBAHADIR e MOTTRAN (1997).

Quadro 5 - Comparação de extração de voláteis utilizando as técnicas de SPME e *headspace* dinâmico na análise de refrigerantes tipo cola

A Tabela 5 apresenta algumas técnicas de concentração de voláteis em relação aos respectivos limites de detecção e precisão, segundo MIN (2004b).

Tabela 5 - Limites de detecção e precisão de técnicas de concentração de voláteis

TÉCNICA	Limite de detecção empregando GC-FID ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Coefficiente de variação (%)
SPME	0,05 a 0,3	1 a 3
<i>Headspace</i> estático	1 a 2	1 a 3
<i>Headspace</i> dinâmico	0,003 a 0,005	1 a 8
Injeção direta	17 a 240	2 a 13

Fonte: MIN (2004b).

A análise de matrizes sólidas empregando várias técnicas como *headspace* estático, SPME e extração térmica direta, mostrou que o *headspace* pode ser relativamente tolerante à água presente nas amostras, sendo técnica menos sensível, contudo aplicável para alguns tipos de amostras nos casos de disponibilidade de grandes quantidades. A técnica de SPME mostrou ser conveniente para amostras contendo elevados teores de água e apresentou sensibilidade variando de 10 a 50 vezes maior que a do *headspace*, enquanto a extração térmica direta demandou o uso de coluna guarda com Tenax® para eliminar a interferência da água presente nas amostras. No entanto, demonstrou sensibilidade até 100 vezes maior do que a da SPME (PFANNKOCH e

WHITECAVAGE, 2004). Ainda, fazendo a análise de aroma de sapoti, foram obtidos resultados correspondentes comparando a técnica de SPME com a técnica de sucção a vácuo dos aromas para uma armadilha de Porapak[®] Q, utilizando-se naquela primeira um tempo oito vezes menor e uma quantidade de matéria-prima cento e cinquenta vezes menor (SOUSA, VALENTE e SILVA, 2000).

Similarmente ao Quadro 4 (Anexo 1) e, particularizando para o café, o Quadro 6 (Anexo 1) exemplifica as técnicas extrativas e analíticas recentemente empregadas na detecção dos componentes voláteis, além dos principais componentes identificados. A partir desse Quadro, constata-se que diversas técnicas extrativas têm sido aplicadas na pesquisa e determinação de voláteis do café, como *headspace*, SDE e SPME, entre outras. Não há, portanto, uma solução única para o problema da extração dos voláteis, devendo cada matriz ser estudada de forma adequada, juntamente com o objetivo buscado.

2.8.2 Metodologia Analítica para Caracterização e Identificação Química dos Componentes Voláteis

Inúmeras técnicas podem ser empregadas para aplicações na análise de odores, cada qual com funções distintas, destacando-se a cromatografia, sensores de estado sólido e espectrometria de massas.

Para a identificação de componentes voláteis, cada vez mais são utilizados métodos de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), que tem se tornado comercial e tecnicamente disponíveis e viáveis (LEHOTAY e HAJLSLOVA, 2002). Tal técnica parece oferecer muitas vantagens quando comparada às técnicas tradicionais e na área de alimentos é de especial dominância, quando a relação de resultados entre medidas instrumentais e a percepção humana requer cuidadoso controle para validar comparações. A aplicação de técnicas estatísticas multivariadas é importante nesse aspecto (SIDES, ROBARDS e HELLIWELL, 2000). EICEMAN, HILL e GARDEA-TORRESDEY (1998) apresentam trabalho detalhado de revisão sobre cromatografia gasosa, onde podem ser encontradas informações adicionais.

Na atualidade, a GC-MS é de longe a mais importante técnica analítica na indústria de perfumes e aromas e sua viabilização depende da adequação no preparo da amostra a ser analisada. Devido à sua complexidade, buscam-se colunas cromatográficas e condições analíticas que ofereçam a máxima resolução possível, algumas vezes em detrimento do tempo de análise (ASTEN, 2002). Evidentemente, a escolha da coluna cromatográfica é prerrogativa do pesquisador, função da disponibilidade de recursos e do objetivo da análise. O Quadro 7 apresenta algumas colunas comumente empregadas em cromatografia gasosa.

FASE ESTACIONÁRIA	Exemplos de marca comercial	Temperatura máxima (°C)	APLICAÇÕES
Padrão APOLAR Polidimetil siloxano	OV-1, SE-30, OV-101, DB-1, HP-1, SP-2100, CP SIL 8 CB	350	Uso geral; hidrocarbonetos; aromáticos polinucleares; drogas; esteróides
Padrão POLAR Polietileno glicol	Carbowax [®] 20M, CW 20M, PEG 4M, PEG 6M, CW 40M, DBWAX, SP 1000	250	Ácidos livres; álcoois; éteres; óleos essenciais; glicóis
Semi-padrão POLARIDADE POUCO MAIOR QUE AS APOLARES Poli (fenilmetildimetil) siloxano (10% fenil)	OV-3, SE-52, SE-54, DB-5, HP-5	350	Ésteres metílicos de ácidos graxos; alcalóides; drogas; compostos halogenados

Fontes: KLASSEN, STEIN e ZENKEVICH (2005) e TAN (2005).

Quadro 7 - Exemplos de fases estacionárias comumente empregadas em cromatografia gasosa

Convencionalmente, as colunas capilares aplicadas em cromatografia gasosa usam fases estacionárias, muitas das quais com ligações cruzadas para permitir temperaturas de trabalho mais elevadas. Mesmo assim, a fase estacionária eluirá lentamente. Tal fato, também conhecido por sangramento ou vazamento da coluna, é mais detectável em altas temperaturas. Dependendo do método de detecção, este pode ser irrelevante para certas separações. Quando a coluna capilar é conectada a um detector sensível como um espectrômetro de massas (MS), o sangramento pode causar inúmeros problemas, especificamente o confundimento de analitos, perda de sensibilidade e quantificação imprecisa, com degradação severa no limite de detecção (AGILENT, 2003).

Igualmente importante, o detector é o “cérebro” de qualquer cromatógrafo a gás, aferindo alguma propriedade física ou química dos componentes ao passarem por seu dispositivo de detecção. Sua escolha depende do objetivo analítico e dos compostos de interesse.

O Quadro 8 apresenta detalhes sobre alguns detectores mais empregados na análise de alimentos.

Detector	Ionização de chama (FID)	Termo-condutividade (TCD)	Seletivo de massas (MS)
Destrutivo	Sim	Não	Sim
Recomendado para	Compostos ionizáveis em chama de ar/hidrogênio (ligações C-H)	Compostos com diferentes condutividades térmicas do que o gás de arraste	Todos os compostos
Faixa de concentração	0,5 ng/μl a 500 μg/ μl	ng/μl	10 pg/μl a 2 μg/μl
Níveis mínimos detectáveis	5 pg de C por segundo	400 pg/ml gás de arraste	10 pg (modo SIM)
Aplicações típicas	Solventes e compostos orgânicos, análises ambientais, alimentos e aromas	Pureza de gases, gás natural e de refinaria	Análise de drogas, análises ambientais, desenvolvimento de métodos

Fonte: PRAMENDRA (2004).

Quadro 8 - Descrição de sistemas de detecção universal na cromatografia gasosa, empregados em análise de alimentos

Conforme apresentadas no Quadro 9 (Anexo 2), várias técnicas de cromatografia a gás têm sido empregadas na separação e caracterização química de componentes voláteis, particularmente de amostras relacionadas ao café, bem como inúmeras colunas cromatográficas, cujas características em geral seguem apresentadas no Quadro 2.

Como procedimentos gerais, MAARSE et al. (1994) recomendam que:

- a) a injeção direta na coluna (*on-column*) tenha preferência, propiciando melhor desempenho cromatográfico e menor chance de deterioração da amostra;
- b) colunas capilares sejam aplicadas, preferindo diâmetros internos menores e espessura moderada do filme da fase estacionária para garantir boa resolução;
- c) as corridas cromatográficas sejam realizadas em pelo menos duas colunas, preferencialmente de polaridades distintas;

- d) análises de olfatometria sejam realizadas concomitantes à cromatografia, dividindo a vazão do efluente, o que ajuda na identificação de compostos, indica se há compostos com limites de percepção muito baixos no sistema (pode não haver pico cromatográfico) e se há algum composto co-eluído com o solvente;
- e) seja produzido o cromatograma das áreas e proceda-se à identificação dos compostos.

Conforme as referências do Quadro 9 (Anexo 2), as demais condições operacionais são bastante variáveis, dependendo do Quadro 2 e dos recursos disponíveis. Envolvem, principalmente, o cromatógrafo e detectores acoplados, tais como o tipo de alimentação e a temperatura do injetor, o tipo, comprimento e diâmetro interno da coluna capilar, a fase estacionária e sua espessura, as temperaturas inicial e final, seus gradientes e programação de temperaturas do forno associados aos respectivos tempos, o gás de arraste, por exemplo hélio ou nitrogênio. Contudo, abrangem também condições como tempo, tipo de solvente, temperaturas, condições de dessorção, entre outras, relacionadas aos processos de preparo de amostra, extração e concentração.

2.8.3 Métodos para Enriquecimento da Fração Volátil

Os principais componentes voláteis presentes na fase vapor de uma amostra podem ser analisados diretamente, sendo a amostra coletada e transferida para o cromatógrafo. Porém, mais um passo de acumulação deve ser inserido para compostos que estejam presentes em concentrações muito baixas. Para a coleta cumulativa de voláteis, podem ser usadas técnicas de resfriamento, muitas vezes chamada criogênicas, e outras que envolvam fenômenos de adsorção e de absorção. Contudo, a proporção dos aromas injetados diferirá dos aromas da amostra devido à adsorção seletiva e à saturação progressiva do polímero empregado na adsorção conforme FRANCO (2003), onde uma descrição mais completa sobre o enriquecimento da fração volátil pode ser encontrada.

Em geral, observa-se que, após a extração, a técnica para a concentração dos voláteis normalmente emprega evaporação em coluna de Vigreux,

muitas vezes com adição de sulfato de sódio anidro como seqüestrante da água presente. Na etapa de concentração, pode-se também evaporar o solvente sob fluxo suave de gás nitrogênio, que embora seja conveniente promove a perda de voláteis por arraste (CLARKE e VITZHUM, 2001).

2.8.3.1 Fundamentos da técnica de SPME

A técnica de SPME é uma opção relativamente recente, simples e eficaz empregada no campo da análise instrumental, especialmente na cromatografia gasosa para análise de compostos voláteis. O uso intensivo desta técnica de isolamento e concentração se justifica, uma vez que não se utilizam solventes, apresenta alto poder de concentração compatível com as sensibilidades dos detectores de GC, é aplicável a muitos tipos de analitos, demanda quantidades pequenas de amostras, além da facilidade de transporte do material extraído para o cromatógrafo (VALENTE e AUGUSTO, 2000). Dependendo do substrato em questão e do tipo de fibra empregada na absorção dos voláteis (Quadro 10), a SPME é uma metodologia adequada para a extração de compostos voláteis polares e apolares (PINHO, PÉRÈS e FERREIRA, 2003).

Técnica extrativa	Tipos de analitos e matriz	Faixa	Concentração necessária	Facilidade de uso
<i>Headspace</i>	Gases, voláteis e semi-voláteis, líquidos e sólidos	Ampla	Alta	Médio
<i>Headspace</i> dinâmico (<i>Purge and trap</i>)	Alguns gases, voláteis somente líquidos	Estreita	Alta	Fácil
SDE	Semivoláteis, somente líquidos	Ampla	Baixa	Difícil
SPME	Alguns gases, voláteis e semivoláteis, líquidos e sólidos	Ampla	Baixa	Fácil

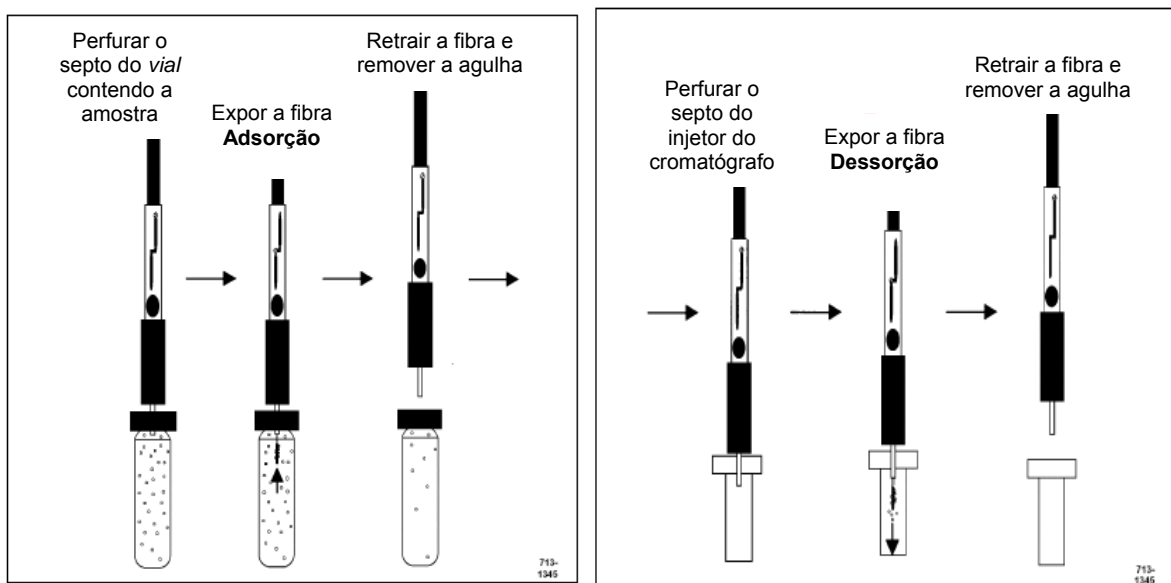
Fonte: SUPELCO (2001).

Quadro 10 - Comparação da técnica extrativa de SPME com outras técnicas extrativas

Numa extração por SPME, as moléculas do analito têm de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento. Para isto, resistências à transferência de massa devem ser vencidas até o estabelecimento do equilíbrio de partição ou de

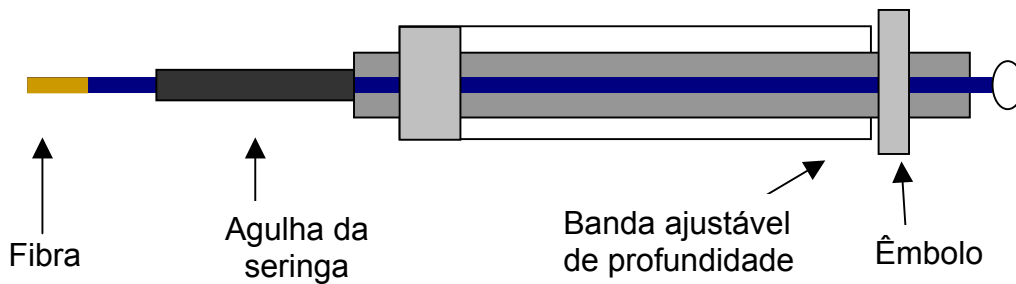
adsorção do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. O dispositivo básico de SPME consiste de um bastão, de cerca de 10 mm com uma extremidade recoberta com um filme fino de um polímero ou de um sólido adsorvente. Entre outros, empregam-se os polímeros polidimetilsiloxano (PDMS), divinilbenzeno (DVB) e poliácrlato (PA) como fases sólidas, os polímeros polidimetilsiloxano ou Carbowax[®] (CWB) ou um sólido adsorvente Carboxen[®] (CAR), essencialmente um carvão ativo microparticulado. A técnica de SPME pode ser usada para detectar aromas em alimentos sólidos ou líquidos, analisando compostos voláteis e semi-voláteis, pode facilmente detectar uma ampla faixa de analitos com uma só fibra desde traços até altas concentrações em uma amostra, sendo que especificidade pode ser obtida com tipos diferentes de fibras. A quantificação é possível por adição ou curvas de calibração de analitos (SUPELCO, 2001).

A extração ocorre mergulhando-se a seção recoberta na amostra, ou no seu *headspace*. Realizada a extração, a fibra é retirada da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo gasoso, onde os analitos são termicamente dessorvidos sob o fluxo de gás de arraste e carregados para a coluna cromatográfica. A Figura 4 apresenta, esquematicamente, a seqüência de aplicação de uma fibra utilizando a técnica de SPME. Detalhes da fibra e do equipamento utilizado em sua aplicação seguem na Figura 5.



Fonte: SUPELCO (2001).

Figura 4 - Representação esquemática da utilização da fibra na análise extrativa com SPME



Fonte: SUPELCO (2001).

Figura 5 - Representação do *holder* e da fibra utilizada na técnica de SPME

Evidentemente, é de muita importância a escolha adequada da fibra a empregar em cada caso, tanto em sua composição quanto à sua espessura, estando as mais comumente utilizadas presentes no Quadro 11.

FASES SÓLIDAS	APLICAÇÃO RECOMENDADA
PDMS 100 μm	Voláteis
70 μm	Semi-voláteis apolares
30 μm	Compostos apolares de alto peso molecular
PDMS/DVB	Voláteis, amins, compostos nitrogenados aromáticos
CAR/PDMS	Gases e compostos de baixo peso molecular
CWB/DVB	Álcoois e compostos polares
Poliacrilamida	Semi-voláteis polares
DVB/CAR/PDMS	Aromas e odores voláteis e semi-voláteis

Fontes: PILLONEL, BOSSET e TABACCHI (2002) e MIN (2004b).

Quadro 11 - Aplicações recomendadas para as diferentes fibras de SPME

O princípio fundamental da SPME é a partição dos analitos entre a amostra e a cobertura (polímero) da fibra. Uma vez alcançado o equilíbrio, a quantidade de analito extraída é diretamente proporcional a sua concentração na amostra e independente de acréscimos no tempo de extração. A facilidade com que os compostos voláteis presentes na amostra migram para o *headspace* depende do coeficiente de partição **K** da amostra, que descreve o grau de solubilidade que o analito tem na matriz, conforme a Equação (1). Altos valores de **K** implicam na dificuldade do analito sair da matriz e ir para a fase gasosa. O coeficiente de partição é muito dependente da temperatura, como demonstrado pela Equação (2).

$$K = C_c/C_g \quad (1)$$

Onde C_c é a concentração do analito na matriz e C_g a concentração do analito na fase gasosa (*headspace*).

$$\frac{dK}{dT} = \frac{1}{T} \quad (2)$$

Logo, processos que reduzam os valores de K aumentarão a sensibilidade de análises realizadas no *headspace* da amostra, como por exemplo, o aumento da temperatura de extração (T) (SILVA et al., 2001).

Conforme PAGE e LACROIX (1993), a amostragem de alimentos pela imersão de fibras de SPME no líquido pode também adsorver componentes não-voláteis, que os autores consideraram como indesejável e, logo, tal procedimento foi desconsiderado neste trabalho.

Ao avaliar várias fibras quanto à sua habilidade de adsorver componentes voláteis de aroma de café e de soluções aquosas modelo, as de PDMS/DVB tiveram a mais elevada sensibilidade em geral, enquanto que as de CAR/PDMS foram as mais sensíveis a pequenas moléculas e ácidos (ROBERTS, POLLIEN e MILO, 2000).

A técnica de SPME foi aplicada na determinação quantitativa e qualitativa de compostos voláteis de óleos vegetais de soja e milho, sendo considerada simples, reprodutível e sensível para a análise (STEENSON, LEE e MIN, 2002).

No caso de vinhos envelhecidos em barris de carvalho, a fibra DVB/CAR/PDMS apresentou a melhor recuperação geral dos compostos de interesse. Os valores de repetibilidade variaram entre 6,4 e 7,8% enquanto a reprodutibilidade apresentou-se entre 5,4 e 8,7% (DÍAZ-MAROTO et al., 2004).

Recentemente com a melhora na qualidade das fibras e sua maior competitividade em termos econômicos, a técnica de SPME vem sendo bastante empregada no modo de extração direta ou na configuração de *headspace*. HALL (2005) apresenta 416 referências do uso de SPME até 1999, sendo 84 análises incluindo alimentos e experimentos botânicos, números confirmados pelos dados de SUPELCO (2001) que cita mais de 750 artigos publicados empregando a técnica de SPME, 11 somente em voláteis de café, além de JENSEN (2004), com 135 artigos até 2002, nenhum em café, e, PAWLISZYN (2005), cujo banco de dados aponta

para 479 aplicações em análises de alimentos e aplicações em botânica, com 10 citações para café. Essas revisões contrastam com o trabalho de revisão de LÓPEZ (2004) que constatou somente cinco trabalhos, de cunho geral.

Empregando a técnica de SPME para café torrado e moído, SUPELCO (2001) identificou 57 componentes, entre os quais 2-butanona, 3-metilbutanal, 2-etil-hexanol, dissulfeto de dimetila, fenol, hexanal, piridina, pirazina, 4-metil-tiazol, 2,5-dimetil-pirazina, 2,6-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina e 2,3,5-trimetilpirazina.

Para a bebida de cafés oriundos da Costa Rica e Guatemala, comparativamente às fibras DVB ou PA, a fibra de CAR apresentou as mais elevadas recuperações para alguns analitos, como furancarboxaldeído, 2-acetilfurano e metilfurfural. Os autores, ainda, concluíram que as altas recuperações obtidas empregando SBSE comparada à técnica de SPME, ambas com fibras de PDMS, são devidas unicamente ao maior volume de recobrimento polimérico (BICCHI et al., 2002).

Empregando a técnica de SPME com fibra PDMS de espessura 100µm na diferenciação de cafés espresso e de *plunger* preparados a partir das espécies arábica e robusta, ROCHA et al. (2003) encontraram que o perfil de voláteis foi marcadamente determinado pela variedade botânica em detrimento ao método de preparação do café, sendo a variabilidade determinada pelos picos da cromatografia a gás e tempos de retenção, provedora da informação necessária para a discriminação. MONDELLO et al. (2004) empregaram fibra de composição tripla - DVB/CAR/PDMS – de 30 µm na caracterização de grãos de cafés torrados, apresentando bons resultados discriminatórios.

A técnica de SPME tem-se destacado, pois, além dos resultados obtidos, é rápida, de custo não muito elevado e fácil uso, inclusive para automação, podendo no futuro tornar-se o método de eleição para investigações. A rápida deterioração da fase sólida requer, contudo, bastante cuidado em estudos de longo prazo e recomenda-se o uso de padrões de calibração (PILLONEL et al., 2002).

2.8.4 Identificação dos Componentes Voláteis

A identificação espectrométrica de compostos pode ser realizada empregando-se várias técnicas, como espectrometria no infravermelho, espectrometria no ultravioleta, espectrometria de ressonância nuclear magnética e de massas (MIN, 2004c). Recentemente, tem sido popularizado o uso de detectores de massas, que empregam os mesmos princípios básicos de um espectrômetro de massas e têm sido amplamente utilizados alternativamente a estes, levando em conta as restrições inerentes (MIN, 2004d). Na identificação de compostos voláteis através de GC-MS existem bibliotecas disponíveis integradas à própria estação de trabalho do cromatógrafo, como a NIST (NIST, 2002). Complementarmente, bibliotecas publicadas também podem ser úteis, apresentando condições e colunas variadas. As compilações também freqüentemente são obtidas da literatura (JECFA, 2005; NIST, 2003; SDBS, 2005). Onde aplicável, essa identificação pode ser suplementada pela interpretação dos espectros de massas fornecidos pelo detector para cada componente (DOOL e KRATZ, 1963).

Além disso, na cromatografia a gás recomenda-se a incorporação de índices de retenção, o que pode ser extremamente valioso (RUTH e CONNOR, 2001). As polaridades do analito e da fase estacionária são os fatores determinantes da extensão da retenção desse analito numa coluna. Os índices de retenção, portanto, são usados na expressão sistemática da retenção de um analito numa dada fase estacionária. Por definição, o índice de retenção de um alcano normal é estabelecido como sendo 100 vezes o número de átomos de carbono desse alcano. Há várias fontes disponíveis desses índices como, por exemplo, MOTTRAM (2004) e ACREE e ARN (2004), sendo a melhor a própria biblioteca aplicada no laboratório para o substrato específico. Para empregar os índices de retenção lineares, devem-se reproduzir as condições operacionais do cromatógrafo e usar a mesma coluna, observando que podem ocorrer desvios no comportamento cromatográfico em função da temperatura. Em geral, o índice de retenção de um componente é um número, obtido por interpolação, relacionando o volume ajustado de retenção (tempo) ou o fator de retenção do componente com os volumes de retenção ajustados (tempos) de dois padrões eluídos antes e depois do pico do referido componente. Muitas vezes, esse valor é chamado de Índice de Retenção Linear

(IRL) que poderá diferir um pouco do valor medido para o mesmo componente sob condições isotérmicas, usando fases idênticas (DOOL e KRATZ, 1963; IUPAC, 1997). Neste item, um cuidado adicional ao consultar a literatura é a observação de um erro de troca de sinal na fórmula de determinação do IRL que conduz a resultados incorretos, detectado em várias publicações, como, por exemplo, MADRUGA e MOTTRAM (1998) e inclusive na própria IUPAC (1997) em seu capítulo nove, item 9.2.3.7. É importante verificar a correção da fórmula aplicada para o cálculo do IRL antes de qualquer comparação, conforme reproduzido abaixo na Equação (3).

$$\text{IRL} = 100 * \left[\frac{t_{R\ i}^T - t_{R\ z}^T}{t_{R\ (z+1)}^T - t_{R\ z}^T} + z \right] \quad (3)$$

Onde $t_{R\ i}^T$ refere-se aos tempos totais de retenção medidos sob as mesmas condições de programação de temperatura, i representa o tempo de retenção do composto em questão e z indica o número de átomos de carbono do alcano empregado como referência.

Na determinação quantitativa de compostos voláteis pode-se empregar padrões internos como o n-butanol, por exemplo – mais adequados para métodos extrativos diretos de extração com solvente tipo SDE, como o de Likens-Nickerson (LIKENS e NICKERSON, 1964) ou curvas de calibração externas, bastante precisas para o uso de extração por fibras de adsorção como é o caso da SPME, onde a quantificação do padrão interno pode ser impeditiva devida à própria taxa de adsorção e dessorção da substância padrão, apesar de que alguns autores empregaram padrões internos para o estudo dos compostos voláteis de mosto e vinhos (SALA et al., 2000; MARENGO, ACETO e MAURINO, 2001).

2.9 COMPONENTES VOLÁTEIS DE ALTO IMPACTO

Nem todos os compostos voláteis impressionam o sentido do olfato pois a sensação ou a qualidade do odor depende dos grupamentos químicos presentes na molécula e da concentração em que o composto se apresenta em dada situação, podendo representar diversas respostas sensoriais. A complexidade aumenta em misturas, pois a intensidade estimada de dois odorantes é frequentemente percebida como não-aditiva, fenômeno denominado como *counteracting* (neutralização) (KELLER e VOSSHAL, 2004). Além disso, embora apresentando baixos limites de percepção sensorial, muitos componentes acabam tendo pouca participação no aroma do produto final. Alguns exemplos desses limites de percepção para componentes voláteis do café torrado constam do Quadro 12.

Composto volátil	Limite de percepção (ng/kg)
2-furilmetanotiol ¹	0,005
Trissulfeto de dimetila ²	0,010
Dissulfeto de dimetila ²	10
5-metil-2-furil-metanotiol ¹	0,050
2,5-dimetil-3-metil-ditiofurano ¹	0,010
Furfuril-mercaptana ³	5
Furfuril-metil-dissulfeto ¹	0,040

Fontes: ¹CLARKE e MACRAE (1985a), ²MOREIRA, TRUGO e DE MARIA (2000) e ³ROWE (2002).

Quadro 12 - Limites de percepção de alguns componentes voláteis encontrados em cafés torrados

De fato, a resposta da percepção sensorial pode ficar restrita a um número menor de compostos que apresentam características necessárias e importantes para a mesma, e que tipificam o alimento; esses podem ser denominados de *key components* (componentes-chave ou componentes voláteis de alto impacto). Devem apresentar baixo limite de detecção ou percepção sensorial (*odour threshold* – quantidade mínima detectada via percepção nasal) e caráter impactante, que pode ser desejável ou não, dentro do contexto considerado (ROWE, 2002).

Em seu trabalho de proposição de modelos de aromas para alimentos a partir de compostos-chave, GROSCH (2001), mostrou que voláteis de aromas complexos podem ser identificados baseados no conceito de atividade de odor. BASTOS et al. (2002) no estudo de méis demonstraram que perfis de voláteis presentes em méis de eucalipto e laranja diferiram entre si, indicando que existe um perfil característico em função da origem botânica do mel recém-colhido, identificando os compostos nonanal e nonanol e aroma de eucalipto, associados ao mel de eucalipto, e fenilacetaldéido e benzaldeído conjugados a aroma floral e cera, no caso do mel de laranja.

Aplicando a técnica de SPME acoplada a GC/O para chá de yuzu (*Citrus junos*) e com diluições consecutivas, foram identificados o linalol (aromas floral e limão) e o decanal (aromas laranja e de cera) como os compostos de aroma ativos mais intensos (KIM et al., 2003). Em extratos de vinho, após a quantificação de cinquenta e três compostos, usados para preparação de modelos, identificou-se que tanto a 4-metil-4-mercaptopentan-2-ona quanto o 2-metil-3-furantiol tiveram efeito significativo na mistura, mesmo em concentrações de 5 ng/kg daquele primeiro, o qual apresentou limite de detecção olfativa de 0,8 ng/kg (ESCUDERO et al., 2004).

Como um indicador da força aromática de um componente químico, definiu-se o valor de atividade odorífera (OAV, sigla para *Odour Activity Values*), relação entre a concentração encontrada para cada composto pelo seu respectivo limite de percepção sensorial (*odour threshold*), que é a mínima concentração detectada pelo julgador através da olfatométrica, obtida por diluições sucessivas da amostra. Usualmente, os fatores de diluição são múltiplos de dois ou de dez, e evidentemente valores de OAV superiores à unidade representam compostos de impacto aromático, importantes para o aroma, sendo diretamente proporcionais à intensidade aromática percebida daquele componente nas condições de teste. No entanto, não existe uma definição da ordem de grandeza para um componente de alto impacto. Essa metodologia, muito efetiva na análise de aromas, foi aplicada para a avaliação de pães de trigo (SCHIEBERLE e GROSCH, 1991, 1994; RYCHLIK e GROSCH, 1996).

Um grupo de pesquisa da Universidade de Munique (Alemanha), coordenado pelo Professor Grosch e posteriormente pelo Professor Schieberle, definiu para o café torrado e moído alguns componentes voláteis de maior impacto aromático (Quadro 13), que poderiam servir de plataforma inicial para o café solúvel.

Volátil	Descrição sensorial	Concentração (mg/kg) ¹	Referência
(E)-β-Damascenona	Mel, frutal	1,95x10 ⁻¹	1, 2
2-furfuriltiol	Torrado (café), torrado fresco	1,08	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9
Formiato de 3-mercapto-3-metilbutila	<i>Catty</i> , animal, torrado	1,30x10 ⁻¹	1, 2, 9
3-metil-2-buten-1-tiol	Amina	8,20x10 ⁻³	1, 9
2-isobutil-3-metóxi-pirazina	Terra	8,30x10 ⁻²	1
5-etil-4-hidróxi-2-metil-3(2H)-furanona	---	1,73x10 ¹	1, 2
Guaiacol	Fenólico, condimento	4,20	1, 2, 3, 8
2,3-butanodiona (diacetil)	Amanteigado, ¹⁰ assado	5,08x10 ¹	1, 3, 8
4-vinil-guaiacol	Condimento	6,48x10 ¹	1, 2, 3, 8
2,3-pentanodiona	Amanteigado	3,96x10 ¹	1
Metional	Batata, doce	2,40x10 ⁻¹	1, 7
2-isopropil-3-metóxi-pirazina	Terra, torrado	3,30x10 ⁻³	1
Vanilina	Baunilha	4,80	1
4-hidróxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furanol)	Caramelo, ¹⁰ fruta, ¹⁰ morango-abacaxi	1,09x10 ²	1, 2
2-etil-3,5-dimetil-pirazina	Terra, torrado	3,30x10 ⁻¹	1, 3, 8
2,3-dietil-5-metil-pirazina	Terra, torrado	9,50x10 ⁻²	1, 2, 9
2-etil-3-dimetil-pirazina	---	---	2
3-hidróxi-4,5-dimetil-2(5H)-furanona (Sotolon)	Tempero	1,47	1
4-etil-guaiacol	Condimento	1,30	1, 2, 8, 9
5-etil-3-hidróxi-4-metil-2(5H)-furanona (Abhexon)	Tempero	1,60x10 ⁻¹	1
2,4-dimetil-tiazol	Torrado	---	7
4,5-dimetil-tiazol	Torrado	---	7
Metanotiol	Pútrido, sulfuroso	---	5
2-hidróxi-metilfuranol	Queimado	---	4
2-metil-butanal	---	---	3, 8
3-metil-butanal	---	---	3, 8
2,4-pentanodiona	---	---	3, 8
2,4-dimetil-3-pentanona	---	---	3, 8
Piridina	---	---	3, 8
Pirazina	---	---	3, 8
2-etil-6-metil-pirazina	---	---	3, 8
Ácido acético	---	---	3, 8
Furfural	---	---	3, 8
2-etil-6-metil-pirazina	---	---	3, 8
Pirrol	---	---	3, 8
3-metil-3-buten-1-ol	---	---	3, 8
Metil-pirazina	---	---	3, 8
4-metil-tiazol	---	---	3, 8
2,5-dimetil-pirazina	---	---	3, 8
2,6-dimetil-pirazina	---	---	3, 8
Etil-pirazina	---	---	3, 8
2,3-dimetil-pirazina	---	---	3, 8
Acetato de 2-furanmetanoila	---	---	3, 8
5-metil-2-furancarboxaldeído	---	---	3, 8
Ácido 3-metil-2-butenóico	---	---	3, 8

Fontes: ¹BLANK, SEN e GROSCH (1991), ²SEMMELOCH et al. (1995), ³SEMMELOCH e GROSCH (1996), ⁴DE MARIA, MOREIRA e TRUGO (1999), ⁵MOREIRA, TRUGO e DE MARIA (2000), ⁶ROWE (2000), ⁷JAMESON (2001a, 2001b), ⁸SCHENKER et al. (2002a), ⁹ROWE (2002) e ¹⁰FRANCO (2003).

Quadro 13 - Componentes voláteis de alto impacto aromático encontrados em cafés

Para o aroma de café arábica da Colômbia com torra média, empregaram-se modelos que emulassem o perfil de odor do mesmo, ficando o melhor modelo constituído de vinte e sete odorantes (CZERNY, GROSCH e MAYER, 1999). Em experimentos de omissão de alguns desses compostos, confirmou-se que o 2-furfuriltiol era o mais destacado no grupo de compostos sulfurados, portanto um componente volátil de alto impacto. Além dele, outras omissões definiram diferenças significativas, como furanonas e alquil pirazinas (GROSCH, 2001).

2.10 INTEGRAÇÃO DO OLFATO E TÉCNICAS ANALÍTICAS

O olfato é o principal sentido para a maioria dos mamíferos, identificando aspectos essenciais como comida, inimigos ou parceiros sexuais. O mecanismo de percepção do odor é ainda desconhecido, portanto os termos são muito subjetivos, mas o que se observa é que, com treinamento, o reconhecimento aumenta, mesmo em concentrações muito baixas. Perfumistas e julgadores de chá, café e vinho, parecem ter mais memória olfativa do que hipersensibilidade para odor (MODESTA, 2002).

O sistema olfativo humano é muito complexo, e não é ainda totalmente entendido, constituído por um grande número de células olfativas receptoras (superior a 10 milhões), compreendendo 1000 tipos diferentes de receptores moleculares, mas com uma quantidade limitada de classes seletivas (variando entre 10 e 100). Revisões sobre o sistema olfativo podem ser encontradas em MAMLOUK (2002), DAVIDE, HOLMBERG e LUNDSTRÖM (2003) e DEISINGH, STONE e THOMPSON (2004).

Uma abordagem integrada no estudo das interações de aromas combina o sentido humano com instrumentos e métodos. Basicamente não há como isolar o espectro completo dos componentes do aroma e o mais comum é empregar técnicas adequadas para separar e enriquecer frações específicas de compostos do aroma.

A cromatografia a gás acoplada a olfatometria (GC/O) é método analítico único, que associa o poder de resolução da cromatografia a gás capilar

com a seletividade e sensibilidade do nariz humano (SHARP e DIFEB, 2002). Essa estratégia para a análise sensorial e instrumental permite orientação em experimentos de identificação dos voláteis com probabilidade de contribuir ao aroma de um alimento (ACREE, 1993; GROSCH, 1993, 1994; SCHIEBERLE, 1995).

Aplicando GC/O na quantificação de um complexo aromático do café, a 1-octen-3-ona, os resultados mostraram desempenho comparável à obtida por GC-MS para esse odor, ou até melhor, considerando que a quantificação por GC-MS demanda entre 75 e 500 vezes mais amostra. Utilizando calibração externa, foram obtidos resultados excelentes, ao nível de ng / kg. Contudo, nessa baixíssima concentração, não se pode excluir superestimação devida a co-eluição de odores, por exemplo. Os resultados comprovam que a técnica de GC/O pode competir com as mais sensíveis e seletivas técnicas, mesmo em casos extremamente intensos como, por exemplo, a espectrometria de massas, devido à pequena preparação necessária da amostra (POLLIEN et al., 1999).

Várias técnicas foram desenvolvidas para coletar e processar dados de GC/O e para estimar a contribuição sensorial de compostos odoríferos ativos, que podem ser classificadas em quatro categorias:

- a) métodos de análise por diluição para produzir fatores baseados em diluições sucessivas até o limite de percepção, por exemplo *Combined Hedonic Response Measurement (CHARM[®] analysis)* (ACREE, BARNARD e CUNNINGHAM, 1984) e *Aroma Extraction Dilution Analysis (AEDA)* (ULLRICH e GROSCH, 1987). Na primeira a duração da percepção é considerada junto com a diluição final ou valor de diluição em que o composto é detectado e, na AEDA, o fator de diluição (FD) é a diluição na qual um composto odorífero ativo é detectado;
- b) métodos de detecção de frequência, gravando odores detectados por um grupo de julgadores. Na determinação da frequência, o número de julgadores detectando o odor é usado como estimador da intensidade dos odores;
- c) métodos de intensidade posterior, produzindo estimativas da intensidade percebida, gravada depois da eluição do pico;
- d) métodos de tempo-intensidade, estimando a magnitude da intensidade percebida, gravada simultaneamente com a eluição

do pico cromatográfico, por exemplo OSME (cheiro, em grego), (MCDANIEL et al., 1989).

Dentro desse conceito, a análise de um aroma de alimento começa selecionando os odores mais potentes por CHARM[®] *analysis*, ou por AEDA ou por OSME. Apesar de promissor, não tem havido muitas publicações empregando esta última técnica (VAN RUTH, 2001).

Tanto AEDA quanto CHARM[®] *analysis*, têm sido usadas para determinar o impacto aromático de muitos alimentos (GROSCH, 1994; BLANK, 1996; FENG e ACREE, 1999), e especificamente para os componentes-chave do aroma de café torrado, utilizando técnicas de *headspace* e GC/O (GROSCH, 1998, 2000). Ambas foram desenvolvidas para adquirir mais informação sobre a atividade odorífera e permitem a determinação da atividade relativa de um único volátil dentro de uma mistura mais complexa, mesmo desconhecendo as estruturas químicas e envolvem diluição serial de frações de aromas e subsequente avaliação, usando GC/O. Nesse aspecto, estão sujeitas às mesmas críticas (DA SILVA, LUNDAHL e MACDANIEL, 1994).

A técnica de OSME é uma aproximação de tempo-intensidade para avaliar a significância de compostos odoríferos nos gases efluentes de GC e permite seja plotado um gráfico conhecido na avaliação sensorial como aromagrama, facilmente interpretável, particularmente denominado osmegrama. DA SILVA, LUNDAHL e MCDANIEL (1994) comprovaram que a técnica de OSME é comparável a parâmetros equivalentes da literatura, onde as intensidades dos compostos foram acessadas por diferentes métodos psicofísicos. Apesar do tempo disponível para a caracterização do aroma e possíveis efeitos de fadiga, os julgadores sensoriais foram quantitativamente comparáveis a outros empregando técnicas olfatométricas tradicionais. Demonstraram, ainda, ser possível obter uma medida da qualidade e potência odoríferas e subsequentemente estimar a significância relativa dos odores presentes em vários extratos aromáticos, acessando diretamente suas intensidades de efluentes de GC. O julgador sensorial, ao mesmo tempo em que descreve a qualidade do aroma, registra a intensidade do aroma percebido sensorialmente de forma direta em uma escala de tempo-intensidade, movendo através de um cursor um resistor variável em função da intensidade da percepção. A técnica de OSME foi empregada para identificação dos compostos voláteis do caju, que foi caracterizado

por uma elevada quantidade de metil e etil ésteres, tendo sido detectados 63 compostos e identificados 51, empregando técnicas de GC-MS (GARRUTI et al., 2001).

Através da superposição do aromagrama com o cromatograma obtido, podem ser identificados quais componentes voláteis apresentam impactos sensoriais relevantes, bem como fazer sua descrição, que, associada à identificação de cada componente, auxilia na elucidação da origem, comportamento e tratamento adequado em cada caso, conforme encontramos no trabalho de GARRUTI et al. (2003), que identificaram, por exemplo, o ácido 2-metil-butanóico como odor desagradável de maior intensidade em frutos de cajueiro.

A correlação entre análise instrumental e percepção sensorial em vinhos foi estudada pelo emprego da técnica de aromagrama. Entre os 600 a 800 componentes de aroma encontrados, foram estabelecidos os componentes-chave, em função da variedade da uva empregada (RAPP, 1998).

A análise por GC-MS e GC/O em café tratado com vapor e que apresentava aroma indesejável descrito como 'suor desagradável', apontou o ácido 3-metilbutanóico como principal contribuinte (BUCKING e STEINHART, 2002).

Em estudo recente realizado, demonstrou-se a relevância do formato do recipiente utilizado na percepção de aromas de vinhos, muito provavelmente pela influência nos efeitos de retenção e liberação dos aromas em cada caso (HUMMEL et al., 2003). Isso demonstra claramente a importância da correta definição da metodologia de coleta dos aromas, e, particularmente, destaca o local de consumo na determinação dos aromas de impacto.

2.11 DESCRITORES SENSORIAIS

Na análise sensorial de alimentos, a definição dos descritores sensoriais que serão empregados pelos julgadores sensoriais é de extrema importância, permitindo ainda a análise estatística dos resultados conjuntos obtidos pelos integrantes da equipe. Vários estudos têm sido realizados para a caracterização sistemática de odores por um número limitado de descritores semânticos, que constituem um espaço sensorial, como os de DRAVNIEKS (1985),

JAUBERT (1987), JAUBERT, TAPIERO e DORE (1995), LAFFORT et al. (2000) e na revisão de MODESTA (2002), sendo alguns desses espaços sensoriais apresentados no Quadro 14, do qual ainda constam alguns descritores empregados especificamente para café. Complementarmente, o Quadro 15 apresenta uma revisão dos grupos de descritores empregados recentemente para cafés, verdes e torrados. Existem vários bancos de dados de descritores sensoriais disponíveis *on-line* na Internet, como ACREE e ARN (2004) e CHEMCONNECTIONS (2004).

ESPAÇOS	SENSORIAIS		Descritores empregados para cafés	
DRAVNIKS, 1985	MODESTA, 2002	ST. CROIX SENSORY, INC., 2004	ICO, 2004b (café verde)	CAFÉ IGUAÇU, 2002 (café solúvel)
etérico, anestésico, floral, químico, peixe, limão, sujo, frutal (outros além de cítrico), queimado, mofado, amêndoas enfumaçado, alho, pútrido, deteriorado, madeira, resinoso, terra, cebola, limão aniz, menta, hortelã cânfora, perfume embolorado, outros	fragrante, ardido sulfuroso, etéreo, doce, rançoso, oleoso, metálico, condimentos	floral, medicinal, químico, peixe, ofensivo, vegetal, frutal, terra	rancido, tabaco, condimentado, floral, frutal, medicinal, químico, verde, terra, animal, queimado, chocolate, caramelo, cereal, malte, tostado, cítrico, grama, cinza, madeira, herbáceo, nozes, pútrido, borracha, vinho	condimentado, floral, frutal, cítrico, animal, cinzas, achocolatado, caramelo, cereal, malteado, tostado, grama, verde, herbáceo, amendoado, pútrido, borracha, amadeirado, defumado, especiarias
Total 17 descritores	Total 9 descritores	Total 8 descritores	Total 25 descritores	Total 15 descritores

Quadro 14 - Descritores sensoriais empregados para café e alguns espaços sensoriais propostos

Verde ¹	Frutal ^{3,5}	Doce, caramelo ^{2,3,4}
Doce ^{1,5}	Nozes ⁵	Terra ^{1,2,3}
Sulfuroso ¹	Defumado ^{1,2}	Torrado, sulfuroso ^{2,3}
Floral ⁵	Vegetal ⁴	Terra, torrado, defumado ⁴
Torrado ^{1,5}	Batata ⁴	Suor ⁴
Tempero, cozido ⁴	Amanteigado ⁴	Herbáceo ⁴
Defumado, fenólico ³	Condimentado ³	

Fontes: ¹GRETSCH, SARRAZIN e LIARDON (2000), ²GROSCH (2000), ³CLARKE e VITZTHUM (2001), ⁴SCHENKER et al. (2002b) e ⁵NARAIN, PATERSON e REID (2003).

Quadro 15 - Grupos de descritores sensoriais empregados para cafés

ST. CROIX SENSORY, INC. (2004) propôs alguns descritores-âncora, como floral, medicinal, químico, peixe, ofensivo, vegetal, frutal e terra, estando o café incluso neste último. Por outro lado, pode-se encontrar o descritor

café como característico de alguns aromas de alimentos. O Quadro 16 apresenta alguns descritores sensoriais associados aos seus respectivos componentes voláteis para alguns alimentos.

REFERÊNCIA	ALIMENTO	COMPONENTE	DESCRIÇÃO OLFATIVA
ZIMMERMANN e SCHIEBERLE, 2000	Pimenta em pó húngara e marroquina	<ul style="list-style-type: none"> • β-ionona • Furaneol • Sotolon 	<ul style="list-style-type: none"> • Violeta • Caramelo • Tempero
GARRUTI et al., 2001	Caju	<ul style="list-style-type: none"> • Acetato de etila • Butanoato de metila • Hexanal • 3-hidróxi-2-butanona • Benzaldeído 	<ul style="list-style-type: none"> • Caju-ameixa, solvente, ruim, roupa molhada • Doce, fruta, fruta passada, caramelo • Verde, mato, grama • Adocicado, bom, leve • Plástico, verde, mato, fruta
PLOTTO e MCDANIEL, 2001	Maçã	<ul style="list-style-type: none"> • Acetato de hexila • Acetato de 2-metil-butila • β-damascenona • Butirato de butila • Acetato de pentila • 1-octen-3-ol 	<ul style="list-style-type: none"> • Pêra, fruta madura • Solvente • Suco de uvas • Queijo, maçã podre • Maçã gala • Cogumelo
CHOI, SAWAMURA e KONDO, 2002	<u>Citrus flaviculpus</u> Hort. Ex Tanaka	<ul style="list-style-type: none"> • α-pineno • Mirceno • Terpinoleno • Citronelal • Octanal • Octanol • Linalol • Neral • l-carvona • Carvacrol 	<ul style="list-style-type: none"> • Verde • Verde, resinoso • Frutal, cítrico • Cítrico, verde • Verde • Doce, cítrico • Verde, cítrico • Herbáceo • Floral, herbáceo • Doce, frutal
HEINIÖ et al., 2003	Centeio	<ul style="list-style-type: none"> • 2-metil-butanal • Hexanal • Metional • 1-octen-3-ol • Benzenoacetaldeído • Benzenoetanol 	<ul style="list-style-type: none"> • Solvente • Verde, flor • Batata assada • Cogumelo • Flor, mel, amêndoa amarga • Mofado
FERRARI et al., 2004	Conhaque	<ul style="list-style-type: none"> • Diacetil • Nerolidol • Z-3-hexen-1-ol • Acetato de 2-metilbutila • Acetato de 3-metilbutila • Acetato de 2-feniletila • Linalol 	<ul style="list-style-type: none"> • Manteiga • Feno • Grama • Pêra • Banana • Rosa • Lima
IRAQI et al., 2005	Azeitonas verdes	<ul style="list-style-type: none"> • (Z)-3-hexenal • (E,E)-2,4-decadienal • (E,Z)-2,4-decadienal • Guaiacol 	<ul style="list-style-type: none"> • Verde • Verde, coentro • Parafina • Fenólico

Quadro 16 - Descrições olfativas associadas aos componentes voláteis presentes em alimentos e bebidas

A Organização Internacional do Café (ICO), sugere alguns atributos com base em extensivo trabalho realizado abrangendo cafés verdes de todo o mundo, sendo 25 descritores do aroma (ICO, 2004b).

Os Quadros 17 e 18 (Anexo 3) apresentam uma revisão dos descritores sensoriais dos principais componentes do aroma do café que têm sido empregados, enquanto o Quadro 19 (Anexo 3), apresenta as concentrações encontradas para alguns dos compostos de impacto aromático do café torrado e moído.

Esses três Quadros (17, 18 e 19 do Anexo 3), poderiam funcionar como matrizes de conhecimento entre os compostos voláteis e os descritores sensoriais.

Percebe-se que na prática, cada autor busca os melhores descritores, cuja variedade é função direta de cada material analisado e das condições analíticas gerais, sendo importante ressaltar ainda a influência do efeito da concentração do componente aromático no estímulo propiciado, fato que pode induzir a percepções sensoriais diversas para um mesmo componente volátil, além da ausência, tanto quanto se sabe, de trabalhos específicos para o café solúvel.

2.12 ANÁLISE SENSORIAL

2.12.1 Recrutamento, Seleção e Treinamento de Julgadores Sensoriais

Na análise de alimentos, além das instalações adequadas e dos testes analíticos objetivos (físicos, químicos e instrumentais), são necessárias pessoas para avaliar sensorialmente os produtos (STONE, 1992). Esse aspecto parece evidente partindo do princípio de que o destino final é o da alimentação humana.

Vários aspectos devem ser observados para o trabalho com julgadores em análise sensorial, conforme STONE e SIDEL (1993). No recrutamento, muitas informações básicas sobre os candidatos devem ser levadas

em consideração para maximizar a eficiência do treinamento, conforme ASTM (1981), PUPO et al. (2000) e MCEWAN et al. (2002).

2.12.2 A Metodologia do Perfil Livre

A análise descritiva é usada habitualmente na indústria de alimentos e bebidas, sendo metodologias convencionais o Perfil de Sabor, o Perfil de Textura e a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) (MUÑOZ e CIVILLE, 1992; STONE, 1992), que são de grande utilidade na solução de diversos problemas associados ao controle de qualidade, estudo de vida útil de produtos, desenvolvimento de novos produtos e interpretação de preferências de consumidor. Tais metodologias apresentam certas desvantagens como a necessidade de grande número de sessões de treinamento. Além disso, apesar do esforço realizado para padronizar a terminologia empregada, os julgadores sensoriais apresentam muitas diferenças de percepção e freqüentemente aparecem discordâncias de descrições entre os membros da equipe (STONE e SIDEL, 1993; DAMASIO, 1999).

Todas estas desvantagens podem ser superadas pelo uso de uma técnica alternativa, o Perfil Livre, que permite reduzir e até eliminar as seções de treinamento. Segundo esta técnica, cada indivíduo pode usar seu próprio vocabulário para descrever sensorialmente um produto, sendo as exigências para os julgadores sensoriais: objetividade e capacidade de usar escalas de intensidade e de desenvolver uma lista de atributos e vocabulário consistente (WILLIAMS e LANGRON, 1984).

JAIME, MELA e BRATCHEL (1993) ressaltam que, apesar de não ser essencial, uma experiência prévia com outras técnicas sensoriais poderia ajudar os julgadores a utilizar os atributos de forma mais consistente. HEYMANN (1995), trabalhando com discriminação de odor para amostras de baunilha, observou que, na média, julgadores com experiência em outras técnicas sensoriais descritivas levantaram um número similar de atributos ao da equipe que não tinha experiência em análise sensorial. Todavia, os termos utilizados pela equipe com experiência permitiram uma melhor discriminação entre amostras e a obtenção de um mapa de consenso com maior variância explicada.

A análise de dados de perfil sensorial demanda métodos estatísticos especializados que considerem as diferentes variações, geralmente desconsideradas em outras aplicações estatísticas. Entre outras, existem o diferente uso de descritores pelos julgadores e o diferente uso de escalas. Nesse sentido, as duas aproximações mais importantes são dadas pela Análise de Procusto Generalizada (*Generalised Procrustes Analysis* - GPA) e pelo programa STATIS. Comparando os desempenhos, os dois métodos foram considerados bastante semelhantes, e a escolha é portanto de conveniência (MEYNER, 2003).

A GPA é uma metodologia simétrica que extrai uma estrutura comum de múltiplos conjuntos de dados compostos de variáveis não idênticas, gerando uma projeção de consenso que atenda a configuração entre os múltiplos conjuntos considerados. Não requer necessariamente um número igual de respostas entre os conjuntos (CHUNG, HEYMANN e GRÜN, 2003).

Em geral, as principais causas de divergência entre as respostas dos julgadores podem ser minimizadas pelo treinamento, mas no caso do Perfil Livre, há maior probabilidade de ocorrência. A GPA executa três transformações principais para corrigir as diferenças entre os julgadores na avaliação, rotação, translação e autoescalonamento (OLIVEIRA e BENASSI, 2003; SIEFFERMANN, 2004).

As recomendações básicas para a aplicação do Perfil Livre são as mencionadas abaixo no Quadro 20 (BENASSI, 2002).

PRINCÍPIO BÁSICO	As pessoas percebem as mesmas características de produto, mesmo que se expressem de maneira diferenciada.
RESTRICÇÕES (da técnica ou do programa de computador disponíveis)	<ul style="list-style-type: none"> - mínimo de 5 julgadores sensoriais (número ideal está entre 10 e 12). - máximo de 30 amostras (sempre com 3 repetições cada). - número de atributos pode ser desigual para cada julgador sensorial. - número de atributos pode ser diferente entre amostras. - o número de amostras, incluindo as repetições, deve ser maior ou igual ao número de atributos. - número de atributos pode ser diferente entre julgadores sensoriais.
DELINEAMENTO	<ul style="list-style-type: none"> - Três provas por sessão - Amostras servidas seqüencialmente - Blocos incompletos balanceados para sete amostras

Fonte: BENASSI (2002).

Quadro 20 - Recomendações básicas para aplicação da técnica de Perfil Livre

Recentemente, a GPA foi aplicada para correlacionar conjuntos de dados sensoriais com dados analíticos, no caso, o efeito do teor de gordura na textura e no sabor de sorvetes. Estabelecendo a equivalência de todos os componentes químicos similares, os resultados foram muito úteis para a compreensão das relações químico-sensoriais (CHUNG, HEYMANN e GRÜN, 2003). Os autores destacam que empregaram a opção permutação no aplicativo SENSTOOLS, que, entretanto, apresenta duas desvantagens: o cálculo de poucas permutações permite apenas uma estimativa superficial do nível de significância e, em segundo lugar, não leva em conta o delineamento experimental utilizado e simplesmente permuta as observações de cada julgador. Conseqüentemente, a significância do consenso para as observações simples não é necessariamente devida às diferenças de produto.

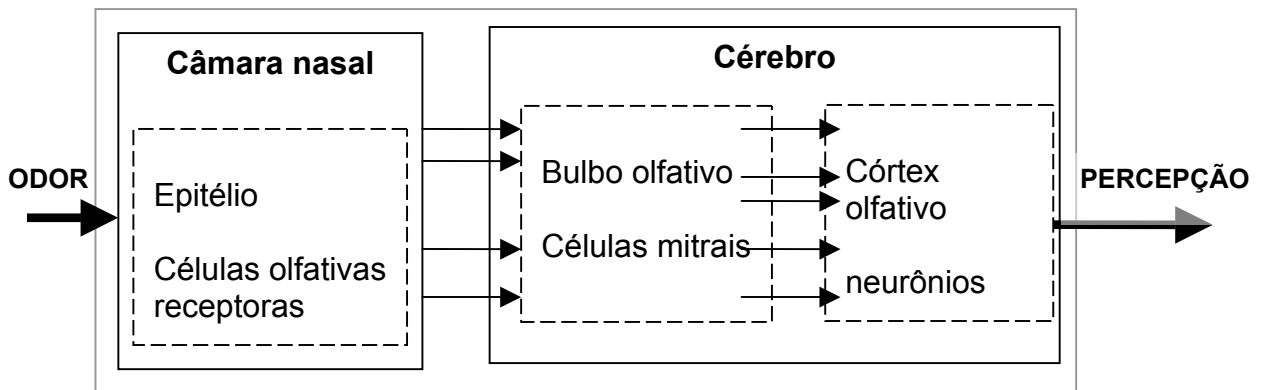
Existem limitadas opções de programas computacionais para a aplicação do GPA. O mais citado e empregado tem sido o Procrustes PC conforme o Quadro 21, contudo não é mais comercializado separadamente mas sim como parte do pacote estatístico SENSTOOLS.

PRODUTO	Provadores e detalhes sobre treinamento	Atributos	Número de amostras	Variância explicada (% / dimensões)	Aplicativo estatístico	Referência
Café	10 experiência variável	7 a 15	6	81	-	WILLIAMS e ARNOLD, 1985
Rum	22 consumidores	9 a 20	10	65 / 4	Procrustes PC 2.1	PIGGOTT e PATERSON, 1993
Malte	17 experiência seleção odores	6 a 15	6	81 / 3	Genstat	BEAL e MOTTRAM, 1993
Baunilha	20 experiência variável em ADQ	4 a 18	13	-	Procrustes PC 2.2	HEYMANN, 1995
Azeite de oliva	16 experiência em ADQ	8 a 19	17	73 / 4	Procrustes PC 1.2	SERVILI et al., 1995
Amêndoas	9 treinados	4 a 10	5	77	SAS	GUERRERO, GOU e ARNAU, 1997
Vinho	especialistas	5	6	40 / 2	--	WATSON et al., 1999
Bebidas carbonatadas	39 não treinados	2 a 8	24	60 / 4	Procrustes PC 2.2	ELMORE e HEYMANN, 1999
Vinho do porto	19 não treinados	27 a 51	12	43	SENS-TOOLS 2.0	CRISTOVAN, PATERSON e PIGGOTT, 2000
Produtos lácteos	13 treinados	24	23	50 / 2	--	MONROSIER, SIEFFERMANN e DANZART, 2001
Bebidas carbonatadas	24 treinados	4 a 22	8	60 / 4	SENS-TOOLS 2.3	LACHNIT et al., 2003
Café de coador	13 experiência variável	36 a 39	12	25 / 3	SENS-TOOLS 2.0	NARAIN, PATERSON e REID, 2003

Quadro 21 - Utilização da técnica do Perfil Livre para a avaliação de aromas de alimentos e bebidas

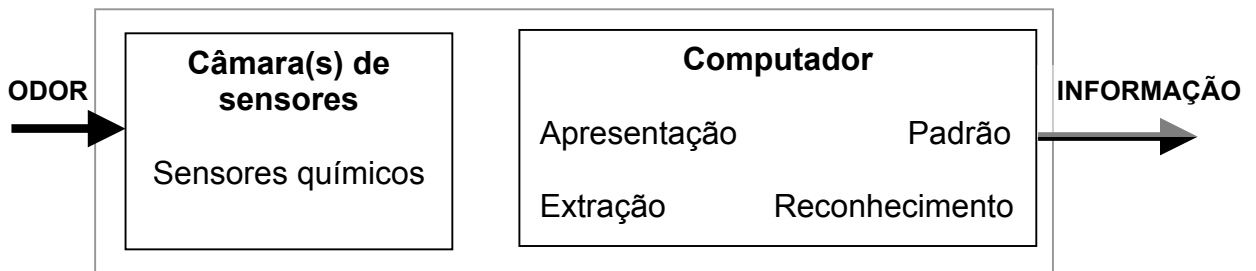
2.13 O EMPREGO DO NARIZ ELETRÔNICO COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA DETERMINAÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS

Alguns aspectos da olfação têm sido investigados e um esquema simplificado, bem como suas similaridades com um sistema eletrônico, podem ser vistos na página seguinte na Figura 6 e na Figura 7 e no Quadro 22.



Fonte: DAVIDE, HOLMBERG e LUNDSTRÖM (2003).

Figura 6 - Esquema do funcionamento do sistema olfativo humano



Fonte: DAVIDE, HOLMBERG e LUNDSTRÖM (2003).

Figura 7 - Esquema do funcionamento de um nariz eletrônico

HUMANO	ELETRÔNICO
Cerca de 10 milhões de receptores, auto-regenerados	5 a 100 sensores químicos manualmente substituídos
10 a 100 classes de seletividade	5 a 100 padrões de seletividade
Redução inicial do número de sinais de cerca de 1000 para 1	Conjuntos inteligentes de sensores podem imitar isso ?
Adaptativo	Capacidade adaptativa talvez seja possível
Saturável	Persistente
Tratamento de sinal em tempo real	Equipamento de reconhecimento de padrões pode simular a mesma performance
Identifica um grande número de odores	Tem que ser treinado para cada aplicação
Não pode detectar algumas moléculas simples	Pode detectar também moléculas simples (H ₂ , H ₂ O, CO ₂ , ...)
Associativo com som, visão, experiência, etc.	Com aplicação de conjuntos de sistemas multisensores pode ser possível
Pode ficar infectado	Pode ficar envenenado

Fonte: DAVIDE, HOLMBERG e LUNDSTRÖM (2003)

Quadro 22 - Comparação esquemática entre características do nariz humano e do nariz eletrônico

O aparecimento de narizes eletrônicos originou-se no controle instrumental de processos produtivos, que foram sendo desenvolvidos ou aperfeiçoados a partir do início do século passado. Para caracterizar essas grandezas, mais sensores físicos (como, por exemplo, termômetro, barômetro, etc.) ou análises de química instrumental (exemplificando, MS, NIR, NMR, etc.) foram desenvolvidos, bem como equipamentos tendo por meta a medida do aroma de alimentos como café, temperos e outros segundo SCHWEIZER-BERBERICH, HARSCH e GÖPEL (1995) ou uísque conforme ULMER et al. (1996).

Esses narizes eletrônicos são equipados com uma multiplicidade de elementos sensores químicos, aos quais o fluxo gasoso contendo o aroma do alimento é conduzido. Mudanças de sinal resultantes do contato com os voláteis são usadas para geração de um sinal eletrônico. Para sistemas mais sofisticados, tais instrumentos requerem o uso de conjuntos de sensores mais específicos, devidamente testados para a aplicação em foco. A solução mais desejável seria a detecção dos compostos mais importantes, correlacionados de alguma maneira àqueles com impacto aromático (STEPHAN, BÜCKING e STEINHART, 2000). A eficiência dos sensores eletrônicos comerciais depende, portanto, dos limites dos materiais dos sensores. Logo, para que sistemas congruentes sejam desenvolvidos,

os sensores devem reconhecer aromas importantes com seletividade e sensibilidade suficientes, definidas caso a caso (HOFMANN, 1998).

Atualmente, entretanto, os seres humanos têm a sensibilidade e resposta a um repertório que excede grandemente esses equipamentos. Por outro lado, o nariz eletrônico tem o potencial de responder a certos compostos químicos que não podemos cheirar ou não devemos por razões de segurança. Portanto, o nariz eletrônico complementa a resposta humana e a tecnologia existente em várias aplicações (KLAHORST, 2004).

O nariz humano é muito sensível a odores, atingindo concentrações tão baixas quanto 10^{-11} µg/l, enquanto em termos de instrumentação analítica os limites atuais estão em torno de 10^{-7} µg/l. Por exemplo, a vanilina é percebida pelo nariz humano cerca de 33 mil vezes mais sensivelmente do que com um sensor químico. Em contraste, o pentano só é reconhecido pelo nariz humano em elevadas concentrações, sendo esse componente cerca de cento e setenta e cinco vezes mais sensível a um nariz eletrônico (ESKILSON, 1998).

Particularizando para cafés torrados, uma das aplicações pioneiras do nariz eletrônico empregou doze sensores de óxido de ferro para classificar o *headspace* das embalagens. Com o auxílio de técnicas estatísticas, os autores concluíram ser possível a discriminação não só entre a mistura da composição dos cafés mas também do grau de torração, confirmando o uso potencial num instrumento eletrônico para controle de processo quantitativo na indústria de alimentos (GARDNER, SHURMER e TAN, 1992).

Apesar do fato de que, com a tecnologia atual, os chamados narizes eletrônicos ainda não são tão sofisticados quanto o nariz humano, parece ser uma questão de tempo para que a equivalência seja atingida, podendo talvez ser seguida pelo sobrepujamento. No entanto, a tecnologia pode não ser capaz de substituir parte da subjetividade da avaliação de cafés (ALVES, 2003).

Fazendo a medida seletiva de odorante por dispositivo de múltiplos sensores, ou seja, um nariz eletrônico, determinou-se um nível de detecção inferior a 4,0 ng/ml para 2,4-nonadienal, relevante em pepinos frescos (KOHL et al., 2000).

Avaliando a influência do teor de gordura nas diferenças sensoriais entre sorvetes de morango, comparando um modelo de nariz eletrônico com um equipe de avaliação sensorial e análise cromatográfica por *headspace* estático dos

voláteis, a capacidade do dispositivo eletrônico foi considerada satisfatória quando comparada às duas outras metodologias (MIETTINEN et al, 2002).

Para o caso de maçãs Fuji, o desempenho de um conjunto constituído por sete sensores de cristal de quartzo cobertos com vários filmes em estado sólido (s1-Mn, s3-Cu-NO₂, s4-Ru, s5-Sn, s6-Rh, s7-Cr, s8-Co), revelou pela aplicação de ACP uma explicação da variância geral igual a 87%. Foram estabelecidas correlações mais fortes com alguns dos sensores específicos empregados, com intervalo de explicação da variância individual encontrada entre 23,5% (sensor s6) e 72,7% (sensor s7) (ECHEVERRÍA et al., 2004).

O aperfeiçoamento desses equipamentos e uso de mais sensores tem ampliado sua aplicação, abrangendo a detecção do frescor de peixes, identificação da origem de cafés e detecção da composição de resíduos tóxicos (GRIFFIN, 2004a, 2004b).

FREITAS, PARREIRA e VILAS-BOAS (2001) aplicaram, para um conjunto de quatro amostras de café robusta e cinco amostras de café arábica torrados a 206°C, a técnica do arranjo de sensores comparado-a com os resultados obtidos por SPME-GC empregando a fibra PDMS-100µm, sendo os dados desta última técnica tratados por ACP. Trinta picos mais importantes foram escolhidos e os compostos responsáveis pela diferenciação de cafés arábica e robusta foram tentativamente identificados no *headspace* por GC-MS. As separações obtidas pelos dois métodos foram similares, claramente separando a variedade arábica, caracterizada por acetil-pirrol, 1-acetil-(óxi)-2-propanona e furano-metanol, da variedade robusta, com similaridades principalmente explicadas pela piridina, metil-etil-pirazina e metil-2-pirrol-carboxaldeído. O método SPME-GC não mostrou separação, segundo a origem geográfica, enquanto esse aspecto foi discriminado com o nariz eletrônico. O tempo total por análise com o nariz eletrônico foi de apenas sete minutos enquanto a GC-MS levou uma hora. Os dois primeiros componentes da ACP responderam por 86% da variância total.

Ao analisar cafés torrados de várias origens entre elas Brasil (10), Java (9), Quênia (10), Vietnã (10) e África, o equipamento nariz eletrônico logrou perfeita discriminação em menores tempos analíticos que a técnica clássica empregando SDE e GC-MS (DIRINCK et al., 2002b).

Para o café torrado, não se obteve grande sucesso devido à sua complexidade e para café solúvel não foi possível distinguir entre o produto normal e

um aromatizado (SCHALLER, BOSSET e ESCHER, 1998). Mais tarde, processando quatro gramas de café extraído e apenas um grama de café moído no equipamento SMart Nose™, resultados com boa discriminação e ótima reprodutibilidade foram encontrados, em conformidade com os dois tipos de processamento (SMARTNOSE, 2004).

2.14 AVALIAÇÃO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA

A habilidade pontual para prover dados precisos e seguros é fundamental em trabalhos analíticos. Estes, em geral, devem incluir estudos de especificidade, linearidade, precisão, precisão intermediária, limite de detecção, limite de quantificação e robustez (GREEN, 1996; SOARES, 2001; DE BARROS e HIRATA, 2003; INMETRO, 2003). Para tal, o primeiro passo para o desenvolvimento de uma análise reside em sua validação. Dentro de um laboratório isso pode ser obtido através de testes de recuperação e comparação a um método independente ou pelo emprego de material de referência certificado (GARFIELD, 1991).

A rastreabilidade de um método, definida como a propriedade do resultado de uma medida ou o valor de um padrão dever ser relacionada a referências estabelecidas, usualmente padrões nacionais ou internacionais, através de uma cadeia contínua de comparações, todas com incertezas estabelecidas, deve ser observada. O estabelecimento da rastreabilidade em um laboratório obedece a um conjunto de atividades (EURACHEM/CITAC, 2000; HUND, MASSART e SMEYERS-VERBEKE, 2001):

- a) especificar o analito e a incerteza aceitável;
- b) escolher metodologia adequada para estimar o valor e as condições de medição;
- c) demonstrar, através da validação, que os cálculos e as condições de medição incluem todas as quantidades influentes que significativamente afetam o resultado;
- d) identificar a importância relativa de cada quantidade influente;
- e) escolher e aplicar os padrões de referência apropriados;
- f) estimar a incerteza.

A norma NBR ISO/IEC 17025-2001, no item 5.4.5., destaca a importância da validação de métodos analíticos e a documentação do trabalho de validação, para a obtenção de resultados confiáveis e adequados ao uso pretendido (ABNT, 2001). Antes de realizar experimentos de validação, deve-se avaliar se o sistema utilizado para a análise é capaz de fornecer dados de qualidade aceitável, o que alcançado com experimentos de conformidade do sistema, que pode ser definida como um conjunto de testes para garantir que o equipamento utilizado está apto a gerar resultados de exatidão e precisão aceitáveis (RIBANI et al, 2004).

Orientações gerais sobre interferentes na certificação metodológica podem ser encontradas em EURACHEM GUIDE (2002). Um resumo das recomendações mais encontradas na literatura especializada para validação de metodologias apresenta-se no Quadro 23 (Anexo 4).

2.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em geral, para dados sensoriais, os resultados são submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey. Alternativamente, pode-se empregar ACP com os resultados dos compostos mais importantes, quando se fizer necessário, para realizar análise multivariadas (GARRUTI et al., 2001). Em casos específicos de respostas sensoriais, emprega-se a GPA, que permite analisar os dados obtidos com a metodologia do Perfil Livre (GOWER, 1975).

De fato, na avaliação de dados sensoriais, o uso de GPA ou de ACP pode ser considerado, função de sua disponibilidade ou opção estatística. Para testes de proficiência de equipe, a GPA oferece opções marginalmente melhores em termos do estabelecimento da concordância do equipe. Entretanto, dado que a discriminação entre as amostras é considerada como medida crucial do desempenho, o uso de ACP tem sido considerado igualmente válido (MCEWAN et al., 2002).

2.16 TENDÊNCIAS E DESAFIOS NA INVESTIGAÇÃO DE AROMAS NO CAFÉ SOLÚVEL

Durante o processamento para a obtenção do café solúvel, ocorrem várias transformações e perdas aromáticas que distanciam sua qualidade daquela do café de coador, e a redução dessa diferença tem sido alvo principal dos processos de aumento da intensidade dos aromas presentes no café solúvel.

Recentemente, tem-se atingido significativo progresso no entendimento químico dos aromas, com a aplicação de técnicas instrumentais e analíticas cada vez mais sofisticadas. O aroma dos alimentos e bebidas é complexo e normalmente apresenta entre 50 e 250 compostos voláteis com uma ampla faixa de pontos de ebulição. No caso do café, já foram detectados mais de 800 componentes voláteis. Cada tipo de componente de aroma deve ser analisado por um método apropriado à sua composição química e à matriz em que se encontra.

As técnicas de isolamento de voláteis são seletivas, de maneira que alguns compostos são mais favorecidos que outros, condição que torna impossível isolar todos os compostos quantitativamente por uma só técnica. Várias técnicas extrativas têm sido aplicadas na determinação de voláteis do café, como *headspace*, SDE e SPME, sendo que alguns autores utilizaram técnicas de concentração dos voláteis antes da análise.

Na caracterização química dos componentes voláteis muitas técnicas têm sido empregadas, especialmente GC e GC-MS, e, na identificação de compostos voláteis, índices de retenção têm sido aplicados de forma complementar e concomitante à GC-MS, existindo bibliotecas disponíveis integradas à própria estação de trabalho do cromatógrafo, como a biblioteca NIST. Onde for aplicável, a identificação deve ser complementada pela interpretação dos espectros de massas fornecidos pelo detector para cada componente.

Dentre os componentes voláteis presentes em alimentos e bebidas, muitos são sensorialmente irrelevantes e os métodos empregados mais recentemente têm possibilitado aos pesquisadores a identificação e quantificação de um número comparativamente pequeno de compostos de aroma relevantes.

A percepção do odor é multimodal, envolvendo outras sensações, incluindo o paladar. Uma abordagem integrada no estudo das interações de aromas combina o sentido humano com instrumentos e métodos.

A GC/O é uma técnica analítica única, que associa o poder de resolução da cromatografia a gás capilar com a seletividade e sensibilidade do nariz humano. Pode ser associada à OSME na detecção e identificação de odores que apresentem impacto aromático relevante, produzindo como resposta gráfica um aromagrama.

Na análise sensorial descritiva de alimentos, a definição dos descritores sensoriais que serão empregados pelos julgadores sensoriais é de extrema importância. O uso da metodologia do Perfil Livre permite diminuir e até eliminar as seções de treinamento dos julgadores sensoriais, que desenvolvem uma lista de atributos e vocabulário consistente e a GPA permite analisar os dados obtidos.

Nos últimos anos foi desenvolvida uma ferramenta analítica que imita o sentido humano do olfato, conhecida como “nariz eletrônico”, constituído de arranjos de sensores eletrônicos conectados a um sistema de análise de dados.

Para a validação das metodologias analíticas a empregar em laboratório, após a condução de exame dos dados redundantes ou despercebidos e de pontos anômalos, é importante buscar e definir seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, repetibilidade, precisão intermediária, exatidão e robustez dos métodos.

Ao contrário do café torrado, a composição da fração volátil e sensorialmente relevante do café solúvel tem sido pouco estudada.

Por hipótese, uma alternativa para aplicação das técnicas de aromatização de café solúvel parece abranger o conhecimento da composição dos voláteis presentes em café solúvel e de seus respectivos impactos aromáticos, bem como da sua caracterização química e sensorial.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Este trabalho tem por proposta identificar os principais componentes do aroma do café solúvel e sua importância segundo a ordem de relevância olfativa, possibilitando alternativas tecnológicas para melhoria do aroma do produto e propondo o equipamento nariz eletrônico como técnica eficaz, rápida e prática, complementar na classificação de cafés solúveis.

3.2 ESPECÍFICOS

Combinar os resultados obtidos para cafés solúveis pela aplicação das técnicas GC/O e de Perfil Livre para o sentido humano da olfação com metodologia instrumental de identificação, empregando técnica extrativa de SPME acoplada à técnica analítica de GC-MS.

Comparar os dados sensoriais com aqueles obtidos pelo uso do equipamento nariz eletrônico, na classificação de amostras de cafés solúveis.

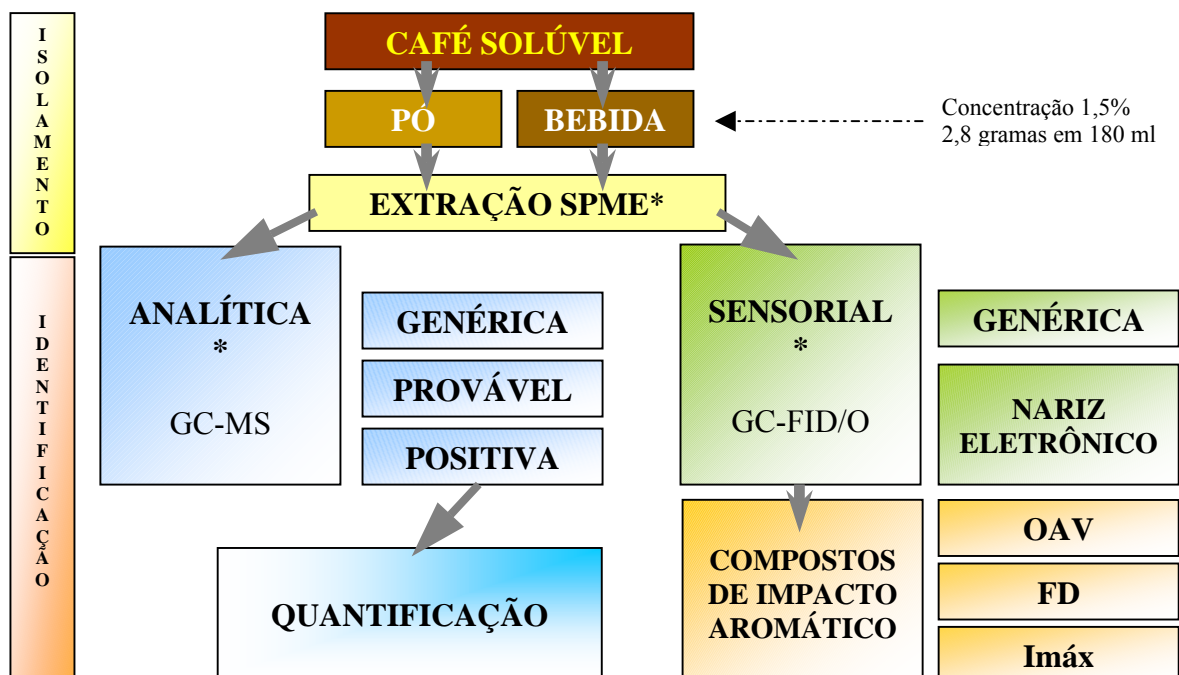
Propor descritores olfatométricos potencialmente integrantes de um espaço sensorial para cafés solúveis.

Determinar os limites de percepção dos principais componentes de relevância para cafés solúveis.

Sugerir um modelo para interpretação da qualidade do aroma do café solúvel.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia inclui as concepções teóricas de abordagem, o conjunto de técnicas que possibilitam a construção da realidade e o sopro divino do potencial criativo do pesquisador (MINAYO et al., 1999). Transcendendo os limites impostos pela pesquisa em um contexto paradigmático, a opção neste trabalho é por métodos quali-quantitativos que abordem a questão estudada em toda a sua complexidade. Adotou-se uma abordagem integrada no estudo das interações de aromas ao combinar o sentido humano com metodologia instrumental, baseada na identificação da composição da fração volátil e sensorialmente relevante do café solúvel e de seus respectivos impactos aromáticos, empregando uma técnica extrativa de SPME com base no estudo de VIEGAS et al. (2004) e técnicas de identificação por cromatografia a gás acoplada a detector de massas (GC-MS) e a olfatometria (GC/O) para descrição sensorial qualitativa com a metodologia do Perfil Livre e comparação dos resultados aos obtidos equivalentemente com o nariz eletrônico. A Figura 8, abaixo, apresenta um visão geral da metodologia analítica empregada neste trabalho.



* Incluiu etapas de desenvolvimento e validação de método

Figura 8 – Visão geral da metodologia empregada para análise dos componentes aromáticos

4.1 MATÉRIA – PRIMA

Os reagentes empregados nas análises foram de grau analítico adequado, cromatográfico quando aplicável.

No preparo das amostras de café solúvel em laboratório, as matérias-primas utilizadas para o café arábica, classificadas como de bebida dura, provieram da região sul do estado de Minas Gerais e da região norte do estado do Paraná. A matéria-prima para o café conilon foi originária do estado de Rondônia. Todas as matérias-primas foram da safra 2002/2003 e com até 80 defeitos, conforme classificação usualmente empregada, atendendo distribuição granulométrica genérica comercial entre peneiras 14 e 18, especiais para café verde (CLARKE e MACRAE, 1985b).

Para cada matéria-prima utilizada, quatro sacas de juta com 60 kg cada, foram isoladas e identificadas, quantidade suficiente para a realização de todos os testes, constituindo os lotes experimentais, que permaneceram armazenados adequadamente em laboratório. Esses testes abrangeram os cafés listados no Quadro 24, com códigos de 1 a 3. As demais amostras são cafés solúveis comerciais, codificadas também numericamente de 4 a 7, que foram adquiridas diretamente no varejo dos respectivos países. Todas as amostras de cafés solúveis foram devidamente identificadas, mantidas hermeticamente fechadas ao abrigo da luz, em freezer com temperatura inferior a -18°C.

AMOSTRA	ORIGEM	CLASSIFICAÇÃO	COMPOSIÇÃO	INTENSIDADE DE TORRAÇÃO
1	Brasil	experimental	arábica	Média
2	Brasil	experimental	arábica	Média
3	Brasil	experimental	conilon	Média
4	Brasil	comercial	conilon/arábica	Escura
5	Brasil	comercial	---	Escura*
6	Inglaterra	comercial/aromatizada	---	Média*
7	Inglaterra	comercial/aromatizada	---	Média/clara*

* Intensidade de torração estimada por avaliação sensorial.

Quadro 24 – Descrição das amostras de cafés solúveis analisadas

Considerando os objetivos do trabalho, foi estabelecido um corte metodológico abrangendo uma variada gama de qualidades, e, portanto, seguindo

classificação por julgadores sensoriais profissionais em cafés solúveis, as amostras de cafés solúveis selecionadas diferiram todas entre si, destacando-se as amostras internacionais, consideradas como de qualidade superior às outras e supostamente processadas incluindo processos de aromatização.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Análises Físico-Químicas

4.2.1.1 Condições gerais empregadas

Todos os ensaios e determinações foram realizados nos laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento da Companhia Iguazu de Café Solúvel (Cornélio Procópio - Paraná), com temperatura e umidade relativa do ambiente controladas, respectivamente, entre 20 e 22°C e 60 e 70%. As análises foram realizadas sempre em triplicatas, exceto onde indicado.

Para as pesagens com precisão de 0,1 mg, utilizou-se balança analítica AX200 da SHIMADZU. Os demais recursos atendem às demandas de um laboratório analítico, sendo os cálculos de processamento dos cafés solúveis experimentais realizados em base seca.

Para as etapas com demandas de aquecimento e resfriamento utilizaram-se banhos termostáticos computadorizados, fornecidos pela Haake.

Nas análises cromatográficas, incluindo as etapas preparativas e extrativas, empregaram-se *vials* e septos fornecidos pela Agilent e água desmineralizada com grau de pureza Milli-Q[®] (Millipore), de resistividade menor que 18MΩ.cm a 25°C, adequada para a aplicação, e evitando interferentes.

As colunas cromatográficas empregadas, fornecidas pela Agilent Technologies, estão descritas a seguir:

- a) coluna cromatográfica capilar INNOWax – 60m x 0,32mm x 0,25 μ m – Polar – fase estacionária de 5% de polietileno glicol de peso molecular igual a 20.000;
- b) coluna cromatográfica capilar HP-5– MS – 30m x 0,25mm x 0,25 μ m – Apolar – Fase estacionária 5% de fenil–metilpolisiloxano.

De fase estacionária polar e características equivalentes às colunas Carbowax, foi utilizada a coluna capilar INNOWax (Agilent Technologies), altamente inerte, de grande compatibilidade química e sensibilidade a amplo espectro de analitos. Esta foi empregada tanto com o detector FID para as análises de olfatométrica quanto para uso nas análises empregando a técnica extrativa de SPME (função da sensibilidade) e nas análises finais de GC-MS, uma vez que recomendada pelo fabricante, devido ao baixo sangramento quando submetida a altas temperaturas. Apresenta ainda bom desempenho na determinação de álcoois, aldeídos, ácidos orgânicos, ésteres, compostos aromáticos e ácidos graxos livres, entre outros (AGILENT, 2003).

Com fase estacionária apolar, utilizou-se a coluna capilar HP-5-MS, complementar na determinação e confirmação dos índices de retenção lineares na identificação de componentes.

4.2.1.1.1 Condições cromatográficas empregadas

Para as análises de GC-MS, as seguintes condições foram empregadas:

- a) temperatura do injetor: 250°C;
- b) gás de arraste: He – 1 ml/min;
- c) detector seletivo de massas (MS) Agilent 5973:
 - temperatura da interface: 280°C;
 - temperatura do quadrupolo: 150°C;
 - temperatura da fonte de íons: 230°C;
 - modo de operação SCAN, com varredura de 35-400 unidades de massa atômica.

d) cromatógrafo Agilent 6890 N – programação do perfil de temperaturas do forno:

- temperatura inicial 40°C, mantida por 5 min;
- aquecimento com taxa de 4°C/min até 60°C, mantida por 5min;
- aquecimento com taxa de 8°C/min até 250°C, mantida por 5 min.

A resposta dos detectores (FID e MS) é adimensional, tendo aplicação comparativa. Para os efeitos deste trabalho e visando a simplificação do texto, os valores citados para as respostas dos detectores serão referenciados e tratados como de área dos picos cromatográficos ou unidades de área cromatográfica.

4.2.1.2 Extração dos voláteis empregando a técnica de HS-SPME

Adotou-se como referência da quantidade de amostra o momento do consumo da bebida preparada do café como parâmetro para todas as demais metodologias. Portanto, elegeu-se uma massa amostral igual a 2,8 gramas de café solúvel, correspondendo aproximadamente à concentração em xícaras de prova de café com capacidade para 180ml, como referência geral ao redor de 1,5% massa/volume de teor em sólidos solúveis. Em todos os testes, empregou-se o café solúvel da Amostra 5, padrão comercial brasileiro.

Nesta técnica, a fibra permanece somente no *headspace* da amostra, sendo os seguintes materiais utilizados:

- a) SPME *holder* (*Standard 24 gauge needle*) – Supelco;
- b) fibras utilizadas: Três fibras com polaridades distintas foram selecionadas segundo VALENTE e AUGUSTO (2000) e AKIYAMA et al. (2003) (Quadro 25).

Part. N°.	Tipo	Composição Química	Espessura do filme (μm)	Faixa de temperatura (Dessorção)
57348-U	Polar	DVB/CAR/PDMS	50/30	230-270°C
57300-U	Apolar	PDMS	100	200-280°C
57310-U	Bipolar	PDMS DVB	65	200-270°C

Fonte: SUPELCO (2001).

Quadro 25 - Fibras utilizadas na etapa de desenvolvimento do método de extração por SPME

Para o preparo das amostras, feito imediatamente antes de cada análise, pesou-se quantitativamente o café solúvel em *vials* para análise de *headspace* com capacidade total igual a 20 ml (fornecidos pela Agilent). Após a pesagem, os frascos foram selados imediatamente com septos de silicone e mantidos em banho de óleo termostático, com temperatura constante igual a 70°C.

Após 10 minutos da imersão atingiu-se o equilíbrio de temperatura nos frascos, determinado por medição termométrica, e, com a fibra retraída na agulha, o septo foi perfurado e a fibra exposta ao *headspace* da amostra. Após 30 minutos de extração, a fibra foi novamente retraída, a agulha retirada do septo e levada para inserção no GC. Com a fibra retraída, o septo do injetor foi perfurado. A seguir, os compostos voláteis adsorvidos na fibra foram dessorvidos termicamente com o auxílio do gás de arraste e transferidos diretamente para a coluna cromatográfica. Após cada dessorção no cromatógrafo, a fibra foi acondicionada e processou-se uma amostra controle, conforme descrito no item 3.2.3..

Para análise em GC-MS, utilizando-se a metodologia HS-SPME, os equipamentos foram operados utilizando-se os seguintes parâmetros, complementarmente ao descrito em 3.2.1.1.1:

- a) gás de arraste: He (5,0 analítico, de pureza 99,999%) – 1,3 ml/min;
- b) injetor operando em modo *Splitless* (*liner* com diâmetro interno de 0,75mm – da marca Supelco);
- c) economizador de gás – ligado (*saver flow* 20 ml/min e *saver time* 5 min);
- d) *split vent* com vazão de 65ml/min (45 s) ;

e) coluna cromatográfica capilar INNOWax (60m x 0,32mm x 0,25 μ m) - (fornecida pela Agilent).

O estudo da otimização da partição e dessorção dos voláteis baseou-se inicialmente no procedimento adotado por MATA et al. (2004). Utilizou-se primeiramente uma fibra com características polares (57348-U – Quadro 25), sendo os ensaios conduzidos segundo delineamento composto central em cinco níveis, com otimização realizada empregando-se a metodologia da superfície de resposta.

Foram testadas quatro variáveis independentes, conforme descrito no Quadro 26, com cinco repetições no ponto central para estimativa da falta de ajuste, sendo dezesseis ensaios fatoriais e oito ensaios nos pontos axiais, totalizando 29 ensaios, realizados em ordem aleatória. A escolha do ponto central para cada variável estudada foi baseada nos limites estabelecidos pelo fabricante (Supelco) bem como informações disponíveis na literatura (BICCHI et al., 2002; AKIYAMA et al., 2003).

FATOR	SÍMBOLO	PONTO CENTRAL	FAIXA DE VARIAÇÃO
Temperatura de extração	T ₁	60°C	20°C a 100°C
Tempo de extração	t ₁	30 min	10 a 50 min
Temperatura de dessorção	T ₂	250°C	230°C a 270°C
Tempo de dessorção	t ₂	10 min	5 a 15 min

Observação: Coluna INNOWax

Quadro 26 - Fatores estudados na otimização da extração por SPME

O delineamento empregado aparece na Tabela 6, com variação dos fatores de -2 a +2. Os resultados das variáveis-resposta foram expressos em unidades da área total dos picos cromatográficos obtidos em cada ensaio e a presença de compostos de interesse (SEMELROCH et al., 1995) dentre os picos obtidos e suas respectivas áreas.

Tabela 6 – Delineamento central composto empregado na otimização do método HS-SPME, com a Fibra 57348-U

Ensaio	Amostra	T ₁ (°C)	t ₁ (min)	T ₂ (°C)	t ₂ (min)
6	1	-1	-1	-1	-1
8	2	-1	-1	-1	1
2	3	-1	-1	1	-1
7	4	-1	-1	1	1
3	5	-1	1	-1	-1
5	6	-1	1	-1	1
1	7	-1	1	1	-1
4	8	-1	1	1	1
19	9	1	-1	-1	-1
24	10	1	-1	-1	1
25	11	1	-1	1	-1
22	12	1	-1	1	1
18	13	1	1	-1	-1
20	14	1	1	-1	1
26	15	1	1	1	-1
21	16	1	1	1	1
27	17	-2	0	0	0
23	18	2	0	0	0
13	19	0	-2	0	0
14	20	0	2	0	0
17	21	0	0	-2	0
10	22	0	0	2	0
15	23	0	0	0	-2
16	24	0	0	0	2
28	25(C)	0	0	0	0
12	26(C)	0	0	0	0
9	27(C)	0	0	0	0
29	28(C)	0	0	0	0
11	29(C)	0	0	0	0

(C) Indica ponto central.

4.2.1.3 Metodologia de determinação analítica dos voláteis - GC-MS / GC-FID

Empregou-se a metodologia descrita por SEMMELROCH e GROSCH (1996). Abrangendo o espectro de polaridades dos componentes voláteis presentes, as demais condições operacionais empregadas no injetor automático (ALS 7683-HP) para os ensaios estão listadas a seguir:

- a) volume de injeção: 1 µl;
- b) modo: *splitless*, (*Liner* 0,75mm diâmetro interno – Supelco);
- c) temperatura do injetor: 280°C;
- d) vazão de purga: 65 ml/min;
- e) tempo de purga: 45 s;

- f) vazão total: 69 ml/min;
- g) economizador de gás: ligado.

Para análise em GC-MS as condições descritas em 3.2.1.1.1 permaneceram constantes durante todos os ensaios. Considerou-se um coeficiente de variação (CV) dentro de cada triplicata de no máximo 2%, salvo na presença de um resultado anômalo, quando se repetiu a análise para atendimento desse critério.

Na identificação dos componentes voláteis consultou-se o programa da biblioteca NIST – Versão 2.0a de espectros de massas, contendo mais de 100.000 compostos e com cerca de 21.000 espectros replicados (NIST, 2002).

4.2.1.4 Análise sensorial dos voláteis - análise olfatométrica – GC-FID/O GC/O

A metodologia empregada foi a descrita por RUTH e CONNOR (2001). Com a massa padronizada de café solúvel, a separação dos componentes voláteis foi cromatográfica, com amostrador automático com carrossel para oito amostras e o injetor HP-7683, empregando detector de ionização de chama. Antes do detector, foi colocada uma derivação do efluente para a separação na coluna cromatográfica, sendo incorporado gás nitrogênio à vazão derivada, para adequação e compatibilização dos tempos de retenção aos do cromatograma. Esse gás foi antes filtrado por carvão ativado, umidificado à saturação por borbulhamento em água destilada e aquecido para ajuste até a temperatura ambiente, ficando na condição final imediatamente antes da avaliação sensorial entre 21 e 25°C e 60 a 70% de umidade relativa. Esse fluxo gasoso foi então direcionado para o olfatometro ODO II (*Olfactory Detector Outlet*) da SGE – Austrália, mostrado na Figura 9 (Anexo 8). Os tempos de retenção utilizados foram monitorados como referência na devida equivalência dos compostos com a determinação analítica.

Para análise em GC-FID/O a temperatura do injetor permaneceu constante e igual a 250°C e o tempo de dessorção em 10 minutos, conforme recomendação do fabricante da fibra de SPME, sendo as demais condições listadas abaixo :

- a) gás de arraste : Hélio – 2 ml/min;

- b) injetor operando em modo *Splitless* (*Liner* 0,75mm diâmetro interno);
- c) economizador de gás – desligado;
- d) *split vent* 65ml/min (10,75 min);
- e) coluna capilar INNOWax (60m x 0,32mm x 0,25 μ m).
- f) programação do perfil de aquecimento:
- temperatura inicial 40°C, mantida por 5 min;
 - aquecimento com taxa de 4°C/min até 60°C, mantida por 5 min;
 - aquecimento com taxa de 8°C/min até 250°C, mantida por 3 min;
- g) detector de ionização de chama (FID)
- temperatura: 250°C;
 - *lit offset*: 2,0;
 - gás de arraste: Nitrogênio com vazão igual a 30 ml/min;
 - vazão de hidrogênio – 35ml/min;
 - vazão de ar sintético (pureza 5,0 para FID) – 350ml/min.
- h) olfatosmetro SGE - Modelo ODO II;
- gás auxiliar (gás de arraste adicional) – Hélio, vazão igual a 15 ml/min;
 - relação de divisão (*split*): 1:1;
 - umidificador – (borbulhador de nitrogênio em água destilada);
 - gás do umidificador – Nitrogênio;
 - ar de diluição que entra no sistema - filtrado por carvão ativado.

Na avaliação sensorial, utilizou-se a técnica de OSME, com a gravação contínua de intensidade dos odores percebida na porta do olfatosmetro pelos julgadores sensoriais. Ao mesmo tempo em que verbalizavam a descrição da qualidade detectada a cada percepção aromática, devidamente anotada pelo operador do equipamento, os julgadores registravam a intensidade do aroma percebido sensorialmente de forma direta em uma escala de tempo-intensidade variando de zero a cem pela movimentação de um dispositivo indicador adaptado a um *mouse* de computador, devidamente calibrado. Tal movimento, variável em função da intensidade da percepção, enviou sinais a um computador tipo PC Pentium IV com 640Mb de memória, operando com o sistema operacional Windows XP®, que os processou em tempo real através do programa GAMO 1.1.0.1, desenvolvido pela empresa CDS Informática. Esse processo gerou gráficos

contínuos, representando não só a presença mas também a intensidade aromática indicada para cada odor sentido contra o tempo de percepção, sincronizado com o tempo de retenção da corrida cromatográfica. De forma quantitativa, as áreas de cada registro aromático, também, foram computadas, permitindo definir a relevância aromática de forma mais completa.

4.2.1.5 Análise dos voláteis pelo nariz eletrônico

Utilizou-se o equipamento Portable Electronic Nose Type PEN2, conforme a Figura 10 (Anexo 8), da Airsense Analytics - Alemanha, que monitora a variação da condutância em cada um de seus sensores, dada em Siemens, conforme a passagem do fluxo gasoso com a amostra. Essa variação é então comparada com aquela gerada pelo branco (somente ar ambiente sendo aspirado pelo equipamento), gerando um sinal adimensional, registrado graficamente. O PEN2 foi acoplado diretamente ao vapor em equilíbrio acima da amostra de cada produto, com as seguintes características (AIRSENSE, 2002):

- a) programa de controle e aquisição de dados: WINMUSTER 1.6.1.13 (Out/2004);
- b) número de sensores: 10 (operando sob controle interno de temperatura);
- c) sensibilidade (limite de detecção): 1,0 mg/kg;
- d) vazão de admissão: 10-400 ml/min (ajustado através do programa WINMUSTER 1.6.1.13);
- e) especificidade dos sensores: S1 Aromáticos, S2 Amplo espectro, S3 Aromáticos, S4 Compostos hidrogenados, S5 Compostos Aromáticos Alifáticos, S6 Metanos-amplo, S7 Sulfurosos Orgânicos, S8 Alcoóis-amplo, S9 Sulfurosos Clorados e S10 Metanos Alifáticos.

Conforme descrito para as análises cromatográficas, no preparo das amostras, pesou-se o café solúvel em balança analítica diretamente em *vials* especiais para análise de *headspace* (fornecidos pela Agilent). As amostras foram analisadas em três repetições genuínas. Os parâmetros utilizados foram

desenvolvidos durante o período de treinamento para operação do instrumento em conjunto com o fabricante, seguindo as seguintes condições operacionais:

- a) intervalo entre amostras: 1,0 s;
- b) tempo de medição: 60 s;
- c) tempo de limpeza ou purga: 120 s;
- d) vazão inicial de injeção: 400 ml/min;
- e) diluição automática: desligada;
- f) máximo tempo total de corrida entre limpeza dos filtros: 24 horas.

Após a etapa de aquisição de dados, as respostas obtidas para os sensores selecionados entre os tempos 8 a 12 foram submetidas à Análise de Procusto Generalizada do programa SENSTOOLS versão 2.3.28 (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1998).

4.2.1.6 Validação da metodologia analítica HS-SPME acoplada a GC-MS

Um vez eleita a técnica extrativa mais representativa na determinação dos componentes voláteis do café solúvel, seguindo VIEGAS et al. (2004), a técnica de HS-SPME foi validada. Os critérios de validação empregados são aqueles constantes do item 3.2.5. Utilizou-se em todos os experimentos a Amostra 5 de café solúvel, somente para padronização. Os itens de validação são descritos a seguir.

4.2.1.6.1 Robustez

Os experimentos seguiram um delineamento fatorial, definido com o emprego do programa STATISTICA 7.1.30 (STATSOFT, 2005), com 3 repetições no ponto central para estimativa do erro experimental. De modo análogo, realizou-se um experimento para verificar a robustez da extração e outro para verificar a robustez da determinação analítica (GC-MS), como pode ser observado pelos Quadros 27 e 28, sendo que para este último foram mantidas constantes as

condições de extração de temperatura de 70°C e tempo de 30 minutos, definidas após os testes do Quadro 27.

Fator	-1	+1
Massa de café	2,6g	3,0 g
Temperatura de extração	65°C	75°C
Tempo de extração	25 min	35 min

Quadro 27 - Fatores de variação empregados na verificação da robustez da fase extrativa (SPME)

Fator	-1	+1
Temperatura do injetor	240°C	260°C
Tempo de dessorção	8 min	12 min

Quadro 28 - Fatores de variação empregados na verificação da robustez da fase analítica (GC-MS)

Os ensaios aleatorizados estão descritos nas Tabelas 7 e 8, com os pontos centrais servindo para se inspecionar a curvatura ou a não linearidade.

Tabela 7 - Delineamento fatorial completo 2^3 com repetições no ponto central – fase extrativa (SPME)

Ensaio (ordem padrão)	Massa de café (g)	Temperatura de extração (°C)	Tempo de extração (min)
1	2,6	65	25
2	3,0	65	25
3	2,6	75	25
4	3,0	75	25
5	2,6	65	35
6	3,0	65	35
7	2,6	75	35
8	3,0	75	35
9 (C)	2,8	70	30
10 (C)	2,8	70	30
11 (C)	2,8	70	30

* Os ensaios foram aleatorizados. (C) indica ponto central.

Tabela 8 - Delineamento fatorial completo 2^2 com repetições no ponto central - fase analítica (GC-MS)

Ensaio	Temperatura do injetor (°C)	Tempo de dessorção (min)
1	240	8
2	240	12
3	260	8
4	260	12
5 (C)	250	10
6 (C)	250	10
7 (C)	250	10

* Os ensaios foram aleatorizados. (C) indica ponto central.

Como critério de aceitação, após análise estatística dos resultados obtidos, verificou-se a não ocorrência de diferença significativa ao nível de $p \geq 0,05$ quando da mudança do nível -1 para $+1$ para cada variável testada.

4.2.1.6.2 Linearidade

Foi determinada analogamente ao descrito em 3.2.1.6.1, abrangendo a mesma faixa de concentração esperada de cada composto, sendo que a determinação para cada concentração foi feita em triplicata a partir de amostras preparadas com padrões (fornecidos pela Sigma-Aldrich, grau GC) de maneira independente (Quadro 29). As curvas foram preparadas com seis concentrações diferentes, completando 18 ensaios. Os compostos empregados foram selecionados da consulta à literatura sobre cafés torrados e em testes de GC/O realizados preliminarmente.

Composto Volátil	Faixa a ser estudada
2,3-butanodiona 2,3-pentanodiona Guaiacol	0-300 mg/kg
Ácido acético Metional 2,3-dimetil-pirazina 2,5-dimetil-pirazina	0-200 mg/kg

Quadro 29 – Exemplo típico das concentrações iniciais empregadas para os compostos voláteis utilizados na verificação da linearidade

As concentrações abrangeram a faixa de 50 a 150% da concentração-alvo de cada composto, sendo que a determinação para cada

concentração foi feita em triplicata a partir de preparações independentes de padrões (Quadro 32). Cada concentração-alvo foi obtida através das seguintes etapas:

- a) testes exploratórios de extração e injeção da massa amostral de 2,8 gramas de café solúvel e monitoramento dos íons marcadores de cada composto;
- b) injeção direta de volume igual a 1 µl de concentrações conhecidas de cada composto padrão;
- c) cotejamento dos valores das unidades de áreas cromatográficas obtidas em (a) e (b);
- d) onde aplicável, diluições por tentativa e erro da etapa (b) até obtenção de picos cromatográficos com área cromatográfica variando até um máximo de 30% do valor equivalente encontrado na etapa inicial (a).

A partir dos dados experimentais gerados, avaliou-se o coeficiente de correlação (r) da reta e obteve-se o intervalo de confiança (ICa), dado pela Equação (4).

$$ICa = a \pm t * s_A \quad (4)$$

Onde a corresponde à média obtida, t corresponde ao valor atribuído na estatística t de Student em nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) e s_A corresponde ao desvio-padrão encontrado para os dados. Como critério de aceitação, o coeficiente de correlação da reta obtida deve ser maior do que 0,97. Como critério adicional, a origem deverá estar contida no intervalo de confiança (ICa).

4.2.1.6.3 Limite de detecção e de quantificação

Ambos, o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ), foram determinados efetuando-se análise do *vial* em branco, com 10 repetições independentes, conforme as Equações (5) e (6), abaixo:

$$LD = 3 * s_B / b \quad (5)$$

$$LQ = 10 * s_B / b \quad (6)$$

Onde s_B é o desvio padrão das áreas originadas pelas injeções e b é o coeficiente angular da reta de calibração.

4.2.1.6.4 Repetibilidade (Precisão)

A repetibilidade foi determinada em seis replicatas independentes, mantidos constantes os parâmetros de extração de temperatura e tempo, respectivamente iguais a 70°C e 30 minutos.

Para critérios de aceitação, determinou-se a média, o desvio-padrão amostral e o CV, calculando então o $repê(r)$, conforme a Equação (7). De posse desses dados, calcula-se o intervalo de confiança (IC) segundo a fórmula expressa na Equação (8):

$$repê(r) = 2,8 * s \quad (7)$$

$$IC = Média \pm t * s / n^{1/2} \quad (8)$$

Onde $repê(r)$ é a máxima diferença aceitável entre duas replicatas em condições de repetibilidade, nesse caso com $p < 0,05$, s corresponde ao desvio-padrão encontrado para os dados, n representa o número de ensaios e t corresponde ao valor atribuído na estatística t de Student em nível de confiança de 95% ($p < 0,05$), para $n-1$ graus de liberdade. Segundo GARFIELD (2001), quando se trabalha com concentrações da ordem de 1 mg/kg, o CVr (Coeficiente de variação em condições de repetibilidade) deverá ser inferior a 10%.

4.2.1.6.5 Exatidão e especificidade do método (ensaios de recuperação)

Seguindo as recomendações de ICH (2000) e INMETRO (2002), determinou-se a exatidão pela análise de amostra de café solúvel fortificada com quantidades conhecidas de padrões, dentro da faixa de linearidade. Cada amostra foi analisada em triplicata, totalizando 15 ensaios. Com os resultados, plotou-se uma

curva tendo por ordenadas as concentrações observadas e por abscissas as concentrações adicionadas, obtendo-se o intervalo de confiança ($p < 0,05$) para os coeficientes angular e linear, segundo as Equações (4) e (9):

$$ICa = a \pm t * s_A \quad (4)$$

$$ICb = b \pm t * s_b \quad (9)$$

Os critérios de aceitação adotados foram os seguintes:

- a) verificar se o zero está contido no ICa e a unidade está contida no ICb, o que indica que erros sistemáticos não são estatisticamente significativos, demonstrando exatidão e especificidade do método;
- b) o critério adotado para ensaios de recuperação com adições de padrão cujas concentrações estão na faixa de mg / kg, é de uma recuperação média entre 60-110% (GARFIELD, 2001; ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

4.2.1.7 Determinação do teor de umidade do café torrado, do café torrado e granulado e dos cafés solúveis

A determinação da umidade foi indicada pela perda de peso sob aquecimento, em equipamento de raios infravermelhos marca METTLER LP-16 acoplado a uma balança B360 (fornecida pela MICRONAL), calibrado pela metodologia referencial de umidade ISO 11817 (ISO, 1994).

Para o café solúvel, empregou-se o método de estufa a vácuo ISO 3726 (ISO, 1983).

4.2.1.8 Determinação da distribuição granulométrica do café torrado e granulado

O tamanho das partículas do café torrado após a granulação foi controlado através da análise de 50 gramas (com umidade) de cada amostra de

matéria-prima utilizada, em equipamento da marca Produ-test, com vibração de intensidade média durante cinco minutos, registrando o peso de material retido em cada peneira do conjunto empregado, constituído de malhas com aberturas iguais a 4,0 mm, 2,0 mm (malha quadrada #, US Tyler) e fundo.

4.2.1.9 Determinação do teor de sólidos solúveis

Para o teor de sólidos solúveis dos extratos analisados, usou-se leitura direta em refratômetro LEICA AR600, com correção de temperatura, empregando-se tabela de conversão que corrige a leitura do índice de refração para fornecer automaticamente a estimativa do teor de sólidos solúveis reais da solução de extrato de café (SIVETZ e DESROSIER, 1979).

4.2.2 Preparo das Amostras de Cafés Solúveis

As amostras de cafés solúveis experimentais tiveram suas matérias-primas processadas em torrador da marca RAIAR com capacidade para 5 kg por carga, com determinação da intensidade de torra feita pela aferição da cor de café torrado medida em refletômetro 577, marca PHOTOVOLT (EUA) – dotado de filtro âmbar – e com base em padrões próprios da Companhia Iguaçu de Café Solúvel.

A umidade dos grãos foi ajustada por adição de água na peneira de resfriamento do torrador, dotada de homogeneizador mecânico, diretamente no café torrado ao final de cada torra, em proporção tal que o teor final de umidade ficasse entre 4 a 6%, considerada ideal para a etapa seguinte, a da granulação.

Após um período, entre torra e granulação, variando de 16 a 24 horas, os cafés torrados de cada teste foram então granulados em moinho de discos da marca RAIAR, sempre imediatamente antes da etapa de extração.

Para a extração, empregou-se equipamento piloto, tipo semicontínuo, dotado de aquecimento com óleo térmico, válvulas controladoras das vazões de água, extrato e vapor para aquecimento. O extrato de cada decante foi

resfriado em trocador de calor, atingindo temperatura inferior a 15°C, sendo controlada a quantidade a coletar em cada ciclo pela pesagem direta em baldes de material plástico inerte, em balança tarada e aferida. O sistema de extração foi operado de acordo com procedimentos operacionais estabelecidos pela Companhia Iguaçu de Café Solúvel, sendo as amostras finais coletadas dos extratos homogeneizados obtidos das últimas quatro colunas extraídas ou decantes. Cada teste foi considerado válido quando a diferença entre as concentrações dos decantes considerados fosse inferior a 15%, em valores relativos. Tais extratos foram concentrados por remoção da água até um teor de sólidos solúveis entre 35 e 40%, sendo então congelados e liofilizados em bandejas empregando equipamento piloto desenvolvido na Companhia Iguaçu de Café Solúvel.

Utilizaram-se dez amostras individuais de 100 g de cada um dos cafés solúveis objetos do trabalho, em recipientes plásticos com tampa e devidamente identificados, seguindo uma amostra para análise e as demais congeladas e mantidas em freezer com temperatura inferior a -18°C. A aquisição das amostras comerciais (amostras de 4 a 7) foi feita simultaneamente, num mesmo local e do mesmo lote de produção em cada caso. A umidade de todas as amostras foi inferior a 5%, parâmetro de referência internacional comumente adotado.

As amostras de cafés solúveis comerciais tiveram a intensidade de torra estimada através de prova de xícara, diluídas a 1,5% de concentração em água mineral fervente em recipientes de vidro com capacidade para 180 ml, sendo avaliadas por julgadores de café profissionais em temperatura entre 60 e 65°C.

4.2.3 Preparo das Amostras para Análise Olfativa e Empregando o Nariz Eletrônico

No preparo dessas amostras, as quatro causas gerais de formação de contaminantes (poluentes ambientais, crescimento microbiano, oxidação lipídica e decomposição enzimática endógena) foram controladas, pelas condições ambientais e preservação das amostras congeladas, juntamente à estabilidade intrínseca do café solúvel – sólido seco e de baixa atividade de água. O controle ambiental eliminou fontes de interferências nas análises de olfatométrica através de

filtros retentores de odores na admissão do ar condicionado admitido para o laboratório.

No caso da fibra de SPME, a dessorção por 10 minutos a 250°C e posterior resfriamento por pelo menos quinze minutos mostrou-se eficaz na completa eliminação de interferentes a cada análise. A sensibilidade foi monitorada através de uma mistura-padrão de voláteis, definida pelo fornecedor da fibra. O manuseio e preparo das amostras para análise através de cromatografia gasosa capilar foram bastante simplificados pela escolha do método de extração de HS-SPME. A extração dos voláteis pelo emprego da fibra permitiu sensibilidade adequada aos componentes presentes em menores concentrações e o uso de curvas de calibração para alguns dos compostos de interesse preveniu o efeito de discriminação de compostos baseado na volatilidade (WILKES et al., 2000).

Para o nariz eletrônico, a saturação dos sensores foi evitada pela dessorção realizada automaticamente entre cada análise e por calibração semanal com acetato de etila, sendo monitoradas especificamente as respostas dos sensores 2, 5 e 6, conforme protocolo estabelecido pelo fornecedor do equipamento, que também definiu testes para acompanhar a saturação do filtro de ar.

4.2.4 Análises Estatísticas

Para os dados sensoriais e do nariz eletrônico empregou-se a Análise de Procusto Generalizada (GPA) utilizando o programa SENSTOOLS versão 2.3.28 (OP & PRODUCT RESEARCH, 1998), com permutação de dados, comprovando efetivamente o consenso dos resultados.

Os dados foram inseridos na forma de cinco matrizes (uma por julgador), formadas por vinte e uma linhas (sete amostras com três repetições) e número de colunas variando de 9 a 18 (número de atributos utilizados).

Na otimização dos dados analíticos com a técnica da superfície de resposta, empregou-se o programa STATISTICA® 7.1.30 (STATSOFT, 2005), instalado em microcomputador com recursos compatíveis.

4.2.5 Protocolo Geral de Validação

Além das recomendações do Quadro 23 (Anexo 4), o Quadro 30 traz a lista das características consideradas na etapa de validação da metodologia analítica de extração e análise de aromas (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003).

Características de Desempenho	Crítérios de Aceitação
Teste de conformidade do sistema GC-MS - Detector/Injetor/Amostrador/Coneções da rede/Programa <i>ChemStation</i>	Agilent Protocolo de validação [®] A.02.10*
Exatidão	Recuperação média de 60 a 110 %
Precisão Repetibilidade Precisão intermediária	Coeficiente de variação em condições de repetibilidade CVr ≤ 10% Reprodutibilidade interna repe (r) ≥ 2,8*s (onde s = desvio padrão)
Limite de Detecção	Relação Sinal/Ruído > 3
Limite de Quantificação	Relação Sinal/Ruído > 10
Faixa de trabalho	Limites de faixa linear onde se encontra precisão e exatidão dentro dos critérios de aceitação
Linearidade	Coeficiente de correlação r > 0,97 Verificar se o zero está contido no intervalo $Ica = a \pm t * s_A$ (t= Teste t de Student, p<0,05)
Robustez	Verificação da mudança na quantificação, frente a modificações nas variáveis do método analítico (fase extrativa e instrumental) – p<0,05

* Testes de conformidade do sistema GC efetuados periodicamente por técnico credenciado pelo fornecedor do equipamento, “*Protocol Revision Number*” – VER. A. 02.10, Agilent (Julho 2001).

Quadro 30 – Características de desempenho da metodologia analítica e respectivos critérios de aceitação adotados

Além dos testes de conformidade do sistema GC (*Protocol Revision Number* – VER. A. 02.10), efetuados periodicamente por técnico credenciado pelo fornecedor do equipamento (Agilent), rastreabilidade do método analítico de determinação do teor de voláteis a padrões comuns de referência foi observada, minimizando variações devidas a eventuais mudanças nas condições fixas da medição, conforme protocolo de rastreabilidade estabelecido pela Companhia Iguaçu de Café Solúvel.

4.2.6 Análise Sensorial

Seguiram-se as recomendações para análise sensorial conforme GARRUTI (1985) e MODESTA (2002), que são descritas a seguir.

4.2.6.1 Seleção e familiarização dos julgadores com a técnica do Perfil Livre

Recrutados internamente à Companhia Iguaçu de Café Solúvel, quatorze candidatos potenciais foram submetidos a processo seletivo para julgadores, composto de três etapas: (1^a) reconhecimento e descrição, (2^a) discriminação de intensidade e (3^a) aplicação da técnica do Perfil Livre, sendo as duas primeiras classificatórias.

Em reunião específica, todos os julgadores foram informados a respeito dos detalhes das provas e da metodologia que seria empregada, incluindo apresentação das fichas a utilizar e seu respectivo preenchimento, e da contribuição técnica esperada, além do engajamento e comprometimento necessários. As fichas empregadas continham espaço para o nome do candidato e data de realização de cada teste, além da numeração das amostras. Em cada sessão, o candidato recebeu a ficha previamente preparada para o teste de reconhecimento do odor ao adentrar o laboratório. Os participantes foram ainda instruídos a não utilizar perfumes, evitando alimentação muito condimentada nos dias das provas e a não participar das sessões em caso de constipação nasal. As sessões foram situadas entre os períodos de 9 e 11 horas e 14 e 17 horas, preferencialmente evitando o período da manhã das segundas-feiras e o período da tarde das sextas-feiras. Todos os testes foram realizados em laboratório com ar condicionado purificado por filtros de carvão ativado, mantendo a temperatura e a umidade relativa, respectivamente, em 20 e 22°C e 60 e 70%.

Nas fases 1 e 2, os candidatos não excederam um período total de 15 minutos para finalizar o teste, evitando assim fadiga olfativa. Os frascos de vidro contendo as substâncias aromáticas estavam completamente recobertos com papel alumínio, etiquetados e enumerados com três dígitos aleatórios. Nove pequenos

orifícios foram abertos no papel alumínio para a percepção dos aromas. As substâncias sólidas foram colocadas diretamente dentro do frasco e as líquidas colocadas nos frascos embebidas em algodão. Dispuseram-se os frascos sobre uma mesa, mantendo-se entre eles uma distância de pelo menos 20 cm, sendo que após a preparação de cada frasco, colocou-se uma tampa ou vidro de relógio, com intuito de reduzir a perda de aroma até o momento da realização de cada teste, iniciados sempre imediatamente após a totalização do preparo de cada seção.

A fase inicial, de reconhecimento e descrição, constou de três sessões, onde foram apresentados vinte aromas, por exemplo guaraná, ervas, batata crua, tangerina, queijo, café solúvel, café torrado, canela, baunilha, chocolate, orégano, cravo e banana, podendo haver repetições dentro de e entre cada sessão, além da possibilidade de apresentação de amostras em branco. Nesta fase, procurou-se filtrar anormalidades olfativas, além de facilitar o desenvolvimento da expressividade das respostas sensoriais. O desempenho definido foi de atingimento de pelo menos 70% do critério de pontuação estabelecido para avaliação do desempenho dos julgadores, nas três sessões independentes. A pontuação para cada amostra foi considerada positiva somente quando houve a correta descrição do aroma. Os aprovados foram considerados com maior habilidade para discriminar odores, e, portanto, mais adequados à formação da equipe específica para esse objetivo.

Sucessivamente, a segunda fase, de definição da capacidade discriminatória de intensidade de um mesmo aroma, abrangeu quatro níveis de intensidade obtidos por diluições para cinco aromas diferentes (hortelã, laranja, alecrim, lavanda e óleo de café torrado), apresentadas em sessões independentes, com critério de aprovação acima de 60% de acerto, aplicável a cada sessão individual. Foram conferidos 3 pontos para o ordenamento exato – representando a máxima pontuação possível, 2 pontos para uma resposta próxima (inversão de posição por uma diluição consecutiva), 1 ponto para uma resposta distante (inversão de posição por duas diluições consecutivas) e nenhum ponto para resposta errada ou ausente (inversão de posição superior a duas diluições), fazendo-se a totalização por somatório dos pontos para cada sessão e julgador.

A fase final, de familiarização com a metodologia do Perfil Livre descrita por WILLIAMS e ARNOLD (1985), adotada para a condução dos testes sensoriais das amostras. Em sessão específica, os participantes aprovados nas

etapas classificatórias receberam mais detalhes da metodologia, sendo aplicado treinamento especial para este grupo, pelo desenvolvimento das seguintes etapas:

- a) ambientação prática com a metodologia, empregando amostra genérica de café solúvel, simulando condições esperadas dentro do procedimento da análise sensorial empregando a técnica de OSME;
- b) ajuste das condições da vazão do olfatometro para que os tempos de resposta do detector FID e do nariz humano fossem coincidentes, e também para ajuste das condições da vazão de ar agregado à saída da coluna cromatográfica, para que sua umidade relativa e temperatura imediatamente antes da avaliação sensorial permanecessem respectivamente entre 60 a 70% e 21 a 25°C;
- c) familiarização dos julgadores sensoriais participantes do teste, realizando pelo menos duas corridas independentes cada um, propiciando uma projeção inicial dos descritores sensoriais que cada um deverá adotar.

4.2.6.2 Avaliação sensorial das amostras

Empregou-se a técnica de OSME (MCDANIEL et al., 1989). Após devidamente treinado, cada julgador sensorial, ao mesmo tempo em que descrevia a qualidade do aroma, a qual foi devidamente anotada pelo operador do conjunto GC/O, registrava a intensidade do aroma percebido sensorialmente de forma direta em uma escala de tempo-intensidade crescente de 0 a 100, acionando um periférico de computador tipo *mouse* devidamente calibrado, cujos sinais eram diretamente alimentados em programa especialmente desenvolvido para tal. Este aplicativo compilou tempos de resposta e calculou as áreas sob a curva dos gráficos Osmogramas para cada componente sensorialmente percebido.

Para cada corrida e volátil empregando a técnica de OSME, foram gravados os seguintes resultados:

- a) o pico do odor, alocando o tempo de retenção versus o valor de intensidade odorífera;
- b) o tempo de duração do estímulo;
- c) a intensidade odorífera máxima ($I_{máx}$) (GARRUTI et al., 2005);
- d) a área sob cada pico.

Seguindo recomendação de GARRUTI et al. (2003), a análise de dados foi modificada e, para sumarizar os resultados obtidos em um osmegrama consensual, todos os picos detectados pelo menos uma vez por um julgador foram computados. Quando um julgador não pôde detectar certo composto em outras sessões, a intensidade e a área do pico foram consideradas iguais a 10 e 100, respectivamente.

Consequentemente, todos os picos detectados sensorialmente durante as sessões estão presentes nos aromagramas ou osmegramas produzidos.

4.2.6.3 Avaliação das amostras de cafés solúveis

O grupo de julgadores selecionados e treinados avaliou as sete amostras de cafés solúveis, segundo um delineamento de blocos incompletos balanceados com três amostras por bloco, sendo sete blocos e três repetições por amostra, resultando em uma eficiência igual a 78% (COCHRAN e COX, 1957), cuja seqüência está apresentada no Quadro 31.

Sessão	Amostras		
1	1	2	3
2	2	3	4
3	3	4	5
4	4	5	6
5	5	6	7
6	6	7	1
7	7	1	2

Fonte: COCHRAN e COX (1957).

Quadro 31 – Delineamento empregado nas avaliações das amostras, para cada julgador sensorial

Cada sessão compreendeu uma duração de 50 a 60 minutos, havendo no máximo duas sessões por julgador por dia, avaliando-se uma amostra por sessão, totalizando portanto 21 sessões por julgador sensorial.

4.2.6.4 Classificação da qualidade das amostras de cafés

A classificação e o ordenamento das amostras foram feitos por equipe de três especialistas em café solúvel, com experiência e treinamento adequados, através da degustação da bebida a 1,5% de concentração massa / volume de sólidos solúveis, em xícaras com capacidade para 180 ml, avaliando as amostras em temperatura ao redor de 60°C.

4.3 DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE PERCEPÇÃO SENSORIAL

Através de diluições sucessivas e múltiplas de dois, realizadas até a ausência de resposta sensorial, determinaram-se os fatores de diluição (FD) dos componentes aromáticos, definindo-se, também, os limites de percepção sensorial, determinados pela concentração equivalente à diluição imediatamente anterior à ausência de estímulo sensorial detectável pelo julgador. Para os fatores de diluição, fez-se a relação da concentração do odorante no extrato inicial pela sua concentração no extrato mais diluído e no qual o odor ainda era detectado por GC/O, conforme ABNT (1994).

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPONENTES QUÍMICOS

A determinação primária dos componentes presentes nas amostras foi feita inicialmente empregando-se o programa da biblioteca NIST (NIST, 2002).

Como análises confirmatórias, além da comparação com padrões de grau cromatográfico adquiridos, foram realizadas a interpretação dos espectros de massas obtidos nas análises cromatográficas, sendo os íons extraídos (NIST, 2002) apresentados no Quadro 33 e pela comparação dos índices de retenção lineares – IRL (IUPAC, 1997; MOTTRAM, 2004; ACREE e ARN, 2004) das referências teóricas com aqueles determinados nas condições cromatográficas utilizadas (Quadro 32).

Na determinação dos IRL, empregaram-se as misturas de hidrocarbonetos-padrão 04070 (*Alkane Standard Solution C₈-C₂₀*) e 04071 (*Alkane Standard Solution C₂₁-C₄₀*) da marca Fluka, preparadas respectivamente com 40 mg/l em hexano e 40 mg/l em tolueno de cada hidrocarboneto (Quadro 34).

Encontrou-se somente um relato de aplicação com a coluna INNOWax (ULRICH et al., 1997) com IRL comum e compatível apenas para o linalol. Assim, as comparações de índices de retenção lineares foram feitas com colunas de polaridade similar àquela, sempre utilizando a referência mais próxima do valor encontrado.

Tendo em vista a diversidade de colunas empregadas identificadas na literatura e mesmo algumas diferenças importantes observadas em referências únicas, foram considerados como confirmatórios todos os casos com diferença menor ou igual a 10%.

Também, foi realizada determinação dos índices de retenção lineares empregando-se a coluna HP-5-MS.

Composto de Interesse	Tempo de retenção (min)	CAS	Marca	Pureza
2,3-butanodiona	8,39	431-03-8	Fluka	99 %
2,3-pentanodiona	11,10	600-14-6	Aldrich	99%
Piridina	17,00	110-86-1	Fluka	99,9%
Pirazina	18,41	290-37-9	Fluka	98%
4-metil-tiazol	20,89	693-95-8	Aldrich	99%
2,5-dimetil-pirazina	22,09	123-32-0	Fluka	95%
2,6-dimetil-pirazina	22,27	108-50-9	Aldrich	98%
2,3-dimetil-pirazina	22,74	5910-89-4	Aldrich	99%
4,5-dimetil-tiazol	23,41	3581-91-7	Aldrich	97%
2,3,5-trimetil-pirazina	24,13	14667-55-1	Sigma	99%
2-etil-3-metil-pirazina	24,16	15707-23-0	Aldrich	99%
2-furfuriltiol	24,85	98-02-2	Sigma	97,5%
Ácido acético	25,05	64-19-7	Supelco	99,9%
Metional	25,36	3268-49-3	Aldrich	99%
Furfural	25,54	98-01-1	Fluka	98%
2,3-dietil-5-metil-pirazina	26,01	18138-04-0	Aldrich	99%
2-isobutil-3-metóxi-pirazina	26,59	24683-00-9	Aldrich	99%
Linalol	26,91	78-70-6	Chem Service	98%
Ácido isovalérico	29,02	503-74-2	Fluka	98%
Guaiacol	31,94	90-05-1	Chem Service	98%
Furaneol	34,08	3658-77-3	Fluka	99%
4-etil-guaiacol	34,22	2785-89-9	Sigma	99,4%
Cis-isoeugenol	37,93	97-54-1	Chem Service	99%
Hidróxi-metil-furfural	39,65	67-47-0	Fluka	97%
Vanilina	40,41	121-33-5	Chem Service	99%

* CAS – Número de registro do *Chemical Abstract Service*.

Quadro 32 - Padrões de grau cromatográfico dos compostos voláteis de interesse disponíveis

Compostos de Interesse	Íon Extraído	Intervalo de tempo (minutos)	Compostos de Interesse	Íon Extraído	Intervalo de tempo (minutos)
Metanotiol	48	0-12	2-etil-5-metil-pirazina	122	22-25
Acetaldeído	44	0-12	2,3,5-trimetil-pirazina	122	22-25
Propanal	58	0-12	2-etil-3-metil-pirazina	122	22-25
Butanal	72	0-12	2n-propil-pirazina	122	22-25
2-metil-butanal	86	0-12	2-furfuriltiol	114	24-26
3-metil-butanal	86	0-12	2,5-dimetil-3-etil-pirazina	136	24-26
2,3-butanodiona	86	0-12	Ácido acético	60	24-26
2,3-pentanodiona	100	0-12	Metional	104/48	25-27
Hexanal	57	0-12	Furfural	96	25-27
Piridina	79	15-22	2,3-dietil-5-metil-pirazina	150	25-27
Limoneno	68	15-22	Benzaldeído	106	25-27
Pirazina	80	15-22	Linalol	154/71	26-27
Metil-pirazina	94	15-22	Ácido isovalérico	102/60	28-32
4-metil-tiazol	99	15-22	Guaiacol	124	28-32
2,5-dimetil-pirazina	108	20-23	2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	112	28-32
2,6-dimetil-pirazina	108	20-23	Furaneol	128	33-35
Etil-pirazina	108	20-23	4-etil-guaiacol	152	33-35
2,3-dimetil-pirazina	108	20-23	4-vinil-guaiacol	150	36-41
4,5-dimetil-tiazol	113	22-25	Cis isoeugenol	164	36-41
3-etil-piridina	107	22-25	Vanilina	152	36-41
2-etil-6-metil-pirazina	122	22-25			

Fonte: NIST (2002).

Quadro 33 - Protocolo de extração de íons para compostos analisados para interpretação dos espectros de massas obtidos por cromatografia (GC-MS)

Hidrocarboneto	Tempo de retenção - Coluna INNOWax 60m (min)	Hidrocarboneto	Tempo de retenção Coluna INNOWax 60m (min)
C ₅ – Pentano	3,64	C ₁₈ – Octadecano	30,82
C ₇ – Heptano	4,08	C ₁₉ – Nonadecano	32,19
C ₈ – Octano	5,10	C ₂₀ – Eicosano	33,50
C ₉ – Nonano	6,40	C ₂₁ – Heneicosano	34,75
C ₁₀ – Decano	8,99	C ₂₂ – Docosano	35,97
C ₁₁ – Undecano	12,77	C ₂₃ – Tricosano	37,12
C ₁₂ – Dodecano	17,91	C ₂₄ – Tetracosano	38,19
C ₁₃ – Tridecano	21,38	C ₂₅ – Pentacosano	39,26
C ₁₄ – Tetradecano	23,94	C ₂₆ – Hexacosano	40,40
C ₁₅ – Pentadecano	25,99	C ₂₇ – Heptacosano	41,69
C ₁₆ – Hexadecano	27,78	C ₂₈ – Octacosano	43,17
C ₁₇ – Heptadecano	29,34	C ₂₉ – Nonacosano	44,87

Quadro 34 - Mistura de hidrocarbonetos-padrão empregados na determinação dos índices de retenção lineares, sob vazão de 1,3 ml/min (He 5,0 analítico, de pureza 99,999%)

4.4.1 Critérios de Identificação Analítica Adotados

Empregaram-se os seguintes critérios na identificação dos componentes:

a) identificação genérica:

- NIST 50% - picos cromatográficos arrolados com nível superior a 50% de probabilidade da certeza de identificação pela biblioteca NIST (NIST, 2002);

b) identificação provável:

- NIST 60% - picos cromatográficos arrolados com nível superior a 60% de probabilidade da certeza de identificação pela biblioteca NIST (NIST, 2002), e,
- análise dos espectros de massas desses picos;

c) identificação positiva:

- IRL – que apresentaram índices comparados com valores tabelados encontrados na literatura com diferença menor ou igual a 10% e,

- comparação com o padrão externo - espectros de massas coincidentes com compostos químicos autênticos adquiridos de fontes comerciais.

4.4.2 Critério de Quantificação Adotado

Na tentativa de minimizar os erros de quantificação, tentou-se inicialmente empregar 2-butanol como um padrão interno – conforme usado recentemente por SCHENKER (2000), a partir da etapa de extração, para a correção na quantificação dos compostos de interesse. No entanto, a recuperação desse padrão interno foi inferior a 20%, não aceitável pelo critério mínimo de 60%, conforme AOAC (2000).

Optou-se então pela aquisição de padrões externos, compostos de grau cromatográfico em número de 25, listados no Quadro 32, aquisição esta determinada por consulta prévia à literatura sobre compostos de impacto aromático relevantes ao aroma de café (Quadros 17, 18 e 19 do Anexo 3).

Foram, ainda, realizados testes prévios de saturação da fibra escolhida para os testes com café solúvel, determinando-se uma massa amostral necessária para atingir o nível de saturação como sendo pelo menos cinco vezes superior à massa amostral de 2,8 gramas de café solúvel. A aplicação dessa massa amostral, além disso, permitiu detecção através da análise olfatométrica daqueles compostos com FD igual ou maior a 8, grandeza similar à empregada na literatura (CHOI, SAWAMURA e KONDO, 2002), sendo que ESCUDERO et al. (2004) utilizaram, inclusive, valores inferiores a esse.

5 RESULTADOS

5.1 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO HS - SPME

Partindo da Tabela 6 e processando os dados contidos na Tabela 9 com a metodologia de superfície de resposta com o programa STATISTICA 7.1.30 (STATSOFT, 2005), obteve-se a Tabela 10, que mostra os valores dos efeitos significativos entre cada variável independente estudada sobre a variável-resposta (unidade de área cromatográfica total obtida em cada ensaio), não havendo diferença significativa ao nível de $p \geq 0,05$.

Tabela 9 - Desenvolvimento do método SPME / GC-MS através do delineamento central composto com inclusão de pontos centrais

Ensaio	Amostra	Temperatura de extração T ₁ (°C)	Tempo de extração t ₁ (min)	Temperatura de dessorção T ₂ (°C)	Tempo de dessorção t ₂ (min)	Unidades de área cromatográfica total
6	1	40	20	240	7,5	1,20*E+09
8	2	40	20	240	12,5	1,41*E+09
2	3	40	20	260	7,5	9,50*E+08
7	4	40	20	260	12,5	1,28*E+09
3	5	40	40	240	7,5	1,44*E+09
5	6	40	40	240	12,5	1,59*E+09
1	7	40	40	260	7,5	1,25*E+09
4	8	40	40	260	12,5	1,96*E+09
19	9	80	20	240	7,5	2,63*E+09
24	10	80	20	240	12,5	2,39*E+09
25	11	80	20	260	7,5	2,38*E+09
22	12	80	20	260	12,5	3,07*E+09
18	13	80	40	240	7,5	3,90*E+09
20	14	80	40	240	12,5	3,32*E+09
26	15	80	40	260	7,5	3,09*E+09
21	16	80	40	260	12,5	3,40*E+09
27	17	20	30	250	10	8,10*E+08
23	18	100	30	250	10	3,63*E+09
13	19	60	10	250	10	1,46*E+09
14	20	60	50	250	10	2,58*E+09
17	21	60	30	230	10	2,44*E+09
10	22	60	30	270	10	1,98*E+09
15	23	60	30	250	5	2,15*E+09
16	24	60	30	250	15	2,57*E+09
28	25(C)	60	30	250	10	2,11*E+09
12	26(C)	60	30	250	10	2,27*E+09
9	27(C)	60	30	250	10	2,10*E+09
29	28(C)	60	30	250	10	2,20*E+09
11	29(C)	60	30	250	10	2,13*E+09

Coluna INNOWax - Fibra 57348-U (DVB/CAR/PDMS) - Análise do *headspace* – pó - Amostra 5 (2.8 gramas).

Tabela 10 - Estimativa dos efeitos principais significativos sobre a área cromatográfica total (HS-SPME, fibra 57348-U) empregando-se os fatores codificados (unidades de área cromatográfica)

Fator	Efeito	Erro Padrão	p
Média	2,19*E+09	1,41*E+07	0,000000
T ₁ (L)	1,56*E+09	3,11*E+07	0,000001
t ₁ (L)	5,70*E+08	3,11*E+07	0,000051
t ₂ (L)	2,01*E+08	3,11*E+07	0,002909
T ₁ (L) x t ₁ (L)	2,28*E+08	3,81*E+07	0,003898
T ₂ (L) x t ₂ (L)	3,13*E+08	3,81*E+07	0,001199

Onde: L é o coeficiente do termo linear. Coeficiente de determinação $R^2 = 0,9551$; coeficiente de determinação ajustado $R^2_{ajustado} = 0,9453$. Não há diferença significativa ao nível de $p \geq 0,05$.

Conforme destacado no item 3.2.1.1.1, que definiu as condições cromatográficas básicas empregadas, a resposta dos detectores (FID e MS) é adimensional, tendo aplicações comparativas. Para os efeitos deste trabalho e visando a simplificação do texto, os valores citados para as respostas dos detectores serão referenciados e tratados como de área dos picos cromatográficos ou unidades de área cromatográfica.

A falta de ajuste (um indicador da qualidade preditiva), bem como os termos quadráticos, não foram significativos. Confirmando a Equação (2), a temperatura de extração (T_1) é o fator que apresenta maior importância, tendo valor positivo, o que era esperado uma vez que, durante a fase analítica e para as faixas empregadas, percebeu-se que a elevação da temperatura favorece maior migração dos compostos voláteis presos na matriz para o *headspace*. Não se utilizaram, entretanto, temperaturas de extração superiores aos 100°C, uma vez que diversos compostos de interesse são sensíveis ao calor.

O modelo decodificado (variáveis originais) obtido pela regressão que relaciona a área total com a temperatura e o tempo de extração, é uma equação multilinear descrita matematicamente pela Equação (10), onde T_1 é a temperatura de extração, t_1 é o tempo de extração, T_2 a temperatura de dessorção e t_2 o tempo de dessorção.

$$\begin{aligned} \text{Unidades de área cromatográfica} &= -3,78*E+08 + 2,18*E+07*T_1 - 5,56*E+06*t_1 + \\ &1,22*E+08*t_2 + 5,70*E+05*T_1*t_1 - 3,28*E+05*T_2*t_2 \end{aligned} \quad (10)$$

A Tabela 11 apresenta uma avaliação estatística do modelo obtido.

Tabela 11 - Análise de variância da Equação (10), método HS-SPME, fibra 57348-U

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Média quadrática	F _{calculado}	Inferência
Regressão	1,74*E+19	5	3,48*E+18	97,60	p<0,05
Resíduos	8,19*E+17	23	3,56*E+16		
Falta de ajuste	7,95*E+17	19	4,19*E+16	7,22	p>=0,05
Erro experimental	2,31*E+16	4	5,80*E+15		
Total	1,82*E+19	28	3,48*E+18		

No modelo escolhido obteve-se um coeficiente de determinação R^2 ajustado igual a 0,9453. Empregando o teste F, conforme BRUNS, SCARMINIO e NETO (1995), pode-se afirmar que a quantidade de variação devido ao modelo é significativamente maior do que a variação não explicada, não havendo diferença significativa ao nível de $p \geq 0,05$.

A qualidade preditiva do modelo pode melhor ser visualizada pela Figura 11, onde são apresentados os valores observados experimentalmente versus os previstos pelo modelo obtido. Assim, sendo válido o modelo, é possível gerar as superfícies de resposta e as curvas de nível que serão analisadas para definir os melhores intervalos de operação para otimização do método proposto na utilização de SPME.

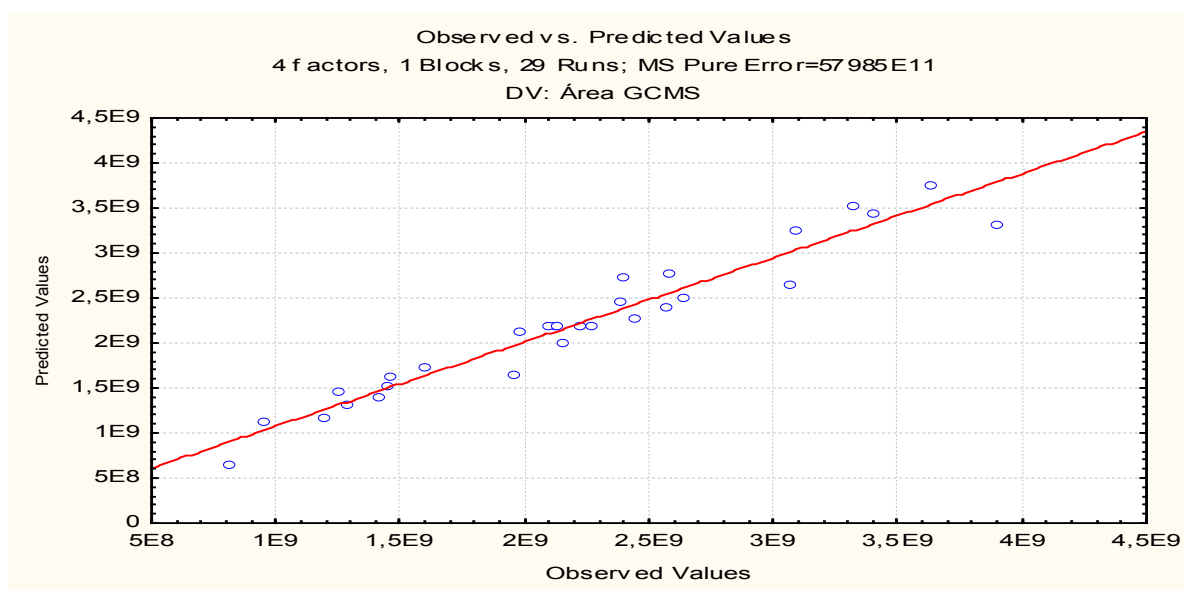


Figura 11 – Representação da Equação (10) – Influência da temperatura e do tempo de extração na resposta cromatográfica - Valores previstos (sobre a reta) versus observados (o)

A Figura 12 apresenta as curvas de nível para área total em função da temperatura e do tempo de extração, sendo esses fatores estatisticamente significativos ao nível de 95%.

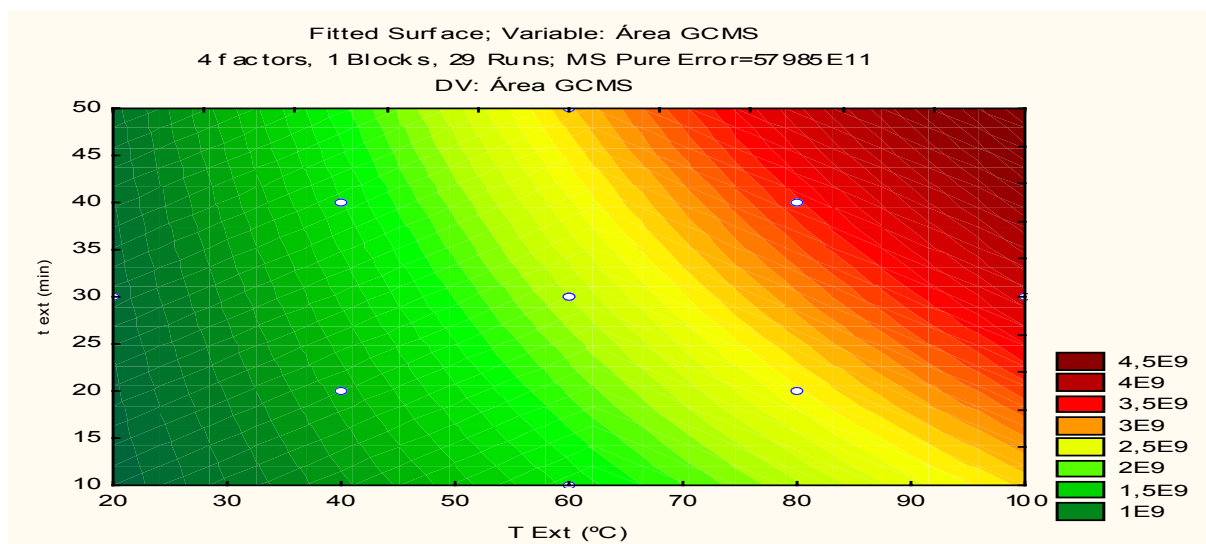


Figura 12 – Representação das curvas de nível da Equação (10), método HS-SPME

Objetivando atingir a condição menos interferente na análise, considerando-se os valores médios para as variáveis estudadas não interferentes, e pelos dados contidos nas Figuras 8 e 11, escolheram-se os seguintes valores como condição mais adequada de operação:

- a) temperatura de extração (T_1) - 70°C;
- b) tempo de extração (t_1) - 30 min;
- c) temperatura média de dessorção (T_2) – 250°C;
- d) tempo médio de dessorção (t_2) – 10 min.

Vale lembrar que, para análise em GC-MS, utilizando-se a metodologia HS-SPME, o método empregado seguiu as condições operacionais descritas em 3.2.1.1.1.

A avaliação dos resultados mostrou que o aumento da temperatura de extração aumenta substancialmente a área total dos picos obtidos, conforme SHIMODA e SHIBAMOTO (1990) e ainda confirmando os resultados encontrados por MATA et al. (2004). No entanto, decidiu-se limitar a temperatura de extração a 70°C, procurando evitar reações de degradação térmica dos componentes voláteis do aroma.

Para comparar o comportamento das fibras utilizadas na extração – fibra 57348-U (Polar), foram conduzidas análises utilizando-se as melhores condições de operação escolhidas para esta, comparativamente às fibras 57300-U e 57310-U, de característica apolar e bipolar, respectivamente.

Desse comparativo, pôde-se inferir que, apesar da grande diferença de sensibilidade na extração apresentada entre as mesmas, quase todos os compostos foram extraídos em todos os casos, conforme a Tabela 12, na qual os principais picos cromatográficos obtidos aparecem identificados, com as respectivas unidades de áreas cromatográficas corrigidas pelo próprio equipamento (NIST, 2002).

Tabela 12 - Comparativo das unidades de área cromatográfica corrigida para alguns compostos voláteis encontrados – Método HS-SPME - Parâmetro de Integração: limite inicial de detecção igual a 14

Composto	Tempo de retenção (min)	Fibra 57348U POLAR	Fibra 57310U BIPOLAR	Fibra 57300U APOLAR
Pirazina	12,93	8*E+07	2*E+07	4*E+06
Metil-pirazina	17,52	4*E+07	1*E+07	5*E+06
3,5-dietil-2-metil-pirazina	24,29	8*E+06	5*E+06	1*E+06
2,6-dimetil-pirazina	20,07	2*E+07	1*E+07	3*E+06
Etil-pirazina	20,24	2*E+07	1*E+07	3*E+06
3-etil-piridina	21,64	7*E+06	2*E+06	nd
2-etil-6-metil-pirazina	21,77	3*E+07	1*E+07	4*E+06
Ácido acético	23,41	2*E+08	1*E+07	3*E+05
2-furilmetanol	27,18	1*E+08	5*E+07	6*E+06
Furfural	23,55	7*E+07	2*E+07	2*E+06
Guaiacol	30,11	3*E+07	1*E+07	9*E+05
Vanilina	38,37	nd	8*E+05	nd
4-vinil-guaiacol	34,30	2*E+07	9*E+06	2*E+06
4-etil-guaiacol	32,33	nd	6*E+06	2*E+06

Nd. Não detectado.

A Tabela 13 mostra os resultados das áreas totais dos picos cromatográficos obtidos pelas três fibras testadas. Nesta Tabela são apresentados os valores das médias referentes a cinco repetições genuínas, realizadas para cada fibra, calculando-se para cada uma o respectivo CV.

Tabela 13 - Unidades de áreas cromatográficas totais obtidas para cada fibra testada - Desenvolvimento do Método HS-SPME (Parâmetro de Integração: limite inicial de detecção igual a 14)

Fibra	Tipo	Composição Química	Unidades de área cromatográfica total	Coefficiente de variação (%)
57348-U	Polar	DVB/CAR/PDMS	2,17*E+09	1,51
57300-U	Apolar	PDMS	2,54*E+08	3,21
57310-U	Bi-Polar	PDMS/DVB	1,43*E+09	1,82

Pelos resultados apresentados nas Tabelas 12 e 13 pode-se concluir que a fibra 57348-U (DVB/CAR/PDMS – Polar) apresentou melhor rendimento de extração, confirmando os dados reportados por BICCHI et al. (2002), sendo esta fibra, caracterizada no Quadro 35, a eleita para o presente trabalho como mais recomendada para se empregar com a extração de compostos voláteis presentes no café solúvel, utilizando-se a metodologia proposta (SUPELCO, 2001).

Part. Nº.	Tipo	Composição Química	Espessura do Filme (µm)	Faixa de temperatura de dessorção
57348-U	Polar	DVB/CAR/PDMS	50/30	230-270°C

Fonte: SUPELCO (2001).

Quadro 35 - Características da fibra escolhida para as análises de SPME

Confirmando CAI, LIU e SU (2001), sugere-se utilizar a metodologia HS-SPME aqui desenvolvida, para se qualificar e quantificar compostos aromáticos presentes no café solúvel (*headspace*), quando se trabalha com temperaturas na faixa de 70°C. Devido ao fato de que muitos compostos de interesse e com impacto aromático no café, encontram-se em faixa de concentração baixa (aos níveis de µg/kg e ng/kg), esta metodologia é preconizada e indicada para análises mais completas e confiáveis, uma vez que esses compostos podem ser detectados em concentrações suficientes para quantificação.

5.2 DETERMINAÇÃO E TERMINAÇÃO DOS VOLÁTEIS NA BEBIDA

No caso particular da determinação dos voláteis na bebida pela técnica de HS-SPME, aqui denominada de HS-SPME (bebida), a fase de preparo da amostra foi modificada, pesando-se 2,8 gramas de café solúvel diretamente em xícara para café, diluídas então com água mineral fervente, coletando-se alíquota de 10ml quando a temperatura atingisse 70°C, simulando a condição normal de consumo, sendo a seguir passada para *vial* e processada, tal como preconiza o restante da técnica. A alíquota de 10 ml corresponde ao volume aproximado ocupado pela massa de 2,8 gramas dos cafés solúveis, considerando o valor para a densidade média aparente igual a 240 g/l para o produto em vidros. Essa equivalência contribuiu também para a validação da metodologia também empregando a técnica de HS-SPME (bebida).

5.3 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA HS- SPME

Uma vez determinada a metodologia de HS-SPME como a mais indicada para a análise dos componentes voláteis do café solúvel, procedeu-se aos ensaios de validação.

5.3.1 Teste de Conformidade do Sistema GC-MS

Foram validados durante os testes de conformidade os seguintes equipamentos:

- a) detector seletivo de massas (Agilent 5973);
- b) sistema de rede GC (Agilent 6890N);
- c) injetor ALS (Agilent 7683);
- d) bandeja 7683 (G2614 A);
- e) programa *MS ChemStation*.

A Tabela 14 apresenta os parâmetros obtidos nos testes de conformidade do sistema GC-MS. Observa-se que o sistema GC-MS estava apto para fornecer resultados confiáveis nos ensaios de validação e ensaios de rotina, evitando erros sistemáticos.

Tabela 14 - Resultados do teste de conformidade para o sistema GC-MS empregado

Procedimentos	Valor medido	Critério de aceitação*
Teste de Queda de Pressão do injetor (P_D)	0,14 kPa	$P_D \leq 1,38$ kPa
Teste Pressão Injetor	17,71 kPa	$17,23 \pm 0,83$ kPa
Temperatura do Forno	231,4°C	230 ± 5 °C
Relação sinal/ruído para o filamento 1	22	≥ 10
Relação sinal/ruído para o filamento 2	25	≥ 10
Precisão (Teste do tempo de Retenção)	0,40	$CV \leq 1,00$

Conforme *Protocol Revision Number* – VER. A. 02.10 – Agilent.

5.3.2 Linearidade

Foi determinada através da construção de gráfico de concentração em função da área de cada pico (ver 3.2.1.6.2). As faixas abrangidas nos testes para os compostos voláteis (padrões utilizados) estão descritas na Tabela 15.

Tabela 15 – Exemplo típico dos compostos voláteis utilizados na verificação da linearidade

Composto Volátil	Faixa abrangida (mg/kg)
2,3-butanodiona	10 a 30
2,3-pentanodiona	10 a 30
Pirazina	15 a 45
Ácido acético	25 a 75
Guaiacol	37 a 95
4-etil-guaiacol	5 a 15
2,3-dimetil-pirazina	5 a 15
2,5-dimetil-pirazina	34 a 102

A Tabela 16 apresenta os dados típicos referentes a alguns compostos de impacto aromático analisados.

Tabela 16 - Exemplo típico dos resultados da linearidade de compostos

Composto aromático	Coefficiente de correlação (r)*	Intervalo de confiança (ICa) (unidades de área cromatográfica – em milhões)
2,3-butanodiona	0,97	-0,14 +/- 0,23
2,3-pentanodiona	0,97	-0,78 +/- 0,19
Pirazina	0,96	-0,85 +/- 2,14
2-furfuriltiol	0,99	0,14 +/- 0,17
Guaiacol	0,97	-1,47 +/- 3,27
2,3-dietil-5-metil-pirazina	0,99	1,49 +/- 1,24
2,3-dimetil-pirazina	0,98	-0,51 +/- 0,58
2,5-dimetil-pirazina	1,00	0,08 +/- 1,08

Observação: * Critério de aceitação $r > 0,97$.

Conforme a Tabela 16, a exceção ao critério de aceitação estabelecido (ver item 3.2.5), foi a pirazina ($r=0,964$). No teste do intervalo de confiança (95%) dos compostos, observou-se na maioria das situações que o zero está contido nos intervalos (ICa) obtidos, e as exceções, como 2,3-pentanodiona e 2,3-duetil-5-metil-pirazina, poderiam ser explicadas pelas concentrações utilizadas, bastante baixas. No entanto, como não houve extrapolação das faixas estabelecidas, considerou-se a linearidade do modelo como atendendo aos critérios de aceitação estabelecidos em 3.2.1.6.2.

5.3.3 Repetibilidade (Precisão)

Foi determinada pela análise de café solúvel em seis repetições genuínas, mantidos constantes temperatura e tempo de extração, iguais à 70°C e 30 minutos, respectivamente.

A Tabela 17 apresenta os resultados obtidos para a precisão da metodologia, realizadas em condições de repetibilidade. Foram analisados compostos de impacto aromático, obtidos em testes de GC/O, onde para cada composto foram calculados os seguintes parâmetros: média, desvio padrão, coeficiente de variação (CV) e repê r (máxima diferença aceitável entre duas replicatas em condições de repetibilidade).

Tabela 17 – Exemplo típico dos resultados dos testes de repetibilidade (precisão) – unidades de área cromatográfica

Composto	Média	Coefficiente de variação(%)	repê r (p<0,05)
2,3-butanodiona	755967	6,4	136054
2,3-pentanodiona	408777	3,8	43661
4-vinil-guaiacol	12129987	4,2	1420056
Guaiacol	17059321	4,3	2073287
4-etil-guaiacol	3749449	2,9	302667
Pirazina	9248151	6,7	1737334
2,5-dimetil-pirazina	23807334	9,3	6219232
2,3-dimetil-pirazina	6335035	8,8	1555131
2-etil-6-metil-pirazina	15722726	7,1	3144286
2n-propil-pirazina	2820302	6,1	479807
Ácido acético	130316244	3,7	13490515
Ácido 3-metil-butanóico	19692033	7,9	4333166

Nos testes de precisão, realizados em condições de repetibilidade, pode-se observar na Tabela 17 que todos os compostos testados atingiram o critério de aceitação pré-estabelecido ($CV < 10\%$), atestando assim que a precisão do método avaliado atende aos critérios internacionais de aceitação para os compostos de impacto aromático (GARFIELD, 2001), comparável ao valor de 6,4% a 7,8% reportado por DIÁZ-MAROTO et al. (2004) e de 4,5% encontrado para o ácido acético por VERZERA et al. (2004) para méis, também empregando SPME.

5.3.4 Exatidão - Ensaio de Recuperação

A exatidão foi determinada através de teste de recuperação, empregando-se a metodologia HS-SPME com padrões de concentrações conhecidas dentro da faixa linear, sendo cada amostra analisada em duplicata. A Tabela 18 apresenta os resultados do teste de recuperação.

Tabela 18 – Exemplo típico dos resultados dos testes de exatidão – Teste de Recuperação

Composto aromático	Recuperação média (R) (%)
Pirazina	64,61
Ácido acético	53,45*
Guaiacol	95,63
4-etil-guaiacol	90,13
2,3-dimetil-pirazina	60,09
2,5-dimetil-pirazina	65,50

* Encontra-se fora da faixa de recuperação estabelecida.

Pelos resultados da Tabela 18 pode-se perceber que os critérios pré-estabelecidos foram atingidos com êxito, atestando assim a suficiente exatidão do método, à exceção, embora próximo, do ácido acético (R=53,45%), que não atingiu o critério mínimo de aceitação de recuperação média de 60% (GARFIELD, 2001).

Entretanto, considerando as outras características da validação e o fato de que o emprego de padrão externo de cada componente na determinação quantitativa também concorre para maior exatidão do método, a mesma foi considerada como aceitável. Adicionalmente, RIBANI et al. (2004) destacam que, dependendo da complexidade analítica e da amostra, o valor da exatidão esteja entre 50 a 120%, o que parece aplicável neste caso.

5.3.5 Robustez

Os experimentos foram definidos pelo delineamento fatorial completo com inclusão de pontos centrais (Quadros 26 e 27), utilizando-se o programa STATISTICA 7.1.30 (STATSOFT, 2005), havendo três repetições no ponto central para estimativa do erro experimental. Foi realizado um experimento para verificar a robustez da extração e outro para verificar a robustez da determinação analítica (GC-MS), como se observa nas Tabelas 19 e 20.

5.3.5.1 Extração

A Tabela 19 apresenta os níveis que foram estudados para cada variável testada na fase extrativa.

Tabela 19 - Fatores de variação para verificação da robustez na fase extrativa

Fator	Nível -1	Nível +1
Massa de café	2,6g	3,0 g
Temperatura de extração	65°C	75°C
Tempo de extração	25 min	35 min

5.3.5.2 Determinação analítica GC-MS

A Tabela 20 apresenta os níveis estudados para as variáveis testadas, onde as condições extrativas para os parâmetros temperatura e tempo de extração foram mantidas constantes e iguais a 70°C e 30 min, respectivamente.

Tabela 20 - Fatores de variação para verificação da robustez na fase analítica (GC-MS)

Fator	Nível -1	Nível +1
Temperatura do injetor	240°C	260°C
Tempo de dessorção	8 min	12 min

A Tabela 21 apresenta os resultados obtidos nos testes de robustez da fase extrativa, demonstrando que, quando as variáveis independentes temperatura e tempo de extração foram submetidas a variações dentro da faixa pré-estabelecida, as mesmas acarretaram mudanças nas variáveis-resposta (área cromatográfica dos compostos de interesse), não havendo, portanto, robustez dentro da faixa estudada, exceto no caso da 2,3-dimetil-pirazina. O mesmo foi observado para a variável independente massa de café, para a qual não há diferença significativa ao nível de $p \geq 0,05$. Por conseguinte essas variáveis são de grande

influência na determinação, e devem ser mantidas nas faixas estabelecidas, sob pena de conduzir a resultados incorretos.

Tabela 21 - Resultados da robustez – variáveis independentes – (Fase Extrativa)

Compostos Voláteis	Temperatura de extração (°C)	Tempo de extração (min)
2,3-butanodiona	p<0,05	p<0,05
2,3-pentanodiona	p<0,05	
4-vinil-guaiacol	p<0,05	p<0,05
Guaiacol	p<0,05	p<0,05
4-etil-guaiacol	p<0,05	p<0,05
Pirazina	p<0,05	
2,5-dimetil-pirazina	p<0,05	
2,3-dimetil-pirazina		
2-etil-6-metil-pirazina	p<0,05	
2n-propil-pirazina	p<0,05	p<0,05
Ácido acético		p<0,05
Ácido 3-metil-butanóico	p<0,05	p<0,05

A Tabela 22 apresenta os resultados estatisticamente significativos obtidos nos testes de robustez da fase analítica.

Tabela 22 - Resultados da robustez – variáveis independentes (Sistema GC-MS)

Compostos Voláteis	Temperatura injetor (°C)	Tempo de dessorção (min)
2,3-butanodiona		
2,3-pentanodiona		
4-vinil-guaiacol	p<0,05	p<0,05
Guaiacol		
4-etil-guaiacol	p<0,05	
Pirazina		
2,5-dimetil-pirazina		
2,3-dimetil-pirazina		
2-etil-6-metil-pirazina		
2n-propil-pirazina		
Ácido acético		
Ácido 3-metil-butanóico		

Nesse caso, o sistema GC-MS mostrou-se robusto frente às mudanças das variáveis independentes (temperatura do injetor e tempo de dessorção) para a maioria dos compostos analisados, selecionados por amostragem, não sendo robusto contudo para os compostos 4-vinil-guaiacol e 4-etil-guaiacol. Logo, essas variáveis serão mantidas nas faixas estabelecidas, para garantia da correção dos resultados analíticos.

5.3.5.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Foram determinados pelo critério de IUPAC (2001), efetuando-se análise da relação sinal/ruído (S/N) do equipamento na região do cromatograma referente a cada composto analisado. Os termos limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) são definidos pelas Equações (05) e (06) (ver item 3.2.1.6.3). A Tabela 23 apresenta os valores obtidos para os respectivos limites.

Tabela 23 – Exemplo típico dos resultados para os limites de detecção e de quantificação

Composto Aromático	Relação sinal/ruído	Limite de detecção (mg/kg)	Limite de quantificação (mg/kg)
2,3-butanodiona	4755	0,1495	0,4984
2,3-pentanodiona	3561	0,1483	0,4945
Pirazina	3265	0,0175	0,0586
Ácido acético	748	0,0355	0,1185
Guaiacol	1027	0,0083	0,0276
4-etil-guaiacol	375	0,0034	0,0160
2,3-dimetil-pirazina	532	0,0027	0,0092
2,5-dimetil-pirazina	22636	0,0712	0,2375
4-metil-tiazol	594	0,0047	0,0157
2,6-dimetil-pirazina	761	0,0081	0,0271
2,3,5-trimetil-pirazina	2156	0,0013	0,0457
2-etil-3-metil-pirazina	3469	0,0264	0,0882
2-furfuriltiol	323	0,0122	0,0407
Metional	108	0,0048	0,0161
Furfural	846	0,0182	0,0608
2,3-dietil-5-metil-pirazina	487	0,0035	0,0119
2-isobutil-3-metóxi-pirazina	1949	0,0660	0,2202
Linalol	1050	0,0737	0,2459
Hidróxi-metil-furfural	114	0,0036	0,0121

A fase preparativa e o desenvolvimento do método fazem com que todos os resultados analíticos situem-se em faixa superior a esses dois critérios, sendo descartados caso contrário (ver 3.2.1.6.3).

5.4 COMENTÁRIOS E RECOMOMENDAÇÕES GERAIS SOBRE AVALIAÇÃO

De maneira geral, os critérios pré-estabelecidos de aceitação foram atingidos, havendo exceções consideradas de menor importância, que não trariam maiores consequências, e, portanto, o método foi considerado válido.

Nos ensaios de robustez ocorreram alterações das variáveis-respostas dentro da faixa estudada, provavelmente pelo fato de as faixas pré-estabelecidas terem sido amplas demais para detectar a influência de pequenas variações no decorrer da análise, que é o objetivo principal de testes de robustez.

Este fato alerta para que os parâmetros de análises sejam rigorosamente respeitados, uma vez que pelos testes de robustez da fase extrativa, observou-se que o método é sensível às variações dos parâmetros de análise.

5.4.1 Condições Analíticas Empregadas

Tendo em vista os resultados obtidos na validação, as condições finais de extração estabelecidas foram:

- a) fibra SPME - 57348-U (Polar), (DVB/CAR/PDMS), 50/30;
- b) massa de café – 2,8 gramas;
- c) temperatura de extração – 70°C;
- d) tempo de extração – 30 min.

Igualmente, as condições cromatográficas finais estabelecidas foram:

- a) gás de arraste: He (5,0 analítico) – 1,3 ml/min;
- b) injetor operando em modo *splitless* (*Liner* 0,75mm id. (Supelco));
- c) temperatura do injetor 250°C;
- d) tempo de dessorção igual a 10 min;
- e) economizador de gás – ligado (*Saver flow* 20 ml/min e *Saver time* 5 min);
- f) *split vent* 65ml/min (0,75 min);

- g) coluna cromatográfica capilar INNOWax (60m x 320 μ m x 0.25 μ m)
 - (Agilent);
- h) detector seletivo de massas (MS) - Agilent 5973:
 - temperatura da interface: 280°C;
 - temperatura do quadrupolo: 150°C;
 - temperatura da fonte de íons: 230°C;
 - modo de operação SCAN, com varredura de 35-400 unidades de massa atômica.
- i) cromatógrafo Agilent 6890 N – programação do perfil de temperaturas do forno (perfil de aquecimento):
 - temperatura inicial 40°C, mantido patamar por 5 min;
 - fase de aquecimento com taxa de 4°C/min até 60°C, mantido patamar por 5 min;
 - fase de aquecimento com taxa de 8°C/min até 250°C, mantido patamar por 3 min.

5.5 QUANTIFICAÇÃO DOS PADRÕES DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS

A quantificação dos compostos voláteis com confirmação positiva foi feita empregando curvas de calibração definidas, obtidas pela injeção de padrões externos (Quadro 32). Todas foram significativas ao nível de 95% de confiança, e estão apresentadas na Tabela 24, onde x representa a concentração aplicada do componente, em mg/kg, e y a resposta cromatográfica do detector, ou seja, a área cromatográfica de cada pico cromatográfico.

Tabela 24 – Exemplo típico das curvas de calibração com padrão externo

COMPOSTO	Equação da curva de calibração	R ² ajustado
2,3-butanodiona	$y = 669692x - 44786$	0,976
2,3-pentanodiona	$y = 665654x - 779148$	0,951
Pirazina	$y = 984800x - 1000000$	0,961
2,5-dimetil-pirazina	$y = 1000000x + 9000000$	0,972
2,3-dimetil-pirazina	$y = 2000000x - 1000000$	0,980
Ácido acético	$y = 534483x - 6000000$	0,974
Guaiacol	$y = 2000000x - 8000000$	0,966
4-etil-guaiacol	$y = 2000000x - 3000000$	0,974
4-metil-tiazol	$y = 1000000x + 3000000$	0,994
2,6-dimetil-pirazina	$y = 607018x + 30000000$	0,990
2,3,5-trimetil-pirazina	$y = 908433x + 10000000$	0,993
2-etil, 3-metil-pirazina	$y = 1000000x + 10000000$	0,984
2-furfuriltiol	$y = 575961x + 10000000$	0,985
Metional	$y = 310688x + 10000000$	0,991
Furfural	$y = 363521x + 80000000$	0,980
2,3-dietil-5-metil-pirazina	$y = 2000000x + 10000000$	0,981
2-isobutil-3-metóxi-pirazina	$y = 1000000x + 20000000$	0,993
Linalol	$y = 1000000x + 3000000$	0,992
Hidróxi-metil-furfural	$y = 463044x + 30000000$	0,958
Vanilina	$y = 163727x - 28815$	0,991
Isoeugenol	$y = 517022x - 4000000$	0,988

Observação: 3 repetições genuínas para cada composto, em cinco concentrações diferentes, iguais a 25%, 50%, 100%, 125% e 150% da concentração de trabalho estimada (IUPAC, 2001).

A separação dos compostos atingida empregando a técnica proposta pode ser observada na Figura 13 observando-se a boa resolução dos picos cromatográficos.

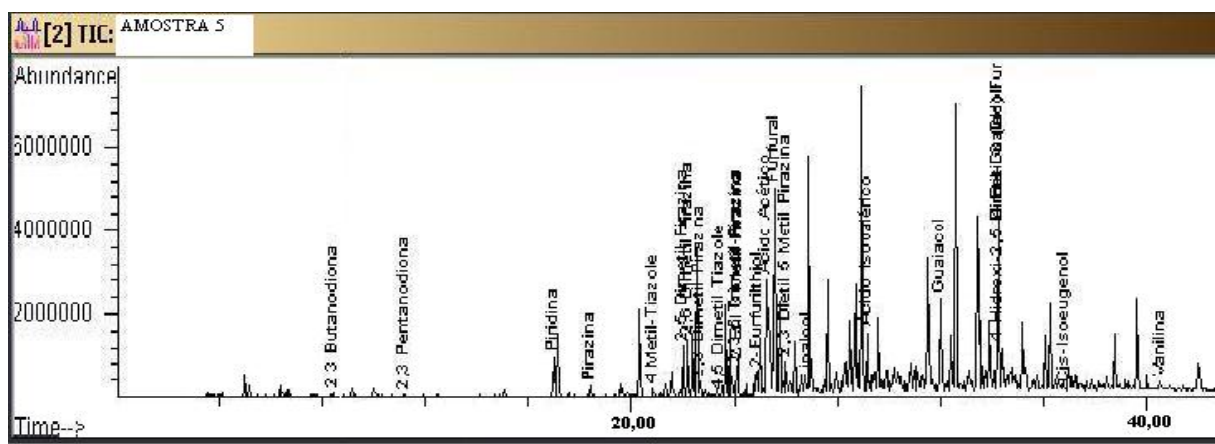


Figura 13 – Exemplo típico de cromatograma obtido empregando a técnica HS-SPME – GC-MS, com as melhores condições operacionais empregadas - Amostra 5

Os resultados obtidos confirmam a escolha adequada da massa amostral adotada como suficiente para as análises. A umidade de todas as amostras de café solúvel analisadas apresentou resultados entre 4% e 5%, dentro portanto do limite em geral preconizado internacionalmente.

5.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL

A classificação das amostras caracterizou todas como de qualidades distintas entre si, ordenando-as no âmbito do cenário mundial de qualidade para cafés solúveis na seguinte ordem decrescente: Amostra 7 > Amostra 6 > Amostra 5 = Amostra 4 > Amostra 1 = Amostra 2 > Amostra 3. As amostras internacionais consideradas como de qualidade superior às outras, supostamente processadas incluindo processos de aromatização.

Nove julgadores tiveram sucesso na fase inicial de seleção proposta e entre eles sete foram classificados pelo critério estabelecido na segunda fase, sendo três mulheres e quatro homens, todos não fumantes, com experiências variáveis na degustação de café.

Após a fase final de treinamento (ver 3.2.6.1) e, considerando a disponibilidade de tempo para uma participação integral nos testes, cinco julgadores constituíram o grupo final, sendo duas mulheres e três homens, passando a ser identificados para os fins deste trabalho por letras de A a E. O período de avaliação das sete amostras por esse grupo de julgadores foi de quarenta e cinco dias. Os dados das áreas dos picos dos componentes nos osmeogramas das amostras foram processados pela aplicação do programa SENSTOOLS versão 2.3.28 (OP & PRODUCT RESEARCH, 1998).

Grande parte dos estudos multivariados em análise sensorial é bidimensional. Neste trabalho, optou-se por estudar as três primeiras dimensões, responsáveis pelas maiores variâncias. A variância total explicada foi de 44,09%, respectivamente 20,62%, 12,30% e 11,17% para cada dimensão, e as amostras ficaram bem separadas (Figura 20). Quando se usa o Perfil Livre, a variabilidade explicada é, usualmente, menor do que a observada numa análise descritiva

quantitativa convencional, o que poderia ser atribuído ao fato dos julgadores diferirem mais em seus julgamentos, por não terem sido treinados.

A porcentagem de explicação obtida neste estudo com as três primeiras dimensões é comparável à obtida em outros trabalhos. Avaliando-se bebidas, observou-se, para os dois primeiros componentes uma explicação de 34% (BENASSI, DAMÁSIO e CECCHI, 1998), 43% (CRISTOVAM, PATERSON e PIGGOTT, 2000) para vinhos e igual a 50% para rum (PIGGOTT e PATERSON, 1993). Recentemente, e particularizando para o caso de café de coador, também considerando as três primeiras dimensões, NARAIN, PATERSON e REID (2003) observaram uma variabilidade explicada igual a 25%.

Para avaliar a eficiência da equipe foram consideradas as variâncias residuais (Figura 14) e as configurações das amostras por julgador (Figuras 15 a 19). Nas Figuras 15 a 20, por convenção, os eixos foram denominados de dimensões, pois ao empregar a Análise de Procusto Generalizada, o processamento dos dados é uma variação da ACP convencional, especialmente no caso do consenso.

Utilizando as duas primeiras dimensões definidas, os gráficos individuais de configurações das amostras obtidos seguem apresentados nas Figuras 15 a 19, nos quais as amostras são representadas por triângulos coloridos e os números nos vértices representam as repetições para cada amostra. De fato, tais triângulos indicam a repetibilidade de cada julgador relativamente às amostras (quanto maior a distância entre os vértices dos triângulos, menor a repetibilidade) e, quando comparados com a configuração consensual (Figura 20), observa-se que os julgadores conseguiram uma discriminação adequada.

A repetibilidade de cada um dos cinco julgadores foi ainda verificada através da variância residual individual, em conformidade com o valor preconizado como aceitável, próximo a 1,0% (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1998). A variância residual dos julgadores está associada a diferenças entre a configuração individual e o consenso de amostras (DAMASIO, 1999). Conforme a Figura 14, a maior porcentagem de variância residual observada foi de 1,17% para o julgador C.

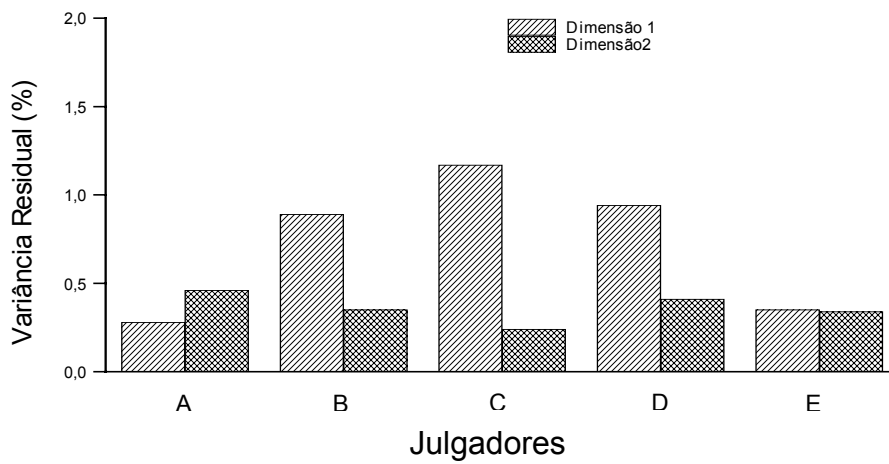


Figura 14 - Variância residual dos julgadores nas duas principais dimensões

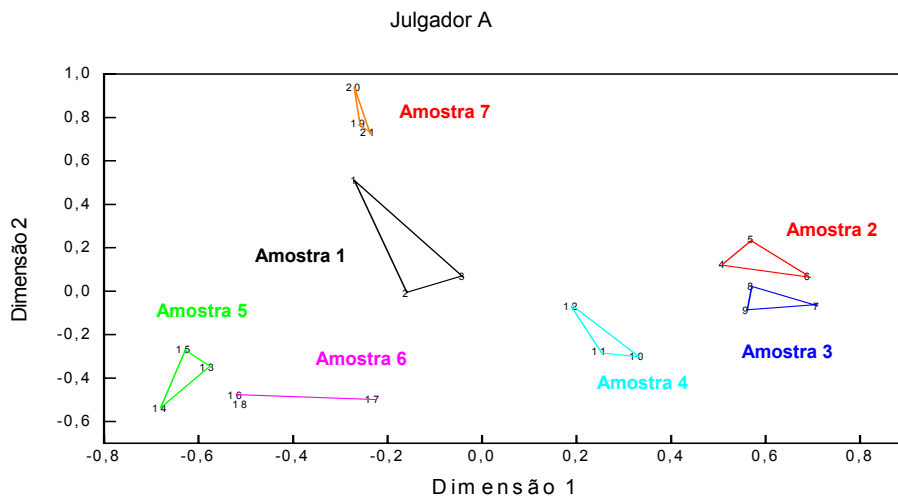


Figura 15 - Configuração das respostas das amostras para o julgador A

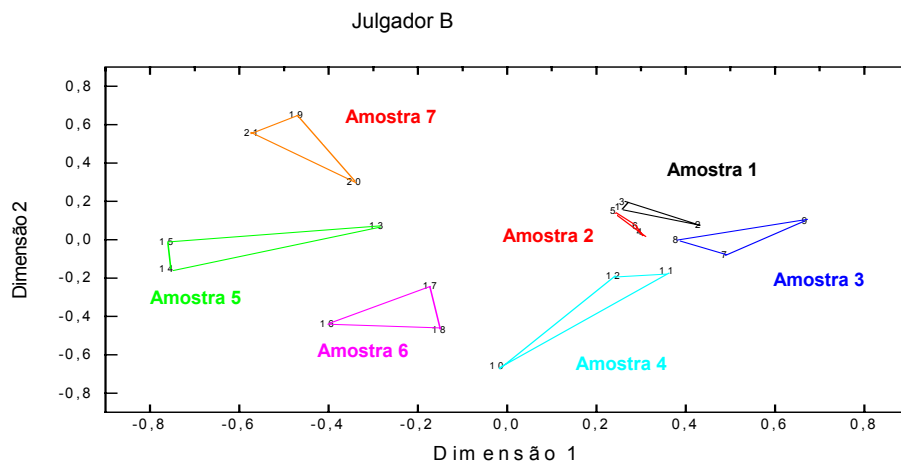


Figura 16 - Configuração das respostas das amostras para o julgador B

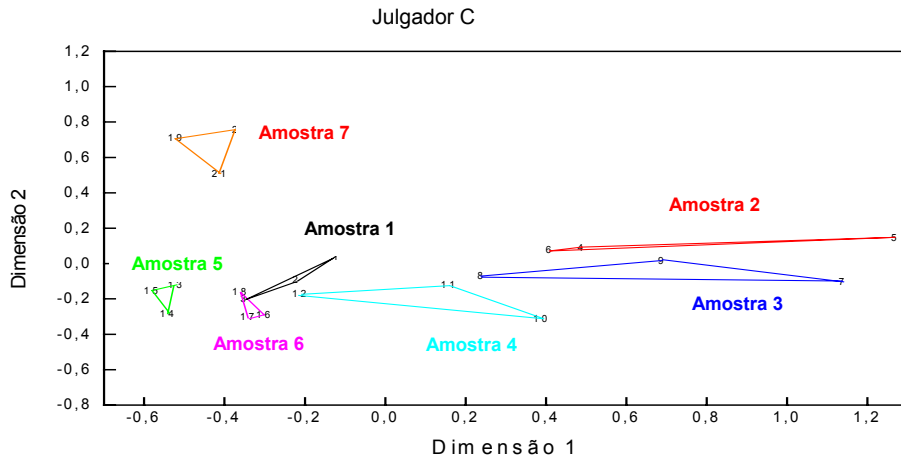


Figura 17 - Configuração das respostas das amostras para o julgador C

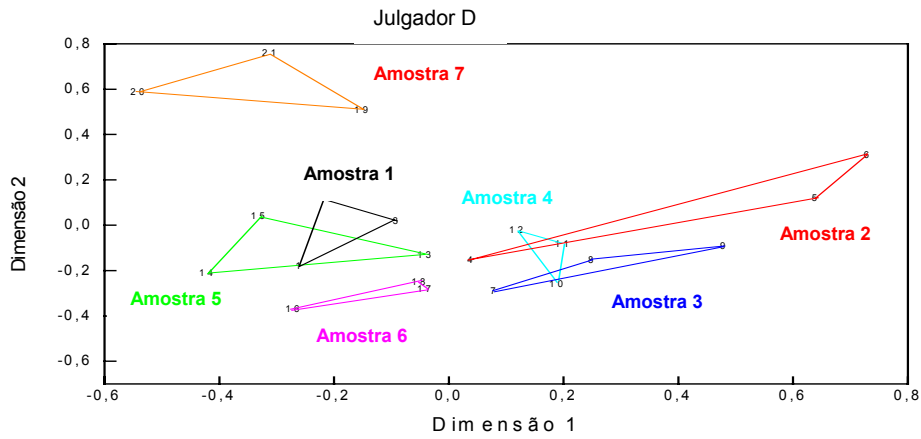


Figura 18 - Configuração das respostas das amostras para o julgador D

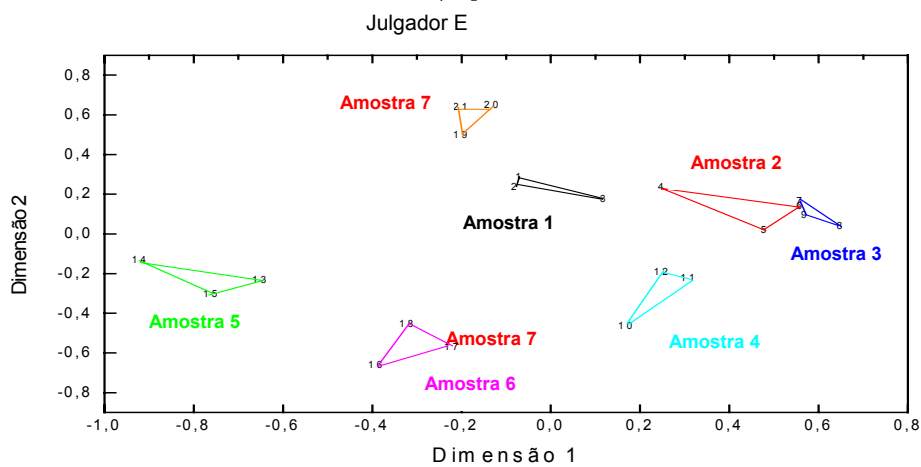


Figura 19 - Configuração das respostas das amostras para o julgador E

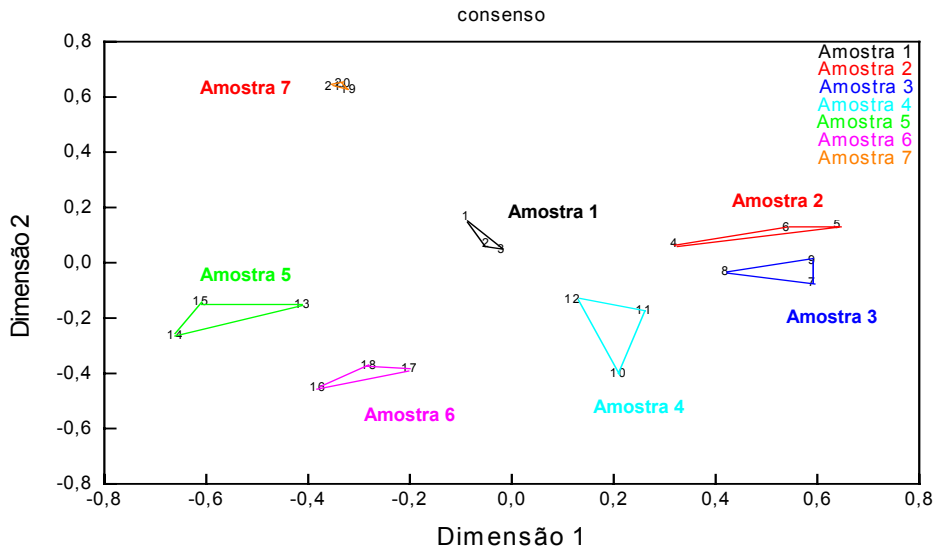


Figura 20 - Configuração consensual para a equipe de cinco julgadores

Os resultados permitiram verificar que, apesar dos julgadores não serem treinados, conseguiu-se caracterizar e discriminar todas as amostras conforme esperado (Figura 20). Deve-se considerar que a equipe tinha familiaridade com técnicas sensoriais, o que pode ter facilitado tanto o emprego adequado de atributos quanto o uso consistente da escala.

Para os julgadores, as correlações com as três dimensões definidas pela análise de GPA foram bastante distribuídas e heterogêneas e relativamente pequenas, apresentando-se em alguns casos com valores superiores a 0,50, não determinando a priori nenhuma tendência relevante.

5.7 RESULTADOS DO NARIZ ELETRÔNICO

Utilizando o programa de interface WINMUSTER 1.6.1.13 (AIRSENSE, 2002) aplicado ao nariz eletrônico para as amostras analisadas, geraram-se gráficos representativos das respostas analíticas dos sensores do equipamento para cada amostra, conforme apresentado respectivamente na Tabela 25 e na Figura 21.

Tabela 25 - Exemplo típico da resposta dos sensores (S) do equipamento nariz eletrônico PEN2 - (Faixa de análise entre 8 e 12 segundos) – Amostra 1

Nº. Ponto	Tempo (s)	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	8	0,571	9,349	0,466	0,990	0,521	2,846	1,344	1,625	3,944	0,977
2	9	0,536	10,834	0,439	0,993	0,508	2,856	1,511	1,739	5,140	0,981
3	10	0,522	11,219	0,432	0,996	0,508	2,783	1,655	1,787	5,943	0,985
4	11	0,516	11,247	0,433	0,999	0,514	2,678	1,775	1,798	6,462	0,991
5	12	0,515	10,940	0,435	0,999	0,522	2,572	1,879	1,788	6,745	0,996
6	8	0,555	9,989	0,456	0,993	0,510	2,901	1,367	1,659	4,174	0,977
7	9	0,524	11,381	0,430	0,994	0,494	2,915	1,543	1,767	5,446	0,975
...
14	11	0,545	8,951	0,462	1,000	0,533	2,479	1,504	1,713	5,045	0,991
15	12	0,538	9,094	0,458	1,001	0,533	2,432	1,593	1,718	5,469	0,994

Observação: As análises foram realizadas em três repetições genuínas.

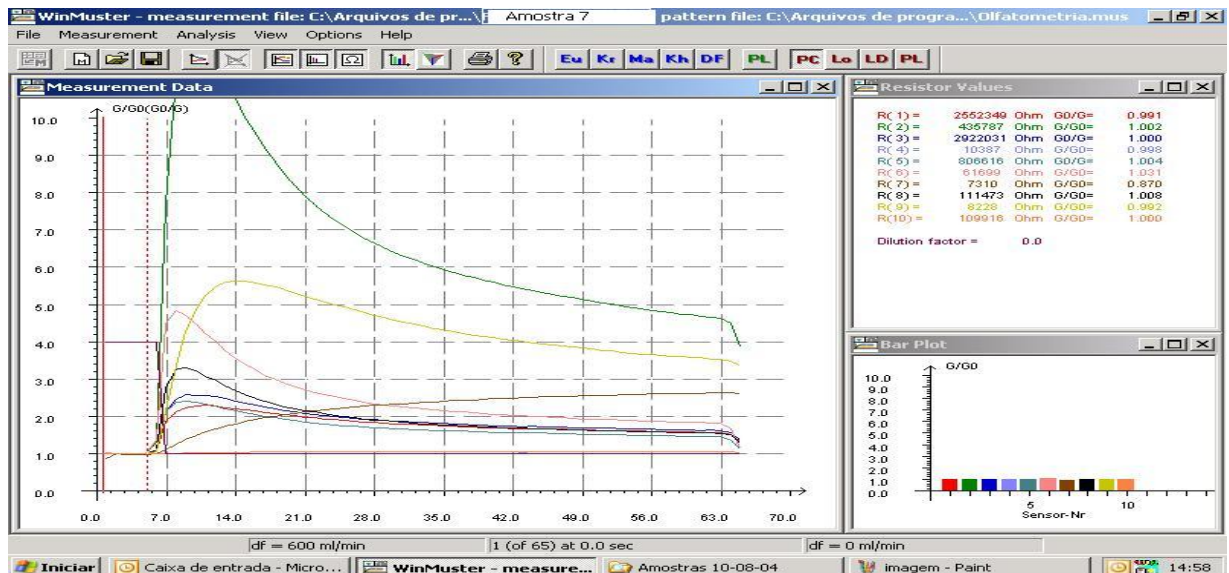


Figura 21 - Exemplo típico do gráfico de respostas do nariz eletrônico – Amostra 7

A melhor discriminação entre as amostras, definida pelo processamento interno do próprio equipamento, foi obtida pela exclusão dos sensores 2, 3 e 10. As respostas obtidas para o café solúvel em pó para os dez sensores selecionados entre os tempos 8 a 12 segundos, intervalo definido em testes preliminares por apresentar maior sensibilidade do equipamento para análise de cafés solúveis (AIRSENSE, 2002), foram processadas através da Análise de Procusto Generalizada do programa SENSTOOLS versão 2.3.28 (OP & PRODUCT RESEARCH, 1998).

Obteve-se um total da variância explicada igual a 98,99%, respectivamente 98,51% e 0,48% nas duas dimensões consideradas. A repetibilidade de cada um dos cinco tempos selecionados foi verificada através da variância residual individual, em conformidade com o valor preconizado como aceitável, próximo a 1,0% (OP & P PRODUCT RESEARCH, 1998), e, conforme a Figura 22, a maior porcentagem de variância residual observada foi de 0,19% para o tempo de 8 segundos. Como houve consenso, pode-se por hipótese empregar apenas o tempo de 8 segundos para efeitos de análise.

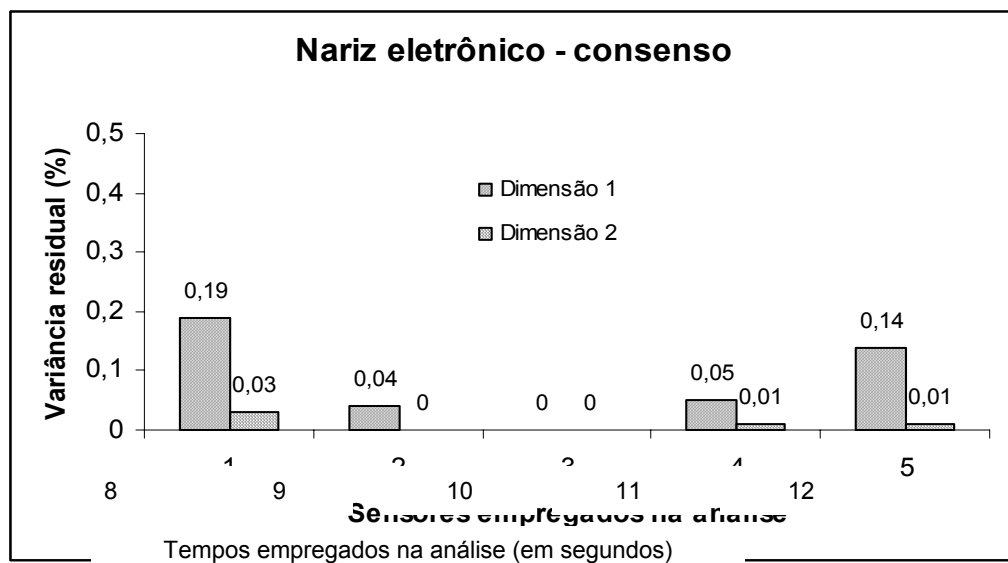


Figura 22 - Variância residual dos tempos empregados nas análises empregando o nariz eletrônico para as duas principais dimensões

Os resultados permitiram verificar a caracterização e discriminação de todas as amostras conforme se esperava (Figura 23).

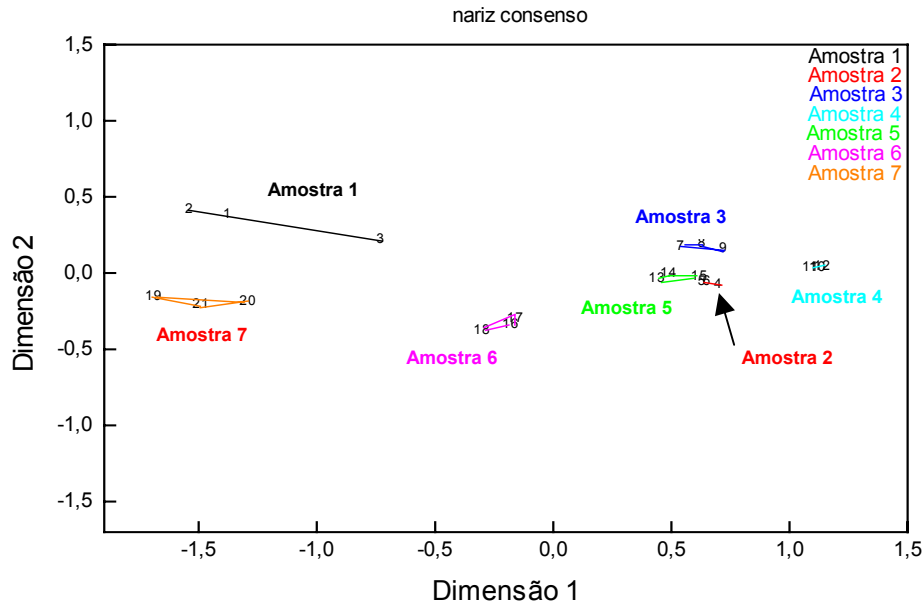


Figura 23 - Configuração consensual para o nariz eletrônico

De forma consistente e para todas as amostras, a análise das correlações para a dimensão 1 definidas para o nariz eletrônico, demonstraram correlações entre os sensores 2 (largo espectro – definição do fornecedor), 3 (compostos aromáticos), 7 (orgânicos sulfurosos) e 9 (sulfurosos e clorados) superiores a 0,90. Já para a dimensão 2, as correlações foram menores, superiores a 0,50 para os sensores 6 (largo espectro – metanos) e 8 (largo espectro – álcoois).

Pode-se observar o bom poder de discriminação encontrado para as amostras através do nariz eletrônico, que comprovou ser um método bastante rápido e simples, podendo constituir-se em poderosa ferramenta para classificação de cafés solúveis, complementando mas não substituindo a avaliação sensorial.

5.8 COMPARATIVO ENTRE OS DADOS SENSORIAIS E OS RESULTADOS DO NARIZ ELETRÔNICO

Ao comparar a configuração consensual dos julgadores (Figura 20) com a configuração consensual encontrada para o nariz eletrônico (Figura 23), percebe-se a melhor repetibilidade do nariz eletrônico. Observa-se ainda que, em ambos os casos, houve discriminação das amostras.

Para o café solúvel em pó, tanto pela análise sensorial quanto pelo nariz eletrônico, os cafés nacionais foram posicionados como distintos das amostras internacionais, e a distinção indicou claramente as amostras experimentais preparadas a partir de café arábica (amostras 1 e 2) ou café conilon (amostra 3), e até mesmo entre regiões produtoras (amostras 1 e 2).

As evidências levam a sugerir o potencial emprego da análise do pó como ferramenta complementar na classificação de cafés solúveis.

5.9 RESULTADOS DE IDENTIFICAÇÃO

Iniciando pelo emprego do programa da biblioteca NIST (NIST, 2002) e considerando como critério de corte aqueles picos cromatográficos arrolados com nível superior a 50% de probabilidade da certeza de identificação, várias classes de compostos foram definidas nas análises conduzidas em amostras de cafés solúveis conforme o Quadro 36, o que equivale à cerca de dois terços do total de classes listadas na Tabela 3.

Já o número de compostos representou cerca da metade do total indicado pela literatura para cafés torrados, conforme a Tabela 4. O limoneno encontrado foi classificado como terpeno, representando uma classe que destacamos no presente trabalho, adicionalmente àquela Tabela já mencionada. Nas sete amostras analisadas foram identificados de 378 a 429 picos nos cromatogramas, totalizando 414 compostos distintos com identificação genérica nas amostras analisadas.

Classe de composto	NIST probabilidade >50%	Classe de composto	NIST probabilidade >50%
Hidrocarbonetos alifáticos	X	Pirazinas	X
Hidrocarbonetos aromáticos	X	Quinoxalinas	
Álcoois alifáticos	X	Furanos	X
Álcoois aromáticos	X	Pironas	
Aldeídos alifáticos	X	Oxazóis	X
Aldeídos aromáticos	X	Tióis	X
Cetonas alifáticas	X	Sulfetos	
Cetonas aromáticas	X	Disulfetos	X
Ácidos	X	Trissulfetos	
Ésteres	X	Tioésteres	
Lactonas		Tiofenos	
Anidridos		Ditiolanos	X
Aminas alifáticas	X	Tiazóis	X
Aminas aromáticas		Acetais	
Imidas		Nitrilos	X
Pirróis	X	Oximas	
Piridinas	X	Fenóis	X
Quinolinas		Indóis	X
Terpenos	X	Outros	X

Quadro 36 - Classes de compostos genericamente identificados

Refinando o critério de aceitação anterior de identificação genérica, conforme as Tabelas 26 e 27 (Anexo 5), um total de 160 compostos teve identificação provável, agrupando as sete amostras, com o número de picos cromatográficos para cada amostra variando entre 69 e 126 compostos, compatível com a faixa de 84 a 116 encontrada para cafés verdes por MONROY (2005). Um resumo dos resultados por amostra aparece na Tabela 28. O coeficiente de variação das determinações foi sempre inferior a 10%, e, computando-se a porcentagem da área desses compostos em relação à área total de cada amostra, calculada pela adição das áreas cromatográficas individuais, pode-se inferir que entre 53 e 70% da área total está representado pelos compostos que atenderam a esse critério.

Tabela 28 - Resumo sinóptico para as sete amostras analisadas, analiticamente consideradas de identificação provável

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
Número de picos cromatográficos	78	76	69	91	98	100	126
Porcentagem de área cromatográfica acumulada que representam	53,2%	58,6%	55,8%	61,3%	59,5%	57,1%	70,4%
Número total de picos	383	391	429	378	384	396	387
Unidades de área cromatográfica total	7,56*E+09	2,99*E+09	4,69*E+09	6,39*E+09	5,00*E+09	6,98*E+09	8,34*E+09

Numa primeira aproximação para apontar compostos voláteis importantes no aroma do café, arbitrou-se um critério de área cromatográfica superior a 2%, sendo listados os compostos identificados nas sete amostras no Quadro 37. Comparando com a Tabela 4, não houve congruências entre os compostos assim selecionados com aqueles apresentados pela literatura consultada.

COMPOSTO	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
2-furilmetanol	X	X	X	X	X	X	X
Ácido acético	X	X	X	X	X		X
4-etil-guaiacol	X	X	X	X	X		
Maltol	X		X		X		
Butirolactona		X					
2-hidróxi-3-metil, 2-ciclopenten-1-ona		X	X	X	X		X
Guaiacol		X		X			
4-vinil-guaiacol			X	X	X		X
Furfural			X	X		X	X
1-(1H-pirrol-2-il)-etanona			X				
5-metil-2-furanocarboxialdeído				X		X	X
5-hidróximetil-2-furanocarboxialdeído				X			X
Acetato de 2-furanmetanoila					X		
1H-pirrol-2-carboxialdeído							X
Metil-pirazina							X

Quadro 37 - Compostos de identificação provável identificados, para os quais se arbitraram somente valores das áreas cromatográficas superiores a 2%

A determinação qualitativa dos compostos voláteis empregou a biblioteca NIST (NIST, 2002), os índices de retenção lineares apresentados na

Tabela 29, a injeção dos respectivos padrões cromatográficos mencionados no Quadro 32 e a análise dos espectros de massas.

Tabela 29 - Comparativo dos índices de retenção lineares (IRL) encontrados para colunas de idêntica polaridade à coluna INNOWax, com os tempos de retenção respectivos

Composto	Tempo de retenção (min)	Referência
2-metil-pentano	3,71	não confirmatório
Metanotiol	4,05	não confirmatório
Etanal	4,10	5
Propanal	4,72	1
2-metil-propanal	4,97	não confirmatório
Acetona	4,98	7
Acetato de metila	5,15	1
2-metil-furano	5,79	1
Butanal	5,87	5
Acetato de etila	6,12	5
Nonano **	6,23	5
2-butanona	6,32	1
2,3-dihidro-4-metil-furano	6,43	não confirmatório
2-metil-butanal	6,59	5
3-metil-butanal	6,70	5
Etanol **	7,14	5
2,5-dimetil-furano **	7,62	5
1-metil-piperidina	7,92	não confirmatório
2,3-butanodiona*	8,39	5
Decano	8,84	5
5-etil-2,2,3-trimetil-heptano	9,98	não confirmatório
5-metil-octadecano	10,04	não confirmatório
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina	10,14	não confirmatório
Octano	10,36	não confirmatório
3-hexanona **	10,67	5
4-metil-decano	10,73	não confirmatório
2,3-pentanodiona*	11,10	5
Dissulfeto de dimetila	11,50	1
Hexanal	11,90	5
2,4-dimetil-oxazol **	12,37	8
2-metil-butenal **	12,42	9
3-penten-2-ona	14,03	5
Etil-benzeno	14,08	1
2,4-dimetil-3-pentanona	14,46	não confirmatório
p-xileno	14,51	não confirmatório
2,3-dimetil-isoxazol	14,58	não confirmatório
1-metil-1H-pirrol **	15,08	5
4,5-dimetil-oxazol	15,41	5
Piridina*	17,00	5
2-metil-ciclopentanona	17,38	não confirmatório
Trimetil-oxazol **	17,52	5
Dodecano **	17,78	5
Limoneno	17,63	1
Pirazina*	18,41	5
4-metil-piridina **	18,48	5

Tabela 29 - continuação

Composto	Tempo de retenção (min)	Referência
3-hexen-2-ona	18,54	não confirmatório
1-etil-3-metil-benzeno	18,59	1
2-metóxi-metil-furano	19,48	não confirmatório
2,6,10-trimetil-dodecano	19,88	não confirmatório
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona	20,00	não confirmatório
Metil-pirazina	20,25	5
4-metil-tiazol*	20,89	5
3-hidróxi-2-butanona	20,93	5
3-metil-piridina **	21,08	5
2,6,11-trimetil-dodecano	21,33	não confirmatório
1-hidróxi-2-propanona	21,43	5
2,5-dimetil-pirazina*	22,09	5
2,6-dimetil-pirazina*	22,27	5
Etil-pirazina	22,33	5
2,3-dimetil-pirazina*	22,74	5
2-ciclopentan-1-ona	23,00	não confirmatório
2,4,6-trimetil-piridina	23,20	não confirmatório
2-metil-2-ciclopenten-1-ona	23,25	5
4,5-dimetil-tiazol*	23,41	5
3-etil-piridina	23,52	5
2-etil-6-metil-pirazina	23,67	5
2-etil-5-metil-pirazina	23,81	5
Tetradecano **	23,92	5
2,3,5-trimetil-pirazina*	24,13	5
2-etil-3-metil-pirazina*	24,16	5
2n-propil pirazina	24,45	não confirmatório
3-metil-2-buten-1-ol	24,55	não confirmatório
2,6-dietil-pirazina	24,77	5
2-furfuriltiol*	24,85	2
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	25,02	5
Ácido acético*	25,05	5
Metional*	25,36	1
2-metil-6-propil-pirazina	25,45	não confirmatório
1-(acetil-oxi)-2-propanona	25,51	não confirmatório
Furfural*	25,54	1
2-etil-1-hexanol	25,87	5
2,3-dietil-5-metil-pirazina*	26,01	5
1-(furanil)-etanona	26,28	5
2-butil-furano	26,62	não confirmatório
Benzaldeído	26,66	5
Acetato de 2-furanometanoila	26,89	não confirmatório
Linalol*	26,91	2
Ácido propanóico	26,97	1
2,3-butenodiol **	27,50	3
5-metil-2-furanocarboxialdeído	27,56	5
Propanoato de 2-furanometanoila	27,87	não confirmatório
(1-metil-etenil)-pirazina	27,92	5
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo	27,96	não confirmatório

Tabela 29 - continuação

Composto	Tempo de retenção (min)	Referência
1-(2-piridinil)-etanona	28,06	5
(2,2'-metileno-bis)-furano **	28,13	5
1-etil-1H-pirrol-2-carboxialdeído	28,19	não confirmatório
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	28,34	5
1-metil-1H-pirrol-2-carboxialdeído **	28,41	5
Acetil-pirazina	28,46	5
1-(1-metil-1H-pirrol-2-il) etanona **	28,48	5
Butirolactona	28,59	não confirmatório
Isobenzofurano	28,76	não confirmatório
4-metil-benzaldeído	28,82	não confirmatório
2-furilmetanol	28,86	5
Ácido isovalérico*	29,02	2
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano	29,23	5
2-[(2-etil-hexil)-oxi]-etanol	29,55	não confirmatório
4-(5-metil-2-furanil)-2-butanona	29,76	não confirmatório
5-metil-2-furanmetanol	29,86	não confirmatório
n-acetil-4H-piridina	29,96	não confirmatório
3-metil-2(5H)-furanona	30,05	não confirmatório
3,4-dimetil-2,5-furanodiona	30,16	não confirmatório
Ácido 2-butenóico	30,61	não confirmatório
1-(3-tienil)-etanona	30,70	não confirmatório
1-(2-tienil)-etanona	30,80	não confirmatório
Salicilato de metila **	30,84	5
Ácido 3-metil-2-butanóico	30,92	não confirmatório
1-(4-piridinil)-etanona	31,04	não confirmatório
Ácido 4-metil-pentanóico	31,12	não confirmatório
4-amino-3-metil-fenol	31,16	não confirmatório
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	31,42	5
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol	31,50	não confirmatório
Guaiacol*	31,94	2
3-(2-furanil)-2-propenal	31,96	não confirmatório
Álcool benzílico	32,18	3
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	32,32	2
Álcool fenil-etenílico	32,60	5
2-fenil-2-butenal	32,95	não confirmatório
2-tiofenometanol	33,01	não confirmatório
Maltol	33,34	4
1-(1H-pirrol-2-il)-etanona **	33,39	5
Éter difurfurílico **	33,54	5
Fenol **	33,78	5
2-furoil-hidrazida	33,99	não confirmatório
Furaneol*	34,03	5
1H-pirrol-2-carboxialdeído	34,13	5
4-etil-guaiacol*	34,22	5
4-isopropil-2-ciclohexenona	34,37	não confirmatório
2-pirrolidona	34,41	não confirmatório
4-piridina-metanol	35,18	não confirmatório

Tabela 29 - continuação

Composto	Tempo de retenção (min)	Referência
Ácido nonanóico	35,64	5
2-(ciclohex-1-enil)-furano	35,70	não confirmatório
4-vinilguaiaicol	36,17	5
m-tert-butil-fenol	37,25	não confirmatório.
2,4-ditert-butil-fenol	37,28	5
Ácido 4-oxo-pentanóico	37,61	não confirmatório
Cis-isoeugenol*	37,83	5
2,3-diidro-benzofurano	38,31	não confirmatório
6-metil-3-piridinol	38,47	não confirmatório
3-piridinol	38,62	não confirmatório
Carvomentol	38,84	não confirmatório
4-metóxi-2-metil-1-(metiltio)-benzeno	38,93	não confirmatório
Ácido benzóico **	38,98	6
Indol **	39,06	5
5-hidroxi-2-metil-2-furanona	39,43	não confirmatório
5-hidroxi-2-furanocarboxialdeído*	39,53	5
1-butil-2-(8-metilnonil)-ftalato	39,99	não confirmatório
Vanilina* **	40,41	5
1-(4-hidroxi-3-metóxi-fenil)-etanona	41,32	não confirmatório
Cafeína **	42,00	não confirmatório

Fontes: ¹OTT, FAY e CHAINTREAU (1997) com coluna DB-WAX, ²SCHENKER et al. (2002b) com coluna SUPELCOWAX 10, ³NURGEL et al. (2002) com coluna DB-WAX, ⁴AVSAR et al. (2004) com coluna VA-WAX, ⁵MOTTRAM (2004) com coluna DB-WAX, ⁶VERZERA et al. (2004) com coluna Carbowax 20M, ⁷ROUSSEF (2005) com coluna WAX, ⁸BALTES e BOCHMANN (1987) com coluna CW-20M e ⁹SHIRATSUCHI et al. (1993) com coluna DB-WAX.

* Confirmados com padrão externo.

** Compostos não detectados na olfatométrica, conforme Quadro 39, item 4.11.

Complementarmente à identificação dos compostos pela biblioteca NIST e à interpretação dos espectros de massas, na tentativa de confirmar os compostos identificados, foram considerados os índices de retenção lineares dos compostos conforme a Tabela 29, obtidos com CV inferior a 2%, além da injeção de padrões externos confirmatórios mencionados no Quadro 32. Conforme os critérios de identificação estabelecidos no item 3.4.1, 66 compostos tiveram identificação provável, 94 compostos tiveram identificação positiva (70 compostos foram identificados pela aplicação de IRL e 24 compostos pelo uso de padrão externo), totalizando 160 compostos. A aplicação dos índices lineares de retenção constituiu-se em ferramenta auxiliar importante na confirmação de identidade dos compostos,

apresentando ainda consistência de resultados para os 24 compostos para os quais se dispunha de padrão externo.

Ao comparar com o trabalho de SUPELCO (2001) também empregando a técnica de SPME para café torrado e moído, verifica-se que o autor identificou 57 componentes, dentre os quais 2-butanona, 3-metil-butanal, 2-etil-hexanol, dissulfeto de dimetila, fenol, piridina, pirazina, 4-metil-tiazol, 2,5-dimetil-pirazina, 2,6-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina e 2,3,5-trimetilpirazina, também identificados neste trabalho (Tabela 29).

Embora citada por BLANK, SEN e GROSCH (1991) como composto de impacto aromático para café torrado, a 2-isobutil-3-metóxi-pirazina, composto para o qual se dispunha inclusive de padrão externo, não foi detectada pelo método de SPME em nenhuma das amostras avaliadas, provavelmente devido aos íons marcadores utilizados. Através de contato com o fornecedor do conjunto GC-MS, constatou-se que, recentemente, os íons marcadores anteriormente empregados para a detecção da 2-isobutil-3-metóxi-pirazina estão sendo atualizados. Após atualização desses íons, por hipótese, pode ser possível a identificação adequada desse componente em cafés solúveis, caso esteja presente.

Análises conduzidas empregando a coluna HP-5-MS (não mostradas) confirmaram os resultados obtidos na confirmação de compostos pelos respectivos índices lineares de retenção, conferindo maior robustez aos índices empregados na confirmação dos componentes, atendendo recomendação de MAARSE et al. (1994), sem que no entanto houvessem confirmações adicionais para outros compostos.

Dentro das condições analíticas empregadas neste trabalho, dos 94 compostos com identificação positiva, 24 não foram percebidos nas análises olfatométricas, indicando terem pouca relevância sensorial, nas concentrações encontradas para as sete amostras de café solúvel.

Conforme a Tabela 29, vários alcanos, piridinas e outros grupos funcionais formam esse grupo, destacando-se o composto vanilina.

5.10 QUANTIFICAÇÃO DOS VOLÁTEIS SELECIONADOS

Como a técnica de estimativa da área cromatográfica de compostos por comparação entre picos cromatográficos mais próximos ou com aplicação de padrão externo não presente na amostra foi descartada pela constatação de desvios significativos na quantificação, um critério mais confiável foi estabelecido para a determinação quantitativa empregando padrões externos, no caso de 25 padrões externos de grau cromatográfico disponíveis para este trabalho. A aquisição desses 25 compostos foi determinada por consulta prévia à literatura sobre compostos de impacto aromático relevantes ao aroma de café (Quadros 17, 18 e 19, do Anexo 3). Desses, foi possível a quantificação de 24 compostos voláteis selecionados empregando a resposta do detector de massas em unidades de área cromatográfica, que foi traduzida para uma concentração expressa em mg/kg, através da comparação direta com as áreas obtidas por injeções de quantidades conhecidas de cada um dos padrões cromatográficos disponíveis. Essa quantificação é representada nas Tabelas 30 e 31, respectivamente, para a análise do pó e da bebida, esta última como uma tentativa de determinar a percepção sensorial mais próxima ao momento do consumo. Destacam-se nessas Tabelas 30 e 31, respectivamente, os componentes quantificados em concentrações superiores a 100 mg/kg e a 5 mg/kg, demonstrando a perda significativa de voláteis na fase de preparo da bebida para consumo.

Tabela 30 - Concentrações dos compostos voláteis com identificação positiva presentes nos cafés solúveis analisados pela técnica de HS-SPME – determinação no pó (em mg/kg)

Composto	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
2,3-butanodiona	9,6	10,0	8,5	8,8	10,3	12,7	19,6
2,3-pentanodiona	20,0	22,7	15,2	15,7	20,4	30,1	37,3
Piridina	16,3	19,3	14,3	15,7	22,2	30,8	46,9
Pirazina	2,1	2,2	1,9	2,0	3,4	5,6	6,6
4-metil-tiazol	5,0	5,4	4,2	4,2	5,2	6,2	7,3
2,5-dimetil-pirazina	22,8	24,5	18,8	21,3	25,2	33,2	36,8
2,6-dimetil-pirazina	63,9	73,4	50,4	52,2	70,5	79,0	126,1*
2,3-dimetil-pirazina	5,9	6,5	4,9	5,3	7,4	8,5	11,6
4,5-dimetil-tiazol	1,8	2,1	1,7	1,7	2,2	2,5	3,2
2,3,5-trimetil-pirazina	15,6	17,9	13,5	12,6	19,2	27,9	38,5
2-etil-3-metil-pirazina	22,5	27,9	16,9	18,0	19,3	32,3	41,2
2-furfuriltiol	4,5	5,0	3,2	3,3	7,8	20,3	29,9

Tabela 30 - continuação

Composto	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
Ácido acético	332,3*	363,9*	287,5*	442,3*	418,9*	371,2*	431,3*
Metional	3,2	3,7	2,7	2,8	3,7	7,3	12,1
Furfural	93,6	103,6*	75,5	85,3	70,3	437,9*	290,3*
2,3-dietil-5-metil-pirazina	5,3	6,2	4,4	4,2	6,4	8,0	10,6
Linalol	6,2	7,1	5,3	5,3	7,1	8,4	11,0
Ácido isovalérico	21,6	25,6	21,4	23,4	28,4	35,7	52,3
Guaiacol	21,6	29,8	19,3	22,2	31,8	41,3	65,7
Furaneol	33,9	41,4	29,3	26,7	41,1	43,3	71,4
4-etil-guaiacol	8,9	10,4	6,1	6,0	26,8	11,2	15,5
Cis-isoeugenol	3,1	3,8	2,9	3,3	4,7	8,4	16,1
Hidróxi-metil-furfural	40,6	14,6	14,4	123,0*	64,8	101,8*	183,0*
Vanilina	0,2	0,2	0,1	0,2	0,6	0,9	2,1

* Compostos encontrados em concentrações superiores a 100 mg/kg

Tabela 31 - Concentrações dos compostos voláteis com identificação positiva presentes nos cafés solúveis analisados pela técnica de HS-SPME (bebida) – determinação na bebida (em µg/kg)

Composto	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
2,3-butanodiona	37,6	38,6	32,2	170,8	772,7	528,1	931,4
2,3-pentanodiona	74,8	87,5	47,3	187,5	584,8	1112,6	1395,3
Piridina	88,1	108,1	80,8	164,2	539,5	1009,0	1112,7
Pirazina	148,8	149,3	147,8	232,3	204,5	290,2	318,9
4-metil-tiazol	17,1	22,5	16,2	153,2	230,4	253,2	421,5
2,5-dimetil-pirazina	93,9	92,4	68,5	61,9	317,8	823,3	1081,2
2,6-dimetil-pirazina	226,5	275,2	180,3	2036,9	1298,7	2991,1	2073,8
2,3-dimetil-pirazina	23,3	19,2	15,6	262,7	220,9	257,6	176,5
4,5-dimetil-tiazol	12,0	9,6	9,3	31,3	27,0	43,1	32,2
2,3,5-trimetil-pirazina	64,1	70,9	54,5	307,3	319,7	915,6	616,7
2-etil-3-metil-pirazina	82,2	95,1	68,2	738,5	358,5	1217,5	642,9
2-furfuriltiol	12,4	12,7	11,1	68,0	105,9	134,1	188,4
Ácido acético	1184,8	1545,2	1058,4	467,1	430,5	71,9	699,9
Metional	10,3	11,8	8,8	40,1	22,9	50,4	144,3
Furfural	349,4	421,8	307,8	23715,4	3706,7	40813,1*	21906,1*
2,3-dietil-5-metil-pirazina	13,4	24,0	13,2	184,7	498,3	794,4	1195,0
Linalol	38,4	34,3	33,8	31,6	73,0	220,4	337,9
Ácido isovalérico	110,0	128,7	106,3	182,8	148,0	74,7	216,6
Guaiacol	79,1	114,8	71,7	185,2	804,0	1541,6	1381,7
Furaneol	573,6	618,0	556,4	495,3	489,8	482,8	518,0
4-etil-guaiacol	36,0	42,3	20,6	5215,4*	2410,9	1363,8	1596,3
Cis-isoeugenol	10,4	14,8	8,7	245,6	213,2	156,8	246,3
Hidróxi-metil-furfural	469,4	168,4	600,5	903,6	412,1	347,2	498,5
Vanilina	20,6	20,6	20,4	20,9	48,9	48,2	61,5

* Compostos encontrados em concentrações superiores a 5 mg/kg

Percebe-se, em todos os casos que, na bebida, as concentrações se apresentam em geral mais baixas que no pó, fato que pode ser atribuído ao desprendimento natural dos componentes voláteis da solução no momento do preparo da bebida pela adição de água quente, o que representaria essa perda.

Na comparação com a Tabela 4, observa-se concordância entre os componentes metanotiol, etanal e propanal, que, neste trabalho, tiveram identificação provável. Somente a 2,3-butanodiona, com identificação positiva, apresentou concentração ao redor de cinquenta vezes maior que aquela da literatura (CLARKE e MACRAE, 1985a).

O Quadro 38 apresenta um cotejamento entre as concentrações encontradas para os compostos com identificação positiva e aquelas disponíveis na literatura consultada para café. Tanto quanto se saiba, não há material disponível especificamente para cafés solúveis.

COMPOSTO	Concentração encontrada neste trabalho (mg/kg)	Concentrações encontradas na literatura (mg/kg)	FONTES
2,3-butanodiona	8,5 a 19,6	50 – robusta Indonésia 50 –torrado Colômbia 58,7 - arábica Quênia 1,78 - torrado Colômbia	GROSCH, 1996 GROSCH et al., 1996 HO et al., 1994
2,3-pentanodiona	15,2 a 37,3	40 – arabica 50 – robusta	GROSCH et al., 1996
Piridina	14,3 a 46,9	49 – torrado	STOFBERG e STOFFELSMA, 1981
Pirazina	1,9 a 6,6	2,82 - torrado e moído	HO et al., 1994
4-metil-tiazol	4,2 a 7,3	0,5 a 1 – arábica 0,8 a 1,5 – robusta	TRESSL, 1989
2,5-dimetil-pirazina	18,8 a 36,8	25 a 35 – torrado 17 – torrado	SILWAR et al., 1987 STOFBERG e STOFFELSMA, 1981
2,6-dimetil-pirazina	50,4 a 126,1	30 a 35 – torrado 19 – torrado	SILWAR et al., 1987 STOFBERG e STOFFELSMA, 1981
2,3-dimetil-pirazina	4,9 a 11,6	2,48 – torrado 5,3 – torrado	HO et al., 1994 SILWAR et al., 1987
4,5-dimetil-tiazol	1,7 a 3,2	Nd.	----
2,3,5-trimetil-pirazina	12,6 a 38,5	5,0 - torrado	HASHIM e CHAVERON, 1996
2-etil-3-metil-pirazina	16,9 a 41,2	1,14 – torrado e moído	HO et al., 1994
2-furfuriltiol	3,2 a 29,9	1,1 – arábica 1,7 – robusta	SEMMELROCH et al., 1995
Ácido acético	287,5 a 442,3	Traços – arábica verde	VAN DER STEGEN e VAN DUIJN, 1988

Quadro 38 - Faixa de concentrações encontradas para as amostras 1 a 7 de café solúvel em pó, comparadas com a literatura

COMPOSTO	Concentração encontrada neste trabalho (mg/kg)	Concentrações encontradas na literatura (mg/kg)	FONTES
Metional	2,7 a 12,1	0,24 – arábica Colômbia 0,095 – robusta Indonésia 0,213 - torrado	SEMMELOCH et al., 1995 CZERNY e GROSCH, 2000
Furfural	70,3 a 437,9	22,5 – torrado	HO et al., 1994
2,3-dietil-5-metil-pirazina	4,2 a 10,6	0,061 a 0,095 – arábica torrado 0,31 – robusta torrado	GROSCH, 1998
Linalol	5,3 a 11,0	0,73 – torrado Colômbia 0,0175 – verde	HO et al., 1994 HOLSCHER e STEINHART, 1995
Ácido isovalérico	21,4 a 52,3	13 – verde e 21 – torrado 16 a 41 – arábica torrado	WÖHRMANN, HOJABR-KALALI e MAIER, 1997 SCHRÖDER et al., 1997
Guaiacol	19,3 a 65,7	4,2 – arábica 28,2 – robusta 4,04 - torrado	SEMMELOCH et al., 1995 CZERNY e GROSCH, 2000
Furaneol	26,7 a 71,4	109 – arábica 57 – robusta	SEMMELOCH et al., 1995
4-etil-guaiacol	6,0 a 26,8	21 – arábica verde 4,06 – arábica torrado	CZERNY e GROSCH, 2000
Cis-iso Eugenol	2,9 a 16,1	0,12 – Colômbia torrado	HO et al., 1994
Hidróxi-metil-furfural	14,4 a 183,0	Nd.	----
Vanilina	0,1 a 2,1	4,8 – arábica Colômbia 16,1 – robusta Indonésia	SEMMELOCH et al., 1995

Nd. Não disponível

Quadro 38 - continuação

Embora coincidentes em alguns casos com cafés verdes e torrados, os compostos encontrados para os cafés solúveis não podem ter suas faixas de concentrações comparadas de maneira objetiva com as referências encontradas e mencionadas no Quadro 38. Em geral, todos os componentes quantificados estão presentes também em cafés verdes e torrados. Destaca-se o 4,5-dimetil-tiazol, identificado com a técnica empregada e desconhecido no âmbito da literatura consultada.

5.11 COMPOSTOS IDENTIFICADOS - OLFATOMETRIA

Nas análises de olfatosmetria, acima dos 38 minutos da separação na coluna cromatográfica, e conseqüentemente de percepção no olfatosmetro, encontrou-se uma região bastante rica em compostos, havendo percepção de forma generalizada de aromas intensos descritos como de banana, caramelo, parafina e tempero, supostamente sobreposição ou degradação de compostos, sem que, no

entanto, fosse possível descrição sensorial objetiva dos mesmos. Tais resultados, que, conforme a Tabela 29 representam 13 compostos com identificação provável e tempos de retenção acima dos 38 minutos nas condições cromatográficas estabelecidas, foram desconsiderados nas análises olfatométricas.

A técnica do Perfil Livre permite que cada julgador empregue seus próprios descritores sensoriais com liberdade, desde que ao mesmo estímulo prevaleça a descrição estabelecida. Um total de 150 descritores distintos foi empregado pelo grupo de julgadores para descrever as sete amostras de cafés solúveis deste trabalho, reduzido numa primeira aproximação àquela descrita na Tabela 32.

Tabela 32 - Número total de descritores sensoriais empregados por julgador e para o consenso entre todos os descritores empregados.

AMOSTRA	Provador A	Provador B	Provador C	Provador D	Provador E	Consenso dos provadores
1	20	20	12	20	12	55
2	16	18	17	23	17	62
3	11	16	17	16	21	54
4	12	23	16	35	17	72
5	22	27	12	23	25	74
6	20	24	18	28	28	88
7	20	27	25	35	23	87

A Tabela 33 apresenta o total de componentes aromáticos percebidos pelos julgadores em cada amostra, durante os testes olfatométricos.

Tabela 33 - Número de componentes voláteis detectados pelos julgadores

AMOSTRA	Julgador A	Julgador B	Julgador C	Julgador D	Julgador E
1	27	24	20	43	37
2	25	22	19	50	32
3	23	25	14	31	29
4	20	37	18	52	33
5	30	33	18	31	43
6	31	30	20	35	46
7	24	33	23	55	39

Foram detectados, pelos julgadores, 132 compostos com impacto aromático, dos quais 44 tiveram identificação genérica. A combinação das

Amostras

COMPONENTE	Descritores	1	2	3	4	5	6	7
Metanotiol **	pútrido, repolho	X			X	X	X	X
Etanal	desagradável, peixe	X		X	X	X	X	X
Propanal	borracha queimada						X	
Acetona	remédio						X	X
Acetato de metila	queimado, floral		X			X	X	
2-metil-furano	desagradável, cloro						X	
Butanal	desagradável					X		
Acetato de etila	fruta				X			
2-butanona	álcool, azedo, remédio	X					X	X
2,3-diidro-4-metil-furano **	borracha queimada		X	X	X	X		
2-metil-butanal	desagradável						X	
3-metil-butanal	frutal, doce, banana				X		X	X
1-metil-piperidina **	amêndoas	X						
2,3-butanodiona *	baunilha, azedo, batata doce, polvilho, caramelo	X	X	X	X	X	X	X
Decano	desagradável					X		
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina **	feijão cozido, caldo de carne, <u>bouillon</u>	X						X
2,3-pentanodiona *	avelã, polvilho, doce, amêndoas, baunilha	X	X	X	X	X	X	X
Dissulfeto de dimetila	desagradável					X		X
Hexanal	floral, mato, perfume, folhas verdes		X		X	X	X	X
3-penten-2-ona	cânfora, ervas, folhas verdes, queimado, brócolis	X			X	X	X	
Etil-benzeno	látex, borracha, remédio	X	X					
2,4-dimetil-3-pentanona **	frutal						X	
2,3-dimetil-isoxazol **	plástico queimado						X	X
4,5-dimetil-oxazol	terra					X		
Piridina *	ervilha seca, doce, queimado	X	X	X	X	X	X	X
Limoneno	cânfora						X	
Pirazina *	solvente, borracha, aveia, terra molhada, éter, mofo	X	X	X	X	X	X	X
3-hexen-2-ona **	floral					X		
1-etil-3-metil-benzeno	café torrado					X		
2-metóxi-metil-furano **	frutal, solvente, éter, folhas verdes, terra				X	X	X	X
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona **	Batata						X	X
Metil-pirazina	terra, café torrado, amendoim, cogumelo, mofo, mato	X		X	X	X		
4-metil-tiazol *	queimado, folha, acetona, mofo, solvente, amendoim, carne cozida	X	X	X	X	X	X	X
3-hidróxi-2-butanona	frutal, doce	X			X			
2,6,11-trimetil-dodecano **	solvente							X
1-hidróxi-2-propanona	cogumelo, mamão, cítrico, defumado				X		X	X
2,5-dimetil-pirazina *	avelã, milho, café torrado, amêndoas, pipoca, salgadinho de milho, doce, frutal, cítrico, bolor, mofo	X	X	X	X	X	X	X
2,6-dimetil-pirazina *	cozido, avelã, pipoca, salgadinho de milho, doce, alcoólico, batata, éter, terra	X	X	X	X	X	X	X
Etil-pirazina	defumado, mofo, cogumelo, cebola, doce, frutal, maracujá						X	X
2,3-dimetil-pirazina *	pipoca, salgadinho de milho, mofo, álcool, mamão, nozes, frutal, borracha	X	X	X	X	X	X	X
2-metil-2-ciclopenten-1-ona	doce, defumado							X
4,5-dimetil-tiazol *	pipoca, salgadinho de milho, borracha, caramelo, plástico				X	X	X	X
3-etil-piridina	pipoca, ervilha, borracha	X						X
2-etil-6-metil-pirazina	pipoca, salgadinho de milho, defumado, café torrado, carne cozida, avelã	X	X	X	X	X	X	X

Amostras

Quadro 39 - Componentes com identificação provável e positiva, com os respectivos descritores sensoriais empregados para as sete amostras analisadas

COMPONENTE	Descritores	1	2	3	4	5	6	7
2-etil-5-metil-pirazina	doce, amêndoas, salgadinho de milho, pipoca, avelã	X	X	X	X	X	X	X
2,3,5-trimetil-pirazina *	batata, feijão, pipoca	X	X	X	X	X	X	X
2-etil-3-metil-pirazina *	salgadinho de milho, doce, álcool, maracujá, mamão, vinagre			X			X	X
2n-propil-pirazina **	mamão, folhas verdes, acetona, mato, grama				X	X	X	X
3-metil-2-buten-1-ol **	pipoca, terra, doce, folhas verdes, carne assada	X	X					
2,6-dietil-pirazina	álcool, alho, borracha, cola, doce, pipoca	X			X	X	X	X
2-furfuriltiol *	álcool, solvente, cola, vinagre, doce	X	X	X	X	X	X	X
2,5-dimetil-3-etil-pirazina *	pipoca, amendoim, café torrado, avelã, doce, folhas verdes, baunilha	X	X	X	X	X	X	X
Ácido acético *	vinagre, silicone, azedo	X	X	X	X	X	X	X
Metional *	batata, batata cozida	X	X	X	X	X	X	X
Furfural *	mato	X	X	X	X	X	X	X
2-etil-1-hexanol	bolor, mofo	X						
2,3-dietil-5-metil-pirazina *	batata, batata cozida, batata frita, mofo	X	X	X	X	X	X	X
1-(furanil)-etanona	cebola frita, pipoca							X
Benzaldeído	borracha, cebola, maracujá, flor					X	X	
Acetato de 2-furanometanoila **	jasmim						X	
Linalol *	maracujá, folhas verdes, grama, mato, figo verde	X	X	X	X	X	X	X
Ácido propanóico	café verde, grama		X	X				
5-metil-2-furanocarboxialdeído	queimado, defumado, cozido	X	X	X	X	X	X	X
Propanoato de 2-furanometanoila **	frutal, mato							X
(1-metil-etil)-pirazina	avelã					X		X
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo **	salgadinho de milho, defumado				X			
1-(2-piridinil)-etanona	tempero	X	X	X	X	X	X	X
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	pipoca, salgadinho de milho, queimado	X	X	X	X			
Acetil-pirazina	salgadinho de milho							X
Butirolactona **	salgadinho de milho, defumado		X				X	
2-furilmctanol	avelã, amêndoas							X
Ácido isovalérico *	farelo de milho	X	X	X	X	X	X	X
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano	defumado							X
3,4-dimetil-2,5-furanodiona **	polvilho azedo, vinhoto, queijo parmesão, defumado	X						
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	enjoativo, deteriorado	X						X
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol **	fumaça						X	X
Guaiacol *	salgadinho de milho, defumado, medicinal, cânfora, tempero apimentado	X	X	X	X	X	X	X
Álcool benzílico	banana, doce	X						
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	fumaça, defumado, enjoativo, tempero	X	X	X	X			
Álcool fenil-etênico	salgadinho de milho, defumado, pipoca	X				X	X	
Maltol	baunilha	X						
Furaneol*	álcool, doce, caramelo, panetone	X	X	X	X	X	X	X
4-etil-guaiacol *	defumado, salgadinho de milho, queijo, fumaça, tempero apimentado	X	X	X	X	X	X	X
2-pirrolidona **	caramelo, fruta			X				
Ácido nonanóico	salgadinho de milho, pimenta, fumaça		X	X	X		X	
4-vinil-guaiacol	defumado, fumaça, queimado, cravo		X	X	X	X	X	X
2,4-ditert-butil-fenol	álcool			X				
Cis-iso Eugenol *	fumaça, salgadinho de milho	X	X	X	X	X	X	X
	Total de compostos por amostra →	45	36	36	44	47	54	54

** Compostos com identificação provável. (Referência coluna INNOWax 60m, vazão 1,3 ml/min).
 Fontes: BLANK, SEN e GROSCH (1991), BÜCKING (1999), SCHENKER et al. (2002a), AKYIAMA (2003), ACREE e ARN (2004), BUFFO e CARDELLI-FREIRE (2004) e MOTTRAM (2004).

Quadro 39 - continuação

Consolidando todos os julgadores, foram percebidos de 36 a 54 compostos com impacto aromático, respectivamente para a amostra 2 e amostras 6 e 7, totalizando 88 compostos diferentes para todas as amostras analisadas, dos quais, analiticamente, 69 tiveram identificação positiva.

O consenso para os termos utilizados na descrição sensorial entre os julgadores para todas as sete amostras resultou em 71 descritores, não apresentados.

Após discussão com os julgadores sobre as similaridades existentes, chegou-se ao Quadro 40, que apresenta os descritores empregados na resposta sensorial de cada composto para cada uma das amostras de café solúvel, agrupados em doze classes, intituladas de grupos olfatométricos.

Esses doze grupos foram sugeridos através do cotejamento com referências encontradas na literatura consultada, que totaliza até 20 classes (Quadro 15) das quais 5 coincidiram com grupos aqui sugeridos, e, ainda, na experiência profissional com café solúvel.

Os grupos olfatométricos sugeridos abrangem diversos grupos funcionais, já que, subjetivamente, o critério adotado foi o da semelhança da resposta sensorial. Ainda, uma indicação da qualidade para a bebida (positiva ou negativa) foi adicionada, conforme apontada pela experiência em café.

Importante observar que as quatro dimensões da qualidade do café (Quadro 41) devem ser consideradas e observadas.

	Grupo olfatométrico	Qualidade para a bebida	Descritores sensoriais utilizados	Componentes	Número de componentes
I	Doce, caramelo	Positiva	Caramelo, doce, baunilha, bolacha, mel, agradável, manteiga, amanteigado	2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 3-hidróxi-2-butanona, 2-furfuriltiol, 3-metil-2-buten-1-ol, 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, álcool benzílico, maltol, furaneol, 2-pirrolidona	10
II	Floral	Positiva	Floral, jasmim	Acetato de metila, 3-hexen-2-ona, benzaldeído, acetato de 2-furanometanoila	4
III	Frutal	Positiva	Frutal, frutas cristalizadas, mamão, maracujá, banana, caroço de pêssego, pêssego em calda, pêssego, casca de figo verde, figo, cítrico	Acetato de etila, 3-metil-butanal, 2,4-dimetil-3-pentanona, limoneno, 1-hidróxi-2-propanona, 2,5-dimetil-pirazina, etil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, 2-etil-3-metil-pirazina, propanoato de 2-furanometanoila	10
IV	Nozes	Positiva	Amêndoas, avelã, nozes, castanha	1-metil-piperidina, 2,5-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, 5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina, butirrolactona	6

Quadro 40 - Grupos olfatométricos propostos

	Grupo olfatométrico	Qualidade para a bebida	Descritores sensoriais utilizados	Componentes	Número de componentes
V	Queimado, torrado, cereal	Positiva	Assado, carne assada, amendoim cru e torrado, borracha, borracha queimada, pipoca queimada, farelo de milho, salgadinho de milho, milho cozido, milho queimado, pão amanhado, pipoca, madeira queimada, café torrado, café torrado e moído, torrado, queimado, óleo de soja, torresmo, sebo, batata frita, tomate desidratado	Propanal, 2,3-diidro-4-metil-furano, etil-benzeno, 2,3-dimetil-isoxazol, piridina, 1-etil-3-metil-benzeno, metil-pirazina, 4-metil-tiazol, 2,5-dimetil-pirazina, 2,6-dimetil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, 4,5-dimetil-tiazol, 3-etil-piridina, 2-etil-6-metil-pirazina, 2-etil-5-metil-pirazina, 2-etil-3-metil-pirazina, 2,6-dietil-pirazina, 2-furfuriltiol, 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, 1-(furanil)-etanona, benzaldeído, 5-metil-2-furanocarboxialdeído, 1-(2-piridinil)-etanona, acetil-pirazina, 2-furilmetanol, 3,4-dimetil-2,5-furanodiona, guaiacol, álcool fenil-etenílico, 4-etil-guaiacol, ácido nonanóico, 4-vinil-guaiacol	31
VI	Defumado, fenólico	Negativa	Bacon, defumado, fenólico, fumaça, fumo, madeira	1-hidróxi-2-propanona, 2-metil-2-ciclopenten-1-ona, 2-etil-6-metil-pirazina, (1-metil-etenil)-pirazina, 2-furilmetanol, 2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona, 2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona, 1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol, guaiacol, álcool fenil-etenílico, 4-etil-guaiacol, ácido nonanóico, 4-vinil-guaiacol, cis-iso Eugenol	14
VII	Fermentado, azedo	Negativa	Leite azedo, fermentado, vinhoto, azedo, polvilho, polvilho azedo, queijo, queijo parmesão, suor, animal, jaula, pelo molhado	2-butanona, ácido isovalérico, 2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano	3
VIII	Mofado, terra	Negativa	Bolor, embolorado, mofado, enjoativo, juta, sacaria de café, esteira de praia, café verde, palha, cogumelo, madeira molhada, poeira, terra	4,5-dimetil-oxazol, pirazina, metil-pirazina, 4-metil-tiazol, 2,5-dimetil-pirazina, etil-pirazina, 2,3-dimetil-pirazina, 2,6-dietil-pirazina, 2-etil-1-hexanol, 2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	10
IX	Pungente, pútrido	Negativa	Acre, pungente, apodrecido, peixe, desagradável, deteriorado, feijão estragado	Metanotiol, etanal, butanal, 2-metil-butanal, decano, dissulfeto de dimetila	6
X	Químico, etérico, solvente	Negativa	Cânfora, vinagre, cola, cloro, plástico aquecido, perfume, menta, éter, cloro solvente, acetona, álcool, medicinal, remédio, água sanitária, medicinal	Acetona, 2-metil-furano, 2-butanona, pirazina, 2-metóxi-metil-furano, 2,6,11-trimetil-dodecano, 2,6-dimetil-pirazina, 2-etil-5-metil-pirazina, 2-etil-3-metil-pirazina, 2-furfuriltiol, 3-metil-2-buten-1-ol, ácido acético, guaiacol, 2,4-terc-butyl-fenol	14

Quadro 40 - continuação

	Grupo olfatométrico	Qualidade para a bebida	Descritores sensoriais utilizados	Componentes	Número de componentes
XI	Tempero, cozido, sulfuroso	Negativa	Alho, cebola, cebola refogada, caldo de carne, carne cozida, cozido, batata, batata cozida, batata doce, brócolis, repolho, peixe, peixe salgado, condimento, pimenta	1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina, 1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona, 4-metil-tiazol, 2,6-dimetil-pirazina, 2,3,5-trimetil-pirazina, metional, 2,3-dietil-5-metil-pirazina, 1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo	8
XII	Vegetal, herbáceo	Negativa	folhas, mato, grama, capim, ervas, chá	Hexanal, 3-penten-2-ona, 2-metóxi-metil-furano, 2n-propil-pirazina, 2,6-dietil-pirazina, 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, furfural, linalol, ácido propanóico	9

Quadro 40 - continuação

Comparando os grupos olfatométricos propostos com os diversos espaços sensoriais consultados, que utilizam entre 8 e 17 descritores ou classes, conforme apresentado no Quadro 14, a concordância variou entre 22% e 62%. Especificamente para café, no mesmo Quadro 14, a concordância é aumentada, ficando entre 50% e 66%, respectivamente para café verde e café solúvel.

Baseado nas respostas sensoriais, o grupo mais similar ao café torrado foi o V (Queimado, torrado, cereal) e, particularmente, os compostos 1-etil-3-metil-benzeno, metil-pirazina (SEMELROCH e GROSCH, 1996; SCHENKER et al., 2002a; ACREE e ARN, 2004) e 2,5-dimetil-3-etil-pirazina. Ainda, o grupo com característica mais desagradável foi o IX (Pungente, pútrido), destacando-se metanotiol (BÜCKING, 1999; MOREIRA, TRUGO e DE MARIA, 2000; ACREE e ARN, 2004) e etanal (BÜCKING, 1999; HAESSELBARTH e ULLRICH, 2002; MOTTRAM, 2004).

Por hipótese, cafés solúveis que contenham maiores teores de componentes pertencentes aos grupos olfatométricos indicados como desejáveis ou positivos para a bebida (I – Doce e caramelo, II - Floral, III - Frutal, IV - Nozes, V – Queimado, torrado e cereal) e menores teores de componentes dos grupos olfatométricos indicados como negativos ou prejudiciais à bebida (VI – Defumado e fenólico, VII – Fermentado e azedo, VIII – Mofado e terra, IX – Pungente e pútrido, X – Químico, etérico e solvente, XI – Tempero, cozido e sulfuroso, XII – Vegetal e herbáceo) apresentariam qualidade superior.

O Quadro 41 do Anexo 6, apresenta, para cada amostra de café solúvel testada, a distribuição de componentes identificados olfatométricamente dentro dos diversos grupos. Uma análise inicial, parece indicar que, para as amostras classificadas como de melhor qualidade, existe maior presença de compostos dos grupos III - Frutal – característica positiva, mas também dos grupos VI - Defumado e fenólico e X – Químico, etérico e solvente.

Considerando que, o processamento para obtenção do café solúvel promove drásticas transformações físico-químicas na matriz natural do grão verde e que durante esse processo, formam-se inúmeros compostos voláteis que contribuirão na tipificação da bebida café, pode-se supor que é o somatório de diferentes atributos específicos de determinados compostos voláteis, que compõem o aroma típico do café. Conforme BUFFO e CARDELLI-FREIRE (2004) e MONROY (2005), furanos, pirróis, pirazinas, piridinas e fenóis, entre outros, são grupos relevantes para a composição do aroma do café verde e torrado, que, ao serem avaliados separadamente, nem sempre corresponderão ao aroma agradável observado no produto.

Pelo menos quatro fatores parecem influenciar a percepção final do aroma, conforme o Quadro 42.

Dimensão	Descritivo
1	a presença do componente no produto;
2	a concentração com que cada componente está presente;
3	o efeito da resposta sensorial para cada componente, variável em função da própria concentração;
4	a interação dos vários componentes na constituição do “bouquet” do café.

Quadro 42 - Dimensões da qualidade do aroma em cafés solúveis

Destaque-se que essas dimensões da qualidade acima descritas devem ser consideradas e observadas conjuntamente. Como uma orquestra ao executar uma sinfonia, a percepção dos aromas depende de inúmeros fatores, como as diferentes espécies químicas presentes e a concentração em que tais componentes se apresentam em cada caso (equivalente à disposição qualitativa e quantitativa dos instrumentos na orquestra), o efeito da concentração de cada componente na resposta sensorial (a partitura específica para cada grupo de

instrumentos) e a interação entre os componentes e seu efeito na percepção sensorial (a execução de cada grupo de instrumentos conforme guiada pelo maestro).

O Quadro 43 apresenta algumas das similaridades na composição dos compostos de alto impacto aromático, observadas para as amostras de café solúvel. Com exceção da amostra 2, todas as amostras apresentaram compostos exclusivamente detectados sensorialmente, os quais podem constituir fonte importante para identificação das mesmas.

Amostra onde foi detectado	COMPONENTE
1,2,3,4,5,6,7	2,3-butanodiona 2,3-pentanodiona piridina pirazina 4-metil-tiazol 2,5-dimetil-pirazina 2,6-dimetil-pirazina 2,3-dimetil-pirazina 2-etil-6-metil-pirazina 2-etil-5-metil-pirazina 2,3,5-trimetil-pirazina 2-furfuriltiol 2,5-dimetil-3-etil-pirazina Ácido acético Metional 2,3-dietil-pirazina Linalol 5-metil-2-furanocarboxialdeído 1-(2-piridinil)-etanona Ácido isovalérico Guaiacol Furaneol 4-etil-guaiacol cis-isoeugenol
1	1-metil-piperidina Metional 2-etil-1-hexanol 3,4-dimetil-2,5-furanodiona Álcool benzílico Maltol
2	---
3	2-pirrolidona 2,4-ditert-butil-fenol
4	Acetato de etila 1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo
5	Butanal Decano 4,5-dimetil-oxazol 3-hexen-2-ona
6	Propanal 2-metil-furano 2-metil-butanal 2,4-dimetil-3-pentanona Limoneno Furfural Acetato de 2-furanometanoila
7	2,6,11-trimetil-dodecano 2-metil-2-ciclopenten-1-ona 1-(furanil)-etanona Propanoato de 2-furanometanoila Acetil-pirazina 2-furilmetanol 2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano
6,7	Acetona 2,3-dimetil-isoxazol 1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona Etil-pirazina 1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol
1,2	Etil-benzeno 3-metil-2-buten-1-ol
4,5,6,7	4,5-dimetil-tiazol 2-metóxi-metil-furano 2n-propil-pirazina
4,6,7	3-metil-butanal 1-hidróxi-2-propanona
5,6,7	Pirazina 2-furfuriltiol

Quadro 43 - Similaridades de composição dos compostos de alto impacto aromático, observadas para as amostras de café solúvel

Abordando, inicialmente, a composição da matéria-prima utilizada, e tratando das amostras experimentais, percebe-se que a amostra 1, produzida a partir de café arábica, apresentou os componentes 1-metil-piperidina, metional, 2-etil-1-hexanol, 3,4-dimetil-2,5-furanodiona, álcool benzílico e maltol. Ainda, nessa mesma amostra e na amostra 2, ambas produzidas a partir de café arábica, encontraram-se etil-benzeno e 3-metil-2-buten-1-ol. Já a amostra 3, produzida a

partir de café conilon, apresentou os componentes 2-pirrolidona e 2,4-ditert-butil-fenol.

Quanto às amostras comerciais brasileiras, a amostra 4, cuja matéria-prima foi composta por cafés arábica e conilon, apresentou associação aos componentes acetato de etila e 1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo, enquanto butanal, decano, 4,5-dimetil-oxazol e 3-hexen-2-ona foram característicos da amostra 5, padrão comercial brasileiro.

No caso das amostras internacionais (amostras 6 e 7), além dos diversos compostos individualmente detectados, as mesmas se caracterizaram por apresentar acetona, 2,3-dimetil-isoxazol, 1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona, etil-pirazina e 1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol.

O conjunto 4,5-dimetil-tiazol, 2-metóxi-metil-furano e 2n-propil-pirazina caracterizou as amostras comerciais, amostras de 4 a 7. Por hipótese, esses compostos poderiam ser indicativos de condições diferenciais de processamento da escala piloto para a industrial, no entanto, por suposição, comuns a fábricas e países diferentes.

Comparando as amostras industriais internacionais (amostras 6 e 7) com as comercializadas nacionalmente, encontramos compostos comuns como 3-metil-butanal e 1-hidróxi-2-propanona, além de pirazina e 2-furfuriltiol, respectivamente comparando com a amostra 4 e 5. Tal fato pode ser explicado por condições características de processamento em comum ou mesmo o emprego de cafés brasileiros nas misturas empregadas para a fabricação de cafés solúveis no exterior.

Outros 44 compostos também apresentaram impacto aromático nas diversas amostras, contudo analiticamente tiveram identificação genérica, listados apenas pelos respectivos tempos de retenção no Quadro 44.

AMOSTRAS

Faixa de tempos de retenção (minutos)	Descritores sensoriais consolidados entre os provadores	1	2	3	4	5	6	7
5,83 a 6,24	borracha queimada, frutal	X	X					
6,04 a 7,15	peixe cru	X	X					
6,50 a 6,78	azedo	X						
6,98 a 8,81	azedo, fenol, queimado	X	X					
8,25	banana verde	X						
8,00 a 9,20	farelo de milho, doce, sardinha, azedo	X				X		
9,53 a 9,84	floral		X					
10,28	amêndoas	X						
11,6 a 11,65	azedo	X	X					
12,33	torrado	X						
13,12 a 13,55	folhas verdes, doce, fumaça	X	X	X				
14,29 a 15,16	ruim, pão torrado, coco		X	X				
15,15 a 16,50	folhas verdes, látex, borracha, torrado			X	X	X	X	X
16,58 a 16,87	álcool				X			
17,70	amendoim					X		
18,48 a 19,76	mato verde, legumes cozidos, mofo, acetona, café torrado, maracujá		X			X	X	
19,25 a 20,25	doce, borracha, azedo, farelo de milho		X				X	X
20,00 a 20,56	álcool, alho, acetona, amendoim, torrado, defumado	X				X	X	X
21,04 a 21,70	mofo, solvente, mamão, éter, fermentado	X	X	X		X	X	
21,76 a 22,49	sabonete, floral, grama, frutal, vinagre	X			X	X		
22,00 a 23,04	mofo, café torrado, acetona, álcool, éter, alho, pipoca, amendoim enjoativo	X	X	X	X		X	X
22,66 a 23,57	plástico, acetona, álcool, éter, frutal, menta, salgadinho de milho, terra, mofo	X	X					X
23,72 a 23,88	grama, solvente				X			
24,14 a 25,18	acetona, solvente, agradável, batata, folhas verdes, vinagre, mamão, maracujá, goiaba, pimentão, doce	X	X	X	X	X	X	X
25,18 a 25,40	mofo, cola PVA, milho, batata, borracha, mofo, folhas verdes, álcool, alho	X	X		X	X	X	X
25,69 a 26,96	pipoca, sardinha, azedo, mofo, animal, enjoativo, borracha, grama, doce, álcool	X	X	X	X	X	X	X
27,00 a 27,81	arroz, animal, amendoim, batata frita, pipoca, alho, suor				X	X	X	X
27,20 a 28,97	cozido, assado, mofo, batata, suor, torrado	X	X	X	X	X	X	
28,30 a 28,74	fruta, batata	X					X	
28,26 a 29,10	mofo, pipoca, doce, plástico	X	X		X			
29,08 a 29,28	cozido, floral, mofo, enjoativo, deteriorado, óleo de soja, grama, borracha	X		X	X	X	X	X
29,48 a 29,98	plástico, salgadinho de milho, amêndoas, batata frita, látex, avelã	X	X				X	X
30,07 a 30,80	salgadinho de milho, azedo	X	X		X	X		X
30,43 a 30,85	salgadinho de milho, pêssego em calda	X	X					
30,99 a 31,83	pêssego em calda, fenólico, enjoativo, caroço de pêssego, doce		X					
31,00 a 32,13	óleo de soja, salgadinho de milho, fumaça, defumado, doce, enjoativo	X	X	X	X	X	X	X
31,98 a 32,88	azedo, carne cozida, fumaça, defumado, batata, floral, mofo	X	X	X	X	X		
33,23 a 33,95	café, sopa desidratada, plástico, chá, borracha, fumaça, peixe, milho	X	X		X		X	
34,10 a 35,14	borracha, frutal, defumado, fumaça, chá, mofo, batata, queimado	X	X	X	X			X
35,07 a 35,65	salgadinho de milho, fumaça, defumado, tempero, chá		X	X	X	X		X

Quadro 44 - Compostos com impacto aromático identificados genericamente nas amostras de cafés solúveis estudadas

AMOSTRAS

Faixa de tempos de retenção (minutos)	Descritores sensoriais consolidados entre os provadores	1	2	3	4	5	6	7
36,00 a 37,00	fumaça, defumado, mofo	X		X	X			
36,75 a 37,79	mofo, fumaça, defumado, chá, cânfora	X	X				X	
37,71 a 37,89	terra molhada	X						
38,10 a 38,54	fumaça, defumado		X		X			
	Total de compostos por amostra →	32	28	14	20	17	17	15

Quadro 44 – continuação

Todos esses compostos apresentaram impacto aromático, com respostas sensoriais relevantes e podem ser objeto de estudos na elucidação da sua identificação química, contribuindo na elucidação do aroma do café solúvel. Os resultados obtidos são inéditos para café solúvel, tanto quanto se sabe. Portanto, pelo somatório do número de compostos com impacto aromático apresentados no Quadro 39 (com identificação positiva) e Quadro 44 (com identificação genérica), chega-se à Tabela 34, que resume o número total de compostos de impacto aromático para as sete amostras de café solúvel, que variou de 50 compostos para a amostra 3 até 77 compostos na amostra 1.

Tabela 34 - Total de compostos com impacto aromático para as sete amostras estudadas de cafés solúveis

Amostra onde houve detecção →	1	2	3	4	5	6	7
Compostos com identificação positiva →	45	36	36	44	47	54	54
Compostos com identificação genérica →	32	28	14	20	17	17	15
TOTAL	77	64	50	64	64	71	69

Na revisão das referências bibliográficas para alimentos e bebidas mostradas no Quadro 45, a quantidade de compostos de impacto aromático variou entre 24 a 91, e especificamente para café, entre 15 e 40, equivalentemente aos 69 compostos de impacto aromático que tiveram identificação positiva, considerando todas as amostras analisadas neste trabalho. Pode-se afirmar que os resultados deste trabalho estão congruentes com aqueles apresentados pela literatura consultada nesse particular.

Referência bibliográfica	Alimento	Componentes de alto impacto aromático	Fatores de diluição
SCHNERMANN e SCHIEBERLE, 1997	Chocolate	51 no total, com 44 identificados 3-metilbutanal 2-etil-3,5-dimetil-pirazina Ácido 2-metil-butanóico	1024 nd
HINTERHOLZER e SCHIEBERLE, 1998	Suco de laranja	42 Butanoato de etila 4,5-epóxi-(E)-dec-2-enal	1024 128
BÜCKING, 1999	Café torrado	33 Etanal 2,3-butanodiona 2,3-pentanodiona Metional 2,3,5-trimetil-pirazina	125 125 125 25 2
MAYER; CZERNY; GROSCH, 2000	Café bebida	24 2-furfuriltiol Metional Formiato de 3-mercaptop-3-metilbutila	nd
SCHENKER et al., 2002b	Café colombiano	42 Metional Linalol 4-vinil-guaiacol 2,3,5-trimetil-pirazina	1024 256 256 16
ZIMMERMANN e SCHIEBERLE, 2000	Pó de pimenta doce	33 β -ionona Sotolon	32768 8192
GROSCH, 2001	Café arábica torra média	15 2-furfuriltiol 2-metil-3-furanotiol Trissulfeto de dimetila Metional Metanotiol	nd
CHOI; SAWAMURA e KONDO, 2002	Cítricos	91 Limoneno β -felandreno Spatulenol Campheno Tetradecano	7 6 6 5 4
SANZ et al., 2002	Café filtrado e café solúvel	40 β -damascenona Metional Formiato de 3-metil-butil-3-mercaptana 5-etil-3-hidróxi-4-metil-2(5H)-furanona Furaneol	nd

Quadro 45 - Componentes voláteis de alto impacto encontrados em alimentos e fatores de diluição

Referência bibliográfica	Alimento	Componentes de alto impacto aromático	Fatores de diluição
ESCUADERO et al., 2004	Vinho	53 Octanoato de etila β -damascenona Acetato de isoamila Hexanoato de etila 4-vinil-guaiacol Ácido isovalérico	139 110 83 58 31 15
IRAQI et al., 2005	Azeitonas verdes	41 (Z)-3-hexenal (E,E)-2,4-decadienal Guaiacol Metional (E,Z)-2,4-decadienal	256 128 128 128 64
WIJAYA et al., 2005	<i>Snake fruit</i>	24 3-metilpentanoato de metila Ácido 2-metil-butanóico Ácido-3-metil-butanóico	nd

nd. Indica que não havia indicação na fonte consultada

Quadro 45 – continuação

Na comparação com os quarenta e cinco compostos de alto impacto aromático em café (Quadro 13), vinte e sete daqueles compostos tiveram identificação positiva e apresentaram impacto aromático nas amostras testadas neste trabalho.

Para os compostos quantificados, à exceção do 4,5-dimetil-tiazol, presente em concentrações inferiores ao limite de detecção nas amostras 1 a 3, os demais compostos de impacto aromático se apresentaram em concentrações acima desses limites em todas as amostras.

O Quadro 46 do Anexo 7 apresenta algumas características para os 88 compostos que apresentaram impacto aromático, como estrutura planar, massa molar, ponto de ebulição e atesta a confirmação da detecção com coluna cromatográfica equivalente à empregada. Entre estes, estão todos os 22 compostos identificados e quantificados pelo uso de padrão externo conforme o Quadro 32, exceto a vanilina e o hidróxi-metil-furfural, que não foram percebidos sensorialmente, provavelmente devido ao tempos de retenção intrínsecos aos mesmos, que os colocaram em uma região abundante em picos cromatográficos dentro da técnica empregada, permitindo sobreposições de componentes e, por conseguinte, dificultando a identificação sensorial.

5.12 LIMITES DE PERCEPÇÃO DOS COMPONENTES VOLÁTEIS

No Quadro 47, estão apresentados os limites de percepção encontrados pela técnica HS-SPME para o pó comparativamente àqueles mencionados na literatura em condições específicas. Foi escolhida a amostra 7, de origem internacional, por ter apresentado maior abundância em compostos com impacto aromático.

COMPOSTO	Limites detectados neste trabalho ($\mu\text{g}/\text{m}^3$ de gases do efluente olfatométrico a 25°C)	Limite de percepção no ar ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) da literatura	Referência
2,3-butanodiona	7,5	10 a 20	BLANK et al., 1992
2,3-pentanodiona	14,3	10 a 20	BLANK et al., 1992
Piridina	71,8	não encontrado	nd
Pirazina	10,1	não encontrado	nd
4-metil tiazol	5,6	não encontrado	nd
2,5-dimetil-pirazina	56,4	1820 1210 a 2430	GROSCH et al., 1996 WAGNER et al., 1999
2,6-dimetil-pirazina	96,5	1720 1140 a 2300	GROSCH et al., 1996 WAGNER et al., 1999
2,3-dimetil-pirazina	2,2	880 590 a 1170	GROSCH et al., 1996 WAGNER et al., 1999
4,5-dimetil tiazol	0,6	não encontrado	nd
2,3,5-trimetil-pirazina	3,7	33 a 66	WAGNER et al., 1999
2-etil-3-metil-pirazina	252,2	23 a 46	WAGNER et al., 1999
2-furfuriltiol	365,7	4,5 a 20 0,01 a 0,02	GASSER e GROSCH, 1990 BLANK et al., 1992
Ácido acético	41,3	não encontrado	nd
Metional	1,2	0,08 a 0,16	BLANK et al., 1992
Furfural	7113,0	não encontrado	nd
2,3-dietil-5-metil-pirazina	32,5	0,007 a 0,014 0,009 a 0,018	BLANK et al., 1992 CZERNY, WAGNER e GROSCH, 1996
Linalol	2,1	não encontrado	nd
Ácido isovalérico	5,0	não encontrado	nd
Guaiacol	25,1	não encontrado	nd
Furaneol	27,3	0,5 a 1,5	BLANK et al., 1992
4-etil-guaiacol	11,9	0,01 a 0,03	BLANK et al., 1992
Cis-isoeugenol	6,1	não encontrado	nd

nd indica que não foi encontrado registro sobre esse componente nas referências consultadas

Quadro 47 - Limites de percepção dos componentes de impacto aromático, percebidos na saída do olfatometro, expressos em $\mu\text{g}/\text{kg}$ – Amostra 7, coluna INNOWax, HS-SPME (pó), 2,8g

De acordo com o Quadro 47, alguns compostos apresentaram proximidade com os dados da literatura consultada, como 2,3-butanodiona e 2,3-

pentanodiona, por exemplo. No entanto, outros compostos exibiram limites de percepção de diferentes ordens de grandeza quando comparados à literatura consultada, como 2,5-dimetil-pirazina, 2,6-dimetil-pirazina e 2,3-dimetil-pirazina (limites detectados cerca de 35 a 500 vezes inferiores à literatura consultada) e metional, 2,3-dietil-5-metil-pirazina, furaneol e 4-etil-guaiacol (limites detectados cerca de 12 a 2500 vezes superiores à literatura consultada, respectivamente). Essa grande variação pode ser devida à falta de uma descrição mais detalhada nos trabalhos aqui referenciados a respeito da realização das determinações.

Tanto quanto se saiba, foram estabelecidos limites de percepção de alguns componentes de impacto aromático para cafés solúveis, como piridina, pirazina, 4-metil-tiazol, 4,5-dimetil-tiazol, ácido acético, furfural, linalol, ácido isovalérico, guaiacol e cis-iso Eugenol.

5.13 COMPARATIVO DOS VALORES DE OAV E CONCENTRAÇÕES MÁXIMAS ENCONTRADAS

As concentrações máximas encontradas ($I_{m\acute{a}x}$) aparecem no Quadro 48, para os compostos que apresentaram identificação analítica positiva e onde o resultado individual das três repetições realizadas para cada amostra foi igual ou maior a 50%.

Composto	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Amostra 7
2,3-butanodiona	E					E	E
Pirazina					E		
3-hexen-2-ona					E		
1-hidroxi-2-propanona						E	AE
2,5-dimetil-pirazina							AE
2,6-dimetil-pirazina			A	A	E		A
Etil-pirazina						E	E
2,3-dimetil-pirazina	E		E			E	E
2-metil-2-ciclopentan-1-ona							E
4,5-dimetil-tiazol							E
3-etil-piridina	E						E
2-etil-6-metil-pirazina		BE		BE			AE
2-etil-5-metil-pirazina		DE		E	B		AB
2,3,5-trimetil-pirazina	E			E		AE	A

Quadro 48 - Componentes aromáticos encontrados pelos julgadores A, B, C, D e E, com concentrações odoríferas máximas ($I_{m\acute{a}x}$) superiores ou iguais a 50%

2-etil-3-metil-pirazina						BDE	
2,6-dietil-pirazina						E	
2-furfuriltiol				D	E		
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	A	E	E	A	BE	BDE	AE
Ácido acético	ABE		D	D	AE	BDE	AE
Metional	BE						
2-etil-1-hexanol	A					A	
2,3-dietil-5-metil-pirazina		BE	BDE	AE	ADE	BDE	ABE
Benzaldeído					DE		
Linalol	ABE	BE	E	AE	DE	E	ABE
5-metil-2-furanocarboxialdeído					E	E	B
(1-metil-etil)-pirazina							D
1-(2-piridinil)-etanona		E	E		E	E	D
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	A		E				
Acetil pirazina							E
2-furanometanol							E
Ácido isovalérico	ABDE	BE	BE	BE	ABE	BE	ADE
2 (2-furanil-metil)-5-metil-furano							D
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	D						
Guaiacol	BD						
Álcool fenil-etênico	B					E	
Furaneol		E					
4-etil-guaiacol			E	E		E	E
4-vinil-guaiacol						E	E

Quadro 48 – continuação

O julgador C não atendeu aos requisitos estabelecidos para o Quadro 48 (acima) em nenhuma oportunidade. Além da dispersão dos dados, percebe-se que compostos como 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, linalol e ácido isovalérico foram detectados em todas as amostras, embora não unanimemente pelos julgadores. Por suposição, esses compostos poderiam ser empregados como indicadores gerais para cafés solúveis, por exemplo em misturas lácteas.

Seguindo a Tabela 35, que compara alguns valores de OAV para os compostos de impacto, determinados nos cafés solúveis, com os dados da literatura extraídos do Quadro 12, percebe-se que para os cafés solúveis testados, alguns compostos como a vanilina e a β -damascenona não foram detectados sensorialmente.

Provavelmente, o emprego de outras condições na determinação dos voláteis possam identificá-los, conforme sugerido no Capítulo 7.

O exemplo típico é do julgador B, uma vez que todos os julgadores equipararam-se pela avaliação realizada empregando GPA (Figura 20).

Tabela 35 - Exemplo típico do comparativo dos valores de OAV dos voláteis de impacto encontrados (HS-SPME) – Julgador B - Amostra 7

Composto	OAV encontrado neste trabalho	OAV ¹	OAV ²	OAV ³ (em café verde)	OAV ⁴
2,3-butanodiona *	1024	3400	---	---	---
2,3-pentanodiona *	1024	1300	---	---	---
Piridina *	256	---	---	---	---
Pirazina *	256	---	---	---	---
4-metil-tiazol *	512	---	---	---	---
2,5-dimetil-pirazina *	256	---	---	---	---
2,6-dimetil-pirazina *	512	---	---	---	---
2,3-dimetil-pirazina *	2048	---	---	---	---
4,5-dimetil-tiazol *	2048	---	---	---	---
2,3,5-trimetil-pirazina *	4096	---	---	---	---
2-etil-3-metil-pirazina	64	---	---	---	---
2-furfuriltiol	32	110000	170000	---	170000
Ácido acético *	4096	---	---	---	---
Metional *	4096	1200	1200	2,4	1200
Furfural	16	---	---	---	---
2,3-dietil-5-metil-pirazina	128	100	95	---	---
Linalol *	2048	---	---	---	---
Ácido isovalérico *	4096	---	---	---	---
Guaiacol *	1024	11000	1700	---	1700
Furaneol *	1024	1700	11000	---	---
4-etil-guaiacol *	512	30	---	< 1	32
Cis-isoeugenol *	1024	---	---	---	---

Fontes: ¹GROSCH (1995), ²SEMELROCH et al. (1995), ³CZERNY e GROSCH (2000) e ⁴BUFFO e CARDELLI-FREIRE (2004).

* Compostos de alto impacto aromático.

De maneira inversa, outros componentes de impacto foram detectados no café solúvel e com relevantes valores de OAV, como furfural, ácido acético, 2,6-dimetil-pirazina e 2,5-dimetil-3-etil-pirazina. Pelo menos dezenove compostos da Tabela 35 correspondem àqueles mencionados pelo citado grupo de pesquisa da Universidade de Munique (Quadro 13), ficando confirmada a plataforma inicial adotada, aqui expandida e aplicável para cafés solúveis.

Destacam-se, assim, aqueles compostos com OAV's superiores a 256, considerados como de alto impacto conforme SCHENKER (2000), apontados na Tabela 35, exemplificando 2,3-dimetil-pirazina, 4,5-dimetil-tiazol, 2,3,5-trimetil-pirazina, ácido acético, metional, linalol, ácido isovalérico e 4-etil-guaiacol, e que parecem constituir uma plataforma comum para o café solúvel em geral, uma vez

que apareceram tanto nas amostras nacionais quanto nas importadas (Tabela não mostrada).

Ainda conforme o Quadro 48, tanto o linalol quanto o ácido isovalérico foram encontrados com concentrações odoríferas ($I_{\text{máx}}$), o que confirma sua relevância para cafés solúveis.

6 CONCLUSÕES

Conforme o Quadro 45, vários dos componentes identificados para o café solúvel também o foram em outros alimentos, bebidas e condimentos. Como exemplos, podem-se citar cúrcuma, manjeriço, cupuaçu, tangerina, framboesa, batatas assadas, isolado protéico de soja, tomate, cerveja, couve-flor, pistache, cachaça, cerveja e vinho. Tal constatação reforça os conceitos aqui propostos sobre os fatores influentes em aromas de alimentos (Quadro 42).

Através da técnica de extração de SPME no *headspace* do café solúvel em pó acoplada a GC-MS, foram inicialmente encontrados entre 378 e 429 picos nos cromatogramas das sete amostras analisadas, com um total de 414 compostos diferentes identificados presuntivamente.

Considerando os critérios de identificação provável, diminuiu-se o número de componentes para 160. Esse número foi ainda reduzido para 94 compostos pela aplicação do critério de identificação positiva. Desses, vinte e quatro componentes, para os quais se dispunha de padrões externos, foram quantificados pela análise de HS-SPME, tanto no café solúvel em pó quanto na bebida pronta para consumo aqui denominada HS-SPME (bebida), mantendo-se como referencial invariante a concentração de sólidos solúveis do café. Nesse comparativo, ao simular a condição de consumo, podesse perceber a redução significativa dos voláteis presentes no produto café solúvel ao se comparar o produto em pó com a bebida já preparada e pronta para o consumo.

Empregando a técnica de GC/O, logrou-se identificar 132 compostos de impacto aromático presentes nas amostras de café solúvel testadas, dos quais 88 puderam ser apropriadamente tipificados, sendo 69 com identificação positiva, e então agrupados segundo a resposta sensorial apresentada em 12 grupos olfatométricos propostos, cinco positivos e sete considerados negativos para a qualidade da bebida do café.

Aplicando a análise de Procusto, as amostras analisadas sensorialmente pela técnica do Perfil Livre puderam ser separadas, havendo boa concordância entre todos os membros da equipe. Similarmente, submetendo as amostras à análise pelo nariz eletrônico, as amostras foram distintamente separadas, havendo concordância entre os gráficos de consenso tanto dos

juízes quanto do nariz eletrônico. Nesses dois casos, todas as amostras foram adequadamente separadas.

As evidências levam a sugerir o emprego da análise do pó como ferramenta na classificação de cafés solúveis.

A identificação dos principais componentes do aroma do café solúvel e sua importância segundo a ordem de relevância olfativa, propicia um direcionamento de estudos aplicados, quer seja na maximização dos compostos considerados desejáveis para a bebida, quer seja na minimização daqueles indicados como prejudiciais à qualidade, abrindo ainda as bases para o aprofundamento dos efeitos das concentrações e das interações entre compostos na sensação sensorial percebida. Com isso, permite-se o desenvolvimento de alternativas tecnológicas para melhoria do aroma do produto final ao consumidor, direcionadas para esses componentes de alto impacto aromático.

7 CONTRIBUIÇÕES SIGNIFICATIVAS

7.1 EM RELAÇÃO AO OBJETIVO GERAL DO TRABALHO

- a) aplicação de metodologia para extração, identificação e quantificação de compostos voláteis de café solúvel pela técnica de HS-SPME acoplada a GC-MS, detectando até 429 compostos;
- b) quantificação de 4,5-dimetil-tiazol, desconhecido no âmbito da literatura consultada;
- c) determinação dos índices de retenção lineares para a coluna INNOWax de 94 compostos;
- d) quantificação de 24 componentes no café solúvel;
- e) quantificação de 22 componentes de impacto aromático no café solúvel em pó e na bebida, estabelecendo correlação para estudos comparativos de transformações e perdas durante o preparo para o consumo;
- f) identificação dos compostos voláteis de maior impacto para cafés solúveis, inclusive nacionais, num total igual a 132 componentes, dos quais 19 com identificação provável e 69 com identificação positiva, variando entre 50 e 77 compostos nas sete amostras. Destacam-se aqueles compostos com OAV's superiores a 256, quer sejam 2,3-dimetil-pirazina, 4,5-dimetil-tiazol, 2,3,5-trimetil-pirazina, ácido acético, metional, linalol, ácido isovalérico e 4-etil-guaiacol, comuns às amostras analisadas;
- g) identificação de limoneno, terpeno que representa uma classe de compostos inédito na literatura consultada;
- h) proposição do uso de 2,5-dimetil-3-etil-pirazina, linalol e ácido isovalérico, identificados pelo critério de I_{max} (GARRUTI et al., 2005), como indicadores gerais para cafés solúveis, por exemplo em misturas lácteas.

7.2 EM RELAÇÃO AOS OBJETIVOS ESPECÍCOS DO TRABALHO

- a) aplicação da técnica de Perfil Livre na análise sensorial de cafés solúveis, definindo-a como técnica aplicável para classificação através da análise do café solúvel em pó;
- b) aplicação de nariz eletrônico na classificação de cafés solúveis, sugerindo-o como ferramenta funcional para tal;
- c) proposta de 12 grupos olfatométricos como espaço sensorial aplicável para cafés solúveis;
- d) determinação dos limites de percepção de 20 compostos, sendo dez inéditos para café solúvel na literatura consultada;
- e) determinação de OAV's de 20 compostos, sendo 13 inéditos para café solúvel na literatura consultada;
- f) determinação de limites de percepção para os compostos piridina, pirazina, 4-metil-tiazol, 4,5-dimetil-tiazol, ácido acético, furfural, linalol, ácido isovalérico, guaiacol e cis-isoeugenol, não disponíveis nas referências consultadas neste trabalho;
- g) com base na matriz da bebida de café, sugere-se um modelo de quatro dimensões para interpretação da percepção da qualidade do aroma do café: (i) as diferentes espécies químicas presentes, (ii) a concentração em que tais componentes se apresentam em cada caso, (iii) o efeito da concentração de cada componente na resposta sensorial, (iv) a interação entre os componentes e seu efeito na percepção sensorial.

7.3 OUTRAS CONTRIBUIÇÕES

Quando da pesquisa na literatura para dados sobre índices de retenção lineares, destacamos a importância da verificação sobre a correção da fórmula aplicada para o cálculo do IRL nos bancos de dados empregados em cada referência, anterior a qualquer comparação (ver item 1.8.4).

8 SUGESTÃO PARA ESTUDOS FUTUROS

- a) determinar as relações dos componentes de impacto aromático presentes no café torrado, no café torrado e moído, na bebida do café e no café solúvel – sugere-se empregar como critério de comparação uma concentração constante comum a todos e igual a 1,5% massa/volume para o teor de sólidos de café;
- b) empregar diversas colunas cromatográficas para identificar qualitativamente e quantitativamente outros compostos do café solúvel;
- c) determinar o efeito da matriz além do efeito da concentração de consumo, como, por exemplo, açúcar ou leite adicionados, no impacto aromático da bebida;
- d) explorar a partição dos componentes nas frações hidrofílicas e lipofílicas, (BROSSARD, ROUSSEAU e DUMONT, 2002);
- e) determinar a importância dos efeitos de componentes voláteis presentes em concentrações limítrofes ou inferiores ao limite de percepção sensorial na complexa mistura de odorantes, porque a relevância da matriz do aroma, incluindo entornos como, por exemplo, o modo de preparo e de consumo, afeta a avaliação sensorial (BULT et al., 2001);
- f) determinar propriedades físicas como peso molecular, ponto de ebulição, solubilidade em água, volatilidades relativas e coeficientes de partição dos compostos de impacto aromático (CLARKE e VITZTHUM, 2001), bem como estudar em detalhes o comportamento da volatilidade dos componentes aromáticos em solução empregando a Lei de Steven (FRIEDRICH e ACREE, 1998);
- g) aplicar cromatografia multidimensional para melhorar a separação e a determinação de maior número de compostos (MONDELLO et al., 2004; RYAN et al., 2004);
- h) aprofundar a análise na bebida, momento mais próximo à condição de consumo, testando a extração dos voláteis no líquido

pelo emprego de barras de adsorção revestidas (SBSE - *Stir Bar Sorptive Extraction*);

- i) estudar o efeito da isomeria dos componentes de impacto na resposta sensorial;
- j) aprofundar o efeito de *counteracting* na sensação dos aromas (KELLER e VOSSHAL, 2004);
- k) determinar as interações entre os compostos voláteis e os não voláteis (CHARLES-BERNARD et al., 2005 e CHARLES-BERNARD, ROBERTS e KRAEHENBUEHL, 2005);
- l) uma vez atualizados pelo fornecedor (Agilent) os íons específicos empregados pelo detector seletivo de massas a extrair para a 2-isobutil-3-metóxi-pirazina, confirmar sua presença e identificação adequada, empregando a mesma técnica do presente trabalho.

REFERÊNCIAS

ABOUT. **The history of coffee**: Coffee history and recent innovations. Disponível em <<http://inventors.about.com/library/inventors/blcoffee.htm>>. Acesso em: 28 out. 2004.

ACNIELSEN. **Informações de mercado - Café - Índice de varejo**. Apostila. Serviço contratado pela Café Iguaçu. 2004. 50p.

ACREE, T. Bioassays for flavor. In: ACREE, T.; R. TERANISHI, R. **Flavor science - sensible principles and techniques**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1993. p. 1-20.

ACREE, T.; ARN, H. **Gas chromatography - olfactometry (GCO) of natural products. Flavornet**. Disponível em: <<http://www.flavornet.org/index.html>>. Acesso em: 11 nov. 2004.

ACREE, T.; BARNARD, J.; CUNNINGHAM, D. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. **Food Chemistry**, Reading, v. 14, p. 273-286, 1984.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução- RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Brasília, Publicada no D.O.U. em 02/06/2003.

AGILENT. **Agilent Chromatography and Spectrometry Supplies Catalog**. 2003. p. 260.

AIRSENSE. **Analytics handbook**. Version 1.1. 2002.

AKIYAMA, M. et al. Analysis of volatile compounds released during the grinding of roasted coffee beans using Solid-Phase Microextraction, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, p. 1961-1969, 2003.

ALVES, M. Traditional cup tasting versus scientific methods. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DE CAFÉ, 1, 2003. Campinas. Anais... Instituto Agrônômico de Campinas.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Guidelines for the selection and training of sensory panel members – STP 758. Philadelphia: ASTM, 1981.

AMSTALDEN, L.; LEITE, F.; DE MENEZES, H. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução / espectrometria de massas empregando um amostrador automático de "headspace". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 123-128, 2001.

ANG, E.; BOATRIGT, W. Olfactory perception of major odorants found in the headspace of aqueous soy protein isolate slurries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 1, p. 388-393, 2003.

ANTAS, L. **Conversão de unidades de medida**. São Paulo: Traço Editora, 1984. 245p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. Estatísticas – Indicadores da Indústria. Rio de Janeiro, Disponível em <<http://www.abic.com.br/estatisticas.html>>. Acesso em: 12 mar. 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13172 – Teste de sensibilidade em análise sensorial. Rio de Janeiro, Jun/1994, 5p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 17025 - Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, Jan/2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the AOAC International**, 17, Gaithersburg, AOAC International. 2000.

BRUNS, R.; SCARMINIO, I.; NETO B. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1995. 299 p.

ASTEN, A. The importance of GC and GC-MS in perfume analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, Oxford, v. 21, n. 9-10, p. 698-708, 2002.

AUGUSTO, F.; LOPES, A.; ZINI, C. Sampling and sample preparation for analysis of aroma and fragrances. **Trends in Analytical Chemistry**, Oxford, v. 22, n. 3, p. 160-169, 2003.

AVSAR, Y. et al. Characterization of nutty flavor in cheddar cheese. **Journal of Dairy Science**, Knoxville, v. 87, p. 1999-2010, 2004.

BADER, A. et al. Essential oil composition of Achillea santolina L. and Achillea biebersteinii Afan. collected in Jordan. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 36-38, 2003.

BALTES, W.; BOCHMANN, G. Model reactions on roast aroma formation. **Zeitschrift fur Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 185, p. 5–9, 1987.

BASTOS, D. et al., Composição de voláteis e perfil de aroma e sabor de méis de eucalipto e laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 122-129, 2002.

BEAL, A.; MOTTRAM, D. An evaluation of the aroma characteristics of malted barley by free-choice profiling. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 61, n. 1, p. 17-22, 1993.

BENASSI, M. Perfil livre: uma opção para análise sensorial descritiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre. Anais... São Paulo, SBCTA, 26p. 2002.

BENASSI, M.; DAMÁSIO, M.; CECCHI, H. Avaliação de vinhos brancos Riesling nacionais utilizando Perfil Livre. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 265-270, 1998.

BICCHI et al. Characterization of roasted coffee and coffee beverages by solid phase microextraction-gas chromatography and principal component analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, p. 4680-4686, 1997.

_____. 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**, Columbus, v. 50, p. 449-459, 2002.

BLANK, I. Techniques for analyzing food aroma. In: MARSILI, R. **Techniques for analyzing food aroma**. New York: M. Dekker, 1996. p. 293-329.

BLANK, I.; SEN, A.; GROSCHE, W. Aroma impact compounds of arabica and robusta coffee: qualitative and quantitative investigations. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 14, 1991, San Francisco. Association Scientifique International du Café, 1992. p. 117-129.

BLANK, I. et al. Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. **Zeitschrift für Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 195, p. 239-45, 1992.

BONINO, M. et al. Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. **Food Chemistry**, Reading, v. 80, p. 125-133, 2003.

BOUDHRIOUA, N.; GIAMPAOLI, P.; BONAZZI, C. Changes in aromatic components of banana during ripening and air-drying. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 36, p. 633-642, 2003.

BRAND, D. **Detoxificação biológica da casca de café por fungos filamentosos em fermentação no estado sólido**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BROSSARD, C.; ROUSSEAU, F.; DUMONT, J. Oil-water partition coefficient of odorants: reliable index for smell but deceptive for odor rating! **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 13, p. 65-72, 2002.

BRUNS, R.; SCARMINIO, I.; NETO B. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1995. 299 p.

BÜCKING, M. **Release of flavour materials in presence of retardant substances from the coffee beverage**. 1999. 180 p. Tese (Doutorado em Química) - University of Hamburg, Hamburg.

BÜCKING, M.; STEINHART, H. Detection of an off-flavour in raw coffee: an approach of the high resolution gas chromatography/selective odorant measurement by multisensor array (HRGC/SOMSA). In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 19, 2001, Trieste. Association Scientifique International du Café, 2002. CD-ROM.

BUFFO, R.; CARDELLI-FREIRE, C. Coffee flavour: an overview. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 19, n. 2, p. 99-104, 2004.

BULT, J. et al. The influence of olfactory concept on the probability of detecting sub- and peri- threshold components in a mixture of odorants. **Chemical Senses**, Oxford, v. 26, p. 459-469, 2001.

CAFÉ IGUAÇU. **Descritores sensoriais para cafés solúveis**. Apostila. Brasil. 2002. 7p.

_____. **O mercado de café no Brasil**: mapa do café. Disponível em: <<http://www.iguacu.com.br/conhe/ptframe3.htm>> Acesso em: 1 set. 2003.

CAI, J.; LIU, B.; SU, Q. Comparison of simultaneous distillation extraction and solid-phase microextraction for the determination of volatile flavor components. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 930, p. 1-7, 2001.

CANTERGIANI, E. et al. Characterisation of mouldy/earthy defect in green mexican coffee. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 18, 1999, Helsinki. Association Scientifique International du Café, 2000. p. 43-49

_____. Characterisation of the aroma of green mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 212, p. 648-657, 2001.

CAPPUCCIO, R. et al. Staling of roasted and ground coffee at different temperatures: combining sensory and GC analysis. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 19, 2001, Trieste. Association Scientifique International du Café, 2002. CD-ROM.

CHARLES-BERNARD, M. et al. Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 1. Screening of nonvolatile components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 53, p. 4417-4425, 2005.

CHARLES-BERNARD, M.; ROBERTS, D.; KRAEHENBUEHL, K. Interactions between volatile and nonvolatile coffee components. 2. Mechanistic study focused on volatile thiols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 53, p. 4426-4433, 2005.

CHEMCONNECTIONS. **Smells database**. Disponível em: <<http://mc2.cchem.berkeley.edu/Smells/index.html>>. Acesso em: 15 mar. 2004.

CHEMEXPER. **Chemexper chemical directory**. Disponível em: <<http://www.chemexper.com>>. Acesso em: 13 mai. 2005.

CHISHOLM, M.; JELL, J.; CASS JR., D. Characterization of the major odorants found in the peel oil of Citrus reticulata Blanco cv. Clementine using gas chromatography-olfactometry. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, n. 4, p. 275-281, 2003.

CHOI, H. Characteristic odor components of kumquat (Fortunella japonica Swingle) peel oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 53, p. 1642-1647, 2005.

CHOI, H.; SAWAMURA, M.; KONDO, Y. Characterization of the key aroma compounds of Citrus flaviculpus Hort. Ex Tanaka by aroma extraction dilution analysis. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 5, p. 1713-1718, 2002.

CHUNG, H.; FUNG, P.; KIM, J. Aroma impact components in commercial plain sufu. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 53, p.1684-1691, 2005.

CHUNG, S.; HEYMANN, H.; GRÜN, I. Application of GPA and PLSR in correlating sensory and chemical data sets. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 14, p. 485-495, 2003.

CLARKE, R.; MACRAE, R. **Coffee**. v. 1. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. capítulo 3, p. 83-113.

_____. **Coffee**. v. 3. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, 1985. 364p.

CLARKE, R.; VITZTHUM, O. **Coffee – Recent Developments**. Londres: Blackwell Science. 2001. 257 p.

CLIFFORD, M.; WILLSON, K. **Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage**. London: Croom Helm, 1985. 792 p.

COCHRAN, W.; COX, G. **Experimental design**. 2. ed. New York: Wiley Inc., 1957. p. 470-476.

CRISTOVAN, E.; PATERSON, A.; PIGGOTT, J. Development of a vocabulary of terms for sensory evaluation of dessert port wines. **Italian Journal of Food Science**, Perugia, v. 12, n. 2, p. 129-142, 2000.

CZERNY, M. ; GROSCH, W. Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 48, p. 868-872, 2000.

CZERNY, M.; GROSCH, W.; MAYER, F. Sensory study on the character impact odorants of roasted arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 47, p. 695-699, 1999.

CZERNY, M.; WAGNER, R.; GROSCH, W. Detection of odor-active ethenylalkylpyrazines in roasted coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 44, p. 3268-3272, 1996.

DA PORTO, C. et al. Analyses of orange spirit flavour by direct-injection gas chromatography-mass spectrometry and headspace solid-phase microextraction/GC-MC. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, n. 1, p. 66-72, 2003.

DA SILVA, M.; LUNDAHL, D.; MCDANIEL, M. The capability and psychophysics of Osme: a new GC-olfatometry technique. In: MAARSE, H.; HEIJ, D. **Trends in flavour research**. New York: Elsevier, 1994. p.191-208.

DAMASIO, M. Análise descritiva: Metodologia do Perfil Livre versus metodologias tradicionais. In: ALMEIDA, T. et al. **Avances en análisis sensorial**. São Paulo: Livraria Varela, 1999. p. 35-48.

DAVIDE, F.; HOLMBERG, M.; LUNDSTRÖM, I. Virtual olfactory interfaces: electronic noses and olfactory displays. In: RIVA, G.; DAVIDE, F. **Communication through virtual technology: Identity community and technology in the internet age**. Amsterdam: IOS Press, 2003. p. 193-219.

DEISINGH, A.; STONE, D.; THOMPSON, M. Applications of electronic noses and tongues in food analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, Chester, v. 39, p. 587-604, 2004.

DE BARROS, C.; HIRATA, Y. **Princípios e práticas na validação de métodos analíticos**. Apostila. São Paulo. 2003. 44p.

DE MARIA, C.; MOREIRA, R.; TRUGO, L. Componentes voláteis do café torrado. Parte I: componentes heterocíclicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 209-217, 1999.

DE MARIA, C. et al. Composition of green coffee fractions and their contribution to the volatile profile formed during roasting. **Food Chemistry**, Reading, v. 50, p. 141-145, 1994.

_____. Composition of green coffee water-soluble fraction and identification of volatiles formed during roasting. **Food Chemistry**, Reading, v. 55 n. 3, p. 203-207, 1996.

_____. The GC/MS identification of volatiles formed during the roasting of high molecular mass coffee aroma precursors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 7, n. 4, p. 267-270, 1996.

DÍAZ-MAROTO, M. et al. Fast screening method for volatile compounds of oak wood used for aging wines by headspace SPME-GC-MS (SIM). **Journal of the Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 6857-6861, 2004.

DIÉGUEZ, S. et al. Aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Albariño. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 36, p. 585-590, 2003.

DIRINCK, I.; van LEUVEN, I.; DIRINCK, P. Analytical flavour characterisation and classification of arabica and robusta coffees from different origins. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 19, 2001, Trieste. Association Scientifique Internationale du Café, 2002. CD-ROM.

DIRINCK, I. et al. Classification of coffees from different origins by chemical sensor technology. Application note 13/2002. Gerstel GmbH & Co. 2002. 8p.

DOOL, H.; KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

DRAVNIKES, A. **Atlas of odor character profiles**. Philadelphia: ASTM data series 61, 1985. 353 p.

DUCKHAM, S. et al. Volatile flavour components of baked potato flesh. A comparison of eleven potato cultivars. **Nahrung**, Weinheim, v. 45, p. 317-323, 2001.

ECHEVERRÍA, G. et al. Characterization of Fuji apples from different harvest dates and storage conditions from measurements of volatiles by chromatography and electronic nose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 3069-3076, 2004.

EICEMAN, G.; HILL, H.; GARDEA-TORRESDEY, J. Gas chromatography. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 70, p. 321r-339r, 1998.

ELMORE, J.; ERBAHADIR, M.; MOTTRAN, D. Comparison of dynamic headspace concentration on tenax with solid phase microextraction for the analysis of aroma volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, p. 2638-2641, 1997.

ELMORE, J.; HEYMANN, H. Perceptual maps of photographs of carbonated beverages created by traditional and free-choice profiling. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 10, p. 219-227, 1999.

EMURA, M. et al. The volatile constituents of the coffee flower (*Coffea arabica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 12, p. 9-13, 1997.

ESCUADERO, A. et al. Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 3516-3524, 2004.

ESKILSON, M. **Konferenzband electronic noses in the food industry**. Stockholm. 1998. p. 69.

EURACHEM GUIDE. **Guide to quality in analytical chemistry**: An aid to accreditation. UK, 2002. Disponível em <<http://www.eurachem.ul.pt>>. Acesso em 23 abr. 2003.

_____. **The fitness for purpose of analytical methods**. A laboratory guide to method validation and related topics. London, 1998. Disponível em <<http://www.eurachem.ul.pt>>. Acesso em 11 jun. 2003.

EURACHEM/CITAC GUIDE CG4. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2ed., 126p. UK, 2000.

EUROPEAN COFFEE FEDERATION. **European coffee report**. 2003. 40p.

FENG, Y.; ACREE, T. Foods. **Food Ingredients Journal**, Japan, n. 179, p. 57-66, 1999.

FERRARI, G. et al. Determination of key odorant compounds in freshly distilled cognac using GC/O, GC-MS and sensory evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 5670-5676, 2004.

FERREIRA, V. et al. Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1010, p. 95-103, 2003.

FLAMENT, I. **Coffee flavor chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2002. 410 p.

FLAMINI, G.; CIONI, P.; MORELLI, I. Use of solid-phase micro-extraction as a sampling technique in the determination of volatiles emitted by flowers, isolated flower parts and pollen. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 998, p. 229-233, 2003.

FOKIALAKIS, N. et al. Composition of the steam volatiles of six Euphorbia spp. from Greece. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 39-42, 2003.

FRANCO, M. Pesquisa do sabor: estado da arte. In: CURSO BRASILEIRO DE SABOR DE ALIMENTOS E BIOTECNOLOGIA, 2, 2000, Campinas. FEA-UNICAMP. 2000.

_____. **Aroma e sabor de alimentos – Temas atuais**. São Paulo: Varela editora e livraria, 2003. 246 p.

FRANCO, M.; SHIBAMOTO, T. Volatile compounds of some brazilian fruits: Umbu-caja (Spondias citherea), Camu-camu (Myrciaria dubia), Araça-boi (Eugenia stipinata), and Cupuaçu (Theobroma grandiflorum). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 48, n. 4, p. 1263-1265, 2000.

FREITAS, A.; PARREIRA, C.; VILAS-BOAS, L. The use of an electronic aroma-sensing device to assess coffee differentiation-comparison with SPME gas chromatography-mass spectrometry aroma patterns. **Journal of Food Composition and Analysis**, Rome, v. 14, p. 513-522, 2001.

FRIEDRICH, J.; ACREE, T. Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products. **International Dairy Journal**, Alberta, v. 8, n. 3, p. 235-241, 1998.

FRIZZO, C.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Composition and seasonal variation of the essential oils from two mandarin cultivars of southern Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 3036-3041, 2004.

FULL, G.; LONZARICH, V.; SUGGI-LIVERANI, F. Differences in chemical composition of electronically sorted green coffee beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE SUR LE CAFÉ, 18, 1999, Helsinki. Association Scientifique Internationale du Café, 2000. p. 35-42.

GANES, J. Soluble sector set for resurgence? **Coffee & Cocoa International**, New Malden, v. 31, n. 4, p. 4, 45-50, 2004.

GARDNER, J.; SHURMER, H.; TAN, T. Application of an electronic nose to the discrimination of coffees. **Sensors and actuators B**, Neuchâtel, v. 6, p. 71-75, 1992.

GARFIELD, F. **Quality assurance principles for analytical laboratories**, 3. ed. Arlington: AOAC International, 1991. 196 p.

GARRUTI, R. **Métodos sensoriais em controle de qualidade na indústria de alimentos**. Apostila. Campinas: Fundação Tropical. P. T. "André Tosello", 1985.

GARRUTI, D. et al. Assessment of aroma impact compounds in a cashew apple-based alcoholic beverage by GC-MS and GC-olfactometry. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, In press – corrected proof, Available online 23 May 2005. 6p.

GARRUTI, D. et al. Compostos voláteis do sabor de pseudofrutos de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) CCP-76. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical**, Fortaleza, n. 4, 2001, 29 p.

_____. Evaluation of volatile flavour compounds from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice by the OSME gas chromatography/olfactometry technique. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v.83, p. 1455-1462, 2003.

GASSENMEIER, K. Vanillin and xanthineoxidase – key factors for the generation of a cardboard off-note in vanilla ice cream. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 36, p. 99-103, 2003.

GASSER, U.; GROSCHE, W. Primary odorants of chicken broth. **Zeitschrift für Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 190, p. 3-8, 1990.

GILLET, G. Lessons from the crisis: "Seizing the opportunity". In: ICO WORLD COFFEE CONFERENCE, 2, 2005, Salvador.

GÓMEZ, S. **Rum aroma descriptive analysis**. 2002. 145 p. Dissertação (Mestrado - Department of Food Science by La Salle University) - Mexico City, México.

GONG, F.; FUNG, Y.-S.; LIANG, Y.-Z. Determination of volatile components in ginger using gas chromatography-mass spectrometry with resolution improved by data processing techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 6378-6383, 2004.

GOWER, J. Generalised Procrustes analysis. **Psychometrika**, New York, v. 40, p. 33-51, 1975.

GREEN, J. A practical guide to analytical method validation. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 68, p. 305A-309A, 1996.

GRETSCH, C.; SARRAZINI, C.; LIARDON, R. Evolution of coffee aroma characteristics during roasting. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 18, 1999, Helsinki. Association Scientifique Internationale du Café, 2000. p. 27-34.

GRIFFIN, M. **Coffee chemistry – aroma**. 7p. Disponível em: <www.coffeeresearch.org/science/aromamain.htm>. Acesso em: 2 nov. 2004.

_____. **Electronic noses**: multi-sensor arrays. 10p. Disponível em: <www.coffeeresearch.org/science/journalarticles.htm>. Acesso em: 7 jun. 2004.

GROSCH, W. Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. **Trends in Food Science and Technology**, Norwich, v. 4, p.68-73, 1993.

_____. Determination of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 9, p. 147-158, 1994.

_____. Instrumental and sensory analysis of coffee volatiles. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 16, 1995, Kyoto. Association Scientifique Internationale du Café, 1996. p. 147-156.

_____. Flavour of coffee. A review. **Nahrung**, Weinheim, v. 42, p. 344-350, 1998.

_____. Key odorants of roasted coffee: evaluation, release, formation. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 18, 1999, Helsinki. Association Scientifique International du Café, 2000. p. 17-26.

_____. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. **Chemical Senses**, Oxford, v. 26, p. 533-545, 2001.

GROSCH, W. et al. Studies on the aroma of roasted coffee. **Royal Society of Chemistry**, Cambridge, v. 197, p. 200-205, 1996.

GUERRERO, L.; GOU, P.; ARNAU, J. Descriptive analysis of toasted almonds: a comparison between expert and semi trained assessors. **Journal of Sensory Studies**, Warren, v. 12, n.1, p. 39-54, 1997.

HAESSELBARTH, A.; ULLRICH, F. Quantitation of potent aroma compounds above freshly brewed coffee by aroma trapping. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 19, 2001, Trieste. Association Scientifique International du Café, 2002. CD-ROM.

HALL, B. **A collection of SPME references**. Disponível em: <http://neon.cm.utexas.edu/brodbelt/Brodsite/spme_refs.html>. Acesso em: 2 mai. 2005.

HAMM, S. et al. Optimization of headspace solid phase microextraction for gas chromatography/mass spectrometry analysis of widely different volatility and polarity terpenoids in olibanum. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1018, p. 73-83, 2003.

HASHIM, L.; CHAVERON, H. Use of methylpyrazine ratios to monitor coffee roasting. **Food Research International**, Ontario, v. 28, p. 619-623, 1996.

HEINIÖ, R. et al. Relationship between sensory perception and flavour-active volatile compounds of germinated, sourdough fermented and native rye following the extrusion process. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 36, p. 533-545, 2003.

HEYMANN, H. A comparison of free-choice profiling and multidimensional scaling of vanilla samples. **Journal of Sensory Studies**, Warren, v. 10, n. 1, p. 89-104, 1995.

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**, Glasgow, v. 13, n. 1, p. 49-55, 1998.

HO, C. et al. An overview of the Maillard reactions related to aroma generation of coffee. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 15, 1993, Montpellier. Association Scientifique International du Café, 1994. v. 2, p. 519-527.

HOFMANN, T. et al. **Konferenzband electronic noses in the food industry**. Stockholm, v. 14, 1998.

HOLSCHER, W.; STEINHART, H. Aroma compounds in green coffee. In: CHARAMBOLOUS, G. **Food flavors. Generation, analysis and process influence**. Amsterdam: Elsevier Science, 1995. p. 785-803.

HUMMEL, T. et al. Effects of the form of glasses on the perception of wine flavors: a study in untrained subjects. **Appetite**, Washington, v. 41, p. 197-202, 2003.

HUND, E.; MASSART, D.; SMEYERS-VERBECKE, J. Operational definitions of uncertainty. **Trends in Analytical Chemistry**, Oxford, v. 20, n. 8, p. 394-406, 2001.

ILLYCAFÉ. **Aromalab**. Disponível em:
<http://www.illy.com/Illy_En/Company/AromaLab.htm>. Acesso em: 13 jul. 2003.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008, 2002. RJ. Brasil.

_____. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008. Revisão: 01 – MARÇO. 2003

INTERNATIONAL COFFEE ORGANISATION. Coffee international file 1998-2002. ICO. Disponível em: <<http://www.ico.org>>. Acesso em janeiro/2004.

_____. **Consumer - Oriented vocabulary for brewed coffee**. Disponível em:
<<http://www.ico.org/frameSet/coffset.htm>>. Acesso em junho/2004.

_____. **Producing member countries**. Disponível em:
<http://www.ico.org/aico/country/country.htm>. Acesso em setembro/2004.

_____. Letter from the executive director. Coffee market report. **Fev/2005. 7p.**

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. Technical requirements for the registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures: methodology ICH-Q2B, Geneva 1996.

_____. Technical requirements for the registration of pharmaceuticals for human use. Validation of analytical procedures, ICH-Q2A, Geneva 1995.

_____. Guidances. Validation of chromatographic methods. Center for drug evaluation and research – CDER, 2000. Disponível em: <www.fda.gov/cder/guidance>. Acesso em 11 mai. 2003.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 3726 – Instant coffee - Determination of loss in mass at 70° C under reduced pressure. Geneva, 1983.

_____. Accreditation of laboratories, ISO Guide 25, Geneva, 1990.

_____. ISO GUM – Guide to the expression of uncertainty in measurement, Geneva, 1993.

_____. ISO 11817 - Roasted ground coffee - Determination of moisture content - Karl Fischer method (Reference method), Geneva, 1994.

_____. ISO/FDIS 3509. Coffee and its products - vocabulary. Geneva, 2003.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Compendium of analytical nomenclature. Definitive rules. Analytical separation methods. 1997.

_____. Analytical chemistry division. n. 510/39/98 – 2001.

IRAQI, R. et al. Screening of key odorants in moroccan green olives by gas-chromatography-olfactometry/aroma extract dilution analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 53, p.1179-1184, 2005.

JAIME, I.; MELA, D.; BRATCHEL, N. A study of texture-flavor interactions using free-choice profiling. **Journal of Sensory Studies**, Warren, v. 8, n. 3, p. 177-188, 1993.

JAMESON, D. Organosulphur chemistry – aroma chemicals and beyond Part 1. **Speciality Chemicals**, Redhill, 17p., 2001.

_____. Organosulphur chemistry – aroma chemicals and beyond Part 2. **Speciality Chemicals**, Redhill, 9p., 2001.

JANZANTTI, N.; FRANCO, M.; WOSIACKI, G. Efeito do processamento na composição de voláteis de suco clarificado de maçã Fuji. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 523-528, 2003.

JAUBERT, J. Champ des odeurs. **Parfums, Cosmétiques, Arômes**, Chambéry, n. 78, 1987.

JAUBERT, J.; TAPIERO, C.; DORÉ, J. The field of odors: toward an universal language for odor relationship. **Perfumer and Flavourist**, Oregon, v. 20, p. 1-16, 1995.

JENSEN, M. **Referencer vedrørende fast fase mikroekstraktion (SPME)**. Atualizado em nov de 2002. Disponível em: <<http://www.agrsci.dk/anf/MTJ/spme-ref.htm>>. Acesso em: 9 mar. 2004.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES. **Flavouring agents database**. Disponível em <http://apps3.fao.org/jecfa/flav_agents>. Acesso em janeiro/2005.

JORDAN, M.; GOODNER, K.; SHAW, P. Volatile components in aqueous essence and fresh fruit of Cucumis Melo cv. Athena (Muskmelon) by GC-MS and GC/O. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 12, p. 5929-5933, 2001.

JOULAIN, D. et al. Volatile flavour constituents of fruits from Southern Africa: Mobola plum (Parinari curatellifolia). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 2322-2325, 2004.

KELLER, A.; VOSSHAL, L. Human olfactory psychophysics. **Current Biology**, London, v. 14, n. 20, p. R875-R878, 2004.

KIM, T. et al. Aroma dilution method using GC injector split ratio for volatile compounds extracted by headspace solid phase microextraction. **Food Chemistry**, Reading, v. 83, p. 151-158, 2003.

KLAHORST, S. **Getting a reaction - cover story**. Disponível em: <http://www.foodproductdesign.com/toolbar_library.html>. Acesso em: 30 fev. 2004.

KLASSEN, J.; STEIN, S.; ZENKEVICH, I. **Building a comprehensive, evaluated collection of GC retention indices from literature data**. Disponível em: <<http://www.richrom.com/assets/CD23PDF/a18.pdf>>. Acesso em: 22 jan. 2005.

KLESK, K.; QIAN, M.; MARTIN, R. Aroma extract dilution analysis of cv. Meeker (*Rubus idaeus* L) red raspberries from Oregon and Washington. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 5155-5161, 2004.

KOHL, D. et al. Systematic studies on responses of metal-oxide sensor surfaces to straight chain alkanes, alcohols, aldehydes, ketones, acids and esters using SOMMSA approach. **Sensors and Actuators B**, Neuchâtel, v. 70, n. 1-3, p. 43-50, 2000.

LABCOMPLIANCE. **Validation of analytical methods** – review and strategy. 2001. Disponível em <<http://www.labcompliance.com/index.htm>>. Acesso em: 11 ago. 2004.

LACHNIT, M. et al. Suitability of Free Choice Profiling for assessment of orange-based carbonated soft-drinks. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 14, p. 257-263, 2003.

LAGO, R. Lipídios em grãos de café. **Boletim do Centro de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.19, n.2, p.318-330, 2001.

LAFFORT, P. et al. **Disposition of 141 odorants and 16 major semantic descriptors in a 3D olfactory space**. 2000. Disponível em: < <http://www.u-bourgogne.fr/ENSBANA/d.valentin/3Dspace/p001.html>>. Acesso em: 15 set. 2003.

LE PAPE, M. et al. Optmization of dynamic headspace extraction of the edible red algae *Algae Palmaria palmata* and identification of volatile compouds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 550-556, 2004.

LEE, K.; SHIBAMOTO, T. Analysis of volatile components isolated from Hawaiian green coffee beans (*Coffea arabica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 17, n. 5, p. 349-351, 2002.

LEHOTAY, S.; HAJŠLOVÁ, J. Application of gas chromatography in food analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, Oxford, v. 21, n. 9-10, p. 686-697, 2002.

LIKENS, S.; NICKERSON, G. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. In: ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF BREWING CHEMISTS, 1964, Saint Paul. Anais... American Society of Brewing Chemists, 1964, p. 5-13.

LÓPEZ, C. **SPME literature – compilation 1992-2001**. Disponível em: <http://exactas.udea.edu.co/~carlopez/spme.html>. Acesso em: 9 jun. 2004.

LORENZO, D.; LOAYZA, I.; DELLACASSA, E. Composition of the essential oils from leaves of two *Hedyosmum* spp. from Bolivia. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 32-35, 2003.

LYCAEUM. **Lycaeum Entheogen Database**. Disponível em :< <http://leda.lycaeum.org/?ID=4137>>. Acesso em: 9 jan. 2004.

MAARSE, H. et al. **Volatile Compounds in Food. Qualitative and Quantitative Data**. Supplement 5 to the Sixth Edition. TNO Nutrition and Food Research, Zeist, 1994.

MADRUGA, M.; MOTTRAM, D. The effect of pH on the formation of volatile compounds produced by heating a model system containing 5'-Imp and cysteine. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 261-271, 1998.

MAEZTU, L. et al. Characterization of espresso coffee aroma by static headspace GC-MS and sensory flavor profile. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 49, p. 5437-5444, 2001.

MAMEDE, M.; CARDELLO, H.; PASTORE, G. Evaluation of an aroma similar to that of sparkling wine: sensory and gás chromatography analyses of fermented grape musts. **Food Chemistry**, Reading, v. 89, p. 63-68, 2005.

MAMLOUK, A. **Quantifying olfactory perception**. 2002. 116 p. Tese (Doutorado – Institute for Signal Processing) – Lübeck, Germany.

MANURA, J.; OVERTON, S. **Comparison of sensitivity of hedspace GC, purge and trap thermal desorption and direct thermal extraction techniques for volatile organics**. Application note 39, Scientific Instruments Services WEB. 1999. 6p.

MARENGO, E.; ACETO, M.; MAURINO, V. Classification of Nebbiolo-based wines from Piedmont (Italy) by means of solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 943, p. 123-137, 2001.

MASTELIC, J.; JERKOVIC, I. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glyconjugated aroma compounds of seasonally collected Satureja montana L. **Food Chemistry**, Reading, v. 80, p. 135-140, 2003.

MATA, A. et al. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 151-157, 2004.

MAYER, F.; CZERNY, M.; GROSCH, W. Influence of provenance and roast degree on the composition of potent odorants in Arabica coffees. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 209, n. 3/4, p. 242-250, 1999.

_____. Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 211, n. 4, p. 272-276, 2000.

MAYER, F.; GROSCH, W. Aroma simulation on the basis of the odourant composition of roasted coffee headspace. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 16, p. 180-190, 2001.

MCDANIEL, M. et al. Pinot noir aroma: a sensory-gas chromatographic approach. In: CHARAMBOLOUS, G. **Flavors and off-flavors**. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1989. p. 23-36.

MCEWAN, J. et al. Proficiency testing for sensory profile panels: measuring panel performance. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 13, p. 181-190, 2002.

MEJÍAS, R. et al. Optimisation of headspace solid-phase microextraction for the analysis of volatile phenols in wine. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 995, p. 11-20, 2003.

MEYNERS, M. Methods to analyse sensory profiling data – a comparison. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 14, p. 507-514, 2003.

MIGUEL, G. et al. Composición en aceites esenciales de Thymus mastichina (L.) L. ssp. mastichina. In: CONGRESO IBEROAMERICANO DE HORTICULTURA, 3, 2000. Mendoza. Confederación Latinoamericana de Horticultura, 2000. CD-ROM.

MILDNER-SZKUDLARZ, S. et al. Application of headspace-solid phase microextraction and multivariate analysis for plant oils differentiation. **Food Chemistry**, Reading, v. 83, p. 151-522, 2003.

MIETTINEN, S. et al. Electronic and human nose in the detection of aroma differences between strawberry ice cream of varying fat content. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 1, p. 425-430, 2002.

MIN, D. **Introduction to flavor chemistry**. Disponível em: <<http://www-fst.ag.ohio-state.edu/min/Flavor%20Chemistry.htm>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

_____. **Isolation and separation of flavor compounds**. Disponível em: <<http://www-fst.ag.ohio-state.edu/min/Flavor%20Chemistry.htm>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

_____. **Flavor compounds identification**. Disponível em: <<http://www-fst.ag.ohio-state.edu/min/Flavor%20Chemistry.htm>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

_____. **Mass spectrometry**. Disponível em: <<http://www-fst.ag.ohio-state.edu/min/Flavor%20Chemistry.htm>>. Acesso em: 15 jun. 2004.

MINAYO, M. et al. **Pesquisa social: teoria, método e criatividade**. 13. ed. Petrópolis: Vozes, 1999. 80 p

MIYAZAWA, M. et al. Volatile compounds of the rhizomes of Cirsium japonicum DC. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 15-17, 2003.

MODESTA, R. **Como descrever aromas: técnicas de degustação básica**. Apostila. Embrapa, Rio de Janeiro, 2002. 13p.

MONDELLO, L. et al., Comprehensive multidimensional GC for the characterization of roasted coffee beans. **Journal of Separation Science**, Weinheim, v. 27, n. 5-6, p. 442-450, 2004.

MONROSIER, R.; SIEFFERMANN, J-M.; DANZART, M. A graphical consensus representation for multidimensional analysis of aroma data. In: PANGBORN SENSORY SCIENCE SYMPOSIUM, 4, Dijon. Anais... 2001.

MONROY, G. **Caracterización del aroma del café molido de Puerto Rico mediante la técnica de microextracción em fase sólida (SPME) y cromatografía de gás acoplada a espectrometria de masas (GC/MS)**. 2005. 156 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico.

MOREIRA, R.; TRUGO, L.; DE MARIA, C. Componentes voláteis do café torrado. Parte II: Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 195-203, 2000.

MOTTRAM, R. **The LRI & odour database**. Flavour research group, University of Reading, School of Food Biosciences. Disponível em <<http://www.odour.org.uk/>>. Acesso em: 16 nov. 2004.

MÜLLER, S.; CORNELSEN, J. **Normas e padrões para teses, dissertações e monografias**. 5. ed. atualizada. Londrina: Eduel, 2003. 155 p.

MUÑOZ, A.; CIVILLE, G. The spectrum descriptive analysis method. In: HOOTMAN, R. **ASTM Manual series MNL 13**, Baltimore: ASTM, 1992. p. 22-34.

NAGAMATO, R. **Tratamento de compostos voláteis orgânicos do café pela técnica da incineração catalítica**. 2001. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

NARAIN, C.; PATERSON, A.; REID, E. Free choice and conventional profiling of commercial black filter coffees to explore consumer perceptions of character. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 15, p. 31-41, 2003.

NARAIN, N. Aroma de frutas tropicais: Maracujá e Cajá. . In: II CURSO BRASILEIRO DE ALIMENTOS E BIOTECNOLOGIA. UNICAMP. Jul/2000. 7p.

NASCIMENTO, E.; MORAIS, S.; ROCHA, R. Constituintes voláteis de cafés “gourmet” e mole do cerrado do triângulo mineiro em função da torra. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 282-284, 2003.

NETTO, C.; MOREIRA, R.; DE MARIA, C. Volatile profile from caninha aged in oak (*Quercus* sp) and balsam (*Myroxylon* sp) barrels. **Food Science and Technology International**, Valencia, v. 9, n. 5, p. 359-364, 2003.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. Versão 2.0a. Mass Spectra Search Program. 2002.

_____. **Chemistry WebBook**. Standard reference database number 69 – mar. 2003 release. Disponível em <<http://webbook.nist.gov/chemistry>>. Acesso em: 11 jan. 2005.

NEUMANN, D. A Neumann Kaffee Gruppe presentation. In: ICO WORLD COFFEE CONFERENCE, 2, 2005, Salvador.

NOGUEIRA, G. et al. Otimização da metodologia para determinação simultânea de cafeína, trigonelina e ácido clorogênico em café utilizando HPLC com coluna de permeação em gel. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Brasília: Embrapa Café, 2000. p. 646-649.

NURGEL, C. et al. Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeasts to fermentation and flavour compounds in wines from cv. Kalecik karasi grape. **Journal of the Institute of Brewing**, London, v. 108, n. 1, p. 68-72, 2002.

OLIVEIRA, A.; BENASSI, M. Perfil livre: Uma opção para análise sensorial descritiva. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 37 (supl.), p. 66-72, 2003.

OOSTERVELD, A.; VORAGEN, A.; SCHOLS, H. Effect of roasting on the carbohydrate composition of *coffea arabica* beans. **Carbohydrate Polymers**, Birmingham, v. 54, p. 183-192, 2003.

OP & P PRODUCT RESEARCH. **Senstools Versão 2.3**. Utrecht: OP & P Product Research, 1995-1998. Conjunto de Programas. CD-ROM.

OTT, A.; LAURENT, F.; CHAINTREAU, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, p. 850-858, 1997.

PAGE, B.; LACROIX, G. Application of solid-phase microextraction to the headspace gas chromatographic analysis of halogenated volatiles in selected foods, **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 648, p. 199-211, 1993.

PATARROYO, M. Analysing coffee's chemical composition and its biological effects on human health. In: ILLY, E.; PIZANO, D. **Coffee and health new research findings - 40th anniversary meeting of the ICO**. Anais..Cartagena: ICO, 2003. 77p.

PAWLISZYN, J. **SPME database** – Food analysis and botanical applications. Disponível em: <<http://www.science.uwaterloo.ca/chemistry/pawliszyn/SPMEdata/food.htm>>. Acesso em: 2 jul. 2005.

PERREN, R. **Untersuchungen über das Rösten von Hasenüssen**. 1995. 174 p. Tese (Doutorado em Ciências Técnicas) – Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.

PETRACCO, M.; RICCIA, G.; LIVERANI, F. Forecasting coffee quality by near-infrared transfectance spectra: a virtual cup-tester panel. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 20, 2004, Bangalore. Association Scientifique Internationale du Café, 2005. CD-ROM.

PFANNKOCH, E.; WHITECAVAGE, J. **Comparison of the sensitive of static headspace GC, solid phase microextraction, and direct thermal extraction for analysis of volatiles in solid matrices**. Application Note Gerstel. n. 6. 2000. Disponível em: < <http://www.gerstelus.com/appnotes/new/Gerstel%202000/an-2000-06.pdf> >. Acesso em: 6 fev. 2004.

PHATNAV. **Encyclopedia. 2003**. Disponível em: <<http://www.phatnav.com/wiki/wiki.phtml?title=Coffee>>. Acesso em: 2 out. 2004

PIGGOT, J.; PATERSON, A. Consumer perceptions of dark rum explored by the free choice profiling. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 3, n. 2, p. 629-637, 1993.

PILLONEL, L.; BOSSET, J.; TABACCHI, R. Rapid preconcentration and enrichment techniques for the analysis of food volatile. A review. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 35, p. 1-14, 2002.

PINHO, O.; PÉRÈS, C.; FERREIRA, I. Solid-phase microextraction of volatile compounds in “Terrincho” ewe cheese – comparison of different fibers. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1011, p. 1-9, 2003.

PLOTTO, A.; MCDANIEL, M. Tools of sensory analysis applied to apples. In: WASHINGTON TREE FRUIT POSTHARVEST CONFERENCE, Washington. Anais... Washington, 11p., 2001.

POLLIEN, P. et al. First attempt of odorant quantitation using gas chromatography-olfactometry. **Analytical Chemistry**, Washington, n. 71, p. 5391-5397, 1999.

PRAMENDRA, J. **York Center for environmental engineering and science**. Analysis methods. Organic analysis. Disponível em <<http://www.cees.njit.edu/labs/analysis2.php>>. Acesso em: 9 set. 2004.

PUPPO et al. Análise sensorial: Testes discriminativos e afetivos. Campinas, SP. **SBCTA**, Campinas, p. 24-27, 2000.

RAINA, V.; SRIVASTAVA, S.; SYAMASUNDER, K. Essential oil composition of Acorus calamus L. from the lower region of the Himalayas. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 18-20, 2003.

RAMOS, E. et al. Obtention of a brewed coffee aroma extract by an optimized supercritical CO₂-based process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 46, p. 4011-4016, 1998.

RAPP, A. Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. **Nahrung**, Weinheim, v. 42, n. 6, p. 351-63, 1998.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, Campinas, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, A. Panorama setorial: o complexo agroindustrial cafeeiro no Brasil. **Análise**, Jundiaí, v. 6, n. 11, p. 23-34, 2005.

RIBEIRO, L. **Regras básicas para apresentação formal de trabalhos**. Disponível em: <http://www.uel.br/bc/servicos_apostila_normalizacao.pdf>. Acesso em: 8 set. 2005. 19p.

ROCHA, S. et al. Screening and distinction of coffee brews based on headspace solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 84, p. 43-51, 2003.

RODRÍGUEZ-BENCOMO, J. et al. Determination of major compounds in sweet wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 991, p. 13-22, 2003.

RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A. et al. Analysis of the volatile aroma constituents of parental and hybrid clones of pepino (Solanum muricatum). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 52, p. 5663-5669, 2004.

ROBERTS, D.; POLLIEN, P.; MILO, C. Solid-phase microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 48, n. 6, p. 2430-2437, 2000.

ROUSSEF, R. **Citrus research and education center – University of Florida**. Database WAX. Disponível em: <http://www.crec.ifas.ufl.edu/rouseff/Website2002/Subpages/database_g_Frameset.htm>. Acesso em: 7 mai. 2005.

ROWE, D. More fizz for your buck: high-impact aroma chemicals. **Perfumer and Flavorist**, Oregon, v. 25, n. 5, p. 1-19, 2000.

_____. High impact aroma chemicals Part 2: the good, the bad and the ugly. **Perfumer and Flavorist**, Oregon, v. 27, p. 24-33, 2002.

RUTH, S.; CONNOR, H. Evaluation of three gas chromatography-olfactometry methods: comparison of odour intensity-concentration relationships of eight volatile compounds with sensory headspace data. **Food Chemistry**, Reading, v.74, p. 341-347, 2001.

RYAN, D. et al. Analysis of roasted coffee bean volatiles by using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, p. 57-65, 2004.

RYCHLIK, M.; GROSCH, W. Aroma von getoasteten weißbrot. **Getreide, Mehl, Brot**, Bochum, v. 50, p. 219-222, 1996.

SALA, C. et al. Headspace solid-phase microextraction method for determining 3-alkyl-2-methoxypyrazines in must by means of polydimethylsiloxane-divinylbenzene fibres. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 880, p. 93-99, 2000.

SANDI, D. et al. Correlações entre características físico-químicas e sensoriais em suco de maracujá-amarelo (Passiflora edulis VAR. flavicarpa) durante o armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, p. 355-361, 2003.

SANZ, C. et al. Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma dilution analysis (AEDA). **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 214, p. 299-302, 2002.

_____. Optimizing headspace temperature and time sampling for identification of volatile compounds in ground roasted arabica coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 49, n. 3, p. 1364-1369, 2001.

SARRAZIN, C. et al. Representativeness of coffee aroma extracts a comparison of different extraction techniques. **Food Chemistry**, Reading, v. 70, p. 99-106, 2000.

SCHALLER, E.; BOSSET, J.; ESCHER, F. "Electronic noses" and their application to food. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, Zürich, v. 31, p. 305-316, 1998.

SCHENKER, S. **Investigations on the hot air roasting of coffee beans**. 2000. 187 p. Tese (Doutorado em Ciências Técnicas) - Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.

_____. Impact of roasting temperature profiles on chemical reaction conditions in coffee beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 19, 2001, Trieste. Association Scientifique Internationale du Café, 2002. CD-ROM.

_____. Impact of roasting conditions on the formation of aroma compounds in coffee beans. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 1, p. 60-67, 2002.

SCHIEBERLE, P. New developments on methods for analysis of volatile flavor compounds and their precursors. In: GAONKAR, A. **Characterization of food-emerging methods**. Amsterdam: Elsevier, 1995. p. 403-433.

SCHIEBERLE, P., GROSCH, W. Potent odorants of the wheat bread crumb. **Zeitschrift für Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 192, p. 130-135, 1991.

_____. Potent odorants of rye bread crust. Differences from the crumb and from wheat bread crust. **Zeitschrift für Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 198, p. 292-296, 1994.

SCHNERMANN, P.; SCHIEBERLE, P. Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 45, n. 3, p. 867-872, 1997.

SCHOLZ, M. et al. Composição química de variedade de café (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, Brasília. Embrapa Café, 2000. p. 673-676.

SCHRÖDER, I. et al. Volatile minor acids in coffee. Part 2. Detection of steam treatment. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, Stuttgart, v. 93, p. 216-218, 1997.

SCHWEIZER-BERBERICH, M.; HARSCH, M.; GÖPEL, W. Technisches Messen 1995, v. 6, p. 62.

SEMMEYROCH, P.; GROSCHE, W. Studies on character impact odorant of coffee brews. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 44, n. 2, p. 537-543, 1996.

SEMMEYROCH, P. et al. Determination of potent odourant in roasted coffee by stable isotope dilution assays. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v.10, p.1-7, 1995.

SERVILI, M. et al. Sensory characteristics of virgin olive oil and relationship with headspace composition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 67, n.1, p. 61-67, 1995.

SHARP, G.; DIFEB, D. A new olfactory detector for gas chromatography. **Applications in chromatography**, n. 9, p. 17-18, 2002. Disponível em <www.laboratoryequipment.com>. Acesso em: 5 mar. 2005.

SHIBAMOTO, T. An overview of coffee aroma and flavour chemistry. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 14, 1991, San Francisco. Association Scientifique International du Café, 1992. p. 107-116.

SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of headspace volatiles from brewed coffee with a on-column GC/MS method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 38, p. 802-804, 1990.

SHIRATSUCHI, H. et al. Isolation and identification of volatile flavor compounds in nonfermented coarse-cut sausage. Flavor as a quality factor of nonfermented sausage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 41, p. 647-658, 1993.

SIDES, A.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S. Developments in extraction techniques and their application to analysis of volatiles in foods. **Trends in Analytical Chemistry**, Oxford, v. 19, n. 5, p. 322-329, 2000.

SIEFFERMANN, J. **Flash profiling**: a fast and powerful tool for sensory mapping. Laboratoire de perception sensorielle & sensométrie (LaPSS). École supérieure des industries agricoles et alimentaires. Massy. Disponível em: <http://www.perception-sensorielle.com/Flash%20Profile_fichiers/frame.htm>. Acesso em: 10 nov. 2004.

SILVA, F. et al. Desenvolvimento de um método de MEFS com CG-DIC para determinação de 1,4 dioxana em amostras de cosméticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n.6, p. 748-750, 2001.

SILVA, M. et al. Essential oils of Ocimum basilicum L., O. basilicum var. minimum L. and O. Basilicum var. purpurascens Benth. Grown in north-eastern Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 13-14, 2003.

SILWAR, R. et al. Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchungen des röstkaffeearomas. Quantitative bestimmung wasserdampffüchtiger aromastoffe. **Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel**, Nürnberg, v. 10, p. 176-187, 1987.

SINESIO, F. et al. Use of electronic nose and trained sensory panel in the evaluation of tomato quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 80, p. 63-71, 2000.

SIVETZ, M.; DESROSIER, N. **Coffee technology**: Part IV – Instant coffee technology. Connecticut: The AVI publishing Company Inc., 1979. p. 348-350, p. 558-562.

SMARTNOSE. **Application note food 4. Coffee analysis**. 8p., 2003. Disponível em <<http://www.smartnose.com>>. Acesso em: 16 mar. 2004.

SOARES, L. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 60, n. 1, p. 79-84, 2001.

SOBOLÍK, V. et al. Viscosity and electrical conductivity of concentrated solutions of soluble coffee. **Journal of Food Engineering**, Dublin, v. 51. p. 93-98, 2002.

SOUSA, A.; VALENTE, A.; SILVA, M. Análise de aroma de sapoti (*Achras sapota* L.) pelas técnicas de SPME (microextração em fase sólida) e OSME (cromatografia olfatométrica). In: REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 23, 2000, Poços de Caldas. Anais... 2000. v. 3, p.78-79.

SPECTRAL DATABASE FOR ORGANIC COMPOUNDS. **SDBS**. Disponível em: <http://www.aist.go.jp/RIODB/SDBS/cgi-bin/direct_frame_top.cgi?lang=eng>. Acesso em: 10 fev. 2005.

SPEER, K.; KURZROCK, T.; KÖLLING-SPEER, I. Effect of controlled storage on the lipid fraction of green Arabica coffee beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 20, 2004, Bangalore. Association Scientifique International du Café, 2005. CD-ROM.

ST. CROIX SENSORY, INC. **Odor descriptors**. Disponível em: <http://www.fivesenses.com/odor_parameters.htm>. Acesso em: 14 jul. 2004.

STATSOFT. **Statistica - Data analysis software system -Version 7.1.30**. STATSOFT INC., Tulsa, USA, 2005.

STEENSON, D.; LEE, J.; MIN, D. Solid phase microextraction of volatile soybean oil and corn oil compounds. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 1, 2002.

STEPHAN, A.; BÜCKING, M.; STEINHART, H. Novel analytical tools for food flavours. **Food Research International**, Ontario, v. 33, p. 199-209, 2000.

STOFBERG, J.; STOFFELSMA, J. Consumption of flavoring materials as food ingredients and food aditives. **Perfumer and Flavorist**, Oregon, n. 5, v. 7, p. 19-35, 1981.

STONE, H. Quantitative descriptive analysis. In: HOOTMAN, R. **ASTM Manual series MNL 13**. Baltimore: ASTM, 1992. p. 15-21.

STONE, H.; SIDEL, J. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. USA: Academic Press, 1993. 338 p.

SUPELCO. **SPME applications guide**. Apostila. Ed 3, 2001. 67p.

TAKASAGO. **A basic introduction to coffee**. Apostila. Takasago Coffee Corporation Ltd. Tóquio, 1999. 22p.

TAN, W. Chem 4130 - Instrumental analysis. Universidade da Flórida. Departamento de Química. Disponível em <http://www.chem.ufl.edu/classes/4130/tan/lecture/lecture_35_36.ppt>. Acesso em: 13 fev. 2005.

THIJSSSEN, H. The effect of process variables on aroma retention in drying coffee extract. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 4, 1969, Amsterdam. Association Scientifique International du Café, 1970. p. 108-116.

TRESSL, R. Formation of flavor components in roasted coffee. **American Chemical Society Symposium Series**, Oregon, v. 409, p. 285-301, 1989.

TRUGO, L. Precusores e aroma do café. In: II CURSO BRASILEIRO DE ALIMENTOS E BIOTECNOLOGIA. Campinas: UNICAMP, 2000. 33p.

TZAKOU, O. et al. The essential oil composition of Salvia brachyodon Vandas. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 2-4, 2003.

ULRICH, D. et al. Analysis of strawberry flavour – discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds. **Zeitschrift fur Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 205, p. 218-223, 1997.

ULLRICH, F.; GROSCH, W. Identification of the most intensive volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. **Zeitschrift fur Lebensmittel –Untersuchung und-Forschung A**, Berlin, v. 184, p. 277-282, 1987.

ULMER, H. et al. Konferenzband eurosensors, 10, Leuven, 1996. 55p.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. National nutrient database for standard references, release 16-1. 2004.

USAI, M. et al. Composition and variability of the essential oil of Sardinian Thymus herba-barona Loisel. **Flavour and Fragrance Journal**, Glasgow, v. 18, p. 21-25, 2003.

VALENTE, A. ; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 4, n. 23, p. 523-530, 2000.

VALETTE, L. et al. Volatile constituents from Romanesco cauliflower. **Food Chemistry**, Reading, v. 80, p. 353-358, 2003.

VAN DER STEGEN, G.; VAN DUIJN, J. Analysis of normal organic acids in coffee. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ, 12, 1987, Montreux. Association Scientifique International du Café, 1988. p. 347-354.

VAN RUTH, S. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review. **Biomolecular Engineering**, Boston, v. 17, p. 121-128, 2001.

VERZERA et al. **Using SPME-GC-MS to characterize volatile components of honey as indicators of botanical origin**. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/img/assets/19581/Rep16_International.pdf>. Acesso em maio 2004. p. 9-12.

VESELY, P. et al. Analysis of aldehydes in beer using solid-phase microextraction with on-fiber derivatization and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, p. 6941-6944, 2003.

VIDAL, H. **Composição lipídica e a qualidade do café (*Coffea arábica* L.) durante armazenamento**. 2001. 93 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

VIEGAS, M. et al. Comparação da sensibilidade entre os métodos headspace e extração por solvente para análise dos compostos voláteis presentes no café solúvel. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 5, 2003, Campinas. Anais... Campinas: UNICAMP, 2004. CD-ROM.

WAGNER, R. et al. Structure-odour-activity relationships of alkylpyrazines. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 208, p. 308-316, 1999.

WAIGEL, K.; BASSOLI, D.; TICOULAT, R. A qualidade do café como consequência da qualidade do café verde. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO CAFÉ, 1, 2003, Campinas. Instituto Agrônomo de Campinas.

WANAKHACHORNKRAI, P.; LERTSIRI, S. Comparison of determination method for volatile compounds in Thai soy sauce. **Food Chemistry**, Reading, v. 83, p. 619-629, 2003.

WATSON, B. et al. Effects of macerating pectinase enzymes on color, phenolic profile and sensory character of pinot noir wines. In: JOINT BURGUNDY-CALIFORNIA-OREGON WINEMAKING SYMPOSIUM, 2, California. Anais... 1999, p. 36-44.

WIJAYA, C. et al. Identification of potent odorants in different cultivars of snake fruit [Salacca zalacca (Gaert.) Voss] using gas chromatography-olfactometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 53, p. 1637-1641, 2005.

WILKES, J. et al. Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 880, p. 3-33, 2000.

WILLIAMS, A.; ARNOLD, G. A comparison of the aromas of six coffees characterized by conventional profiling, free-choice profiling and similar scaling methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 36, n. 3, p.204-214, 1985.

WILLIAMS, A.; LANGRON, S. The use of Free-choice profiling for the evaluation of commercial Ports. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Sussex, v. 35, p. 558-568, 1984.

WÖHRMANN, R.; HOJABR-KALALI, B.; MAIER, H. Volatile minor acids in coffee. I. Contents of green and roasted coffee. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, Stuttgart, v. 93, p. 191-194, 1997.

WRIGLEY, G. **Coffee**. London: Longman, 1988. 639 p.

YÁÑEZ, X. et al. Chemical composition of the essential oil of Psidium caudatum McVaugh. **Molecules**, Basel, v. 7, p. 712-716, 2002.

ZIMMERMANN, M., SCHIEBERLE, P. Important odorants of sweet bell pepper powder (Capsicum annuum cv. annuum): differences between samples of Hungarian and Moroccan origin. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 211, n. 3, p. 175-180, 2000.

GLOSSÁRIO

ANOVA - Análise de variância

CV - Coeficiente de variação, obtido pela divisão do valor do desvio-padrão pelo valor da média amostral

CVr - Coeficiente de variação em condições de repetibilidade

Headspace ou headspace estático - Técnica empregada para o isolamento de voláteis. Vapor ao redor de um alimento onde os voláteis estão em equilíbrio

Headspace dinâmico - Técnica de *headspace* com enriquecimento, por exemplo, através de *purge and trap*

Key components - Componentes-chave, componentes voláteis de alto impacto na percepção sensorial

Modo SCAN Componentes-chave, componentes voláteis de alto impacto na percepção sensorial - Modo de operação do detector seletivo de massas, com varredura de unidades de massa atômica

Electronic nose - Nariz eletrônico – Arranjos de sensores eletrônicos especiais que procuram reproduzir, pelo menos parcialmente, a resposta do olfato humano a compostos voláteis, conectados a um sistema de análise de dados

Odour threshold - Limite de percepção odorífera, quantidade mínima detectada via olfativa

OSME - Do grego, cheiro. Método de avaliação sensorial de tempo-intensidade, que faz uma estimativa da magnitude da intensidade percebida, gravando-a simultaneamente com a eluição do pico cromatográfico

Osmograma - Gráfico obtido ao plotar os dados da aplicação da técnica de OSME

Purge and trap - Dispositivo para captura de voláteis, por retenção em polímeros adsorventes ou por criogenia

repê(r) - Máxima diferença aceitável entre duas replicatas em condições de repetibilidade

Sniffing - Avaliação olfativa do efluente gasoso em cromatografia

Spli - Aplicação de divisão do fluxo de amostra no injetor do cromatógrafo a gás, sendo que somente parte é transferida para a separação e o restante descartado

Splitless - O fluxo integral de amostra é injetado e segue para a separação no cromatógrafo a gás, não havendo divisão de fluxo

Tenax ®, Carboxen® e Porapak ® - Polímeros orgânicos utilizados na adsorção de voláteis

Vials - Frascos especiais utilizados em GC, principalmente em injetores automáticos e coletores de fração

ANEXOS

ANEXO 1

REFERÊNCIA	SUBSTRATO	TÉCNICA EXTRATIVA/ TÉCNICA ANALÍTICA	COMPONENTES DETECTADOS DO AROMA *
EMURA et al., 1997	Flor do café	Extração com hexano, GC-MS	álcool benzílico, salicilato de metila, indol, benzoato de etila, benzaldeído, fenilacetaldéido, acetato de benzila
FRANCO e SHIBAMOTO, 2000	Umbu-caja Camu-camu Araça-boi Cupuaçu	Headspace com armadilha de Porapak® Q GC-MS	acetato de etila, tolueno, butirato de etila, β -mirceno acetato de etila, eucaliptol, β -mirceno, β -felandreno β -mirceno, 1-hexanol, terpinoleno butanoato de hexila acetato de butila, 1-butanol, butirato de butila, ácido acético
NARAIN, 2000	Maracujá e Cajá	Arraste com Hélio e armadilha de Tenax® GC-MS	46 componentes butanoato de hexila, hexanoato de hexila, 3-pentanona, butanoato de etila
MIGUEL et al., 2000	Manjerona <u>Thymus mastichina</u> (L.) L. Subsp. Mastichina	Likens-Nickerson GC-MS	1,8-cineol, cânfora, pineno, cadineno, elemol
SINESIO et al., 2000	Tomate	Nariz eletrônico	ácido acético
DUCKHAM et al., 2001	Batatas assadas	Headspace com adsorção em Tenax® GC-MS	2-isobutil-3-metoxipirazina, 2-isopropil-3-metoxipirazina, β -damascenona, trissulfeto de dimetila, decanal, 3-metilbutanal
JORDAN, GOODNER e SHAW, 2001	Melão (<i>Muskmelon</i>)	GC-MS GC/O	53 componentes na essência 38 componentes na fruta fresca 2-metil-3-buten-2-ol, 2,3-butanediol, 3-fenilpropionato de metila, fenilpropionato de etila, fenil-propanol, 3-(metiltiol) propanoato de etila
YÁÑEZ et al., 2002	Goiaba <u>Psidium caudatum</u> McVaugh	Hidro-destilação GC-MS	terpinen-4-ol, α -terpineno
ANG e BOATRIGHT, 2003	Isolado protéico de soja	Headspace GC-MS	Hexanal, metanotiol, 2-pentilfurano, trissulfeto de dimetila
BADER et al., 2003	Uva <u>Achillea</u>	Hidro-destilação GC-MS	1,8-cineol, cânfora, 4-terpineol, trans-carveol, p-cymeno, cis-ascaridol
BONINO et al., 2003	Vinho italiano	SPME GC-MS	59 componentes citronelol, nerol, β -damascenona, geraniol, linalol, α -terpineol, 4-etilfenol
CHISHOLM, JELL e CASS JR., 2003	Tangerina <u>Citrus reticulata</u> Blanco cv. Clementine	GC-MS GC/O	50 componentes α -sinensal, β -sinensal, 4,5-epoxi-2-decenal, 2,6-dodecadienal, linalol
DA PORTO et al., 2003	Laranja	SPME GC-MS	Metanol, isobutanol, n-butanol, álcool isoamílico
FERREIRA et al., 2003	Vinho	SPME GC-MS	Sotolon, maltol, furaneol

Quadro 4 – Técnicas extrativas e analíticas empregadas na identificação de componentes voláteis identificados em vários alimentos e variedades botânicas

REFERÊNCIA	SUBSTRATO	TÉCNICA EXTRATIVA/ TÉCNICA ANALÍTICA	EXEMPLOS DE COMPONENTES DETECTADOS NO AROMA*
FLAMINI, CIONI e MORELLI, 2003	Flores	SPME GC-MS	Sabineno, mirceno, linalol, icimeno, indol, metil antranilato
FOKIALAKIS et al., 2003	Flor <u>Euphorbia spp.</u>	Hidro-destilação GC-MS	nonanal, germacreno, eneicosano, heptacosano
HAMM et al., 2003	Resina vegetal Olibanum	SPME GC-MS	Limoneno, cembreno, acetato de isoincensol
JANZANTTI, FRANCO e WOSIACKI, 2003	Maçã Fuji	<i>Headspace</i> com armadilha de Porapak® Q GC-MS	30 componentes α -farneseno, acetato de 2-metil butila, acetato de butila, acetato de hexila
LORENZO, LOAYZA e DELLACASSA, 2003	<u>Hedyosmum spp</u>	Hidro-destilação GC-MS	α -pineno, β -pineno, 1,8-cineol, linalol, limoneno
MASTELIC e JEROVIC, 2003	<u>Satureja montana L.</u>	Hidro-destilação GC-MS	timol, p-cimeno, carvacrol, timolato de metila, borneol, mirceno
MEJÍAS et al., 2003	Vinho (fenóis)	SPME GC-MS	4-etilguaiaicol, 4-vinilguaiaicol, 4-etilfenol, 4-vinilfenol
MILDNER-SZKUDLARZ et al., 2003	Óleos de plantas	SPME GC-FID GC-MS	1-octen-3-ol, hexanal, 1-pentan-3-ol, 2-heptenal
MIYAZAWA et al., 2003	Flor Cirsium japonicum DC	Likens-Nickerson GC-MS	α -himachaleno, anetol, p-cimeno-8-ol, eugenol, kongol
NETTO, MOREIRA e DE MARIA, 2003	Caninha	GC-FID GC-MS GC-sniffing AEDA	49 componentes 3-metilbutanol, octanoato de etila, 2-fenil etanol, 2-metil propanol
RAINA, SRIVASTAVA e SYAMASUNDER, 2003	<u>Acorus calamus L.</u>	Hidro-destilação GC-MS	30 componentes β -asarona, β -aranona, linalol
SILVA et al., 2003	Manjeriço	Destilação a vapor GC-MS	1,8-cineol, estragol, terpinen-4-ol, linalol
TZAKOU et al., 2003	<u>Salvia brachyodon</u> Vandas	Hidro-destilação GC-MS	β -pineno, campheno, α -humuleno, 1,8-cineol, cânfora
USAI et al., 2003	<u>Thymus herbarona</u> Loisel	Hidro-destilação GC GC-MS	35 componentes timol, carvacrol, linalol, geraniol, acetate de α -terpenila, terpinen-4-ol, carvona
VALETTE et al., 2003	Couve-flor	Likens-Nickerson GC-MS	35 componentes dissulfeto de dimetila, trissulfeto de dimetila, hexenol
VESELY et al., 2003	Cerveja	SPME GC-MS	2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, pentanal, hexanal, furfural, metional
JOULAIN et al., 2004	Ameixa	<i>Headspace</i> a vácuo GC-MS	88 componentes 2-aminobenzaldeído, fenilacetaldoxima, 2-nitrobutilbenzeno
KLESK, QIAN e MARTIN, 2004	Framboesa vermelha	Extração com pentano-dietiléter GC-MS GC/O AEDA	79 componentes acetato de etila, hexanal, ácido butanóico, 2-nonanona, octanoato de etila, 2-nonanol, 1-octen-3-ona, butanoato de etila
LE PAPE et al., 2004	Alga vermelha	<i>Headspace</i> dinâmico GC-MS	23 componentes iodoetano, iodopentano

Quadro 4 – continuação

REFERÊNCIA	SUBSTRATO	TÉCNICA EXTRATIVA/ TÉCNICA ANALÍTICA	EXEMPLOS DE COMPONENTES DETECTADOS NO AROMA*
MATA et al., 2004	Cúrcuma	SPME GC-MS	Linalol, limoneno, borneol
RODRÍGUEZ- BURRUEZO et al., 2004	Pepino	GC-MS GC/O	53 componentes 3-metilbutil-3-metilbutanoato, acetato de butila, acetato de pentila, acetato de hexila
MAMEDE, CARDELLO e PASTORE, 2005	Mostos de uvas Pinot Noir e Chardonnay	<i>Purge and Trap</i> GC-MS	Acetaldeído, 1-propanol, acetato de etila, 2-metil butanol, acetato de isoamila, etanol
WIJAYA et al, 2005	<i>Snake fruit</i>	Extração com Freon-11 SBSE GC-MS GC/O	2-metil butanoato de metila, 3-metil butanoato de metila, 2-metil-2-butenal, metional, ácido 2-metil-butanóico, 2,5-dimetil-4-hidróxi-3(2H)-furanona, isoeugenol

* Onde disponível, aparece indicado o número de componentes detectados pelo autor

Quadro 4 - continuação

REFERÊNCIA	TÉCNICA	TIPO DE CAFÉ	NÚMERO DE COMPOSTOS	PRINCIPAIS COMPONENTES
DE MARIA et al., 1996b	GC-MS	Café torrado	nd	2-furfural pirrol metilpirazina 1,4-dimetilbenzeno
BICCHI et al., 1997	SPME GC	Café torrado arábica e robusta	36	Propan-2-ona 2-oxopropanal 2-metilbutanal 2-etilfurano 3-furanona fenol 2-propanamina 2-metoxifenol hidróxipiridina
MAYER, CZERNY e GROSCH, 1999	Análise de diluição de isótopos estáveis	Café arábica torrado (Colômbia, Brasil, El Salvador, Quênia)	28	3-mercaptop-3- metilbutilformiato, 2-furfuriltiol guaiacol etilguaiacol 2,3-butanodiona
CANTERGIANI et al., 2000	GC-FID/ <i>sniffing</i> GC-MS	Café verde	nd	Geosmina 2-metilisborneol 2,4,6-tricloroanisol 2-metoxi-3-isopropil pirazina
FULL, LONZARICH e SUGGI- LIVERANI, 2000	SDE GC- <i>sniffing</i> e GC-MS	Café verde	nd	etil isovalerato etil-2-metilbutanoato etilhexanoato etil-2-metilbutenoato
GRETSCH, SARRAZIN e LIARDON, 2000	GC-MS GC-(CHARM [®])	Café torrado da Colômbia	50	cis-3-hexenol metional cumarina furaneol 2,3-pentanodiona
MAYER e GROSCH, 2001	<i>Headspace</i> AEDA CHARM [®]	Café torrado	22	Acetaldeído metilpropanal 1- e 3-metilbutanal 2,3-butanodiona 2,3-pentanodiona 2-furfuriltiol 2-etil-3,5-dimetilpirazina 2,3-dietil-5-metilpirazina

Quadro 6 - Principais técnicas analíticas empregadas na identificação de componentes voláteis encontrados em cafés

REFERÊNCIA	TÉCNICA	TIPO DE CAFÉ	NÚMERO DE COMPOSTOS	PRINCIPAIS COMPONENTES
BICCHI et al., 2002	SPME GC-MS	Café arábica torrado e de coador	16	2,3-pentanodiona pirazina 2-metilpirazina 2-acetil furano 5-metilfurfural 2-acetilpirrol 2-furilmetanol acetato de 2-oxopropila
BÜCKING e STEINHART, 2002	Retenção em Tenax® GC-MS – GC/O	Café tratado com vapor	30	Benzaldeído, ácido 3-metil-butanóico
HAESSELBARTH e ULLRICH, 2002	Retenção em Tenax®, dessorção térmica GC-MS	Café de coador fresco	nd	Metilmercaptana etanal 2-metilbutanal 3-metilbutanal maltol ácido acético
LEE e SHIBAMOTO, 2002	GC-MS	Café Arábica verde havaiano	23	Ácido 3-metil-butanoico Álcool fenil-etílico Hexanol 4-hidróxi-3-metilacetofenona 3-metil-butanol
SANZ et al., 2002	AEDA GC-MS FD	Café de coador e café solúvel	40	(E)- β -damascenona metional 3-mercaptop-3-metilbutil-formato vanilina 2-metóxiifenol 4-etil-2-metóxiifenol 4-vinil-2-metóxiifenol 4-hidróxi-2,5-dimetil-3(2H)furanona, 5-etil-3-hidróxi-4-metil-2(5H)-furanona
NASCIMENTO, MORAIS e ROCHA, 2003	GC-MS	Café do cerrado brasileiro	27 a 33	2-metil-butanal 2,3-pentanodiona pirazina piridina 2-metil-pirazina furfural 2,6-dimetil-pirazina etil-pirazina 2-etil-3-metil-pirazina guaiacol

nd indica que, naquela referência, não houve indicação do número de compostos identificados

Quadro 6 - continuação

ANEXO 2

Referência	Amostra	Técnica	Equipamento	Coluna (comprimento x diâmetro interno x espessura da fase estacionária)
CZERNY, WAGNER e GROSCH, 1996	Grãos de café	Extração com éter dietílico, separação do concentrado por Cromatografia de camada delgada	GC-MS	SE-54 (30mm x 0,32 mm x 0,25 µm)
DE MARIA, et al., 1996a	Café verde	Headspace	GC (Carlo Erba 4300) FID	Supelcowax (30mm x 0,25 mm)
SEMMELOCH e et GROSCH, 1996	Grãos de café	Extração com pentano-éter dietílico, diclorometano ou éter dietílico, diclorometano/metanol	GC-MS	DB-WAX (50 m x 0,32 mm x 1 µm) DB-1701 (50 m x 0,32 mm x 1 µm) DB-FFAP (50 m x 0,32 mm x 1 µm)
BICCHI et al., 1997	Café torrado	SPME	GC-MS FID	OV-1(25 m x 0,32 mm x 5 µm) CP-Wax 52CB (30 m x 0,25 mm x 0,5 µm)= Chrompack
EMURA et al., 1997	Flores do cafeeiro	Destilação a vapor	GC-HP5890 MS-Hitachi M-2000	BC-WAX (50mm x 0,25 mm x 0,15 µm) DEX-CB (25mm x 0,25 mm x 0,15 µm)
RAMOS et al., 1998	Café torrado	Extração líquido-líquido SPME <i>Purge and Trap</i> Extração com fluido supercrítico	GC HP-5890 MS-5971A P&T -7695	BP-20 (50 m x 0,22 mm)
MAYER, CZERNY e GROSCH, 1999	Grãos de café	Cromatografia em camada delgada para pré-concentração e microdestilação	GC-MS	CP-Wax 52 CB (25 m x 0,32 mm x 1,2 µm) CP-Sil 8 (25 m x 0,32 mm x 0,40 µm) DB-5 (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm) DB-1701 (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm) DB-FFAP (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
CZERNY e GROSCH, 2000	Café	Extração com diclorometano Destilação a vácuo	GC-MS Olfactometria FID	DB-5 (30m X 0,32 mm x 0,25 µm) DB-FFAP column (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
PFANNKOCH e WHITECAVAGE, 2004	Café, chá e ervas	SPME <i>Headspace</i> Dessorção térmica	GC- 6890 FID	HP5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
AMSTALDEN, LEITE e MENEZES, 2001	Café torrado e moído	Headspace	GC-MS	HP Wax Bonded □olyethylene glycol (60m x 0,25 mm x 0,50 µm espessura)
BULT et al., 2001.	Suco de maçã	Headspace	GC (Carlo Erba) FID <i>Sniffing</i> MS (VG-Fisons)	Supelcowax (60 m x 0,25 mm x 0,5µm)
CANTERGIANI et al., 2001	Grãos de café verde	Hidrodestilação	GC-MS FID	DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) DB-1(30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
SANZ et al., 2001	Café torrado	Headspace (7694)	GC HP 6890 MS-5973	HP-WAX (60 m x 0,25 mm x 0,5 µm)
BICCHI et al., 2002	Café torrado	Headspace SPME	GC-FID (Carlo Erba)	FSOT(30 m x 0,25 mm x 0,5 µm)
CAPPUCCIO et al., 2002	Café torrado em pó	Headspace	Headspace HP 7694 GC HP-6890	DB-5 (60m x 0,53 mm x 5 µm)
DIRINCK, VAN LEUVEN e DIRINCK, 2002	Café verde Café de torra média	SDE	GC-MS (HP 5890 / MS-5971A)	HP PONA cross-linked methyl silicone (50mm x 0,21 mm x 0,5 □m)

Quadro 9 - Técnicas extrativas e analíticas empregadas para análise de voláteis em alimentos e tipos de colunas cromatográficas empregadas, identificadas em referências recentes

Referência	Amostra	Técnica	Equipamento	Coluna (comprimento x diâmetro interno x espessura da fase estacionária)
SCHENKER et. al., 2002b	Cafê	SDE Likens-Nickerson	GC-FID MS Olfatometria	Supelcowax 10, (60 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
YÁÑEZ et al., 2002	Óleo essencial de folhas	Hidrodestilação Extração com solvente	GC-MS (HP5890 HP5972)	INNOWax (50m X 0,25 mm x 0,25 µm) HP-5 (50m X 0,25 mm x 0,25 µm)
BOUDHRIOUA, GIAMPAOLI e BONAZZI, 2003	Banana	SPME	GC-MS 5890 MS-5971 ^a GC/O – FID	DB-5 (25m X 0,32 mm x 0,52 µm)
DIÉGUEZ et al, 2003	Uva	Extração com diclorometano: pentano	GC-MS (HP5890 MS- 5971 ^a) Olfatometria	CP-Wax 57 CB Chrompack (50m x 0,25mm x 0,20µm)
GASSENMEIER, 2003	Sorvete de baunilha	Extração com solvente	SPME GC-MS (HP5890 MS- 5971A) Sniffing	DB-1(30 m x 0,32 mm x 0,25 µm)
NASCIMENTO, MORAIS e ROCHA, 2003	Cafê gourmet e mole	SDE	GC-MS (Shimadzu QP5000)	DB5 (30m x 0,25mm x 0,25µm)
RODRÍGUEZ- BENCOMO et al., 2003	Vinhos doces	SPME	GC-FID (Varian 3400)	CP-Wax 57 CB Chrompack (50m x 0,25mm x 0,20µm)
SANDI et al., 2003	Maracujá amarelo	SPME	GC-FID (Varian 3400)	CP-SIL88 Chrompack (50 m x 0,25mm)
FRIZZO, LORENZO e DELLACASSA, 2004	Mandarina	Destilação a vapor	GC-MS (Shimadzu 14B / Shimadzu QP 5050)	SE-52 (25m x 0,32mm x 0,40µm) Carbowax 20M (25m x 0,32mm x 0,25 µm) BP-20 (25m x 0,25mm x 0,25µm)
CHOI, 2005	Kumquat (fruto cítrico)	Extração do óleo essencial por pressão	GC-MS (HP5890 MS- 5973)	Supelcowax 10, (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
CHUNG, FUNG e KIM, 2005	Sufu (extrato de soja fermentado)	Extração com fluido supercrítico e diclorometano	GC (HP6890 – FID) GC-MS (Varian Saturn 2000R 3800GC e Varian Saturn 2000R MS)	DB-5 (60m X 0,25 mm x 0,25 µm)

Quadro 9 – continuação

ANEXO 3

Composto	BLANK, SEN e GROSCH, 1991	BÜCKING, 1999	SCHENKER et al., 2001	AKYIAMA, 2003	ACREE e ARN, 2004	BUFFO e CARDELLI-FREIRE, 2004	MOTTRAM, 2004
Metanotiol		Pútrido			Alho, sulfuroso, gasolina		
Etanal							Doce, frutal, folhas verdes, queimado
Propanal							Solvente, pungente
Butanal					Pungente, verde		
Acetato de etila					Abacaxi		Frutal, solvente, doce
2-butanona					Éter		
2-metil-butanal					Cacau, amêoas		
3-metil-butanal					Malte		
2,3-butanodiona	Manteiga	Manteiga, adocicado	Manteiga	Manteiga, óleo	Manteiga		Manteiga, creme
Decano					Alcano		
Dissulfeto de dimetila					Repolho, cebola, pútrido		
Hexanal							Gramma, verde
2,3-pentanodiona	Manteiga	Manteiga, adocicado	Manteiga	Manteiga, óleo	Crema, manteiga		Nozes, malte, queimado, manteiga, óleo, maçã, frutal, pungente, enjoativo, amanteigado
Piridina					Rançoso		Queimado, pungente, solvente
Limoneno							Cítrico, éter, frutal
Pirazina							
Metil-pirazina					Pipoca		
4-metil-tiazol					Carne torrada		Verde, nozes
Etil-pirazina					Torrado		
4,5-dimetil-tiazol					Torrado, fumaça		Carne cozida, carne
2,5-dimetil-pirazina			Torrado, nozes		Cacau, nozes torradas, rosbife, medicinal		Pão, milho, torrado, grama, doce
2,6-dimetil-pirazina			Nozes, sulfurado		Nozes torradas, cacau, rosbife		Éter, frito, batata, malte, nozes, rancido, papel, torrado, doce

Quadro 17 - Descritores sensoriais empregados para componentes voláteis em alimentos

Composto	BLANK, SEN e GROSCH, 1991	BÜCKING, 1999	SCHENKER et al., 2001	AKYIAMA, 2003	ACREE e ARN, 2004	BUFFO e CARDELLI-FREIRE, 2004	MOTTRAM, 2004
2,3-dimetil-pirazina					Nozes, manteiga de amendoim, cacau, carne		Malte, pão, açúcar queimado, chocolate, pó, doce, couro, óleo de linhaça, couro novo, verde, torrado, pungente, nozes, rancido
2-etil-6-metil-pirazina			Queijo, cominho		Suor		Gramma, nozes
2-etil-5-metil-pirazina			Cominho		Fruta, doce		
2,3,5-trimetil-pirazina		Torrado, amendoado	Ervas, caldo de ervas		Torrado, batata, mofo, medicinal	Torrado	
2-etil-3-metil-pirazina			Torrado, nozes		Torrado		
2n-propil-pirazina*							
3-etil-piridina**							Tabaco, queimado, caramelo
3-metil-2-buten-1-ol**							Fresco, lavanda, herbáceo-frutal-verde
2-furfuriltiol	Torrado, café	Torrado, café	Caldo de ervas, batatas	Fumaça, torrado	Café, torrado	Torrado	
2,5-dimetil-3-etil pirazina					Batata, torrado		
Ácido acético					Azedo		Acético, vinagre
Metional	Doce, batata	Batata cozida	Batatas cozidas		Batata cozida	Batata	
Furfural					Pão, amêndoas, doce		
2,3-dietil-5-metil-pirazina	Terra, torrado	Amendoas, torrado, Chips de batata		Nozes, torrado	Batata, carne, torrado		
Benzaldeído							Amêndoas, amêndoas amargas
Linalol		Bergamota, floral	Capim, vegetais		Flores, lavanda		Anis, cítrico, floral
Ácido propanóico					Pungente, rancido, soja		
5H-5-metil-6,7-diidro-ciclopentapirazina					Torrado, nozes		
Acetil-pirazina					Torrado		
Butirolactona					Caramelo, doce		
2-furilmetanol				Fumaça, torrado			
Ácido isovalérico		Fermentado, queijo Gouda	Suor, pungente	Ácido	Suor, ácido, rançoso		
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona			Tempero				
Guaiacol	Fenólico, condimento	Fenólico, queimado	Medicinal, adesivo	Fenólico	Fumaça, doce, medicinal	Plástico	
Maltol					Caramelo		
Furaneol	Caramelo	Caramelo	Torrado, doce	Doce, caramelo	Caramelo	Caramelo	

Quadro 17 – continuação

Composto	BLANK, SEN e GROSCH, 1991	BÜCKING, 1999	SCHENKER et al., 2001	AKYIAMA, 2003	ACREE e ARN, 2004	BUFFO e CARDELLI-FREIRE, 2004	MOTTRAM, 2004
4-etil-guaiacol	Condimentado	Fenólico, condimento, cravo (flor)	Flores		Cravo, Condimento	Condimento	
4-vinil-guaiacol					Cravo, tempero		
Cis-isoeugenol					Flor		Floral, condimento

Observação: os campos em branco, denotam que não houve menção para esse composto nas referências pesquisadas

Fontes adicionais: * NIST (2003) – aroma torrado, verde, vegetal; ** FLAMENT (2002) – aroma pungente, doce, milho com nota amarga

Quadro 17 – continuação

REFERÊNCIA	ALIMENTO	COMPONENTE	DESCRIÇÃO OLFATIVA
CLARKE e MACRAE, 1985a	Café torrado	<ul style="list-style-type: none"> . Dissulfeto de dimetila . Trissulfeto de dimetila . 2-furilmetanotiol . 5-metil-2-furil-metanotiol . Furfuril-metil-dissulfeto . Kahweofurano 	<ul style="list-style-type: none"> . Vegetal cozido . Vegetal cozido . Café torrado, sulfuroso . Carneio, sulfuroso . Pão . Sulfuroso, café torrado
CANTERGIANI et al., 2000	Café verde	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 2-metóxi-3-isopropil-pirazina <input type="checkbox"/> 2,4,6-tricloroanisol <input type="checkbox"/> 2-metilisoborneol <input type="checkbox"/> Geosmina 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Terra <input type="checkbox"/> Cortiça, químico <input type="checkbox"/> Terra seca <input type="checkbox"/> Mofado
FULL, LONZARICH e SUGGI-LIVERANI, 2000	Café verde	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Cis-4-heptenal 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Peixe podre
GRETSCH, SARRAZIN e LIARDON, 2000	Café torrado colombiano	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Metional <input type="checkbox"/> Cariófileno <input type="checkbox"/> 2,3-dietil-5-metilpirazina <input type="checkbox"/> Cumarina <input type="checkbox"/> Furfurilmercaptana <input type="checkbox"/> Fenol <input type="checkbox"/> Trimetilpirazina <input type="checkbox"/> Guaiaacol 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Verde <input type="checkbox"/> Terra <input type="checkbox"/> Terra <input type="checkbox"/> Doce <input type="checkbox"/> Sulfuroso <input type="checkbox"/> Fumaça <input type="checkbox"/> Torrado <input type="checkbox"/> Fumaça
GROSCH, 2000	Café torrado e moído	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 3-isobutil-2-metóxi-pirazina <input type="checkbox"/> 2-metoxi-3,5-dimetilpirazina <input type="checkbox"/> 3-metilbutirato de etila <input type="checkbox"/> 3-isopropil-2-metóxi-pirazina 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Adocicado, caramelo <input type="checkbox"/> Terra <input type="checkbox"/> Torrado, sulfuroso <input type="checkbox"/> Fumaça
TRUGO, 2000	Café torrado	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 2,3,5-trimetil-pirazina <input type="checkbox"/> Ácido acético <input type="checkbox"/> Furilmetanol <input type="checkbox"/> Guaiaacol 	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> mato <input type="checkbox"/> vinagre <input type="checkbox"/> chulé <input type="checkbox"/> ruim, pomada

Quadro 18 - Descrição olfativa associada aos componentes voláteis presentes em café

REFERÊNCIA	ALIMENTO	COMPONENTE	DESCRIÇÃO OLFATIVA
MAYER e GROSCH, 2001	Café torrado brasileiro e colombiano	<input type="checkbox"/> 3-metilbutanal <input type="checkbox"/> 2,3-butanodiona <input type="checkbox"/> 2-furfuriltiol <input type="checkbox"/> 2-etil-3,5-dimetilpirazina <input type="checkbox"/> 2-acetil-1-pirrolina <input type="checkbox"/> p-anisaldeído <input type="checkbox"/> Benzaldeído <input type="checkbox"/> β -damascenona	<input type="checkbox"/> Malte <input type="checkbox"/> Manteiga <input type="checkbox"/> Café, tostado <input type="checkbox"/> Terra, mofo <input type="checkbox"/> Pipoca <input type="checkbox"/> Anis <input type="checkbox"/> Amendoa <input type="checkbox"/> Mel, fruta
BUCKING e STEINHART, 2002	Café	<input type="checkbox"/> Ácido 3-metil-butanóico	<input type="checkbox"/> Suor desagradável
SCHENKER et. al., 2002b	Café torrado	<input type="checkbox"/> 2,3-butanodiona <input type="checkbox"/> β -damascenona <input type="checkbox"/> 2-etil-3,5-dimetil-pirazina <input type="checkbox"/> 2-furfuriltiol <input type="checkbox"/> Guaiacol <input type="checkbox"/> Furaneol <input type="checkbox"/> 2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona <input type="checkbox"/> Metional <input type="checkbox"/> Ácido 3-metil-butírico <input type="checkbox"/> Propilpirazina	<input type="checkbox"/> Manteiga <input type="checkbox"/> Frutas, flores <input type="checkbox"/> Terra, batatas, torrado <input type="checkbox"/> Batatas <input type="checkbox"/> Cola, fumaça, medicinal <input type="checkbox"/> Torrado, doce <input type="checkbox"/> Tempero, salsão <input type="checkbox"/> Batatas cozidas, doce <input type="checkbox"/> Suor, ácido <input type="checkbox"/> Batatas, vegetais

Quadro 18 – continuação

Composto químico	BÜCKING, 1999	SCHENKER et al., 2001	BUFFO e CARDELLI-FREIRE, 2004
p-anisaldeído (4-metóxi benzaldeído)	nd	Capim, feno	nd
2,3-butanodiona (diacetil)	Manteiga, adocicado	Manteiga	nd
β -damascenona (2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexadienil-(e)-2-buten-1-ona)	Mel, frutal	Frutas, flores	Fruta
2,5-dimetil-pirazina	nd	Torrado, nozes	nd
2,6-dimetil-pirazina	nd	Nozes, sulfurado	nd
2-etenil-5-metil-pirazina	nd	Queimado, mofado	nd
4-etil-guaiacol	Fenólico, condimentado, cravo (flor)	Flores	Condimento
2-etil-3-metil-pirazina	nd	Torrado, nozes	nd
2-etil-5-metil-pirazina	nd	Cominho	nd
2-etil-6-metil-pirazina	nd	Queijo, cominho	nd
2-furfuriltiol (furfuril-mercaptana ou 2-furanmetanotiol)	Torrado, café	Caldo de ervas, batatas	Torrado
Guaiacol	Fenólico, queimado	Medicinal, adesivo	Plástico
Hexanal	nd	Capim	nd
Furaneol	Caramelo	Torrado, doce	Caramelo

Quadro 19 - Descritores sensoriais empregados para os componentes voláteis identificados como de impacto relevante no aroma em café torrado

Composto químico	BÜCKING, 1999	SCHENKER et al., 2001	BUFFO e CARDELLI-FREIRE, 2004
2-isobutil-3-metóxi-pirazina	Amendoado, torrado, páprica	Ervas, fumaça	Plantas
Kahweofurano	nd	Cafê, fumaça	nd
Linalol	Bergamota, floral	Capim, vegetais	nd
Metional	Batata cozida	Batatas cozidas	Batata
2-metil-butanal	Malte, Pungente, fermentado	Caramelo, nozes	nd
3-metil-2-buten-1-ol	Animal	Vegetais, verde	nd
Ácido 3-metil-butírico	Fermentado, queijo Gouda	Suor, pungente	nd
2-metil-3-furantiol (3-mercapto-2-metilfurano)	Carne	Sulfuroso	Nozes
3-metil-mercapto-3-metilbutilformiato	Torrado, <i>catty</i> , <i>johannisbeer</i>	Ervas	nd
1-octen-3-ona	Cogumelo	Fungos, feno	nd
2,3-pentanodiona	Manteiga, adocicado	Manteiga	nd
Propil-pirazina		Batatas, vegetais	nd
2,3,5-trimetil-pirazina	Torrado, amendoado	Ervas, caldo de ervas	Torrado
4-vinil-guaiacol	Fenólico, cravo (flor), condimentado,	Doce, flores	Cravo
Vanilina	Baunilha	nd	Baunilha
Etanal	Frutal, pungente	nd	nd
Propanal	Frutal	nd	nd
3-metil-butanal	Malte, pungente, fermentado	nd	nd
Metil-propanal	Frutal, malte	nd	nd
2-etil-4-hidróxi-5-metil-3[2H]-furanona (homofuraneol)	Caramelo	nd	nd
3-hidróxi-4,5-dimetil-2[5H]-furanona (Sotolon)	Caramelo queimado	nd	Torrado
5-etil-3-hidróxi-4-metil-2[5H]-furanona (Abhexon)	Condimentado	nd	Algodão doce
Metilmercaptana	Pútrido	nd	nd
Sulfeto de dimetila	Carvão	nd	nd
Trissulfeto de dimetila	Sulfuroso	nd	nd
2-etil-3,5-dimetil-pirazina	Amendoado, assado	nd	Queimado
2,3-dietil-5-metil-pirazina	Amendoado, torrado, Chips de Batata	nd	nd
(E)cis-2-nonenal	Gorduroso, couro, pepino	nd	Torrado
Ácido 2-metilbutírico	Fermentado, queijo Gouda	nd	nd
2-isopropil-3-metóxi-pirazina	Amendoado, torrado	nd	Verde
5-metil-6,7-dihidrociclopentapirazina	nd	nd	Mel
2,4,5-trimetiltiazol	nd	nd	Plástico

nd indica que, naquela referência, não houve descrição sensorial para aquele composto de impacto aromático

Quadro 19 – continuação

ANEXO 4

ITEM	RECOMENDAÇÃO
Seletividade	Como de fato há muito poucos métodos que respondem a apenas um analito, o termo seletividade tem sido preferido à especificidade. A seletividade de um método refere-se à extensão à qual o mesmo pode determinar analitos particulares sob certas condições em misturas ou matrizes, simples ou complexas, sem interferentes de outros componentes.
Linearidade	A linearidade deve ser avaliada em toda a faixa de trabalho do método analítico, através de inspeção visual do gráfico de sinais, função da concentração do analito. Define a habilidade em obter resultados proporcionais à concentração do analito.
Faixa de trabalho	É o intervalo entre os limites máximo e mínimo, incluindo-os, cuja determinação tenha sido demonstrada com precisão, exatidão e linearidade. Normalmente é expresso nas mesmas unidades dos resultados de teste (p.ex. porcentagem, partes por milhão) obtidas pelo método analítico.
Limite de detecção	É o ponto no qual o valor medido é maior do que a incerteza a ele associada. Em cromatografia, o limite de detecção é a quantidade de injeção que resulta em um pico com altura ao menos duas ou três vezes maior que a linha base de ruído. Definido como $LD = 3 \times$ (desvio-padrão da resposta / inclinação da curva de calibração) (ICH, 1996).
Limite de quantificação	É a menor quantidade injetada que permite medidas precisas ou o conteúdo igual ou maior que o menor ponto de concentração na curva de calibração. Análise cromatográfica tipicamente requer um pico com altura 10 a 20 vezes maior que a linha base de ruído. Definido como $LQ = 10 \times$ (desvio-padrão da resposta/inclinação da curva de calibração) (ICH, 1996).
Precisão	A precisão de um método é a extensão à qual resultados de testes individuais de injeções múltiplas de uma série de padrões apresentam concordância (ISO, 1993). O desvio padrão medido pode ser subdividido em três categorias: repetibilidade (intralaboratorial), precisão intermediária e reprodutibilidade (interlaboratorial).
Repetibilidade	Definida como a proximidade do acordo entre resultados de medições sucessivas no mesmo material conduzida nas mesmas condições de medição.
Precisão intermediária	Definida como a variabilidade ao longo prazo do processo de medição (ICH, 1995), sendo determinada comparando os resultados de uma corrida dentro de um único laboratório durante um número de semanas podendo refletir discrepâncias em resultados obtidos por diferentes operadores, instrumentos, padrões e reagentes, colunas ou combinações desses. O objetivo da validação da precisão intermediária é verificar que num mesmo laboratório o método proverá os mesmos resultados após seu desenvolvimento.
Exatidão	É a extensão na qual os resultados de teste gerados pelo método e o valor verdadeiro concordam (ISO, 1993). A variação deveria abranger a faixa de interesse, particularmente incluindo um ponto próximo ao limite de quantificação. A recuperação esperada depende da matriz da amostra, do procedimento utilizado para processar a amostra e da concentração do analito. Recomenda-se enfaticamente somente determinar a exatidão após definidos precisão, linearidade e especificidade (ISO, 1990 e 1993).
Robustez	A robustez examina o efeito que parâmetros operacionais tem no resultado da análise. Para a determinação da robustez de um método, diversos parâmetros operacionais são variados dentro de uma faixa realista e a influência quantitativa das variáveis é determinada.

Fontes: EURACHEM GUIDE (1998), EURACHEM/CITAC (2000), IUPAC (2001) e LABCOMPLIANCE (2001).

Quadro 23- Resumo das recomendações consultadas para validação de metodologia

ANEXO 5

Tabela 26 - Resultados da área cromatográfica, expressos como porcentagem em relação às unidades de área cromatográfica total por amostra, encontrada nos cromatogramas das amostras 1 e 2, indicando compostos com identificação provável, e respectiva faixa dos tempos de retenção por composto

Composto	CAS*	Tempo de retenção (min)	Amostra 1		Amostra 2	
			Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
2-metil-pentano	107-83-5	3,71				
Metanotiol	74-93-1	3,96 a 4,05				
Etanal	75-07-0	4,10 a 4,12	0,04	74	0,07	60
Propanal	123-38-6	4,72 a 4,74				
2-metil-propanal	78-84-2	4,97	0,02	80		
Acetona	67-64-1	4,98 a 5,02			0,07	80
Acetato de metila	79-20-9	5,15 a 5,18			0,03	72
2-metil-furano	534-22-5	5,79 a 5,82				
Butanal	123-72-8	5,87 a 5,91				
Acetato de Etila	141-78-6	6,12				
Nonano	111-84-2	6,23				
2-butanona	78-93-3	6,32 a 6,37	0,01	59		
2,3-dihidro-4-metil-furano	34314-83-5	6,43 a 6,47	0,04	64	0,12	87
2-metil-butanal	96-17-3	6,59 a 6,63	0,03	94	0,04	86
3-metil-butanal	590-86-3	6,70 a 6,74	0,03	94	0,06	74
Etanol	64-17-5	7,14			0,06	56
2,5-dimetil-furano	625-86-5	7,62 a 7,68				
1-metil-piperidina	626-67-5	7,92 a 8,51	0,07	87		
2,3-butanodiona	431-03-8	8,39 a 8,45	0,08	80	0,07	64
Decano	124-18-5	8,84			0,03	90
5-etil-2,2,3-trimetil-heptano	62199-06-8	9,98				
5-metil-octadecano	25117-35-5	10,04				
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina	694-55-3	10,14 a 10,59	0,08	64		
Octano	111-65-9	10,36				
3-hexanona	589-38-8	10,67 a 10,73				
4-metil-decano	2847-72-5	10,73			0,05	83
2,3-pentanodiona	600-14-6	11,10 a 11,19	0,09	94	0,05	75
Dissulfeto de dimetila	624-92-0	11,50 a 11,60				
Hexanal	66-25-1	11,88 a 11,98	0,01	62	0,04	80
2,4-dimetil-oxazol	7208-051	12,37				
2-metil-2-butenal	497-03-0	12,42 a 12,49				
3-penten-2-ona	3102-33-8	14,03 a 14,14	0,02	80		
Etil-benzeno	100-41-4	14,08			0,07	52
2,4-dimetil-3-pentanona	565-80-0	14,46 a 14,57				
p-xileno	106-42-3	14,51 a 14,58			0,03	53
2,3-dimetil-isoxazol	300-87-8	14,58 a 14,70				
1-metil-1H-pirrol	96-54-8	15,08				
4,5-dimetil-oxazol	20662-83-3	15,41				
Piridina	110-86-1	16,98 a 17,03	1,43	91	0,95	91

Tabela 26 – continuação

Composto	CAS*	Tempo de retenção (min)	Amostra 1		Amostra 2	
			Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
2-metil-ciclopentanona	1120-72-5	17,38 a 17,47				
Trimetil-oxazol	20662-84-4	17,52 a 17,59	0,03	91		
Dodecano	112-40-3	17,78 a 17,80			0,17	96
Limoneno	5989-27-5	17,58 a 17,99	0,01	91	0,01	68
Pirazina	290-37-9	18,40 a 18,41	0,08	90	0,18	90
4-metil-piridina	108-89-4	18,48 a 18,51	0,03	93		
3-hexen-2-ona	763-93-9	18,54				
1-etil-3-metil-benzeno	620-14-4	18,59				
2-metóxi-metil-furano	13679-46-4	19,48 a 19,57				
2,6,10-trimetil-dodecano	3891-98-3	19,88				
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona	2403-57-8	20,00 a 20,04	0,01	81		
Metil-pirazina	109-08-0	20,25 a 20,33	1,21	91	1,45	91
4-metil-tiazol	693-95-8	20,83 a 20,89	0,03	55	0,15	72
3-hidróxi-2-butanona	513-86-0	20,93 a 21,55	0,05	80		
3-metil-piridina	108-99-6	21,08 a 21,15			0,08	87
2,6,11-trimetil-dodecano	31295-56-4	21,33				
1-hidróxi-2-propanona	116-09-6	21,43 a 21,57	0,35	59	0,49	70
2,5-dimetil-pirazina	123-32-0	22,00 a 22,09	0,96	91	0,76	91
2,6-dimetil-pirazina	108-50-9	22,18 a 22,27	1,04	91	1,03	91
Etil-pirazina	13925-00-3	22,33 a 22,39	0,56	91	0,67	91
2,3-dimetil-pirazina	5910-89-4	22,67 a 22,74	0,31	87	0,53	87
2-ciclopenten-1-ona	930-30-3	23,00				
2,4,6-trimetil-piridina	108-75-8	23,20				
2-metil-2-ciclopenten-1-ona	1120-73-6	23,25 a 23,32	0,03	91	0,13	87
4,5-dimetil-tiazol	3581-91-7	23,41	0,01	61	0,09	75
3-etil-piridina	536-78-7	23,52 a 23,58	0,09	95	0,23	62
2-etil-6-metil-pirazina	13925-03-6	23,66 a 23,68	0,75	91	0,54	91
2-etil-5-metil-pirazina	13360-64-0	23,80 a 23,82	0,51	91	0,46	91
Tetradecano	629-59-4	23,92				
2,3,5-trimetil-pirazina	14667-55-1	24,07 a 24,13	0,60	88	0,58	70
2-etil-3-metil-pirazina	15707-23-0	24,12 a 24,16	0,20	82	0,30	91
2n-propil-pirazina	18138-03-9	24,45 a 24,47	0,04	87	0,10	93
3-metil-2-buten-1-ol	556-82-1	24,55	0,02	87	0,16	86
2,6-dietil-pirazina	13067-27-1	24,77 a 24,80	0,08	94	0,10	93
2-furfuriltiol	98-02-2	24,85 a 24,87				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	13360-65-1	25,00 a 25,03	0,50	95	0,38	94
Ácido acético	64-19-7	25,05 a 25,25	3,97	91	5,53	90
Metional	3268-49-3	25,36 a 25,37	0,87	57		
2-metil-6-propil-pirazina	29444-46-0	25,45 a 25,67				
1-(acetil-óxi)-2-propanona	592-20-1	25,51			1,33	72
Furfural	98-01-1	25,53 a 25,61	0,85	81	1,13	87
2-etil-1-hexanol	104-76-7	25,87 a 25,88	0,09	64	0,99	83
2,3-dietil-5-metil-pirazina	18138-04-0	25,98 a 26,01	0,15	68	0,36	85
1-(furanil)-etanona	1192-62-7	26,28 a 26,37	0,52	87	0,64	87
2-butil-furano	4466-24-4	26,62 a 26,65				
Benzaldeído	100-52-7	26,66 a 26,73	0,30	63	0,33	75

Tabela 26 – continuação

Composto	CAS*	Tempo de retenção (min)	Amostra 1		Amostra 2	
			Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
Acetato de 2-furanmetanoila	623-17-6	26,89	0,72	97	0,75	97
Linalol	78-70-6	26,91 a 27,04	0,33	72	0,26	68
Ácido propanóico	79-09-4	26,97 a 26,98	0,62	81	0,74	70
2,3-butenodiol	513-85-9	27,50				
5-metil-2-furanocarboxialdeído	620-02-0	27,56 a 27,63	1,79	94	1,75	94
Propanoato de 2-furanmetanoila	623-19-8	27,87 a 27,92				
(1-metil-etil)-pirazina	38713-41-6	27,92 a 27,96			0,21	87
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo	56341-36-7	27,96				
1-(2-piridinil)-etanona	1122-62-9	28,06 a 28,13	0,15	95	0,12	94
(2,2'-metileno-bis)-furano	1197-40-6	28,13 a 28,19			0,04	64
1-etil-1H-pirrol-2-carboxialdeído	2167-14-8	28,19 a 28,25				
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	23747-48-0	28,34 a 28,40	0,19	94	0,15	93
1-metil-1H-pirrol-2-carboxialdeído	1192-58-1	28,41 a 28,48	1,21	91	1,00	91
Acetil-pirazina	22047-25-2	28,46 a 28,51				
1-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-etanona	932-16-1	28,48				
Butirolactona	96-48-0	28,59 a 28,71	1,36	90	2,82	91
Isobenzofurano	496-14-0	28,76				
4-metil-benzaldeído	104-87-0	28,82				
2-furilmetanol	98-00-0	28,86 a 28,98	7,03	94	15,34	94
Ácido isovalérico	503-74-2	29,02 a 29,16	1,21	64	0,71	72
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano	13678-51-8	29,23				
2-[(2-etil-hexil)-oxi]-etanol	1559-35-9	29,55 a 29,60	1,79	68		
4-(5-metil-2-furanil)-2-butanona	13679-56-6	29,76 a 29,80				
5-metil-2-furanmetanol	3857-25-8	29,86			0,21	89
n-acetil-4H-piridina	67402-83-9	29,96				
3-metil-2(5H) furanona	22122-36-7	30,05				
3,4-dimetil-2,5-furanodiona	766-39-2	30,16 a 30,24	0,42	91	0,34	90
Ácido 2-butenóico	107-93-7	30,61				
1-(3-tienil)-etanona	1468-83-3	30,70 a 30,88				
1-(2-tienil)-etanona	88-15-3	30,80				
Salicilato de metila	119-36-8	30,84				
Ácido 3-metil-2-butanóico	541-47-9	30,92				
1-(4-piridinil)-etanona	1122-54-9	31,04				
Ácido 4-metil-pentanóico	646-07-1	31,12				
4-amino-3-metil-fenol	2835-99-6	31,16				
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	80-71-7	31,42 a 31,52	1,68	60	2,05	54
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol	1438-94-4	31,50 a 31,56				
Guaiacol	90-05-1	31,94 a 32,00	0,78	94	2,01	95
3-(2-furanil)-2-propenal	623-30-3	31,96				
Álcool benzílico	100-51-6	32,18 a 32,24	0,24	95	0,26	96
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	21835-01-8	32,32 a 32,41	0,75	94	0,25	94
Álcool fenil-etênico	60-12-8	32,60 a 32,67	0,36	91		
2-fenil-2-butenal	4411-89-6	32,95 a 33,01				
2-tiofenometanol	5402-55-1	33,01 a 33,12	0,70	93	0,49	95
Maltol	118-71-8	33,34 a 33,44	2,52	91	0,78	91

Tabela 26 – continuação

Composto	CAS*	Tempo de retenção (min)	Amostra 1		Amostra 2	
			Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	1072-83-9	33,39 a 33,50	1,64	94	1,62	95
Éter difurfurílico	4437-22-3	33,54 a 33,60	0,23	76	0,11	90
Fenol	108-95-2	33,78 a 33,91	1,24	92	1,19	95
2-furoil-hidrazida	3326-71-4	33,99				
Furaneol	3658-77-3	34,03 a 34,19	0,48	80	0,18	57
1-metil-1H-pirrol-2-carboxaldeído	1003-29-8	34,13				
4-etil-guaiacol	2785-89-9	34,22 a 34,25	3,14	91	2,53	80
4-isopropil-2-ciclohexenona	500-02-7	34,37				
2-pirrolidona	616-45-5	34,41 a 34,42	0,69	74		
4-piridina-metanol	586-95-8	35,18				
Ácido nonanóico	112-05-0	35,64 a 35,75			0,08	91
2-(ciclohex-1-enil)-furano	14174-50-6	35,70 a 35,91				
4-vinil-guaiacol	7786-61-0	36,17 a 36,25	1,30	90	0,61	53
m-tert-butil-fenol	585-34-2	37,25				
2,4-ditert-butil-fenol	96-76-4	37,28 a 37,34	0,41	96		
Ácido 4-oxo-pentanóico	123-76-2	37,61 a 37,84				
Cis-isoeugenol	97-54-1	37,83 a 38,00	0,34	61		
2,3-diidro-benzofurano	496-16-2	38,31				
6-metil-3-piridinol	1121-78-4	38,47 a 38,75				
3-piridinol	109-00-2	38,62 a 38,75	0,74	87	0,26	90
Carvomentol	499-69-4	38,84				
4-metóxi-2-metil-1-(metiltio)-benzeno	22583-04-6	38,93 a 38,99				
Ácido benzóico	65-85-0	38,98 a 39,29	0,17	64	0,27	89
Indol	120-72-9	39,06 a 39,18				
5-hidroximetil-diidrofuran-2-ona	194-17-0	39,43 a 39,63			0,30	89
5-hidróximetil-2-furanocarboxialdeído	67-47-0	39,53 a 39,65	1,24	94		
1-butil-2-(8-metilnonil)-ftalato	89-18-9	39,99				
Vanilina	121-33-5	40,41 a 40,55	0,32	65	0,37	68
1-(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-etanona	498-02-2	41,32 a 41,43				
Cafeína	58-08-2	42,00				

Observação: os campos em branco, denotam não ter havido detecção para esse composto

NIST - Biblioteca do programa NIST – (NIST, 2002). Representa probabilidade de exatidão na identificação do composto, estimada pela própria biblioteca

* CAS – Número de registro do *Chemical Abstract Service*.

Tabela 27 - Resultados da área cromatográfica, expressos como porcentagem em relação às unidades de área cromatográfica total por amostra, encontrada nos cromatogramas das amostras 3 a 7, indicando compostos com identificação provável, e respectiva faixa dos tempos de retenção por composto

Composto	Amostra 3		Amostra 4		Amostra 5		Amostra 6		Amostra 7	
	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
2-metil-pentano	0,11	64								
Metanotiol			0,03	70	0,08	65	0,02	95	0,02	78
Etanal	0,03	74	0,14	64	0,09	64	0,18	64	0,10	84
Propanal			0,01	61			0,01	64	0,02	89
2-metil-propanal										
Acetona			0,23	72	0,34	80	0,54	72	0,53	80
Acetato de metila			0,04	72	0,16	72	0,12	78	0,13	72
2-metil-furano			0,03	81	0,03	83	0,03	90	0,05	91
Butanal					0,01	83			0,02	90
Acetato de Etila			0,07	80	0,03	85				
Nonano					0,01	70				
2-butanona			0,10	64	0,14	78	0,28	64	0,21	86
2,3-dihidro-4-metil-furano	0,12	68	0,04	72	0,08	74			0,04	58
2-metil-butanal			0,14	90	0,10	90	0,31	90	0,27	91
3-metil-butanal			0,14	91	0,10	91	0,25	94	0,22	93
Etanol										
2,5-dimetil-furano							0,01	59	0,01	81
1-metil-piperidina			0,11	90						
2,3-butanodiona	0,04	68	0,08	72	0,07	72	0,12	72	0,15	64
Decano			0,02	91	0,02	81			0,01	93
5-etil-2,2,3-trimetil-heptano									0,01	59
5-metil-octadecano									0,01	64
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina							0,04	83	0,10	74
Octano									0,01	59
3-hexanona			0,01	55	0,02	72	0,03	72	0,04	78
4-metil-decano										
2,3-pentanodiona	0,02	70	0,06	72	0,06	94	0,14	98	0,19	96
Dissulfeto de dimetila			0,01	91	0,02	93	0,02	96	0,02	95
Hexanal			0,01	59	0,03	65	0,01	64	0,03	83
2,4-dimetil-oxazol					0,02	84				
2-metil-2-butenal							0,07	91	0,06	83
3-penten-2-ona			0,03	86	0,05	80	0,04	61	0,05	91
Etil-benzeno										
2,4-dimetil-3-pentanona					0,02	59	0,02	64	0,05	72
p-xileno					0,03	93				
2,3-dimetil-isoxazol			0,01	64			0,02	62	0,02	64
1-metil-1H-pirrol			0,04	87	0,14	87				
4,5-dimetil-oxazol					0,02	87				
Piridina	0,32	91	0,60	91	0,83	91	0,21	91	0,28	91
2-metil-ciclopentanona					0,01	76	0,10	76	0,01	76
Trimetil-oxazol			0,03	93	0,09	95	0,11	94	0,09	91
Dodecano							0,08	97		
Limoneno	0,02	91			0,02	91	0,02	83	0,01	90

Tabela 27 – continuação

Composto	Amostra 3		Amostra 4		Amostra 5		Amostra 6		Amostra 7	
	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
Pirazina	0,04	86	0,29	91	0,20	90	0,21	91	0,23	90
4-metil-piridina	0,02	62								
3-hexen-2-ona					0,02	62				
1-etnil-3-metil-benzeno					0,01	87				
2-metóxi-metil-furano			0,06	90	0,19	91	0,16	81	0,17	91
2,6,10-trimetil-dodecano									0,03	80
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona							0,06	81	0,05	81
Metil-pirazina	0,70	91	1,63	91	1,31	91	1,65	91	2,03	91
4-metil-tiazol	0,04	68	0,09	87	0,17	81	0,15	83	0,11	93
3-hidróxi-2-butanona			0,11	78	0,41	59			0,09	64
3-metil-piridina			0,02	93						
2,6,11-trimetil-dodecano									0,19	87
1-hidróxi-2-propanona	0,48	59	0,63	78			0,35	75	0,61	59
2,5-dimetil-pirazina	0,48	91	0,78	91	0,69	91	1,04	91	1,33	91
2,6-dimetil-pirazina	0,61	91	0,84	91	0,82	91	1,07	91	1,22	91
Etil-pirazina	0,31	91	0,76	91	0,87	91	1,19	91	1,33	91
2,3-dimetil-pirazina	0,24	87	0,33	87	0,21	91	0,25	91	0,33	90
2-ciclopenten-1-ona			0,08	91						
2,4,6-trimetil-piridina	0,02	87								
2-metil-2-ciclopenten-1-ona			0,15	91	0,09	91	0,08	91	0,08	91
4,5-dimetil-tiazol			0,02	87	0,03	91	0,02	93	0,02	90
3-etil-piridina	0,12	61	0,14	56	0,16	95	0,05	62	0,02	93
2-etil-6-metil-pirazina	0,44	91	0,84	91	1,09	91	1,65	91	1,75	91
2-etil-5-metil-pirazina	0,28	91	0,55	91	0,68	91	1,13	91	1,22	91
Tetradecano					0,24	98	0,15	98		
2,3,5-trimetil-pirazina	0,58	64	0,40	89	0,31	83	0,37	85	0,13	91
2-etil-3-metil-pirazina	0,20	79	0,31	94	0,40	94	0,58	94	1,07	94
2n-propil-pirazina	0,03	93	0,12	93	0,14	94	0,16	91	0,17	94
3-metil-2-buten-1-ol										
2,6-dietil-pirazina	0,09	91	0,17	94	0,31	93	0,42	94	0,51	94
2-furfuriltiol					0,41	80	0,37	90	0,40	94
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	0,41	95	0,59	95	0,80	95	1,16	95	0,31	95
Ácido acético	5,55	90	2,61	91	3,42	91	1,93	91	4,57	90
Metional			1,10	71	1,14	72	1,11	62	0,68	81
2-metil-6-propil-pirazina					0,10	64	0,20	89		
1-(acetil-óxi)-2-propanona										
Furfural	2,05	66	5,38	91	3,10	91	6,39	91	4,52	91
2-etil-1-hexanol	0,22	78								
2,3-dietil-5-metil-pirazina	0,12	73	0,22	89	0,66	76	0,59	74	0,83	95
1-(furanil)-etanona	0,27	64	1,05	90	0,74	81	1,10	86	1,01	86
2-butil-furano			0,20	56	0,32	53	0,38	65	0,57	64
Benzaldeído	0,21	64	0,31	90	0,32	96	0,36	96	0,52	94
Acetato de 2-furanmetanoila	0,33	90	0,97	97	2,73	97	1,96	97	1,79	95
Linalol	0,34	73	0,29	75	0,19	84	0,24	64	0,39	87
Ácido propanóico	0,62	81	0,50	60	0,65	74	0,33	64	0,02	74

Tabela 27 – continuação

Composto	Amostra 3		Amostra 4		Amostra 5		Amostra 6		Amostra 7	
	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
2,3-butenodiol	0,48	80								
5-metil-2-furanocarboxialdeído	1,09	94	2,39	94	1,75	91	3,49	93	3,02	90
Propanoato de 2-furanmetanoila					0,36	62	0,15	87	0,51	93
(1-metil-etil)-pirazina	0,16	76			0,16	87	0,39	87	0,48	70
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo			0,33	72						
1-(2-piridinil)-etanona	0,06	93	0,14	96	0,19	94	0,12	96	0,16	95
(2,2'-metileno-bis)-furano					0,24	96	0,13	96	0,32	95
1-etil-1H-pirrol-2-carboxialdeído					0,43	53	0,38	87	0,32	80
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	0,19	97	0,29	94			0,20	76	0,32	92
1-metil-1H-pirrol-2-carboxialdeído	0,36	91	0,98	94			1,02	97	0,72	90
Acetil-pirazina	0,43	96							0,29	67
1-(1-metil-1H-pirrol-2-il)-etanona					1,37	90				
Butirolactona	1,76	91	1,24	90	1,94	90	0,73	65	0,90	90
Isobenzofurano									0,30	80
4-metil-benzaldeído	0,38	80								
2-furilmetanol	10,03	94	4,97	94	4,26	94	2,50	95	3,16	94
Ácido isovalérico	0,72	58	0,72	69	0,88	74	0,65	72	0,57	64
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano									0,46	74
2-[(2-etil-hexil)-oxi]-etanol	1,56	68			1,03	83	0,96	87	1,17	72
4-(5-metil-2-furanil)-2-butanona							0,19	74	0,28	60
5-metil-2-furanmetanol										
n-acetil-4H-piridina	0,38	75	0,48	78						
3-metil-2(5H) furanona					0,10	81				
3,4-dimetil-2,5-furanodiona	0,26	91	0,15	91	0,25	91	0,15	90	0,25	91
Ácido 2-butenóico									0,27	70
1-(3-tienil)-etanona							0,27	58	0,05	81
1-(2-tienil)-etanona									0,40	55
Salicilato de metila									0,16	81
Ácido 3-metil-2-butanóico									0,52	86
1-(4-piridinil)-etanona									0,12	93
Ácido 4-metil-pentanóico			0,36	53						
4-amino-3-metil-fenol									0,26	64
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	2,10	91	3,04	91	2,02	91	0,92	87	2,26	91
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol					0,59	87	0,61	87	0,96	90
Guaiacol	1,36	94	2,18	95	1,52	95	0,83	94	1,13	94
3-(2-furanil)-2-propenal							0,58	96		
Álcool benzílico	0,60	96					0,43	78	0,23	60

Tabela 27 – continuação

Composto	Amostra 3		Amostra 4		Amostra 5		Amostra 6		Amostra 7	
	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)	Área (%)	NIST (%)
3-etil-2-hidróxi-2-ciclopenten-1-ona	0,52	97	0,78	95	1,03	94	0,30	93	0,54	94
Álcool fenil-etênico	0,29	91	0,20	91	0,23	86	0,18	53	0,18	93
2-fenil-2-butenal			0,18	66			0,22	95	0,18	93
2-tiofenometanol	0,65	93					0,11	55	0,40	70
Maltol	2,32	91	1,63	91	2,37	91	1,08	91	1,94	91
1-(1H-pirrol-2-il)-etanona	2,00	95	1,18	94	1,70	94	0,72	94	1,43	91
Éter difurfurílico	0,21	53	0,47	91	0,41	90	0,33	87	0,59	87
Fenol	1,24	94	1,64	89	1,37	93			0,36	81
2-furoil-hidrazida									0,33	80
Furaneol	0,12	58	0,11	79	0,48	52	0,31	56	0,41	97
1-metil-1H-pirrol-2-carboxaldeído									2,58	64
4-etil-guaiacol	4,36	55	3,25	68	3,00	93	1,98	76	0,15	93
4-isopropil-2-ciclohexenona									0,35	83
2-pirrolidona	0,64	87								
4-piridina-metanol									1,39	72
Ácido nonanóico			0,38	94	0,32	94	0,34	72	0,22	76
2-(ciclohex-1-enil)-furano							0,55	96	0,29	70
4-vinil-guaiacol	2,70	94	2,77	94	1,20	90	1,71	96	2,41	91
m-tert-butil-fenol							0,50	94		
2,4-ditert-butil-fenol	0,74	97	0,39	93					0,21	95
Ácido 4-oxo-pentanóico					0,33	53			0,21	64
Cis-isoeugenol	0,32	64	0,37	65	0,17	58	0,11	67	0,16	98
2,3-diidro-benzofurano									0,09	76
6-metil-3-piridinol	0,59	91	0,35	93	0,25	81	0,14	76	0,25	81
3-piridinol			1,03	90	1,03	87	0,95	87	1,19	91
Carvomentol									0,08	60
4-metóxi-2-metil-1-(metiltio)-benzeno					0,25	60			0,12	60
Ácido benzóico	0,19	95	0,29	93	0,19	95			0,09	93
Indol							0,20	70	0,14	76
5-hidroximetil-diidrofuran-2-ona			0,15	64	1,44	94	0,11	59	0,17	72
5-hidroximetil-2-furanocarboxaldeído	0,64	94	3,33	94			1,91	94	3,08	95
1-butil-2-(8-metilnonil)-ftalato									0,66	78
Vanilina	0,37	86	0,46	89	0,34	85	0,51	81	0,24	81
1-(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-etanona			0,24	93					0,10	60
Cafeína			0,70	93	0,96	94				

Observações: - Os tempos de retenção dos compostos bem como os números do CAS (Número de registro do *Chemical Abstract Service*) são idênticos aos apresentados na Tabela 27 para cada composto.
 - Os campos em branco, denotam não ter havido detecção para esse composto

NIST - Biblioteca do programa NIST – (NIST, 2002). Representa probabilidade de exatidão na identificação do composto, estimada pela própria biblioteca

ANEXO 6

AMOSTRA 1

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
3-metil-2-buten-1-ol	I	X		
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
3-hidróxi-2-butanona	I			
Álcool benzílico	I			
Maltol	I			
Furaneol	I			
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
1-metil-piperidina	IV			
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	IV			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
Álcool fenil-etenílico	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dietil-pirazina	V	VIII	XII	
Metil-pirazina	V	VIII		
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
Etil-benzeno	V			
Piridina	V			
3-etil-piridina	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
1-(2-piridinil)-etanona	V			
3,4-dimetil-2,5-furanodiona	V			
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	VI	VIII		
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	VI			
Cis-iso Eugenol	VI			
2-butanona	VII	X		
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
2-etil-1-hexanol	VIII			
Metanotiol	IX			
Etanal	IX			
Ácido acético	X			
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina	XI			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
3-penten-2-ona	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			

Quadro 41 - Distribuição de componentes identificados por olfatométrica dentro dos diversos grupos sensoriais propostos

AMOSTRA 2

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
3-metil-2-buten-1-ol	I	X		
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
Furaneol	I			
Acetato de metila	II			
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	IV			
Butirolactona	IV			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
Ácido nonanóico	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
2,3-diidro-4-metil-furano	V			
Etil-benzeno	V			
Piridina	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
1-(2-piridinil)-etanona	V			
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	VI	VIII		
Cis-isoeugenol	VI			
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
Ácido acético	X			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Hexanal	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			
Ácido propanóico	XII			

Quadro 41 – continuação

AMOSTRA 3

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
2-pirrolidona	I			
Furaneol	I			
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2-etil-3-metil-pirazina	III	V	X	
5H-5-metil-6,7-diidro-ciclopentapirazina	IV			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
Ácido nonanóico	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
Metil-pirazina	V	VIII		
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
1-(2-piridinil)-etanona	V			
2,3-diidro-4-metil-furano	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
Piridina	V			
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	VI	VIII		
Cis-isoeugenol	VI			
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
Etanal	IX			
2,4-ditert-butil-fenol	X			
Ácido acético	X			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Metional	XI			
Ácido propanóico	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			

Quadro 41 – continuação

AMOSTRA 4

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
3-hidróxi-2-butanona	I			
Furaneol	I			
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
1-hidróxi-2-propanona	III	VI		
3-metil-butanal	III			
Acetato de etila	III			
5H-5-metil-6,7-diidrociclopentapirazina	IV			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
Ácido nonanóico	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dietil-pirazina	V	VIII	XII	
Metil-pirazina	V	VIII		
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
1-(2-piridinil)-etanona	V			
2,3-diidro-4-metil-furano	V			
4,5-dimetil-tiazol	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
Piridina	V			
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona	VI	VIII		
Cis-iso Eugenol	VI			
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
Etanal	IX			
Metanotiol	IX			
2-metóxi-metil-furano	X	XII		
Ácido acético	X			
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo	XI			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2n-propil-pirazina	XII			
3-penten-2-ona	XII			
Furfural	XII			
Hexanal	XII			
Linalol	XII			

Quadro 41 – continuação

AMOSTRA 5

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
Furaneol	I			
Benzaldeído	II	V		
Acetato de metila	II			
3-hexen-2-ona	II			
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
Álcool fenil-etênico	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dietil-pirazina	V	VIII	XII	
Metil-pirazina	V	VIII		
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
2,3-diidro-4-metil-furano	V			
Piridina	V			
1-etil-3-metil-benzeno	V			
4,5-dimetil-tiazol	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
1-(2-piridinil)-etanona	V			
(1-metil-etênil)-pirazina	VI			
Cis-iso Eugenol	VI			
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
4,5-dimetil-oxazol	VIII			
Metanotiol	IX			
Etanal	IX			
Butanal	IX			
Decano	IX			
Dissulfeto de dimetila	IX			
2-metóxi-metil-furano	X	XII		
Ácido acético	X			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Hexanal	XII			
3-penten-2-ona	XII			
2n-propil-pirazina	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			

Quadro 41 – continuação

AMOSTRA 6

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
Furaneol	I			
Benzaldeído	II	V		
Acetato de metila	II			
Acetato de 2-furanometanoila	II			
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2-etil-3-metil-pirazina	III	V	X	
1-hidróxi-2-propanona	III	VI		
Etil-pirazina	III	VIII		
3-metil-butanal	III			
2,4-dimetil-3-pentanona	III			
Limoneno	III			
Butirolactona	IV			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
Alcool fenil-etenílico	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
Ácido nonanóico	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dietil-pirazina	V	VIII	XII	
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
Propanal	V			
2,3-dimetil-isoxazol	V			
Piridina	V			
4,5-dimetil-tiazol	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
1-(2-piridinil)-etanona	V			
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol	VI			
Cis-iso Eugenol	VI			
2-butanona	VII	X		
Ácido isovalérico	VII			
Pirazina	VIII	X		
Metanotiol	IX			
Etanal	IX			
2-metil-butanal	IX			
2-metóxi-metil-furano	X	XII		
Acetona	X			
2-metil-furano	X			
Ácido acético	X			
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona	XI			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Hexanal	XII			
3-penten-2-ona	XII			
2n-propil-pirazina	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			

Quadro 41 – continuação








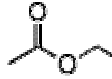

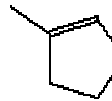

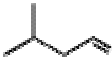
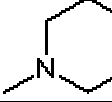
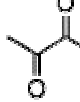

AMOSTRA 7

COMPONENTE				
2,5-dimetil-3-etil-pirazina	I	IV	V	XII
2-furfuriltiol	I	V	X	
2,3-butanodiona	I			
2,3-pentanodiona	I			
Furaneol	I			
2,5-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2,3-dimetil-pirazina	III	IV	V	VIII
2-etil-3-metil-pirazina	III	V	X	
1-hidróxi-2-propanona	III	VI		
Etil-pirazina	III	VIII		
3-metil-butanal	III			
Propanoato de 2-furanometanoila	III			
Guaiacol	V	VI	X	
2-etil-6-metil-pirazina	V	VI		
2-furilmetanol	V	VI		
4-etil-guaiacol	V	VI		
4-vinil-guaiacol	V	VI		
4-metil-tiazol	V	VIII	XI	
2,6-dietil-pirazina	V	VIII	XII	
2,6-dimetil-pirazina	V	X	XI	
2-etil-5-metil-pirazina	V	X		
2,3-dimetil-isoxazol	V			
Piridina	V			
4,5-dimetil-tiazol	V			
3-etil-piridina	V			
1-(furanil)-etanona	V			
5-metil-2-furanocarboxialdeído	V			
1-(2-piridinil)-etanona	V			
Acetil-pirazina	V			
2-metil-2-ciclopenten-1-ona	VI			
(1-metil-etil)-pirazina	VI			
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona	VI			
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol	VI			
Cis-isoeugenol	VI			
2-butanona	VII	X		
Ácido isovalérico	VII			
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano	VII			
Pirazina	VIII	X		
Metanotiol	IX			
Etanal	IX			
Dissulfeto de dimetila	IX			
2-metóxi-metil-furano	X	XII		
Acetona	X			
2,6,11-trimetil-dodecano	X			
Ácido acético	X			
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina	XI			
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona	XI			
2,3,5-trimetil-pirazina	XI			
Metional	XI			
2,3-dietil-5-metil-pirazina	XI			
Hexanal	XII			
2n-propil-pirazina	XII			
Furfural	XII			
Linalol	XII			

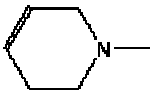
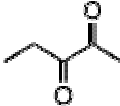



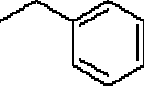
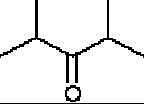
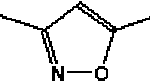
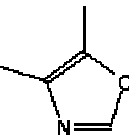



Legenda: Grifados em verde, os grupos sensoriais indicados como positivos e em amarelo aqueles negativos

Quadro 41 – continuação

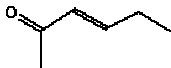
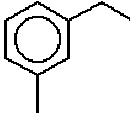
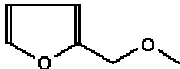
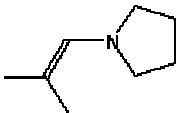


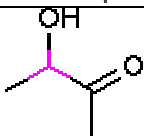
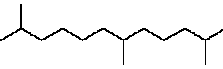
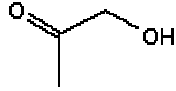
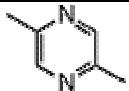

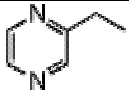
ANEXO 7

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
Metanotiol ** metil mercaptana		48,10	6,0	Nd
Etanal Acetaldeído		44,00	21,0	X
Propanal Propionaldeído		58,09	49,0	X
Acetona Dimetil-cetona 2-propanona		58,10	56,0	Nd
Acetato de metila		74,08	57,5	Nd
2-metil-furano		82,10	66,0	Nd
Butanal		72,10	74,8	X
Acetato de etila		88,10	77,0	X
2-butanona Metil-etil-cetona		72,11	80,0	X
2,3-diidro-4-metil-furano ** 2,3-diidro-4-metil-furano 2,3-diidro-4-metilfurano		84,12	Nd	Nd
Metil-butanal 2-metil-butanal		86,10	93,0	X
Metil-butanal 3-metil-butanal		86,10	93,0	X
1-metil-piperidina ** N-metil-piperidina		99,18	107,0	Nd
2,3-butanodiona Diacetil		86,00	88,0	X
Decano		142,20	174,0	X




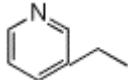
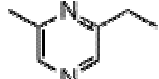
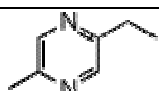
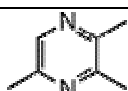
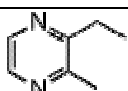
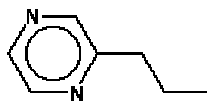
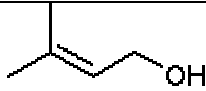
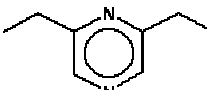

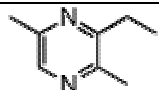

Quadro 46 - Estrutura planar, massa molar, ponto de ebulição e confirmação da detecção com coluna cromatográfica equivalente à empregada neste trabalho, para os 88 compostos caracterizados como de alto impacto aromático, detectados por olfatométrica nas amostras de café solúvel em pó estudadas

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
1,2,3,6-tetraidro-1-metil-piridina ** N-metil-1,2,5,6-tetrahidropiridina 1-metil-3-piperidina		97,16	Nd	Nd
2,3-pentanodiona		100,10	108,0	X
Dissulfeto de dimetila		94,00	110,0	X
Hexanal n-hexanal aldeído capróico capronaldeído hexaldeído hexan-1-al		100,10	131,0	X
3-penten-2-ona (E)-3-penten-2-ona trans-3-penten-2-ona		84,12	122,0	Nd
Etil-benzeno		106,17	136,0	Nd
2,4-dimetil-3-pentanona ** Diisopropil-cetona		114,19	124,0	Nd
2,3-dimetil-isoxazol **		97,12	144,0	Nd
4,5-dimetil-oxazol 5-metil-4-metiloxazol 4,5-dimetil-1,3-oxazol		97,12	Nd	Nd
Piridina azina azabenzeno		79,10	115,0	X
Limoneno 1-metil, 4-(1-metiletenil) ciclohexeno, p- menta-1,8-dieno (mistura)		136,10	175,5	X
Pirazina p-diazina Paradiazina Piazina 1,4-diazabenzeno 1,4-diazina		80,09	116,0	X



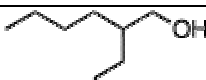
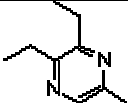
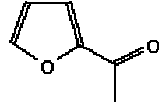

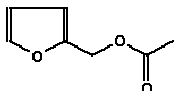

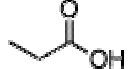
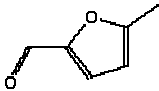
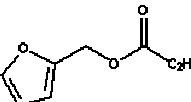
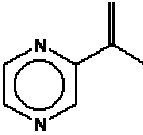
Quadro 46 – continuação

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
3-hexen-2-ona ** 1-butenil-metil-cetona metil-1-butenil-cetona (3E)-3-hexen-2-ona		98,14	130,0	Nd
1-etil-3-metil-benzeno m-ethyl-tolueno m-etilmetilbenzeno m-etiltolueno m-metiletilbenzeno 1-etil-3-metilbenzeno 1-metil-3-etilbenzeno 3-etiltolueno meta-etiltolueno		120,19	159,0	Nd
2-metóxi-metil-furano ** Furfuril-metil-éter 2-(Metóximetil)-furano 2-furfuril-metil-éter		112,13	Nd	Nd
1-(2-metil-1-propenil)-pirrolidona ** 1-(2-metilpropenil)-pirrolidina pirrolidina-enamina-isobutiraldeído N-(2-metil-1-propenil)-pirrolidina 1-pirrolidinoisobuteno		125,21	Nd	Nd
Metil-pirazina 2-metil-pirazina		94,10	135,0	Nd
4-metil-tiazol 4-metil-1,3-tiazol		99,16	133,0	X
3-hidrôxi-2-butanona Acetil-metil-carbinol Acetoína		88,11	148,0	Nd
2,6,11-trimetil-dodecano **		212,41	Nd	Nd
1-hidrôxi-2-propanona acetol ácool-acetona acetilcarbinol hidróxiopropanona acetil-metanol 1-hidrôxi-2-propanona 1-hidrôxiacetona		74,08	146,0	Nd
2,5-dimetil-pirazina dimetil-pirazina 2,5-dimetil -1,4-diazina		108,14	154,0	Nd
2,6-dimetil-pirazina dimetil-pirazina 2,6-dimetil -1,4-diazina		108,14	154,0	X
Etil-pirazina 2-etil-pirazina		108,14	152,0	X

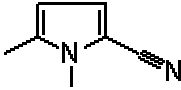
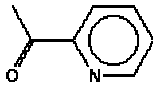
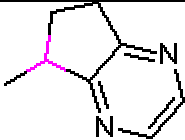
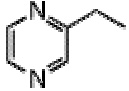



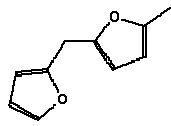
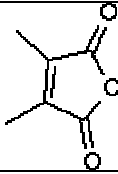
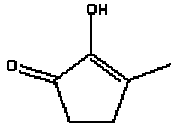
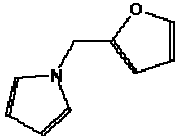
Quadro 46 – continuação

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
2,3-dimetil-pirazina dimetil-pirazina 2,3-dimetil-1,4-diazina		108,14	156,0	Nd
2-metil-2-ciclopenten-1-ona		96,13	161,0	Nd
4,5-dimetil-tiazol dimetil tiazol		113,18	158,0	Nd
3-etil-piridina		107,15	166,0	Nd
2-etil-6-metil-pirazina Metiletil pirazina		122,17	Nd	X
2-etil-5-metil-pirazina etilmetil-pirazina		122,10	Nd	Nd
2,3,5-trimetil-pirazina trimetil-pirazina		122,10	172,0	X
2-etil-3-metil-pirazina 2-metil, 3-etilpirazina		122,17	171,0	X
2n-propil pirazina ** propil pirazina 2-propil pirazina		122,00	65,0 (12 mm Hg)	Nd
3-metil-2-buten-1-ol ** Álcool prenílico Isobutenilcarbinol 1-hidróxi-3-metil-2-buteno		86,13	140,0	Nd
2,6-dietil-pirazina		136,19		Nd
2-furfuriltiol furfuril mercaptana 2-furilmetanol		114,00	155,0	X
2,5-dimetil-3-etil-pirazina 3-etil-2,5-dimetilpirazina		136,10	Nd	X
Ácido acético		60,00	118,0	X

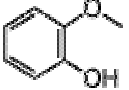

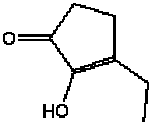
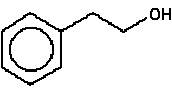
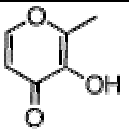
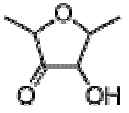
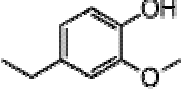


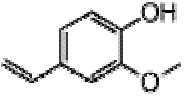
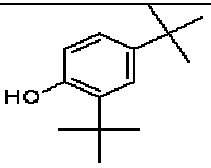
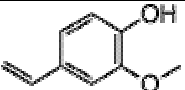
Quadro 46 – continuação

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
Metional 3-(metiltio)propionaldeído 4-tiapentanal		104,00	166,0	Nd
Furfural 2-furanal 2-furaldeído		96,00	163,0	X
2-etil-1-hexanol		130,20	183,0	X
2,3-dietil-5-metil-pirazina dietil metil-pirazina		150,10	203,0	X
1-(furanil)-etanona 2-furil-metil-cetona Acetilfurano Metil-2-furil-cetona 2-acetilfurano Furil-metil-cetona 2-acetil-furano 1-(2-furanil)-etanona		110,11	67,0 (10 mm Hg)	Nd
Benzaldeído		106,00	178,0	Nd
Acetato de 2-furanometanoila ** Acetato do álcool furfúrico Furfuril-éster do ácido acético Furfuril-acetato 2-acetóximetilfurano 2-furanmetil-acetato 2-furfuril-acetato		140,14	177,0	Nd
Linalol 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol,2,6-dimetilocta-2,7-dien-6-ol (R, S, e racemato)		154,25	198,0	Nd
Ácido propanóico Ácido propiônico		74,08	142,5	Nd
5-metil-2-furanocarboxialdeído 5-metil-2-furaldeído 5-metil-furfural 2-formil-5-metilfurano 2-metil-5-formilfurano		110,11	89,0 (26 mm Hg)	Nd
Propanoato de 2-furanometanoila ** Éster 2-furfúrico do ácido propanóico 2-furfuril-propanoato		154,16	196,0	Nd
(1-metil-etenil)-pirazina 2-isopropenilpirazina		120,15	Nd	Nd

Quadro 46 – continuação

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M *
1,5-dimetil-1H-pirrol-2-carbonitrilo ** 1,5-dimetil-2-pirrolecarbonitrilo		120,15	Nd	Nd
1-(2-piridinil)-etanon metil-2-piridil-cetona 2-acetilpiridina 2-piridil-metil-cetona 2-acetopiridina acetil-piridina		121,14	193,0	Nd
5H-5-metil-6,7-diidro-ciclopentapirazina 6,7-diidro-5-metil-5(H)-ciclopentapirazina 5-metil-6,7-diidro-ciclopentapirazina		134,18	200,0	Nd
Acetil-pirazina 2-acetilpirazina 1-piraziniletanona		122,00	188,0	X
Butirolactona ** lactona do ácido 4-hidróxibutírico tetrahydro-2-furanona 4-butanolida		86,00	204,0	X
2-furilmetanol Furfuril-mercaptana Álcool furfurílico		114,16	170,0	Nd
Ácido 3-metil-butírico Ácido isovalérico Ácido 3-metilbutanóico ácido metilbutírico		102,10	175,0	X
2-(2-furanil-metil)-5-metil-furano 2-(2-furanilmetil)-5-metil-furano 5-metil-2,2'-metilenedi-furano 2-furfuril-5-metilfurano		162,19	Nd	Nd
3,4-dimetil-2,5-furanodiona ** Anidrido-2,3-dimetilmaleico		126,11	223,0	Nd
2-hidróxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona 3-metil, 1,2-ciclopentenodiona 3-metil, 2-ciclopenten-2-ol-1-ona Maple lactona Metil ciclopentenolona		112,13	Nd	Nd
1-(2-furanil-metil)-1H-pirrol ** N-furfurilpirrol 1-furfuril-pirrol N-(2-furfuril)-pirrol		147,17	Nd	Nd

Quadro 46 – continuação

Composto	Estrutura	Massa molar (uma)	Ponto de ebulição (°C)	Coluna C20M*
Guaiacol 2-metóxi-fenol, o-hidróxianisol		124,14	205,0	X
Álcool benzílico Benzenometanol		108,10	205,0	X
2-hidróxi-3-etil-2-ciclopenten-1-ona 3-etil-2-hidróxi-2-ciclopenten-1-ona		126,15	Nd	Nd
Álcool fenil-etênico álcool fenético β-hidróxi-etilbenzeno β-feniletanol β-PEA benzil-carbinol		122,16	221,0	Nd
Maltol Hidrometilpirona 3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona		140,14	205,0	X
4-hidróxi, 2,5-dimetil-3(2H) furanona Furaneol		112,10	188,0	X
4-etil-guaiacol 1-hidróxi-2-metóxi-4-etil-benzeno 4-etil-2-metóxi-fenol		152,10	235,0	X
2-pirrolidona ** gama-butirolactama		85,11	245,0	Nd
Ácido nonanóico ácido pelargonico ácido nonóico		158,10	254,0	X
4-vinil-guaiacol 2-metóxi, 4-vinil fenol Vinil guaiacol 4-hidróxi, 3-metóxi estireno p-vinilcatecol-O-metil éter p-vinil guaiacol		150,18	224,0	X
2,4-ditert-butil-fenol		206,33	265,0	Nd
Cis-isoeugenol 2-metóxi-4-propenilfenol		164,10	266,0	X

* Nd. Indica não disponibilidade de dados sobre a polaridade da coluna cromatográfica empregada na identificação desse composto. As marcações com **x**, atestam a existência de referência de detecção com a coluna C20M ou similar, de polaridade equivalente à coluna INNOWax.

** Compostos com identificação provável, sendo os demais de identificação positiva

Fontes: FLAMENT (2002), NIST (2003), CHEMEXPER (2005), OCL (2005) e SDBS (2005).

ANEXO 8



Figura 9 – Equipamentos utilizados pelos julgadores nas análises de olfatométrica com a técnica de OSME

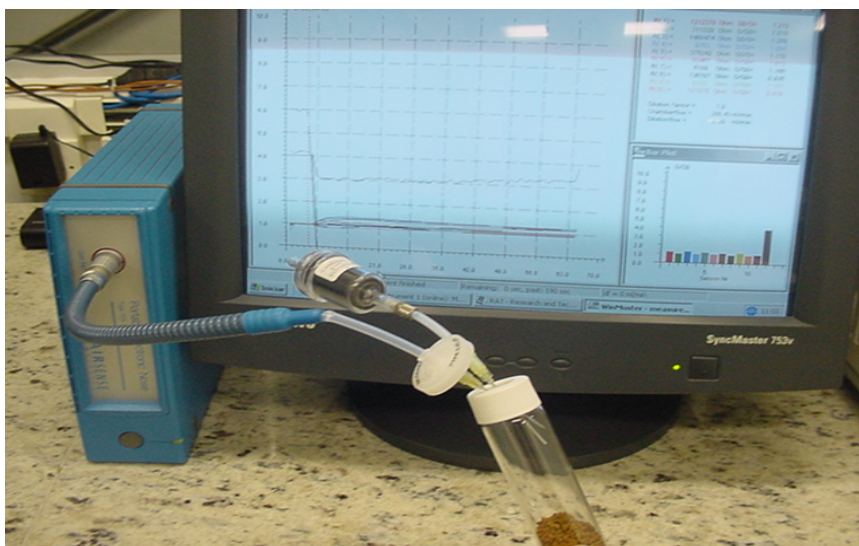


Figura 10 – Nariz eletrônico empregado nos testes