

# ANÁLISE DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM AZEITE VIRGEM

**Marta Sofia Estrela Arraias**

Relatório de Estágio apresentado ao Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Biológica e Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Maria de Fátima Pratas Peres (Mestre) da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

Outubro 2012

## Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu co-coordenador Prof. Dr. Hab. Henryk Jelen por me ter dado a oportunidade de estagiar num laboratório que possui os equipamentos mais avançados a nível de cromatografia gasosa e por todo o suporte, ajuda e conhecimento que adquiri ao trabalhar com ele.

Em segundo lugar gostaria de agradecer à minha coordenadora do estágio, Eng. Fátima Peres que esteve sempre pronta a ajudar-me em tudo o que eu necessitava orientando-me sempre da melhor maneira e sendo sempre muito atenciosa.

Gostaria também de agradecer ao IPCB por me ter dado a oportunidade de realizar o meu estágio em outro país, o que contribuiu de uma maneira muito importante para o meu crescimento pessoal, linguístico e aquisição de novos métodos de trabalho.

O meu muito obrigado a toda a equipa do departamento Food Flavours Group da Poznan University of Life Sciences, Faculty of Food Science and Nutrition, com quem trabalhei durante os 3 meses de estágio e que me apoiou bastante, pois foram todos muito prestáveis em tudo o que necessitava. Assim, o meu muito obrigado à Dr. Eng Małgorzata Majcher e ao ao Mariuz Dziadas.

Por último, mas não menos importante, o meu muito obrigado aos meus pais, irmã, avó e especialmente ao meu namorado Diogo, que sempre estiveram do meu lado dando-me suporte, força e que sempre acreditaram nas minhas capacidades.

*"A educação tem raízes amargas, mas os seus frutos são doces."*

Aristóteles

**Nome: Marta Sofia Estrela Arraias**

**Título: Análise de compostos voláteis em azeite virgem**

### **Resumo**

O presente trabalho teve como objectivo a avaliação de compostos voláteis presentes em amostras de azeite virgem. Para a sua determinação foram utilizadas amostras de azeites Galega e Cobrançosa obtidos de azeitonas com diferentes estados de maturação. Para a identificação dos aromas presentes nas amostras de azeite recorreu-se ao método de cromatografia gasosa-olfactometria (GC-O), sendo as amostras preparadas pelo método SAFE. Relativamente à identificação e quantificação dos compostos voláteis, procedeu-se à optimização do método de microextracção em fase sólida (SPME): escolha da fibra, tempo/temperatura ideal de adsorção e repetibilidade. A fibra escolhida foi a DVB/CAR/PDMS (cinzenta 2 cm) e as condições de operação em SPME foram as seguintes: temperatura de 40 °C e tempo de adsorção de 20 minutos.

Após a optimização das condições de análise foram analisadas amostras de azeite virgem por SPME acoplado com GCxGC/MS-TOF.

Nas amostras de azeite virgem foram quantificados diversos compostos, nomeadamente aldeídos (trans-2-hexenal, o nonanal e hexanal), álcoois (cis-2-penteno-1-ol, trans-2-hexeno-1-ol e cis-3-hexeno-1-ol) e cetonas (1-penteno-3-ona, 6-metil-5-hepteno-2-ona), quando analisadas em GCxGC/MS-TOF. Relativamente às análises em GC-O foram sentidos maioritariamente aromas com notas a frutados, verde e relva cortada. O aldeído insaturado, trans-2-hexenal, foi o composto quantificado que apresentou os teores mais elevados, o qual pode contribuir para o aroma a verde identificado no GC-O.

**Palavras chave:** azeite virgem, compostos voláteis, SAFE, SPME, GC-O, GCxGC/MS-TOF.

**Name:** Marta Sofia Estrela Arraias

**Title:** Analysis of volatile compounds in olive oil

### **Abstract**

The aim of the present work was the evaluation of the volatile compounds present in virgin olive oil samples. This evaluation was performed in olive oil samples of Galega and Cobrançosa obtained from fruits with different ripening index. To identify the aromas GC-O methodology was applied, with previous preparation of samples by SAFE method. In order to develop a headspace -SPME-GC/MS method for the analysis of volatile compounds in virgin olive oil, different experimental parameters were optimized such as SPME coating, extraction temperature/time and repeatability. The chosen fiber was the DVB/CAR/PDMS (grey 2 cm) and the operation conditions in SPME were as follows: temperature of 40 °C and adsorption time of 20 minutes.

The identification and quantification of volatile compounds in virgin olive oil samples were analyzed by SPME coupled with GCxGC-TOF/MS.

In virgin olive oil samples several compounds were quantified, namely aldehydes (trans-2-hexen-1-al, nonanal and hexanal), alcohols (cis-2-penten-1-ol, trans-2-hexen-1-ol and cis-3-hexen-1-ol) and ketones (1-penten-3-one, 6-methyl-5-hepten-2-one) when analyzed by GCxGC-TOF/MS. With respect to GC-O analyses were felt mostly aromas with fruity notes, green and cut grass. The insaturated aldehyde, trans-2-hexen-1-al was the compound that was quantified that showed higher contents, which could contribute for the green aroma identified by GC-O.

**Keywords:** virgin olive oil, volatile compounds, GCxGC/MS-TOF, GC-O, SPME, SAFE.

# Índice

Agradecimentos .....	ii
Resumo .....	iii
Abstract.....	iv
Índice de Figuras .....	vii
Índice de Tabelas .....	viii
Lista de abreviaturas.....	ix
1. Introdução .....	1
2. Compostos voláteis no azeite virgem .....	2
3. Metodologias analíticas para isolamento, identificação e quantificação de compostos voláteis no azeite virgem.....	5
3.1 SAFE (Solvent Assisted Flavour Evaporation) .....	5
3.2 SPME (Solid Phase Microextraction) - Microextração em Fase Sólida.....	7
3.3 Métodos Cromatográficos .....	10
3.3.1 Cromatografia de Gás - Olfactometria (GC-O).....	10
3.3.2 GCxGC/MS-TOF .....	12
4. Materiais e Métodos .....	15
4.1 Optimização do método de Microextração em fase sólida (SPME).....	15
4.1.1 Escolha da fibra .....	15
4.1.2 Escolha da temperatura ideal de adsorção.....	16
4.1.3 Escolha do tempo ideal de adsorção.....	16
4.1.4 Estudo da repetibilidade.....	17
4.2 Preparação de amostras de azeite virgem para análise dos compostos voláteis em GCxGC-TOF.....	17
4.3 Construção da curva de calibração para quantificação dos compostos voláteis presentes nas amostras de azeite virgem .....	18
4.4 Isolamento dos compostos voláteis presentes nas amostras de azeite virgem - método SAFE (Solvent Assisted Flavour Evaporation) .....	19
4.4.1 Cromatografia gasosa - olfactometria (GC-O).....	20
5. Resultados e Discussão.....	21
5.1 Optimização do método SPME.....	21
5.2 Análise dos compostos voláteis por GCxGC-TOF em amostras de azeite virgem.....	24
5.3 Análise dos compostos voláteis em GC-O em amostras de azeite virgem.....	25

6. Considerações Finais .....	27
Referências Bibliográficas .....	28
Anexos .....	30
Anexo I - Imagens dos equipamentos utilizados durante a realização do trabalho. ....	31
Anexo II - Padrões utilizados para a preparação das curvas de calibração e respectivas curvas de calibração.....	33
Anexo III - Gráficos relativos à escolha da fibra mais adequada para análise das amostras, respectivas linearidades e quantificação de azeites virgens em GCxGC/MS-TOF. ....	40
Anexo IV - Esquematização da formação de compostos voláteis, notas sensoriais e respectivos compostos químicos. ....	44

# Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Via da lipoxigenase na produção de compostos voláteis C5 e C6. ....	4
<b>Figura 2:</b> Vista esquemática da unidade de destilação no método SAFE. ....	7
<b>Figura 3:</b> Procedimento de aplicação da técnica SPME. ....	8
<b>Figura 4:</b> Esquema de um sistema GCxGC. I, injetor; M, modulador; D, detector; 1st, forno da coluna do GC da primeira dimensão; 2nd, forno (separado) da coluna do GC da segunda dimensão. ....	13
<b>Figura 5:</b> Criação e visualização de um cromatograma no sistema GCxGC. ....	14
<b>Figura 6:</b> Esquema do procedimento para o método SPME. ....	16
<b>Figura 7:</b> Esquema do procedimento para o isolamento de compostos voláteis no aparelho SAFE. ....	20
<b>Figura 8:</b> Área dos picos em cinco diferentes fibras para a concentração de 1 mg kg <sup>-1</sup> . ....	21
<b>Figura 9:</b> Área dos picos em cinco diferentes fibras para a concentração de 10 mg kg <sup>-1</sup> . ....	22
<b>Figura 10:</b> Efeito da temperatura na eficiência da extracção para a concentração de 1 mg kg <sup>-1</sup> utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS (cinzenta, comprimento 2 cm). ....	23
<b>Figura 11:</b> Efeito do tempo na eficiência de extracção para a concentração de 1 mg kg <sup>-1</sup> utilizando a fibra DVB/CAR/PDMS (cinzenta, comprimento 2 cm). ....	23
<b>Figura 12:</b> Quantificação dos compostos voláteis com maiores concentrações em amostras de azeites virgens Galega. ....	25
<b>Figura 13:</b> Quantificação dos compostos voláteis com maiores concentrações em amostras de azeites virgens Cobrançosa. ....	25

## Índice de Tabelas

Tabela 1:Tipos de fibras utilizadas em SPME e suas aplicações.....	10
Tabela 2:Padrões utilizados para a preparação da curva de calibração.....	18
Tabela 3:Descrição dos odores obtidos no equipamento Cromatógrafo de gás Hewlett - Packard HP 5890 II (não polar) e no equipamento HP 6890 Series GC System (polar). ....	26

## Lista de abreviaturas

**PDMS** - Polydimethylsiloxane

**PDMS/DVB** - Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene

**CAR/PDMS** - Carboxen™/Polydimethylsiloxane

**DVB/CAR/PDMS** - StableFlex Divinylbenzene/Carboxen/PDMS

**SPME** - Solid Phase Microextraction (Microextração em Fase Sólida)

**SAFE** - Solvent Assisted Flavour Evaporation

**GC** - Cromatografia de Gás

**GC-O** - Cromatografia de Gás-Olfactometria

**MS** - Espectrometria de Massa

**RI** - Índice de Retenção

**FD** - Factor de Diluição

**LOX** - Lipoxigenase