



**Universidade Estadual de Campinas**

**Instituto de Química**

**Laboratório ThoMson de Espectrometria de Massas**

**“Caracterização de Matérias-Primas e Produtos Derivados  
de Origem Graxa por Espectrometria de Massas”**

**Dissertação de Mestrado**

**Aluno: Sergio Adriano Saraiva**

**Orientador: Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin**

Campinas

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE  
QUÍMICA DA UNICAMP

Sa71c	<p>Saraiva, Sergio Adriano. Caracterização de matérias-primas e produtos derivados de origem graxa por espectrometria de massas / Sérgio Adriano Saraiva. -- Campinas, SP: [s.n], 2008.</p> <p>Orientador: Marcos Nogueira Eberlin.</p> <p>Dissertação - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.</p> <p>1. Espectrometria de massas. 2. Triglicerídeos. 3. Óleo amazônico. 4. Surfactante catiônico. I. Eberlin, Marcos Nogueira. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.</p>
-------	--

**Título em inglês:** Characterization of raw material and manufactured products from fatty sources by mass spectrometry

**Palavras-chaves em inglês:** Mass spectrometry, Triglycerides, Amazonian oil, Cationic surfactant

**Área de concentração:** Química Orgânica

**Titulação:** Mestrado em Química na Área de Química Orgânica

**Banca examinadora:** Marcos Nogueira Eberlin (IQ-UNICAMP), Ulf Friedrich Schuchardt (IQ-UNICAMP), Rodrigo Ramos Catharino (FCM/FARMÁCIA-UNICAMP)

**Data de defesa:** 11/12/2008

“Não basta ensinar ao homem apenas uma especialidade, porque ele se tornará assim, uma máquina utilizável e não uma personalidade. É necessário que ele adquira um sentimento, um senso prático daquilo que vale a pena ser empreendido, daquilo que é belo, do que é correto”.

Albert Einstein.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus, sempre presente na minha vida, iluminando e me orientando, pela realização deste trabalho.

Aos meus pais e irmãos, pelo carinho e estímulo.

Ao professor Marcos Eberlin, pela orientação, confiança, ensinamentos e contribuição ao meu desenvolvimento pessoal.

A minha família, que mesmo de longe, sempre me incentivou.

A todos do grupo ThoMSon que direta ou indiretamente me ajudaram ao longo desta caminhada (um agradecimento especial a Dra. Regina Sparrapan)

Ao professor e amigo Rodrigo Catharino, pela “co-orientação informal”, além dos momentos de descontração e amizade.

Ao Grupo IP2H/TTH A.G, pelo suporte e apoio, representado por Jörg Arnold, Adrian Dilo e Shiro Sonoda.

Ao pessoal da CPG, pela prestatividade e atenção com que sempre me tratararam.

Ao Instituto de Química da UNICAMP, pela infra-estrutura oferecida.

Às empresas Naturais da Amazônia, Crodamazon, Beraca-Sabara Ingredientes e Campestre Óleos (gentilmente forneceram as amostras de óleos e gorduras vegetais amazônicos).

Ao George, que me ajudou a decifrar o mundo dos amaciantes.

Aos amigos, que estiveram comigo em todos os momentos.

**A todos, muito obrigado !**

## *Curriculum Vitae*

### **Sérgio Adriano Saraiva**

#### **Informações Pessoais:**

Nascimento: 18/10/1977 em São Paulo-SP.

Residência: Rua Américo Brasiliense nº 65, apt. 51, São Vicente - SP

E-mail: sergio\_saraiva01@yahoo.com.br

#### **Formação Acadêmica:**

**Instituição:** Instituto de Química da USP.

**Curso:** graduação em Bacharelado de Química com Atribuições Industriais e Biotecnológicas.

**Conclusão do curso:** dezembro/1999.

#### **Qualificações Pessoais:**

- **Idiomas:** Inglês (nível avançado).  
Espanhol (nível básico).  
Alemão (nível básico).
- **Prêmio Lavoisier:** concedido pelo Conselho Regional de Química-IV Região (1999), por melhor desempenho acadêmico durante graduação (1995-1999).

#### **Experiência Profissional**

- **TTH (Technologien & Transfer Helvetia) – Mitsubishi International (Alemanha).**

**Período:** de abril/2005 a dezembro/2007.

**Cargo:** Pesquisador.

**Área:** Desenvolvimento de novos produtos e processos.

- **Oxiten Indústria e Comércio S.A.**

**Período:** de julho/2001 a fevereiro/2005.

**Cargo:** Químico Pleno.

**Área:** Pesquisa e desenvolvimento de métodos analíticos por cromatografia líquida e gasosa; apoio analítico a projetos de pesquisa e assistência técnica a clientes.

- **Fundação de Desenvolvimento da Unicamp – FUNCAMP.**

**Período:** de julho/2000 a junho/2001.

**Cargo:** Químico Jr.

**Área:** Identificação e caracterização de diferentes produtos, através de análises químicas, testes físico-químicos e testes de aplicação.

• **Instituto de Química da USP**

**Período:** julho/1997 a dezembro/1998.

**Cargo:** Estagiário

**Área:** Síntese e estudo das propriedades de compostos quimiluminescentes;

**Participações em Congressos**

⇒ 56<sup>o</sup> Congresso da Sociedade Americana de Espectrometria de Massas, Denver, 2008.

⇒ 2<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas, Campinas, 2007.

⇒ XXX Congresso da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2007.

⇒ 1<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas, Campinas, 2005.

⇒ 1<sup>o</sup> Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP, São Paulo, 1999.

⇒ XXI Congresso da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 1998.

⇒ 6<sup>o</sup> Simpósio de Iniciação Científica da USP, São Paulo, 1998.

**Artigos Publicados**

Saraiva S.A., Catharino R.R., Abdelnur P.V., Nunes G., Eberlin M.N., *Rapid Comm. Mass Spectrom.* (in press)

Saraiva S.A., Catharino R.R., Cabral E.C., Eberlin M.N. *J. Agricultural and Food Chem.* (submetido)

Saraiva S.A., Milagre H.M.S., Catharino R.R., Garcia C.M., Schuchardt U., Eberlin M.N., *et. al. Energy & Fuels*, 2007, 21, p. 3698-3791.

Coichev N., Saraiva S.A., Nakamura M.M., *Analytical Letters*, 2000, 33, p.391-404.

Coichev N., Saraiva S.A., Nakamura M.M., *Analytical Letters*, 1999, 32, p.2471-2487.

## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO DE MATÉRIAS-PRIMAS E PRODUTOS DERIVADOS DE ORIGEM GRAXA POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS.

As matérias-primas graxas (óleos e gorduras vegetais e animais) e os produtos sintetizados a partir destes insumos são misturas complexas, com aplicações e valores agregados variados. As técnicas disponíveis para caracterizar a composição graxa destas matrizes são muitas vezes restritas, exigindo a necessidade de procedimentos laboriosos. Este trabalho engloba a aplicação de técnicas avançadas de espectrometria de massas (MALDI-MS e ESI-MS) na caracterização de óleos e gorduras vegetais amazônicos (matérias-primas graxas) e surfactantes catiônicos (produtos sintetizados a partir de matéria-prima graxa), sem o emprego de processos de derivatização química ou separação cromatográfica. Espectrometria de massas com ionização por MALDI (MALDI-MS) foi empregada na análise dos óleos de andiroba (*Carapa guianensis*), castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*), maracujá (*Passiflora* spp.), buriti (*Mauritia flexuosa*) e das gorduras das sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e ucuúba (*Virola sebifera*), que foram caracterizados através da composição dos triglicerídeos (TAGs). Obtiveram-se perfis distintos de TAGs para cada óleo e gordura amazônico. Conseqüentemente, a técnica se mostrou adequada para tipificação dos óleos e gorduras estudados, podendo ser adotada como um método rápido e confiável para controle de qualidade destas importantes matérias-primas amazônicas. Em relação aos surfactantes catiônicos, foi desenvolvido um procedimento simples e rápido para identificação e caracterização destas moléculas (incluindo a distribuição de homólogos) em produtos amaciantes têxteis por espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-MS). À medida que diferentes surfactantes catiônicos podem ser utilizados em amaciantes têxteis, a técnica empregada permite identificar o tensoativo que foi adotado na formulação do produto, sem emprego de padrões de referências. Também é possível verificar casos de falsificação e utilização de moléculas catiônicas que conferem propriedades amaciantes inferiores.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF RAW MATERIALS AND MANUFACTURED PRODUCTS FROM FATTY SOURCES BY MASS SPECTROMETRY.

Fatty raw materials (animal, vegetable oils and fats) and synthesized products from these sources are complex mixtures with diverse applications and added values. Available techniques to characterize the fatty composition of these matrixes are many times restricted and require laborious procedures. This work reports the application of advanced mass spectrometry techniques (MALDI-MS and ESI-MS), without employment of chemical derivatization or chromatographic separation, for characterizing Amazonian rain forest fats and oils (fatty raw materials) and cationic surfactants (products made from fatty raw materials). MALDI-mass spectrometry (MALDI-MS) was applied to characterize the triacylglycerol composition from oils of Andiroba (*Carapa guianensis*), Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*), Passion Fruit (*Passiflora* spp.), Buriti (*Mauritia flexuosa*) and fats from seeds of Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), Murumuru (*Astrocaryum murumuru*) and Ucuúba (*Virola sebifera*). Characteristic profiles of triacylglycerols (TAG) were obtained for each oil and fat, confirming that the technique is appropriated for the typification of studied samples and can be applied as a reliable and fast method to quality control of these important Amazonian rain forest raw materials. With regard to cationic surfactants, a simple and fast procedure was developed to identify and characterize these molecules (including the homologue distribution) in liquid fabric softeners by electrospray-mass spectrometry (ESI-MS). As different cationic surfactants can be used in fabric softeners, the applied technique allows the identification of the specific tensoative adopted in every formulation, without using reference standards. Also, it is possible to check counterfeit samples and use of some cationic surfactants that confer lower softness.

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
LISTA DE TABELAS.....	XIII
LISTA DE FIGURAS.....	XIV
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>01</b>
1.1. Óleos, Gorduras e Produtos Sintetizados a partir destas Matérias-Primas.....	02
1.2. Espectrometria de Massas.....	05
1.2.1. Espectrometria de Massas com ionização por <i>electrospray</i> .....	07
1.2.2. Espectrometria de Massas com ionização por MALDI.....	08
<b>CAPÍTULO 2 – CARACTERIZAÇÃO E TIPIFICAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS AMAZÔNICOS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS MALDI-TOF.....</b>	<b>11</b>
1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. Importância dos Óleos e Gorduras Vegetais Amazônicos.....	12
1.2. Métodos Empregados na Caracterização de Óleos e Gorduras.....	14
2. MATERIAIS E MÉTODO.....	16
2.1. Reagentes e Amostras.....	16
2.2. Procedimento Experimental.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
3.1. Aspectos Gerais.....	18
3.2. Caracterização dos Óleos Vegetais.....	23
3.3. Caracterização das Gorduras Vegetais.....	25
3.4. Análise Exploratória dos Dados.....	29
4. CONCLUSÃO.....	31

<b>CAPÍTULO 3 – CARACTERIZAÇÃO DE SURFACTANTES CATIÔNICOS EM PRODUTOS AMACIANTES TÊXTEIS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM IONIZAÇÃO POR <i>ELECTROSPRAY</i> (ESI-MS)</b> .....	32
1. INTRODUÇÃO.....	33
1.1. Utilização e Mecanismo de Ação dos Amaciantes.....	35
1.2. Sais Quaternários de Amônio com Propriedades Amaciantes.....	36
1.3. Composição dos Amaciantes de Roupas.....	39
1.4. Identificação e Caracterização de Surfactantes Catiônicos.....	41
2. MATERIAIS E MÉTODO.....	43
2.1. Reagentes e Amostras.....	43
2.2. Procedimento Experimental.....	43
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
3.1. Produtos Amaciantes de Baixa Qualidade ou Falsificados.....	52
4. CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

## Lista de Abreviaturas

ABIPLA	Associação Brasileira de Produtos de Limpeza e Afins
CID	Dissociação induzida por colisão
DHB	Ácido 2.5 di-hidróxi benzóico
DHTDMAC	Cloreto de di-alquil di-metil amônio
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por <i>electropray</i>
ESI-MS/MS	Ionização por <i>electropray</i> acoplado a espectrometria de massas seqüencial
FID	Detector de ionização de chama
FIPE	Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas
GC	Cromatografia gasosa
GC-FID	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
MALDI	Ionização/dessorção a laser assistida por matriz
MS	Espectrometria de massas
PC	Componentes principais
PCA	Análise por Componentes Principais
QUACs	Sais quaternários de amônio
TAGs	Triglicerídeos
TOF	Analisador de massas por tempo de voo

## Lista de Tabelas

### CAPÍTULO 2

Tabela 1. Atribuição e abundâncias relativas dos principais íons observados nos espectros de massas MALDI-TOF dos óleos e gorduras amazônicos.....21

### CAPÍTULO 3

Tabela 1. Consumo mundial de amaciantes.....33

Tabela 2. Consumo e informalidade no mercado de domissanitários brasileiro....34

Tabela 3. Identificação dos íons da amostra de amaciante contendo DHTDMAC.....46

Tabela 4. Identificação dos íons das amostras de amaciante contendo *esterquat*.....48

Tabela 5. Identificação dos íons da amostra de amaciante contendo di-alquil imidazolínio.....49

## Lista de Figuras

### CAPÍTULO 1

- Figura 1. Produção e uso mundial de óleos e gorduras em 2002 (quantidades expressas em milhões de toneladas).....3
- Figura 2. Exemplo de uma molécula de triglicerídeo (TAG), derivado da reação do glicerol com três moléculas de ácido dodecanóico.....3
- Figura 3. Esquema simplificado de uma fonte de ionização por *electrospray*.....7
- Figura 4. Esquema geral de um espectrômetro de massas MALDI-TOF.....10

### CAPÍTULO 2

- Figura 1. Espectro de massas por MALDI-TOF do óleo de castanha do Pará.....19
- Figura 2. Mecanismo de fragmentação proposto para uma molécula de triacilglicerídeo protonada.....20
- Figura 3. Espectros de massas por MALDI-TOF dos óleos vegetais amazônicos.....23
- Figura 4. Espectro de massas por MALDI-TOF das gorduras vegetais amazônicas.....25
- Figura 5. Espectros de massas MALDI-TOF das gorduras vegetais amazônicas: A) murumuru (*in natura*) B) murumuru (dopada com LiCl) C) cupuaçu (*in natura*) D) cupuaçu (dopada com LiCl).....27

Figura 6. Espectro de massas MALDI-TOF da gordura de cupuaçu: A) *in natura* B) com adição de cloreto de lítio.....28

Figura 7. PCA dos dados de MALDI-TOF MS dos óleos (Buriti, Castanha do Pará, Maracujá) e da gordura de Cupuaçu .....30

### **CAPÍTULO 3**

Figura 1. Micrografia eletrônica das fibras de uma toalha de algodão: (a) com uso de amaciante de roupas (b) sem amaciante de roupas.....35

Figura 2. Principais quaternários de amônio utilizados em amaciantes de roupas; A) Di-alquil dimetil amônio B) Di-alquil imidazolina C) Di-amida amina etoxilada quaternizada D) *Esterquat*. R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> = cadeias alquílicas graxas.....37

Figura 3. Reação de eliminação de Hoffman para um QUAC.....41

Figura 4. Esquema do espectrômetro de massas Q-TOF Micromass.....43

Figura 5. ESI(+)-MS de amaciantes de roupa formulados com A) di-alquil dimetil amônio B) *esterquat* de sebo hidrogenado C) *esterquat* de sebo D) di-alquil imidazolina;. R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> = cadeias alquílicas graxas.....45

Figura 6. Rota sintética para obtenção do cloreto de di-estearil dimetil amônio....47

Figura 7. ESI(+)-MS/MS de íons dos surfactantes: A) di-alquil dimetil amônio (*m/z* 522) B) *esterquat* (*m/z* 640) C) di-alquil imidazolínio (*m/z* 628).....50

Figura 8. ESI(+)-MS de amaciantes de roupa formulados com monoalquil trimetil amônio. Grupos alquílicas: C16= cadeia cetílica; C18= cadeia esteárica; C18:1= cadeia oleica.....52

Figura 9. ESI(+)-MS de um amaciante de roupa falsificado formulado com alquil amida propil dimetil benzil amônio e alquil amida propil dimetil amina.....53

Figura 10. ESI(+)-MS/MS dos surfactantes A) Octadecilamida propil dimetil amônio ( $m/z$  459) B) Octadecilamida propil dimetil amina ( $m/z$  369) detectados no amaciante falsificado.....55

CAPÍTULO 1:

## **INTRODUÇÃO GERAL**

## 1. Introdução Geral

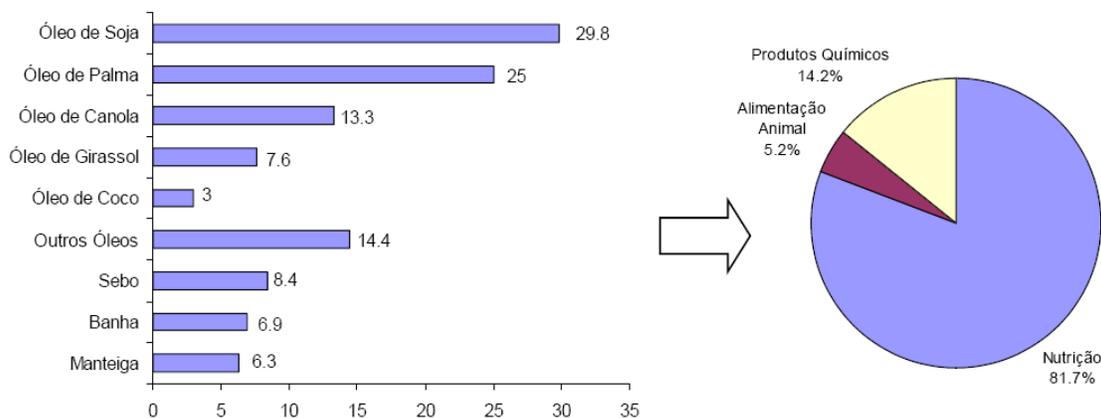
O primeiro capítulo desta dissertação de mestrado descreve conceitos básicos sobre oleoquímica, e também sobre as técnicas de espectrometria de massas utilizadas para caracterizar os materiais avaliados neste trabalho, que aborda a caracterização de óleos e gorduras vegetais amazônicos (capítulo 2) e surfactantes catiônicos que são manufacturados a partir de fontes graxas (capítulo 3).

### 1.1. Óleos, Gorduras e Produtos Sintetizados a partir destas Matérias-primas

Óleos e gorduras são extraídos a partir de diferentes fontes vegetais, (como soja, canola, girassol, palma) e animais (como banha, sebo, etc).

Em 2002, foram produzidas quase 120 milhões de toneladas de óleos e gorduras, sendo que a maior parte (81,7%) foi destinada para a nutrição humana (Figura 1).<sup>1</sup> Óleos e gorduras têm um papel fundamental na alimentação humana, pois além de fornecerem calorias, agem como veículo para as vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K, são fontes de ácidos graxos essenciais como o linoleico, linolênico, araquidônico e contribuem para o sabor dos alimentos.<sup>2</sup>

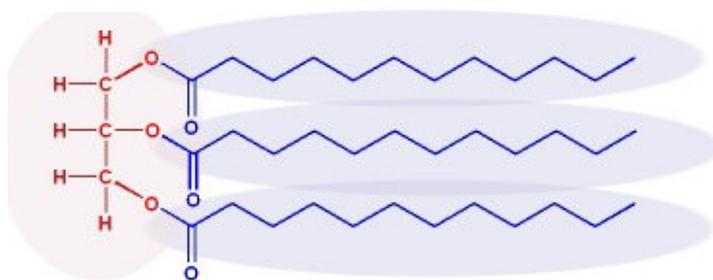
Eles também são utilizados como matérias-primas em diferentes aplicações industriais na produção de lubrificantes, biodiesel, plasticidas, surfactantes, etc.<sup>3</sup>



**Figura 1.** Produção e uso mundial de óleos e gorduras em 2002 (quantidades expressas em milhões de toneladas).<sup>1</sup>

Óleos e gorduras são constituídos principalmente por uma mistura complexa de triglicerídeos (aproximadamente 95-98%), que atuam como fonte de reserva energética para animais e plantas. Os óleos também atuam como solvente para os demais componentes minoritários como esteróis, vitaminas lipossolúveis (principalmente tocoferóis/tocotrienóis), pigmentos incluindo clorofila e carotenóides, compostos fenólicos, fosfolipídios, ácidos graxos livres e mono-e diglicerídios.<sup>4</sup>

Os triglicerídeos são ésteres formados a partir da reação do glicerol com três unidades de ácidos graxos, como mostra o exemplo na Figura 2.



**Figura 2.** Exemplo de uma molécula de triglicerídeo (TAG), derivado da reação do glicerol com três moléculas de ácido dodecanóico.

De acordo com o óleo ou gordura, os ácidos graxos que originam as moléculas de TAGs variam, normalmente, de quatro a vinte e quatro átomos de carbono, e na maioria das vezes, são lineares e possuem número par de carbonos.

Os óleos são líquidos à temperatura ambiente, pois possuem principalmente TAGs derivados de ácidos graxos insaturados que diminuem o ponto de fusão, enquanto as gorduras estão no estado sólido, devido a maior presença de TAGs com cadeias graxas saturadas.<sup>5</sup>

Do ponto de vista químico, a hidrólise dos TAGs permite a obtenção de glicerol e ácidos graxos, importantes intermediários na indústria oleoquímica; outros intermediários obtidos a partir de ácidos graxos são ésteres metílicos, alcoóis e amidas graxas.<sup>6</sup>

O uso de óleos e gorduras em aplicações não-comestíveis tem crescido nos últimos anos, pois representam uma fonte de ácidos graxos, que por serem matérias-primas renováveis, substituem intermediários de origem petroquímica em sínteses industriais. Cada tipo de óleo e gordura possui uma composição de ácidos graxos, que determina qual tipo de produto pode ser manufaturado a partir destas matérias-primas graxas. Por exemplo, óleos e gorduras, abundantes em triglicerídeos derivados dos ácidos láurico e mirístico, são utilizados na produção de detergentes, como os sais de lauril sulfato.<sup>3</sup>

Dentre os produtos que podem ser manufaturados a partir de matérias-primas graxas, um destaque deve ser dado aos surfactantes, pois cerca de 90% dos intermediários oleoquímicos são usados na produção de moléculas tensoativas. O consumo estimado de surfactantes foi de 7,14 milhões de toneladas nos mercados europeu, japonês e norte-americano em 2000.<sup>1</sup>

Os surfactantes são moléculas anfífilas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A porção apolar é freqüentemente uma cadeia alquílica, enquanto a porção polar pode ser iônica (aniônica ou catiônica), não-iônica ou anfótera. O tamanho da cadeia alquílica (porção apolar) determina o caráter hidrofóbico da molécula. Alguns exemplos de surfactantes iônicos

utilizados comercialmente incluem alcoóis graxos sulfatados (aniônicos) e sais de amônio quaternário (catiônicos).<sup>6,7</sup>

Em função da presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula, os surfactantes tendem a se distribuir nas interfaces entre fases fluidas com diferentes graus de polaridade (óleo/água e água/óleo). A formação de um filme molecular, ordenado nas interfaces, reduz a tensão interfacial e superficial, sendo responsável pelas propriedades únicas dos surfactantes. Estas propriedades fazem os surfactantes serem adequados para uma ampla gama de aplicações industriais envolvendo: detergência, emulsificação, lubrificação, solubilização e dispersão de fases. A maior utilização dos surfactantes se concentra na indústria de produtos de limpeza (sabões e detergentes), na indústria de petróleo, na indústria alimentícia e na indústria de cosméticos e produtos de higiene.<sup>3,7</sup>

## 1.2. Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma ferramenta analítica utilizada para a medida da massa molecular de substâncias químicas (que devem estar eletricamente carregadas). Permite também identificar, quantificar e elucidar as propriedades estruturais de moléculas e atualmente é uma técnica indispensável em diferentes áreas, como química, biologia, ciências médicas, tecnológicas e inúmeras outras.

O princípio básico da espectrometria de massas consiste em gerar íons a partir de compostos (orgânicos ou inorgânicos) através de um método de ionização apropriado, separá-los através de sua relação massa-carga ( $m/z$ ) em um analisador de massas, e detectar quali e/ou quantitativamente os compostos a partir da relação massa-carga dos íons ( $m/z$ ) e suas respectivas abundâncias por meio de um detector, que “conta” os íons e transforma o sinal em corrente elétrica. A magnitude do sinal elétrico em função da relação  $m/z$  é convertida por um processador de dados, que gera o espectro de massas correspondente.<sup>8</sup>

Inicialmente, a aplicação da espectrometria de massas era restrita a análise de gases, substâncias voláteis e termicamente estáveis, pois as primeiras técnicas de ionização empregadas (impacto de elétrons e química) são processos constituídos por duas etapas, nas quais o analito é vaporizado com aquecimento e a ionização ocorre uma vez que a molécula esteja na fase gasosa.<sup>9</sup>

O desenvolvimento de novas técnicas de ionização foi uma mudança fundamental, pois permitiu a produção de íons a partir de compostos de alta massa molecular e não voláteis. Destacam-se a partir da década de 80, o aparecimento das técnicas de ionização ESI (Ionização por *electrospray*)<sup>10-12</sup> e MALDI (Ionização/Dessorção a laser assistida por matriz)<sup>13</sup> – que estenderam a espectrometria de massas à quase todos os tipos de moléculas.

Nestas técnicas de ionização, íons são obtidos através da protonação ou desprotonação, ou ainda pela adição de outros íons, como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, formando adutos. As espécies observadas são chamadas protonadas [M+H]<sup>+</sup>, desprotonadas [M-H]<sup>-</sup> ou de íons adutos de sódio [M+Na]<sup>+</sup> ou potássio [M+K]<sup>+</sup> por exemplo.<sup>14</sup>

Enquanto na ionização por elétrons, formam-se íons com energia interna elevada, que se fragmentam e fornecem informações sobre características estruturais das moléculas, ESI e MALDI são técnicas brandas de ionização, que formam íons com baixa energia interna, permitindo a observação do íon molecular, entretanto com muito pouca ou nenhuma fragmentação.

Esta ausência de informação estrutural impulsionou o desenvolvimento de técnicas de fragmentação induzidas, e com isso surgiu a espectrometria de massas *tandem* ou sequencial (MS/MS), onde geralmente os fragmentos são gerados por dissociação induzida por colisão (CID), ou seja, pela colisão do íon gerado na fonte de ionização com uma molécula de gás (tipicamente argônio) em uma câmara de colisão.

Além destes desenvolvimentos, outro impulso para a espectrometria de massas foi a possibilidade de acoplamento com técnicas de separação como cromatografia líquida, gasosa e eletroforese capilar.

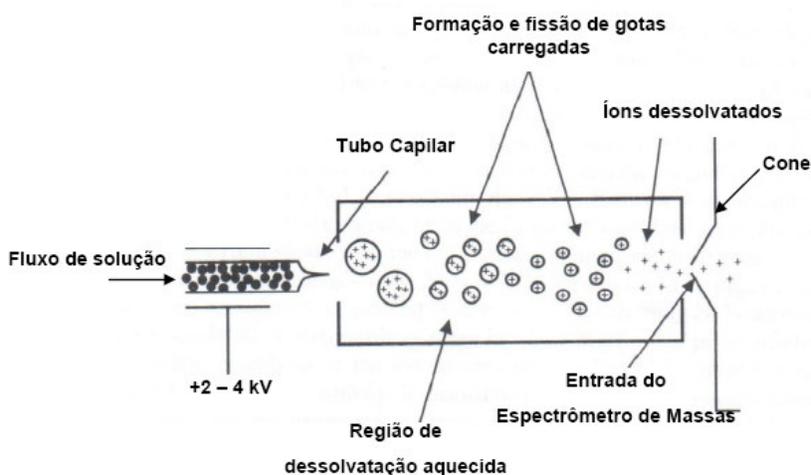
### 1.2.1. Espectrometria de massas com ionização por *electrospray* (ESI-MS)

A ionização por ESI é realizada sob pressão atmosférica e é utilizada para a análise de moléculas polares com massa molecular entre 100 e  $10^5$  u.

É importante que a molécula a ser analisada tenha um sítio ácido ou básico para que ela adquira carga. No modo positivo de ionização, adiciona-se freqüentemente ácido fórmico para protonar as moléculas, conferindo a elas uma carga positiva, enquanto no modo negativo, utiliza-se hidróxido de amônio para desprotoná-las.

Uma característica da técnica de ESI, é que moléculas até aproximadamente 1000 u são observadas na sua forma mono-carregadas. Íons multi-carregados são detectados em moléculas com massas moleculares maiores.

A Figura 3 ilustra o esquema simplificado de uma fonte de ESI, onde íons são gerados e transferidos para a fase gasosa a partir de uma solução da amostra proveniente de uma bomba seringa ou de um sistema HPLC (fluxo entre 5-20  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ).



**Figura 3.** Esquema simplificado de uma fonte de ionização por *electrospray*.<sup>15</sup>

Esta solução é nebulizada através de um capilar de pequeno diâmetro, no qual uma tensão elétrica elevada é aplicada (2-4 kV), produzindo um campo elétrico suficientemente forte para dispersar a solução emergente em um fino *spray* de gotas carregadas eletricamente com auxílio de gás nitrogênio.

As gotas dotadas de carga elétrica se movem em direção ao contra-eletrodo (também denominado cone) e durante esta etapa, a evaporação do solvente reduz o tamanho das gotas até que elas fiquem com excesso de carga, e devido a forças de repulsão, ocorre a fissão da gota em gotículas menores. Neste processo é empregado o fluxo de gás aquecido – tipicamente nitrogênio – para auxiliar a evaporação do solvente. O ciclo de evaporação e fissão das gotas se repete até que se tenha a íon completamente dessolvado.

Os íons são transferidos da região de pressão atmosférica para a região de vácuo do analisador de massas via uma região de transporte intermediária a baixa pressão, que consiste de duas ou mais câmaras dotadas de bombas de vácuo.

As fontes de ESI são oferecidas em combinação com todos os tipos de analisadores de massas. Os filtros de massas do tipo quadrupolo têm sido os analisadores mais empregados na maioria dos trabalhos que utilizam ESI-MS. A combinação adotada se deve ao fato de que os quadrupolos têm um custo menor, são fáceis de usar, capazes de prover excelente exatidão de massa, além de serem relativamente fáceis de acoplar com fontes em alta pressão. Eles apresentam como desvantagem, uma faixa de varredura de massas limitada ( $m/z$  10 até  $m/z$  2000).<sup>16</sup>

### 1.2.2. Espectrometria de massas com ionização MALDI

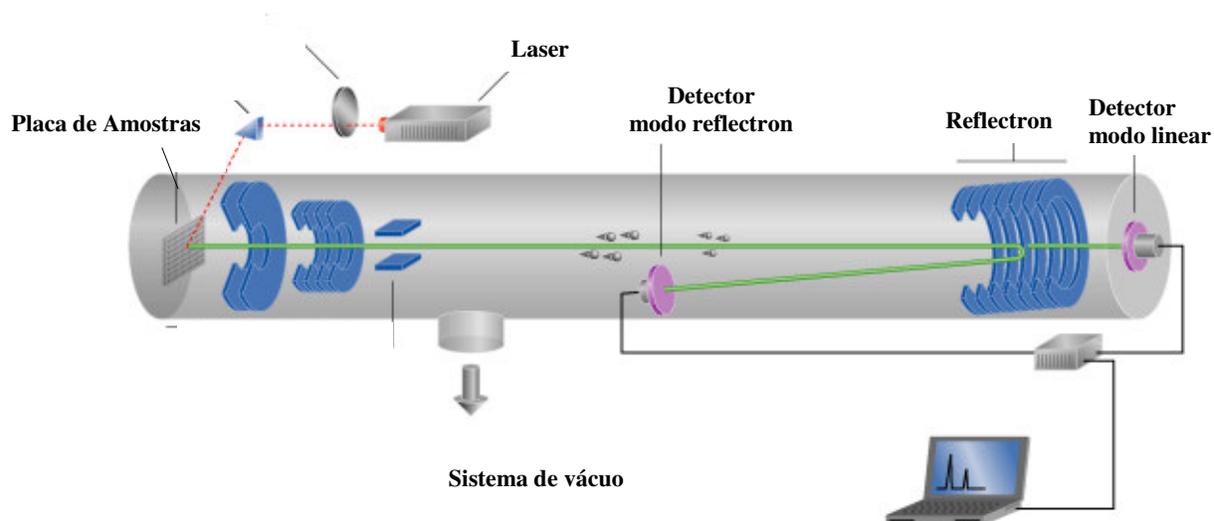
A técnica de ionização/dessorção a laser assistida por matriz, usualmente chamada de MALDI foi descrita por Karas e Hillenkamp<sup>13</sup> em 1988. Nesta técnica, a amostra contendo a espécie de interesse e uma matriz (composto necessário para a ionização da amostra) são solubilizadas em solvente orgânico e/ou água e uma pequena quantidade de cada solução (normalmente 1  $\mu$ L) é depositada sobre

uma placa. Com a evaporação do solvente, a matriz cristaliza e as moléculas da amostra se encontram inclusas nestes cristais.

A matriz utilizada (geralmente ácidos orgânicos aromáticos) deve absorver no comprimento de onda utilizado no experimento. Deste modo, um pulso de laser, com comprimento de onda na região do ultravioleta, incide sobre essa mistura e a energia do laser é absorvida pela matriz, o que promove a sua sublimação. As moléculas do analito, que estavam inclusas na matriz, são arrastadas para a fase gasosa e a formação dos íons ocorre através da transferência de carga (ex: transferência de prótons) das moléculas da matriz para o composto analisado que é detectado na forma protonada  $[M+H]^+$ . Observações similares são feitas para íons quasi-moleculares gerados por cationização, como por exemplo, os adutos do tipo  $[M+\text{metal alcalino}]^+$ , no caso de analitos ricos em oxigênio. Na maioria dos casos, se formam espécies mono-carregadas.<sup>8</sup>

Em grande parte das aplicações, a técnica de MALDI está acoplada com analisadores de massas do tipo tubo de vôo, denominados TOF (*time-of-flight*), conforme mostrado na Figura 4.

Os íons formados e desorvidos durante o pulso de laser são continuamente extraídos e acelerados em direção ao analisador de massas (tubo de vôo) por um campo elétrico (tipicamente entre 10-30 kV)<sup>8</sup> aplicado entre a placa de amostragem e a grade de aceleração. Quando deixam esta região de aceleração, os íons de diferentes  $m/z$  são separados de acordo com o seu tempo de vôo em um tubo, cujo caminho percorrido tem comprimento conhecido. Sob a condição que todos os íons iniciaram a sua jornada ao mesmo tempo ou no mínimo, dentro de um intervalo de tempo suficientemente curto, os íons mais leves chegarão mais rapidamente ao detector do que os mais pesados, uma vez que a energia cinética das espécies ionizadas é a teoricamente a mesma.



**Figura 4.** Esquema geral de um espectrômetro de massas MALDI-TOF.

O analisador TOF pode operar em dois modos: linear e *reflectron*. O modo linear é utilizado para moléculas de massa molecular elevada, como as proteínas, peptídeos e polímeros e o modo *reflectron* para moléculas de massa de até aproximadamente 5000 u.

O *reflectron* é um espelho eletrostático composto por uma série de lentes com diferença de potencial crescente e utilizado para corrigir dispersões de energia e posição dos íons formados que ocorrem no campo de aceleração do TOF. Essas dispersões resultam numa falta de homogeneidade de energia cinética, de maneira que íons com mesma relação massa/carga tenham energias iniciais diferentes. Deste modo, após atravessarem a primeira região do tubo de vôo, os íons penetram na região do *reflectron* e são desacelerados até atingirem energia cinética nula, quando são expelidos em direção oposta. Os íons com excesso de energia cinética penetram mais no campo elétrico de desaceleração e gastam mais tempo na região do *reflectron* do que os íons com menos energia.

O emprego do *reflectron* promove uma correção no tempo de vôo, de modo que os íons com mesma relação massa/carga ( $m/z$ ) cheguem simultaneamente no detector e acarreta no aumento de resolução.

## CAPÍTULO 2:

# **Caracterização e Tipificação de Óleos e Gorduras Vegetais Amazônicos por Espectrometria de Massas MALDI-TOF**

## 1. Introdução

### 1.1. Importância dos Óleos e Gorduras Vegetais Amazônicos

A busca por alternativas que garantam o desenvolvimento sustentável é, sem dúvida, uma das grandes preocupações atuais, tornando mais freqüentes os questionamentos sobre as possibilidades de substituição de tecnologias baseadas em fontes esgotáveis e que exerçam impacto sobre o meio ambiente.

Neste contexto, a biodiversidade tem sido cada vez mais reconhecida como um dos elementos centrais para o desenvolvimento e bem-estar da humanidade e grande responsável pelo equilíbrio ambiental global.

Com uma das maiores áreas de biodiversidades do mundo, a floresta Amazônica (que ocupa uma área aproximada de 3,6 milhões de km<sup>2</sup> no território brasileiro) abriga uma das mais ricas variedades de espécies animais e vegetais. A floresta representa 23% da biodiversidade global e contém 70% de todas as espécies de fauna e flora presentes em florestas tropicais de todo o mundo.<sup>17,18</sup> A Amazônia, como floresta tropical, apresenta-se como um ecossistema extremamente complexo e delicado. Todos os elementos (clima, solo, fauna e flora) estão estreitamente relacionados, de modo que não se pode considerar nenhum deles como principal. A busca de alternativas, que promovam a preservação e o uso sustentável deste patrimônio natural, é do interesse do Brasil e da humanidade.

Um bom exemplo consiste na criação e no fortalecimento de diferentes modelos de unidades de conservação, dentre as quais se incluem as reservas extrativistas para a exploração de produtos florestais não madeireiros (em geral frutos comestíveis, óleos, látex, fibras e plantas medicinais) que servem de matéria-prima para várias indústrias.<sup>19</sup>

Dentre os produtos florestais não madeireiros, as espécies oleaginosas amazônicas apresentam grande potencial para exploração econômica, principalmente por serem abundantes e renováveis, desde que manejadas e processadas racionalmente.

Andiroba (*Carapa guianensis*), babaçu (*Orbignya oleifera*), buriti (*Mauritia flexuosa*), castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*), pracaxi (*Pentaclethra* spp.), tucumã (*Astrocaryum tucuma*), ucuúba (*Virola* spp.) e urucum (*Bixa orellana*) são exemplos representativos de muitas das espécies vegetais amazônicas de importância econômica, devido à extração de óleo ou gordura da semente ou polpa que apresentam diversas aplicações, sendo as mais importantes encontradas nos setores alimentício, farmacêutico e cosmético.<sup>20-22</sup>

Um destaque deve ser dado a indústria cosmética que aderiu a tendência de utilização de produtos naturais e estabeleceu como metas:<sup>20</sup>

- ⇒ Substituição dos cosméticos de base sintética por produtos naturais;
- ⇒ Redução de matérias-primas oriundas de recursos naturais não renováveis por renováveis;
- ⇒ Substituição de óleos graxos de origem animal por aqueles de origem vegetal.

Estas exigências vêm principalmente dos consumidores dos países mais desenvolvidos, como Alemanha, Japão e EUA e aos poucos vem sendo adotada no Brasil.

Quando são avaliadas as opções de óleos provenientes da flora amazônica, os benefícios vão além do forte apelo de *marketing* e da oportunidade de preservar o meio ambiente. Nesta área existe a necessidade de transformar o conhecimento popular dos povos nativos da Amazônia em conhecimento científico, e neste sentido, através de estudos recentes,<sup>23</sup> vem-se comprovando benefícios de alguns óleos vegetais tornando-os excelentes ativos e auxiliares nas formulações cosméticas. Contudo é necessário conhecer as propriedades e composição dos óleos e gorduras vegetais amazônicos para o desenvolvimento de novos produtos, além de estabelecer protocolos de controle a fim de garantir um padrão de qualidade.

Por se tratarem de matérias prima de origem natural, é importante que haja um controle de qualidade rigoroso realizado por meio de técnicas analíticas modernas, como a espectrometria de massas, para avaliar a constância e uniformidade na composição, garantindo a padronização do material vegetal em escala industrial, podendo ainda auxiliar no reconhecimento e na compreensão dessas variações, ampliando os conhecimentos sobre interações ecológicas do vegetal com seu ambiente.<sup>24</sup>

## 1.2. Métodos Empregados na Caracterização de Óleos e Gorduras

Determinar a composição da mistura de triglicerídeos é uma tarefa complexa, devido à variedade de ácidos graxos, que diferem quanto ao tamanho da cadeia graxa e grau de insaturação, bem como a distribuição destes na estrutura do glicerol.

Cromatografia gasosa (GC) com detector de ionização de chama (FID)<sup>25-26</sup> ou acoplada a um espectrômetro de massas (GC-MS)<sup>27</sup> é a técnica mais utilizada para caracterizar óleos e gorduras, através da determinação da composição de ácidos graxos. Neste procedimento, as amostras devem ser hidrolisadas (saponificação dos óleos e gorduras) em meio alcalino, e os ácidos graxos são extraídos da fração insaponificável. Estes ácidos são transformados em ésteres metílicos (espécies mais voláteis), através de uma reação de derivatização com metanol, para poderem ser injetados e separados em uma coluna cromatográfica capilar. Obtém-se como resultado, a distribuição graxa, isto é, os ácidos graxos que compõem os TAGs e suas porcentagens relativas. Apesar de ser bastante utilizado, trata-se de um procedimento que consome tempo e recursos, uma vez que necessita de tratamento da amostra e separação cromatográfica. Quando se emprega GC-FID, os ácidos graxos da amostra (convertidos em ésteres metílicos) são identificados por meio da comparação com tempo de retenção de uma mistura padrão de ésteres graxos metílicos.

Os óleos e gorduras também podem ser caracterizados através de cromatografia líquida (HPLC) sem a necessidade de derivatização. À medida que os TAGs não absorvem na região do visível e ultravioleta, recorre-se a cromatografia líquida acoplada a detector de espalhamento de luz evaporativo (*light-scattering*)<sup>28</sup> ou espectrometria de massas (utilizando principalmente a técnicas de ionização química a pressão atmosférica).<sup>29-33</sup> Infravermelho<sup>34</sup> e ressonância magnética nuclear<sup>35</sup> também são utilizados como técnicas complementares no estudo de óleos (principalmente quanto a autenticidade e qualidade).

A análise direta de óleos e gorduras por espectrometria de massas vem também sendo empregada. Destaca-se a infusão direta de óleos vegetais (análise dos TAGs) ou de sua fração polar (análise de ácidos graxos livres) em espectrômetros de massas, utilizando *electrospray* como modo de ionização (ESI-MS).<sup>36-39</sup> A técnica de MALDI-TOF MS<sup>40-43</sup> foi incorporada recentemente ao arsenal de técnicas analíticas para a determinação de TAGs em óleos comestíveis. Suas principais vantagens são simplicidade, velocidade e possibilidade de determinar e identificar os triglicerídeos diretamente.

Em relação aos trabalhos publicados que investigaram óleos da Amazônia, verificou-se que Mlayah *et al.*<sup>25</sup> analisaram a composição e propriedades físicas de diferentes óleos de palma (frações saponificável e insaponificável) por GC-FID, enquanto Jandera *et al.*<sup>30</sup> identificaram os principais TAGs presentes no óleo de castanha do Pará por HPLC-MS. Contudo, não foram detectados na literatura, trabalhos comparativos entre os principais óleos fixos da Amazônia, quanto à composição graxa (identificação dos TAGs).

Portanto, o objetivo do trabalho, apresentado neste capítulo da dissertação, consiste em desenvolver um procedimento direto para a avaliação da composição de TAGs através da técnica MALDI-TOF MS e adotá-lo como um método para tipificação e controle de qualidade para os principais óleos e gorduras vegetais amazônicos.

## 2. Materiais e Método

### 2.1. Reagentes e Amostras

Todos os reagentes utilizados, ácido 2,5 di-hidróxi-benzóico (Sigma-Aldrich), cloreto de lítio (Sigma-Aldrich), metanol (Merck) foram de grau analítico. Foram adquiridas amostras comerciais de óleo de semente de andiroba (*Carapa guianensis*), castanha do Pará (*Bertholletia excelsa*), maracujá (*Passiflora* spp.), buriti (*Mauritia flexuosa*) e gorduras das sementes de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e ucuúba (*Virola sebifera*) das empresas Naturais da Amazônia (Belém, Brasil), Crodamazon (Campinas, Brasil), Beraca-Sabará Ingredientes (São Paulo, Brasil) e Campestre Óleos (São Paulo, Brasil). As amostras estavam dentro do prazo de validade e todas eram provenientes de reservas extrativistas da região amazônica.

### 2.2. Procedimento Experimental

As análises foram realizadas em um espectrômetro de massas MALDI-TOF (Micromass, Manchester, Reino Unido). Os espectros foram adquiridos no modo reflectron e positivo de aquisição de íons com as seguintes voltagens: tensão de pulso 2500V, tensão do *reflectron* 2000 V, tensão da fonte 15000 V e tensão do MCP 1800 V. A dessorção/ionização foi realizada através de um laser de nitrogênio ( $\lambda = 337$  nm). O equipamento foi calibrado com uma mistura de polietilenoglicol no intervalo das massas moleculares dos triglicerídeos ( $m/z$  500-1500).

O protocolo adotado na preparação das amostras de óleos e gorduras seguiu o procedimento descrito por Trimpin e Deinzer,<sup>44</sup> que analisaram membrana protéica sem o emprego de solvente. A matriz utilizada (ácido 2,5-dihidróxi-benzóico) foi misturada com a amostra na proporção 10:1 em um pequeno frasco de vidro e homogeneizada através de “moinho de bolas” por 1 minuto, após a adição de três pequenas esferas de aço no frasco. Foi aplicada e fixada uma quantidade mínima da mistura no *spot* da placa de amostragem, com auxílio de

uma espátula. A placa de MALDI foi limpa com um fluxo reduzido de gás nitrogênio antes de ser inserida no espectrômetro de massas, para remover o possível excesso de partículas sólidas.

Foram realizados experimentos no quais as amostras foram dopadas com solução saturada de cloreto de lítio em metanol; neste caso era adicionado 1µL de solução à mistura amostra /matriz, antes da homogeneização.

Os espectros foram adquiridos no intervalo de  $m/z$  500–1500. Todos os dados obtidos por MALDI-TOF foram extraídos e tratados através do software Masslynx 4.0 (Waters, Manchester, Reino Unido). Cada espectro de massas foi acumulado por 30 s.

Para classificar as amostras de óleos após a obtenção dos espectros de massas por MALDI-TOF, foi realizada análise por componentes principais (PCA – *Principal Compounds Analysis*) nos respectivos dados através do programa Piroutte v.4 (Infometrix, Seattle, EUA).

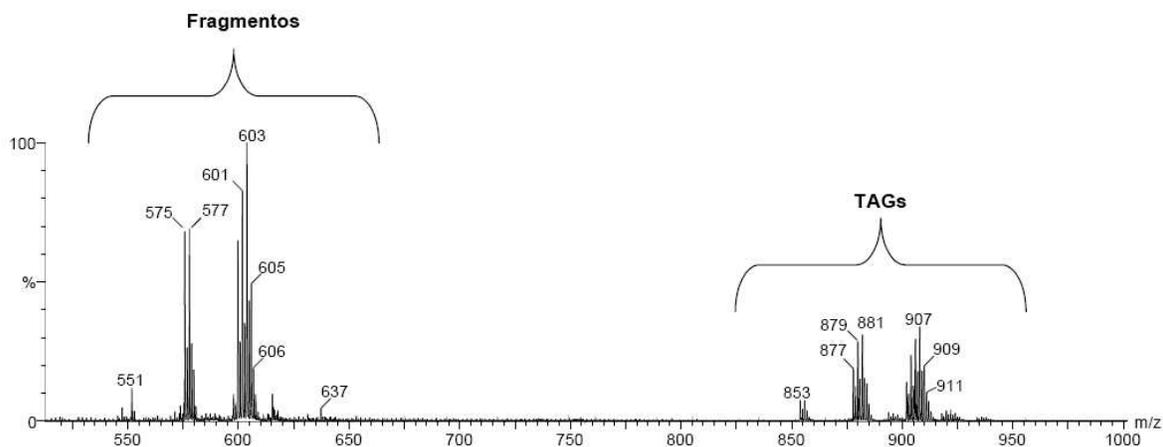
### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Aspectos Gerais

Conforme descrito na parte experimental, as análises foram conduzidas sem o uso de solventes. O método de MALDI livre de solvente vem sendo aplicado para a análise de proteínas e polímeros e foi desenvolvida inicialmente para a caracterização de compostos insolúveis.<sup>44,45</sup> Contudo, quando se aplicou para óleos e gorduras neste projeto, além da vantagem de evitar solventes, outro fator a se destacar é uma maior reprodutibilidade das análises, como resultado de maior homogeneidade da mistura matriz/amostra no spot da placa de MALDI.

Quando a amostra e matriz são preparadas através da solubilização e transferência de uma alíquota de ambas as soluções para a placa de amostragem, de modo a formar uma camada de amostra e matriz ou matriz-amostra-matriz (modo sanduíche), a amostra tende a se cristalizar no centro do spot, enquanto a matriz (DHB) se cristaliza nas bordas do spot, quando seca a pressão ambiente, o que acarreta na formação de um filme heterogêneo que prejudica a obtenção de espectros de massas por MALDI-TOF. O emprego da técnica de MALDI sem solvente é uma maneira de se evitar este problema.

Os espectros de massas de óleos e gorduras vegetais amazônicos obtidos por MALDI-TOF MS mostram perfis típicos de TAGs, e apresentam sinais em duas regiões distintas, conforme ilustrado pelo espectro de massas do óleo de Castanha do Pará na Figura 1.



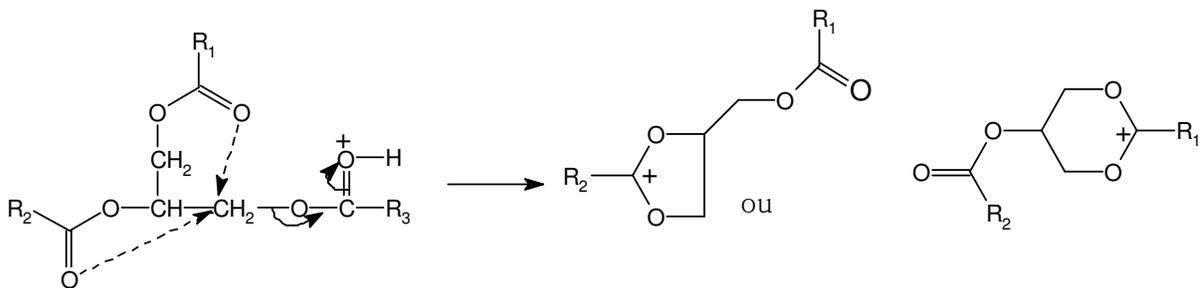
**Figura 1.** Espectro de massas por MALDI-TOF do óleo de castanha do Pará.

Os íons no intervalo de  $m/z$  800-1000 correspondem a TAGs detectados principalmente como adutos de sódio  $[\text{TAG}+\text{Na}]^+$ . Adutos de potássio  $[\text{TAG}+\text{K}]^+$  também foram detectados, porém bem menos intensos.

Os íons na faixa de  $m/z$  500-650 correspondem aos produtos de fragmentação dos TAGs, devido a perda de ácido graxo, conforme observado em trabalhos anteriores na análise de óleos comestíveis.<sup>43,46</sup>

Hill *et al.*<sup>43</sup> sugerem que os fragmentos observados provem de triglicerídeos protonados  $[\text{TAG}+\text{H}]^+$ , que se dissociam imediatamente após se formarem, devido a natureza covalente da protonação que promove a deslocalização da carga positiva e desestabiliza a espécie  $[\text{TAG}+\text{H}]^+$ .

No mecanismo de fragmentação, que é mostrado na Figura 2, o caráter covalente da ligação entre o próton a um dos oxigênios dos grupos carboxilas reduz ainda mais a densidade eletrônica da ligação C-O, levando a perda de uma unidade de ácido graxo (RCOOH). Esta fragmentação pode ser assistida por um ataque nucleofílico do par de elétrons livre do oxigênio pertencente a outro grupo acila lateral.



**Figura 2.** Mecanismo de fragmentação proposto para uma molécula de triacilglicerídeo protonada.<sup>43</sup>

A identificação dos principais TAGs  $[\text{TAG}+\text{Na}]^+$  presentes nos espectros das amostras de óleos e gorduras se encontra sumarizada na Tabela 1.

Tabela 1. Atribuição e abundâncias relativas dos principais íons observados nos espectros de massas MALDI-TOF dos óleos e gorduras amazônicos.

<i>m/z</i> [M+Na] <sup>+</sup>	Fórmula Molecular	TAGs <sup>a</sup>	NC/DL <sup>b</sup>	Castanha <sup>c</sup>	Buriti <sup>c</sup>	Andiroba <sup>c</sup>	Maracujá <sup>c</sup>	Murumuru <sup>c</sup>	Ucuúba <sup>c</sup>	Cupuaçu <sup>c</sup>
633	C <sub>37</sub> H <sub>70</sub> O <sub>6</sub>	LaLaCa	34:0	---	---	---	---	25	---	---
661	C <sub>39</sub> H <sub>74</sub> O <sub>6</sub>	LaLaLa,	36:0	---	---	---	---	99	3	---
689	C <sub>41</sub> H <sub>78</sub> O <sub>6</sub>	LaLaM,	38:0	---	---	---	---	100	13	---
717	C <sub>43</sub> H <sub>82</sub> O <sub>6</sub>	LaLaP,	40:0	---	---	---	---	59	95	---
743	C <sub>45</sub> H <sub>84</sub> O <sub>6</sub>	LaLaO	42:1	---	---	---	---	5	---	---
745	C <sub>45</sub> H <sub>86</sub> O <sub>6</sub>	LaLaS,	42:0	---	---	---	---	27	100	---
771	C <sub>47</sub> H <sub>88</sub> O <sub>6</sub>	MMPo	44:1	---	---	---	---	7	2	---
773	C <sub>47</sub> H <sub>90</sub> O <sub>6</sub>	MMP	44:0	---	---	---	---	9	14	---
799	C <sub>49</sub> H <sub>92</sub> O <sub>6</sub>	MMO	46:1	---	---	---	---	6	2	---
801	C <sub>49</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	MMS	46:0	---	---	---	---	3	3	---
825	C <sub>51</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	PPoPo	48:2	---	---	---	---	5	---	---
827	C <sub>51</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	PPPo	48:1	---	---	9	---	4	---	---
829	C <sub>51</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	PPP	48:0	---	---	21	---	---	---	---
851	C <sub>53</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	PPLn	50:3	---	---	---	---	---	---	---
853	C <sub>53</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	PPL	50:2	23	3	18	8	3	3	---
855	C <sub>53</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	PPO	50:1	23	24	58	4	2	---	5
857	C <sub>53</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	PPS	50:0	5	5	9	---	---	---	---
877	C <sub>55</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	PLL	52:4	57	---	---	68	3	3	---
879	C <sub>55</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	PLO	52:3	85	---	35	45	3	2	---
881	C <sub>55</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	POO	52:2	92	97	100	17	2	1	18
883	C <sub>55</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	POS	52:1	41	22	45	---	---	---	39
885	C <sub>55</sub> H <sub>106</sub> O <sub>6</sub>	PSS	52:0	---	---	21	---	---	---	8
899	C <sub>57</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	LLLn	54:7	---	---	---	---	---	---	---
901	C <sub>57</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	LLL	54:6	42	---	---	100	5	7	---
903	C <sub>57</sub> H <sub>100</sub> O <sub>6</sub>	LLO, OOLn	54:5	70	---	---	74	4	5	---
905	C <sub>57</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	OOL, LLS	54:4	87	---	17	41	3	3	---

<b><i>m/z</i></b> <b>[M+Na]<sup>+</sup></b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>TAGs<sup>a</sup></b>	<b>NC/DL<sup>b</sup></b>	<b>Castanha<sup>c</sup></b>	<b>Buriti<sup>c</sup></b>	<b>Andiroba<sup>c</sup></b>	<b>Maracujá<sup>c</sup></b>	<b>Murumuru<sup>c</sup></b>	<b>Ucuúba<sup>c</sup></b>	<b>Cupuaçu<sup>c</sup></b>
907	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	OOO, SOL	54:3	100	100	44	17	2	---	17
909	C <sub>57</sub> H <sub>106</sub> O <sub>6</sub>	OOS, SSL	54:2	60	30	32	---	---	---	65
911	C <sub>57</sub> H <sub>108</sub> O <sub>6</sub>	SSO	54:1	21	5	14	---	---	---	100
913	C <sub>57</sub> H <sub>110</sub> O <sub>6</sub>	SSS	54:0	5	---	---	---	---	---	25
933	C <sub>59</sub> H <sub>106</sub> O <sub>6</sub>	ALL	56:4	6	---	---	---	---	---	---
935	C <sub>59</sub> H <sub>108</sub> O <sub>6</sub>	AOL	56:3	5	---	---	---	---	---	4
937	C <sub>59</sub> H <sub>110</sub> O <sub>6</sub>	ASL, AOO	56:2	4	---	---	---	---	---	27
939	C <sub>59</sub> H <sub>112</sub> O <sub>6</sub>	ASO	56:1	---	---	---	---	---	---	45
941	C <sub>59</sub> H <sub>114</sub> O <sub>6</sub>	ASS	56:0	---	---	---	---	---	---	11
965	C <sub>61</sub> H <sub>114</sub> O <sub>6</sub>	AAL	58:2	---	---	---	---	---	---	4
967	C <sub>61</sub> H <sub>116</sub> O <sub>6</sub>	AAO	58:1	---	---	---	---	---	---	7
969	C <sub>61</sub> H <sub>118</sub> O <sub>6</sub>	AAS	58:0	---	---	---	---	---	---	2

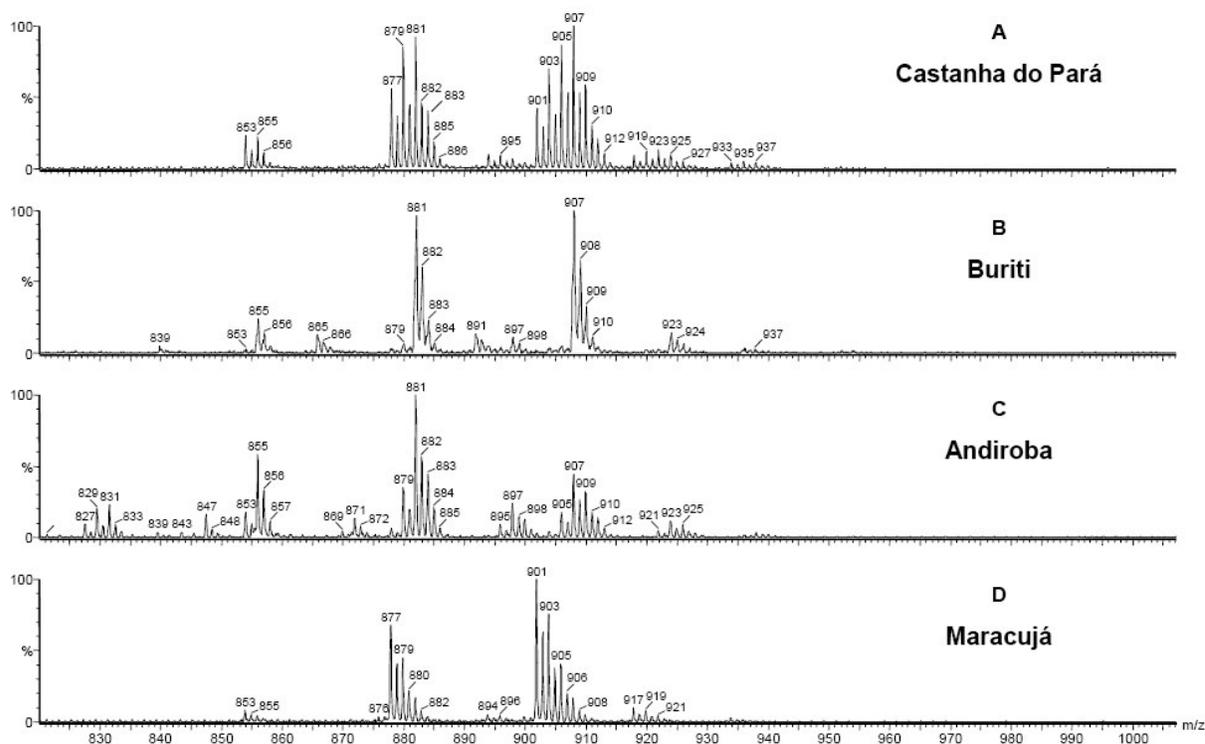
a) Abreviações utilizadas para os ácidos graxos: cáprico (Ca, C10:0), laúrico (La, C12:0), mirístico (M, C14:0), palmítico (P, C16:0), palmitoleico (Po, C16:1), esteárico (S, C18:0), oleico (O, C18:1), linoleico (L, C18:2), linolênico (Ln, C18:3) e araquídico (A, C20:0);

b) NC/DL = número de carbonos/número de duplas ligações das três unidades de ácido graxo;

c) abundância relativa: relação entre a intensidade do íon observado e o íon mais intenso (normalizado para 100%).

### 3.2. Caracterização dos Óleos Vegetais

A Figura 3 compara os espectros de massas por MALDI-TOF MS dos óleos de Castanha do Pará, Buriti, Andiroba e Maracujá.



**Figura 3.** Espectros de massas por MALDI-TOF dos óleos vegetais amazônicos.

É interessante notar que cada óleo apresenta um espectro de massas com um perfil típico de TAGs que permite sua caracterização rápida e fácil, conforme descrito a seguir.

O *fingerprint* do óleo de castanha do Pará (Figura 3A) possui TAGs derivados principalmente dos ácidos oleico e linoleico, caracterizado através dos íons de  $m/z$  877 (PLL),  $m/z$  879 (PLO),  $m/z$  881 (OOP),  $m/z$  901 (LLL),  $m/z$  903 (LLO ou/e OOLn),  $m/z$  905 (OOL ou/e LLS),  $m/z$  907 (OOO e/ou SOL) e  $m/z$  909 (OOS ou/e SSL). Este resultado está de acordo com a típica composição do óleo de castanha do Pará que contem entre 31-56% de ácido oleico, 26-46% de ácido linoléico e 14-16% de ácido palmítico.<sup>22,47</sup>

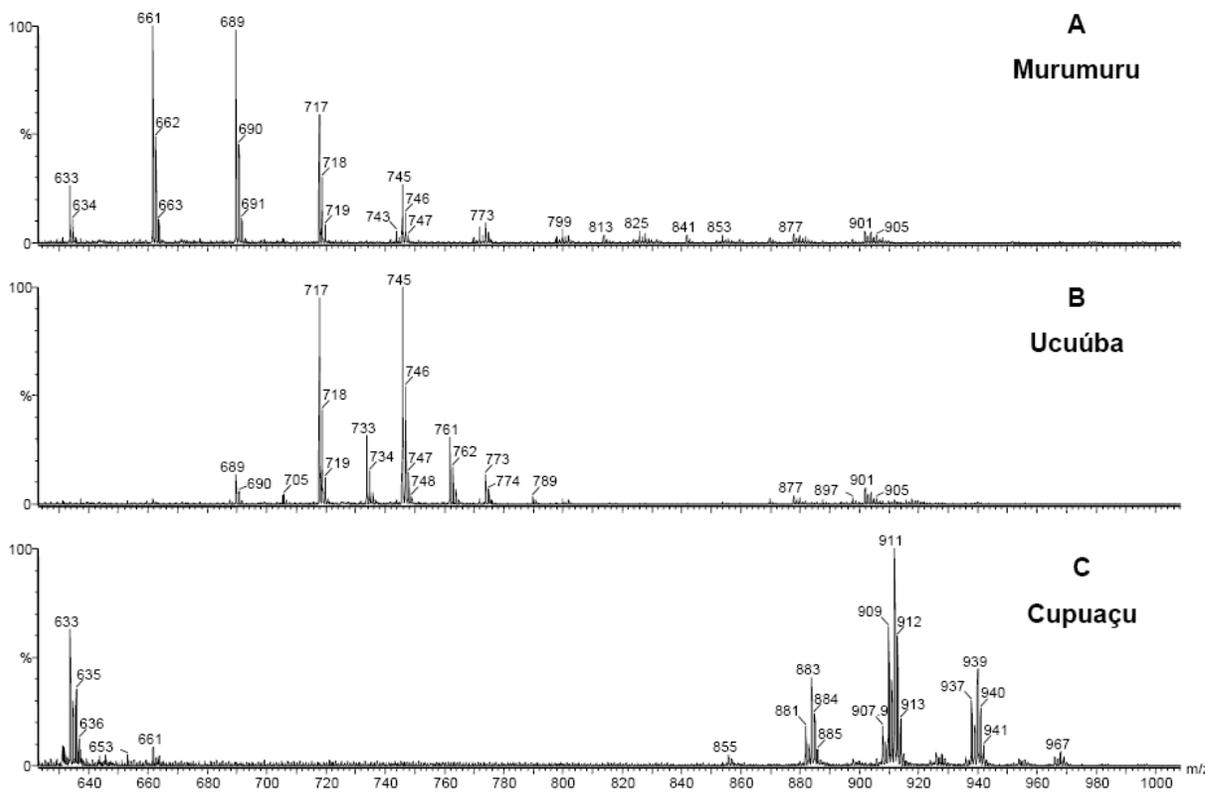
O óleo de buriti (Figura 3B) tem entre 73-76% de ácido oleico;<sup>22</sup> conseqüentemente se verificou que este óleo é caracterizado através dos TAGs derivados do referido ácido, visto que o seu espectro de massas apresentou os íons de  $m/z$  881 (OOP) e  $m/z$  907(OOO) como os mais intensos.

O óleo de andiroba (Figura 3C), por sua vez, é constituído principalmente por TAGs dos ácidos oleico (50-60%) e palmítico (19-28%),<sup>22,23</sup> e exibe os íons de  $m/z$  855 (PPO),  $m/z$  881 (OOP) e  $m/z$  907 (OOO) como os mais abundantes. Observa-se que óleo de andiroba apresenta os mesmos íons diagnósticos do óleo de buriti, e desta maneira, a diferenciação entre eles se promove através da análise das abundâncias relativas. À medida que o óleo de buriti é mais rico em ácido oleico do que o andiroba, o íon de  $m/z$  907 (OOO) é mais intenso no buriti. O mesmo ocorre em relação ao ácido palmítico que é mais abundante no óleo de andiroba, de modo que o espectro de massas mostra os íons  $m/z$  855 (PPO) e  $m/z$  829 (PPP) mais abundantes no óleo de andiroba.

O óleo de maracujá (Figura 3D) é caracterizado por TAGs do ácido linoleico, como os íons de  $m/z$  901 (LLL),  $m/z$  903 (LLO) e  $m/z$  877 (LLP), uma vez que o ácido linoleico é o principal componente do óleo de maracujá (aproximadamente 77%).<sup>23</sup>

### 3.3. Caracterização das Gorduras Vegetais

Em relação às gorduras amazônicas, observa-se que estas também possuem perfis distintos por MALDI-TOF MS, que permitem uma tipificação rápida e simples (Figura 5).



**Figura 4.** Espectro de massas por MALDI-TOF das gorduras vegetais amazônicas.

O espectros de massas das gorduras amazônicas apresentam íons  $[TAG+Na]^+$  na faixa de  $m/z$  600-1000, sendo que gordura de cupuaçu possui um espectro mais similar ao dos óleos.

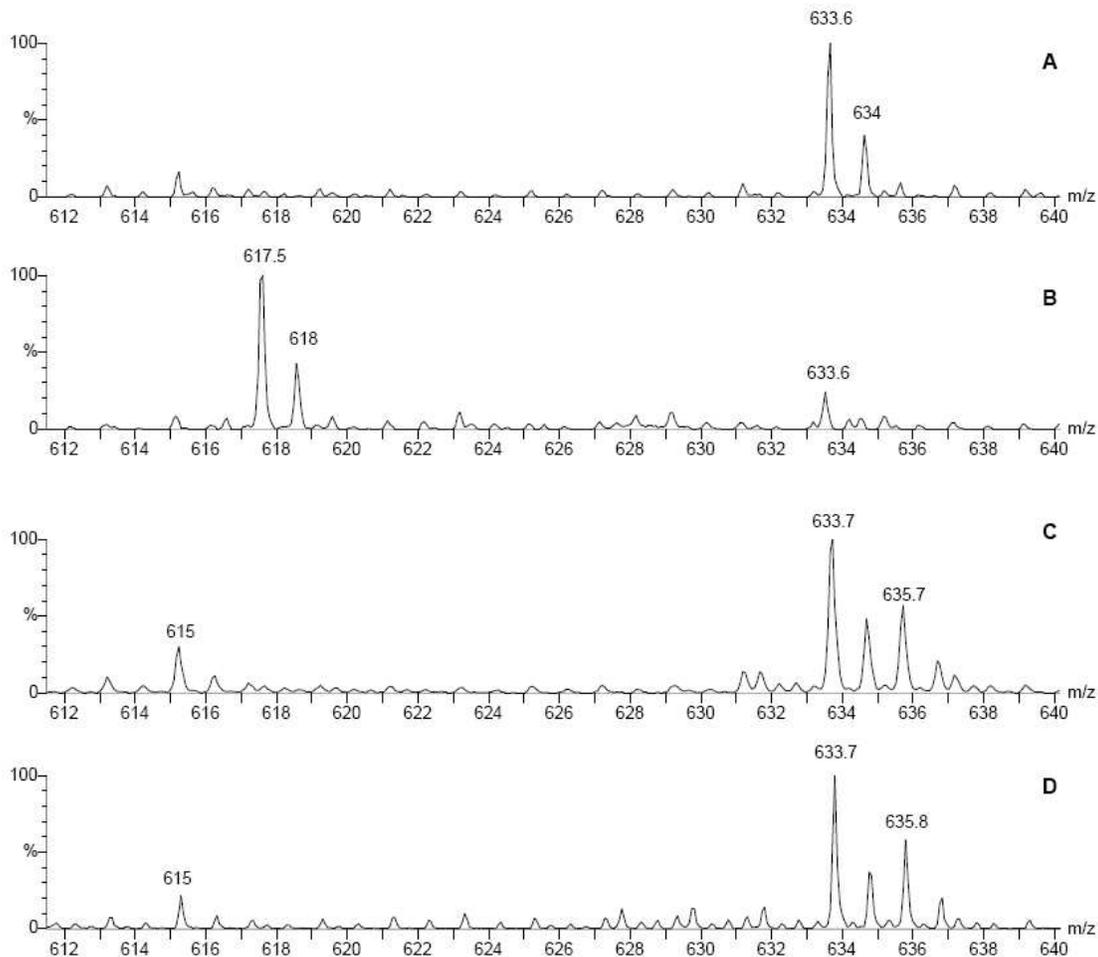
As gorduras de murumuru e ucuúba (Figuras 4A e 4B) são constituídas, principalmente, por TAGs derivados dos ácidos láurico e mirístico. Os íons de  $m/z$  661 (LaLaLa) e  $m/z$  689 (LaLaM) são mais abundantes na gordura de murumuru, enquanto na ucuúba, os mais intensos são os íons de  $m/z$  717 (MMLa) e 745

(MMM), sendo que em ambas, a relação entre os íons mais abundantes é de aproximadamente 1:1. Estes resultados estão de acordo com a literatura,<sup>21,22,47</sup> que descreve a gordura de ucuúba como sendo formada por uma alta porcentagem de ácido mirístico (64-73%), mas também apresenta em sua composição ácido láurico (13-15%). Por outro lado, ocorre o inverso na gordura de murumuru, onde o ácido graxo mais abundante é o láurico (43-51%), seguido pelo mirístico (26-37%). O espectro de massas da gordura de ucuúba exhibe também íons que foram identificados como adutos de potássio dos TAGs com  $m/z$  705  $[C_{41}H_{78}O_6+K]^+$ ,  $m/z$  733  $[C_{43}H_{82}O_6+K]^+$ ,  $m/z$  761  $[C_{45}H_{84}O_6+K]^+$  e  $m/z$  789  $[C_{45}H_{86}O_6+K]^+$ .

O *fingerprint* da gordura de cupuaçu (Figura 4C) é muito característico, pois os TAGs se encontram no intervalo de  $m/z$  850-1000. Nota-se que os TAGs identificados são derivados principalmente dos ácidos esteárico e oleico, como SSO ( $m/z$  911), OOS e SSL ( $m/z$  909), OOO e SOL ( $m/z$  907), SSS ( $m/z$  913), além daqueles que possuem uma unidade de ácido palmítico em sua cadeia: OOP ( $m/z$  881), POS ( $m/z$  883) e SSP ( $m/z$  885).

Destaca-se também a presença de triglicerídeos com uma unidade de ácido araquídico, como OOA e ASL ( $m/z$  937); ASO ( $m/z$  939) e ASS ( $m/z$  941) ou duas unidades, como AAL ( $m/z$  965), AAO ( $m/z$  967), AAS ( $m/z$  969) que auxiliam na tipificação da gordura de cupuaçu. Embora a gordura de cupuaçu e os óleos amazônicos estudados exibam íons na mesma faixa de  $m/z$ , verifica-se que estes últimos possuem um perfil diferente da gordura de cupuaçu que é caracterizada principalmente por TAGs derivados de ácidos graxos saturados, como o esteárico e araquídico.<sup>47</sup>

Outro ponto a ser abordado, refere-se à identificação dos íons de  $m/z$  633 e 635 no espectro de massas da gordura de cupuaçu. Eles foram identificados como fragmentos dos triglicerídeos com massas moleculares superiores, conforme ficou demonstrado pelo experimento de dopagem com lítio (Figura 5).

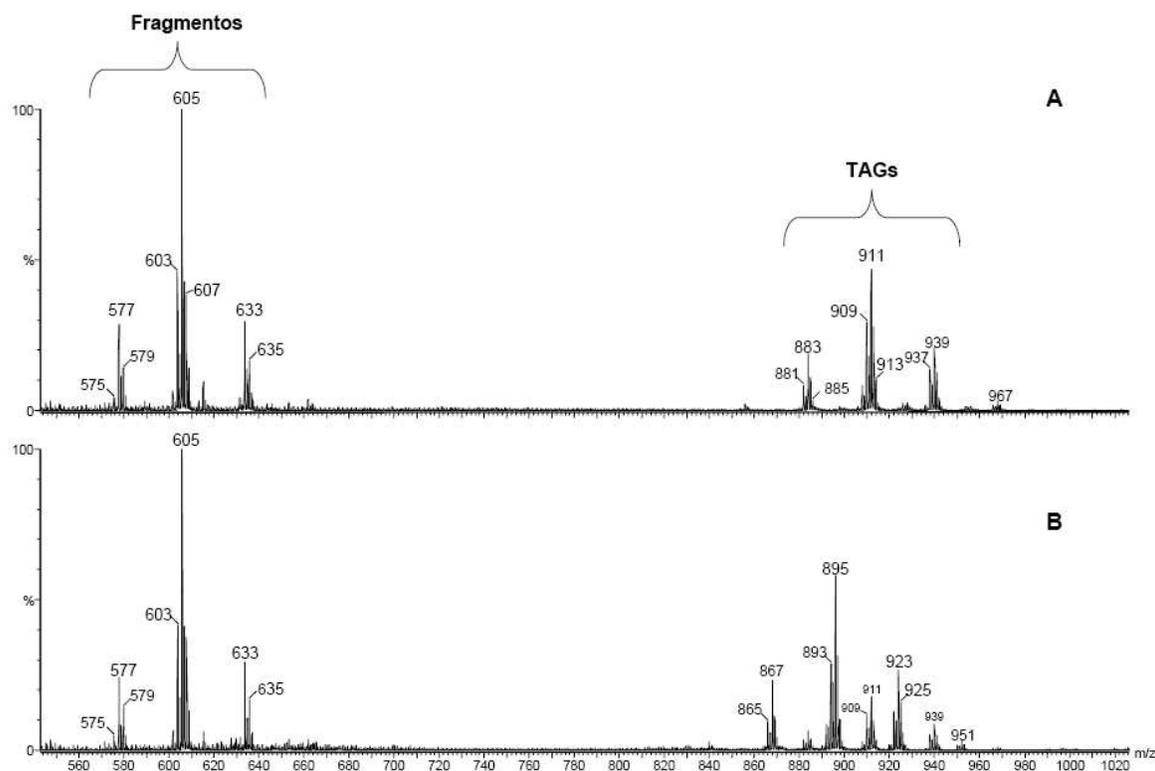


**Figura 5.** Espectros de massas MALDI-TOF das gorduras vegetais amazônicas: A) murumuru (*in natura*) B) murumuru (dopada com LiCl) C) cupuaçu (*in natura*) D) cupuaçu (dopada com LiCl).

Neste experimento, as gorduras de murumuru e cupuaçu foram analisadas com e sem a adição de cloreto de lítio, percebendo-se claramente que na gordura de murumuru (Figuras 6A e 6B), o sinal do íon de  $m/z$  633 (atribuído como aduto de sódio do TAG  $C_{37}H_{70}O_6$  - LaLaCa) diminui drasticamente na presença de lítio, devido a formação do íon de  $m/z$  617, que corresponde ao aduto de lítio do referido TAG.

O mesmo não ocorre com a gordura de cupuaçu, que ao ser dopada com cloreto de lítio, não apresenta modificação no espectro de massas na região observada das Figuras 5C e 5D. Entretanto, verifica-se que neste mesmo

experimento, os sinais atribuídos como TAGs (entre  $m/z$  850-1000) na gordura de cupuaçu sofrem um deslocamento de  $m/z$  (menos 16 u), como ocorreu nos sinais correspondentes aos TAGs da gordura de murumuru, ao ser adicionado cloreto de lítio na amostra, como pode ser observado na Figura 6.



**Figura 6.** Espectro de massas MALDI-TOF da gordura de cupuaçu: A) *in natura* B) com adição de cloreto de lítio.

Conseqüentemente, confirma-se a hipótese de que na gordura de cupuaçu, o íon de  $m/z$  633 é um fragmento com fórmula molecular  $[C_{41}H_{77}O_4]^+$  proveniente da dissociação de um triglicéride de massa molecular superior, contendo em sua estrutura uma unidade de ácido araquídico e oleico, enquanto o íon de  $m/z$  635, também é um fragmento que contém uma unidade de ácido araquídico e esteárico e de fórmula molecular  $[C_{41}H_{79}O_4]^+$ . Esta afirmação também é reforçada pelo fato de que a gordura de cupuaçu não apresenta ácido láurico em sua composição graxa.<sup>47</sup>

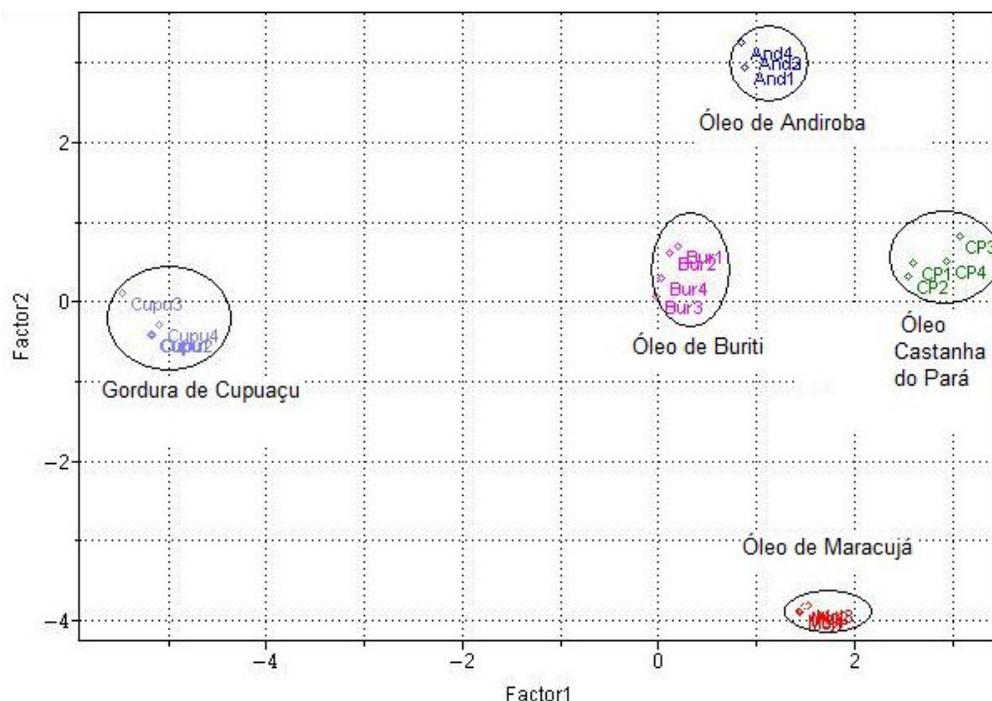
### 3.4. Análise Exploratória dos Dados

Para testar o desempenho da técnica MALDI-TOF na classificação de óleos amazônicos, os dados foram tratados por meio da análise de componentes principais (PCA).

A análise de PCA é uma metodologia empregada na caracterização de amostras, onde é necessário extrair informação de um grande número de variáveis. Trata-se de uma ferramenta útil na análise e classificação de um grupo de amostras, pois permite visualizar os dados obtidos a partir das amostras em um gráfico bi ou tridimensional.<sup>48</sup>

Os componentes principais (PC) são obtidos em ordem decrescente de variância, onde o componente principal (PC1) detém mais informação estatística que o PC2, e assim por diante. Portanto a janela PC1 x PC2 é a mais importante estatisticamente (*scores*). PCA também pode ser usada para ver quais variáveis (*loadings*) têm maior importância no agrupamento das amostras.<sup>49</sup> Quando há um número grande de variáveis, o uso do PCA tri-dimensional, onde visualizamos a janela PC1 x PC2 x PC3, pode ser mais adequado.

Figura 7 mostra o gráfico de PC1 (Fator 1) *versus* PC2 (Fator 2) para os espectros MALDI-TOF das amostras de óleos e da gordura de cupuaçu (cujos íons estão na mesma região de *m/z* observada para os óleos). Os *fingerprints* foram expressos como as intensidades relativas dos principais íons [TAG+Na]<sup>+</sup> de cada amostra.



**Figura 7.** PCA dos dados de MALDI-TOF MS dos óleos (Buriti, Castanha do Pará, Maracujá) e da gordura de Cupuaçu.

Através do gráfico bidimensional PC1 versus PC2 (Figura 7), verifica-se que cada um dos quatro tipos de óleos foi claramente agrupado e separado.

Os óleos de buriti e andiroba que apresentam um *fingerprint* bem similar foram agrupados separadamente e a gordura de cupuaçu está mais isolada dos óleos, porque é formada principalmente por TAGs de ácidos graxos saturados, enquanto os óleos contem principalmente ácidos graxos insaturados.

## 4. Conclusão

A técnica MALDI-TOF permite a análise direta de triglicerídeos nos óleos e gorduras vegetais amazônicos estudados.

Os espectros de massas por MALDI-TOF mostram que cada óleo e gordura amazônico possui um padrão característico de triglicerídeos, de maneira que foi possível elaborar um banco de dados das amostras avaliadas, de acordo com os íons diagnósticos e suas abundâncias relativas.

É necessário destacar também as vantagens da espectrometria de massas MALDI-TOF aplicada neste trabalho, na caracterização de óleos e gorduras, pois complementa as informações obtidas pelas técnicas cromatográficas, a partir de um procedimento direto, rápido e simples.

Enfim, o procedimento desenvolvido dispensa o emprego de solvente e permite a obtenção de resultados mais reprodutíveis. A técnica se mostra aplicável para a identificação, caracterização e controle de qualidade de óleos e gorduras amazônicos.

Existe a perspectiva futura de estender a técnica para caracterização de outros óleos e gorduras amazônicos.

## CAPÍTULO 3:

# **Caracterização de Surfactantes Catiônicos em Produtos Amaciantes Têxteis por Espectrometria de Massas com Ionização por *Electrospray* (ESI-MS)**

## 1. Introdução

O amaciante de tecidos para uso doméstico pode ser definido como um produto que confere maciez (sensação de toque agradável) a artigos de vestuário, proporciona frescor e odor agradável e promove a redução da eletricidade estática (que prejudica o conforto no uso e a manipulação de tecidos).<sup>50</sup>

Ele pertence à categoria dos produtos domissanitários ou produtos de limpeza, que são indispensáveis para a manutenção da limpeza, saúde e higiene. De acordo com a ABIPLA (Associação Brasileira de Produtos de Limpeza e Afins), os amaciantes estão presentes em 81,9% dos lares brasileiros.<sup>51</sup>

Os amaciantes foram introduzidos inicialmente nos Estados Unidos por volta de 1950 e dez anos depois na Europa, quando as máquinas de lavar e secar roupas se tornaram populares.<sup>52</sup> O mercado de amaciantes de roupas está em crescimento, com um aumento na taxa de consumo anual entre 3-8% ao redor do mundo,<sup>53</sup> conforme mostra a Tabela 1:

Tabela 1. Consumo Mundial de Amaciantes<sup>a</sup>

<b>Região/Ano</b>	<b>1995</b>	<b>2000</b>	<b>2005</b>	<b>Crescimento Anual<sup>b</sup> (%)</b>
Europa	115	130	140	2,5
Estados Unidos	72	86	104	3,5
América Latina	24	33	46	6,5
Ásia	50	50-75	70-100	4-10
<b>Total</b>	<b>261</b>	<b>+300</b>	<b>+350</b>	<b>4</b>

a) consumo expresso em milhões de toneladas por ano.

b) crescimento baseado no consumo do período de 1995-2005.

Um grande problema do setor de produtos de limpeza no Brasil é a existência de um mercado informal que comercializa produtos clandestinos a granel em veículos ou pequenos estabelecimentos comerciais. Um estudo

realizado pela FIPE (Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas) em 2001 mostra as dimensões da informalidade, resumidas na Tabela 2.<sup>51</sup>

Tabela 2. Consumo e informalidade no mercado de domissanitários brasileiro.

<b><i>Produto</i></b>	<b><i>Consumo estimado (mil R\$)</i></b>	<b><i>Informalidade (%)</i></b>
Água Sanitária	559.286	42,1
Desifentante	541.510	30,6
Amaciante	726.716	15,2
Detergente Líquido	603.107	7,7

Estes produtos representam um problema à população que os consome, uma vez que eles são produzidos sem a adoção de boas práticas de fabricação (conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos com os regulamentos técnicos), e não são submetidos a um controle de qualidade. Logo, podem conter substâncias em quantidade inferiores ou diferentes daquelas previstas, para que proporcione o resultado esperado pelo consumidor. Outra questão relativamente comum são os acidentes envolvendo crianças que ingerem estes produtos clandestinos, pois geralmente são coloridos e vendidos em garrafas plásticas de refrigerante. O mais grave neste caso, é que o socorro fica prejudicado, à medida que eles não apresentam rótulo com a composição detalhada.

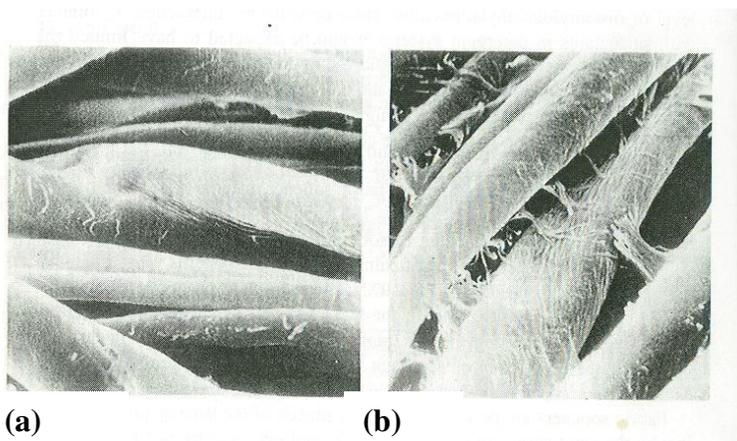
A venda de produtos de limpeza falsificados e adulterados traz prejuízos à saúde pública, às indústrias do setor, ao governo e ao consumidor.

## 1.1. Utilização e Mecanismo de Ação dos Amaciantes

A necessidade de utilizar amaciantes foi induzida devido à introdução de detergentes sintéticos no lugar do sabão e pelo uso de máquinas de lavar automáticas, que modificaram as condições de lavagem dos tecidos.

Na era pré-detergente, as roupas eram lavadas somente com sabão e as fibras do tecido eram cobertas com uma fina camada de sabão insolúvel, na forma de sais de cálcio e magnésio formados em decorrência da dureza da água. Este filme promovia uma lubrificação suficiente das fibras para manter uma sensação agradável nas roupas. Porém, esta percepção foi alterada, pois o processo de lavagem com máquina é realizado com uma fricção mecânica muito alta, o que causa efeito de desarranjo e emaranhamento das fibras, além do emprego de detergentes mais eficazes que removem as manchas presentes, mas também o acabamento original dos tecidos.<sup>54</sup>

A Figura 1 exemplifica o estado das fibras de uma toalha de algodão, depois de 12 ciclos de lavagem com e sem o uso de amaciantes.



**Figura 1.** Micrografia eletrônica das fibras de uma toalha de algodão: (a) com uso de amaciante de roupas (b) sem amaciante de roupas.<sup>50</sup>

O principal componente de uma formulação amaciante é o surfactante catiônico, mais especificamente, sal quaternário de amônio (QUACs) que apresenta a propriedade denominada substantividade, que é definida como a

capacidade da molécula se adsorver em superfícies carregadas negativamente, como metais, fibras têxteis e minerais.<sup>55</sup>

Os amaciantes são utilizados durante a etapa de enxágüe no ciclo de lavagem e funcionam através da deposição do ativo catiônico na superfície do tecido, formando um filme protetor de material graxo que age como lubrificante. Essa lubrificação cria menos fricção na superfície e entre as fibras, originando a sensação de maciez nos tecidos.

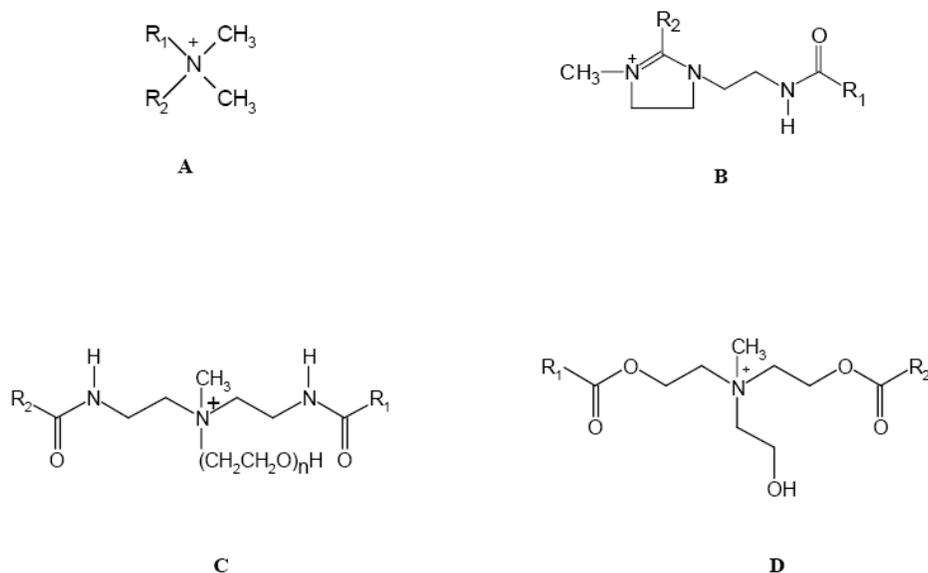
Outra contribuição se dá no processo de secagem automática. Quando se empregam máquinas de secar roupas, a fricção dos tecidos (principalmente os sintéticos) faz com que eles acumulem eletricidade estática e conseqüentemente as peças de vestuário se tornam desconfortáveis ao toque e vestimenta. A lubrificação das fibras promovida pelo amaciante reduz a fricção entre elas e deste modo minimiza o acúmulo de eletricidade estática.

O uso contínuo ou demasiado pode promover acúmulo de surfactante catiônico no substrato, e deste modo, a absorção de água neste substrato pode ser afetada.<sup>56</sup> Portanto, uma importante característica que deve ser verificada nos produtos têxteis, após o emprego de amaciantes, é a molhabilidade, ou seja, a capacidade do substrato (como toalhas, por exemplo) de absorver água.

## 1.2. Sais quaternários de amônio com propriedades amaciantes

Os QUACs utilizados em formulações amaciantes devem conter dois grupos lipofílicos (duas cadeias graxas) para exibirem efeito de amaciamento do tecido adequado. Os grupos lipofílicos presente nestes tensoativos são derivados de ácidos graxos de sebo, na maior parte das vezes, sebo hidrogenado (cujos ácidos mais abundantes são o hexa e octadenóico). Cadeias alquílicas mais curtas (ácidos dodecanóico e tetradecanóico) não são empregadas, pois não exibem propriedades amaciantes.<sup>52,56</sup>

Os principais surfactantes utilizados em produtos de mercado (Figura 2) e que representam mais de 95% dos ativos catiônicos adotados em amaciantes têxteis líquidos no mundo atual<sup>54</sup> são descritos a seguir:



**Figura 2.** Principais quaternários de amônio utilizados em amaciantes de roupas; A) Di-álquil dimetil amônio B) Di-álquil imidazólio C) Di-amida amina etoxilada quaternizada D) *Esterquat*. R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> = cadeias alquílicas graxas

Surfactantes catiônicos produzidos a partir de sebo hidrogenado têm temperaturas de fusão e armazenagem mais elevadas (e usualmente requerem mais solvente pra facilitar o manuseio), mas oferecem em contrapartida excelente desempenho de amaciamento e lubrificação dos tecidos. A formulação de produtos mais concentrados é dificultada devido à alta viscosidade inerente destas moléculas dispersas em água.

Quando se utilizam ácidos graxos insaturados, o efeito de amaciamento é reduzido, mas se torna possível formular produtos mais concentrados, uma vez que ocorre redução da viscosidade.<sup>54</sup>

#### A) Cloreto de di-álquil dimetil amônio:

Os primeiros amaciantes de roupa desenvolvidos na década de 50 empregavam cloreto de di-álquil dimetil amônio (Figura 2A) como surfactante catiônico. Este tensoativo é manufaturado a partir de ácidos graxos provenientes de sebo hidrogenado, e normalmente é designado pela sigla DHTDMAC (*di-hard tallow dimethyl ammonium chloride*).

O consumo deste ativo catiônico diminuiu bastante no fim da década de 90, quando a União Européia decidiu desencorajar seu uso como ingrediente ativo. A principal razão se baseia na busca de matérias-primas mais biodegradáveis e atualmente o cloreto de di-álquil dimetil amônio é mais utilizado em mercados emergentes.<sup>50,54</sup>

#### B) Sal Quaternário de di-álquil imidazolínio.

Os sais quaternários de imidazolínio do tipo 1-(álquil amidoetil)-2-álquil-3-metil imidazolínio, cuja estrutura é apresentada na Figura 2B, também começaram ser utilizados em produtos amaciantes na mesma época que o DHTDAC foi desenvolvido.

Os sais quaternários de imidazolínio contendo cadeias graxas saturadas apresentam efeito de amaciamento um pouco menor que o DHTDMAC, entretanto, apresentam melhor característica de molhabilidade.<sup>57</sup>

Por conseguinte, sais quaternários de imidazolínio são freqüentemente misturados com DHTDMAC para que o amaciante obtenha um melhor desempenho final.

#### C) Sal Quaternário de di-amida amina etoxilada.

Os QUACs derivados de di-amida amina etoxiladas (Figura 3C) são produzidos através da reação de triglicerídeos ou ácidos graxos com

dietilenotriamina, seguida pelo processo de etoxilação e quaternização com dimetil sulfato. A maior vantagem desta classe de produtos é menor custo de produção.

O custo e o desempenho do produto podem ser ajustados pela mistura de triglicerídeos de diferentes fontes. Por exemplo, amaciantes concentrados com até 25% de ativos podem ser facilmente formulados com esta classe de quaternário de amônio (contendo cadeias alquílicas graxas insaturadas).<sup>54</sup>

A partir de cadeias graxas saturadas, obtêm-se surfactantes cuja performance de amaciamento é comparável aos sais quaternários de di-alquil imidazolínio.

#### D) *Esterquats*

*Esterquat* é o termo utilizado para a família de moléculas catiônicas produzidas a partir da reação de esterificação de ácidos graxos com alcanolaminas e quaternizadas com dimetil sulfato.

Em formulações amaciantes, as moléculas de *esterquat* são sintetizadas a partir da trietanolamina (TEA). Este ativo catiônico corresponde a um diéster de trietanolamina com ácidos graxos do sebo (Figura 2D).

Atualmente, *esterquat*-TEA é utilizado em amaciantes na Europa e Estados Unidos, por ser mais biodegradável que o cloreto de dialquil dimetil amônio, uma vez que a presença de ligações éster em sua estrutura química aumenta significativamente a cinética de biodegradação, diminuindo os níveis de exposição ambiental.<sup>58</sup>

*Esterquats* representam uma nova geração de ativos catiônicos para amaciantes, pois combina o bom perfil ambiental exigido pelos consumidores com as características estruturais necessárias para o condicionamento de tecidos.

### 1.3. Composição dos Amaciantes de Roupas

Uma formulação amaciante é uma dispersão aquosa, pois o tensoativo catiônico não é totalmente solúvel em água.

O poder de amaciamento está diretamente relacionado com o teor de ativos catiônicos no produto e a incorporação do quaternário de amônio em concentrações acima de 3% promove espessamento e a maciez dentro das necessidades do consumidor.

No Brasil, o tensoativo mais utilizado é o cloreto de di-álquil dimetil amônio, cuja concentração se encontra na faixa de 5-7% (produtos *premium*), 3-4% (produtos intermediários) e 1-2% (produtos populares).

As formulações também são compostas por água (veículo), perfume, corante (apelo estético) e conservante (em geral, 0,1% de formaldeído ou glutaraldeído). Algumas formulações podem conter ainda agente opacificante (ácido esteárico), espessante (mistura dos álcoois hexa e octadecílico ou monoestearato de glicerila) e agente protetor de cores (octilmetoxicinamato).<sup>59</sup>

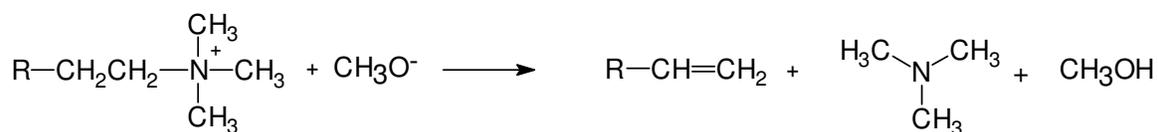
Atualmente existe a tendência de amaciantes de roupa concentrados na América do Norte, Europa e Japão, no qual a concentração do ativo catiônico está entre 15-25%. O objetivo é reduzir o consumo de embalagens que tem impacto direto nos custos de transporte, armazenamento e também no preço final ao consumidor.

Diferentes surfactantes catiônicos podem ser adotados em formulações amaciantes comerciais, que muitas vezes não contem a composição detalhada e declaram no rótulo somente como: “contendo tensoativo catiônico”. Também, conforme foi descrito inicialmente, existe no comércio produtos falsificados e de baixa qualidade, que não atendem as necessidades do consumidor. Logo, é de fundamental importância ter um método simples e confiável para determinar os surfactantes catiônicos que são empregados em produtos amaciantes comerciais.

Este trabalho apresenta um método para identificar e caracterizar surfactantes catiônicos em amaciantes de roupas, empregando espectrometria de massas e que atenda os quesitos propostos (rapidez e confiabilidade), além de ser viável na detecção de fraudes. Antes, porém será descrito os métodos mais empregados para identificar e caracterizar surfactantes catiônicos.

#### 1.4. Identificação e Caracterização de Surfactantes Catiônicos.

Devido à ausência de volatilidade, tensoativos catiônicos não podem ser analisados diretamente por cromatografia gasosa. É necessário convertê-los em derivados voláteis, por exemplo, através da eliminação de Hofmann, onde por aquecimento em meio alcalino, um quaternário de amônio se decompõe em uma amina terciária e um alceno (Figura 3). Normalmente, os surfactantes são refluxados com metóxido de sódio em N,N-dimetilformamida por 1 hora. O extrato da mistura reacional contendo os produtos de degradação é desta maneira, analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detector FID ou espectrômetro de massas.<sup>60,61</sup>



**Figura 3.** Reação de eliminação de Hofmann para um QUAC.

A caracterização de surfactantes é também realizada através de diferentes técnicas, como ressonância magnética nuclear e infravermelho.<sup>61,62</sup> Apesar de valiosas, se tornam técnicas limitadas, quando se pretende identificar tensoativos em formulações comerciais, pois é necessário extrair e isolar a molécula, além de não ser possível obter a distribuição de homólogos (diferentes cadeias alquílicas que compõem um tensoativo).

Para se obter a distribuição de moléculas homólogas, cromatografia líquida e eletroforese capilar são empregadas como técnicas de separação, acopladas a detectores ultravioleta (com utilização de reação pós-coluna para formar um par iônico que absorva em comprimento de onda adequado, no caso de catiônicos que não possuam grupo cromóforo)<sup>63-65</sup>, quimiluminescente (detector de nitrogênio)<sup>66</sup> ou de espalhamento de luz evaporativo.<sup>67</sup> Entretanto esta separação e a identificação pode ser tornar uma tarefa complexa e demorada em produtos comerciais, devido à diversidade de surfactantes e a complexidade da amostra.

Atualmente, a aplicação de técnicas avançadas de espectrometria de massas se mostra uma poderosa ferramenta na identificação de surfactantes em diferentes matrizes (principalmente ambientais).<sup>68-71</sup>

Embora grande parte dos trabalhos utilize a espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida, os surfactantes podem ser analisados diretamente, sem a necessidade de acoplamento com técnicas de separação e/ou pré-tratamento da amostra.<sup>70-73</sup> Em produtos comerciais, Ayorinde *et al*<sup>72</sup> analisaram QUACs em produtos de enxágüe bucal e desinfetantes por MALDI-MS, e Ogura *et al*<sup>73</sup> identificaram e quantificaram surfactantes aniônicos, catiônicos, não iônicos em diferentes produtos de limpeza (detergente, xampus, condicionadores) por ESI-MS; contudo o maior enfoque foi a quantificação de linear alquil benzeno sulfonado em sabão em pó.

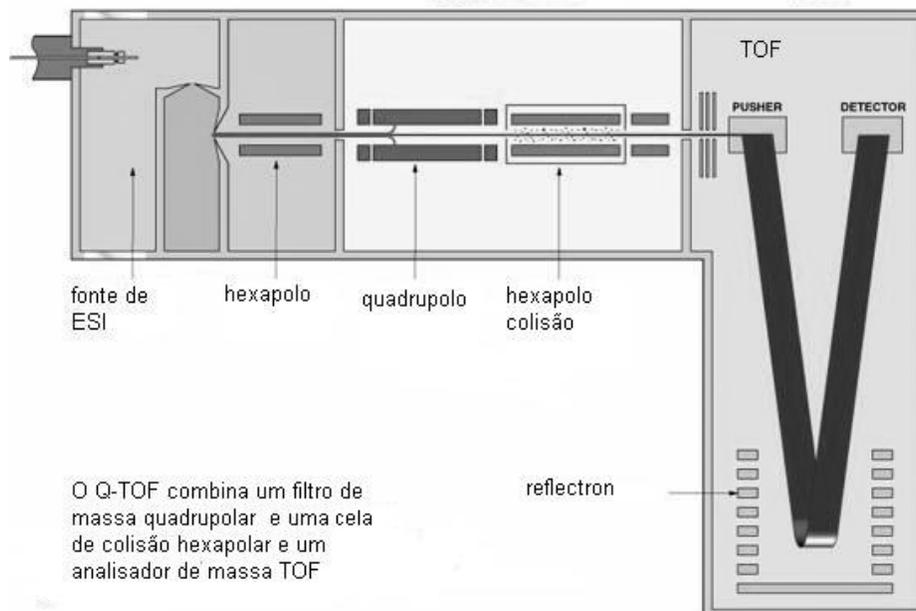
## 2. Materiais e Método

### 2.1. Reagentes e Amostras

Os reagentes utilizados foram de grau analítico: metanol e ácido fórmico (Merck). Água deionizada foi obtida através da unidade de purificação MilliQ (Millipore). Analisaram-se um total de 15 amostras de amaciantes de diferentes marcas comerciais, incluindo amostras que foram adquiridas no comércio formal (8 amostras) e informal (5 amostras) da Grande São Paulo e em supermercados da Alemanha (2 amostras).

### 2.2. Procedimento Experimental

As análises foram realizadas em modo positivo no espectrômetro de massas Q-TOF híbrido com um quadrupolo e um analisador de massas por tempo de voo (Micromass, Manchester, Reino Unido).



**Figura 4.** Esquema do espectrômetro de massas Q-TOF Micromass.

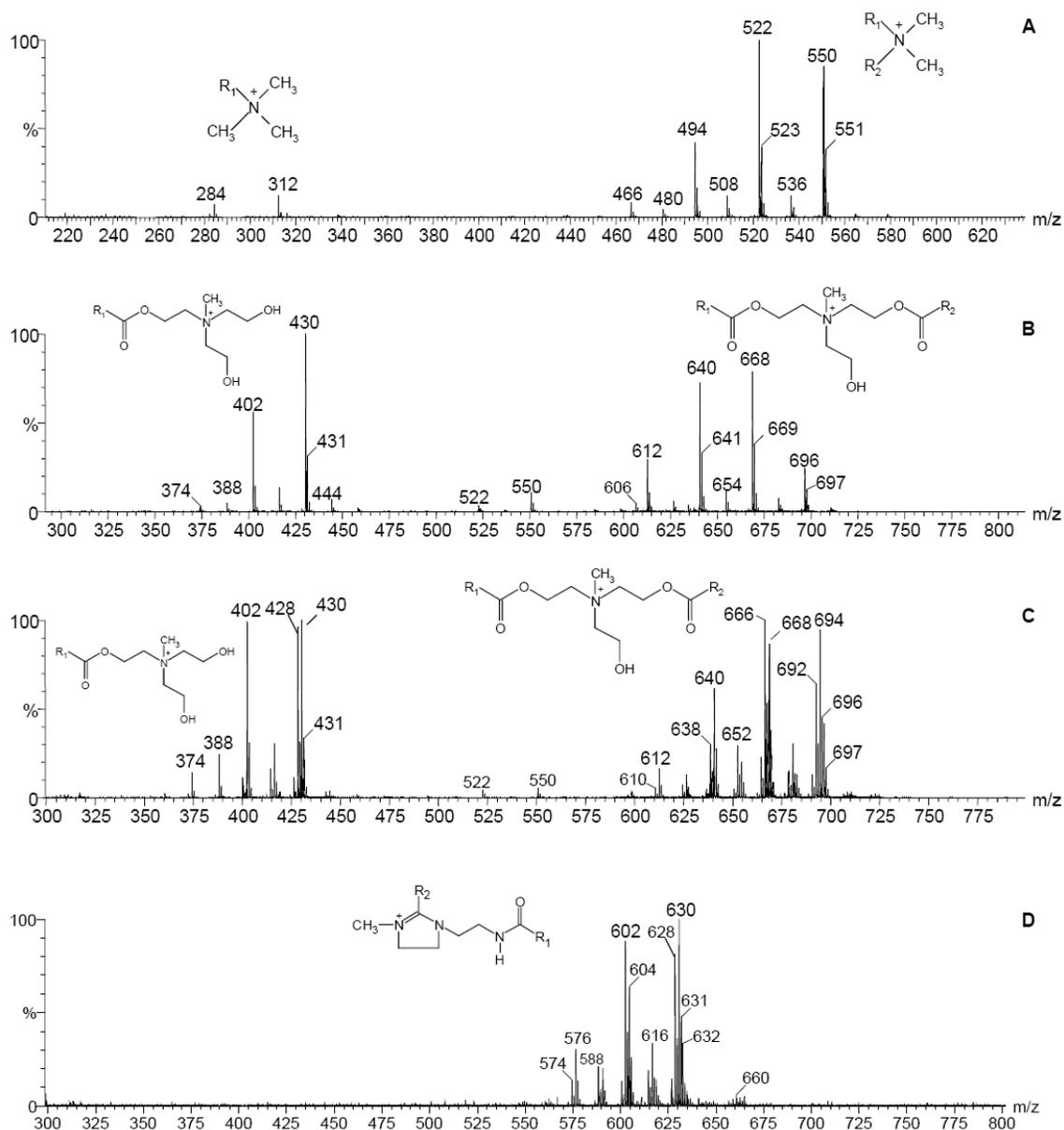
As condições experimentais foram: temperatura do bloco 100°C, temperatura de dessolvatação 100°C, voltagem do capilar 3,0 kV e voltagem do cone 30V.

Para confirmar as estruturas químicas propostas, foi realizado ESI-MS/MS dos íons selecionados por dissociação induzida por colisão (CID) com gás argônio e energia de colisão entre 20-60 eV.

O volume de 1µL das amostras de amaciantes foi diluída em 1,0 mL de solução metanol/água (1:1) contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico. Essas soluções foram injetadas na interface do electrospray a uma vazão de 10 µL.min<sup>-1</sup> com o auxílio de uma bomba peristáltica automática (Havard Apparatus). Os espectros de massas foram adquiridos no intervalo de *m/z* 100-1000 e os dados obtidos foram tratados com o software MassLynx 4.0 (Waters, Manchester, Reino Unido).

### 3. Resultados e Discussão

A Figura 5 apresenta o *fingerprint* por ESI(+)-MS de amaciantes de roupas formulados com diferentes surfactantes catiônicos.



**Figura 5.** ESI(+)-MS de amaciantes de roupa formulados com A) di-alkil dimetil amônio B) *esterquat* de sebo hidrogenado C) *esterquat* de sebo D) di-alkil imidazólio; R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> = cadeias alquílicas graxas

Como pode ser observado, é possível identificar o surfactante catiônico que foi adotado no amaciante através da presença de íons diagnósticos característicos para cada classe de quaternário de amônio.

Os quaternários de amônio detectados nas amostras da Figura 5 são constituídos por moléculas catiônicas mono carregadas com diferentes cadeias alquílicas, separadas por 28u (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). A presença de diferentes combinações de cadeias alquílicas se deve ao fato de que ácidos graxos de sebo (hidrogenado ou não), são utilizados como matéria-prima inicial na síntese.<sup>52,54</sup> No sebo, os ácidos palmítico (20-37%), esteárico (25-40%) e oleico (31-50%) são os mais abundantes.<sup>47</sup>

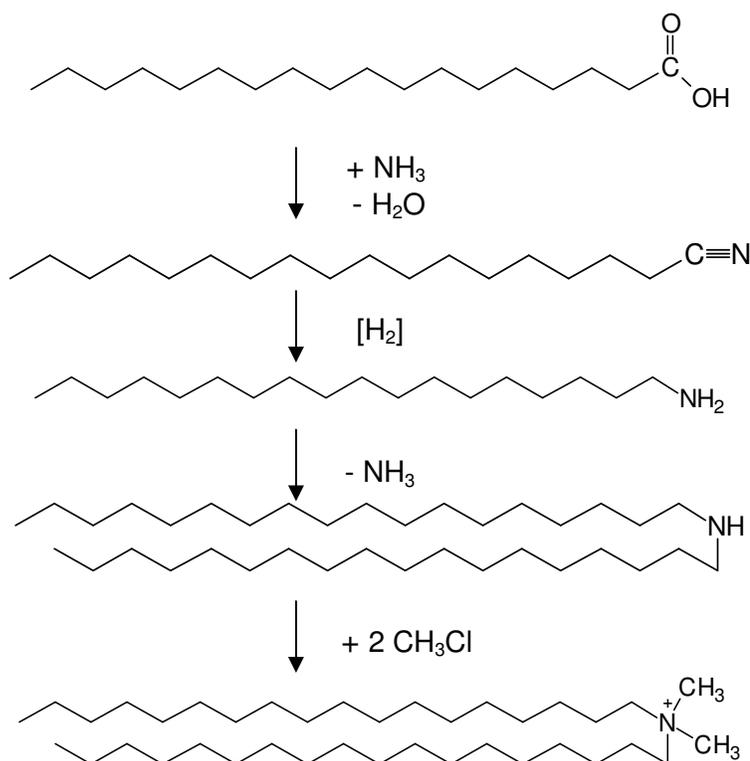
Na Figura 5A, encontra-se o espectro de massas de um produto comercial que foi formulado com di-alkil dimetil amônio (DHTDMAC), produzido a partir de sebo hidrogenado. A identificação dos íons correspondentes a esta molécula se encontra na Tabela 3.

Tabela 3. Identificação dos íons da amostra de amaciante contendo DHDTMAC .

<i>m/z</i>	Fórmula molecular	Grupo Alquilas		Nome
		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
		466	C <sub>32</sub> H <sub>68</sub> N <sup>+</sup>	
494	C <sub>34</sub> H <sub>72</sub> N <sup>+</sup>	C16	C16	Di-hexadecil dimetil amônio
		C14	C18	Tetradecil hexadecil dimetil amônio
522	C <sub>36</sub> H <sub>76</sub> N <sup>+</sup>	C16	C18	Hexadecil octadecil amônio
550	C <sub>38</sub> H <sub>80</sub> N <sup>+</sup>	C18	C18	Di-octadecil dimetil amônio

Verifica-se que outros compostos foram detectados, além do di-alkil dimetil amônio. É interessante relatar a síntese deste quaternário de amônio para compreender e justificar a presença destes outros compostos.

A rota clássica empregada para a produção desta classe de catiônico envolve a reação inicial de ácidos graxos com amônia para produzir amidas que são posteriormente convertidas em nitrilas por desidratação (Figura 6).



**Figura 6.** Rota sintética para obtenção do cloreto de di-estearil dimetil amônio.<sup>52</sup>

As nitrilas graxas são submetidas à hidrogenação sob catalisador de níquel (temperatura 120-180°C, pressão 20-40 atmosferas), onde através de uma reação de condensação, se produz aminas secundárias; entretanto um pré-requisito é a remoção da amônia que também se forma, pois o seu acúmulo no reator favorece a formação de aminas primárias.

O último passo consiste na quaternização da amina secundária com 2 moles de cloreto de metila. Alternativamente, essa última etapa também pode ser realizada através uma alquilação redutiva com formaldeído, produzindo di-alquil metil amina que é quaternizada com cloreto de metila.<sup>74</sup>

Conforme descrito, aminas primárias (com somente uma cadeia graxa) são formadas durante o processo e ao serem quaternizadas geram mono alquil trimetil amônio, como subproduto, presente no amaciante analisado, como pode ser observado no espectro de massas através dos *m/z* 284 (hexadecil trimetil amônio) e 312 (octadecil trimetil amônio).

Outras impurezas são aminas terciárias que não reagiram com cloreto de metila para formar o surfactante, no caso, dioctadecil metil amina ( $m/z$  536), hexadecil octadecil amina ( $m/z$  508), di-hexadecil amina e tetradecil octadecil metil amina ( $m/z$  480). Essas aminas são detectadas na forma protonada  $[M+H]^+$ .

Conseqüentemente, além de caracterizar o tensoativo, a técnica se mostrou útil para o emprego no controle do processo de síntese, através da detecção dos subprodutos.

As figuras 5B e 5C apresentam o *fingerprint* que caracterizam duas amostras de amaciantes alemães que empregam *esterquat* como quaternário de amônio. *Esterquats* são misturas de mono e diésteres graxos de trietanolamina quaternizados com di-metil sulfato e a identificação dos íons se encontra na Tabela 2.

Tabela 4. Identificação dos íons das amostras de amaciante contendo *esterquat*.

	Ácidos Graxos <sup>a</sup>		$m/z$
Monoéster Quaternizado	C14	---	374
	C16	---	402
	C18:1	---	428
	C18	---	430
Diéster Quaternizado	C14	C16	612
	C14	C18:1	638
	C14	C18	640
	C16	C16	640
	C16	C18:1	666
	C16	C18	668
	C18:1	C18:1	692
	C18	C18:1	694
	C18	C18	696

<sup>a</sup> C14= ácido mirístico; C16=ácido palmítico; C18=ácido esteárico; C18:1=ácido oleico

É interessante observar que embora o ativo catiônico seja o mesmo nas duas amostras de amaciante, existem diferenças na composição do tensoativo. No amaciante da Figura 5C, foi utilizado um surfactante sintetizado a partir de ácidos graxos não hidrogenados, como pode ser visto pela presença de moléculas de *esterquat* contendo ácido oleico em sua estrutura (íons de  $m/z$  428, 692 e 694).

É possível também detectar as espécies químicas precursoras deste tipo de tensoativo, ou seja, os ésteres de trietanolamina que não foram quaternizados (íons detectados entre as séries homólogas de QUACs). Como exemplo, os íons de  $m/z$  654 e 652 que correspondem, respectivamente aos ésteres de cadeias graxas C16/C18 e C16/C18:1 .

Outra informação que pode ser obtida por meio dos espectros de massas das amostras de origem alemã é o fato de que além de serem formuladas com *esterquat*, elas também possuem outro tensoativo catiônico coadjuvante, no caso, di-alkil dimetil amônio, como pode ser observado pela presença dos íons com  $m/z$  522 e 550.

A figura 5D ilustra o *fingerprint* de um amaciante formulado com di-alkil imidazolínio, cujos principais cátions são identificados na Tabela 5:

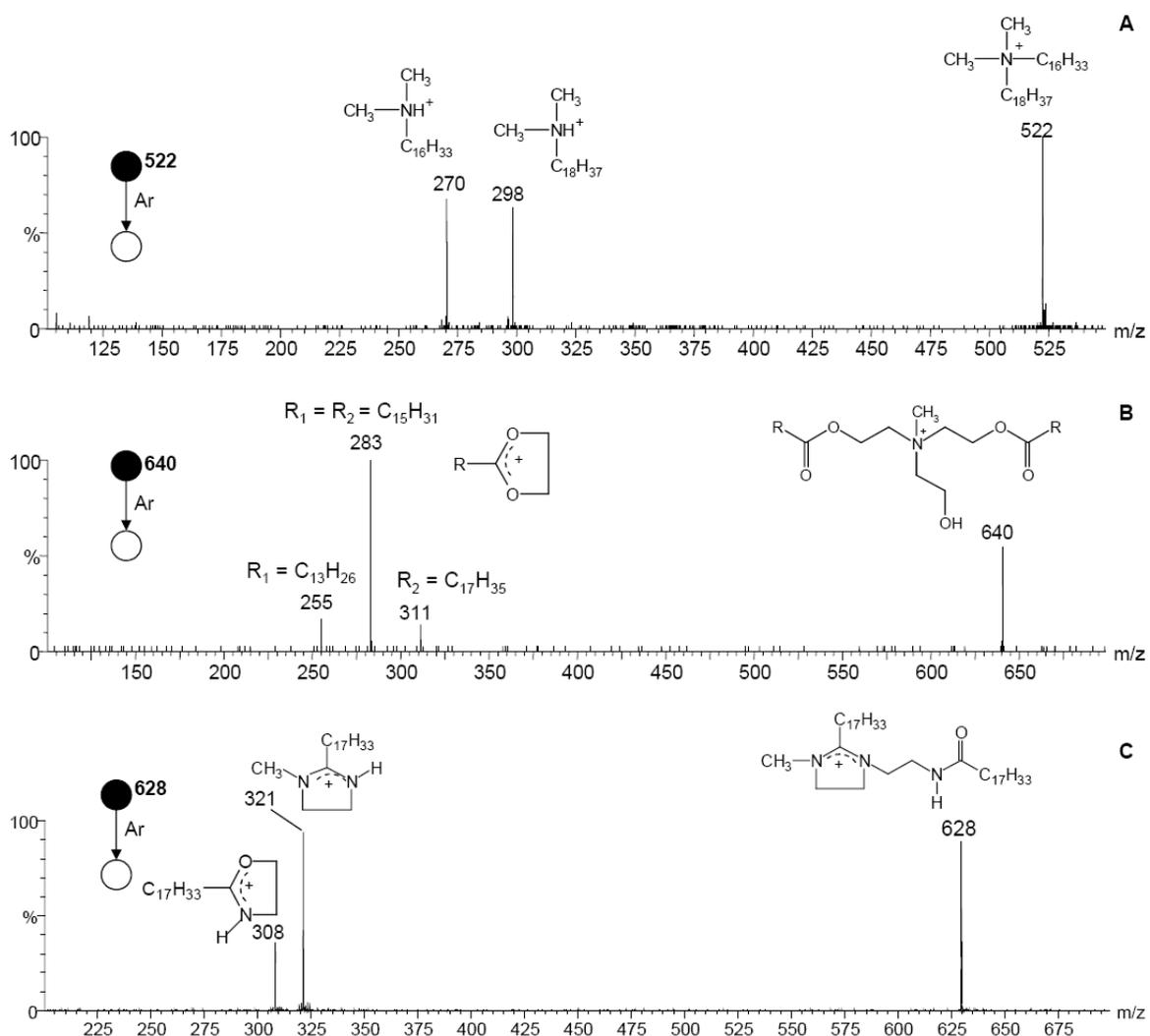
Tabela 5. Identificação dos íons da amostra de amaciante contendo di-alkil imidazolínio

	Ácidos Graxos <sup>a</sup>		$m/z$
	C16	C16:1	574
	C16	C16	576
	C16:1	C18	602
<b>Quaternário</b>	C16	C18:1	602
<b>de Amônio</b>	C16	C18	604
	C18:1	C18:1	628
	C18	C18:1	630
	C18	C18	632

<sup>a</sup> C16=ácido palmítico; C18=ácido esteárico; C18:1=ácido oleico

Como no caso anterior, o espectro de massas mostra que o surfactante empregado foi produzido a partir de matéria-prima insaturada (íons de  $m/z$  630, 628, 602 e 574 que possuem cadeia alquílica derivada do ácido oleico ou palmitoleico).

Informações estruturais de surfactantes catiônicos também foram obtidas por experimentos ESI-MS/MS e são mostradas na Figura 7.



**Figura 7.** ESI(+)-MS/MS de íons dos surfactantes: A) di-álquil dimetil amônio ( $m/z$  522) B) esterquat ( $m/z$  640) C) di-álquil imidazólio ( $m/z$  628).

A fragmentação por CID de di-alquil dimetil amônio (Figura 7A) ocorre através da perda neutra de um alceno e a formação de amina terciária protonada. Este fato auxilia na identificação das cadeias graxas que compõem a molécula; como por exemplo, o íon de  $m/z$  522 apresenta como produtos de fragmentação os íons de  $m/z$  298 (octadecil dimetil amina) e 270 (hexadecil dimetil amina), formados pelas perdas de hexadeceno e octadeceno, respectivamente.

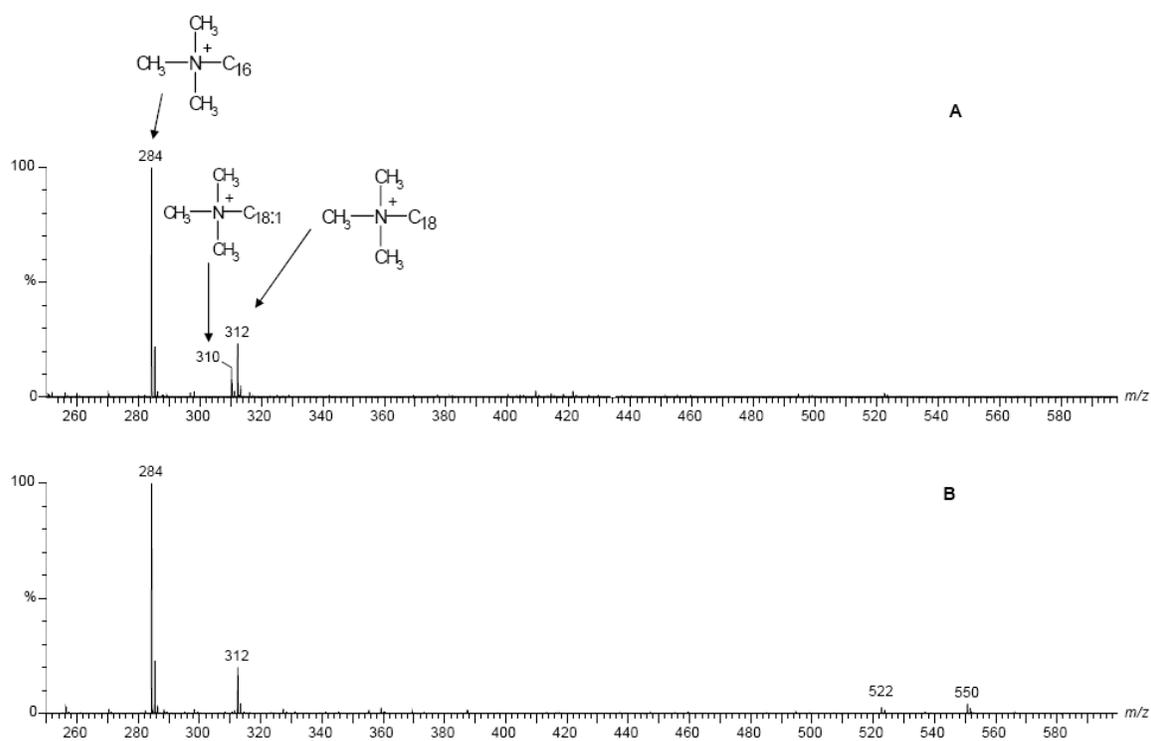
As moléculas de *esterquat*, quando fragmentadas, originam íons dioxolanílios graxos (Figura 7B), através da perda neutra de uma amina terciária, que auxiliam na caracterização das cadeias graxas que compõem cada íon. Deste modo, os fragmentos de  $m/z$  255, 283 e 311 indicam que o íon precursor de  $m/z$  640 é constituído por uma mistura de duas moléculas de *esterquat*: uma contendo duas moléculas de ácido palmítico ( $R_1=R_2= C_{15}H_{31}$ ) e outra constituída pelos ácidos esteárico ( $R_1 = C_{17}H_{35}$ ) e mirístico ( $R_2 = C_{13}H_{26}$ ).

Os experimentos de ESI-MS/MS dos íons de di-alquil imidazolínio também são elucidativos, pois a dissociação destes íons ocorre através de dois mecanismos paralelos com a formação de íons cíclicos característicos. Conforme mostra a Figura 7C, o íon precursor de  $m/z$  628 (formado por duas cadeias graxas derivadas do ácido oleico), ao ser fragmentado, produz o íon 1-metil 2-alquil imidazolínico ( $m/z$  321), com a perda do grupo amida lateral e o íon azo-dioxolanílio ( $m/z$  308), com formação de uma amina graxa neutra do tipo, 1-metil 2-alquil imidazolina

Uma molécula contendo cadeias graxas derivadas dos ácidos esteárico (C18) e linoléico (C18:2) apresentaria a mesma razão massa/carga ( $m/z$ ) de 628. Contudo, através do espectro de massas (Figura 7C) se observa a ausência deste composto, visto que os produtos de fragmentação são provenientes de uma molécula de di-alquil imidazolina derivada de duas cadeias de ácido oleico.

### 3.1. Produtos Amaciantes de Baixa Qualidade ou Falsificados

A Figura 6 demonstra que o *fingerprint* por ESI(+)-MS também é útil na identificação de amaciantes de baixa qualidade que foram adquiridos no comércio informal.



**Figura 8.** ESI(+)-MS de amaciantes de roupa formulado com mono alquil trimetil amônio. Grupos alquilas: C16= cadeia cetílica; C18= cadeia esteárica; C18:1= cadeia oleica.

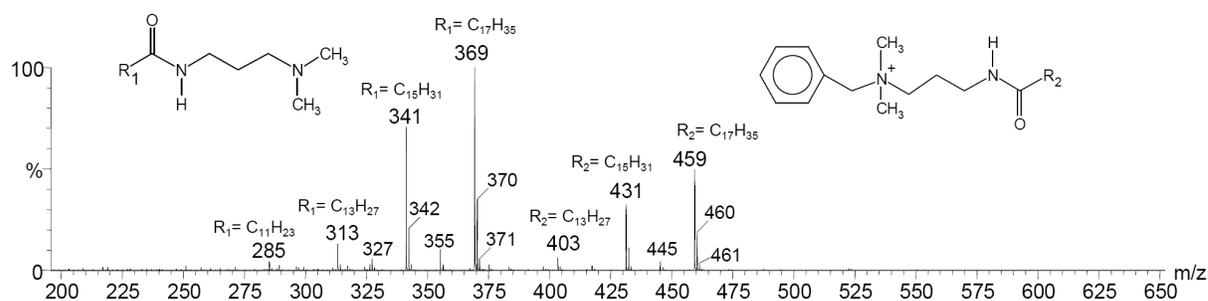
Basicamente, identifica-se como principal tensoativo catiônico nestas formulações, mono alquil trimetil amônio, através do íon de  $m/z$  284 (hexadecil trimetil amônio), denominado comercialmente cetil trimetil amônio. Foram também identificados os íons de  $m/z$  310 (octadecenil trimetil amônio) e 312 (octadecil trimetil amônio).

Nota-se que é possível diferenciar a matéria-prima adotada na formulação dos amaciantes clandestinos, uma vez que existem diferenças nos espectros de massas entre as amostras, em relação à composição graxa dos sais de mono alquil trimetil amônio.

Na amostra da Figura 8B, detectaram-se também traços de di-alkil dimetil amônio (íons de  $m/z$  522 e 550), provavelmente adicionado pelo formulador para melhorar a desempenho do produto.

Cabe ressaltar que a molécula catiônica deve conter duas cadeias graxas, a fim de que ela exiba propriedades amaciantes satisfatórias nos tecidos.<sup>50,52,56</sup> O cloreto de cetil trimetil amônio é utilizado como agente lubrificante e antiestático em produtos condicionadores de cabelo,<sup>75</sup> e o seu emprego em formulações para amaciante têxtil em produtos clandestinos se justifica pelo fato de ser mais barato que o cloreto de di-alkil dimetil amônio.

A Figura 9 ilustra um exemplo de amaciante de roupas falsificado, pois o rótulo da amostra indica cloreto de di-alkil imidazolina como tensoativo catiônico da formulação; entretanto foi identificado outro surfactante, com íons moleculares de  $m/z$  403,  $m/z$  431 e  $m/z$  459. Esta afirmação foi confirmada através dos experimentos de ESI-MS/MS, exemplificado na Figura 10, onde se verificou que o surfactante presente é o cloreto de alquil amida propil dimetil benzil amônio, sendo que a cadeia alquílica é derivada de sebo hidrogenado.



**Figura 9.** ESI(+)-MS de um amaciante de roupa falsificado formulado com alquil amida propil dimetil benzil amônio e alquil amida propil dimetil amina.

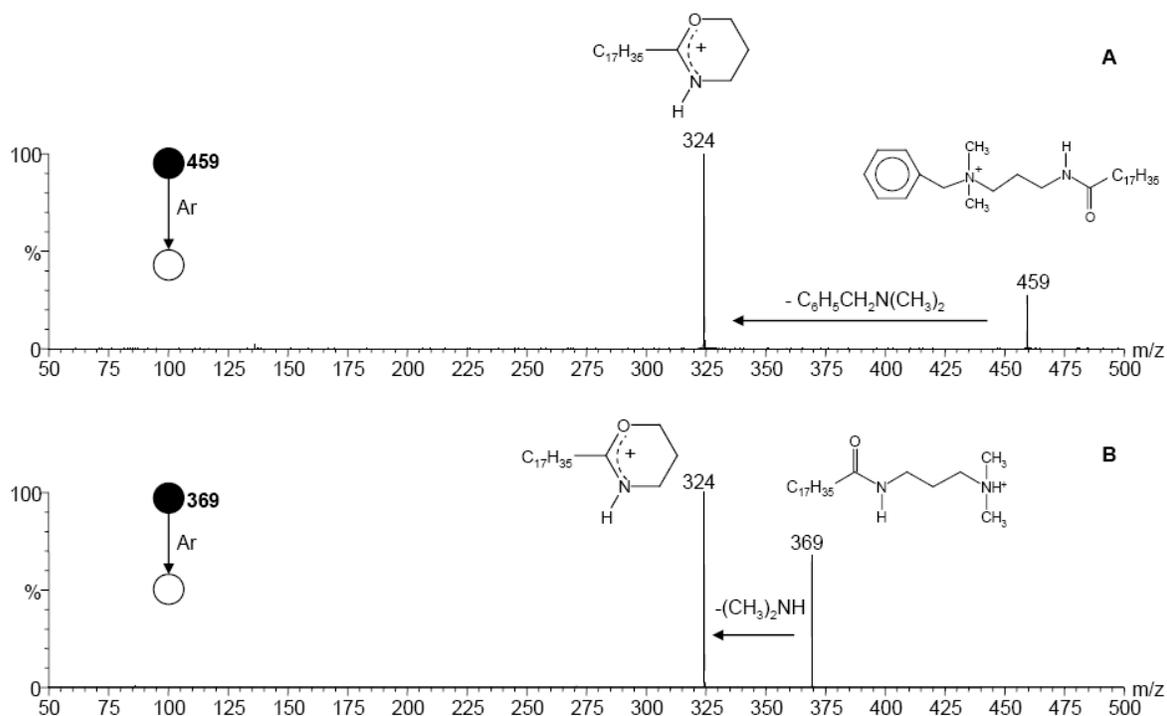
O íon de  $m/z$  403 corresponde ao tensoativo com a cadeia alquílica derivada da tetradecil amida, o íon de  $m/z$  431 derivada da hexadecil amida, enquanto o íon de  $m/z$  459 da octadecil amida.

Não se encontrou relato da aplicação deste tipo de surfactante em amaciante de tecidos; sabe-se somente que este quaternário de amônio é empregado como agente anti-estático em formulações cosméticas.<sup>76</sup>

O espectro de massas do produto na Figura 9 também apresenta os íons de  $m/z$  313,  $m/z$  341 e  $m/z$  369 que correspondem a alquil amida propil dimetil aminas, precursores do quaternário de amônio utilizado na formulação. Neste caso, as moléculas são detectadas na forma protonada, de modo que o íon de  $m/z$  313 corresponde a tetradecilamida propil dimetil amina, o íon de  $m/z$  341 a hexadecilamida propil dimetil amina e o íon de  $m/z$  369 é a octadecilamida propil dimetil amina que no processo de obtenção do surfactante são quaternizadas com cloreto de benzila.

As alquil amida propil dimetil aminas possuem um efeito de amaciamento muito pequeno, menor que os quaternários de amônio com uma cadeia graxa e são empregados em condicionadores capilares.<sup>77</sup>

Alquil amida propil dimetil benzil amônio e alquil amida propil dimetil amina (com cadeias graxas similares) formam o mesmo produto de fragmentação por ESI-MS/MS (Figura 10).



**Figura 10.** ESI(+)-MS/MS dos surfactantes A) Octadecilamida propil dimetil amônio ( $m/z$  459) B) Octadecilamida propil dimetil amina ( $m/z$  369) detectados no amaciante falsificado.

Como pode ser observado no espectro de massas, os íons de  $m/z$  459 (octadecilamida propil dimetil amônio) e 369 (octadecilamida propil dimetil amina) são moléculas com cadeia graxa derivada do ácido esteárico e ambas ao serem fragmentadas formam o íon de  $m/z$  324. Entretanto, o quaternário de amônio tem uma perda neutra de dimetil benzil amina, enquanto a amida-amina perde dimetil amina pela fragmentação.

## 4. Conclusão

É possível identificar os surfactantes catiônicos utilizados em formulações amaciantes têxtil através da técnica ESI(+)-MS. O procedimento desenvolvido é rápido e eficiente, à medida que não necessita de extração da amostra, nem o emprego de padrões para caracterizar os tensoativos. Além de identificar, também foi possível obter a distribuição de homólogos (diferentes moléculas que compõem o surfactante).

Ressalta-se que cada categoria de surfactante catiônico apresenta um *fingerprint* diferenciado, ou seja, possui íons diagnósticos característicos que permitem a identificação precisa do tensoativo utilizado no produto.

Os resultados mostram que se pode aplicar a técnica como uma ferramenta no controle do processo de produção dos surfactantes catiônicos, uma vez que subprodutos e compostos intermediários utilizados como matéria-prima para obtenção do quaternário de amônio foram detectados.

Outra vantagem reside no fato de que o procedimento se mostra viável na detecção de falsificações de amaciantes comerciais, como foi verificado por meio do uso de outro tensoativo (cloreto de alquil amida propil dimetil benzil amônio) e de produtos de baixa qualidade (a base de cloreto de cetil trimetil amônio) que não possuem propriedades que conferem amaciamento satisfatório aos tecidos.

A aplicação da técnica não se restringe somente a caracterização de surfactantes em produtos amaciantes, mas pode ser estendida a outras matrizes que adotam tensoativos catiônicos, como desifentantes, condicionadores capilares, produtos de enxágüe bucal, bem como outras classes de surfactantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- <sup>1</sup> GUNSTONE, F.D. **The Chemistry of Oils and Fats**. Oxford: Backwell Publishing, 2004.
- <sup>2</sup> CASTRO, H.F.; MENDES, A.A.; SANTOS, J.C.; AGUIAR, C.L. **Química Nova**, v. 27, p. 146-154, 2004.
- <sup>3</sup> ERHAN, S.Z. **Industrial Uses of Vegetable Oils**. Champaign: AOCS Press, 2005.
- <sup>4</sup> ELDIN, A.K. **Eur. J. Lipid Science Technol.**, v. 58, p. 1051-1081, 2006.
- <sup>5</sup> MORISSON, R.; BOYD, R. **Química Orgânica**. 12<sup>a</sup> Ed., Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 1995.
- <sup>6</sup> HILL, K. **Pure Appl. Chem.**, v. 72, p. 1255-1264, 2000.
- <sup>7</sup> NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. **Química Nova**, v. 25, p. 772-776, 2002.
- <sup>8</sup> GROSS, J.H. **Mass Spectrometry – A Textbook**. Berlin: Springer, 2004.
- <sup>9</sup> KINTER, M.; SCHERMAN, N.E. **Protein Sequence and Identification using TANDEM Mass Spectrometry**. New York: John Wiley & Sons, 2000.
- <sup>10</sup> FENN, J.B.; MANN, M.; MENG, C.K.; WONG, S.F.; WHITEHOUSE, C.M. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 9, p. 37-70, 1990.
- <sup>11</sup> WHITEHOUSE, C.M.; DREYER, R.N.; YAMASHITA, M.; FENN, J.B. **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 675-679, 1985.
- <sup>12</sup> FENN, J.B.; MANN, M.; MENG, C.K.; WONG, S.F.; WHITEHOUSE, C.M. **Science**, v. 246, p.64-71, 1989.
- <sup>13</sup> KARAS, M.I.; HILLENKAMP, F. **Analytical Chemistry**, v. 60, p. 2299-2301, 1988.
- <sup>14</sup> CHAPMAN, J.R. **Practical Organic Mass Spectrometry – A guide for chemical and biochemical analysis**. 2<sup>a</sup>.Ed., Chinchester: John Wiley & Sons, 1993.
- <sup>15</sup> COLE, R.B. **Electrospray Ionization Mass Spectrometry – Fundamentals, Instrumentation & Applications**. New York: John Wiley & Sons, 1997
- <sup>16</sup> DESIDERIO, D.M. **Mass Spectrometry: Clinical and Biomedical Applications**. New York: Plenum Press, 1992.

- <sup>17</sup> ALMEIDA, H. **Revista Química e Derivados**, v. 429, p.16-22, 2004.
- <sup>18</sup> **IBGE** (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/mapas\\_doc5.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/geografia/mapas_doc5.shtm). Acesso em: 22.setembro.2008
- <sup>19</sup> FERRO, A.F.P.; BONACELLI, M.B.M.; ASSAD, A.L.D. **Gestão e Produção**, v. 13, p.489-501, 2006.
- <sup>20</sup> ALMEIDA, H. **Estudo de mercado de matéria-prima: corantes naturais, conservantes, aromatizantes, bio-inseticidas e óleos vegetais e essenciais (cosméticos e oleoquímica)**. Belém: SUDAM, 2000.
- <sup>21</sup> PESCE, C. **Oil palms and other oilseeds of the Amazon**. Michigan: Reference Publications, 1985.
- <sup>22</sup> SEIDL, P.; GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.; **Chemistry of the Amazon: biodiversity, natural products and environmental issues**. New York: ACS Symposium, 1995.
- <sup>23</sup> OLIVEIRA, L.M. **Benefícios comprovados na utilização de óleos brasileiros**. Campinas: Boletim Técnico da Croda do Brasil, 2007.
- <sup>24</sup> GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. **Química Nova**, v. 30, p.374-381, 2007.
- <sup>25</sup> MLAYAH, B.B.; BEREAU, D.; BANOUB, J.; BRAVO, R. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, p.49-53, 2003.
- <sup>26</sup> TANG, T.S. **Journal of Palm Oil Research**, v. 14, p.1-8, 2002.
- <sup>27</sup> GAMAZO, J.V.; FALCÓN, M.S.G.; GÁNDARA, J.S. **J. Food Control**, v. 14, p.463-467, 2003.
- <sup>28</sup> PALMER, A.J.; PALMER F.J. **Journal of Chromatography A**, v. 465, p.369-377, 1989.
- <sup>29</sup> JAKAB, A.; HEBERGER, K.; FORGÁCS, E. **Journal of Chromatography A**, v. 976, p.255-263, 2002.
- <sup>30</sup> JANDERA, P.; HOLCAPEK, M.; ZDERADICKA, P.; HRUBÁ, L. **Journal of Chromatography A**, v. 1010, p.195-215, 2003.
- <sup>31</sup> LAAKSO, P. **Eur. J. Lipid Science Technol.**, v. 104, p.43-49, 2002.
- <sup>32</sup> FAUCONNOT, L.; HAU, J.; AESCHLIMANN, J.M.; FAY, L.B.; DIONISI, F. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 18, p.218-224, 2004.

- <sup>33</sup> ARTZ, W.E.; SEGALL, S.D.; RASLAN, D.S.; FERRAZ, V.P.; TAKAHASHI, J.A. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p.445-452, 2006.
- <sup>34</sup> CLARKE, A.D.; BEWIG, K.M.; ROBERTS C.; UNKLESBAY N. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.71, p. 195-200, 1994.
- <sup>35</sup> ZAMORA, R.; HIDALGO, F.J. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, p.499-506, 2003.
- <sup>36</sup> MARSHALL, A.G.; ZHIGANG W.; RODGERS, R.P. **J. Agric. Food. Chem.**, v. 52, p.5322-5328, 2004.
- <sup>37</sup> CATHARINO, R.R.; HADDAD R.; CABRINI, L.G.; CUNHA, I.B.S.; SAWAYA A.C.H.F.; EBERLIN, M.N. **Analytical Chemistry**, v. 77, p.7429-7433, 2005.
- <sup>38</sup> KURATA, S.; YAMAGUCHI, K.; NAGAI, M. **Analytical Sciences**, v. 21, p.1457-1465, 2005.
- <sup>39</sup> GOODACRE, R.; VAIDYANATHAN, S.; BIANCHI, G.; KELL, D.B. **Analyst**, v. 127, p.1457-1462, 2002.
- <sup>40</sup> REID, G.; AL-SAAD, K.; SIEMS, W.F.; HANNAN, R.M.; HILL, H.H. **J. American Soc. Mass Spectrometry**, v. 10, p.983-991, 1999.
- <sup>41</sup> CVACKA J.; SVATOS, A. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 17, p.2203-2207, 2003.
- <sup>42</sup> LAY, J.O.; LIYANAGE, R.; DURHAM, B.; BROOKS, J. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, p.952-958, 2006.
- <sup>43</sup> HILL, H.H.; AL-SAAD, K.; ZABROUSKOV V.; SIEMS, W.F.; KNOWLES N.R.; HANNAN, R.M. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v.17, p.87-96, 2003.
- <sup>44</sup> TRIMPIN, S.; DEINZER, M.L. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 71-78, 2007.
- <sup>45</sup> WEIDNER, S.M.; FALKENHAGEN, J. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 19, p.3724-3730, 2005.
- <sup>46</sup> LAY, J.O.; GIDDEN, J.; LIYANAGE, R.; DURHAM, B. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, p.1951-1957, 2007.
- <sup>47</sup> FIRESTONE, D. **Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats and Waxes**. Washington D.C: AOCS Press, 1999.
- <sup>48</sup> BEEBE K.R.; PELL R.J.; SEASHOLTZ, M.B. **Chemometrics: A Practical Guide**. New York: John Wiley & Sons, 1998.

- <sup>49</sup> MOITA NETO, J.M.; MOITA, G.C. **Química Nova**, v. 21, p. 467-469, 1998.
- <sup>50</sup> LAI, KY. **Liquid Detergents**. New York: Marcel Dekker, 1997.
- <sup>51</sup> **Anuário da ABIPLA** (Associação Brasileira das Indústrias de Produtos de Limpeza e Afins). Disponível em <<http://www.abipla.org.br/anuario/index.html>>. Acesso em: 15 abril.2008.
- <sup>52</sup> RUBINGH, D.N.; HOLLAND, P.M. **Cationic Surfactants–Physical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1991.
- <sup>53</sup> TYAGI, V.K.; MISHRA, S. **Journal of Oleo Science**, v. 55, p.267-275, 2006.
- <sup>54</sup> LEVINSON, M.I. **Journal of Surfactants and Detergents**, v.2, p.223-225, 1999.
- <sup>55</sup> JAKOBI, G.; LÖHR, A. **Detergents and Textile Washing – Principles and Practice**. Weinheim: VCH, 1987.
- <sup>56</sup> PUCHTA, R. **Journal of the American Oil Chemists´ Society**, v. 61, p.367-373, 1984.
- <sup>57</sup> TYAGI, R.; TYAGI, V.K.; PANDEY, S.K. **Journal of Oleo Science**, v. 56, p.211-222, 2007.
- <sup>58</sup> MISHRA, S.; TYAGI, V.K. **Journal of Oleo Science**, v. 56, p.269-276, 2007.
- <sup>59</sup> SANCTIS, D.S. **Desenvolvimento, Produção e Controle de Qualidade de Produtos Domissanitários**. São Paulo: Racine, 2004.
- <sup>60</sup> TSAI, P.C.; DING, W.H. **Journal of Chromatography A**, v. 1027, p.103-108, 2004.
- <sup>61</sup> SCHMITT, T.M. **Analysis of Surfactants**. New York: Marcel Dekker, 1992.
- <sup>62</sup> WALDHOFF, H.; SPILKER, R. **Handbook of Detergents Part C-Analysis**. New York: Marcel Dekker, 1997.
- <sup>63</sup> FERNANDEZ, P.; ALDER, A.C.; SUTER, M.J.F.; GIGER, W. **Anal. Chem.**, v.68, p.921-929, 1996.
- <sup>64</sup> PIERA, E.; ERRA, P.; INFANTE, M.R. **Journal of Chromatography A**, v.757, p.275-280, 1997
- <sup>65</sup> ÖZTEKIN, N.; ERIM, F.B. **Journal of Pharm. and Biomedical Analysis**, v.37, p.1121-1124, 2005.

- <sup>66</sup> HARRISON C.R.; LUCY, C. **Journal of Chromatography A**, v. 956, p. 237-244, 2002.
- <sup>67</sup> WILKES, A.J; WALRAVEN, G.; TALBOT, J.M. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.69, p.609-613, 1992
- <sup>68</sup> RADKE, M.; BEHRENDTS, T.; FOSTER, J.; HERRMANN, R. **Anal. Chem.**, v.71, p.5362-5366, 1999.
- <sup>69</sup> NISHIKAWA, M.; KATAGI, M.; MIKI, A.; TSUCHIHASHI, H. **Journal of Health Science**, v.49, p.138-148, 2003.
- <sup>70</sup> BARCO, M.; PLANAS, P.; PALACIOS, O.; VENTURA, F.; RIVERA, J.; CAIXACH J. **Anal. Chem.**, v.75, p.5129-5136, 2003.
- <sup>71</sup> WU, H.F; SHRIVAS, K. **Journal of Mass Spectrometry**, v.42, p.1637-1644, 2007.
- <sup>72</sup> AYORINDE, F.O.; MORROW, A.P.; KASSIM, O.O. **Rapid Comm. Mass Spectrom.**, v.15, p.767-770, 2001.
- <sup>73</sup> OGURA, I.; DU VAL, D.L.; KAWAKAMI, S.; MIYAJIMA, K. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.73, p.137-142, 1996.
- <sup>74</sup> GUNSTONE, F.D.; HAMILTON, R.J. **Oleochemical Manufacture and Applications**. Sheffield: CRC Press, 2001
- <sup>75</sup> WILLIAMS, D.F.; SCHMITT, W.H. **Chemistry and Technology of the Cosmetics and Toiletries Industry**, 2<sup>a</sup>.Ed. London: Blackie Academic & Professional, 1996.
- <sup>76</sup> **Official Journal of the European Union**, v.49, p.22, 2006. Disponível em <<http://eur-lex.europa.eu/JOHtml.do?uri=OJ:L:2006:049:SOM:EN:HTML>>. Acesso em 01 fevereiro.2008
- <sup>77</sup> SCHOENBERG, T.G.; SCAFIDI, A.A. **Cosmetic and Toiletries**, v.94, p. 57-60, 1979.