

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

TÁSSIA NUNES DE ALBUQUERQUE RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS  
E DO PERFIL QUÍMICO DA MANTEIGA GHEE**

Belo Horizonte  
2021

TÁSSIA NUNES DE ALBUQUERQUE RODRIGUES

**CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS  
E DO PERFIL QUÍMICO DA MANTEIGA GHEE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciência de Alimentos.

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Orientador: Prof. Dr Júlio Onésio Ferreira Melo

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Linhares Bello de Araújo

Belo Horizonte, MG  
2021

R696c Rodrigues, Tássia Nunes de Albuquerque.  
Caracterização de compostos voláteis e do perfil químico da manteiga Ghee / Tássia Nunes de Albuquerque Rodrigues. – 2021.  
79 f. : il.

Orientador: Júlio Onésio Ferreira Melo.  
Coorientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Laticínios – Teses. 2. Manteiga – Análise – Teses. 3. Compostos voláteis – Teses. 4. Microextração em fase sólida – Teses. I. Melo, Júlio Onésio Ferreira. II. Araújo, Raquel Linhares Bello de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:637.2

# FOLHA DE APROVAÇÃO

26/08/2021

SEI/UFMG - 0922073 - Folha de Aprovação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

## FOLHA DE APROVAÇÃO

### CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS E DO PERFIL QUÍMICO DA MANTEIGA GHEE

TÁSSIA NUNES DE ALBUQUERQUE RODRIGUES

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 25 de agosto de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Dr. Júlio Onésio Ferreira Melo (Orientador e presidente da comissão) - UFSJ  
Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo (Coorientadora) - UFMG  
Profa. Dra. Hosane Aparecida Tarôco - UFSJ  
Dr. Gabriel Barbosa de Oliveira - UFMG

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Linhares Bello de Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 25/08/2021, às 12:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **HOSANE APARECIDA TAROCO, Usuário Externo**, em 25/08/2021, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Julio Onesio Ferreira Melo, Usuário Externo**, em 25/08/2021, às 12:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Gabriel Barbosa de Oliveira, Biólogo**, em 25/08/2021, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site  
[https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?)

*À Deus, ao meu estimado pai, à minha  
mãe, ao meu irmão, à minha família, aos  
amigos e a todos que me apoiaram!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por todas as bênçãos que realiza em minha vida.

Ao meu estimado pai, Antônio que ainda que não esteja presente, certamente me serviu de inspiração.

À minha mãe, Alda e meu irmão, Thales pelo apoio incondicional para que eu pudesse concluir mais esta etapa profissional.

Ao Professor Júlio Onésio e Professora Raquel Linhares, pela orientação, acolhimento, paciência e inúmeros ensinamentos.

Ao Professor Rodinei Augusti por permitir a utilização do laboratório sob sua responsabilidade para a execução deste trabalho.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Programa de Pós-Graduação e professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos por todo o conhecimento compartilhado.

Às minhas grandes amigas Ludmila, Mariana, Ana Coeli e Ana Paula Xavier, pela amizade, companheirismo e ensinamentos.

Aos técnicos dos laboratórios em especial, Gustavo, Majú e Mariana pela dedicação e ensinamentos.

Aos colegas Mauro, Vinícius, Daniele e ao IC Milton, pelo acolhimento e por terem tornado esse período mais leve e alegre.

“Quando penso que cheguei ao meu limite  
descubro que tenho forças para ir além”

(Ayrton Senna)

## RESUMO

O interesse da população pelo consumo de alimentos denominados saudáveis tem aumentado consideravelmente, incentivado pela busca incessante de uma melhor aparência e de qualidade de vida. Neste contexto, a manteiga Ghee tem sido um grande aliado desta parcela da população, já que possui características nutricionais, tais como ser rica em vitaminas A e E, ser antioxidante e ter propriedades anticarcinogênicas. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi realizar a caracterização de diferentes manteigas Ghee existentes no mercado nacional, avaliando características como o perfil de compostos químicos e de compostos voláteis. Foi realizada a caracterização do perfil químico e dos compostos voláteis de 5 marcas de manteiga Ghee encontradas no mercado nacional. Para a caracterização dos compostos voláteis utilizou-se a técnica de microextração em fase sólida com as fibras PA e PDMS-DVB e variáveis como: tempo, temperatura e gramatura. Ademais, sua separação e identificação ocorreu por meio da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas CG-MS, que possibilitou a identificação de 13 compostos nas amostras analisadas, sendo os principais: ácidos carboxílicos, cetonas e aldeídos. O processo de caracterização do perfil químico da manteiga Ghee foi realizado pela técnica de espectrometria de massas com ionização ambiente, utilizando-se as 5 amostras de manteiga ghee que ficaram congeladas até o momento do uso e então foram avaliadas no modo positivo e negativo de ionização. Nesta análise foi possível identificar 14 compostos no modo de ionização positivo e 19 compostos no modo de ionização negativo. Em sua maioria, os compostos encontrados são ácidos graxos saturados como palmítico, esteárico, mirístico e linoléico, além de ácido graxo insaturado como o ácido oleico e ainda de: antibióticos, natamicina e trionina. Através do presente estudo, foi possível observar que ambas as análises foram significativas para a identificação de diferentes compostos na manteiga Ghee, contribuindo para um maior entendimento de seus atributos.

Palavras-chave: produtos lácteos; compostos voláteis; CG-MS; microextração em fase sólida; PS-MS.

## ABSTRACT

The population's interest in the consumption of so-called healthy foods has increased considerably, encouraged by the incessant search for a better appearance and quality of life. In this context, Ghee butter has been a great ally of this portion of the population, as it has nutritional characteristics, such as being rich in vitamins A and E, being antioxidant and having anticarcinogenic properties. Given the above, the aim of this study was to characterize different ghee butters existing in the national market, evaluating characteristics such as the profile of chemical compounds and volatile compounds. Characterization of the chemical profile and volatile compounds of 5 brands of Ghee butter found in the domestic market was carried out. For the characterization of volatile compounds, a solid phase microextraction technique is used with PA and PDMS-DVB fibers and variables such as: time, temperature and weight. Furthermore, their separation and identification occurred through gas chromatography coupled with GC-MS mass spectrometry, which enabled the identification of 13 compounds in those analyzed, the main ones being: carboxylic acids, ketones and aldehydes. The process of characterization of the butter profile of the Ghee butter was carried out by the technique of mass spectrometry with ambient ionization, using as 5 of ghee butter that was frozen until the moment of use and then evaluated in the positive and negative mode of ionization. In this analysis it was possible to identify 14 compounds in the positive ionization mode and 19 compounds in the negative ionization mode. Most of the compounds found are saturated fatty acids such as palmitic, stearic, myristic and linoleic, as well as unsaturated fatty acids such as oleic acid and antibiotics, natamycin and trionine. Through the study, it was possible to observe that both analyzes were relevant for an identification of different compounds in ghee butter, contributing to a better understanding of its attributes.

Keywords: dairy products; volatile compounds; CG-MS; solid phase microextraction; PS-MS.

# LISTA DE FIGURAS

## CAPÍTULO I

- Figura 1.1** – Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas.....22
- Figura 1.2** Técnica de ionização por *Paper-spray*.....23
- Figura 1.3** Cromatografia gasosa.....24

## CAPÍTULO II

- Figura 2.1** Processo de ionização por *paper spray* .....32
- Figura 2.2** Espectrograma de PS-MS no modo positivo em amostra de manteiga Ghee.....33
- Figura 2.3** Espectrograma de PS-MS no modo negativo em amostra de manteiga Ghee.....34

## CAPÍTULO III

- Figura 3.1** Processo de extração dos COV's.....57
- Figura 3.2** Gráfico de Pareto referente as Fibra PA (a) e PDMS/DVB (b) em relação a área parcial dos cromatogramas analisados da Manteiga Ghee ..... 62
- Figura 3.3** Gráficos de Superfície resposta fibras PA (a e c) e PDMS/DVB (b e d) ..... 63

# LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO I

<b>Tabela 1.1</b> Fibras usadas em Microextração em Fase Sólida no modo headspace e suas características.....	25
---	----

## CAPÍTULO II

<b>Tabela 2.1</b> Identificação de íons por PS (+) – MS .....	35
---	----

<b>Tabela 2.2</b> Identificação de íons por PS (-) – MS .....	40
---	----

## CAPÍTULO III

<b>Tabela 3.1</b> Planejamento fatorial ( $2^3$ ) com triplicata do ponto central.....	56
--	----

<b>Tabela 3.2</b> Número de COVs extraídos por diferentes fibras de SPME em amostra aleatória de Manteiga Ghee.....	59
---	----

<b>Tabela 3.3</b> Condições experimentais e melhores respostas obtidas para a extração dos compostos orgânicos voláteis da manteiga ghee por HS-SPME e GC-MS.....	59
---	----

<b>Tabela 3.4</b> COVs extraídos de Manteiga Ghee aleatória usando as fibras polidimetilsiloxisano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) e poliacrilato (PA), por HS-SPME/GC-MS .....	61
---	----

## LISTA DE SIGLAS

CG-MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa

COVs - Compostos orgânicos voláteis

HS-SPME - Microextração em fase sólida no modo *headspace*

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MS – Espectrometria de massas

PDMS/DVB - Polidimetilsiloxano / Divinilbenzeno

PA - Poliacrilato

CAR/PDMS - Carboxen/polidimetilsiloxano

DVB/CAR/PDMS- divinilbenzeno/polidimetilsiloxano

CW/DVB – Carbowax / Divinilbenzeno

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

DESI – MS Espectrometria de massas de ionização por eletropulverização por dessecção

m/z – Massa/Carga

PS-MS – Espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper-spray*

## SUMÁRIO

1	Introdução.....	15
2	Objetivos .....	16
2.1	Geral .....	16
2.2	Específicos.....	16
3	CAPÍTULO I.....	17
3.1	Revisão Bibliográfica .....	18
3.1.1	Manteiga Tradicional .....	18
3.1.2	Manteiga da terra/garrafa .....	19
3.1.3	Manteiga Ghee .....	19
3.1.4	Espectrometria de Massas.....	21
3.1.5	Ionização por <i>paper-spray</i> .....	22
3.1.6	Compostos Voláteis.....	23
3.1.7	Microextração em Fase Sólida.....	24
4	CAPÍTULO II .....	26
4.1	Introdução.....	29
4.2	Materias e Métodos.....	30
4.2.1	Matéria prima.....	30
4.2.2	Obtenção de extratos de manteiga Gh.ee.....	31
4.2.3	Perfil químico da manteiga Ghee <i>Paper spray</i> - MS.....	31
4.2.4	Análise dos Dados Instrumentais.....	32
4.3	Resultados e Discussão.....	32
4.3.1	Modo Positivo de Ionização.....	35
4.3.2	Modo Negativo de Ionização .....	39
4.4	Conclusão.....	44
4.5	Referências.....	45
5	CAPÍTULO III.....	50
5.1	Introdução.....	53
5.2	Objetivo .....	54
5.3	Métodos .....	55
5.3.1	Preparo das amostras .....	55
5.3.2	Extração dos compostos voláteis .....	55
5.3.3	Planejamento experimental .....	55
5.3.4	Condições de Análise.....	56
5.3.5	Extração dos COV's .....	56
5.3.6	Identificação dos COV's .....	57
5.4	Resultados .....	58
5.4.1	Otimização das condições de extração das fibras por HS-SPME .....	58
5.4.2	COV's da Manteiga Ghee .....	60

5.4.3	Eficiência das fibras SPME .....	60
5.4.4	Avaliação da eficiência de extração de fibras de SPME .....	61
5.5	Discussão .....	64
5.6	Conclusão .....	66
5.7	Referências .....	67
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....		69
Considerações finais.....		70
REFERÊNCIAS .....		71
Referências Bibliográficas.....		72

# **INTRODUÇÃO**

## 1 Introdução

Nos últimos anos tem sido notória a preocupação da população com a saúde, principalmente quando se refere à alimentação. Esta pode ser evidenciada pelo aumento do consumo de serviços e produtos denominados saudáveis, sendo o mais evidente, a alimentação. A população, em suas diferentes faixas etárias, tem buscado por uma dieta mais equilibrada. Pesquisas apontam que, 80% dos jovens da atualidade, procuram por alimentos mais saudáveis e naturais para o seu consumo (VENTURA, 2010). A ciência da nutrição tem crescido muito, a cada dia mais pessoas tem se interessado em procurar um profissional da área, seja pela busca de hábitos diários de alimentação e de vida mais saudáveis, ou pela busca de satisfação pessoal por corpos padronizados, intitulados perfeitos. Majoritariamente, esse título é imposto pela mídia ou ainda, pela própria sociedade, levando a casos que acabam priorizando a estética em detrimento à saúde.

Neste sentido, a busca por um padrão de beleza estabelecido pela sociedade, tem levado parte da população à prática de dietas muito restritivas, sobretudo visando emagrecimento ou alcançar um corpo denominado "ideal". Todavia, muitos estudos já indicam a ineficácia da realização de dietas, visto que podem levar a danos psicológicos, ganho de peso, queda do metabolismo basal e ainda, o desenvolvimento de transtornos alimentares (SOIHET, 2019). Tais privações ou trocas alimentares errôneas, prejudicam o organismo em seu funcionamento basal, já que muitas vezes ocorrem privações energéticas, proteicas e de vitaminas e minerais, que são elementos básicos para o funcionamento e saúde do corpo humano. Nesse contexto, atualmente é possível verificar os crescentes casos de diabetes, hipertensão, síndrome metabólica e obesidade, que já é considerado um grave problema de saúde pública, uma epidemia que atinge tanto os países industrializados como os em desenvolvimento (GUIMARÃES, *et al.*, 2018)

Buscando atender o consumidor a cada dia mais exigente e mais interessado em novos produtos e estratégias nutricionais e de saúde, a indústria de alimentos produz, quase que diariamente, novos produtos, ricos em vitaminas, antioxidantes, antiinflamatórios. Nesse contexto, a manteiga Ghee aparece no mercado associada a inúmeros benefícios à saúde, como propriedades que vão desde anticarcinogênica, antialérgica e anti-inflamatória a ser rica em vitaminas como: A, D, E e K (RACT, 2018).

A manteiga Ghee é o produto lácteo rico em gordura, sendo que um grama pode gerar 9 Kcal de energia. No que diz respeito à sua vida útil, essa é de,

aproximadamente, 1 ano em condições tropicais de armazenamento. A Ghee pode ser formulada a partir de manteiga ou creme, seja amadurecido ou não curado e o seu preparo pode ocorrer pela fermentação do leite integral para virar coalhada que após deve ser batida, ademais, o creme ou a manteiga são fervidos para o preparo da manteiga Ghee (AHMADI, *et al.*, 2020).

A Manteiga Ghee é amplamente utilizada na *Ayurveda*, que é uma terapia indiana milenar, para aplicações médicas, incluindo o tratamento de alergias, doenças de pele e doenças respiratórias. É considerada a mais saudável fonte de gordura comestível, promovendo longevidade e protegendo o corpo de várias doenças, associada a melhora da memória, fortalecendo o cérebro e o sistema nervoso

## **2 Objetivos**

### **2.1 Geral**

Determinar os compostos voláteis e a caracterização do perfil químico de diferentes marcas de manteigas Ghee comercializadas no mercado nacional.

### **2.2 Específicos**

Avaliar o perfil de compostos orgânicos voláteis das diferentes manteigas Ghee existentes no mercado nacional, utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa com o método de microextração em fase sólida no modo *headspace* HS-SPME.

Realizar a caracterização do perfil químico de diferentes manteigas Ghee existentes no mercado nacional, utilizando a técnica espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper-spray* (PS/MS)

## **3 CAPÍTULO I**

### 3.1 Revisão Bibliográfica

#### 3.1.1 Manteiga tradicional

A manteiga tradicional é um alimento que pode ser produzido em diferentes regiões, basta que o homem possa domesticar animais mamíferos e que retire desses o leite, que a matéria prima para a sua produção. Na literatura é possível ver relatos de sua existência a cerca de 10.000 a.C (GUEDES, 2019).

Trata-se de derivado lácteo com elevado potencial para abranger cada vez mais o mercado. A manteiga já foi considerada uma vilã e inimiga da saúde por seu teor de gordura que pode ser superior a 80% de matéria lipídica, porém ainda é um dos produtos mais presentes na mesa dos brasileiros, sendo comumente utilizada para acompanhar pães, torradas e derivados, ou ainda, sendo empregada em artigos de culinária e confeitaria (PERES, 2019).

De acordo com a Portaria nº 146 de março de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), a manteiga é definida como:

*“Produto gorduroso obtido exclusivamente pela bateção e malaxagem, com ou sem modificação biológica do creme pasteurizado derivado exclusivamente do leite de vaca, por processos tecnologicamente adequados. A matéria gorda da manteiga deverá estar composta exclusivamente de gordura láctea”.*

Sua composição é de, basicamente de 80 a 82% de gordura, 15 a 17% de água e 1,2% de sal (MAPA, 1996), podendo conter ainda, proteínas, vitaminas, ácidos, lactose, cinzas, além de sal que também pode estar incluído em sua composição. Nesse sentido, a manteiga é considerada um produto com notável valor nutricional. Suas etapas de fabricação incluem processos como: o preparo, o tratamento, a batidura, a lavagem, a salga, a embalagem e o armazenamento do creme (Silva/EMBRAPA, 1996).

### 3.1.2 Manteiga da terra/garrafa

A manteiga da terra é um produto tradicionalmente encontrado na região nordeste do Brasil, também conhecida como: manteiga do sertão, de gado, de cozinha, ou ainda, de garrafa. Em outros países é possível encontrar produtos típicos semelhantes como: “*butteroil*” que é americano, o “*ghee*” que é indiano e ainda “*smen*”, que é africano (VAZ, 2015).

Este é um alimento que possui considerável aceitação regional sendo comercializado em locais como: em queijarias, feiras livres, supermercados, padarias e ainda, as margens de rodovias. Trata-se de um produto que além de dar maior destaque ao leite, contribui intensamente para o crescimento do agronegócio do Rio Grande do Norte, visto que gera emprego e renda ao estado (LINHARES, 2020).

De acordo com a Instrução Normativa nº 30 de junho de 2001 do Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento (MAPA), a manteiga de garrafa ou da terra é definida como:

*“Produto gorduroso nos estados líquido e pastoso, obtido a partir do creme de leite, pela eliminação quase total da água, mediante processo tecnologicamente adequado.”* No que diz respeito ao aspecto, pode apresentar-se em pasta ou líquida, podendo ocorrer separação de fase entre a gordura insaturada (líquida) e gordura saturada (cristalizada à temperatura ambiente). Sua coloração pode ser amarela em sua fase líquida e esbranquiçada em sua fase sólida.

Obtém-se a manteiga da terra ou manteiga de garrafa a partir do aquecimento do creme de leite em temperaturas que podem variar de 110 e 120°C sob agitação até sua fusão e eliminação quase total da água (MAPA, 2001).

### 3.1.3 Manteiga Ghee:

Tem sua origem em tradições milenares da Índia, onde é conhecida por “ouro líquido”, sendo ainda reconhecida como alimento especial, por ser fornecida pela vaca, que é o animal mais sagrado da Índia. No Brasil, o mercado vem ganhando cada vez

mais adeptos, por pessoas que buscam um estilo de vida mais saudável (FUJIWARA, *et al.*, 2018).

Conforme relatado por Kwak *et al.*, (2013) o Codex Alimentarius, (2006) especifica a manteiga Ghee com um conteúdo mínimo de 99,6% de gordura láctea, 0,4% de ácido graxo livre e umidade de até 0,1%. A Ghee tradicional asiática, era produzida a partir do leite fervido e resfriado, no qual ocorria a sua coagulação e decantação, após ocorria a adição de uma cultura microbológica *starter*. Com a coalhada formada, iniciava a sua batidura até que essa virasse manteiga e então era clarificada a temperatura de 100 a 120°C, a fim de remover água. O método é conhecido por *Desi*, sendo esse considerado o que origina um produto com melhor sabor, já que ocorre interação entre a gordura e o resíduo que foi fermentado durante o processo de remoção de água (RACT, 2018).

Com a industrialização, tal processo foi simplificado com o uso de manteiga ou creme de leite no lugar do leite, assim o processo passa a ser realizado com aquecimento monitorado visando reduzir o teor de água para menos de 0,2%. Para um produto final de qualidade, a matéria prima, leite/creme de leite/manteiga devem ser de qualidade, assim como a temperatura de clarificação, a aproximadamente 110°C, tem-se uma manteiga Ghee com sabor suave, a temperatura de 120°C, tem-se um sabor mais forte, mais “cozido”, já a 140°C, um aroma queimado (RACT, 2018).

No processo de clarificação da manteiga Ghee, essa é derretida em banho-maria, assim, os resíduos vão para a superfície formando uma densa camada de espuma que é retirada várias vezes até sobrar só o óleo dourado e transparente, sem água, sem sólidos, sem toxinas e sem açúcares do leite, com isso, a parcela da população que é intolerante à lactose é, especialmente beneficiada. Ainda assim, em casos severos de intolerância, é indicado optar por versões industrializadas da manteiga Ghee (FUJIWARA, *et al.*, 2018). Tal processo torna o produto mais atraente ao consumidor, já que hoje parte da população prioriza o consumo de produtos com baixo teor de carboidratos e sem lactose.

Sua qualidade é verificada analiticamente pelo índice de acidez, de peróxidos e pelo sabor. Já o teor de ácidos graxos livres que deve ser mantido entre 0,23 e 0,40%, irá depender do método de preparação da Ghee (RACT, 2018). Com relação a sua vida de prateleira, Kwak *et al.*, 2013 informa que o produto pode ser armazenado por 6 a 8 meses, porém que há relatos na literatura de vida útil de até 2 anos, visando manter a

qualidade adequada nesse período, recomenda-se o seu armazenamento a temperatura inferior a 20°C.

Para a medicina tradicional indiana, conhecida como *Ayurveda*, a Ghee está entre os produtos lácteos mais importantes, sendo uma de suas propriedades mais difundidas e conhecidas, a capacidade de cicatrização de feridas. Devido ao seu sabor agradável e seu conteúdo nutricional com considerável teor de vitaminas lipossolúveis como a K, D, E e A, este é um produto consumido mundialmente, na Índia, em países do norte da África e do Oriente Médio (MAIZA, 2020).

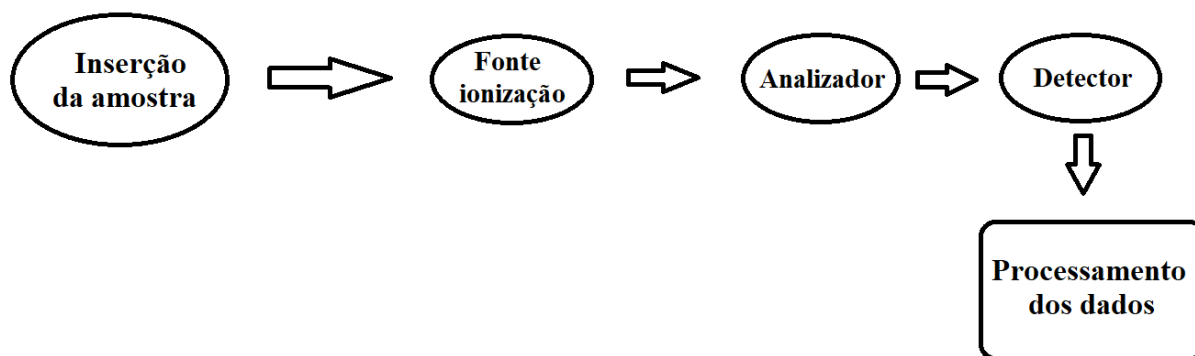
Apesar de conter um elevado teor de gorduras, Ahmadi 2020, em seu estudo com 5500 adultos, demonstrou que, com o aumento da ingestão de ghee Kermanshah, um tipo de manteiga Ghee do Irã, a pressão arterial sistólica e a diastólica e a circunferência da cintura diminuiram, já o HDL, um tipo de colesterol considerado benéfico para a saúde, aumentou significativamente. Ainda segundo o autor, seu trabalho corrobora com o de Mahmoudifard *et al.* que relataram que em uma dieta contendo Ghee, foi possível reduzir significativamente os níveis de triglicerídeos e ainda de elevar o colesterol HDL.

### 3.1.4 Espectrometria de Massas

A análise por espectrometria de massas (MS – Mass Spectrometry) é uma ferramenta analítica com grande potencial já que por meio desta técnica é possível a identificação da composição elementar de diferentes amostras, sua estrutura de molécula orgânicas, inorgânicas e biológicas, sua composição qualitativa e quantitativa, sua estrutura e composição de superfícies sólidas, além de razões isotópicas de átomos da amostra (BOTELHO, 2018).

Para a análise, moléculas do composto estudado devem ser ionizadas, assim, seus íons em fase gasosa serão separados eletromagneticamente por meio de suas diferentes razões massa/carga ( $m/z$ ). A composição básica de um espectrômetro de massas deve possuir: uma entrada para introdução da amostra, como um cromatógrafo gasoso ou líquido, ou ainda, uma sonda de injeção direta; uma fonte de ionização; ao menos um analisador de massa; um detector e ainda, um sistema de processamento de dados para a interpretação dos sinais elétricos (PAULA, 2018).

O processo se inicia com a introdução da amostra no equipamento, que então será direcionada para a fonte de ionização que produz íons dos anólitos presentes na amostra. Dando sequência, os íons são separados de acordo com suas respectivas  $m/z$  por um ou mais analisadores de massas que serão encaminhados para o detector, a partir deste momento os íons separados pelo analisador são quantificados pela conversão dos íons em sinais elétricos. Tais sinais são então enviados para um sistema de aquisição de dados que irá gerar os espectros de massas, que são gráficos da relação entre a intensidade relativa dos íons detectados e suas respectivas massa/carga (SANTOS, 2021).



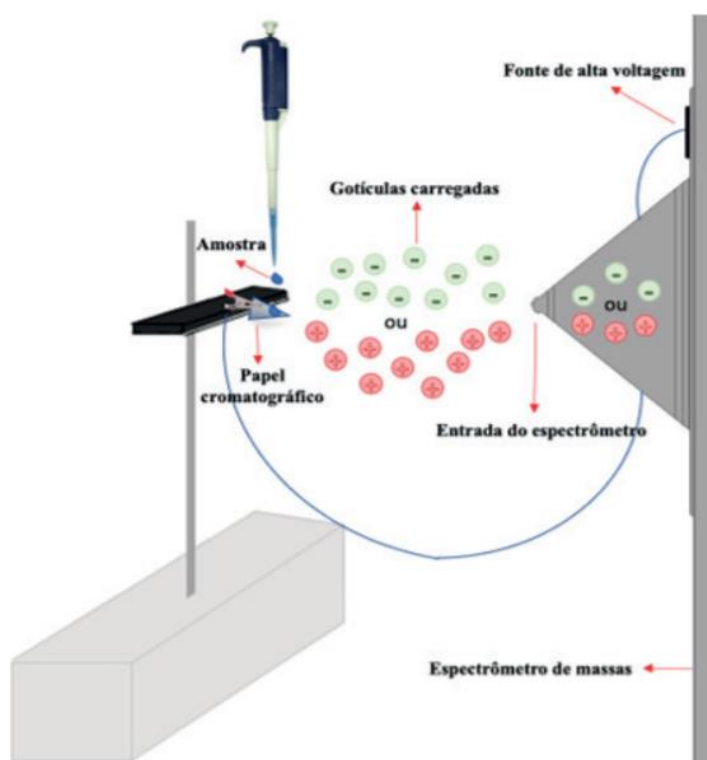
**Figura 1.1** – Diagrama esquemático de um espectrômetro de massas.

### 3.1.5 Ionização por *Paper-spray*

A fonte de ionização por *paper-spray* (PS) data de 2009, criado por Cooks e colaboradores trata-se de método que utiliza um material de baixo custo, o papel, para a realização de suas análises, o que torna a técnica muito atrativa, além de ter potencial em aplicações analíticas e bioanalíticas (CARVALHO, 2018). Para Botelho, 2018, a técnica é considerada simples, eficiente e com elevada capacidade de análise de amostras complexas, requerendo pouco ou nenhum preparo de amostra.

Na ionização por *paper-spray* a amostra a ser estudada é introduzida a um papel cromatográfico triangular, após ocorre a adição de um solvente (10-50  $\mu\text{L}$ ) e então o papel é direcionado para a frente do espectrômetro de massas (0,5 a 1 cm) através de um clipe metálico conectado a uma fonte de alta tensão. Para que seja realizada a ionização, faz-se necessária a aplicação de um alto campo elétrico e então ocorre a formação de um spray com gotículas do solvente contendo os anólitos ionizados por

acumulo de cargas na ponta do papel. Com a alta diferença de potencial, as gotículas formadas ficam com excesso de cargas tanto positivas quanto negativas e então, com a evaporação do solvente, o volume desta gota diminui e se divide, devido a força de repulsão eletrostática, restando apenas moléculas do anólito, carregadas e isoladas. Por se tratar de uma técnica capaz de analisar compostos com baixas concentrações em matrizes complexas, ela vem sendo amplamente utilizada em diferentes áreas, como na análise de alimentos. (SANTOS, 2021, CARVALHO, 2018).



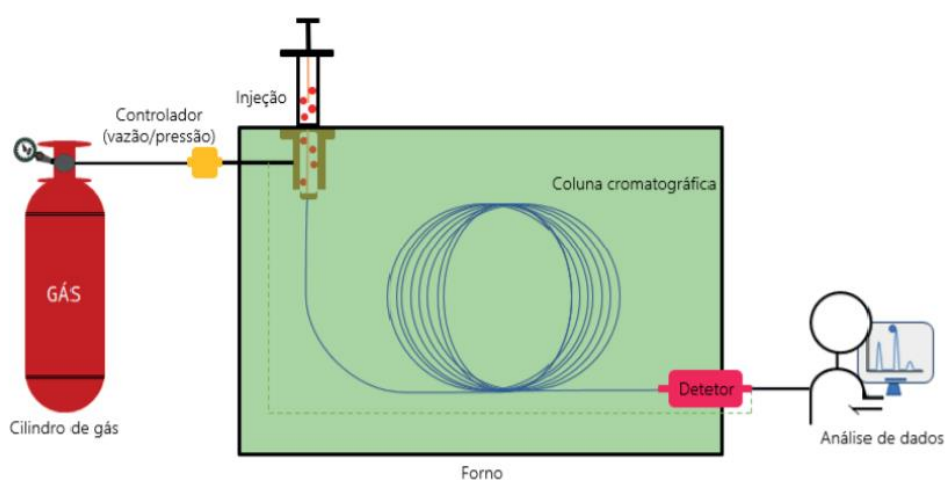
**Figura 1.2** Técnica de ionização por *Paper-spray* (RAMOS, *et al.*, 2021).

### 3.1.6 Compostos Voláteis

Existem diversas tecnologias para a análise de alimentos atualmente, equipamentos eficientes e métodos, como a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida de alto desempenho e a combinação de ambas com espectrometria de massas. Tais técnicas não são capazes de realizar análises diretas de amostras, para isto, é

necessária uma etapa inicial de preparação que visa: extrair, concentrar, fracionar e isolar os análitos (SILVA, 2019a).

Ainda segundo o autor, diferentes métodos de preparação de amostra podem realizar esta extração, como: headspace estatístico, headspace dinâmico, extração de fluido supercrítico, destilação, diálise de membranas e extração com solvente. Porém estes métodos requerem muito tempo e / ou grande quantidade de solvente. Como alternativa, tem-se a microextração em fase sólida no modo headspace, uma técnica de baixo custo, rápida e sem solventes.



**Figura 1.3** Cromatografia gasosa (GARCIA, et al., 2021b).

### 3.1.7 Microextração em Fase Sólida

A SPME é um método desenvolvido por J. Pawliszyn e colaboradores em 1990 em Ontário, no Canadá, sendo considerada uma técnica rápida e simples onde é possível integrar amostragem, extração, pré-concentração e introdução da amostra em sistema cromatográfico através de etapa única, ademais seu custo para extração é relativamente baixo (GARCIA, 2021a).

Trata-se de técnica que envolve a extração e a concentração de substâncias voláteis em uma fibra de invólucro de uma amostra embalada em um sistema fechado. A fibra refere-se a um aparelho constituído de sílica fundida, no qual a sua extremidade é coberta com uma película fina de diferentes tipos de polímero. O filamento capilar

está ligado a um titular, permitindo a exposição da cobertura de fibra durante o isolamento do análio, etapas de dessorção e sua retração durante a penetração de recipientes ou armazenamento de fibra (SILVA, 2019a).

A técnica SPME é uma das mais utilizadas, através dela os análios contidos em matriz aquosa são extraídos, assim como os compostos interferentes, após passagem por uma espécie de cartucho contendo sorvente. Neste método, um solvente orgânico seletivo é utilizado para a remoção de interferentes e um outro solvente é usado para lavagem dos análios de interesse. A adsorção dos análios ocorre em fibra sílica coberta com camada de sorvente, então, esta fibra é introduzida na amostra aquosa que por partição, concentra o análio na superfície (sorvente). Por fim, ocorre a dessorção térmica dos análios em um cromatógrafo a gás (BARRIONUEVO, 2001).

**Tabela 1.1** Fibras usadas em Microextração em Fase Sólida no modo headspace e suas características.

<b>Fibra</b>	<b>Polaridade</b>	<b>Estado Físico</b>	<b>Aplicações</b>
PA	Polar	Líquido	Semivoláteis, polares
CAR/PDMS	Semipolar	Sólido/líquido	Gases, compostos com baixo peso molecular
PDMS/DVB	Semipolar	Sólido/líquido	Voláteis, amins e compostos nitroaromáticos
DVB/CAR/PDMS	Semipolar	Sólido/líquido	Compostos polares
CW/DVB	Polar	Sólido/líquido	Polares, alcoóis

(SILVA, 2019a).

## **4 CAPÍTULO II**

## RESUMO

A manteiga Ghee é um produto amplamente encontrado no mercado nacional e internacional, sobretudo em casas de produtos naturais. Atualmente tem como matéria prima a manteiga tradicional, ou ainda, o creme de leite. É um produto amplamente utilizado na Índia sendo considerado um alimento sagrado, visto que sua matéria prima é oriunda da vaca, que para os indianos é um animal sagrado. Além de se tratar de um alimento milenar, a manteiga ghee está associada a inúmeros benefícios à saúde por seu elevado teor de vitaminas e demais compostos. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização do perfil químico da manteiga, empregando-se a técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS). As manteigas ghee utilizadas neste trabalho foram doadas por 5 diferentes fabricantes nacionais dos estados de São Paulo, Minas Gerais e Santa Catarina, todas com característica como cor e estado sólido a temperatura ambiente, em comum. Os resultados demonstraram que no modo positivo de ionização foi possível identificar 14 compostos sendo os ácidos graxos saturados: palmítico, esteárico e mirístico, além de trilinoleína, um triglicérideo do ácido graxo essencial Omega-6 e ainda, o antibiótico tilosina. No modo negativo, foram identificados um total de 19 compostos, sendo os ácidos graxos saturados: esteárico, palmítico, láurico e mirístico, além do ácido graxo insaturado oleico e antibióticos. Desta forma, por meio das informações encontradas no presente estudo, foi possível verificar que o emprego da técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS) se mostrou bastante eficaz na caracterização do perfil químico das amostras, visto que foi possível verificar propriedades nutricionais nas mesmas. Indicando a qualidade da Manteiga Ghee e descrevendo o seu perfil químico, levando a uma melhor compreensão de seus atributos.

Palavras-chave: manteiga ghee; produtos lácteos; PS-MS.

## ABSTRACT

Ghee butter is a product widely found on the national and international market, especially in natural food stores. Currently, its raw material is traditional butter, or even cream. It is a product widely used in India and is considered a sacred food, as its raw material comes from the cow, which for the Indians is a sacred animal. In addition to being an ancient food, ghee butter is associated with numerous health benefits due to its high content of vitamins and other compounds. In this context, the present work aimed to characterize the chemical profile of butter, using the technique of ambient ionization mass spectrometry in paper spray (PS-MS). The ghee butters used in this work were donated by 5 different national manufacturers in the states of São Paulo, Minas Gerais and Santa Catarina, all with common characteristics such as color and solid state at room temperature. The results showed that in the positive mode of ionization it was possible to identify 14 compounds being the saturated fatty acids: palmitic, stearic and myristic, in addition to trilinolein, a triglyceride of the essential fatty acid Omega-6, and also the antibiotic tylosin. In the negative mode, a total of 19 compounds were identified, with saturated fatty acids: stearic, palmitic, lauric and myristic, in addition to oleic unsaturated fatty acid and antibiotics. Thus, through the information found in this study, it was possible to verify that the use of the environmental ionization mass spectrometry technique in paper spray (PS-MS) proved to be quite effective in characterizing the chemical profile of the samples, as it was possible to verify nutritional in them. Indicating the quality of Ghee Butter and describing its chemical profile, leading to a better understanding of its attributes.

Keywords: ghee butter; dairy products; PS-MS.

## 4.1 Introdução

O leite e seus 11 derivados ganharam maior importância diante da necessidade de homens e de mulheres sobreviverem devido ao seu importante valor nutricional, em especial, do queijo e da manteiga. Esses produtos oriundos do leite, proporcionavam uma maneira de ingerir leite, já que o homem ainda não tinha conhecimento de técnicas para a conservação desse alimento, ficando o seu consumo restrito (GUEDES, 2019).

De acordo com o Regulamento de Identidade e Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a manteiga trata-se de um produto gorduroso obtido exclusivamente pela bateção e pela malaxagem, com ou sem modificação biológica de creme pasteurizado, sendo derivado exclusivamente do leite de vaca, por processo adequado do ponto de vista tecnológico (BRASIL, 1996).

A manteiga salgada tem em sua composição basicamente: gordura (80-82%), água (15,6-17,6%), sal (Ca 1,2%), assim como proteína, cálcio (Ca 1,2%) e fósforo (1,2%), além das vitaminas lipossolúveis A, D e E (FERNANDES, 2013).

Segundo Guedes, (2019), em 2016 o consumo de manteiga, que é um alimento bem aceito socialmente, apresentou um grande crescimento no mundo, chegando a um consumo de 9,4 milhões de toneladas. Ainda de acordo com o autor, no Brasil, esse aumento se deu no ano de 2017, chegando a um consumo de 90 mil toneladas, sendo notório que o consumo deste alimento pelos brasileiros está crescendo.

Assim como o consumo da manteiga tradicional, a manteiga Ghee também teve a sua ingestão aumentada nos últimos anos, principalmente no Brasil, já que a população está a cada dia mais preocupada em zelar pela saúde, não apenas por uma questão de estética, mas, cada vez mais, visando bons hábitos alimentares e de vida.

A Ghee é um produto clarificado que contém aproximadamente, 99,3% de gordura do leite e ainda possui baixo teor de lactose e galactose. Sua origem se deu na Índia e no Paquistão (PORTNOI *et al.*, 2015).

Ainda segundo o autor, sua produção se dá pelo aquecimento da manteiga para a remoção dos sólidos do leite. O produto pode ser usado em preparações como fritura, visto que possui elevado ponto de fumaça.

Atualmente, existem poucos estudos sobre a caracterização do perfil químico da Manteiga Ghee, neste sentido, pouco se sabe a respeito de seus constituintes, a não

ser, que por se tratar de um produto cuja a origem, em sua maioria, seja o leite de vaca, que muito provavelmente, sejam identificados ácidos graxos saturados e insaturados.

Sendo a manteiga Ghee um produto com potencial crescimento de consumo, realizar a caracterização de seu perfil químico é de grande relevância para a indústria e, principalmente para a população consumidora. Dentre as técnicas analíticas para a determinação de perfis químicos, a espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (*paper spray mass spectrometry*, PS-MS), é uma das opções mais utilizadas em estudos de substâncias complexas, como: fármacos, metabólitos e ainda, pesticidas, por se tratar de técnica versátil, simples e de baixo custo. Estando cada vez mais presente em análises de qualidade de alimentos (OLIVEIRA JÚNIOR, *et al.*, 2020).

A espectrometria de massas com ionização por *paper spray* (PS-MS) tem se destacado bastante por se tratar de técnica rápida, altamente sensível, seletiva e ainda de possuir a capacidade de analisar compostos presentes em misturas complexas de forma simples e direta, com o mínimo ou nenhum preparo de amostras e principalmente, sem comprometer a confiabilidade e a qualidade dos resultados obtidos (RAMOS, 2021).

A técnica PS-MS vem sendo utilizada na avaliação e controle de qualidade de várias matrizes alimentares, como: grumixama (RAMOS *et al.*, 2020), açaí (MINIGHIN *et al.*, 2020), gengibre (OLIVEIRA *et al.*, 2020), azeite de oliva (MAZZOTTI *et al.*, 2013), cagaita (SILVA *et al.*, 2019), farinha de banana (SILVA *et al.*, 2020), cacau (OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2020), nêspera (SILVA *et al.*, 2020b), chá (DENG & YANG, 2013), café (GARRETT, *et al.*, 2013) e ainda, pera-do-cerrado (MARIANO *et al.*, 2020), por se tratar de técnica que apresenta elevada precisão, sensibilidade e possuir baixo custo na operação.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo o emprego da técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS) na caracterização do perfil químico da manteiga Ghee.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Matéria prima**

Foram utilizadas nesta pesquisa amostras de 5 marcas de manteigas Ghee que foram doadas por cinco fabricantes nacionais. As manteigas foram adquiridas entre os meses de março e julho de 2019 e com validade até o final de 2020. Todas tinham as

mesmas características de cor clara e de serem sólidas a temperatura ambiente. No que diz respeito a procedência, eram dos estados de Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais. Cada empresa doou amostras de um único lote, embaladas em frascos de vidro de cor clara com gramaturas de 150 a 200g do produto, que permaneceram armazenados em um freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

#### **4.2.2 Obtenção dos extratos de Manteiga Ghee**

Os extratos de manteiga Ghee foram obtidos de acordo com metodologia descrita por Silva *et al.*, (2019) com adaptações. Foram pesados 0,5 gramas da manteiga Ghee, em seguida foi adicionada à amostra de manteiga Ghee, 8 mL de metanol, a amostra foi agitada em agitador do tipo vórtex por 20 segundos e prosseguiu com incubação da mesma durante 1 hora em temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após o tempo que ficou em incubação, a amostra foi centrifugada por 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  com rotação de 15000 *xg* em centrífuga. O sobrenadante foi transferido para *eppendorff* e armazenado em temperatura a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento efetivo da análise do perfil químico por PS/MS.

#### **4.2.3 Perfil químico da Manteiga Ghee *Paper spray* – MS**

A análise do perfil químico das amostras foi conduzida empregando-se o espectrômetro de massas LCQ *Fleet* (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) equipado com uma fonte de ionização ambiente por *paper spray* sendo realizada em triplicata tanto no modo de ionização positivo quanto no modo negativo, conforme descreve Silva *et al.* (2019).

Para realizar as análises, alíquotas de 2  $\mu\text{L}$  das amostras e 40  $\mu\text{L}$  de metanol foram aplicadas no triângulo de papel cromatográfico acoplado ao equipamento, e a fonte de voltagem foi ligada para aquisição dos dados (Figura 2.1). A seguir, as condições instrumentais das análises: voltagem da fonte PS-MS igual a + 4 kV (modo positivo) e – 3 kV (modo negativo); voltagem do capilar de 40 V; temperatura do tubo de transferência de  $275^{\circ}\text{C}$ ; voltagem das lentes do tubo de 120 V; faixa de carga massa de 100 a 1000 *m/z* em ambos os modos. Os íons foram fragmentados usando energia de colisão de 15 a 45 eV.

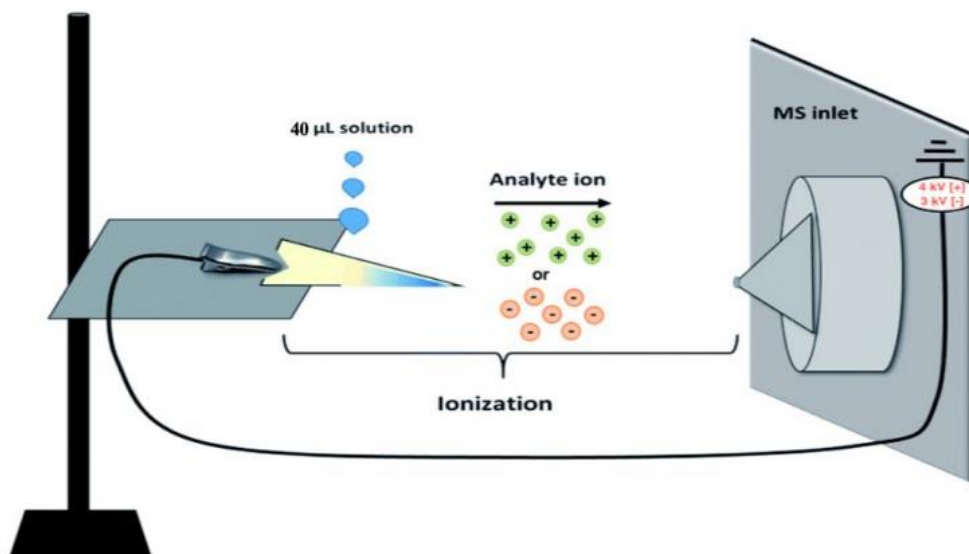


Figura 2.1. Processo de ionização por *paper spray*. (RAMOS *et al.*, 2020)

#### 4.2.4 Análise dos dados instrumentais

O processamento dos resultados obtidos referentes aos espectros de massas foi através do software Xcalibur versão 2.1 (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA). Os espectros PS-MS médios dos modos positivo e negativo foram determinados utilizando Excel, 2016 (Microsoft, Redmond, WA, EUA). Para a identificação dos compostos realizou-se a comparação das razões massa carga ( $m/z$ ) de dados da literatura com os sinais instrumentais obtidos e a subsequente fragmentação por meio da espectrometria de massas sequencial.

#### 4.3 Resultados e Discussão

Os espectros do perfil químico da Manteiga Ghee nos modos de ionização positivo e negativo estão apresentados nas Figuras 2.2 e 2.3, respectivamente. Através da tentativa de identificação foi possível encontrar 30 íons ao todo, sendo 14 destes no modo de ionização positivo e 19 no modo negativo.

Figura 2.2 Espectrograma de PS-MS no modo positivo em amostra de manteiga Ghee.

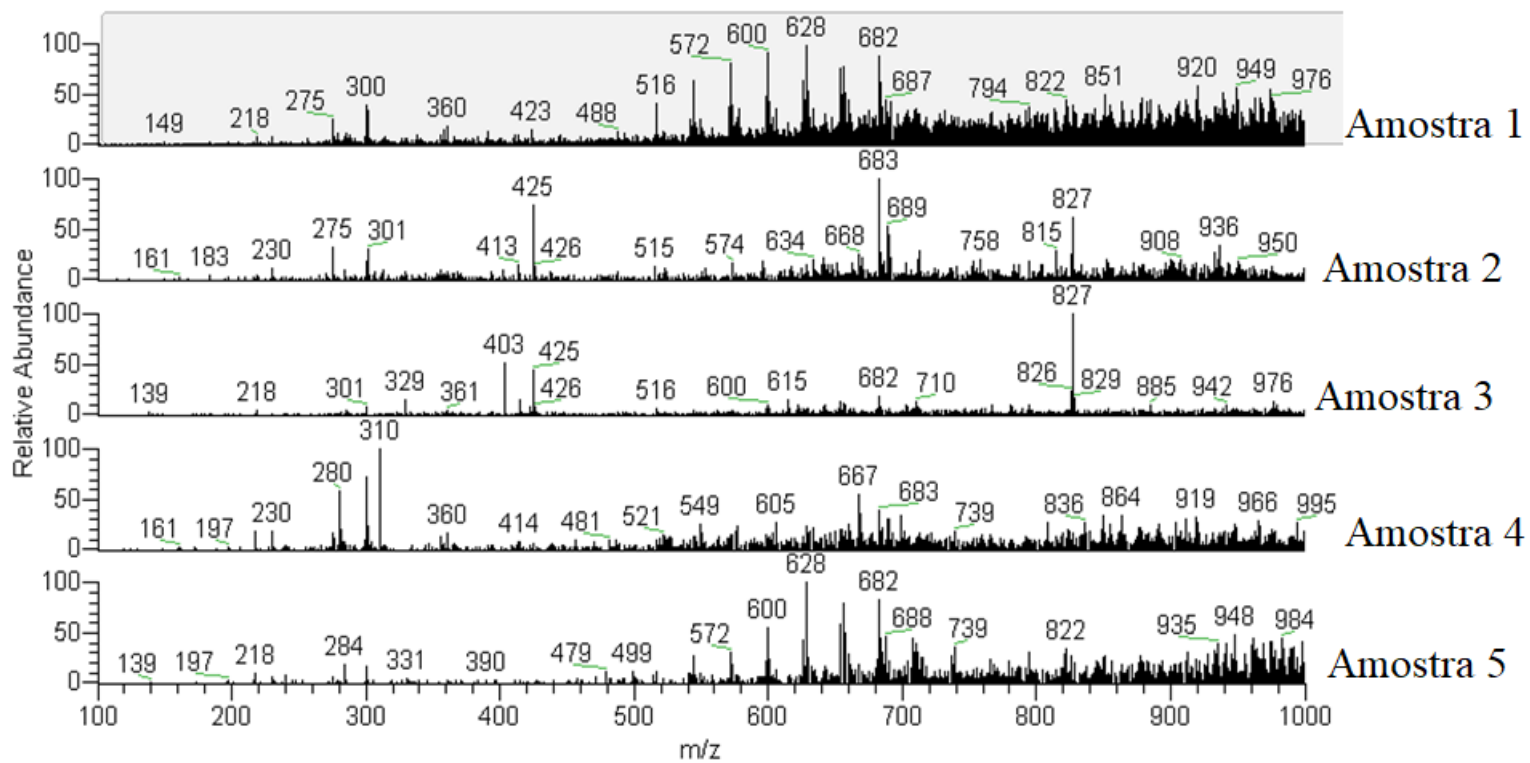
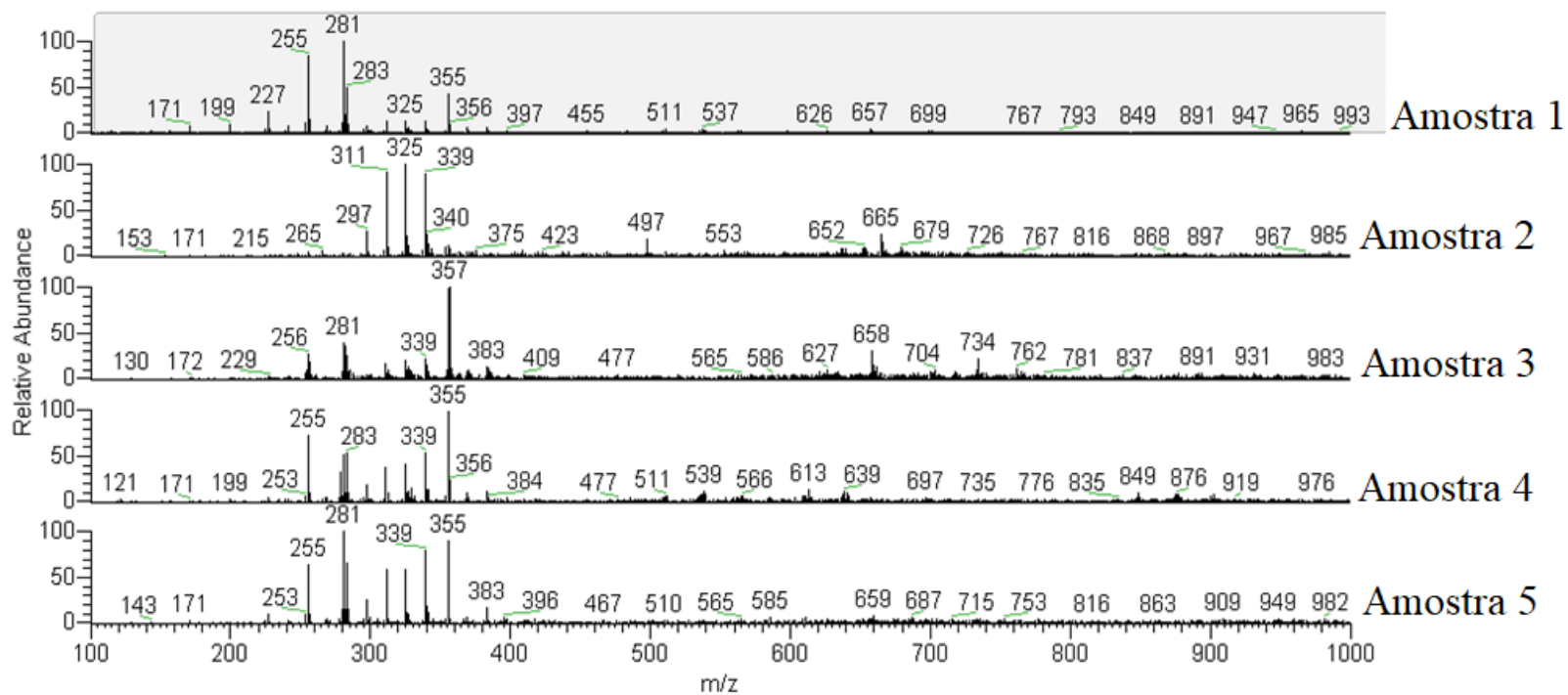


Figura 2.3 Espectrograma de PS-MS no modo negativo em amostra de manteiga Ghee.



### 4.3.1 Modo Positivo de Ionização

Na Tabela 2.1 é possível visualizar a totalidade de íons identificados no modo de ionização positivo:

**Tabela 2.1.** Identificação de íons por PS(+) – MS.

nº	Tentativa de identificação	m/z [ ]+	MS/MS	Referência	Marca A	Marca B	Marca C	Marca D	Marca E
1	Óxido de trifetil fosfina	279	201, 183, 171, 154, 141, 133, 128	Nasa et al. (2018)			X		
2	Monopalmitiano	353	183, 108	Nasa et al. (2018)			X		
3	Ácido esteárico	426	160, 143, 116	Nasa et al. (2018)		X	X		
4	LLL*	600	-	Derewiaka et al. (2011)	X		X	X	X
5	LLO	602	-	Derewiaka et al. (2011)			X		
6	Natamicina	666	503, 485	Malognoni (2015)			X		
7	Trimiristina	746	517, 495, 211, 137, 132, 109	Nasa et al. (2018)		X	X		

8	Tripalmitina	830	573, 551, 239, 137, 132, 109	Nasa et al. (2018)	X	X	X		
9	LLL	880	600	Derewiaka et al. (2011)		X			
10	LLO	882	602, 600	Derewiaka et al. (2011)		X			X
11	LLL	903	-	Derewiaka et al. (2011)		X			X X
12	LLO	905	-	Derewiaka et al. (2011)	X	X	X		X X
13	Tristearina	914	630, 608, 267, 137, 132	Nasa et al. (2018)	X	X			X X
14	Tilosina	916	145	Malognoni (2015)		X			X X

A tripalmitina ( $m/z = 830$ ), é um glicerídeo do ácido palmítico, comumente encontrado em alimentos de origem vegetal e também animal, como a manteiga. No estudo em questão este esteve presente em 60% das amostras analisadas. Estudos demonstram que o ácido palmítico é um ácido graxo saturado de cadeia longa, (C:16), suas principais fontes são a gordura animal e o óleo de palma, sendo o mais abundante na alimentação humana. De acordo com Santos, 2013, o excesso de gordura saturada está associado a elevação do colesterol. Todavia, já há estudo mostrando múltiplas ações do palmitato em células beta pancreáticas. De acordo com, Graciano 2010, o palmitato demonstrou a sua participação em uma via não clássica moduladora da secreção de insulina em células beta e ilhotas pancreáticas. Assim, o seu consumo deve ser moderado.

No presente estudo a triasterina ou ainda estearina ( $m/z = 914$ ) e o ácido esteárico ( $m/z = 426$ ), estiveram presentes em 100% das amostras analisadas, demonstrando um aspecto benéfico do consumo comedido de manteiga Ghee, visto que a triastearina, é um triglicerídeo do ácido esteárico, este, apesar de ser um ácido graxo saturado, já é descrito na literatura por não possuir efeitos sobre as lipoproteínas sanguíneas (PIGNATA, *et al.*, 2014). Na dieta, os ácidos graxos saturados, incluído o esteárico, tem como função o fornecimento de energia, atuam como componentes estruturais de células e membranas, além de contribuírem com textura e palatabilidade desejáveis aos alimentos. Hunter, *et al.*, 2010 em seu estudo de revisão, concluiu que dietas ricas em ácido esteárico demonstraram efeitos favoráveis na concentração de LDL colesterol, além de colesterol total e HDL em comparação a outras gorduras saturadas. Este ácido não produz colesterol pois ao ser ingerido passa por transformação a ácido oléico, com dupla ligação e então não participa da produção de colesterol no organismo humano (MANCO, *et al.*, 1999).

A trimiristina ( $m/z = 746$ ), é um triglicerídeo do ácido mirístico (C: 14), sendo também um ácido graxo saturado. Este encontra-se em pequenas quantidades nos alimentos, sendo o seu maior teor em óleo de coco e na gordura do leite. A trimiristina esteve presente em 40% das amostras analisadas, o seu consumo deve ser ponderado, devido a sua associação com maior risco de doenças cardiovasculares (SILVA, 2017).

O tilosina ( $m/z = 916$ ) foi encontrado em 60% das amostras analisadas demonstrando grande preocupação por se tratar de um antibiótico utilizado em vacas lactantes para tratamento de mastite. Por ser pouco biodegradável, pode permanecer em produtos alimentícios de origem animal, como o leite, a carne, o ovo e o mel. Já existem diferentes técnicas para identificação deste produto em leite e inclusive limite máximo permitido de resíduo (FREITAS, 2019).

O composto trilinoleína – LLL ( $m/z = 600, 880$  e  $903$ ), esteve presente em 100% das amostras analisadas. Trata-se de um triglicerídeo do ácido linoleico – Ômega 6, um ácido graxo essencial, não produzido pelo organismo e que deve ser adquirido através da dieta. Comumente é encontrado na gordura de ruminantes, como na carne de gado e em laticínios, em produtos lácteos, sua concentração varia de 2,9 a 8,92 mg/g de gordura. O ácido linoleico, vem sendo considerado um potente agente anti-obesidade devido as suas possíveis propriedades como modulador do metabolismo dos lipídeos, todavia, o seu efeito no que se refere à perda de peso, ainda é controverso (MOURÃO, 2005).

O composto LLO – dilinoleiloleína ( $m/z = 602, 882$  e  $905$ ) é um triglicerídeo, principal molécula encontrada em óleos vegetais e em gorduras de origem animal. No presente estudo, este composto esteve presente em 100% das amostras analisadas.

O Óxido de trifetil fosfina oxide ( $m/z = 279$ ), é um composto organofosforado que esteve presente em 20% das amostras analisadas no estudo em questão, porém não foram encontrados dados na literatura desse composto em manteiga ou produtos similares de origem animal.

O monopalmitiano ( $m/z = 353$ ), foi encontrado em 20% das amostras analisadas. De acordo com FREITAS, *et al.*, 2008, o composto é amplamente utilizado na indústria de alimentos como emulsificante em produtos como: os derivados do leite, a margarina ou ainda, doces e molhos, não sendo encontrado benefícios a saúde do composto em questão na literatura.

O natamicina ( $m/z = 666$ ), esteve presente em 20% das amostras de manteiga Ghee, trata-se de um antibiótico natural, produzido no processo de fermentação da bactéria *Streptomyces natalensis*, a substância tem se mostrado eficaz no controle de algumas deteriorações microbiológicas e contaminação por micotoxinas fúngicas. O produto é intencionalmente utilizado no processo industrial para produção de queijos por seu potencial antifúngico. Seu uso é permitido pela legislação brasileira na quantidade de até 5 mg/kg na casca, e não deve ser detectável a 2 mm de profundidade (LAURINDO, 2017).

### **4.3.2 Modo Negativo de Ionização**

Na Tabela 2.2 é possível visualizar a totalidade de íons identificados no modo de ionização negativo:

**Tabela 2.2.** Identificação de íons por PS(-) – MS.

nº	Tentativa de identificação	m/z [ ] <sup>-</sup>	MS/MS	Referência	Marca	Marc	Marc	Marca	Marca
					A	a B	a C	D	E
1	Ácido láurico	199	-	Nasa et al. (2018)	X	X		X	X
2	Ácido mirístico	227	-	Nasa et al. (2018)	X	X		X	X
3	Ácido palmítico	255	-	Nasa et al. (2018)	X	X	X	X	X
4	Ácido oleico	281	-	Nasa et al. (2018)	X	X	X	X	X
5	Ácido esteárico	283	-	Nasa et al. (2018)	X	X	X	X	X
6	Grupo base esfinganina / não hidroxilado N-acil	756	352, 336, 311, 300, 293, 268, 239	Calvano et al. (2018)					
7	Grupo base fitoesfingosina / não hidroxilado N-acil	772	366, 354, 311, 267, 255, 239	Calvano et al. (2018)				X	

<b>8</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	785	392, 380, 364, 339, 321, 300, 268, 239	Calvano et al. (2018)	X	X		
<b>9</b>	Grupo base esfingosina / não-hidroxi N-acil	796	394, 378, 353, 263, 237	Calvano et al. (2018)			X	
<b>10</b>	Grupo base fitoesfingosina / não hidroxi N-acil	851	282, 270, 267, 255, 227	Calvano et al. (2018)	X	X		
<b>11</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	863	296, 280, 268, 250, 239	Calvano et al. (2018)	X	X		X
<b>12</b>	Grupo base esfinganina / alfa-hidroxi N-acil	865	298, 282, 257, 239	Calvano et al. (2018)	X	X	X	X
<b>13</b>	Grupo base fitoesfingosina / não hidroxi N-acil	879	310, 298, 267, 255	Calvano et al. (2018)	X	X	X	
<b>14</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	891	352, 336, 308, 300 , 283, 265, 239	Calvano et al. (2018)	X	X	X	X
<b>15</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	917	352, 336, 311, 293, 263, 237	Calvano et al. (2018)			X	X

---

<b>16</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	947	392, 380, 364, 339, 321, 300, 239	Calvano et al. (2018)	X	X
<b>17</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	973	406, 390, 365, 347, 300, 239	Calvano et al. (2018)		
<b>18</b>	Grupo base esfinganina / não hidroxi N-acil	975	408, 392, 367, 349, 300, 239	Calvano et al. (2018)	X	X
<b>19</b>	Grupo base fitoesfingosina / não hidroxi N-acil	991	422, 410, 367, 267, 255	Calvano et al. (2018)	X	X

---

Dentre os 19 compostos identificados no modo negativo de ionização das amostras de manteiga Ghee por PS-MS, sua maioria são ácidos graxos saturados tais como: ácido esteárico, palmítico, láurico e mirístico, comumente encontrados em produtos de origem animal.

O ácido esteárico ( $m/z = 283$ ), também foi encontrado no modo negativo de ionização, porém desta vez ele esteve presente em 100% das amostras de manteiga Ghee analisadas.

O ácido láurico ( $m/z = 199$ ), encontrado em 80% das amostras, trata-se de ácido graxo saturado, com 12 átomos de Carbono. Este pode ser encontrado em óleos como o de coco e está associado a ações como: antibacteriano, antiviral, antifúngico, além de estar associado a um efeito termogênico, atuando como coadjuvante na perda de gordura corpórea, perda de peso e ainda, significativa redução de gordura na cavidade abdominal (DAUBER, 2015).

O ácido mirístico ( $m/z = 227$ ), assim como no modo positivo também foi encontrado no modo negativo, porém neste caso em 80% das amostras analisadas.

O ácido palmítico ( $m/z = 255$ ), foi encontrado em ambos os modos de ionização, positivo e negativo, porém desta vez em 100% das amostras de manteiga Ghee.

De acordo com Tescarollo, 2020, o ácido oleico ( $m/z = 281$ ), que foi encontrado em 100% das amostras analisadas no modo negativo, é um ácido graxo insaturado que tem apresentado importantes efeitos sobre a saúde. Com propriedades hipoglicemiantes, é capaz de estimular a secreção de insulina, por aumento da liberação do peptídeo 1 que é semelhante ao glucagon (GLP-1), por consequência, este ácido graxo tem demonstrado impactos positivos no controle da glicemia. Desta forma, o consumo ponderado da manteiga Ghee pode também contribuir para a saúde do consumidor.

Calvano 2018, em seu estudo caracterizou lipídeos polares no leite de burra através da técnica de cromatografia líquida acoplada a eletropulverização de íons e espectrometria de massas. As substâncias Esfinganina e Fitoesfingosina, foram encontradas e o autor as associa a alimentação dos burros, que é composta, basicamente por grama de pasto. No presente estudo estas substâncias, Esfinganina ( $m/z = 865, 891$  e  $947$ ) e Fitoesfingosina ( $m/z = 851, 879$  e  $991$ ), foram detectadas em 100% e em 80% amostras respectivamente, demonstrando uma possível contaminação cruzada das amostras analisadas. Não foram encontrados dados de benefícios a saúde destas substâncias na literatura.

#### 4.4 Conclusão

O emprego da técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS) se mostrou bastante eficaz na caracterização do perfil químico da manteiga Ghee. Por meio desta foi possível identificar um vasto conteúdo de ácidos graxos saturados, insaturados e ainda, antibióticos nas amostras de manteigas ghee analisadas, sendo que muitos dos compostos encontrados, detém propriedades benéficas ao organismo humano, porém alguns dos compostos possuem propriedades que justificam cautela no consumo, sobretudo no que diz respeito a quantidade ingerida.

No caso dos antibióticos, que apesar de alguns deles terem quantidades consideradas seguras, no presente estudo não foi possível quantificá-los. Neste contexto, mais estudos podem contribuir com o trabalho em questão visando mais informações e ainda maior quantidade de compostos na manteiga ghee empregando-se a técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS).

## 4.5 Referências

BRASIL Leis. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da manteiga.

CALVANO. C. D. *et al.* Glycosphingolipidomics of donkey milk by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization and multistage mass spectrometry. Dipartimento di Chimica and Centro Interdipartimentale SMART, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, via Orabona Italy. 2018.

CORREIA, V. T. V. *et al.* Perfil químico da farinha extrusada de sorgo do genótipo BRS 305 por *paper spray*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, jan. 2021.

DAUBER, R. A. **Óleo de Coco: Uma revisão sistemática**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição. Porto Alegre – RS, 2015.

DENG, J., & YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82–90. 2013.

DEREWIAKA. D. *et al.* Determination of the adulteration of butter. **Eur. J. Lipid Sci. Technol**, v. 113, p. 1005–1011. 2011.

FERNANDES, L. S. F. Produto elaborado com manteiga e azeite de oliva. 2013. Tese (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina. 2013.

FREITAS, L. *et al.* Monoglicéridos: produção por via enzimática e algumas aplicações. *Rev. Química Nova*. 2008.

FREITAS, A. G. M. Espectroscopia associada a quimiometria como ferramenta de avaliação da presença de resíduos de tilosina em leite. Tese (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Bahia, 2019.

GARRETT, R. *et al.* Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. *Analytical Methods*. 2013.

GRACIANO, M. F. R. Mecanismos de ação do palmitato como modulador na NADPH oxidase em ilhotas pancreáticas e linhagem INS-1E. Tese (Mestrado em Ciências Biomédicas). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

GUEDES, K. A. S. **Produção de manteiga (quase) artesanal: o uso de aparatos tecnológicos e de conhecimento da ciências**. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química) – Universidade de Brasília, 2019.

HUNTER, J. E. *et al.* Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. *The American Journal of Clinical Nutrition*. v. 91, p. 46 – 63, 2010.

LAURINDO, J. Teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo azul e tipo gorgonzola. Tecnologia de alimentos. Universidade tecnológica federal do Paraná. 2017.

MACIEL, L. I.L. *et al.* Determination of designer drugs in saliva by paper spray mass spectrometry. *Química Nova*, v. 42, n. 6, ago. 2019.

MANCO, M. C. *et al.* Cromatografia à gás: Determinação de ácidos graxos. Tese (Mestrado em Nutrição e Produção Animal). Curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de São Paulo, 1999.

MARIANO, A. P. X. *et al.* Analysis of the chemical profile of cerrado pear fixed compounds by mass spectrometry with paper spray and volatile ionization by SPME-HS CG-MS. **Research, Society and Development**, v. 9, 2020.

MAZZOTTI, F., *et al.* Evaluation of dialdehydic anti-inflammatory active principles in extra-virgin olive oil by reactive paper spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 87–91, dez. 2012.

MINIGHIN, E. C., *et al.* Açaí (*Euterpe oleracea*) e suas contribuições para alcance da ingestão diária aceitável de ácidos graxos essenciais. **Research, Society and Development**, v. 9. 2020.

MOLOGNONI, L. Desenvolvimento de metodologias para análise Simultânea de ácido sórbico, natamicina, nisina e Tilosina em produtos lácteos por cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Departamento de ciência e tecnologia de Alimentos da Universidade federal de Santa Catarina . Santa Catarina, 2015.

MOURÃO, D. M., *et al.* Conjugated linoleic acid and weight loss. **Rev. Nutr**, v. 18. 2005.

NASA, J. L., *et al.* A novel HPLC-ESI-Q-ToF approach for the determination of fatty acids and acylglycerols in food samples, **Analytica Chimica Acta**. 2018.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. H. *et al.* Perfil químico de amêndoas de cacau por espectrometria de massas com ionização por *paper spray*. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, 2020.

PIGNATA, C. *et al.* Estudo Comparativo da Composição Química, ácidos graxos e colesterol de leites de búfala e vaca. **Revista Caatinga**, v. 27, p. 226 -233, 2014.

PORTNOI, P. A. *et al.* The lactose and galactose content of milk fats and suitability for galactosaemia. **Mol Genet Metab.** 2015.

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Perfil químico da polpa de Eugenia brasilienses (Grumixama) por spray de papel PS / MS e microextração em fase sólida SPME-CG / MS. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento.** v. 9, n. 7, pág. E318974008, 2020.

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Análise de compostos bioativos em alimentos utilizando espectrometria de massas por paper spray – uma breve revisão de literatura. **Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil.** v. 1, 2021.

SANTOS, R. D. *et al.* I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 100, 2013.

SILVA, N. R. F. Perfil de ácidos graxos de alimentos industrializados. Tese (Mestrado em Ciências e tecnologias agropecuárias). Centro de Ciências e tecnologias agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Rio de Janeiro, 2017.

SILVA, M. *et al.* Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019.

SILVA, V. *et al.* Use of paper spray-mass spectrometry to determine the chemical profile of ripe banana peel flour and evaluation of its physicochemical and antioxidant properties. **Quimica Nova**, v. 43, p. 579-585, 2020.

SILVA, V. D. M. *et al.* Bioactive activities and chemical profile characterization using paper spray mass spectrometry of extracts of Lindl. leaves. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 34. 2020b.

TESCAROLLO, I. L. O potencial insulíntrópico do óleo de baru. **Pesquisa, Produção e Difusão e Conhecimentos nas Ciências Farmacêuticas**. 2020.

## **5 CAPÍTULO III**

## RESUMO

Os compostos orgânicos voláteis (COV's) da manteiga Ghee foram isolados por diferentes fibras SPME. O método utilizado para a extração foi o de microextração em fase sólida no modo *headspace* (SPME-HS), sendo identificados por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-MS). Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência das fibras poliacrilato (PA) e polidimetilsiloxisano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) em diferentes condições de extração (tempo de extração, temperatura de extração e peso da amostra) para a extração de compostos voláteis da manteiga Ghee. As fibras analisadas foram a poliacrilato (PA) e a polidimetilsiloxisano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), sendo que essa última extraiu o maior número de COV's, que eram, em sua maioria, ácidos carboxílicos, cetonas e aldeídos. O maior número de compostos voláteis identificados foi com a fibra PDMS/DVB, nas seguintes condições de extração temperatura de 48°C, tempo de 14 minutos e peso de 0,8 g. Com a fibra PA foram identificados 9 compostos sob as condições: temperatura de 75 °C, tempo de 20 minutos e peso da amostra de 1,25 g. O emprego da microextração em fase sólida foi eficiente para a identificação de compostos voláteis, destacando-se os: ácido butanoico, ácido exanóico ácido hexanóico, 2-heptanona, nonanona, ácido nonanoico e ácido n-decanóico, como os responsáveis pelo perfil volátil da manteiga Ghee.

Palavras chave: planejamento fatorial; compostos voláteis; SPME; manteiga ghee.

## ABSTRACT

The volatile organic compounds (VOCs) of Ghee butter were isolated by different SPME fibers. The method used for the extraction was the solid phase microextraction in headspace mode (SPME-HS), being identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-MS). In this context, the objective of the present study was to evaluate the efficiency of the polyacrylate (PA) and polydimethylsiloxisane / divinylbenzene (PDMS / DVB) fibers in different extraction conditions (extraction time, extraction temperature and sample weight) for the extraction of compounds volatile Ghee butter. The fibers analyzed were polyacrylate (PA) and polydimethylsiloxisane / divinylbenzene (PDMS / DVB), the latter extracting the largest number of VOCs, which were mostly carboxylic acids, ketones and aldehydes. The largest number of volatile compounds identified was with the PDMS / DVB fiber, in the following extraction conditions: temperature of 48 ° C, time of 14 minutes and weight of 0.8 g. With the PA fiber, 9 compounds were identified under the conditions: temperature of 75 °C, time of 20 minutes and weight of the sample of 1.25 g. The use of solid phase microextraction was efficient for the identification of volatile compounds, especially: Butanoic acid, Hexanoic acid, 2 - Heptanone, NONANONE, Nonanoic acid and n – Decanoic acid, as responsible for the volatile profile of Ghee butter.

Keywords: factorial design; volatile compounds; SPME; ghee butter.

## 5.1 Introdução

A manteiga Ghee ou ainda manteiga clarificada, como também é conhecida, é um produto lácteo bastante antigo. Sua produção se dá a partir do aquecimento do leite, creme ou manteiga a 100 °C, visando evaporação de água e a precipitação de sólidos desnatados. É um alimento muito consumido e com ampla produção em países como a Índia, o Sudão, a Etiópia, além do Oriente Médio e continente Americano, devido a globalização e ainda como substituto a margarina, que possui elevado teor de ácidos graxos *E* (gordura *trans*) (SERNA *et al.*, 2020).

Ainda segundo o autor, trata-se de um produto lipofílico que apresenta 99-99,5% de lipídios, desses 46-47,8% é gordura saturada, 36% monoinsaturada e 18% poli-insaturada. É ainda considerado um alimento com boas fontes de vitaminas, como a A e E, tendo apresentado benefícios à saúde como ser anticancerígeno, antiaterogênico, antidiabético, antimutagênico, anti-hipertensivo.

Ácidos graxos saturados estão disponíveis em, aproximadamente, 60% do total de ácidos graxos do leite. Os ácidos graxos de cadeia curta como o butírico (C4: 0), capríco (C6: 0), caprílico (C8: 0) e cáprico (C10: 0) são encontrados na gordura do leite dos animais ruminantes (3 a 10%). Com relação aos ácidos graxos saturados, esses perfazem, cerca de 40%, dentre eles o ácido palmítico (C12: 0) e o esteárico (18:00) (LOURENÇO *et al.*, 2014).

Assim, visando garantir a qualidade de produtos como manteiga Ghee, é de grande relevância realizar análises compostos voláteis, sendo a cromatografia gasosa (CG) a técnica mais utilizada e descrita na literatura para tais análises. Segundo Goulart, 2012, o método possui elevado poder de resolução que possibilita que com uma única amostra, diversas substâncias sejam analisadas.

Nos produtos alimentícios, existe uma diversidade de compostos responsáveis pelo seu aroma e pelo seu sabor, esses apresentam diferentes estruturas químicas que são derivadas dos principais constituintes dos alimentos, assim, suas características específicas são eficazes para estimular os receptores dos reflexos de gosto e de odor, produzindo uma resposta sincronizada e integrada, conhecida por sabor ou ainda por flavour (QUEIROGA *et al.*, 2005). Nos alimentos o aroma é composto por complexa mistura de dezenas ou até mesmo centenas de compostos voláteis (BIANNCHIN, 2015).

Existem diversas técnicas de extração de voláteis, como a extração em fase sólida (SPE), que consiste em separação de líquido-sólido, uma outra técnica conhecida é a extração sortiva em barra magnética, utilizada em amostras aquosas livre de solvente. Dentre outras técnicas existentes, a microextração em fase sólida (SPME), vem sendo amplamente utilizada e consiste na partição do analito entre a amostra e um microcomponente extrator, consistindo em uma fase polimérica que pode ser líquida ou sólida que envolve uma fibra, sendo essa de sílica fundida, dentre suas vantagens, estão o fato de a técnica não necessitar de instrumentos analíticos sofisticados, além de não utilizar solventes orgânicos e permitir a reutilização das fibras extratoras utilizadas (BIANNCHIN, 2015).

Para o método de SPME, as fibras disponíveis no mercado são, a polidimetilsiloxisano (PDMS), a polidimetilsiloxisano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), a poliacrilato (PA), a carboxen/polidimetilsiloxisano (CAR/PDMS), a carbowax/divinilbenzeno (CW/DVB), a resina carbowax e a divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxisano (DVB/CAR/PDMS) (Batista, 2010).

Esse método de extração vem sendo amplamente aplicado, obtendo êxito na análise de diferentes produtos, como: bebidas/ sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas, leite, hortaliça e frutas, o que demonstra ser uma ferramenta de análise útil para caracterizar aromas e detectar possíveis contaminantes ambientais e microbiológicos, além de substâncias indesejáveis geradas (CANUTO *et al.*, 2011). Ramos, 2020 em sua análise com grumixama identificou 19 COV's, já Garcia *et al*, 2021a identificou 48 compostos voláteis de frutos de cambuizeiro.

## 5.2 Objetivo

Avaliar a eficiência de diferentes fibras de SPME para a extração de compostos voláteis da manteiga Ghee, além de determinar as mais satisfatórias condições de extração para definir o perfil volátil característico da manteiga Ghee, utilizando os parâmetros: tempo, temperatura e peso da amostra.

## 5.3 Métodos

### 5.3.1 Preparo das Amostras

As manteigas foram doadas por cinco fabricantes nacionais previamente contactados. As doações ocorreram entre os meses de março e julho de 2019 com validade até o final de 2020.

Todas tinham as mesmas características de cor clara e de serem sólidas a temperatura ambiente. No que diz respeito a procedência, eram dos estados de Santa Catarina, São Paulo e Minas Gerais. Cada empresa doou um pote de 150 a 200g do produto que permaneceram armazenados em um freezer a- 18°C até o momento do uso.

### 5.3.2 Extração dos compostos voláteis

As amostras congeladas ficaram armazenadas no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Para a extração dos compostos voláteis foi utilizada a fibra polar de poliacrilato (PA) (85 µm) e a fibra semipolar de PDMS/DVB - Polidimetilsiloxano / Divinilbenzeno (65 µm), através do método de microextração em fase sólida no modo *headspace* (SPME-HS), ao todo foram realizados 19 ensaios com cada uma das amostras.

### 5.3.3 Planejamento experimental

Utilizou-se o delineamento composto central (DCC), constituído de um sistema fatorial  $2^3$  (três fatores em dois níveis), com 5 pontos centrais e 6 pontos axiais, totalizando 19 ensaios. As variáveis independentes foram: tempo de extração, temperatura de adsorção e peso da amostra, conforme apresentados na Tabela 1. As análises estadísticas foram realizadas empregando o software Statisticv.10 (Stat-Soft Inc., Tulsa, USA).

**Tabela 3.1** – Planejamento fatorial ( $2^3$ ) com triplicata do ponto central.

Variáveis	Níveis de variação		
	-1	0	+1
Tempo de extração (min)	10	20	30
Temperatura de adsorção (°C)	30	75	120
Peso da amostra (g)	0,5	1,25	2,0

### 5.3.4 Condições de Análises

As análises foram realizadas por um GC (Trace GC Ultra) acoplado a um detector de MS (Polaris Q) da Thermo Scientific, com analisador do tipo “*ion-trap*”, com injetor *split/ splitless*, no modo *splitless*, instalado no Laboratório de Espectrometria de Massas do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

Como gás de arraste foi utilizado o gás hélio em fluxo constante de  $1\text{ mL min}^{-1}$ . As condições de análise cromatográfica foram: temperatura do injetor  $250^\circ\text{C}$ , tempo de dessorção 5 min temperatura da fonte de íons  $200^\circ\text{C}$ , temperatura da interface  $275^\circ\text{C}$ .

Uma coluna capilar HP-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) (30 m de comprimento, 0,25 mm de d.i e  $0,25\ \mu\text{m}$  de espessura de filme) foi usada (Agilent Technologies INC, Alemanha). O aquecimento da coluna foi programado a partir de  $40^\circ\text{C}$ , permanecendo por 5 minutos, aquecimento de  $2,5^\circ\text{C min}^{-1}$  a  $125^\circ\text{C}$  e depois de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  a  $245^\circ\text{C}$ , temperatura à qual a isoterma foi mantida por 3 min (YESENIA *et al.*, 2021).

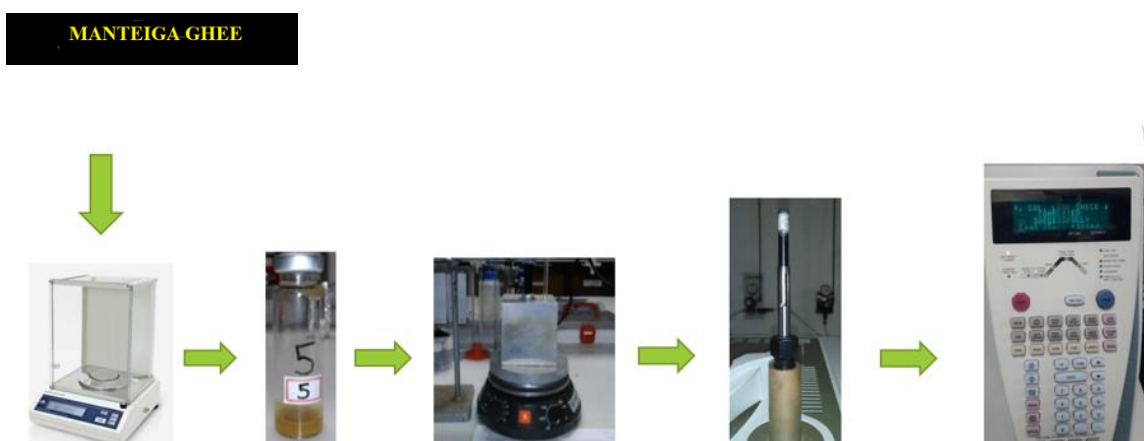
### 5.3.5 Extração dos COV's

Para a extração dos COV's foi utilizado o HS-SMPE, sendo utilizado amostras de 0,5 a 2,0 g de manteiga Ghee. As amostras foram pesadas e colocadas em frascos de *headspace* com capacidade de 20 mL lacrados com lacre de alumínio e septo de borracha (SILVA *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2020).

Os frascos de *headspace* foram submetidos a diferentes tempos de extração, que variaram de 10, 14, 20, 25 e 30 min, além de diferentes temperaturas de extração 30,

48, 75, 101 e 120 °C e diferentes gramaturas 0,5g, 0,8g, 1,25g, 1,69g e 2g. Estas variáveis foram utilizadas visando determinar ótimas condições para se atingir o equilíbrio de partição dos analitos entre a amostra e a fibra no modo *headspace*, as quais provocam maior recuperação dos COVs após a análise cromatográfica.

Após os frascos serem submetidos às diferentes condições, a fibra SPME foi introduzida no modo *headspace* para absorção dos analitos e posteriormente exposta à fase gasosa. Passado o tempo de extração, foi inserido no injetor do cromatógrafo a 250°C, por 5 min para a dessorção dos COVs extraídos (SILVA *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2020).



**Figura 3.1.** Processo de extração dos COV's.

### 5.3.6 Identificação dos COV's

Os picos presentes nos cromatogramas foram selecionados de acordo com aqueles que apresentaram uma relação de sinal-ruído (S/N) superior a 50, bem como em comparação com os dados obtidos através da biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST) considerando um nível de similaridade (índice de força relativa, RSI) superior a 500 (SILVA *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2020).

Os COVs foram identificados pela razão massa-carga ( $m/z$ ) correspondente a cada pico gerado pelo cromatograma de íons totais de cada uma das amostras analisadas, ademais, foram comparados com os espectros de massa obtidos por ionização por impacto de elétrons (EI), que usa energia de 70 eV, com a faixa de varredura completa de 50 a 350  $m/z$ ) (SILVA *et al.*, 2021; GARCIA *et al.*, 2020).

No intuito de confirmar os COVs encontrados, foi realizada uma comparação dos compostos obtidos com os já relatados na literatura.

Os valores da relação S/N, bem como a intensidade dos picos obtidos, foram retirados do programa Xcalibur 1.4 (Thermo Scientific) e então transferidos para o Microsoft Office Excel 2013, nesse programa os picos foram selecionados de acordo com a relação S/N (Garcia *et al.*, 2020).

## **5.4 Resultados**

### **5.4.1 Otimização das condições de extração das fibras por HS-SPME**

Os COVs identificados no presente estudo foram extraídos em diferentes tempos de extração, em diferentes temperaturas de extração e em diferentes gramaturas, conforme representado na Tabela 3.1, referente ao planejamento fatorial que foi utilizado. Os compostos foram identificados e separados por meio do equipamento GC-MS.

Os resultados obtidos para o planejamento fatorial  $2^3$  com triplicata do ponto central estão representados na Tabela 3.2, nela consta o número dos COV's extraídos para cada uma das fibras estudadas e para cada ensaio realizado. O número de compostos extraídos, de acordo com as condições propostas pelo delineamento experimental, variou entre 9 e 10 COVs.

**Tabela 3.2** Número de COVs extraídos por diferentes fibras de SPME em amostra aleatória de Manteiga Ghee.

Ensaio	Variáveis			Respostas	
	A / min	B / °C	C / g	PA	DVB/PDMS
1	14	48	0,8	6	14
2	14	48	1,7	6	8
3	14	102	0,8	8	10
4	14	102	1,75	8	10
5	26	48	0,8	6	10
6	26	48	1,7	6	11
7	26	102	0,8	8	10
8	26	102	1,7	8	9
9	20	75	0,5	8	11
10	20	75	2	8	11
11	20	30	1,2	6	9
12	20	120	1,2	8	10
13	10	75	1,2	8	8
14	30	75	1,2	9	8
15	20	75	1,2	9	10
16	20	75	1,2	9	10
17	20	75	1,2	9	9
18	20	75	1,2	9	9
19	20	75	1,2	8	9

A: tempo de extração; B: temperatura de extração; C: massa da amostra; PA: poliacrilato; PDMS/DVB: polidimetilsiloxano/divinilbenzeno.

As melhores condições obtidas para a eficiência de cada uma das fibras de SPME foram baseadas na quantidade máxima de compostos voláteis isolados de acordo com cada uma das condições analisadas na Tabela 3.2, assim, de acordo com o maior número de compostos voláteis extraídos de cada fibra, as condições obtidas são apresentadas na Tabela 3.3. Observou-se que as duas fibras avaliadas (PDMS/DVB e PA) apresentaram condições de extração distintas.

**Tabela 3.3** Condições experimentais e melhores respostas obtidas para a extração dos compostos orgânicos voláteis da manteiga Ghee por HS-SPME e GC-MS.

Fibras de SPME	Resposta		
	Tempo de extração t (min)	Temperatura de extração T (°C)	Massa (g)
DVB/PDMS	14	48	0,8
PA	30	75	1,2

Conforme número de compostos extraídos e as condições experimentais estudadas, a fibra divinilbenzeno/polidimetilsiloxisano (DVB/PDMS), apresentou melhor eficácia na extração de COVs, já que foi capaz de extrair um número maior de compostos nas seguintes condições: tempo de extração (14,0 min), temperatura de extração (48°C), peso da amostra (0,8 g).

#### **5.4.2 COV's da manteiga Ghee**

No presente estudo, 13 diferentes COVs estavam presentes na manteiga Ghee, destes, estavam presentes em ambas as fibras: ácido butanóico, 2 – heptanona, ácido hexanóico, 2-nonanona, ácido nonanóico e ácido n-decanóico.

Os compostos extraídos foram classificados em como: cetonas, ácidos carboxílicos, ácidos dicarboxílicos, aldeídos e anidridos. Para a extração desses compostos, foi utilizado o HS-SPME, além de fibras SPME com polaridades diferentes.

#### **5.4.3 Eficiência das fibras SPME**

Um total de 9 compostos foram identificados com a fibra PA e 10 com a fibra PDMS/DVB, conforme mostrado na Tabela 3.4.

**Tabela 3.4** COVs extraídos de Manteiga Ghee aleatória usando as fibras poliacrilato (PA) divinilbenzeno/polidimetilsiloxisano (DVB/PDMS) e, por HS-SPME/GC-MS.

N	Compostos			Fibras	
	Orgânicos Voláteis	Fórmula	CAS	PA	PDMS/DVB
1	Ácido butanóico	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	107-92-6	6	20
2	2 - Heptanona	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	110-43-0	9	3
3	Ácido hexanóico	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	142-62-1	12	4
4	2 Nonanonas	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	821-55-6	14	9
5	Ácido octanóico	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	502-47-6	8	0
6	Ácido nonanóico	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	112-05-0	11	19
7	2 - Undecanona	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O	112-12-9	15	0
8	n Ácido decanóico	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	334-48-5	16	8
9	2 – Ácido decanóico	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	334-48-5	9	0
10	2 – Ácido octanóico	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	1470-50-4	0	7
11	Undecanona	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O	112-12-9	0	15
12	2 - Ácido dodecenóico	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	4412-16-2	0	8
13	Ácido dodecenóico	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	143-07-7	0	7

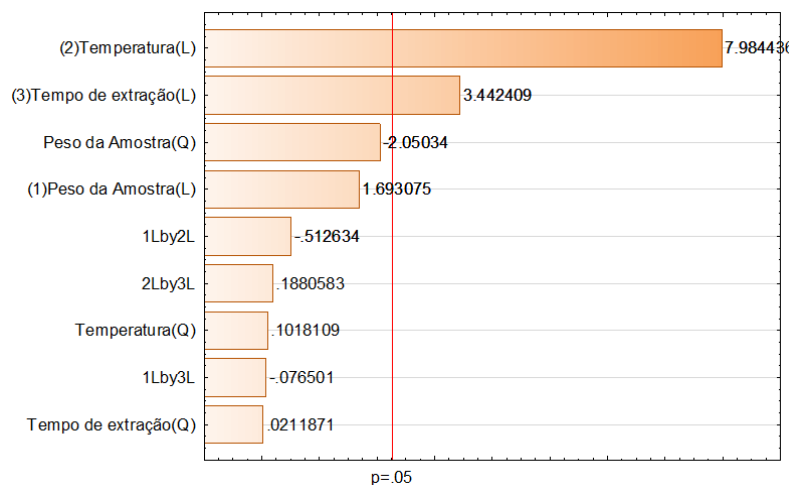
Dentre as fibras SPME avaliadas, a fibra semipolar PDMS/DVB apresentou melhores resultados quando comparada a fibra polar PA, visto que apresentou a maior parte dos COVs das manteigas Ghee analisadas.

#### 5.4.4 Avaliação da eficiência de extração de fibras de SPME

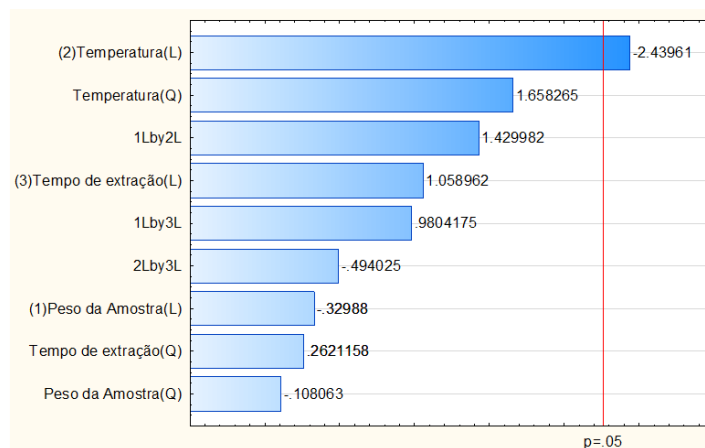
Com o intuito de se determinar a influência dos parâmetros analisados, Gráficos de Pareto, Figura 3.2, com limite de confiança de 95% foram gerados.

**Figura 3.2** Gráfico de Pareto referente as Fibra PA (a) e DVB/PDMS (b) em relação a área parcial dos cromatogramas analisados da Manteiga Ghee.

a) Fibra PA:



b) Fibra PDMS/DVB:



É possível observar que as variáveis tempo e temperatura exerceram efeito positivo para a extração dos COV's com a fibra PA. O aumento dessas variáveis demonstrou maior extração e então identificação de mais compostos.

Com relação a fibra PDMS/DVB, apenas a variável temperatura mostrou efeito significativo para a extração e identificação dos COV's.

A Figura 3.3 representa o gráfico de Superfície de Resposta, nele é possível verificar os efeitos das variáveis significativas para as fibras estudadas. Na Figura 3.3 (a) pode-se notar que quanto maior a temperatura de extração, ( $T > 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), maior foi o

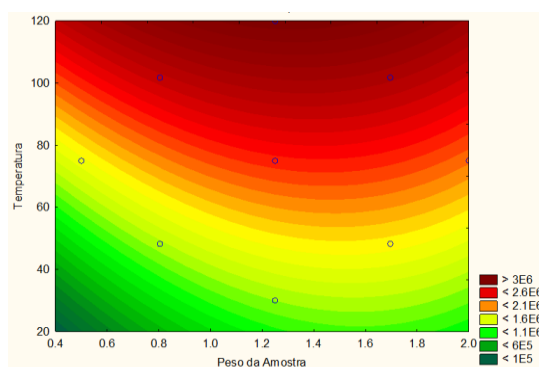
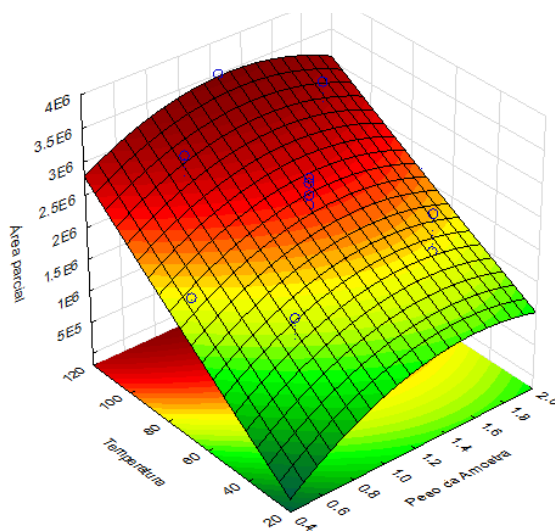
número de compostos identificados. Desta maneira, as melhores variáveis para a extração de COV's para a fibra PA foram: temperatura de 75 °C, massa da amostra de 1,25 g e tempo mínimo de extração de 20 minutos.

Com relação a fibra PDMS/DVB, conforme figura 2 (b), pode-se verificar que a temperatura de 40 °C já foi possível a identificação de um elevado número de compostos voláteis. Suas melhores variáveis foram: temperatura de 48,2 °C, peso da amostra de 0,8 g e tempo mínimo de extração de 14 minutos.

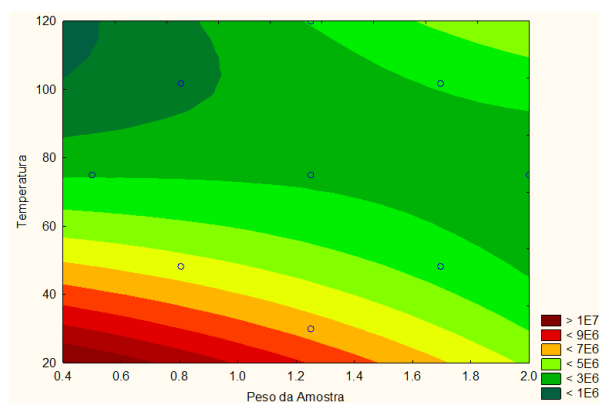
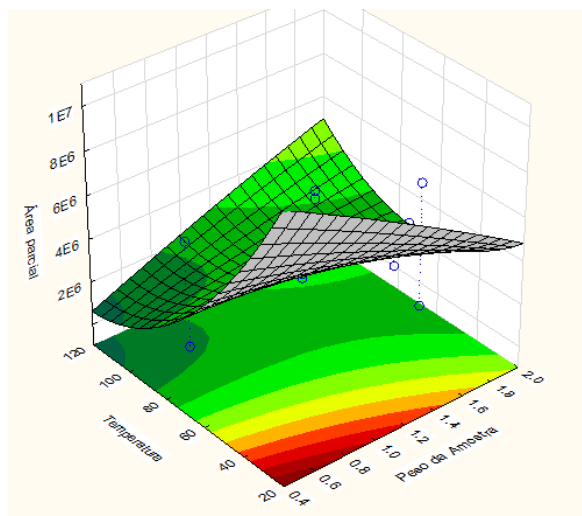
Assim, a principal condição para a extração de maior número de COV's na manteiga ghee, em ambas as fibras, foi a temperatura.

**Figura 3.3** Gráficos de Superfície de resposta para as fibras PA (a e c) e DVB /PDMS (b e d).

a) Fibra PA:



b) Fibra DVB/PDMS:



Com relação a variável massa da amostra (g), essa não apresentou influência na extração dos compostos voláteis, assim, essa variável não teve efeito estatisticamente significativo para a extração dos Compostos Voláteis segundo o gráfico de Pareto.

## 5.5 Discussão

Alguns parâmetros são de extrema importância para o uso de SPME, dentre os principais pode-se destacar: a escolha do revestimento da fibra; temperatura e tempo de extração; pH; força iônica do meio; velocidade de agitação, além do tempo e da temperatura de dessorção (TANELLO, 2011).

De acordo com a otimização das condições de extração, a massa da amostra não exerceu influência sob a capacidade de extração da fibra.

Foi perceptível que com a elevação da temperatura de extração, houve melhora na sensibilidade quando comparada aos compostos com maior peso molecular e ainda pode dificultar a extração dos compostos de baixo peso molecular (SILVA et al., 2021; GARCIA et al., 2020).

A temperatura utilizada no momento da extração irá intervir na solubilidade dos anólitos e conseqüentemente, no processo de partição entre as duas fases. Majoritariamente, um aumento na temperatura da extração leva a um aumento na velocidade que ocorrerá a extração e diminuição na constante de distribuição, diminuindo assim o tempo necessário para que o equilíbrio de extração seja alcançado (TANELLO, 2011).

O tempo de extração é fundamental na técnica de SPME, pois esta técnica é baseada no equilíbrio do processo de distribuição, e a máxima quantidade de analito deverá ser extraída quando o tempo de equilíbrio for estabelecido (HERNANDO, 2002).

Lourenço, et al., 2014, em seu estudo com análise de Queijo Marajó identificou os ácidos graxos: cáprico, láurico, mirístico, pentadecanoico, palmítico, esteárico e ácido oleico. Esses ésteres metílicos também foram identificados no estudo de Escudero (1979) e ainda de acordo com o autor, Bonassi e Kuzdal (1982) encontraram metilcetonas em queijos do tipo Camembert por análise de cromatografia em fase gasosa corroborando com o encontrado no presente estudo. A gordura é a substância principal no que diz respeito as reações bioquímicas que levam aos aromas e sabores de queijo (LOURENÇO, et al., 2014).

Em estudo que realizou a análise de compostos voláteis na manteiga de garrafa artesanal por cromatógrafo a gás, os compostos voláteis ácido caprílico e ácido capróico foram identificados, assim como no estudo em questão para ambas as fibras PDMS/DVB e PA (MACHADO, et al., 2009).

## 5.6 Conclusão

Através do presente estudo, pode-se verificar que o uso das técnicas de HS-SPME e GC-MS são eficientes para a extração de compostos voláteis em manteiga Ghee, visto que juntas as fibras DVB/PDMS e PA permitiram extrair, ao todo, 13 compostos voláteis, dentre esses, 6 comuns entre si.

Os principais constituintes da manteiga Ghee foram os compostos pertencentes às classes dos ácidos carboxílicos, das cetonas e dos aldeídos.

A temperatura foi a variável que exerceu influência estatística significativa para ambas as fibras, (PA) e (DVB /PDMS). Porém para a fibra PA, o tempo também exerceu influência estatística significativa na extração dos compostos voláteis.

A fibra, divinilbenzeno/polidimetilsiloxisano) foi a mais eficaz na extração dos Compostos Voláteis sob temperatura de 48,2 °C, tempo de 14,0 min e peso de 0,8 g, sendo possível encontrar 14 compostos nessas condições.

## 5.7 Referências

BATISTA, A. D. Fibras para SPME (microextração em fase sólida) recobertas com sílicas modificadas por grupos vinila. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química Analítica da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.

BELO, R. F. C., *et al.* Characterization and classification of pequi trees (*Caryocar brasiliense* Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and multivariate analysis. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, supl.1, p. 116-124, feb. 2013. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500018>.

BIANNCHIN, J. N. Otimização de novas metodologias para extração de compostos voláteis de matrizes alimentícias e contaminantes ambientais por microextração em fase sólida e cromatografia a gás. 2015. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. S.; MAGALÃES, H. C. R. Microextração em Fase Sólida: Método Analítico Prático para Extração de Compostos Voláteis de Frutas. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2011.

GARCÍA, Y., M. *et al.* Spme fiber evaluation for volatile organic compounds extraction from acerola. **Rev. Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 1, fev, 2020.

GOULART, D. S. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

HERNANDO, A. M. P. Aplicación de la microextracción em fase sólida al análisis medioambiental. 2002. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universitat Rovira Virgili, Tarragona, 2002.

LOURENÇO, L. F. H. Análise dos compostos voláteis e ácidos graxos que identificam o queijo marajó produzido na amazônia brasileira. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis – SC. Outubro, 2014.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Análise da estabilidade e da composição em ácidos graxos em manteiga de garrafa produzida artesanalmente. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.). v. 68, n.2, 2009.

QUEIROGA, R. de C. R. E.; MADRUGAa, M. S.; GALVÃO, M. S.; COSTA, R.G. Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. **Rev Inst Adolfo Lutz**, Ed. 64(1), p. 97-103. 2005.

SERNA, C. P., *et al.* Caracterização química, físico-química, microbiológica e sensorial de ghee de vaca e búfalo. **Rev Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 40, jun 2020.

STATSOFT, Inc.; Statistica, version 10.0; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA, 2010.

TANELLO, A. C. Perfil de compostos voláteis e propriedades físicas e químicas de iogurte probiótico mantido sob refrigeração. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2011.

YESENIA, M. C., *et al.* Optimization of extraction and identification of volatile compounds from *Myrciaria floribunda*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, n. 3, 2021.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## Considerações finais

O interesse de grande parcela da população por uma alimentação balanceada, hábitos de vida mais saudáveis e qualidade de vida está, a cada dia, mais evidente.

Considerando que a Manteiga Ghee é um produto com potencial crescimento de mercado, tanto nacional quanto internacional, o estudo do seu perfil químico e de seus compostos voláteis torna-se bastante relevante.

O *paper-spray* é uma técnica que utiliza uma alta voltagem que é aplicada em pedaço de papel acoplado a plataforma, juntamente com a amostra e o solvente a ser utilizado. Tal técnica destaca-se por ser rápida, simples e ainda por fornecer resultados satisfatórios, ainda que em matrizes complexas (Ramos, 2021). O emprego da técnica de espectrometria de massas por ionização ambiente em *paper spray* (PS-MS) se mostrou bastante eficaz na caracterização da Manteiga Ghee no presente trabalho. Por meio desta que utiliza o finger print do *paper spray*, foi possível identificar um vasto conteúdo de ácidos graxos saturados e insaturados, mostrando fatores benéficos destes compostos para a saúde humana, corroborando com dados da literatura.

Ademais, o estudo em questão realizou a análise do perfil de compostos voláteis da Manteiga Ghee, utilizando técnica com microextração em fase sólida - SPME, tal técnica não induz modificações durante a extração dos compostos (YESENIA, 2021). A extração e a identificação dos compostos, foram realizadas com as fibras polar e semi-polar, poliacrilato (PA) e polidimetilsiloxisano/divinilbenzeno (PDMS/DVB), respectivamente. Esta, mostrou-se uma técnica bastante eficiente, visto que foi possível a identificação de compostos das classes dos ácidos carboxílicos, das cetonas e dos aldeídos, que se mostraram potenciais coadjuvantes à saúde.

## **REFERÊNCIAS**

## REFERÊNCIAS

## Referências

AHMADI, E. *et al.* Relationship Between the Consumption of Milk-Based Oils Including Butter and Kermanshah Ghee with Metabolic Syndrome: Ravansar Non-Communicable Disease Cohort Study. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**. v. 13, p. 1519-1530, 2020.

BARRIONUEVO, W, R. Solid-phase extraction (SPE) and solid-phase microextraction of pyrethroids in water. **Quim. Nova**, v. 2, 2001.

BATISTA, A. D. Fibras para SPME (microextração em fase sólida) recobertas com sílicas modificadas por grupos vinila. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química Analítica da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2010.

BELO, R. F. C., *et al.* Characterization and classification of pequi trees (*Caryocar brasiliense* Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and multivariate analysis. **Food Science and Technology**, Campinas, v.33, supl.1, p. 116-124, feb. 2013. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500018>.

BIANNCHIN, J. N. Otimização de novas metodologias para extração de compostos voláteis de matrizes alimentícias e contaminantes ambientais por microextração em fase sólida e cromatografia a gás. 2015. Tese (Doutorado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

BOTELHO, K. H. M. Espectrometria de massas com ionização por paper spray e métodos quimiométricos aplicados à identificação de adulterações em açúcar e óleo de coco. Tese (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2018.

BRASIL Leis. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da manteiga.

BRASIL Leis. Instrução Normativa nº 30 de junho de 2001. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento.

## REFERÊNCIAS

CALVANO, C. D. *et al.* Glycosphingolipidomics of donkey milk by hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization and multistage mass spectrometry. Dipartimento di Chimica and Centro Interdipartimentale SMART, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, via Orabona Italy. 2018.

CANUTO, K. M.; GARRUTI, D. S.; MAGALÃES, H. C. R. Microextração em Fase Sólida: Método Analítico Prático para Extração de Compostos Voláteis de Frutas. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2011.

CARVALHO, T. C. Espectrometria de massas por Paper Spray Ionization: técnica analítica versátil para os desafios da Química forense. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás. Goiânia – GO, 2018.

CORREIA, V. T. V. *et al.* Perfil químico da farinha extrusada de sorgo do genótipo BRS 305 por *paper spray*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, jan. 2021.

DAUBER, R. A. **Óleo de Coco: Uma revisão sistemática**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Curso de Nutrição. Porto Alegre – RS, 2015.

DENG, J., & YANG, Y. Chemical fingerprint analysis for quality assessment and control of Bansha herbal tea using paper spray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 785, p. 82–90. 2013.

DEREWIAKA, D. *et al.* Determination of the adulteration of butter. **Eur. J. Lipid Sci. Technol**, v. 113, p. 1005–1011. 2011.

FERNANDES, L. S. F. Produto elaborado com manteiga e azeite de oliva. 2013. Tese (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina. 2013.

FREITAS, L. *et al.* Monoglicerídeos: produção por via enzimática e algumas aplicações. **Rev. Química Nova**. 2008.

FREITAS, A. G. M. Espectroscopia associada a quimiometria como ferramenta de avaliação da presença de resíduos de tilosina em leite. Tese (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Bahia, 2019.

## REFERÊNCIAS

FUJIWARA, C. H. *et al*, 2018. Disponível em: <<https://saude.abril.com.br/alimentacao/manteiga-ghee-vale-apostar/>>. Acesso em 13 de junho de 2019.

GARCÍA, Y., M. *et al*. Spme fiber evaluation for volatile organic compounds extraction from acerola. **Rev. Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 1, fev, 2020.

GARCÍA, Y., M. Caracterização de diferentes acessos de *Myrciaria floribunda* (H. West ex Willd.) O. Berg pelo perfil cromatográfico de voláteis. Tese (Doutorado em Agronomia). Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal pela Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo – AL, 2021a.

GARCÍA, Y., M. *et al*. Extração e análise de compostos orgânicos voláteis por SPME-HS e GC-MS – um breve referencial teórico. **Ciências Agrárias o avanço da ciência no Brasil**. V. 1. 2021b.

GARRETT, R. *et al*. Coffee origin discrimination by paper spray mass spectrometry and direct coffee spray analysis. **Analytical Methods**. 2013.

GRACIANO, M. F. R. Mecanismos de ação do palmitato como modulador na NADPH oxidase em ilhotas pancreáticas e linhagem INS-1E. Tese (Mestrado em Ciências Biomédica). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Biofísica da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

GOULART, D. S. Aplicações das técnicas de cromatografia no diagnóstico toxicológico. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

GUIMARÃES, A. K. R. C. *et al*. Obesidade na gestante adolescente: uma revisão bibliográfica **Electronic Journal Collection Health**. V. 18, 2018.

GUEDES, K. A. S. Produção de manteiga (quase) artesanal: o uso de aparatos tecnológicos e de conhecimento da ciências. Brasília – DF, 2019.

HERNANDO, A. M. P. Aplicación de la microextracción em fase sólida al análisis medioambiental. 2002. Tese (Doutorado em Química Analítica). Universitat Rovira Virgili, Tarragona, 2002.

HUNTER, J. E. *et al*. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 91, p. 46 – 63, 2010.

## REFERÊNCIAS

LAURINDO, J. Teor de natamicina, caracterização físico-química, perfil de ácidos graxos e índices de qualidade lipídica em queijo azul e tipo gorgonzola. Tecnologia de alimentos. Universidade tecnológica federal do Paraná. 2017.

LINHARES, M. O. C. R. Detecção de fraudes em queijo de manteiga e em manteiga de garrafa do rio grande do Norte. Tese (Doutorado em Ciência Animal). Programa de Pós-graduação em ciência animal da Universidade Federal Rural do semi-árido. Mossoró – RN, 2020,

LOURENÇO, L. F. H. Análise dos compostos voláteis e ácidos graxos que identificam o queijo marajó produzido na amazônia brasileira. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. Florianópolis – SC. Outubro, 2014.

LUANA, M. Cromatografia gasosa acoplada à Espectrometria de massas Princípios e Aplicações. 2018. Disponível em: <<https://slideplayer.com.br/slide/13635061/>>.

MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Análise da estabilidade e da composição em ácidos graxos em manteiga de garrafa produzida artesanalmente. **Rev. Inst. Adolfo Lutz** (Impr.). v. 68, n.2, 2009.

MACIEL, L. I.L. *et al.* Determination of designer drugs in saliva by paper spray mass spectrometry. **Química Nova**, v. 42, n. 6, ago. 2019.

MAIZA, A. Butther oil (ghee) enrichment with aromatic plants: Chemical characterization and affects on fibroblast migration in an *in-vitro* wound healing model. **Arabian Journal os Chemistry**. 2020.

MANCO, M. C. *et al.* Cromatografia à gás: Determinação de ácidos graxos. Tese (Mestrado em Nutrição e Produção Animal). Curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de São Paulo, 1999.

MARIANO, A. P. X. *et al.* Analysis of the chemical profile of cerrado pear fixed compounds by mass spectrometry with paper spray and volatile ionization by SPME-HS CG-MS. **Research, Society and Development**, v. 9, 2020.

MAZZOTTI, F., *et al.* Evaluation of dialdehydic anti-inflammatory active principles in extra-virgin olive oil by reactive paper spray mass spectrometry. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 87–91, dez. 2012.

## REFERÊNCIAS

MINIGHIN, E. C., *et al.* Açaí (*Euterpe oleracea*) e suas contribuições para alcance da ingestão diária aceitável de ácidos graxos essenciais. **Research, Society and Development**, v. 9. 2020.

MOLOGNONI, L. Desenvolvimento de metodologias para análise Simultânea de ácido sórbico, natamicina, nisina e Tilosina em produtos lácteos por cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Departamento de ciência e tecnologia de Alimentos da Universidade federal de Santa Catarina . Santa Catarina, 2015.

MOURÃO, D. M., *et al.* Conjugated linoleic acid and weight loss. **Rev. Nutr**, v. 18. 2005.

NASA, J. L., *et al.* A novel HPLC-ESI-Q-ToF approach for the determination of fatty acids and acylglycerols in food samples, **Analytica Chimica Acta**. 2018.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. H. *et al.* Perfil químico de amêndoas de cacau por espectrometria de massas com ionização por *paper spray*. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, 2020.

PAULA, C. C. A. Aplicação da espectrometria de massas com ionização *paper spray* em análises de cunho fosense e no monitoramento e aceleração de reações químicas. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte - MG, 2018.

PERES, D. S. Butter oil com adição de extratos vegetais de orégano (*origanum vulgare* L.) e manjerição (*ocimum basilium* L.). Tese (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Programa de pós-graduação em tecnologia de alimentos do Instituto federal de educação, ciência e tecnologia goiano. Rio Verde - GO, 2019.

PIGNATA, C. *et al.* Estudo Comparativo da Composição Química, ácidos graxos e colesterol de leites de búfala e vaca. **Revista Caatinga**, v. 27, p. 226 -233, 2014.

PORTNOI, P. A. *et al.* The lactose and galactose content of milk fats and suitability for galactosaemia. **Mol Genet Metab**. 2015.

QUEIROGA, R. de C. R. E.; MADRUGA, M. S.; GALVÃO, M. S.; COSTA, R.G. Otimização das condições de extração de compostos voláteis em leite caprino

## REFERÊNCIAS

utilizando a técnica de extração e concentração simultânea. **Rev Inst Adolfo Lutz**, Ed. 64(1), p. 97-103. 2005.

RACT, J. Ghee e Vanaspati – O que a cultura oriental trás de bom. **Rev. Óleos e gorduras grãos e derivados**. Ano 4, Ed. 22, p. 56-70. 2018.

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Perfil químico da polpa de *Eugenia brasilienses* (Grumixama) por spray de papel PS / MS e microextração em fase sólida SPME-CG / MS. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**. v. 9, n. 7, pág. E318974008, 2020.

RAMOS, A. L. C. C. *et al.* Análise de Compostos Bioativos em Alimentos utilizando Espectrometria de Massas por paper spray – Uma breve revisão da literatura. **Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil**. v. 1, 2021.

SANTOS, R. D. *et al.* I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 100, 2013.

SANTOS, B. O. Perfil químico do pericarpo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) in natura e na forma de farinha e o efeito da digestibilidade in vitro na bioacessibilidade dos compostos fenólicos. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte - MG, 2021.

SILVA, N. R. F. Perfil de ácidos graxos de alimentos industrializados. Tese (Mestrado em Ciências e tecnologias agropecuárias). Centro de Ciências e tecnologias agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense. Rio de Janeiro, 2017.

SILVA, M. R. Determination of chemical profile of cagaita (*Eugenia dysenterica*) and its ice cream using paper spray ionization mass spectrometry and headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte - MG, 2019<sup>a</sup>.

SILVA, M. R. *et al.* Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2019.

## REFERÊNCIAS

SILVA, F. T. – **AGEITEC – Agência Embrapa de Informação e Tecnologia – EMBRAPA**, 1996. Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CON T000girl7f3902wx5ok05vadr1ty2i4zd.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CON T000girl7f3902wx5ok05vadr1ty2i4zd.html). Acesso em 13 de junho de 2019b.

SILVA, V. *et al.* Use of paper spray-mass spectrometry to determine the chemical profile of ripe banana peel flour and evaluation of its physicochemical and antioxidant properties. **Química Nova**, v. 43, p. 579-585, 2020.

SILVA, V. D. M. *et al.* Bioactive activities and chemical profile characterization using paper spray mass spectrometry of extracts of Lindl. leaves. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 34. 2020b.

SERNA, C. P., *et al.* Caracterização química, físico-química, microbiológica e sensorial de ghee de vaca e búfalo. **Rev Ciência e Tecnologia Alimentar**, v. 40, jun 2020.

SOIHET, J. Efeitos psicológicos e metabólicos da restrição alimentar no transtorno de compulsão alimentar. **Rev Nutrição Brasil**, v. 18, nº 1, 2019.

STATSOFT, Inc.; Statistica, version 10.0; StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA, 2010.

TANELLO, A. C. Perfil de compostos voláteis e propriedades físicas e químicas de iogurte probiótico mantido sob refrigeração. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2011.

TESCAROLLO, I. L. O potencial insulínico do óleo de baru. **Pesquisa, Produção e Difusão e Conhecimentos nas Ciências Farmacêuticas**. 2020.

VAZ, L. P. Caracterização físico-química e sensorial de manteiga da terra durante armazenamento controlado. Tese (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos). Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa – PB, 2015.

VENTURA, R. Mudanças no Perfil do Consumo no Brasil: Principais Tendências nos Próximos 20 anos. Macroplan: Prospectiva, Estratégia e Gestão. 2010.

KWAK, H. S. *et al.* A. Butter, Ghee, and Cream Products. Department of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul, Korea, 2013.

## REFERÊNCIAS

YESENIA, M. C., *et al.* Optimization of extraction and identification of volatile compounds from *Myrciaria floribunda*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 52, n. 3, 2021.