

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

Diego Magalhães Costa

***SANDPAPER SPRAY MASS SPECTROMETRY (SPS-MS): uma nova técnica
de ionização ambiente para análise de amostras sólidas***

Belo Horizonte

2024

UFMG/ICEX/DQ. 1.623
T. 740

DIEGO MAGALHÃES COSTA

SANDPAPER SPRAY MASS SPECTROMETRY (SPS-MS): uma nova técnica de ionização ambiente para análise de amostras sólidas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

Orientador: Prof. Dr. Rodinei Augusti

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

C837s
2024
T

Costa, Diego Magalhães.
Sandpaper spray mass spectrometry (SPS-MS) [manuscrito] : uma nova técnica de ionização ambiente para análise de amostras sólidas / Diego Magalhães Costa. 2024.
119 f. : il., gráfs., tabs.
Orientador: Rodinei Augusti.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.
Bibliografia: f. 102-109.
Apêndices: f. 110-119.

1. Química analítica – Teses. 2. Espectrometria de massa – Teses. 3. Ionização – Teses. 4. Preparação de amostra (Química) – Teses. 5. Medicamentos – Análise – Teses. 6. Alimentos – Análise – Teses. 7. Polímeros condutores – Teses. 8. Doces e balas – Sacarose – Teses. 9. Materiais abrasivos – Teses. I. Augusti, Rodinei, Orientador. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Sandpaper Spray Mass Spectrometry (SPS-MS): Uma Nova Técnica de Ionização Ambiente para Análise de Amostras Sólidas"

Diego Magalhães Costa

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Prof. Rodinei Augusti - Orientador
UFMG

Prof. Ildelfonso Binatti
CEFET-MG

Prof. Patterson Patrício de Souza
CEFET-MG

Profa. Leticia Malta Costa
UFMG

Profa. Adriana Nori de Macedo
UFMG

Belo Horizonte, 30 de agosto de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Patterson Patricio de Souza, Usuário Externo**, em 30/08/2024, às 17:06, 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 **Rodinei Augusti, Professor do Magistério Superior**, em 30/08/2024, às 17:06, 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 **Adriana Nori de Macedo, Professora do Magistério Superior**, em 30/08/2024, às 17:06, 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 **Leticia Malta Costa, Professora do Magistério Superior**, em 30/08/2024, às 17:08, 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 **Ildelfonso Binatti, Usuário Externo**, em 30/08/2024, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e aos meus guias espirituais em primeiro lugar que me permitiram chegar até aqui, sem os quais não seria possível.

Agradeço ao meu orientador, professor Dr. Rodinei Augusti, ao qual me faltam palavras para agradecer por todo o apoio, ajuda e disponibilidade que teve comigo durante esse período. Sem ele, eu não teria conseguido chegar nem na metade. Rodinei já era uma pessoa que eu admirava enquanto pessoa e profissional e agora admiro ainda mais. Gratidão por todo o ensinamento que me proporcionou nesse caminho. Sua ajuda, conhecimento e disponibilidade foram fundamentais para eu conseguir chegar até aqui. Minha eterna gratidão a você professor.

Aqueles que são minha base e sem os quais eu não chegaria até aqui: meus pais Carlos e Virgínia, pelo amor e apoio incondicionais, minha irmã Amanda, minha fonte de inspiração, por todas as conversas e tudo o que me ensinou nesse caminho (sem você também não conseguiria chegar até aqui) e que me deu o maior presente da minha vida a quem dedico essa tese, minha amada sobrinha e afilhada Laís.

À minha família, que sempre torceu por mim, em especial ao meu primo Vinícius, meu braço direito nessa caminhada, pelo apoio, carinho, torcida, companheirismo e ajuda que sempre teve comigo, ao meu primo Pablo, pela amizade e por toda ajuda e apoio em momentos críticos nessa caminhada que me ajudou demais, as minhas primas amadas Tâmara e Sâmara pela torcida e cumplicidade de sempre, ao meu primo Juninho pela amizade, ajuda e torcida de sempre, a minha madrinha e tia Cristina, por toda torcida e apoio, aos meus tios Júlio, Tadeu e Guilherme, ao meu grande cunhado Kauã pela sua amizade, companheirismo, ajuda e torcida de sempre e à minha querida e eterna Vó Beá (in memoriam) por tudo o que fez por mim.

Ao meu grupo de pesquisa, ao Departamento de Química da UFMG e aos discentes que cruzaram o meu caminho por todo o conhecimento compartilhado que contribuíram muito para o meu crescimento profissional, em especial à professora Mariana Ramos por ter contribuído em parte desse projeto e por seu jeito único e maravilhoso de ensinar.

Aos meus amigos desde os mais antigos, àqueles mais recentes, que sempre estiveram na torcida pelo meu sucesso (não vou citar nomes, pois posso esquecer de algum), em especial ao Jimmy e a Larissa que conheci durante o doutorado e me ajudaram tanto nessa trajetória. Aos profissionais da educação que conheci na jornada de trabalho, em

especial a Juliana Sari, uma profissional ímpar por ter me ajudado e incentivado a sempre continuar no caminho, mesmo com as dificuldades.

A todos vocês, o meu MUITO OBRIGADO e minha eterna GRATIDÃO por terem contribuído a mais essa grande conquista em minha vida.

A persistência é o caminho do êxito.
Charles Chaplin

RESUMO

As técnicas de ionização ambiente em espectrometria de massas têm despertado interesse significativo pelo seu imenso potencial de aplicação em várias áreas. Dentre estas, a técnica *Paper Spray Mass Spectrometry* (PS-MS) se destaca por sua simplicidade, custo-benefício e eficiência. No presente trabalho, propomos uma modificação na técnica PS-MS, introduzindo uma lixa como suporte em substituição ao papel. Esta metodologia inovadora, denominada *Sandpaper Spray Mass Spectrometry* (SPS-MS), tem o potencial de revolucionar a análise direta de diversas matrizes sólidas, incluindo medicamentos, raízes, sementes e grãos. A principal vantagem da técnica SPS-MS é a sua capacidade de contornar etapas adicionais de preparo de amostra, reduzindo assim o tempo de análise e minimizando distorções nos resultados. Inicialmente, comparou-se o desempenho da SPS-MS com as técnicas PS-MS e *Tissue Spray Mass Spectrometry* (TS-MS) utilizando grãos de café verde como amostras. A técnica TS-MS tem como princípio básico a análise direta do grão da amostra a ser analisado a partir de um corte em seu meio e o posicionamento em frente ao espectrômetro. Os espectros de massas obtidos pelas três abordagens foram muito semelhantes, indicando que a técnica SPS-MS pode ser utilizada para analisar amostras sólidas que podem ser lixadas. Na análise de medicamentos, os íons correspondentes aos princípios ativos e outros íons, provavelmente originados dos excipientes, puderam ser claramente visualizados. Para verificar a versatilidade e eficiência da técnica SPS-MS, foram realizadas análises dos medicamentos Viagra® e Cialis®, nos quais foram identificados os princípios ativos de ambos, sildenafil e tadalafil, respectivamente. Esses resultados indicam que a técnica SPS-MS pode detectar uma fraude comum no Brasil, ou seja, a venda do Viagra®, de menor preço, como se fosse Cialis®. A análise de outros tipos de amostras sólidas, como raízes de açafraão e ginseng brasileiro, sementes de coentro, pimenta preta, alho, cebola, pimentão e cenoura, permitiu a identificação de compostos típicos em cada amostra. Por fim, também foi possível analisar amostras comerciais de gomas e balas para identificar a presença ou ausência de açúcar em sua constituição. Concluindo, os resultados comprovaram que a técnica SPS-MS tem imenso potencial para análises de triagem quando os resultados precisam ser divulgados rapidamente, como em aeroportos e laboratórios forenses.

Palavras-chave: espectrometria de massas; ionização ambiente; *sandpaper spray*; lixa de parede; amostras sólidas.

ABSTRACT

Ambient ionization techniques in mass spectrometry have aroused significant interest due to their immense potential for application in several areas. Among these, paper Spray Ionization Mass Spectrometry (PS-MS) stands out for its simplicity, cost-effectiveness, and efficiency. In the present work, we propose a modification to the PS-MS technique, introducing sandpaper as a support to replace paper. This innovative approach, termed Sandpaper Spray Ionization Mass Spectrometry (SPS-MS), can revolutionize the direct analysis of diverse solid matrices, including drugs, roots, seeds, and grains. The key advantage of the SPS-MS technique is its ability to bypass additional preparation steps, thereby reducing analysis time and minimizing result distortions. Initially, the performance of the SPS-MS, PS-MS, and TS-MS techniques was compared using green coffee beans as samples. The mass spectra obtained by the three approaches were very similar, indicating that the SPS-MS technique can be used to analyze solid samples that can be sanded. In drug analysis, the ions corresponding to the active ingredients and other ions probably originating from the excipients could be readily visualized. To verify the versatility and efficiency of the SPS-MS technique, analyses of the drugs Viagra® and Cialis® were carried out, in which the active principles of both medicines, sildenafil, and tadalafil, respectively, were promptly identified. These results indicate that the SPS-MS technique can detect a common fraud in Brazil: selling the cheaper Viagra® as if it were Cialis®. The analysis of other types of solid samples, such as saffron and Brazilian ginseng roots, coriander seeds, black pepper, garlic, onion, peppers, and carrots, allowed the identification of typical compounds in each sample. Finally, it was also possible to analyze commercial samples of gum and candies to identify which were normal, with added sugar, and dietetic, with the addition of artificial sweeteners. In conclusion, the results proved that the SPS-MS technique has immense potential for screening analyses when results need to be disseminated quickly, such as in airports and forensic laboratories.

Keywords: mass spectrometry; ambient ionization; *sandpaper spray*; sandpaper; solid samples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de massas.....	22
Figura 2: Diagrama simplificado de uma fonte de ionização <i>paper spray</i>	26
Figura 3: Estrutura da celulose, formada por monômeros de celobiose.	27
Figura 4: (a) Diferentes geometrias angulares do papel, (b) variação do tamanho do <i>spray</i> formado para diferentes ângulos, (c) variação da intensidade dos sinais e da corrente <i>versus</i> voltagem do <i>spray</i>	28
Figura 5: Configuração experimental da fonte de ionização <i>wooden toothpick ionization mass spectrometry</i> utilizada no trabalho de Bin e colaboradores.	29
Figura 6: Configuração experimental da técnica <i>thread spray ionization mass spectrometry</i> utilizada no trabalho de Jackson e colaboradores.....	30
Figura 7: (a) Modificação da superfície do papel para criar uma camada de captura de ânions com ureia, (b) ligação de ânions pela camada de captura	31
Figura 8: (a) Ilustração esquemática da técnica PCSI-MS, (b) folha de chá verde e metanol posicionados em frente ao espectrômetro de massas, (c) amostras sólidas investigadas.....	32
Figura 9: Lixas de parede com diferentes granulometrias.	33
Figura 10: (a) Resumo da síntese do resol e novolaca, (b) Estrutura do polímero da resina fenólica.....	34
Figura 11: Lixas em formato triangular com a amostra.....	38
Figura 12: (a) Espectrômetro de massas LCQ Fleet; (b) Detalhes da fonte de ionização por <i>paper spray</i> e <i>sandpaper spray</i>	39
Figura 13: Espectros SPS(+)-MS obtidos em uma faixa de m/z de 100-2000 (ou 100-1000) para as lixas com diferentes granulometrias: (a) 100; (b) 120; (c)150; (d) 180.....	41
Figura 14: Espectros SPS(-)-MS obtidos em uma faixa de m/z de 100-2000 (ou 100-1000) para as lixas com diferentes granulometrias: (a) 100; (b) 120; (c)150; (d) 180.....	42
Figura 15: Espectros SPS(+)-MS obtidos em uma faixa de massa de 100-2000 para a análise de lixas com granulometria (a) 120 e (b) 150, após lavagem com hexano e metanol. Espectros SPS(-)-MS obtidos em uma faixa de massa de 100-2000 para a análise de lixas com granulometria (c) 120 e (d) 150, após lavagem com hexano e metanol.	43
Figura 16: Espectros obtidos no modo positivo para grãos de café verde via (a) análise direta (TS-MS), (b) PS-MS, e (c) SPS-MS.	47
Figura 17: Espectros obtidos no modo negativo para grãos de café verde via (a) análise direta (TS-MS), (b) PS-MS, e (c) SPS-MS.	48
Figura 18: Perfil de fragmentação de íons precursores positivos selecionados (m/z 176 e 381).....	49

Figura 19: Perfil de fragmentação de íons precursores negativos selecionados (m/z 191, 353 e 515).....	50
Figura 20: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Viagra® usando MeOH em ambos os modos de ionização em uma faixa de m/z 150 – 700.....	55
Figura 21: MS/MS (CID 20) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 475 (sildenafil protonada) de um comprimido de Viagra®.....	56
Figura 22: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de amostra comercial de Cialis® em uma faixa de massa de m/z 100 – 450.....	57
Figura 23: Estrutura química do (a) paracetamol e da (b) dipirona.....	58
Figura 24: Espectros SPS(-)-MS (a) e SPS(+)-MS (b) obtidos a partir de comprimidos de paracetamol.	58
Figura 25: Espectro SPS-MS no modo negativo de um comprimido de dipirona.....	59
Figura 26: Estruturas químicas do (a) alprazolam e (b) clonazepam.....	60
Figura 27: Espectro SPS-MS no modo positivo de um comprimido de alprazolam.	61
Figura 28: Espectro SPS-MS no modo positivo de um comprimido de clonazepam.....	61
Figura 29: Espectro SPS(+)-MS de um comprimido de Pressat® em uma faixa de m/z 100-1000.....	62
Figura 30: Espectro MS/MS (CID 20) do íon precursor de m/z 409 de um comprimido de Pressat®.....	63
Figura 31: Espectro (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Ramipril® em uma faixa de m/z 100-1000.	64
Figura 32: Espectro SPS(+)-MS de um comprimido de Maleato de Enalapril em uma faixa de m/z 100-1000.....	65
Figura 33: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Crestor® com uma faixa de m/z de 100-1000.....	67
Figura 34: Estrutura química dos princípios ativos dos medicamentos: (a) Histyn, (b) Miosan, (c) Buscopan.....	68
Figura 35: Espectros SPS-MS no modo positivo do fármaco Histyn.	69
Figura 36: Espectro SPS-MS no modo positivo do fármaco Miosan.....	69
Figura 37: Espectro SPS-MS no modo positivo do fármaco Buscopan.	69
Figura 38: Proposta de fragmentação do íon-precursor de m/z 360 para o princípio ativo do fármaco Buscopan.....	70
Figura 39: Espectro SPS-MS no modo positivo de uma drágea de multivitamínico.....	72
Figura 40: Estrutura química das principais vitaminas identificadas na amostra de uma drágea de multivitamínico.....	72
Figura 41: Espectro SPS(+)-MS da bala do tipo halls preto com açúcar.....	76
Figura 42: Espectros SPS-MS nos modos (+) e (-) da bala do tipo halls vermelho sem açúcar.....	77

Figura 43: Espectro SPS(+)-MS da bala do tipo halls verde sem açúcar.	78
Figura 44: Espectro SPS-MS (+) e (-) de uma amostra de goma de mascar <i>Trident</i> sem açúcar.	79
Figura 45: MS/MS (CID 19) e proposta de fragmentação do íon precursor de <i>m/z</i> 365 (sacarose) de uma bala <i>halls</i> com açúcar.	80
Figura 46: Espectros SPS(+)-MS e SPS(-)-MS, respectivamente, de amostras de nozes (a,b) e macadâmia (c,d).	84
Figura 47: Espectros SPS(+)-MS de amostras de (a) amêndoa, (c) amendoim, (e) pistache. SPS(-)-MS de amostras de (b) amêndoa, (d) amendoim, (f) pistache.	85
Figura 48: Espectros SPS(+)-MS de amostras de (a) castanha de caju, (c) castanha do Pará. SPS(-)-MS de amostras de (b) castanha de caju, (d) castanha do Pará.	86
Figura 49: Principais constituintes da cúrcuma. Adaptado da referência [49].	88
Figura 50: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de cúrcuma com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-900.	88
Figura 51: Estrutura química das saponinas (a) e (b) β -ecdisona	89
Figura 52: Espectro SPS(+)-MS para uma amostra de Ginseng brasileiro com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-2000.	90
Figura 53: Espectro SPS(-)-MS para uma amostra de Ginseng brasileiro com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-900.	90
Figura 54: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de coentro com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-2000.	91
Figura 55: Estrutura química da (a) piperina e (b) capsaicina	92
Figura 56: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de pimenta do reino com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-2000.	92
Figura 57: SPS(+)-MS e SPS(-)-MS para uma amostra de feijão preto (a) e (b) e milho (c) e (d) com uma faixa de <i>m/z</i> de 100-2000.	93
Figura 58: Principais constituintes do alho.	95
Figura 59: Espectro SPS(+)-MS para uma amostra de alho.	95
Figura 60: Espectros SPS-MS-(+) das amostras de (a) cebola, (b) pimentão verde e (c) cenoura.	97
Figura 61: Espectros SPS(+)-MS das amostras de casca de (a) uva verde e (b) banana com uma faixa <i>m/z</i> 100-800.	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI: *Atmospheric pressure chemical ionization*

APPI: *Atmospheric pressure photoionization*

ASAP: *Atmospheric solids analysis probe*

CI: *Chemical ionization*

CP: *Conductor polymers*

DART: *Direct analysis in real-time*

DESI: *Desorption electrospray ionization*

EASI: *Easy ambient sonic spray ionization*

EI: *Electron ionization*

ESI: *Electrospray ionization*

GC: *Gas chromatography*

MS: *Mass spectrometry*

m/z: Razão massa sobre carga

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCSI: *Paper cone spray ionization*

PS: *Paper spray ionization*

PS-MS: *Paper spray ionization mass spectrometry*

SPS-MS: *Sandpaper spray ionization mass spectrometry*

TS-MS: *Tissue spray mass spectrometry*

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Embasamento teórico	16
CAPÍTULO 2. Objetivos	19
2.1 Geral.....	20
2.2 Específicos.....	20
CAPÍTULO 3. Revisão Bibliográfica	21
3.1 Espectrometria de massas: fontes de ionização ambiente	22
3.2 Fontes de ionização por <i>paper spray</i>	25
3.3 Modificações na técnica <i>PS-MS</i>	29
3.4 A técnica sandpaper spray mass spectrometry (<i>SPS-MS</i>).....	33
3.4.1. <i>SPS-MS</i> : aplicações.....	35
CAPÍTULO 4. Caracterização das lixas	37
4.1 Materiais, amostras e reagentes.....	38
4.2 Instrumentação.....	38
4.2.1. Equipamento	38
4.2.2. Fonte	39
4.2.3. Obtenção dos espectros de massas via <i>SPS-MS</i>	40
4.3 Resultados obtidos	40
CAPÍTULO 5. Análise de grãos de café verde :comparação entre as técnicas PS-MS, TS-MS e SPS-MS	44
5.1. Parte experimental	46
5.2 Resultados obtidos	47
5.3 Conclusões parciais	51
CAPÍTULO 6. Análise de fármacos	52
6.1 Parte experimental	53
6.2 Resultados obtidos	53
6.2.1 Caracterização dos medicamentos viagra e ciallis	53
6.2.2 Analgésicos e antitérmicos	57
6.2.3 Ansiolíticos	60
6.2.4 Medicamentos para hipertensão e colesterol.....	61
6.2.5 Outras classes de fármacos	67
6.3 Conclusões parciais	73

CAPÍTULO 7. Produtos processados: balas e gomas de mascar	74
7.1 Parte experimental	76
7.2 Resultados obtidos	76
7.3 Conclusões parciais	81
CAPÍTULO 8. Análise de alimentos	82
8.1 Análise de oleaginosas.....	83
8.2 Análise de raízes	87
8.3 Análise de sementes e grãos	90
8.4 Análise de alho.....	94
8.5 Cebola branca, pimentão e cenoura.....	96
8.6 Análise de frutas.....	98
CAPÍTULO 9. Conclusões gerais e Perspectivas futuras	100
REFERÊNCIAS	102
APÊNDICE.....	110
APÊNDICE A: Espectros de fragmentação MS/MS de íons precursores selecionados para alguns fármacos.....	111
APÊNDICE B: Espectros de fragmentação MS/MS de íons precursores selecionados para amostras de balas do tipo <i>halls</i> e goma de mascar do tipo <i>trident</i>.....	114
APÊNDICE C: Espectros de fragmentação MS/MS de íons precursores selecionados para amostras de vegetais flavorizantes.....	116
APÊNDICE D: Espectros de fragmentação MS/MS de íons precursores selecionados para amostras de frutas.	119

Capítulo 1. Embasamento teórico

A espectrometria de massas (MS) é uma poderosa técnica analítica que se destaca pela sua grande capacidade de executar análises qualitativas e quantitativas com alta seletividade e baixos limites de detecção. Ela possibilita a elucidação de estruturas químicas através da (1) aplicação da espectrometria de massas sequencial, que permite obter padrões de fragmentação característicos para cada composto, (2) realização de análises em alta resolução para alguns casos, ou (3) aplicação de ambas as abordagens. Para tal, as moléculas do composto de interesse devem ser ionizadas, e seus íons em fase gasosa separados em função de suas diferentes razões massa/carga (m/z). Essa técnica também é muito versátil, pois frequentemente é empregada em associação com métodos de separação (cromatografia gasosa, cromatografia líquida e eletroforese capilar) ou utilizada de forma autônoma por meio de métodos diretos de injeção de amostras [1].

No entanto, até a década de 1980, a espectrometria de massas esteve restrita à análise de substâncias voláteis e termicamente estáveis por meio de técnicas de ionização clássicas como a ionização por impacto eletrônico (*electron ionization*: EI) e ionização química (*chemical ionization*: CI). Tais tipos de espectrômetros de massas, porém, requerem que suas fontes de ionização operem sob alto vácuo para que o processo de formação de íons possa ocorrer. As fontes EI e CI eram, até então, os métodos de ionização mais utilizados e os que apresentavam melhores desempenhos. Isso ocorre porque a quantidade de moléculas, vindas principalmente da fase móvel do cromatógrafo a gás, GC, que adentram à fonte de ionização não é capaz de comprometer o vácuo requerido. No entanto, o emprego de altas energias de ionização e temperaturas em EI inviabiliza a análise de uma grande diversidade de analitos, tais como biomoléculas de massa molecular elevada [2].

Assim sendo, fez-se importante o desenvolvimento de técnicas de ionização mais brandas para que se permitisse a análise de uma grande variedade de analitos. Nesse sentido, inicialmente foram desenvolvidas técnicas com fontes de ionização que atuam à pressão ambiente, como ESI (*Electrospray Ionization*), APCI (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*) e APPI (*Atmospheric Pressure Photoionization*), que aumentaram exponencialmente o campo de atuação da

espectrometria de massas, uma vez que abriu-se a possibilidade de análise para outros tipos de amostras e, com isso, eliminaram-se alguns problemas que existiam entre o preparo da amostra e sua introdução no sistema a vácuo dos equipamentos [3].

Como derivadas das técnicas descritas acima surgiram as técnicas de ionização ambiente, também conhecidas como ionização direta, as quais são caracterizadas pela análise direta de amostras em condições ambiente de temperatura e pressão, minimizando ou eliminando a necessidade de uma etapa de preparo ou pré-concentração de analitos. Devido suas características, este tipo de ionização permite a análise direta de amostras e superfícies em condições nativas, conservando sua integridade e características químicas espaciais [4].

Dentre os métodos de ionização ambiente, a fonte de ionização *paper spray* (PS-MS) é uma das que tem recebido maior atenção nos últimos anos. A primeira descrição dessa técnica foi feita por Cooks e colaboradores, em 2010, e desde então vem sendo amplamente empregada devido sua grande simplicidade, eficiência e baixo custo em análises qualitativas e quantitativas [5]. A metodologia permite a análise de moléculas de uma grande faixa de massa (desde pequenas moléculas orgânicas até pequenos peptídeos) gerando espectros comparáveis com os obtidos em análises via ESI-MS. A PS-MS pode ser descrita como um processo que ocorre em três etapas: o solvente depositado no papel extrai os analitos (e componentes da matriz de solubilidade adequada) da amostra; eluição da solução pelo papel e a formação de um *spray* de microgotas carregadas.

Capítulo 2. Objetivos

2.1 Geral

O presente trabalho tem como objetivo geral desenvolver e avaliar a aplicabilidade de uma nova técnica correlata à PS-MS, denominada *sandpaper spray mass spectrometry* (SPS-MS), na análise direta de matrizes sólidas políveis, como por exemplo, alimentos (grãos, sementes, raízes, oleaginosas, frutas, vegetais e produtos processados) e amostras de cunho forense, tais como os fármacos.

2.2 Específicos

- Propor o uso de uma nova técnica de ionização ambiente usando lixa comercial de parede como suporte, denominada *sandpaper spray mass spectrometry*, SPS-MS;
- Otimizar as condições instrumentais para o uso do espectrômetro de massas com a técnica SPS-MS para a análise de diversos tipos de amostras sólidas;
- Avaliar a eficiência e reprodutibilidade da técnica SPS-MS na análise de diversas matrizes sólidas, tais como, fármacos, grãos, sementes, raízes, frutas, vegetais, oleaginosas e produtos processados;
- Aplicar a técnica SPS-MS para detectar fraudes em produtos farmacêuticos e avaliar a presença de sacarose em balas e gomas ditas dietéticas.

Capítulo 3. Revisão bibliográfica

3.1 Espectrometria de massas: fontes de ionização ambiente

A espectrometria de massas, do inglês *Mass spectrometry*, é uma poderosa técnica para caracterização química de moléculas, tornando possível a elucidação correta de suas estruturas. Além disso, pode-se dizer que é uma técnica muito versátil, uma vez que frequentemente é empregada em associação com métodos de separação como a cromatografia gasosa, cromatografia líquida e eletroforese capilar ou utilizada de forma autônoma por meio de métodos diretos de injeção de amostras. A análise baseia-se inicialmente em um processo de ionização dos analitos, com a posterior separação destes de acordo com suas razões m/z , os quais são então detectados e os dados processados através de um sistema apropriado [5]. Um esquema que resume tal processo pode ser visto na Figura 1.

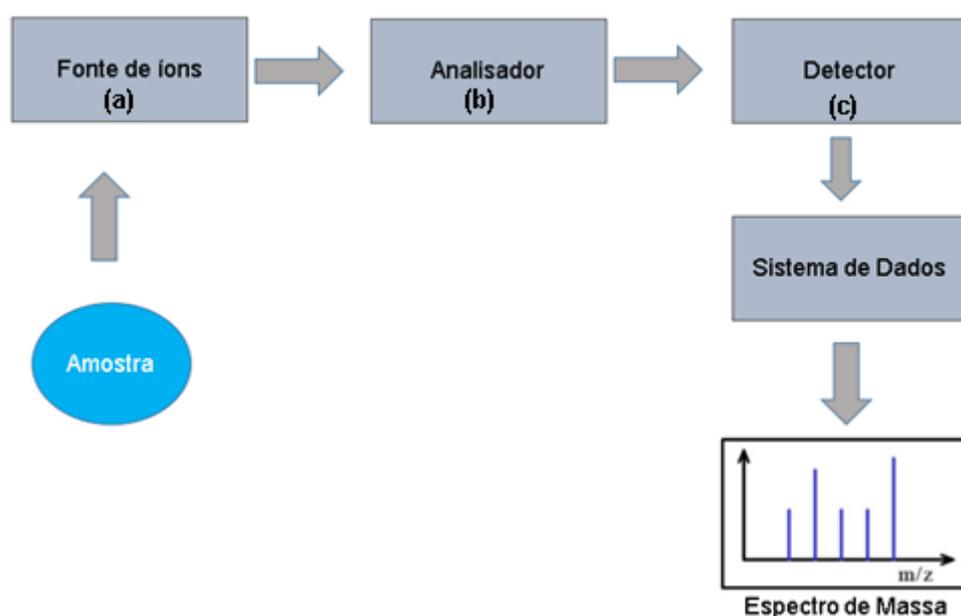


Figura 1: Esquema dos principais componentes de um espectrômetro de massas.

Fonte: próprio autor.

A fonte de ionização (a) é a responsável por conferir carga aos analitos. Posteriormente, os íons formados são acelerados e focalizados por campos elétricos e magnéticos aplicados por lentes eletrostáticas, onde em seguida vão em direção a uma câmara de alto vácuo, onde estão localizados o analisador de massas (b) e o

detector (c). Os analisadores de massas são responsáveis pela discriminação dos íons com diferentes razões m/z e/ou pelas fragmentações dos analitos de interesse.

A fonte de ionização é o principal componente do espectrômetro de massas, pois é nela que ocorre a formação de íons do(s) analito(s) presente(s) na amostra antes da sua entrada no analisador. A maneira e a intensidade de transferência de energia interna durante o processo de ionização levam a classificação das fontes em dois grandes grupos: A) altamente energéticas, em que o processo de ionização ocorre sob um alto vácuo e com os íons em fase gasosa, como acontece na *electron ionization* (EI) e *chemical ionization* (CI); [6,7] e B) técnicas brandas, as quais envolvem uma quantidade de energia menor e promovem principalmente a formação de espécies moleculares intactas, com pequena probabilidade de fragmentação, e.g. *electrospray ionization* (ESI), *atmospheric pressure chemical ionization* (APCI) e *atmospheric pressure photo ionization* (APPI) [8,9].

Após a discriminação dos íons e/ou eventuais fragmentações realizadas pelo analisador, esses são enviados ao detector que será responsável por gerar as repostas instrumentais pela conversão da corrente iônica em sinais elétricos. Esses sinais posteriormente são processados por um sistema de aquisição de dados para gerar o espectro de massas.

Durante muitos anos, as análises por espectrometria de massas estiveram restritas às fontes de ionização EI e CI, as quais estão limitadas às análises de moléculas voláteis e termoestáveis. Assim sendo, novas técnicas de ionização foram desenvolvidas para permitir a análise de moléculas maiores e termicamente instáveis. O trabalho pioneiro foi descrito por John Fenn e seus colaboradores em 1989, o qual propôs uma fonte de *electrospray ionization* (ESI) [10]. O mecanismo de funcionamento da fonte ESI baseia-se na ionização dos analitos por meio do deslocamento de equilíbrios químicos, de modo a favorecer a formação de espécies iônicas já presentes em solução. Devido ao fato de não necessitar da aplicação de vácuo, essa técnica é classificada como um método à pressão atmosférica, o que levou a um aumento significativo no número de amostras passíveis de análise [11].

Apesar de algumas das vantagens observadas nas técnicas à pressão atmosférica, como ESI, elas ainda apresentam algumas limitações no que diz respeito à realização de análises rápidas e de baixo custo, especialmente aquelas envolvendo matrizes complexas, como, por exemplo, plasma sanguíneo, alimentos, medicamentos e bebidas. Tais tipos de amostra requerem procedimentos de pré-tratamento, os quais, em grande parte, demandam tempo e a necessidade do uso de grandes quantidades de insumos, tais como solventes, e também podem estar associadas a alguns problemas como a supressão iônica ou aumento de ionização [11].

Assim sendo, a partir da década de 2000, começaram a ser desenvolvidas técnicas conhecidas como ionização ambiente ou direta, derivada da ionização à pressão atmosférica. Entende-se por ionização ambiente quando há a formação de íons fora do espectrômetro de massas diretamente da amostra, sem (ou com um mínimo) preparo de amostra [12]. A primeira técnica de ionização ambiente foi descrita em 2005, por Takats e colaboradores, sendo denominada *desorption electrospray ionization* (DESI) [13]. Logo depois, Cody e colaboradores desenvolveram a técnica denominada *direct analysis in real time* (DART) [14], enquanto McEwen e colaboradores criaram a técnica ASAP (*atmospheric solids analysis probe*) [15]. Desde então diversas outras técnicas têm sido propostas para diferentes matrizes, como fluidos biológicos, forenses, produtos farmacêuticos, alimentícios, dentre outros.

O fato de as fontes com ionização ambiente apresentarem algumas vantagens em relação à outras técnicas, despertou um grande interesse de estudo. Dentre algumas dessas vantagens pode-se citar como exemplo: possuir um baixo limite de detecção, o que permite análises para a detecção de baixas quantidades absolutas do analito; viabilizar a ionização de uma ampla faixa de m/z , tendo em vista que a energia interna é dispersada através de sucessivas colisões com moléculas de gases atmosféricos; apresentar menor extensão de fragmentação na fonte, uma vez que se trata de uma técnica de ionização branda; possibilitar a realização de análises diretas e obter perfis químicos característicos e assim confirmar qualitativamente a identidade química de analitos; remover algumas restrições de forma e tamanho da amostra e

permitir o aumento da frequência analítica, visto que a aquisição e obtenção de dados ocorre em um curto período de tempo (geralmente entre 1 s e 1 min) [16].

As técnicas de ionização ambiente podem ser classificadas em três grupos de acordo com o seu mecanismo de ionização: (1) por pulverização ou ionização por jato, como DESI, em que gotas carregadas são produzidas a partir de uma agulha de *electrospray* a uma alta voltagem; (2) por descarga elétrica, tal como DART, onde são produzidos íons, elétrons e átomos metastáveis usando hélio/nitrogênio e uma descarga corona; (3) por dessorção/ionização assistida por gás, calor ou laser, tal como ASAP, onde uma amostra sólida ou líquida é ionizada à pressão ambiente entre 300°C e 500°C [8,17].

Fontes de ionização que utilizam jato de *spray* vêm tendo um considerável aumento em aplicações em diversas áreas como farmacêutica, forense, biológica, ambiental, dentre outras [18-22]. Por isso, tais técnicas vêm tendo um rápido desenvolvimento e recebendo grande atenção. Como exemplos, podemos citar as técnicas DESI, EASI (*easy ambient sonic spray ionization*) e PS (*paper spray ionization*). Neste trabalho, o foco será dado para a técnica de ionização por jato de *spray* conhecida como *paper spray ionization* e suas modificações.

3.2 Fontes de ionização por *paper spray*

Paper spray ionization (PS) é uma das mais recentes técnicas de ionização ambiente. Sua primeira descrição foi feita por Wang e colaboradores, em 2010, e vem sendo amplamente empregada devido suas características muito favoráveis, tais como: simplicidade, baixo custo, possibilidade da eliminação da etapa de preparo da amostra, baixo consumo de solvente e eficiência em análises qualitativa e quantitativa [5].

A PS-MS, Figura 2, utiliza como substrato um papel cromatográfico, ou algum outro papel poroso, cortado em formato triangular, sobre o qual a amostra de interesse é aplicada. Posteriormente, uma pequena quantidade (em média 10 µL) de solvente

(geralmente metanol) é adicionado sobre o papel, o qual irá promover a extração e ionização do(s) analito(s), e este é colocado a uma distância de 0,5 cm entre a ponta e a entrada do equipamento. Em seguida, uma diferença de potencial é aplicada através de um clipe metálico, conectado à base do triângulo, cuja ponta é mantida na frente da entrada do espectrômetro de massas. A alta voltagem induz a formação de cargas no analito, sendo que estas se concentram em maior quantidade na ponta do papel e, com isso, há a formação de um *spray* devido à repulsão eletrostática. Em sequência, os íons são transferidos para a fase gasosa e atraídos para dentro do espectrômetro de massas [23].

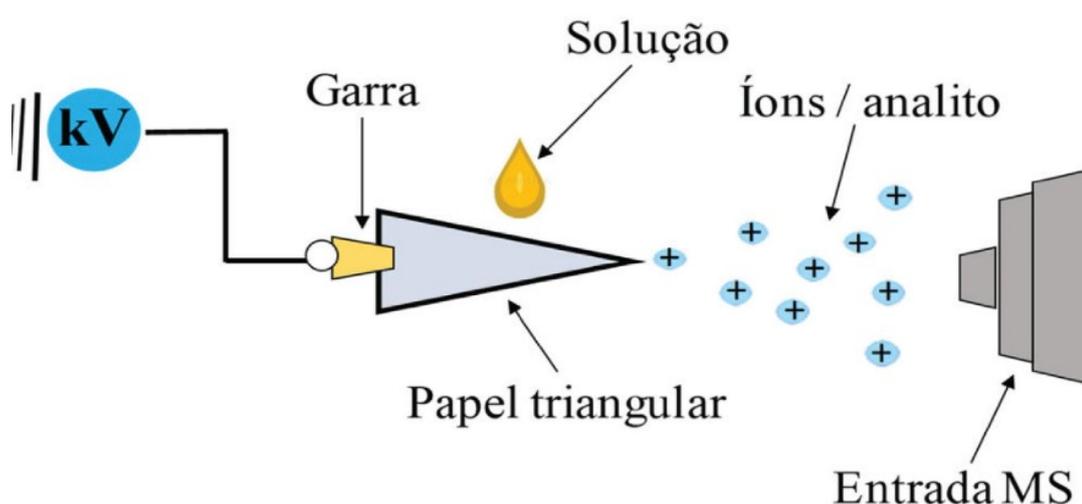


Figura 2: Diagrama simplificado de uma fonte de ionização *paper spray*. Fonte: Adaptado da referência [23].

No estudo e na aplicação dessa técnica de ionização é importante levar em consideração alguns fatores que estão relacionados à intensidade dos sinais e duração do *spray*, o que afeta diretamente seu desempenho. Alguns dos principais fatores (variáveis críticas) que afetam o desempenho da técnica são: (1) tipo de papel utilizado como substrato, (2) posicionamento do papel em relação à entrada do espectrômetro de massas, (3) geometria do papel, (4) volume e natureza do solvente utilizado.

O tipo de papel utilizado como substrato é de grande importância para adquirir espectros de massas adequados, sendo que o papel cromatográfico é o mais utilizado.

O papel é constituído basicamente por estruturas de celulose, Figura 3, que, por sua vez, caracteriza-se pela presença de grupos hidroxila. Sendo assim, a escolha de solventes é importante para as análises, permitindo a eluição de um dado analito pelo papel [24].

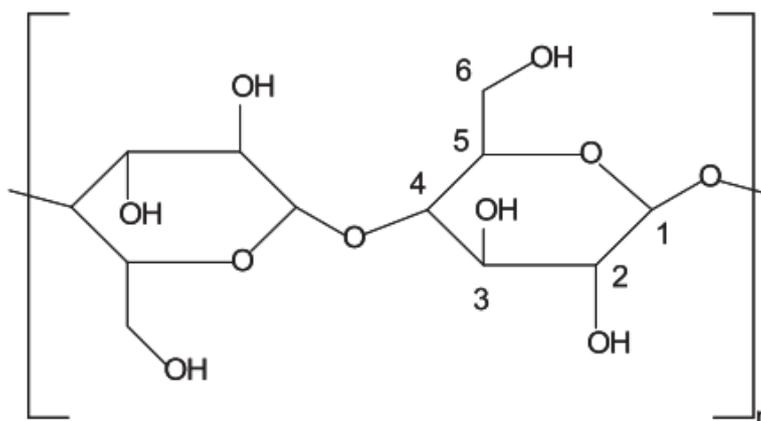


Figura 3: Estrutura da celulose, formada por monômeros de celobiose.

Liu e colaboradores testaram o uso de diferentes substratos na análise de amostras contendo cocaína, usando metanol/água como solvente. Eles utilizaram papel de filtro com diferentes porosidades (3-11 μm), papel cromatográfico e papel com fibras de vidro. Os resultados obtidos mostraram espectros de massas com melhor e pior qualidade, em termos da relação sinal/ruído, quando papel cromatográfico e papel com fibras de vidro foram utilizados, respectivamente. A explicação dada pelos autores está relacionada com as diferentes afinidades e interação do analito com os substratos. Os autores também verificaram que melhores intensidades do sinal foram obtidas com uma distância de 0,5 cm da ponta do papel até a entrada do espectrômetro de massas [24].

A geometria do substrato também é um outro fator importante que afeta diretamente na formação do *spray* em sua ponta. Yang e colaboradores estudaram a influência da angulação da ponta do triângulo, o potencial aplicado e a corrente gerada em relação ao formato do *spray* formado entre a ponta do substrato e a entrada no MS, no que diz respeito à intensidade dos sinais dos espectros gerados [25]. Os autores utilizaram papel cromatográfico com cinco angulações diferentes na ponta (30,

60, 90, 120 e 150°), Figura 4a, e perceberam que a formação do diâmetro do jato de *spray* é favorecida para ângulos menores, Figura 4b. Em contrapartida, o aumento da diferença de potencial aplicada favorece tanto a intensidade do sinal gerado quanto no aumento da corrente, Figura 4c, o que pode ser explicado pelo acúmulo maior de cargas na ponta do substrato. É importante dizer que para o ângulo de 150° nenhum *spray* foi observado. Sendo assim, é recomendado pelos autores a utilização de um triângulo com ângulo da ponta variando entre 60 – 90° [25].

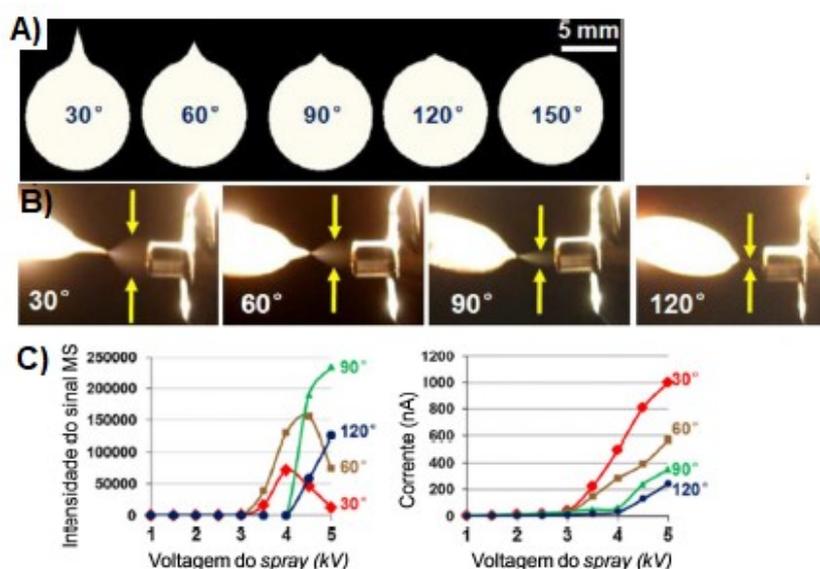


Figura 4: (a) Diferentes geometrias angulares do papel, (b) variação do tamanho do *spray* formado para diferentes ângulos, (c) variação da intensidade dos sinais e da corrente *versus* voltagem do *spray*. Fonte: Adaptado de [25].

É importante ressaltar também que a distância da ponta do papel à entrada do espectrômetro de massas afeta diretamente na qualidade dos resultados. Distâncias muito grandes podem afetar na quantidade de gotículas que adentram o equipamento, enquanto distâncias muito curtas podem acabar gerando um aumento da corrente. Segundo os estudos de Yang a distância de 0,5 cm se mostrou a mais eficiente para ser usada nas análises.

3.3 Modificações na técnica PS-MS

Devido a sua versatilidade e simplicidade no que diz respeito ao processo de ionização, a PS-MS possibilita a realização de modificações no sistema inicialmente proposto a fim de difundir ainda mais a utilização dessa técnica. Assim sendo, vários estudos têm sido realizados ao longo dos últimos anos com o intuito de analisar algumas dessas modificações. Alterações na superfície e no tipo de substrato utilizado, como também o uso de dispositivos que aumentam a performance e eficiência da técnica vem sendo descritos na literatura, dando origem a novas técnicas de ionização similares.

Bin e colaboradores, 2011, utilizaram palitos de madeira (*wooden toothpick*) como substrato para as amostras. A montagem realizada para as análises realizadas com o palito de madeira neste trabalho pode ser vista na Figura 5. A natureza hidrofílica e porosa da madeira possibilita uma adesão eficaz da solução da amostra, permitindo a aquisição de sinais estáveis. Foi possível analisar uma variedade de compostos orgânicos e organometálicos, peptídeos, proteínas e algumas amostras que não podem ser analisadas diretamente por técnicas convencionais de ESI, tais como, amostras em pasta e em pó. Além disso, os palitos também puderam ser convenientemente aplicados em análises forenses devido às propriedades da ponta da madeira (dura e fina), o que permite coletar amostras em locais de difícil acesso [26].

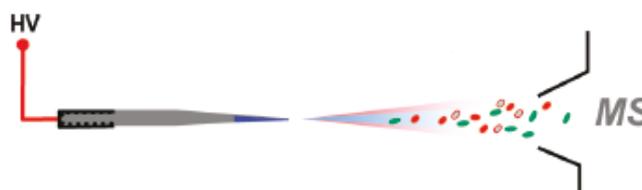


Figura 5: Configuração experimental da fonte de ionização *wooden toothpick ionization mass spectrometry* utilizada no trabalho de Bin e colaboradores.

Adaptado da referência [26].

Jackson e colaboradores, 2018, analisaram diferentes espécies de pimenta passando fios de diferentes composições (algodão, *nylon* e poliéster) pelas amostras,

sem causar a destruição das mesmas, tendo sido a técnica denominada *thread spray ionization mass spectrometry*. A aplicação do solvente e de uma tensão na ponta do fio gerou um *spray* na extremidade oposta, Figura 6, e os compostos capsaicinóides, responsáveis pelo sabor pungente das pimentas, puderam ser detectados no espectrômetro de massas. Os resultados obtidos se mostraram promissores, pois a amostragem foi rápida e os constituintes das amostras de pimenta puderam ser identificados, com padrões de fragmentação idênticos aos compostos de referência [27].

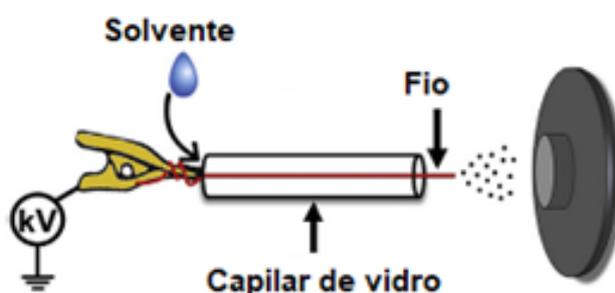


Figura 6: Configuração experimental da técnica *thread spray ionization mass spectrometry* utilizada no trabalho de Jackson e colaboradores. Adaptado da referência [27].

Liu e colaboradores, 2017, modificaram o papel usando um derivado de ureia, Figura 7. Esta modificação foi proposta visando analisar compostos com alta polaridade, no modo negativo, em amostras contendo um alto teor de sais. Os autores observaram que os espectros de massas obtidos produziram melhores resultados em comparação com a técnica PS tradicional, uma vez que houve uma redução acentuada da supressão iônica através da captura (adsorção) de ânions, tais como sulfatos, fosfatos e halogênios, pelas moléculas de ureia ancoradas na superfície do papel. Além disso, os autores observaram um aumento significativo da sensibilidade e dos limites de detecção em análises de ácido salicílico em amostras de urina e de terpenos em extratos de planta. Assim, demonstraram que a metodologia proposta pode ser eficiente na análise de amostras com alta concentração salina [28].

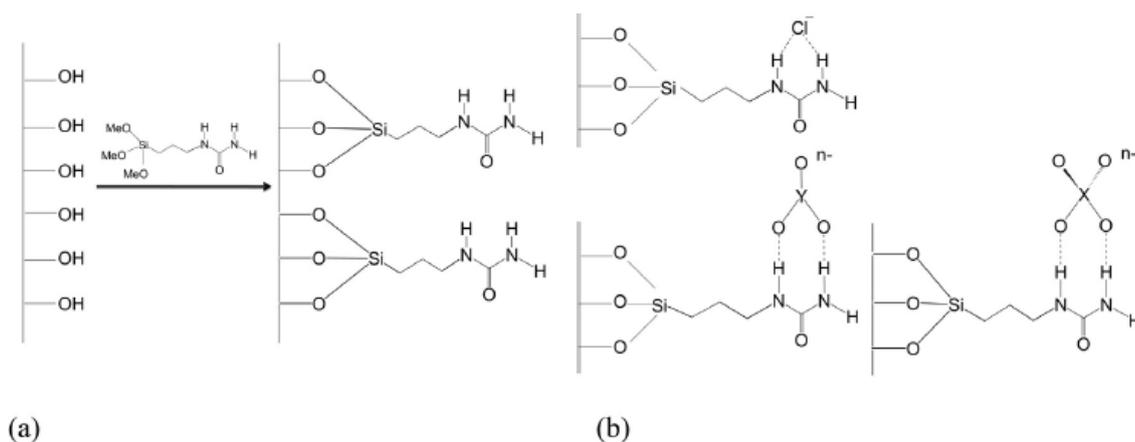


Figura 7: (a) Modificação da superfície do papel para criar uma camada de captura de ânions com ureia, (b) ligação de ânions pela camada de captura.

Adaptado da referência [28].

Kim e Cha, 2015, desenvolveram uma nova técnica denominada *paper cone spray ionization* (PCSI) modificando a geometria usual do papel, o qual foi utilizado de forma piramidal-cônica, Figura 8a. Segundo os autores, as principais vantagens de se utilizar o papel dessa forma está no fato dele servir como um recipiente de amostras, uma câmara de extração *in situ* para amostras sólidas e líquidas, um canal de transporte de analitos, assim como uma ponta de *electrospray*. Os autores também utilizaram diferentes tipos de papel, como cromatográfico, de filtro, de impressão e de pesagem, sendo este último a melhor escolha. As análises foram feitas diretamente com amostras sólidas de alimentos (carne, chá e fórmulas infantis) e medicamentos, sendo obtidos *fingerprints* representativos, com uma boa relação sinal/ruído e sendo os componentes característicos de cada amostra devidamente identificados. Como perspectivas futuras, os autores esperam realizar análises quantitativas utilizando essa técnica [29].

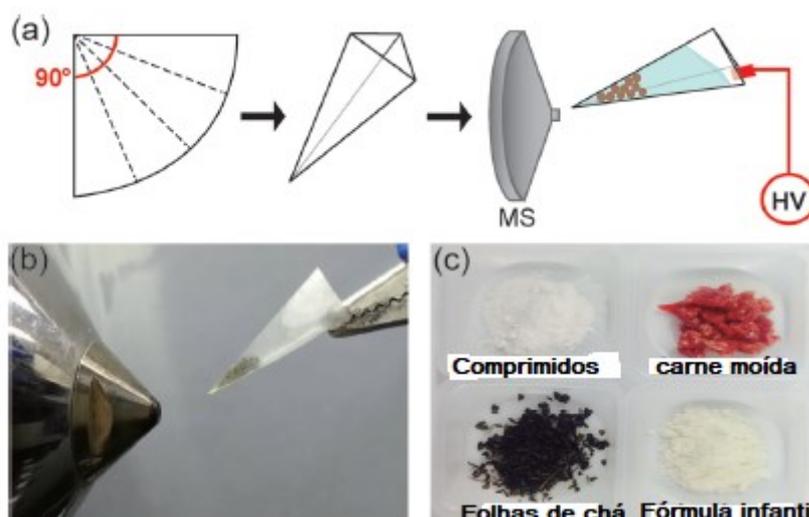


Figura 8: (a) Ilustração esquemática da técnica PCSI-MS, (b) folha de chá verde e metanol posicionados em frente ao espectrômetro de massas, (c) amostras sólidas investigadas. Adaptado da referência [29].

Borges e colaboradores, 2019, usaram polímeros condutores (CPs), tais como polianilina e polipirrol, como revestimento no substrato de papel. Algumas das vantagens dessas substâncias estão relacionadas à excelente condutividade elétrica, estabilidade sob condições ambientes, fácil preparação e baixo custo. Além disso, a presença de grupos iminas e aminas em sua estrutura permitem interações com diferentes compostos orgânicos e inorgânicos, ampliando a possibilidade de análises. Como exemplo, os autores analisaram vinte e quatro diferentes tipos de compostos, como drogas de abuso, adulterantes, fármacos, entre outros. O resultado das análises mostrou que houve um aumento na intensidade do sinal das espécies analisadas e com melhoras na estabilidade do *spray*. Resultados promissores em análises qualitativas e quantitativas em urina sintética foram descritos [30].

Lee e colaboradores, 2012, propuseram o uso de dispositivos que possibilitam a alimentação contínua de solvente no papel prevenindo a variação do fluxo de *spray* [31]. Os autores analisaram a ionização de sistemas em fluxo através do gotejamento controlado de amostras [32]. Além disso, Shen e colaboradores analisaram o aumento da frequência analítica através da automatização do processo, permitindo análises sequenciais [33].

Diante de tantas possibilidades de alterações aplicáveis à técnica PS-MS que se demonstraram eficazes, é possível pensar em outras modificações. Pensando nisso, uma nova técnica de análise derivada da PS será demonstrada neste trabalho.

3.4 A técnica *sandpaper spray mass spectrometry* (SPS-MS)

O presente trabalho descreve a utilização de lixa de parede, com diferentes granulometrias, Figura 9, como um novo suporte para a realização de análises diretas de amostras sólidas com suficiente maleabilidade, tais como comprimidos de fármacos, raízes, sementes e grãos. Devido ao substrato escolhido, essa nova técnica foi denominada *sandpaper spray mass spectrometry* (SPS-MS). Diante da simplicidade de uso e manuseio, praticidade, ser economicamente viável e poder fazer a análise direta das amostras com o mínimo preparo da técnica, evitando possíveis perdas dos analitos, abre caminho para uma série de aplicações para análise de matrizes sólidas políveis.



Figura 9: Lixas de parede com diferentes granulometrias.

Em geral, uma lixa é constituída por papel, adesivo e um abrasivo. Abrasivos são substâncias inorgânicas naturais ou sintéticas empregadas para desgastar, polir, ou limpar outros materiais. Os mais comuns de se encontrar na fabricação de lixas são o quartzo (SiO_2), carbeto de silício (SiC) e alumina (Al_2O_3), sendo esta o abrasivo

encontrado nas lixas que foram utilizadas. Para que um mineral natural seja abrasivo, ele precisa ser duro, resistente e afiado [34]. A composição química do papel baseia-se na presença de compostos orgânicos oriundos da celulose, hemicelulose e lignina. O adesivo que também está presente na lixa é constituído majoritariamente por uma resina fenólica.

A resina fenólica, também denominada de resina fenol-formaldeído, é uma resina sintética polimérica termofixa, que pode ser obtida como produto da reação entre fenóis com formaldeído, Figura 10. Pode ser encontrada na forma líquida ou sólida, de acordo com fatores como a proporção de cada reagente e o tempo de polimerização. A reação, conduzida em diferentes condições, conduz a dois tipos de resinas: as do tipo *novolaca*, termofixa ou de um estágio, obtidas em meio ácido e com ligeiro excesso de fenol, e as do tipo *resol*, termoplástica ou de dois estágios, obtidas em meio alcalino e em excesso de formaldeído. Além disso, há uma grande aplicabilidade para os dois tipos, como o uso na impregnação de tecidos e papéis, na fabricação de adesivos, em rebolos (como aglomerante), sendo também usadas na fabricação de vernizes [35-37].

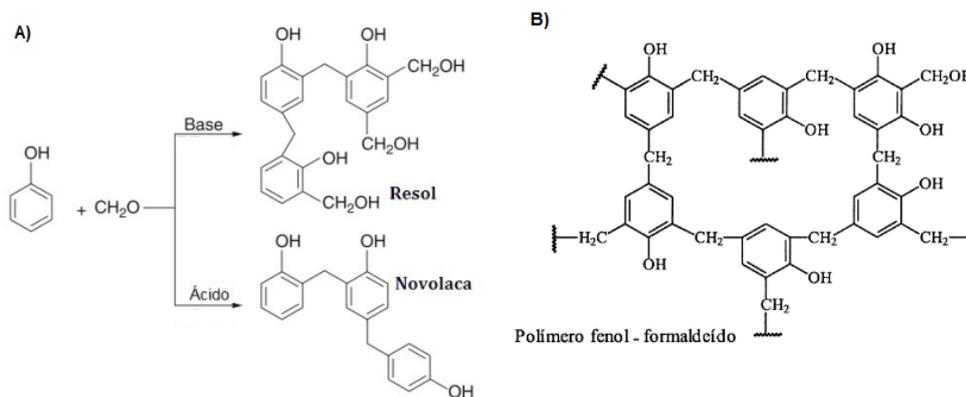


Figura 10: (a) Resumo da síntese do resol e novolaca, (b) Estrutura do polímero da resina fenólica.

Adaptado da referência [36].

3.4.1 SPS-MS: aplicações

A proposta do desenvolvimento dessa nova técnica baseia-se na análise de amostras sólidas passíveis de serem lixadas. Assim, uma grande quantidade de amostras pode ser analisada por SPS-MS.

A falsificação de medicamentos, por exemplo, é um problema de grande preocupação ao nível mundial combatido pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Segundo a OMS (1999, p. 13-15) vários fatores podem contribuir para a proliferação dos medicamentos falsificados [38], entre eles: (a) a falta de uma legislação adequada; (b) autoridade regulatória de medicamentos nacional ausente ou com escasso poder; (c) não cumprimento da legislação existente; (d) sanções penais ineficazes; (e) corrupção e conflitos de interesses; (e) transações que incluem muitos intermediários; (f) demanda superior à oferta; (g) preços altos; (h) complexidade na fabricação de medicamentos clandestinos; (i) cooperação ineficiente entre os interessados diretos; (j) falta de regulamentação nos países exportadores e dentro das zonas de livre comércio.

Ainda de acordo com a OMS, as principais notificações recebidas de medicamentos estão ligadas a antibióticos de uso sistêmico, corticóides, medicamentos com ação no trato digestivo e metabolismo, anabolizantes, analgésicos anti-inflamatórios e anti-reumáticos, medicamentos com ação no sistema cardiovascular e no sistema gênito-urinário [39]. Quanto aos tipos de falsificação e magnitude, tais produtos podem ser agrupados em seis categorias, [40]: (1) produtos sem princípio ativo: 32,1% (placebo); (2) produtos com a quantidade incorreta de princípio ativo: 20,2 %; (3) produtos com o princípio ativo errado: 21,4 %; (4) produtos com as quantidades corretas de princípios ativos, mas com embalagens falsas: 15,6 %; (5) cópia de um produto original: 1 % e (6) produtos com alto grau de impurezas ou contaminantes: 8,5%.

Concomitantemente ao problema da falsificação de medicamentos, pode-se citar também a adulteração de drogas ilícitas. Todo ano a polícia federal faz milhares de apreensões pelo Brasil, sendo as principais encontradas a cocaína, o *crack*, *ecstasy* e selos, todas na forma sólida [41,42]. A maioria das adulterações consiste

na adição de adulterantes e diluentes, dentre eles a cafeína, benzocaína, paracetamol, bicarbonato de sódio, cal, gesso, e outros, o que pode aumentar ainda mais o risco de morte após o seu consumo. Dessa forma, assim como a PS-MS, o uso da técnica SPS-MS pode ser uma importante aliada para a identificação de adulteração dessas matrizes através da comparação de perfis químicos característicos (*fingerprints*) com amostras originais.

Uma outra aplicação da SPS-MS pode ser na diferenciação e comparação dos perfis químicos de grãos transgênicos ou geneticamente modificados, como acontece por exemplo com a soja, o milho e o algodão. A transgenia é uma evolução do melhoramento genético convencional, que permite transferir características de interesse agrônomo entre espécies diferentes, com o objetivo de torná-las resistentes a doenças ou mais nutritivas, entre outras várias aplicações. Pode-se ainda usar a SPS-MS a fim de se determinar as origens geográficas de diferentes espécies de uso agropecuário no Brasil, como por exemplo, o café.

Pelo fato da facilidade de aquisição e valor de uma lixa, da análise ser feita diretamente com a amostra, sem a necessidade de ter que diluí-la em algum solvente ou até mesmo prepará-la, minimizando ao máximo a perda de analitos, o que é algo fundamental para as análises, percebe-se como é vantajoso a aplicabilidade da SPS-MS em análises de matrizes sólidas frente a outras técnicas descritas anteriormente.

Capítulo 4. Caracterização das lixas

4.1 Materiais e reagentes

Metanol grau HPLC adquirido da J.T. Baker Chemicals foi utilizado como solvente nas análises por PS-MS e SPS-MS. Lixas de parede dos tipos A257 da marca Norton com diferentes granulometrias (100, 120, 150 e 180) foram recortadas no formato de um triângulo equilátero com dimensões de 1,0 cm e utilizadas como substrato nas análises envolvendo SPS-MS, Figura 11. Papel cromatográfico Whatman, modelo nº1 adquirido de Whatman (Little Chalfont, Buckinghamshire, Reino Unido), também recortado na forma de triângulo com dimensões iguais a 1,0 cm, foi utilizado como substrato para aplicação das amostras e do solvente em PS-MS.

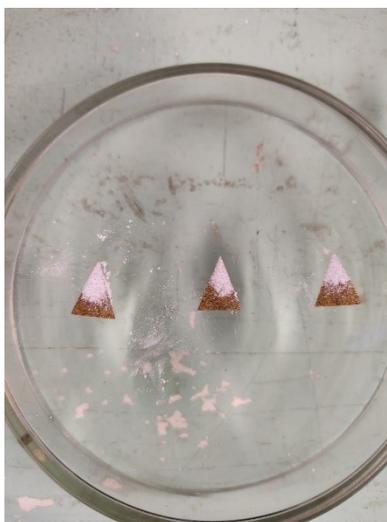


Figura 11: Lixas em formato triangular com a amostra.

4.2 Instrumentação

4.2.1 Equipamento

Todas as análises foram realizadas em um espectrômetro de massas LCQ Fleet da ThermoScientific, Figura 12a, com um analisador de massas de baixa resolução do tipo *ion trap* (San Jose, Califórnia, EUA). Para a obtenção, análise e controle de dados foi utilizado o *software* ThermoScientific Xcalibur.

4.2.2 Fonte

As fontes de ionização *paper spray* e *sandpaper spray*, Figura 12b, foram construídas no laboratório e consistem em uma montagem em que um clipe metálico (do tipo jacaré) segura o substrato e é ligado a um fio de cobre conectado à fonte de potencial do aparelho. Esse aparato é suportado por uma plataforma móvel que permite um ajuste do posicionamento do substrato ao longo dos eixos x, y e z possibilitando, assim, o melhor alinhamento entre a ponta do triângulo e a entrada do espectrômetro de massas

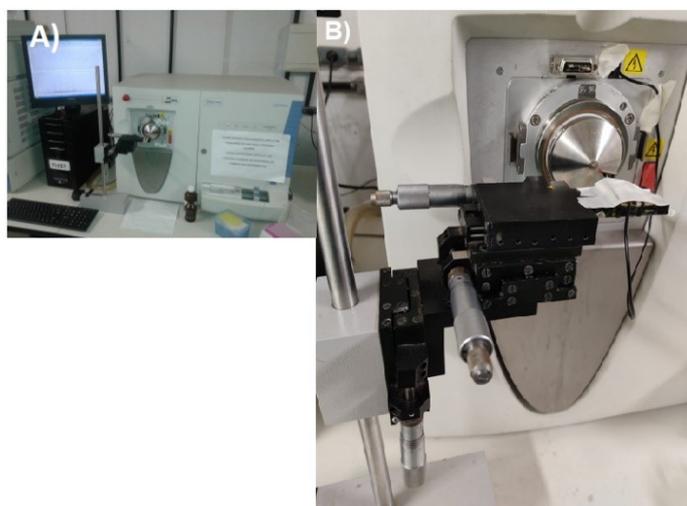


Figura 12: (a) Espectrômetro de massas LCQ Fleet; (b) Detalhes da fonte de ionização por *paper spray* e *sandpaper spray*.

As condições experimentais do espectrômetro de massas, bem como do aparato montado em frente a ele, foram feitas através da otimização de alguns parâmetros, tais como: tipo e dimensões do substrato (papel e lixa) utilizado, posicionamento do substrato em relação à entrada do espectrômetro de massas, volume e composição do solvente, volume da amostra (no caso de amostra líquida, análise por PS-MS), potencial aplicado na base do substrato e modo de aquisição dos espectros (positivo ou negativo). Os demais parâmetros, como temperatura do capilar, potencial das lentes, potencial do capilar, pressão interna, foram ajustados através do *tune* de calibração do equipamento. Uma vez otimizados, todos os parâmetros foram mantidos constantes. Os espectros de massas foram obtidos em modo de ionização positivo (+) e negativo (-), numa faixa de massa de 100 a 2000 Da.

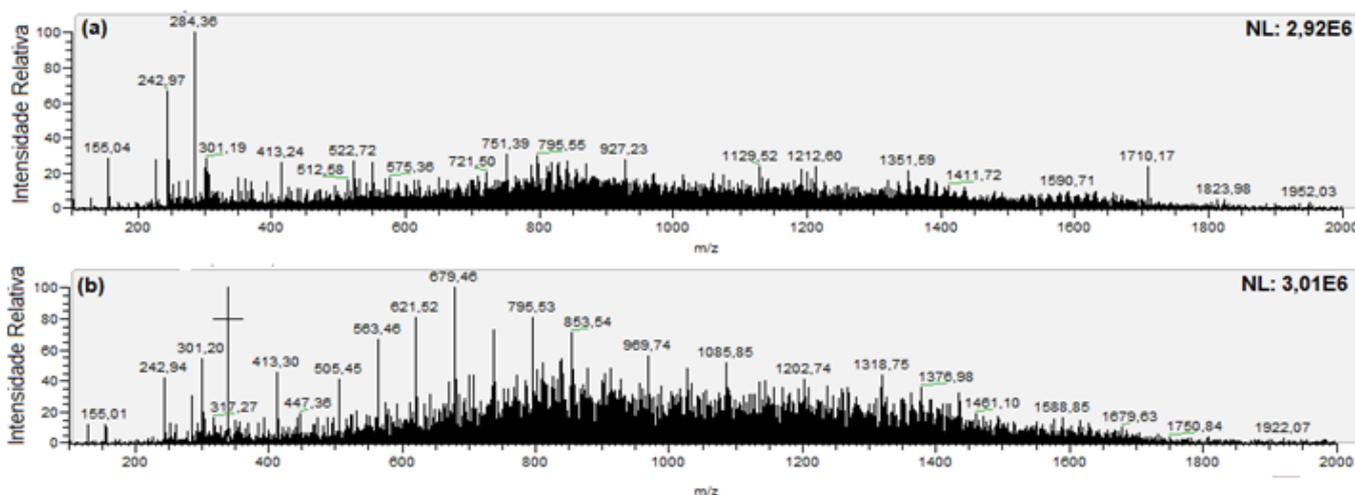
4.2.3. Obtenção dos espectros de massas via SPS-MS

As análises foram realizadas em triplicata. Todas as amostras sólidas foram lixadas diretamente com a lixa de parede previamente cortada em formato triangular (com medidas iguais a 1,0 cm). As lixas foram então conectadas ao clipe metálico e posicionadas a uma distância de 0,5 cm do espectrômetro de massas (Figura 12). Em seguida, um volume de 2,0 μL de metanol foi aplicado sobre a lixa, com a consequente aplicação do potencial otimizado na base do triângulo e a aquisição dos espectros de massas, os quais foram gerados pelo *software* Xcalibur 2.2 SP1. Os espectros de massas foram registrados por 15 segundos e a aquisição de dados foi feita armazenando 20 varreduras. Para evitar leituras indesejadas entre as replicatas, tanto a entrada do equipamento quanto o clipe metálico foram limpos com papel umedecido em metanol e um novo triângulo foi utilizado.

Inicialmente realizou-se análises utilizando apenas o solvente (branco) com as lixas de todas as granulometrias e posteriormente com a obtenção dos espectros de massas optou-se por continuar apenas com a lixa de granulometria 120 para as amostras.

4.3 Resultados obtidos

Nas Figuras 13 e 14 são apresentados os *fingerprints*, nos modos positivo e negativo, das lixas utilizando metanol como solvente.



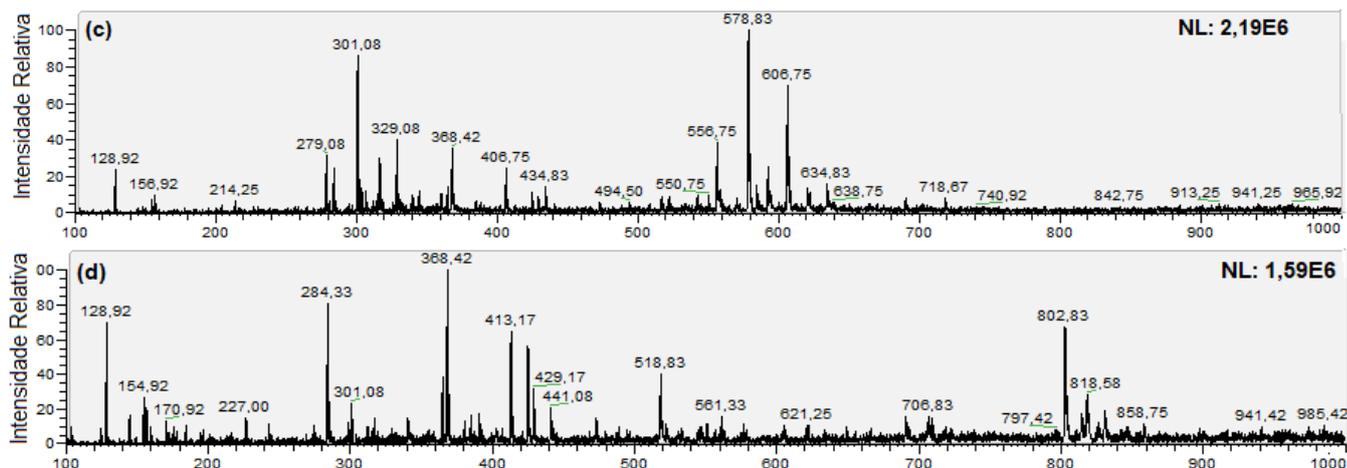
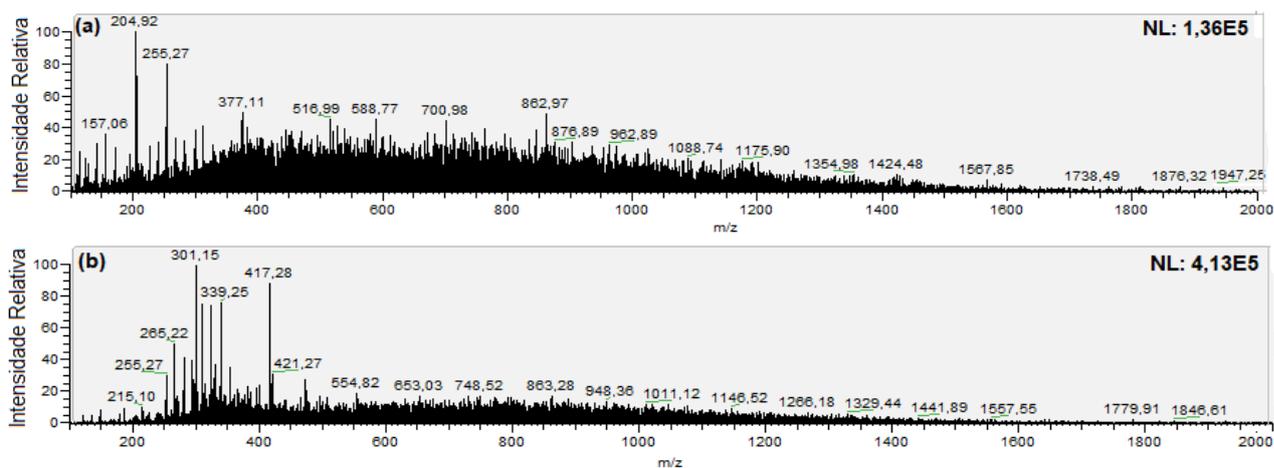


Figura 13: Espectros SPS(+)-MS obtidos em uma faixa de m/z de 100-2000 (ou 100-1000) para as lixas com diferentes granulometrias: (a) 100; (b) 120; (c) 150; (d) 180.

Percebe-se a presença de vários sinais intensos que podem dificultar as análises. Sendo assim, realizou-se uma lavagem das lixas com hexano e metanol, deixando-as em repouso no ultrassom, para verificar se haveria melhora de sinais. Os resultados obtidos podem ser vistos na Figura 15.

Conforme pode ser observado, houve uma intensa melhora dos sinais obtidos no espectro de massas das lixas após a lavagem. Além disso, os sinais foram bem parecidos para as diferentes granulometrias (120 e 150), especialmente no modo negativo, e optou-se por continuar fazendo as análises das amostras apenas com a lixa de granulometria 120 após a lavagem.



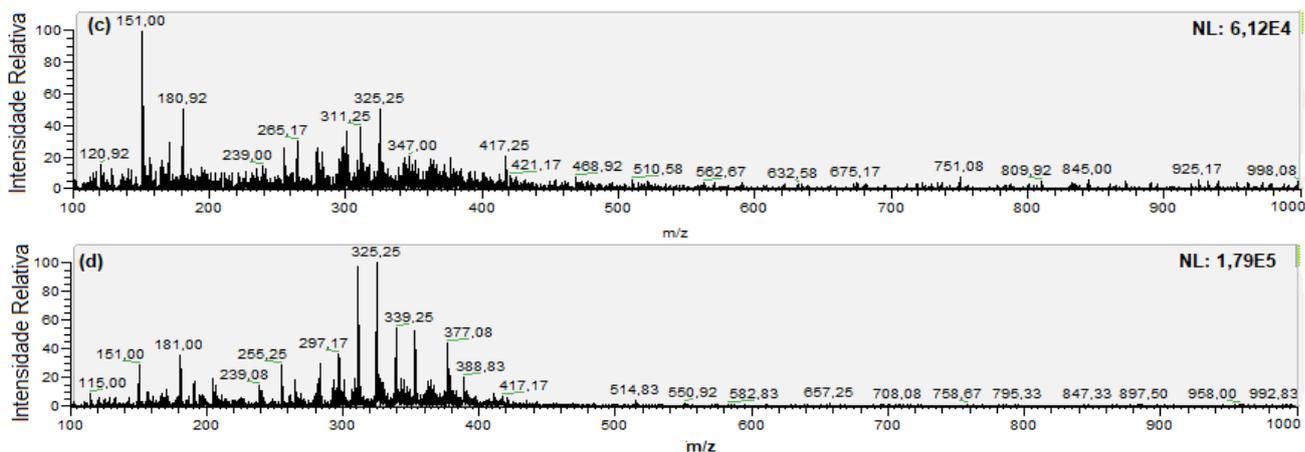


Figura 14: Espectros SPS(-)-MS obtidos em uma faixa de m/z de 100-2000 (ou 100-1000) para as lixas com diferentes granulometrias: (a) 100; (b) 120; (c) 150; (d) 180.

Não foi encontrado na literatura trabalhos que descrevem a caracterização dos componentes presentes em uma lixa, o que dificulta nossa identificação dos principais íons detectados. No entanto, a ideia inicial é obter um *fingerprint* reproduzível da lixa para comparar com o resultado da análise das amostras por SPS-MS. Apesar da dificuldade na caracterização dos sinais da lixa, sabe-se que ela é composta pelo abrasivo óxido de alumínio, cuja presença talvez possa estar relacionada ao íon de m/z 102, possível de ser observado pela ampliação dos espectros de massas. Além disso, o adesivo que está presente em sua estrutura é formado por uma resina fenólica, podendo ser do tipo novolaca[®] ou resol[®], e pelos principais constituintes do papel e seus derivados, hemicelulose, celulose e lignina.

Assim sendo, pode-se especular que os íons observáveis nos espectros de massas das lixas sejam oriundos de compostos presentes na resina fenólica e no papel das lixas.

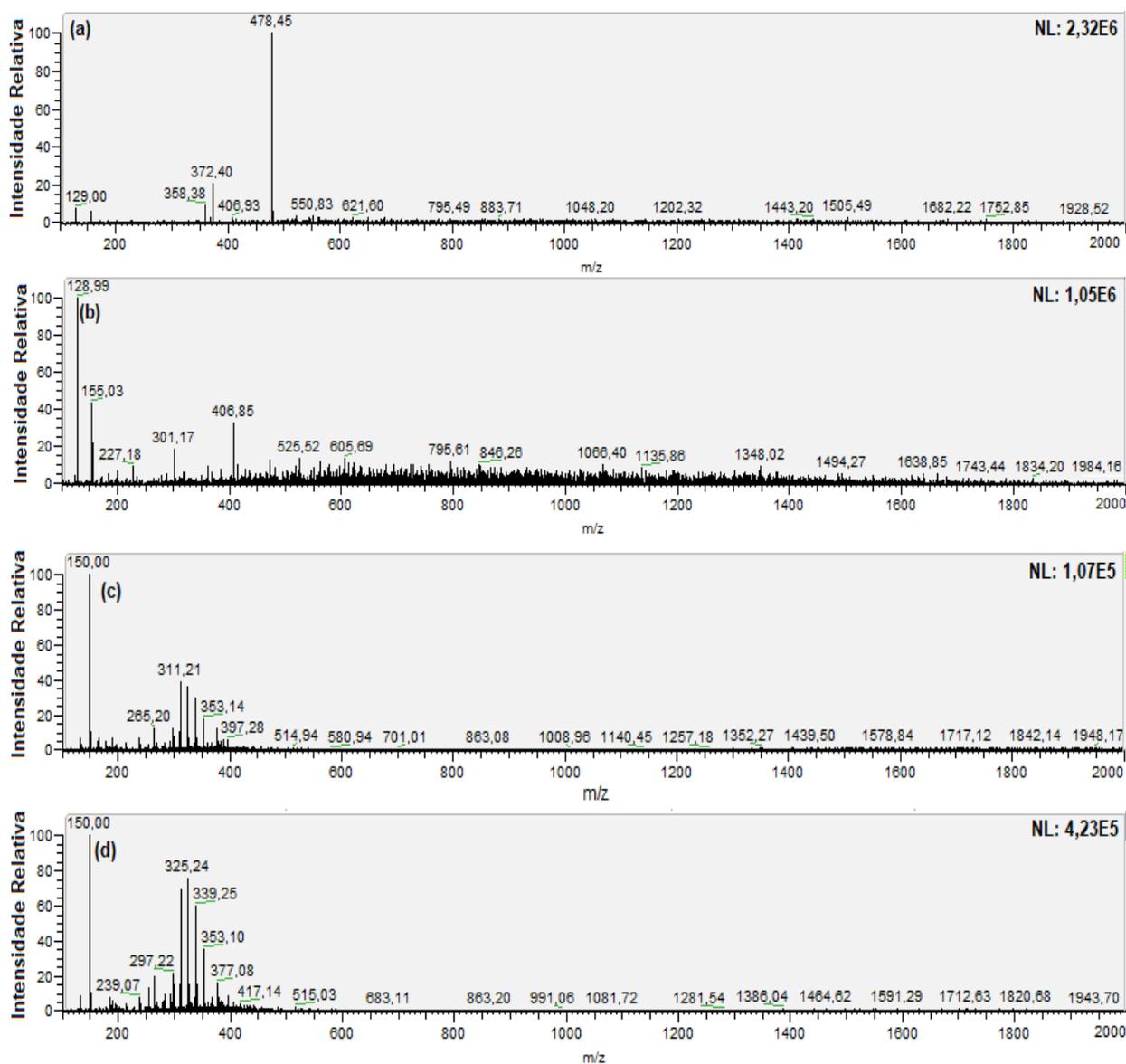


Figura 15: Espectros SPS(+)-MS obtidos em uma faixa de massa de 100-2000 para a análise de lixas com granulometria (a) 120 e (b) 150, após lavagem com hexano e metanol. Espectros SPS(-)-MS obtidos em uma faixa de massa de 100-2000 para a análise de lixas com granulometria (c) 120 e (d) 150, após lavagem com hexano e metanol.

Capítulo 5. Análise de grãos de café verde: comparação
entre as técnicas PS-MS, TS-MS e SPS-MS

Análises com grãos de café verde foram realizadas empregando-se três diferentes técnicas de ionização ambiente para fins de comparação e eficiência dos resultados: PS-MS), *tissue spray mass spectrometry* (TS-MS) e SPS-MS. Além das já conhecidas PS-MS e agora SPS-MS, a TS-MS tem como princípio básico a análise direta do grão da amostra a ser analisado a partir de um corte em seu meio e o posicionamento em frente ao espectrômetro. Essas três técnicas foram empregadas para fins de comparação de similaridade dos espectros obtidos em cada uma delas.

O café é conhecido como uma das matérias-primas comercialmente mais importantes a nível internacional e é extremamente conhecido na Europa e América do Norte [43], sendo que o seu consumo mundial tem aumentado anualmente. É considerado o quinto produto mais amplamente negociado e milhões de pessoas dependem direta ou indiretamente da produção e venda do café [44]. Além disso é a terceira bebida mais consumida no mundo, ficando atrás da água e do chá, para além de que, atualmente, beber infusões de café torrado ou instantâneo é uma rotina para dois terços da população mundial [45].

O alto consumo mundial do produto tem estimulado o desenvolvimento de estudos relacionados à atividade biológica do grão. Sobretudo, nos últimos anos tem surgido um interesse sobre os constituintes do café verde, pelo fato de que vários constituintes deste produto têm sido sugeridos como potencialmente quimioprotetores em diferentes sistemas químicos e biológicos; a explicação estaria nos numerosos antioxidantes presentes na bebida, sendo os principais os ácidos clorogênicos, a cafeína e outros compostos fenólicos [46]. Além desses componentes químicos podem ainda ser encontrado no café: açúcares lipídeos e proteínas. O aroma do café verde é considerado estranho quando comparado ao do café torrado, o que pode ser explicado pela combinação de centenas de compostos químicos produzidos pelas reações ocorridas durante a torrefação [47].

Vale destacar ainda que o café é rico em polifenóis, sendo o ácido clorogênico o que está presente em maior quantidade, seguindo-se dos ácidos cafeíco, ferúlico e p-cumárico [48]. Estes ácidos, em conjunto, contribuem para o sabor tão diferente da bebida do café, revelando também ter propriedades antioxidantes. Assim sendo, estes

compostos têm sido alvo de atenção por apresentarem capacidade de combater radicais nocivos, estabelecendo assim o equilíbrio oxidativo do sistema fisiológico [48].

5.1 Parte Experimental

Para análise por PS-MS houve uma etapa prévia de preparo da amostra. Grãos de café moído (0,5 g) foram extraídos com 10 mL de água a 60 °C e em banho ultrassônico por 30 min. Na sequência, 100 µL deste extrato foram misturados com 900 µL de metanol grau HPLC, e 25 µL desta solução foram adicionados ao papel cromatográfico (Whatman, número 1) em formato triangular com dimensões de 1,0 cm.

Para a análise direta do grão, TS-MS, os grãos de café verde foram divididos ao meio e moldados em um triângulo fino, sendo colocados diretamente na frente da entrada do espectrômetro de massas e 20 µL de metanol de grau HPLC (JT Baker, EUA) foram adicionados.

Para as análises com a lixa, SPS-MS, os grãos foram lixados diretamente sobre a lixa cortada em forma de um triângulo equilátero de 1,0 cm e em seguida 25 µL de metanol de grau HPLC (J. T. Baker, EUA) foi adicionado ao triângulo e os espectros de massa foram adquiridos.

As medições foram realizadas em um espectrômetro de massas LCQ Fleet (ThermoScientific, San Jose, Califórnia, EUA). Os espectros de massas foram adquiridos nos modos de íons positivos e negativos com uma faixa m/z de 100-500 e 100-1000, respectivamente. As condições instrumentais foram as seguintes: temperatura capilar, 275°C; tensão aplicada à base do triângulo, 5 kV; distância entre a ponta do triângulo e a entrada do espectrômetro de massas, 0,5 cm.

5.2 Resultados obtidos

Os espectros de massas dos grãos de café foram registrados nos modos de íons positivos e negativos para análise direta dos grãos (TS-MS), PS-MS e SPS-MS. Na Figura 16 são mostrados os espectros de massas no modo de íon positivo. Observa-se que os íons mais intensos para TS-MS (Figura 16a) e SPS-MS (Figura 16c) foram os de m/z 176 e 381. Esses íons foram relatados anteriormente e atribuídos aos adutos de potássio de trigonelina e sacarose, respectivamente [49]. Outros íons de m/z 104 e 138 foram propostos como a forma protonada de colina e trigonelina, respectivamente, e pôde ser observado nos espectros obtidos pelos três métodos. Por fim, o íon m/z 317, atribuído ao aduto de potássio do ácido linolênico, é exclusivamente perceptível no PS(+)-MS do extrato aquoso (Figura 16b).

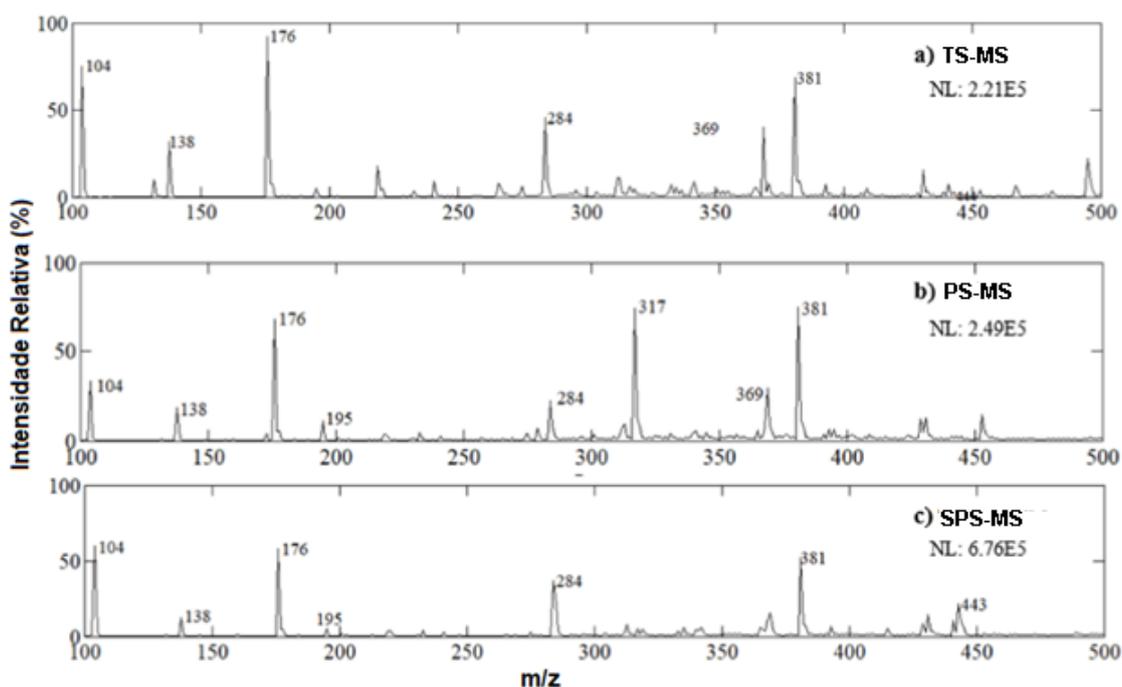


Figura 16: Espectros obtidos no modo positivo para grãos de café verde via (a) análise direta (TS-MS), (b) PS-MS, e (c) SPS-MS.

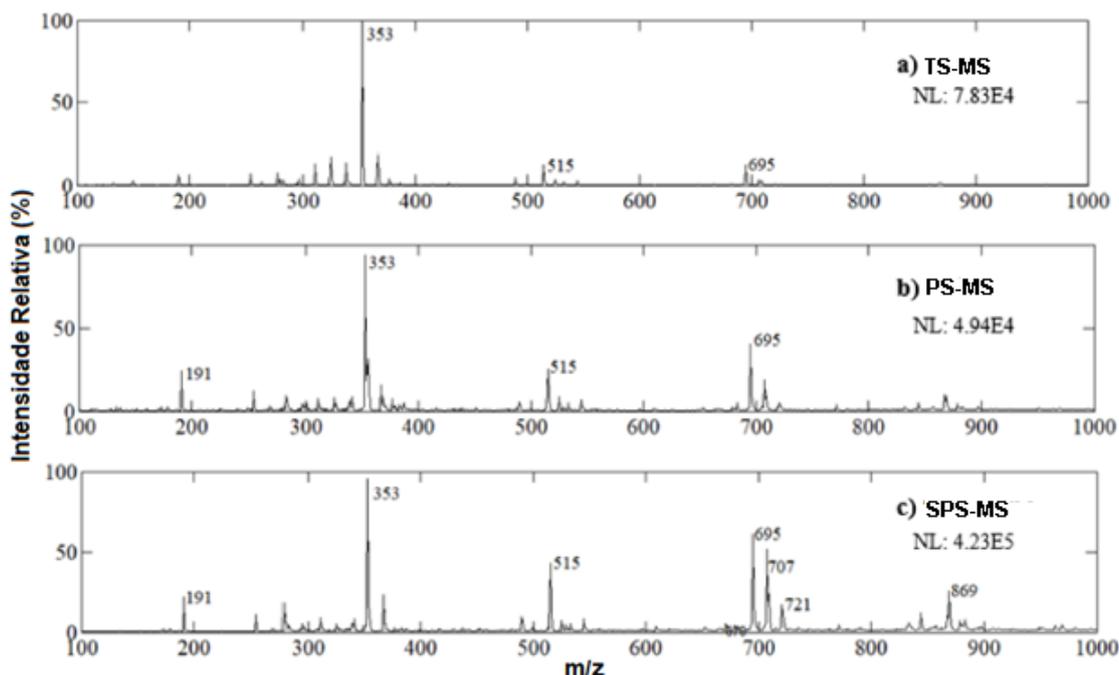


Figura 17: Espectros obtidos no modo negativo para grãos de café verde via (a) análise direta (TS-MS), (b) PS-MS, e (c) SPS-MS.

Os espectros de massas no modo negativo são mostrados na Figura 17. Observa-se que o íon m/z 353 é o mais intenso nos três espectros de massas. Este íon foi identificado como a forma desprotonada do ácido cafeoilquínico, geralmente encontrado nos grãos de café como três isômeros [50]. Outros íons nestes espectros de massas referem-se a compostos normalmente encontrados em grãos de café, como o ácido quínico e ácido dicafeoilquínico (como seis isômeros), que foram detectados como suas formas desprotonadas de m/z 191 e 515, respectivamente [50]. O íon muito intenso de m/z 707, discernível no SPS(-)-MS, foi atribuído à forma desprotonada do dímero do ácido cafeoilquínico, ou seja, $[2M - H]^-$ [50]. Observa-se também que no SPS(-)-MS (Figura 17c) os íons de m/z 279 e m/z 277 (as formas desprotonadas dos ácidos linoléico e linolênico, respectivamente) aparecem com intensidades muito baixas.

O íon de m/z 869 é facilmente discernível no SPS(-)-MS (Figura 17c), mas está ausente no TS(-)-MS (Figura 17a) e detectável em menor intensidade no PS(-)-MS (Figura 17b). Este íon refere-se ao aduto fracamente ligado [ácido dicafeoilquínico +

ácido cafeoilquínico $-H]^-$. As maiores intensidades dos íons de m/z 515, 695, 707, 721 e 869 no SPS(-)-MS (Figura 17c) em comparação com os espectros de massas registrados usando as outras duas metodologias (Figura 17a, b) provavelmente indicam uma maior eficiência de extração da lixa em comparação com as outras duas abordagens. Outra possível vantagem do método SPS comparado à extração com água seguida de PS é que não há diferenças notáveis nos espectros de massas obtidos ao aplicar ambas as abordagens aos grãos de café. Isto é facilmente discernível comparando a Figura 17b e a Figura 17c.

Comparando-se os espectros obtidos por cada uma das técnicas, percebe-se que não há diferenças notáveis entre elas ao se aplicar cada abordagem. As intensidades relativas dos íons, bem como a soma das intensidades absolutas (NL) apresentaram resultados muito próximos quando comparadas, sugerindo assim que os íons foram produzidos com intensidades absolutas comparáveis, independentemente da técnica empregada. Para fins de comprovação, os perfis de fragmentação de íons selecionados detectados nos espectros de massas SPS são mostrados nas Figuras 18 e 19.

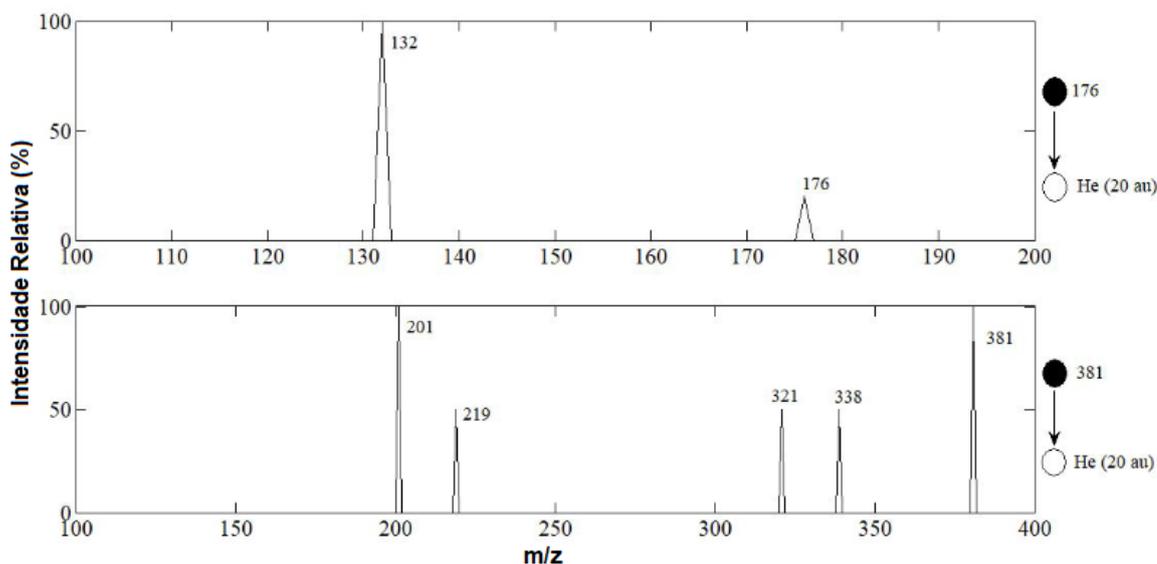


Figura 18: Perfil de fragmentação de íons precursores positivos selecionados (m/z 176 e 381).

Esses perfis de dissociação foram idênticos aos obtidos na seleção em massas e fragmentação dos íons precursores detectados nos espectros de massas obtidos pela aplicação das outras técnicas, PS-MS e TS-MS (resultados não mostrados). Além disso, os perfis de fragmentação foram consistentes com os relatados na literatura [49-51].

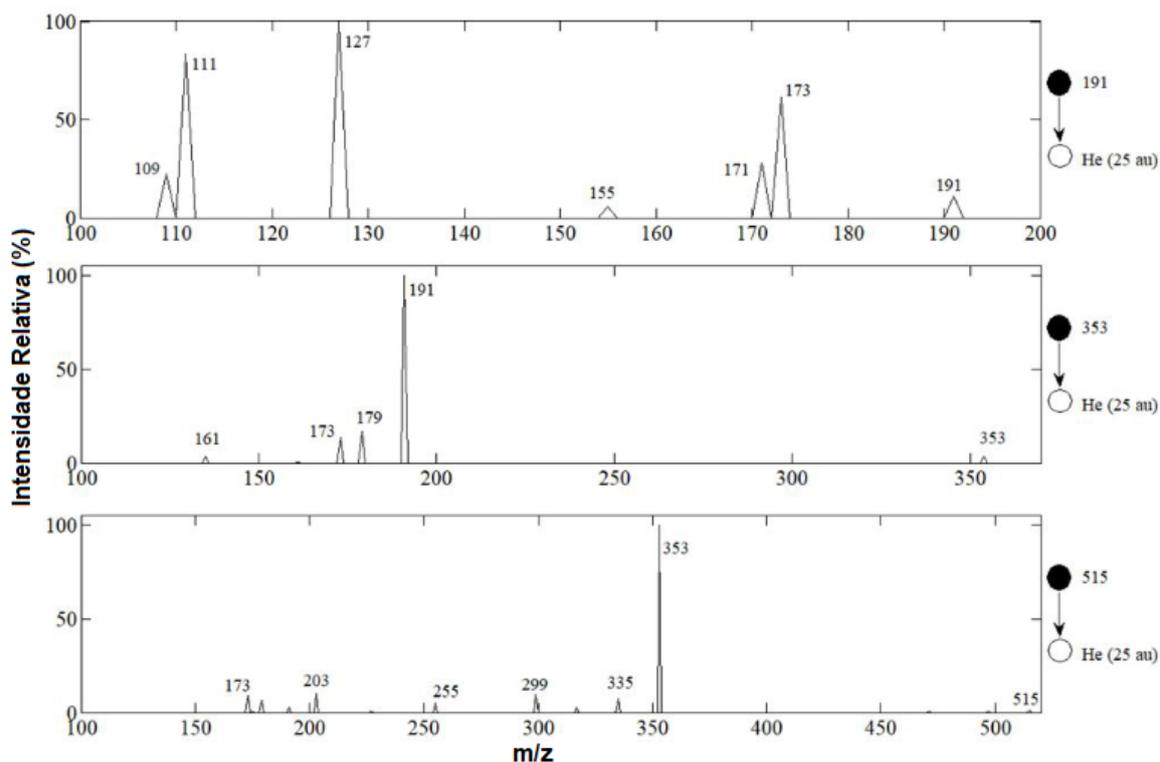


Figura 19: Perfil de fragmentação de íons precursores negativos selecionados (m/z 191, 353 e 515).

A estabilidade do sinal e o número de contagens de íons no SPS-MS foram semelhantes aos verificados para PS-MS. O mecanismo de ionização no SPS-MS é sem dúvida semelhante ao do PS-MS. Portanto, a pulverização de microgotículas geradas na ponta da lixa triangular, auxiliada pela alta voltagem aplicada na base do triângulo, permite a transferência de espécies iônicas para a fase gasosa, que é então atraída dentro do espectrômetro de massas para ser detectada. Os três métodos detectaram compostos típicos em grãos de café verde, produzindo espectros de massas bem parecidos. A principal diferença entre as três abordagens está na preparação da amostra e na intensidade dos sinais. O SPS-MS consiste no mais simples entre os três métodos comparados.

5.3 Conclusões Parciais

Os experimentos demonstraram que a aplicação da lixa como substrato para ionização ambiente é bastante simples, rápida e oferece resultados semelhantes, mas com maior intensidade, a diferentes abordagens, como PS-MS e TS-MS, podendo ter potenciais aplicações em uma vasta gama de matrizes sólidas passíveis de serem lixadas, que serão descritas posteriormente neste trabalho, com uma grande vantagem de não requerer o preparo da amostra.

Capítulo 6. Análise de fármacos

Alguns comprimidos, contendo princípios ativos diversos, foram escolhidos por serem medicamentos de alto consumo no Brasil. Eles foram analisados por SPS-MS a fim de se comprovar a eficiência da técnica na detecção de tais compostos. Tem-se ainda como ideia realizar análises futuras com amostras de alguns medicamentos adulterados e compará-los com os originais. Para tanto, fez-se uma simulação de uma possível adulteração com os medicamentos Viagra® e Cialis®, os quais contém, respectivamente, os seguintes princípios ativos: sildenafil e tadalafila.

6.1 Parte Experimental

Amostras comerciais dos diferentes fármacos analisados foram adquiridas em farmácias na cidade de Belo Horizonte. As análises foram feitas esfregando-se diretamente as amostras nas lixas triangulares com 1,0 cm de lado. A lixa triangular era, então, colocada a aproximadamente 0,5 cm de distância do espectrômetro de massas, conforme mostrado e descrito no item 4.2, página 23, dessa tese. Posteriormente, foram adicionados 25 µL de solvente e aplicada alta tensão (4 kV) na base do triângulo, com um tempo de aquisição de 30s.

Espectros de massas de varredura completa foram adquiridos no modo de ionização (positivo ou negativo) mais adequado para o composto, com faixa m/z inicial de 100-2000, ajustada com base nos íons detectados durante a análise. Experimentos MS/MS foram conduzidos selecionando um íon precursor de interesse, que foi então fragmentado usando dissociação induzida por colisão (CID), com hélio como gás de colisão.

6.2 Resultados Obtidos

6.2.1 Caracterização dos medicamentos Viagra e Cialis

A classe de medicamentos utilizada para tratar da disfunção erétil, cuja marca mais conhecida é o Viagra®, é muito utilizada por homens de diferentes faixas etárias.

Os princípios ativos majoritários que podem ser encontrados em sua composição são a sildenafil e a tadalafila, cuja massas nominais são 474 e 389 Da, respectivamente. É uma classe de medicamento que tem um grande interesse forense, uma vez que muitos são apreendidos pela polícia devido a adulterações em sua fórmula para venda mais barata. A obtenção do espectro de massas por SPS-MS pode ser um importante aliado na detecção de práticas fraudulentas através da comparação de *fingerprints*.

A análise de um comprimido de Viagra produziu um espectro SPS(+)-MS com a presença de um íon intenso de m/z 475 (Figura 20a), designado como [sildenafil + H]⁺, e nenhum outro íon foi detectado com intensidade relativa abundante (limite maior que 2%). No SPS(-)-MS, o sildenafil também foi detectado em sua forma desprotonada de m/z 473 (Figura 20b). Neste espectro de massas, ao contrário do primeiro, observa-se a presença de mais íons com intensidade relativa abundante. Três deles em específico, de m/z 255, 283 e 191, podem ser atribuídos às formas desprotonadas do ácido palmítico, do ácido esteárico e do ácido quínico, respectivamente. Esses íons surgem do estearato de magnésio e do palmitato de magnésio, excipientes comumente usados na formulação desses comprimidos.

Os perfis de fragmentação (MS/MS), com os íons precursores selecionados de m/z 475 e m/z 473 (Figura 21), correspondem aos relatados anteriormente na literatura, indicando assim a correta atribuição das estruturas propostas e, conseqüentemente, a confirmação da presença de sildenafil no comprimido [52].

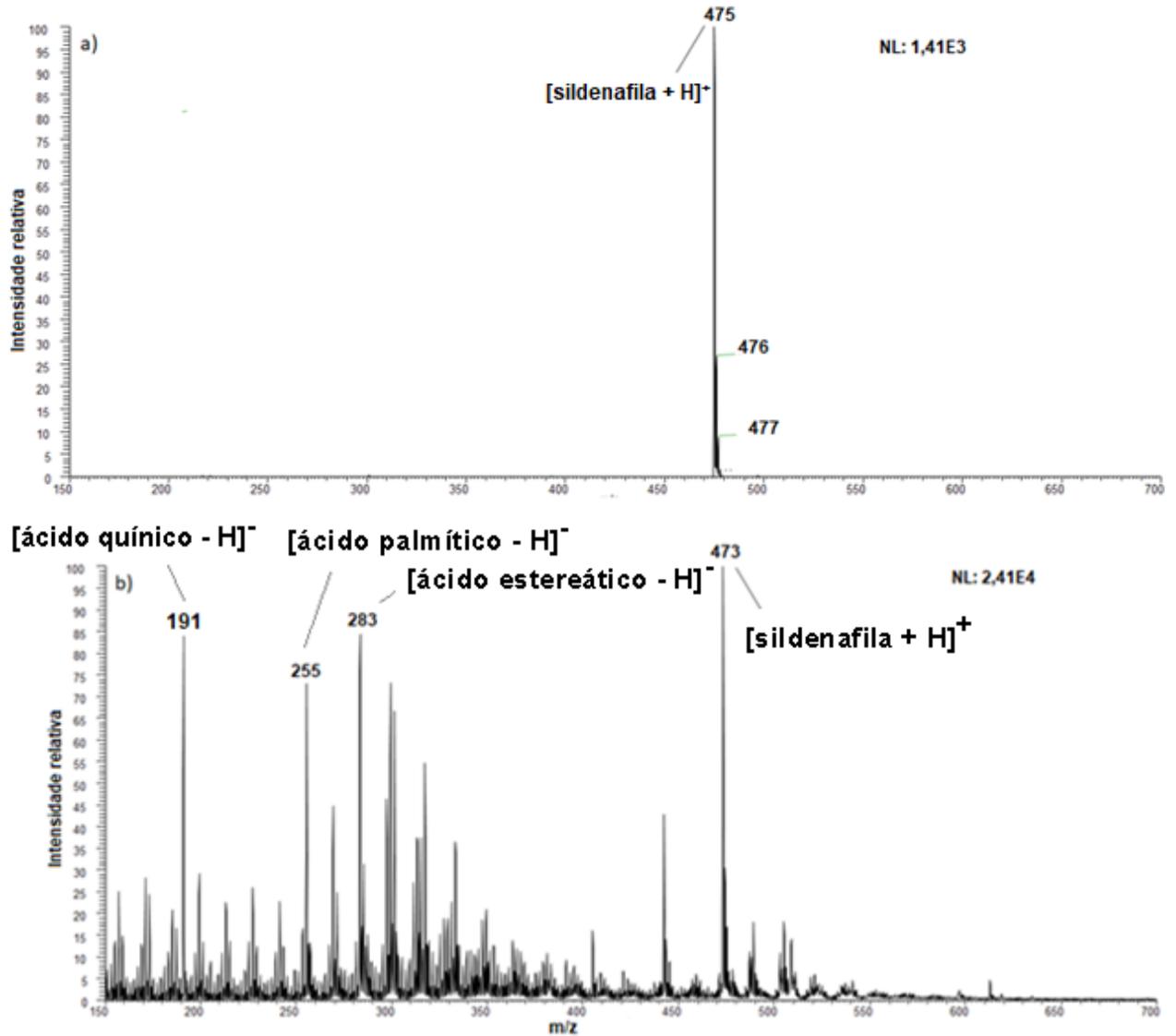


Figura 20: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Viagra® usando MeOH em ambos os modos de ionização em uma faixa de m/z 150 – 700.

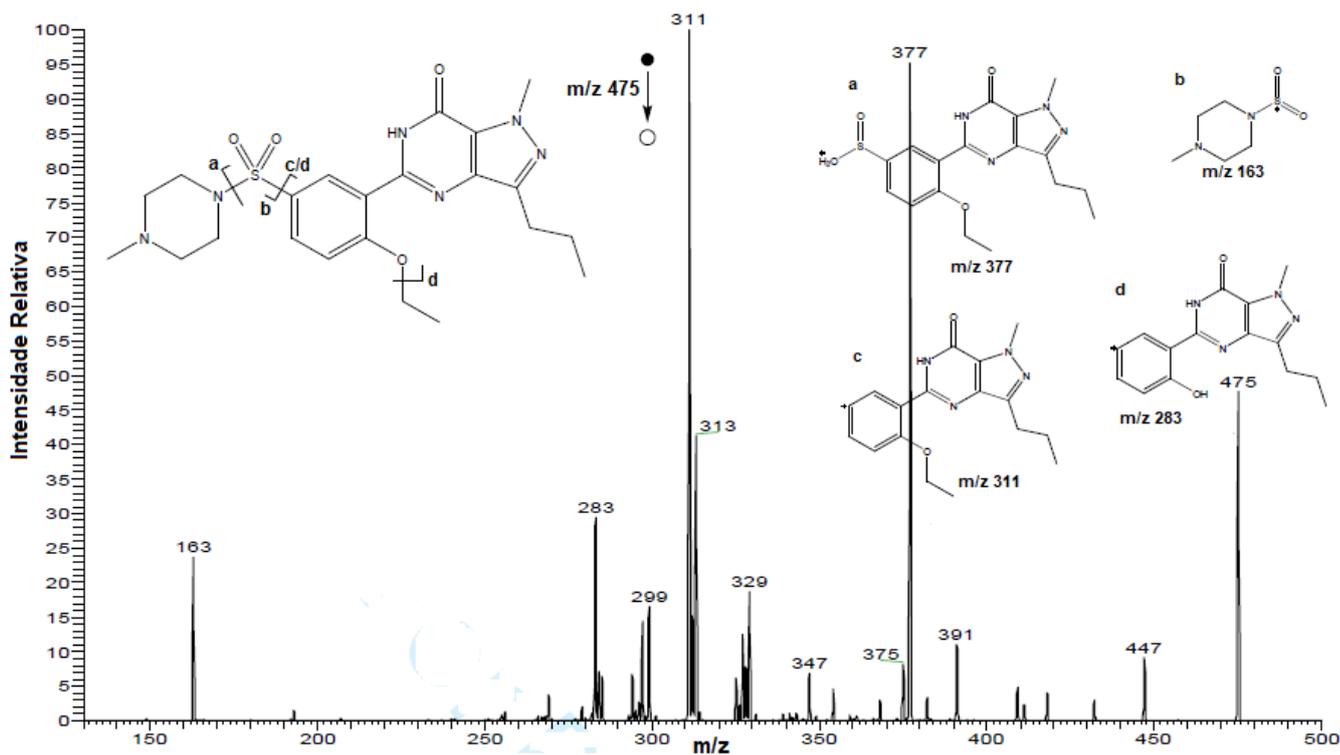


Figura 21: MS/MS (CID 20) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 475 (sildenafil protonada) de um comprimido de Viagra®.

Uma amostra comercial do medicamento Cialis® também foi analisada por SPS-MS e os espectros de massas nos modos positivos e negativos podem ser vistos nas Figuras 22a e 22b, respectivamente. A tadalafila, principal princípio ativo presente em sua constituição, pode ser observada nas formas protonada e desprotonada em m/z 390 e 388, respectivamente. A presença da tadalafila pode ser confirmada pelos perfis de fragmentação das espécies protonadas e desprotonadas (Apêndice A1), os quais foram consistentes com relatos prévios da literatura [53]. Os demais íons que aparecem nos espectros de massas podem ser atribuídos aos excipientes presentes no medicamento.

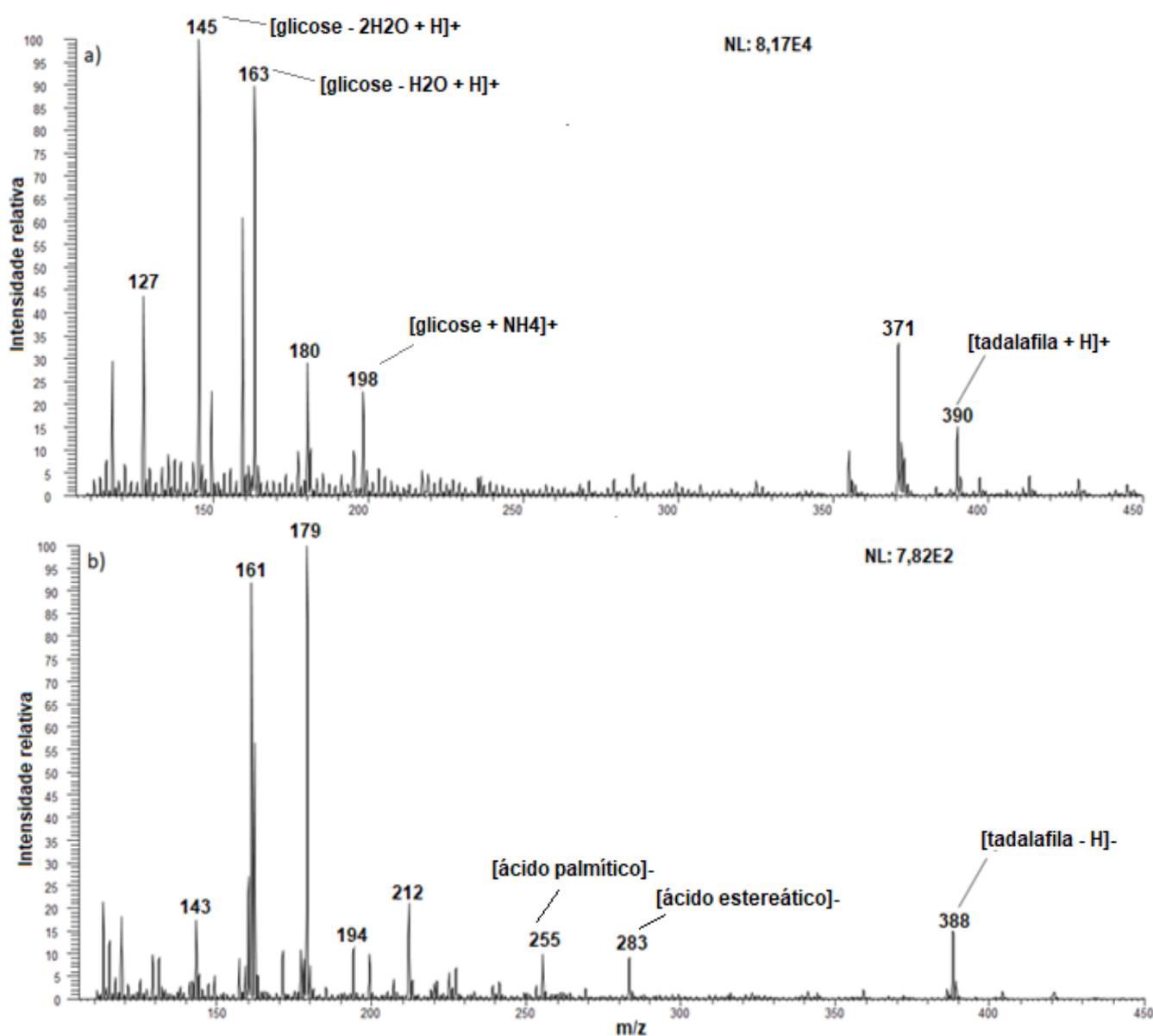


Figura 22: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de amostra comercial de Cialis® em uma faixa de massa de m/z 100 – 450.

6.2.2 Analgésicos e anti-inflamatórios não esteroidais

Os anti-inflamatórios não esteroidais, também conhecidos como antipiréticos, são utilizados para combater a febre ao inibir o mecanismo que eleva a temperatura corporal. Os analgésicos são medicamentos utilizados para combater qualquer tipo de dor, como dor de cabeça, dor de dente, dor muscular dentre outras. Alguns dos medicamentos mais comuns desse grupo são o ácido acetilsalicílico (180 Da), a

dipirona (311 Da) e o paracetamol (151 Da). Tanto a dipirona quanto o paracetamol, objetos de interesse nesse trabalho, podem ser encontrados geralmente em comprimidos de 500 e 750 mg com administração de 4-6 horas, sendo a excreção realizada de forma renal. A estrutura molecular desses fármacos pode ser vista na Figura 23.

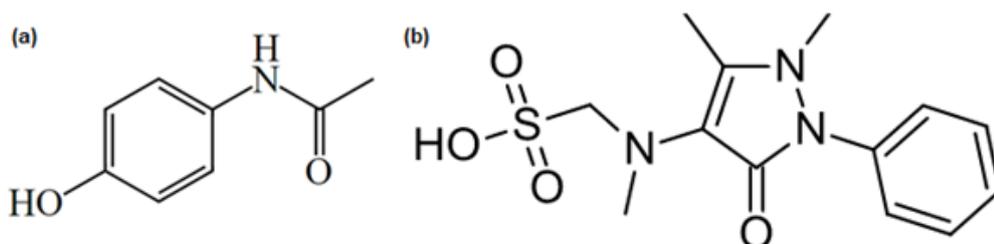


Figura 23: Estrutura química do (a) paracetamol e da (b) dipirona.

Os espectros de massas obtidos para análise do paracetamol e da dipirona podem ser observados nas Figuras 24 e 25, respectivamente. Em todas as triplicatas os resultados apresentaram grande similaridade, por isso optou-se por mostrar o espectro de massas de apenas uma das replicatas.

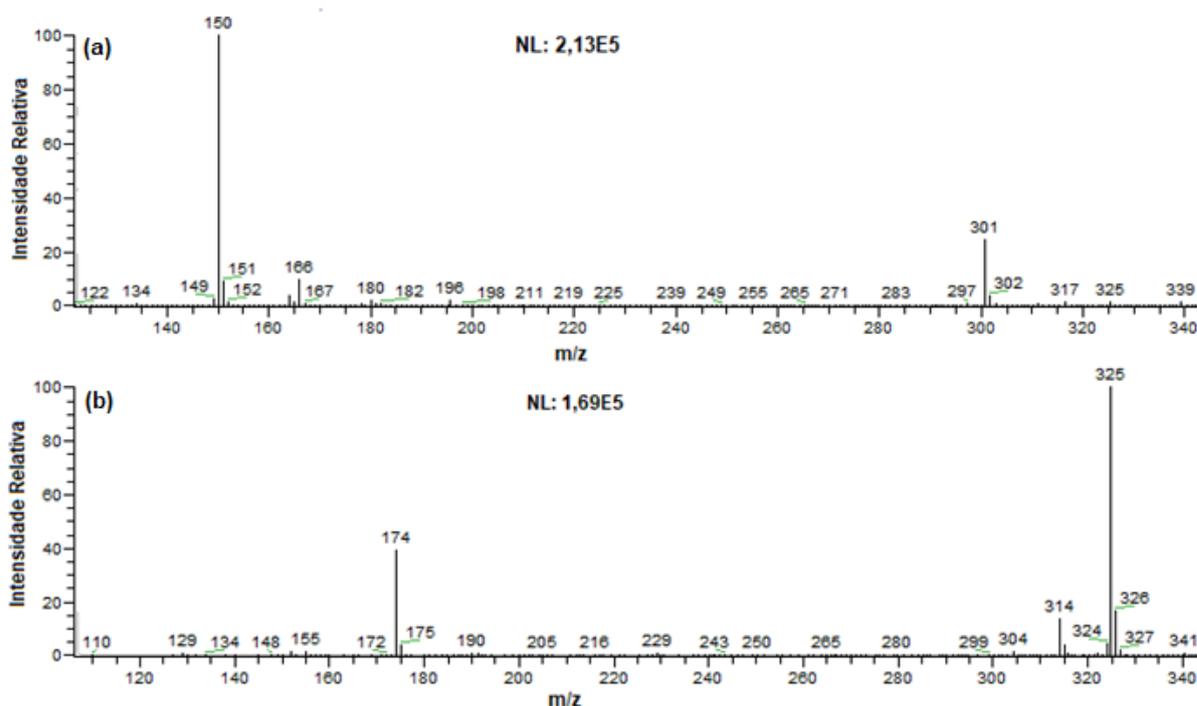


Figura 24: Espectros SPS(-)-MS (a) e SPS(+)-MS (b) obtidos a partir de comprimidos de paracetamol.

Na análise do espectro de massas obtido no modo positivo para o paracetamol, percebe-se a presença de um íon muito intenso de m/z 325, o qual pode ser atribuído à formação de um dímero de sódio, i.e. $[2M+Na]^+$. A formação de tal aduto deve-se à presença de sódio em alguns excipientes utilizados na fabricação do comprimido, tal como o amidoglicolato de sódio. O íon de m/z 174 corresponde ao aduto de sódio do paracetamol, também conhecido por acetaminofeno, i. e. $[M+Na]^+$. Já no modo negativo, o íon mais intenso é aquele de m/z 150, o qual pode ser atribuído à forma desprotonada do paracetamol, i. e. $[M-H]^-$. Além desse, observa-se também um íon de m/z 301 que corresponde ao dímero desprotonado do paracetamol, i. e. $[2M-H]^-$.

Para o comprimido da dipirona o espectro de massas obtido no modo positivo demonstrou a presença do princípio ativo metamizol, mais comumente conhecido como dipirona, na forma protonada, $[M + H]^+$ de m/z 311. Outros sinais que aparecem podem estar associado a fragmentações do íon-precursor de m/z 310.

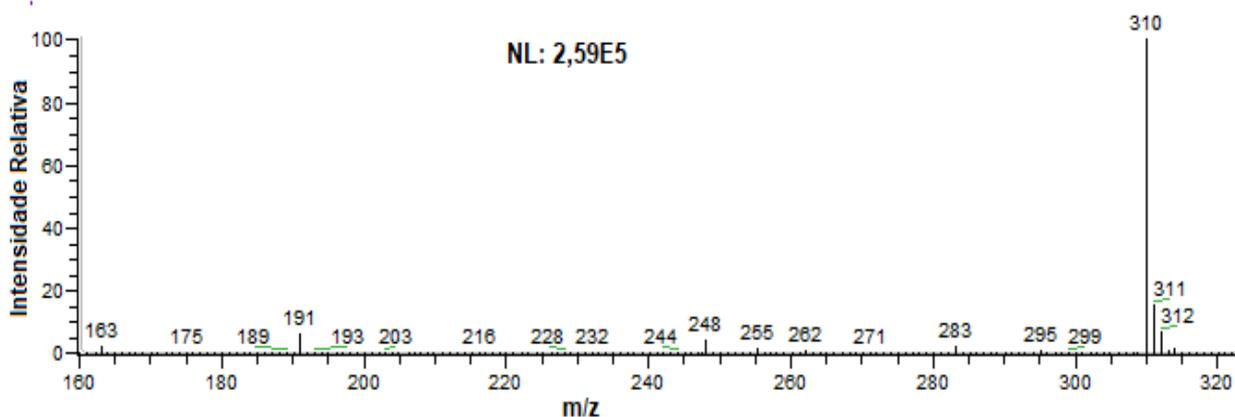


Figura 25: Espectro SPS-MS no modo negativo de um comprimido de dipirona.

Os perfis dos espectros obtidos para o paracetamol e a dipirona usando a técnica de SPS-MS estão de acordo com os relatados anteriormente pela literatura aplicando a espectrometria de massas [57,58]. Além disso, eles também mostram padrões de fragmentação que estão associados a possíveis fragmentações dos íons-precusores de m/z 150 e 310 [58].

6.2.3 Ansiolíticos

Ansiolíticos, ou benzodiazepínicos, são medicamentos que tratam diversos distúrbios mentais, especialmente a ansiedade. Também são chamados de calmantes, como resultado de sua ação tranquilizante. Agem diretamente em determinadas regiões do cérebro, reduzindo a euforia e a tensão. Porém, podem provocar dependência química e efeitos colaterais, tais como fadiga, sonolência, redução da atenção e concentração, devendo, portanto, ser usados apenas sob prescrição médica [57]. No Brasil, têm recebido uma atenção especial e preocupante, devido ao consumo sem prescrição médica, principalmente por parte dos jovens [58].

Alprazolam (308 Da), mais conhecido como Rivotril, e clonazepam (315 Da) são dois dos ansiolíticos mais consumidos que agem rapidamente no sistema nervoso central, cujas estruturas são similares e podem ser vistas na Figura 26. Comprimidos contendo estes dois princípios ativos foram analisados por SPS-MS.

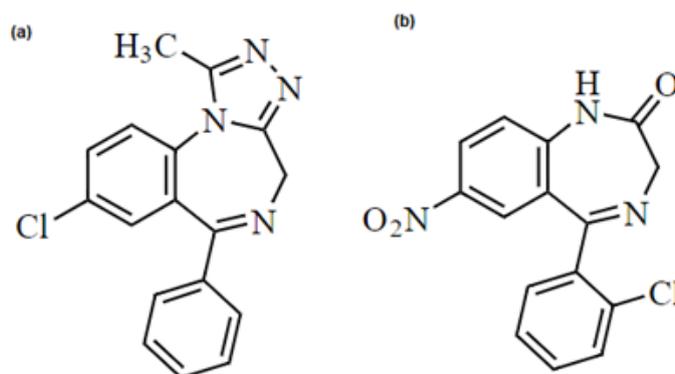


Figura 26: Estruturas químicas do (a) alprazolam e (b) clonazepam.

No espectro de massas obtido no modo positivo para o alprazolam, Figura 27, é possível observar que o íon mais intenso é o de m/z 309, correspondente à molécula protonada, $[M+H]^+$. Por ter um átomo de cloro em sua estrutura, observa-se também o isotópico de m/z 311, com uma abundância relativa de cerca de 30 % em relação ao íon de m/z 309. Duas fragmentações que podem ser observadas no espectro de massas em baixas intensidades correspondem à perda de N_2 , $[M+H-N_2]^+$, originando o íon produto de m/z 281, e a perda de um átomo de cloro, gerando um íon produto de m/z 273.

Para o clonazepam (Figura 28), percebe-se a presença de um número maior de íons no espectro de massas. A espécie protonada do clonazepam é observada como um íon de m/z 316. O sinal de m/z 174, o mais intenso no espectro de massas, talvez seja relacionado a uma fragmentação do íon-precursor de m/z 316.

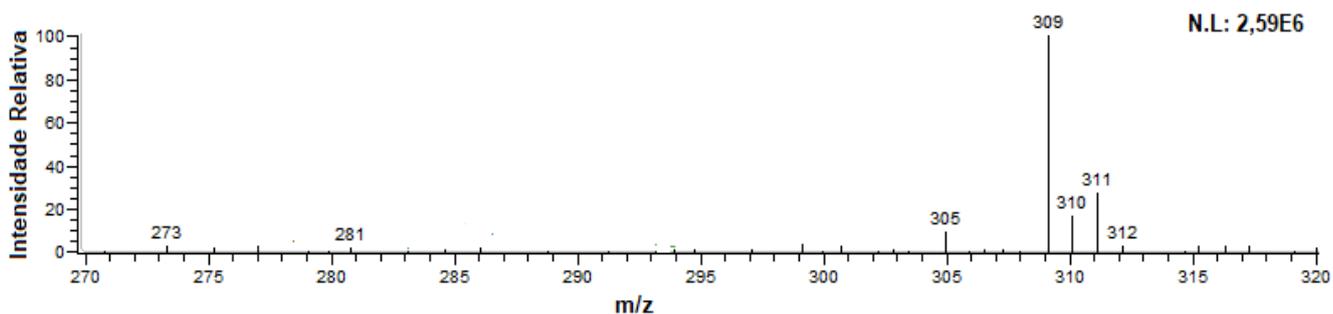


Figura 27: Espectro SPS-MS no modo positivo de um comprimido de alprazolam.

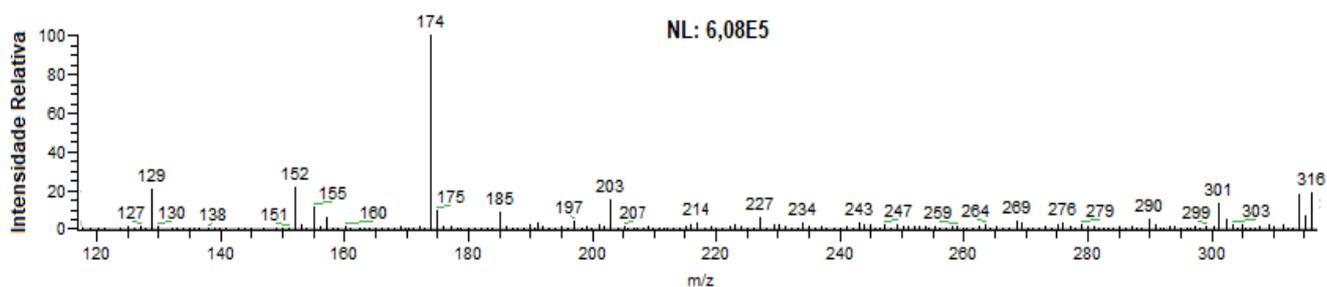


Figura 28: Espectro SPS-MS no modo positivo de um comprimido de clonazepam.

6.2.4 Medicamentos para hipertensão e colesterol

O fármaco Pressat® é indicado como medicamento de primeira escolha no tratamento da hipertensão (pressão alta) e angina de peito (dor no peito, por doença do coração) devido à isquemia miocárdica (falta de sangue no coração) e possui como princípio ativo o anlodipino (408 Da). O seu princípio ativo pode ser identificado no espectro obtido por SPS(+)-MS na forma protonada em m/z 409 (Figura 29). Como ele possui cloro em sua estrutura, o isotopólogo é facilmente observado em m/z 411. Ainda é possível observar dois íons importantes no espectro em m/z 431 e 816 que correspondem aos adutos de sódio, $[\text{anlodipino} + \text{Na}]^+$, e $[(\text{anlodipino})_2 + \text{H}]^+$, respectivamente. Foi escolhido apenas o modo positivo pelo fato de sua estrutura ser mais facilmente ionizável nesse modo. O espectro MS/MS do íon precursor m/z 409

pode ser visto na Figura 30, em que os fragmentos gerados estão consistentes com a estrutura química do anlodipino.

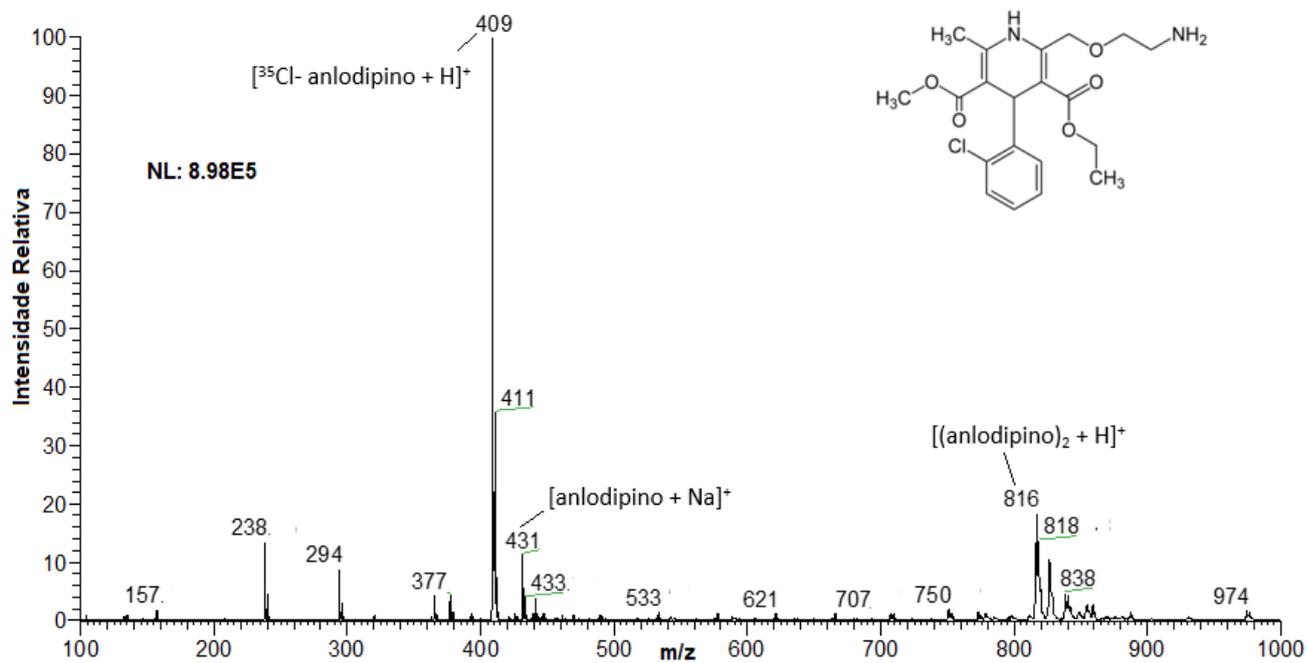


Figura 29: Espectro SPS(+)-MS de um comprimido de Pressat® em uma faixa de m/z 100-1000.

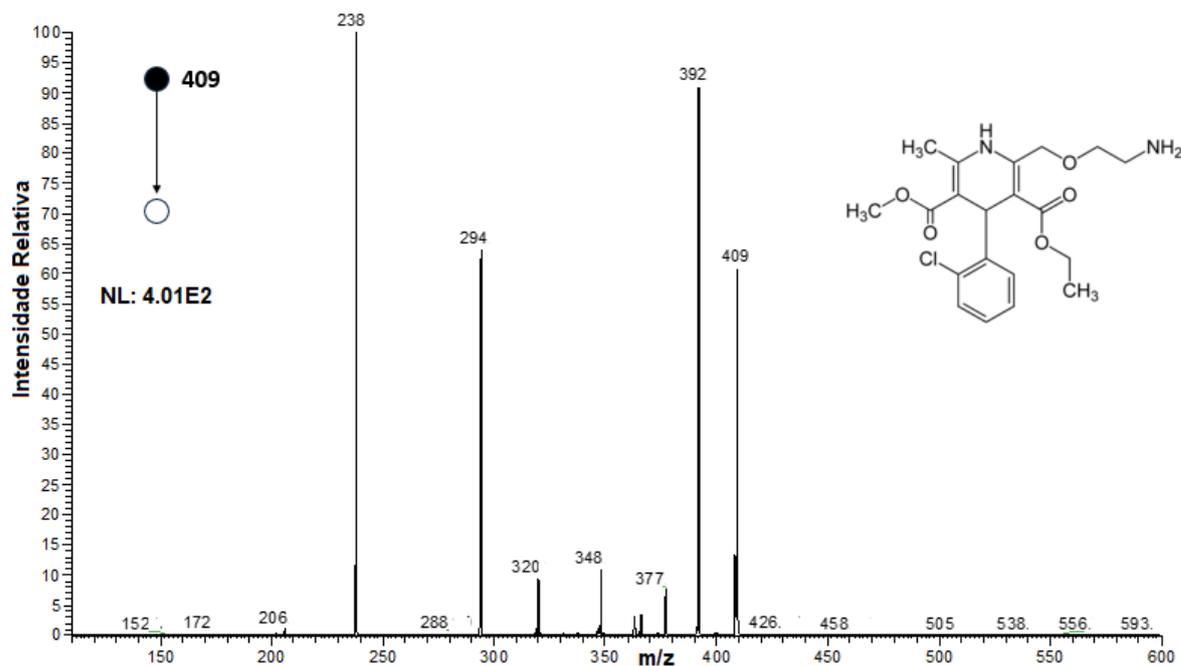


Figura 30: Espectro MS/MS (CID 20) do íon precursor de m/z 409 de um comprimido de Pressat®.

O Ramipril® também é utilizado como um anti-hipertensivo que promove a queda dos níveis elevados da pressão arterial. Seu princípio ativo possui massa de 416 Da e também pode ser chamado de altace. Devido a sua estrutura química, foi possível obter os espectros de SPS-MS em ambos os modos de ionização (Figura 31).

Devido a sua estrutura química, foi possível obter os espectros de SPS-MS em ambos os modos de ionização (Figura 31). No SPS(+)-MS, o ramipril foi detectado em suas formas protonada (m/z 417), sodiada (m/z 439) e como um dímero sodiada (m/z 855). Íons significativos que não puderam ser identificados incluem m/z 234 e m/z 399. No SPS(-)-MS, o ramipril foi caracterizado pela presença dos íons m/z 415 ([ramipril – H]⁻), m/z 831 ([ramipril]₂ – H]⁻), e m/z 451/453 ([ramipril + Cl]⁻). Para confirmar a presença do princípio ativo, os perfis de fragmentação do íon precursor protonado (m/z 417) foi submetido à seleção e dissociação e pode ser visto no Apêndice A2, estando coerentes com o que se espera da estrutura química do ramipril.

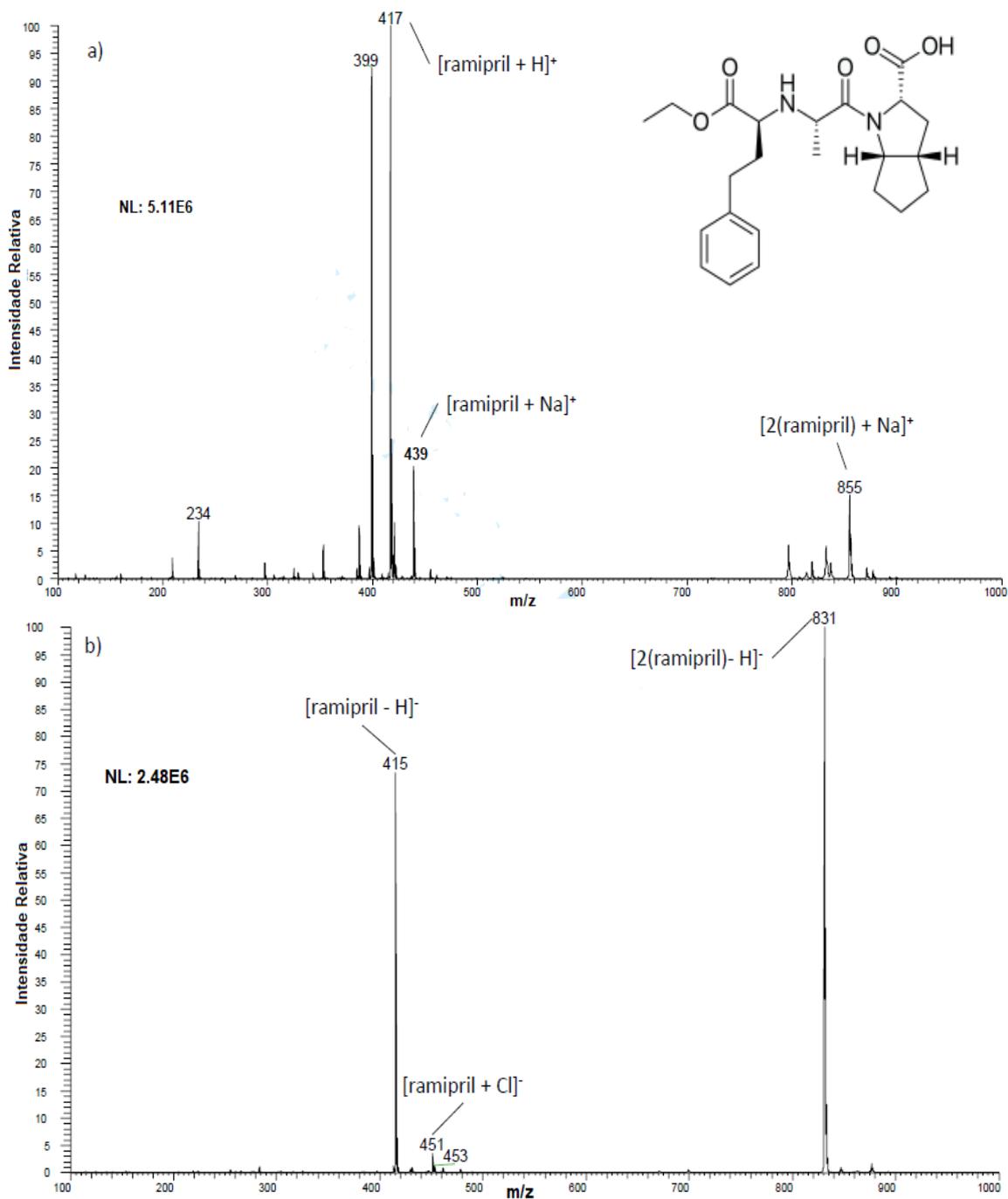


Figura 31: Espectro (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Ramipril® em uma faixa de m/z 100-1000.

O maleato de enalapril, um medicamento genérico, também é um remédio indicado para o controle da hipertensão. Seu princípio ativo é o enalapril (376 Da), pode ser facilmente identificado no espectro SPS(+)-MS na forma protonada como um íon em m/z 377 (Figura 32). Além desse íon, também é possível identificar os íons m/z 399, como sendo um aduto de sódio [enalapril + Na]⁺, m/z 775 o aduto [(enalapril)₂ + Na]⁺, m/z 797 o [(enalapril)₂ - H + 2 Na]⁺ e m/z 819 o aduto [(enalapril)₂ - 2 H + 3 Na]⁺.

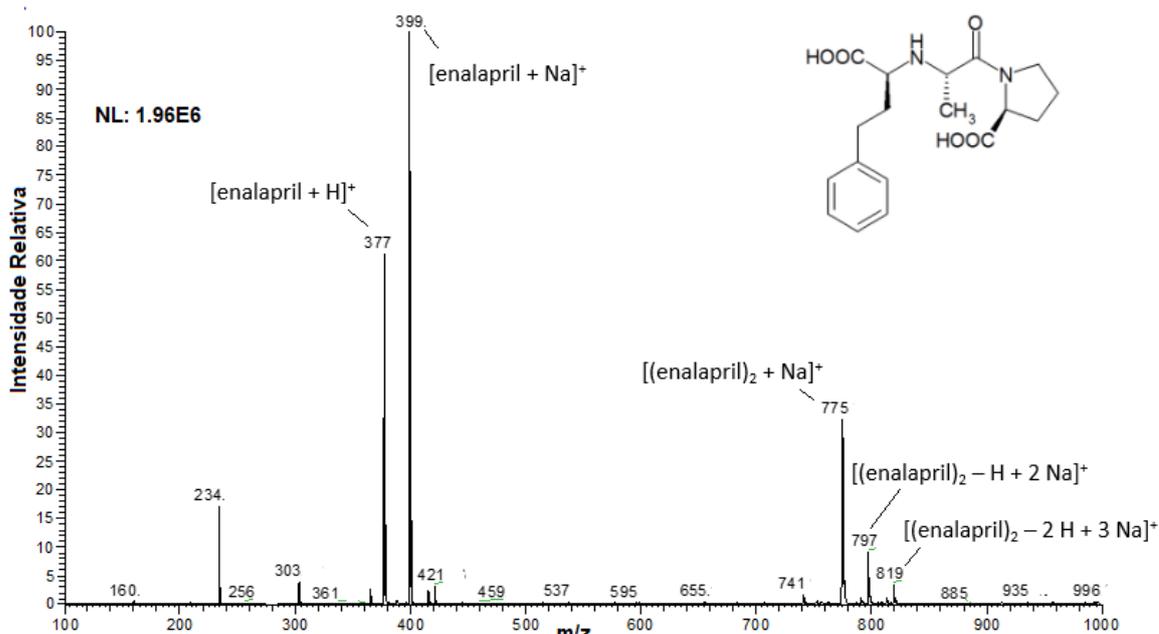
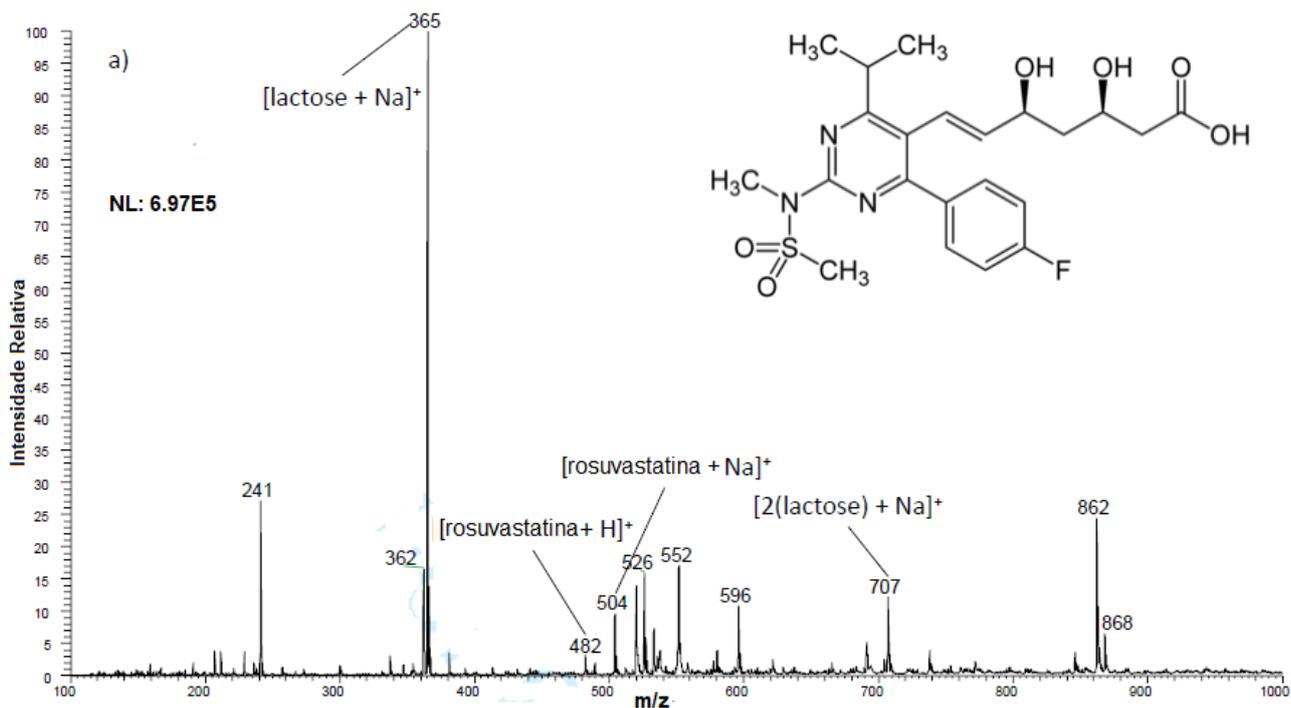


Figura 32: Espectro SPS(+)-MS de um comprimido de Maleato de Enalapril em uma faixa de m/z 100-1000.

Os espectros MS/MS que representam as fragmentações dos íons precursores m/z 377 e 399 podem ser vistos no Apêndice A3, sendo que tais fragmentações estão de acordo com a estrutura química do enalapril. A partir dos espectros obtidos para estes medicamentos utilizados no controle da hipertensão, pode-se dizer que a técnica SPS-MS pode ser facilmente aplicada e utilizada na distinção entre um medicamento original e o seu genérico.

O medicamento Crestor®, cujo princípio ativo é a rosuvastatina (481 Da), inibe uma importante enzima para produção endógena do colesterol, chamada HMG-CoA redutase e, portanto, o seu uso contínuo reduz o nível de lipídeos no sangue. No SPS(+)-MS (Figura 33a) a rosuvastatina foi detectada na sua forma protonada (m/z

482) e no seu aduto de sódio (m/z 504), bem como no aduto de sódio de um dímero de lactose. Já no SPS(-)-MS (Figura 33b), sua forma desprotonada (m/z 480), o aduto clorado (m/z 516/518) e o dímero desprotonado (m/z 961/963) do princípio ativo foram detectados. Alguns outros íons detectados incluem o ácido palmítico desprotonado (m/z 255), o aduto clorado de lactose (m/z 377/379) e o aduto clorado de um dímero de lactose (m/z 719/721).



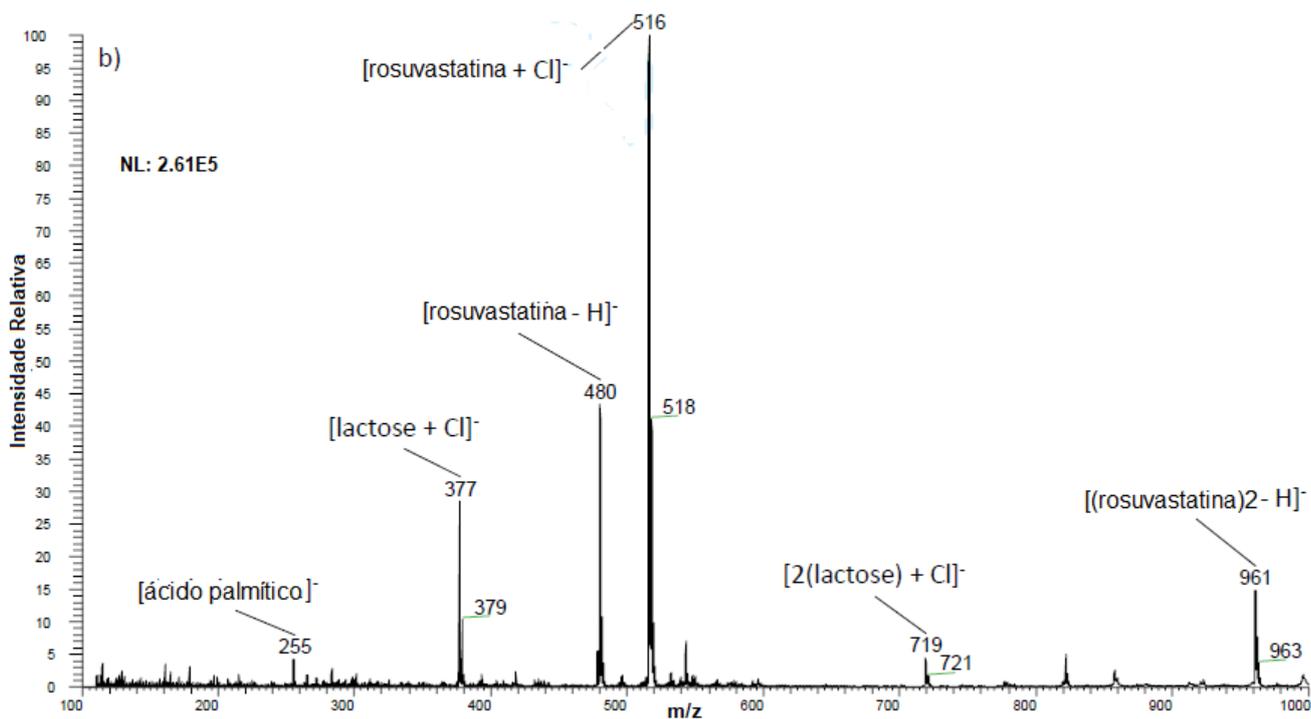


Figura 33: Espectros (a) SPS(+)-MS e (b) SPS(-)-MS de um comprimido de Crestor® com uma faixa de m/z de 100-1000.

Esses íons surgem de compostos adicionados como excipientes nesta formulação. Assim como foi feito para os medicamentos anteriores, os dados de MS/MS foram adquiridos com o íon precursor de m/z 480 correspondendo ao perfil esperado para a estrutura química da rosuvastatina (Apêndice A4).

6.2.5 Outras classes de fármacos

Algumas outras classes de fármacos também foram estudadas neste trabalho: (i) antialérgico, através do medicamento denominado Histyn (maleato de dexclorfeniramina); (ii) relaxante muscular, através do Miosan; (iii) tratamento de cólicas gastrointestinais e desconforto muscular, através do Buscopan (butilbrometo de escopolamina) e (iv) multivitamínico.

Os antialérgicos, também conhecidos como anti-histamínicos, são fármacos que bloqueiam a substância que atua em processos alérgicos. Um anti-histamínico é um medicamento que busca inibir a ação da histamina. Este último é um mediador químico secretado pelo corpo, especialmente no caso de reações

alérgicas. Relaxantes musculares são uma classe de medicamentos voltada para problemas musculares, como espasmos. Espasmos musculares podem causar um variado número de patologias, incluindo dores lombares, dores no pescoço e fibromialgia. As estruturas químicas correspondentes aos princípios ativos dos medicamentos maleato de clorfeniramina (274 Da), cloridrato de ciclobenzaprina (275 Da) e butilbrometo de escopolamina (303 Da) podem ser vistas na Figura 34.

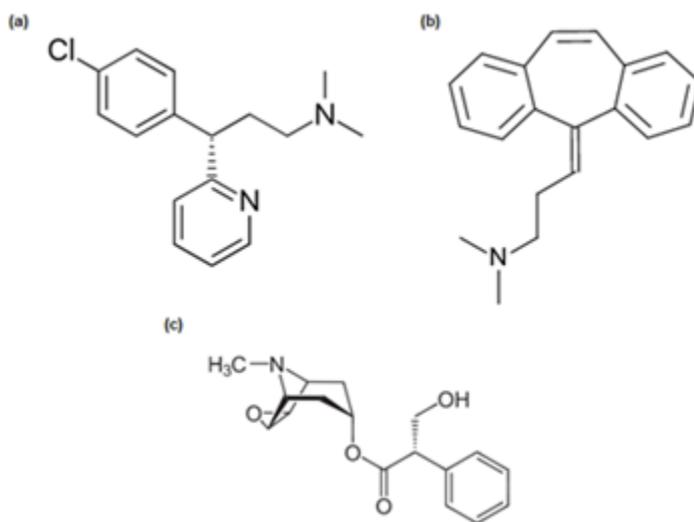


Figura 34: Estrutura química dos princípios ativos dos medicamentos: (a) Histyn, (b) Miosan, (c) Buscopan.

O espectro de massas obtido no modo positivo por SPS-MS de um comprimido de Histyn mostra os íons característicos do seu principal princípio ativo, o maleato de clorfeniramina. No espectro da Figura 35 é possível observar o princípio ativo protonado em um sinal m/z 275, sendo este o íon mais intenso. Por ter um átomo de cloro em sua estrutura, observa-se também o isotópologo em m/z 277, com uma abundância relativa de cerca de 30 % em relação ao íon de m/z 275. O sinal presente em m/z 230 pode ser atribuído a uma fragmentação da espécie protonada pela perda de dimetilamina, $NH-(CH_3)_2$.

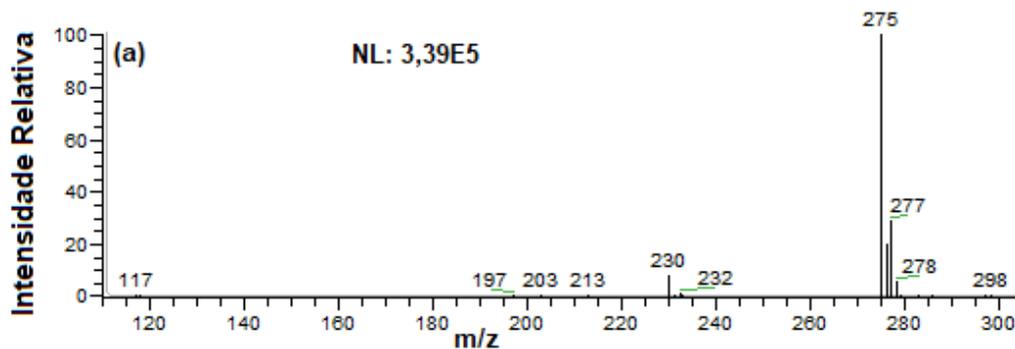


Figura 35: Espectros SPS-MS no modo positivo do fármaco Histyn.

O princípio ativo do fármaco Miosan é a ciclobenzaprina (275 Da), claramente evidenciado em sua forma protonada no íon m/z 276 no espectro SPS-(+)-MS da Figura 36.

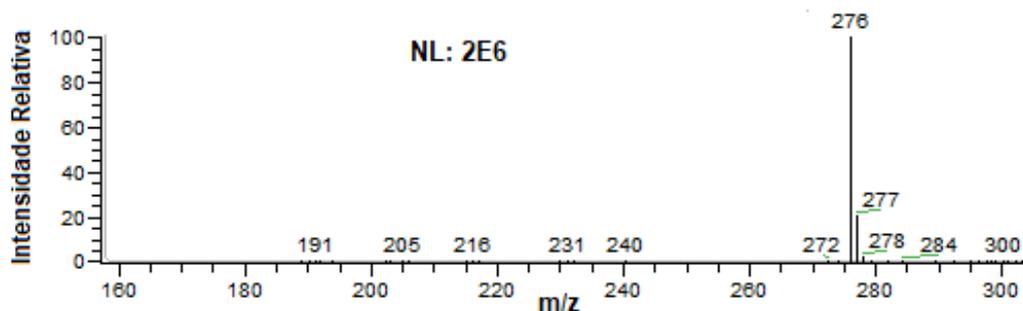


Figura 36: Espectro SPS-MS no modo positivo do fármaco Miosan.

O princípio ativo do Buscopan é a escopolamina (303 Da), porém pode ser comumente encontrado como n-butilescolamina, cuja massa nominal é 360 Da. No espectro de massas SPS-(+)-MS obtido, pode-se observar a presença de um íon intenso em m/z 360 correspondente a este composto.

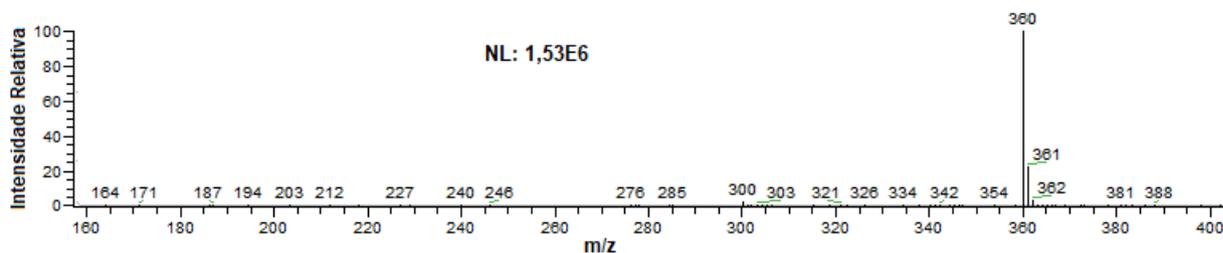


Figura 37: Espectro SPS-MS no modo positivo do fármaco Buscopan.

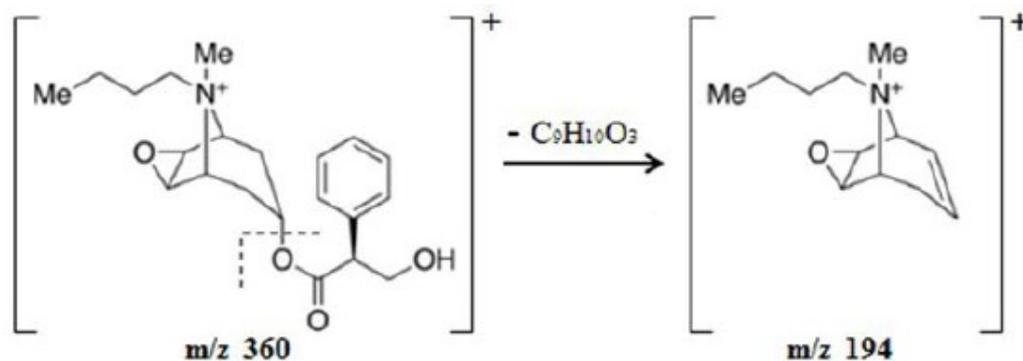


Figura 38: Proposta de fragmentação do íon-precursor de m/z 360 para o princípio ativo do fármaco Buscopan.
Adaptado da referência [59].

A literatura descreve a presença de um espectro semelhante ao obtido neste trabalho e ainda retrata a fragmentação desse íon-precursor em que aparece como um dos íons-filho intensos um sinal em m/z 194 correspondente a perda de $C_9H_{10}O_3$ de sua estrutura (Figura 37), e que também apareceu no espectro de SPS-MS [59]. Sendo assim, podemos dizer que a técnica SPS-MS se mostrou como uma técnica rápida e eficaz na identificação do princípio ativo deste medicamento.

Multivitamínico

Os suplementos alimentares são produtos alimentícios, constituem-se em fontes concentradas de determinados nutrientes ou de outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico, administradas isoladas ou em combinação, destinados a complementar e/ou suplementar a alimentação. Sua finalidade é fornecer nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos em complemento à alimentação. Nesse contexto, Alencar e Moraes descrevem a ingestão de suplementos como um aliado para a manutenção da saúde prevenindo manifestações patológicas e estado de carência nutricional, as quais podem ter um impacto significativo na manutenção ou melhora da condição de saúde dos pacientes [63]. Além disso, quando utilizados adequadamente podem evitar enfermidades, prolongar as consequências do envelhecimento e aperfeiçoar a aparência física, auxiliando para o bom funcionamento do organismo. No entanto, sua ingestão deve ser feita sob orientação médica e sua

regulamentação é prescrita pela ANVISA, de acordo com a RDC nº 243 de 26 de julho de 2018 [64].

Um multivitamínico, em geral, contém em sua composição uma série de vitaminas como C, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, A, E, D2 (ou D3), K, além de minerais como potássio, iodo, selênio, borato, zinco, cálcio, magnésio, manganês, molibdênio, beta-caroteno e /ou ferro. Pensando na importância desse medicamento, realizou-se a análise por SPS-MS de um multivitamínico para acessar o perfil químico dos seus constituintes e o espectro de massas obtido no modo positivo pode ser visto na Figura 39.

Conforme pode ser observado, foi possível identificar grande parte das vitaminas presentes como princípio ativo no modo positivo, uma vez que suas estruturas possuem grupos funcionais passíveis de serem protonados, sendo elas identificadas na própria figura. Tal identificação foi possível através das estruturas químicas de tais vitaminas, como mostrado na Figura 40. Com isso, pode-se dizer que a SPS-MS se mostrou como uma técnica eficiente para a identificação de vitaminas presentes na drágea deste multivitamínico

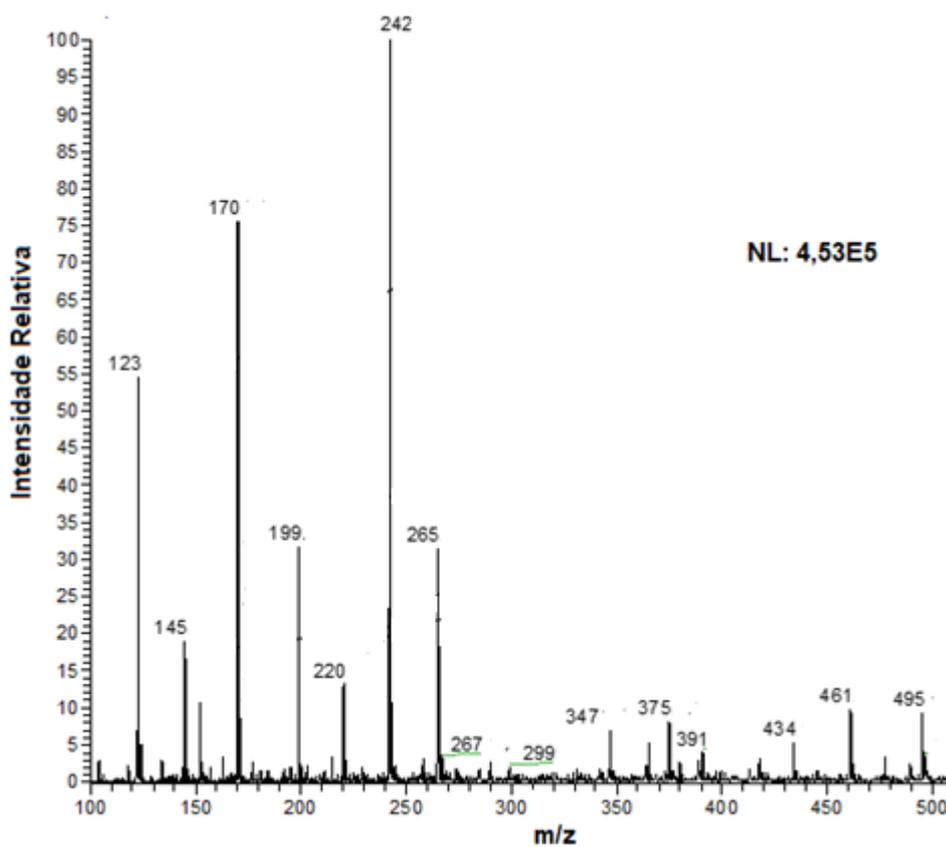


Figura 39: Espectro SPS-MS no modo positivo de uma drágea de multivitamínico.

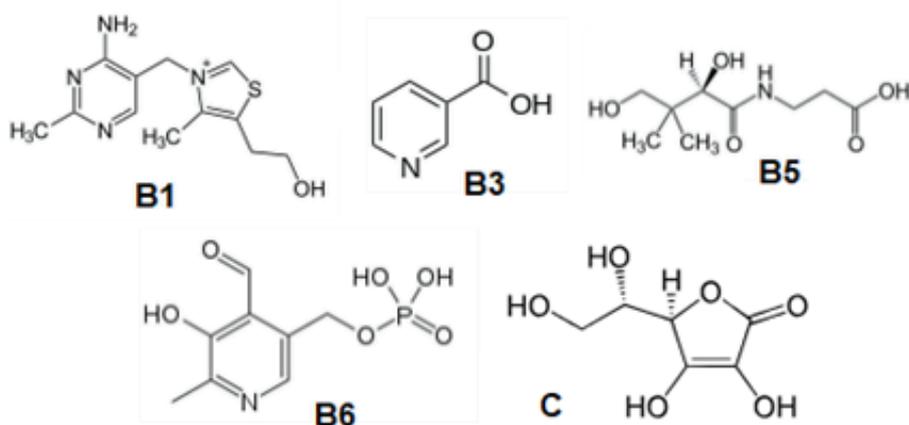


Figura 40: Estrutura química das principais vitaminas identificadas na amostra de uma drágea de multivitamínico.

6.3 Conclusões Parciais

Os resultados que acabamos de descrever seriam definitivamente úteis na detecção de certas fraudes. Por exemplo, o homosildenafil, anteriormente relatado como uma alternativa e/ou adulterante ao sildenafil, possui efeitos farmacológicos bem distintos ao sildenafil e pode ser detectado em sua forma protonada, m/z 489, ou como seu aduto sodiado, m/z 497, como falsificações de sildenafil. A presença de homosildenafil também pode ser confirmada pelo perfil de fragmentação de sua forma protonada (MS/MS) [54] Conforme indicado pelos resultados aqui apresentados, os dados de SPS-(+)-MS poderiam detectar prontamente a ocorrência de tais falsificações.

Outra prática particularmente preocupante, diz respeito à substituição de comprimidos contendo tadalafila por sildenafil. O lucro dos fraudadores ocorre pelo fato da sildenafil ser um princípio ativo mais barato. Este tipo de fraude também tem sido detectada por técnicas mais complexas, como a espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) [55].

Outras técnicas espectroscópicas, muitas vezes em conjunto com a análise quimiométrica, também foram empregadas [56]. O SPS-MS apresenta vantagens consideráveis sobre as técnicas mencionadas, principalmente devido à detecção pronta e conclusiva do sildenafil e do tadalafila, que são capazes de utilizar ambos os modos de ionização.

Além disso, foi possível também identificar rapidamente e claramente os sinais correspondentes aos princípios ativos de variadas classes de medicamentos utilizando a técnica SPS-MS, mostrando a eficácia da sua aplicabilidade.

Capítulo 7.

Produtos processados:
Balas e gomas de mascar

Amostras comerciais de balas e gomas de mascar do tipo Halls e Trident, respectivamente, foram analisadas pela técnica SPS-MS, com o intuito de comparar a veracidade da presença ou ausência do principal componente do açúcar nas amostras ditas “com” e “sem” a presença desse princípio em seus rótulos. O estudo dessas amostras se faz importante uma vez que o consumo de açúcar na população mundial e brasileira vem se tornando cada vez maior, principalmente entre crianças e adolescentes, de acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO). Além disso, o caráter viciante do açúcar preocupa devido aos efeitos na qualidade e expectativa de vida da população, o que também contribui para um maior caráter de obesidade se não ingerido de maneira correta na dieta alimentar.

A sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) é o principal constituinte de balas, responsável pelo sabor adocicado, além de contribuir para a textura do mesmo, podendo ser utilizada na forma de cristais ou de açúcar líquido e com baixo teor de cinzas para evitar a formação de espumas no processamento. Outros carboidratos que também são utilizados como ingredientes no processamento de balas são o açúcar invertido, o xarope de glicose, além de alguns acidulantes, estabilizantes, aromatizantes e corantes que ajudam a manter o sabor, cor e aroma [60].

Assim como nas balas, a sacarose também é um dos principais ingredientes na produção de goma de mascar. Como base do produto são utilizados compostos petroquímicos como polímeros, agentes plastificantes como o poliacetato de vinila (PVA) para conferir elasticidade. Além disso, edulcorantes, aromatizantes e alguns aditivos especiais para sua conservação são empregados no processo [61].

Os edulcorantes, popularmente conhecidos como adoçantes, são definidos pela ANVISA como substâncias naturais ou artificiais, diferentes dos açúcares, que conferem sabor doce aos alimentos, sendo que possuem pouco valor calórico e, em sua maioria, não são absorvidos pelo organismo. Apesar do menor valor calórico, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estes estão associados ao risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes, doenças do coração, hipertensão, dentre outras, devendo, pois, o seu uso ser de maneira controlada.

7.1 Parte experimental

Três diferentes amostras comerciais de bala do tipo *halls*: *halls* preto com açúcar, *halls* vermelho e verde sem açúcar e uma amostra de goma de mascar do tipo *trident* sem açúcar foram adquiridas no comércio de Belo Horizonte. Os procedimentos adotados para as análises, assim como o equipamento utilizado foram semelhantes aos descritos no item 4.2 desta tese.

7.2 Resultados obtidos

Os espectros de massa obtidos no modo positivo e negativo para essas amostras podem ser observados nas Figuras 41, 42, 43 e 44, respectivamente.

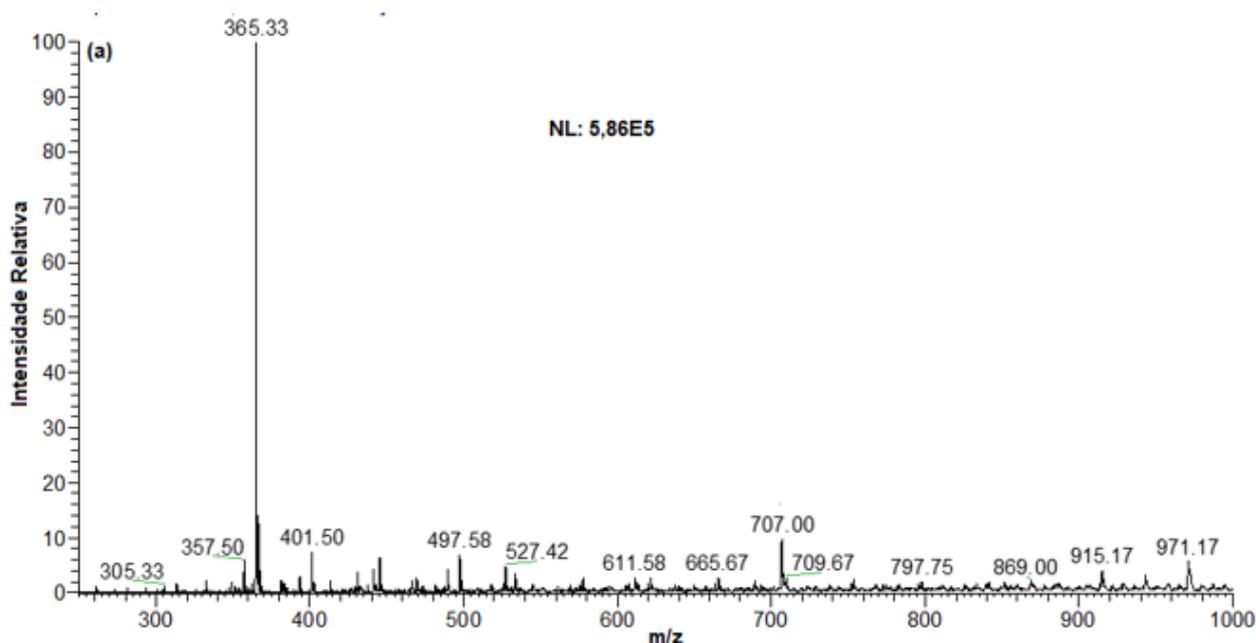


Figura 41: Espectro SPS(+)-MS da bala do tipo *halls* preto com açúcar.

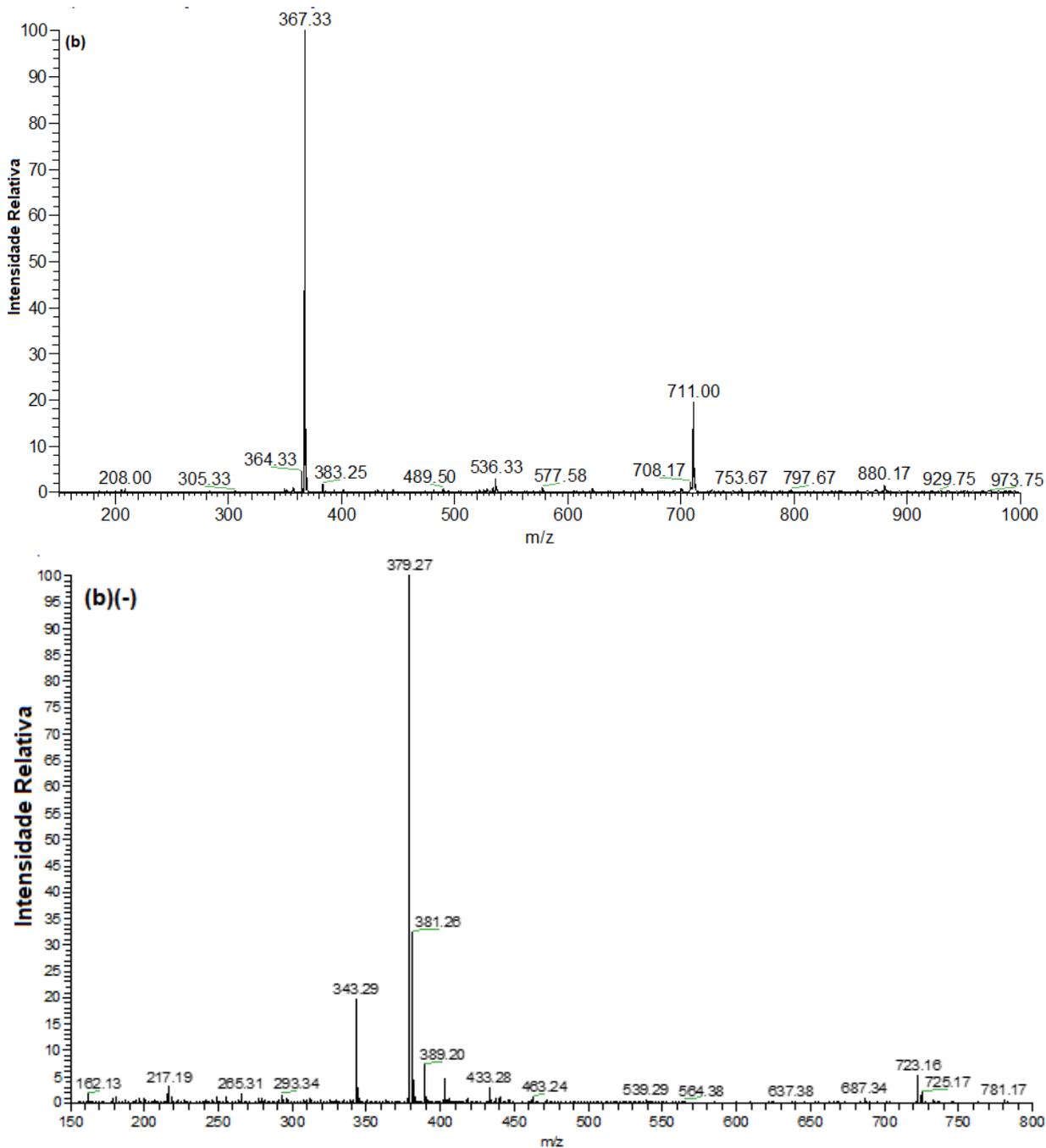


Figura 42: Espectros SPS-MS nos modos (+) e (-) da bala do tipo halls vermelho sem açúcar.

No SPS(+)-MS para a amostra de *halls* preto com açúcar, Figura 41, observa-se claramente a presença de um sinal intenso em m/z 365 que corresponde ao aduto de sódio [sacarose + Na]⁺ e o íon em m/z 707 ao dímero [(sacarose)₂ + Na]⁺ confirmando a presença da sacarose na bala.

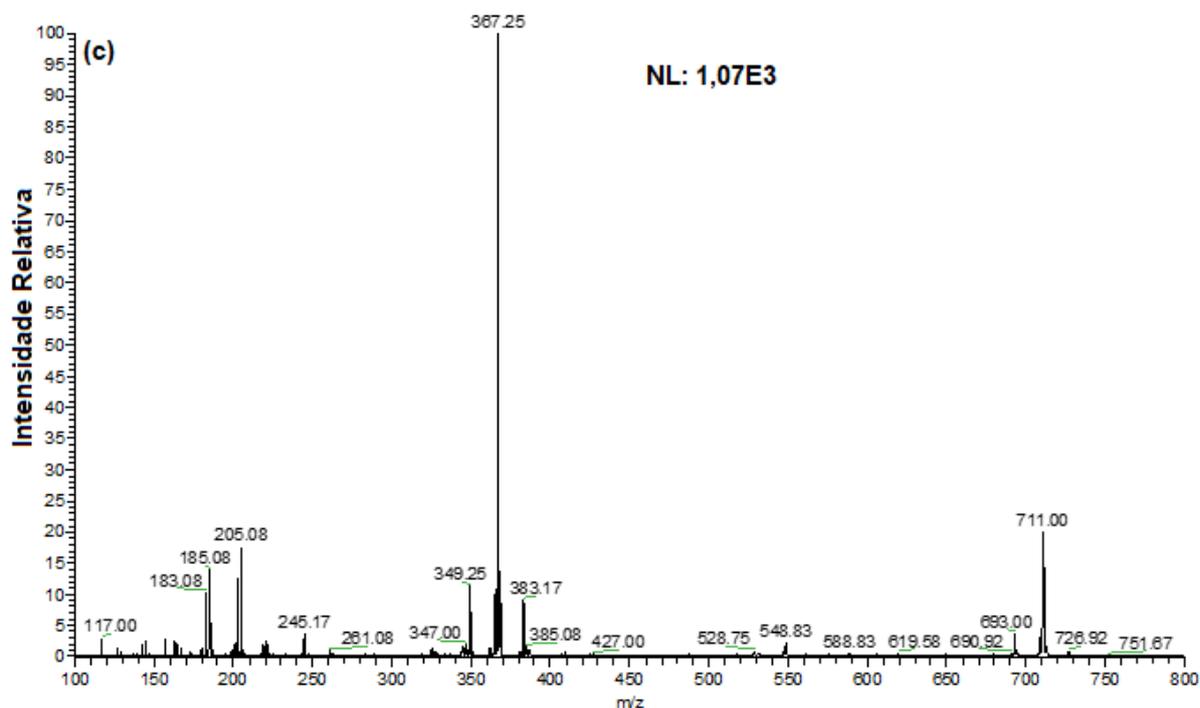


Figura 43: Espectro SPS(+)-MS da bala do tipo halls verde sem açúcar.

Já nos espectros de SPS-MS nos modos (+) e (-) obtidos para as amostras de *halls* vermelho e verde, Figuras 42 e 43, respectivamente, não se observa a presença de tal íon, evidenciando assim a ausência de sacarose em ambas as amostras, confirmando o que vem descrito em seu rótulo. Entretanto, foi possível identificar a presença do edulcorante isomalte em ambas. Tanto para o *halls* vermelho, quanto para o verde, esse composto aparece no modo positivo como um aduto de sódio em m/z 367 e 711 e de potássio em m/z 383, e aparece ainda como um aduto de cloro com sinais m/z em 379 e 723, no modo negativo para o halls vermelho.

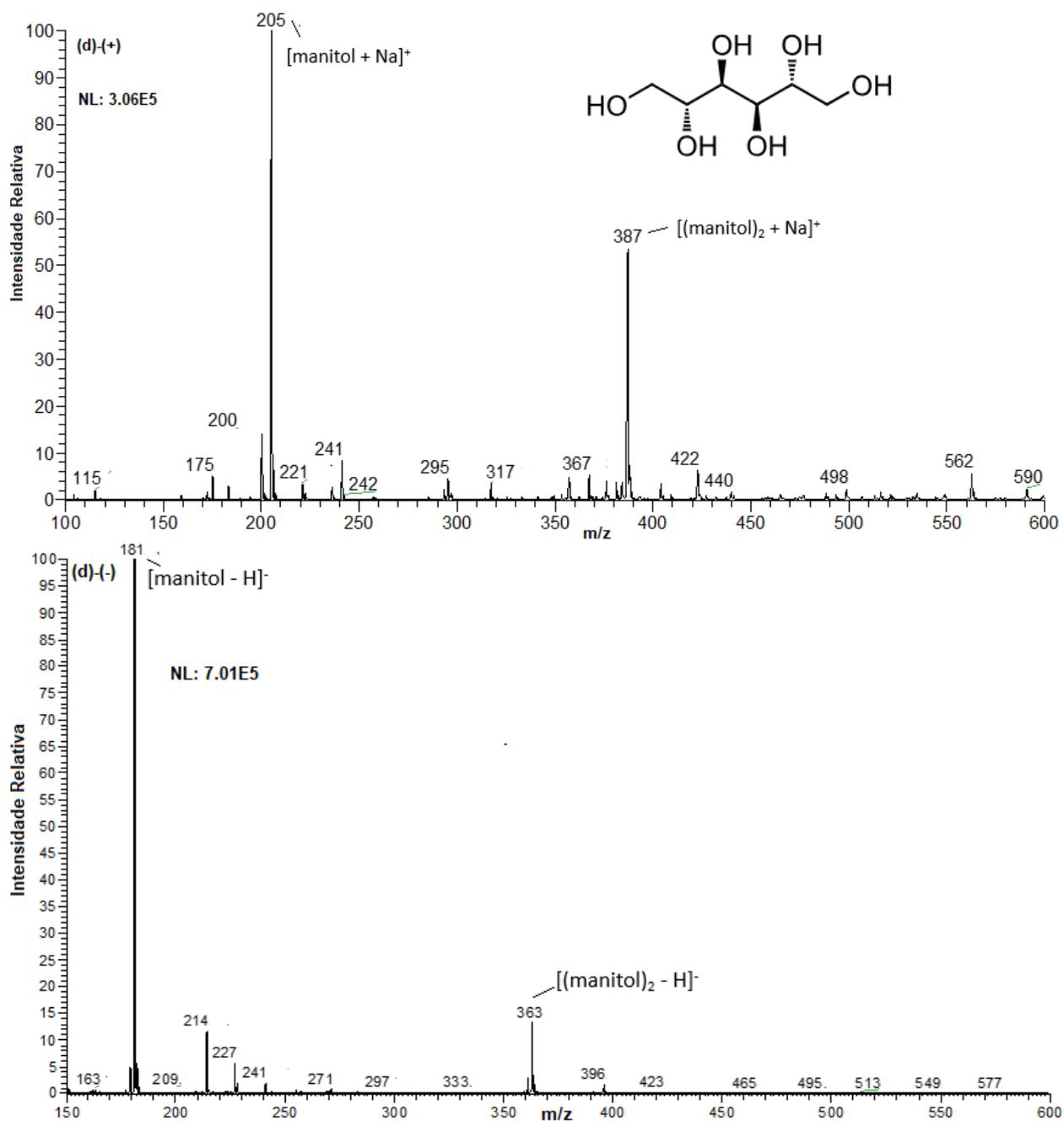


Figura 44: Espectro SPS-MS (+) e (-) de uma amostra de goma de mascar *Trident* sem açúcar.

Para a amostra de goma de mascar sem açúcar, Figura 44, observa-se a presença de sinais intensos correspondentes ao edulcorante manitol na forma de adutos, tanto nos espectros obtidos na forma positiva, quanto negativa do equipamento. No SPS-MS-(+) ele aparece em m/z 205 e 387, como adutos de sódio, [manitol + Na]⁺ e [(manitol)₂ + Na]⁺, respectivamente. Já no modo negativo os íons

correspondentes ao manitol aparecem em m/z 181 em sua forma desprotonada, $[\text{manitol} - \text{H}]^-$ e em m/z 363 como o aduto $[(\text{manitol})_2 - \text{H}]^-$.

Os perfis de fragmentação (MS/MS) com os íons precursores selecionados de m/z 365, Figura 45, para a sacarose, e m/z 367, 383 e 711, para o edulcorante, Apêndice B1, correspondem aos relatados anteriormente na literatura, indicando assim a correta atribuição das estruturas propostas e, conseqüentemente, a confirmação da presença ou ausência da sacarose na bala [62].

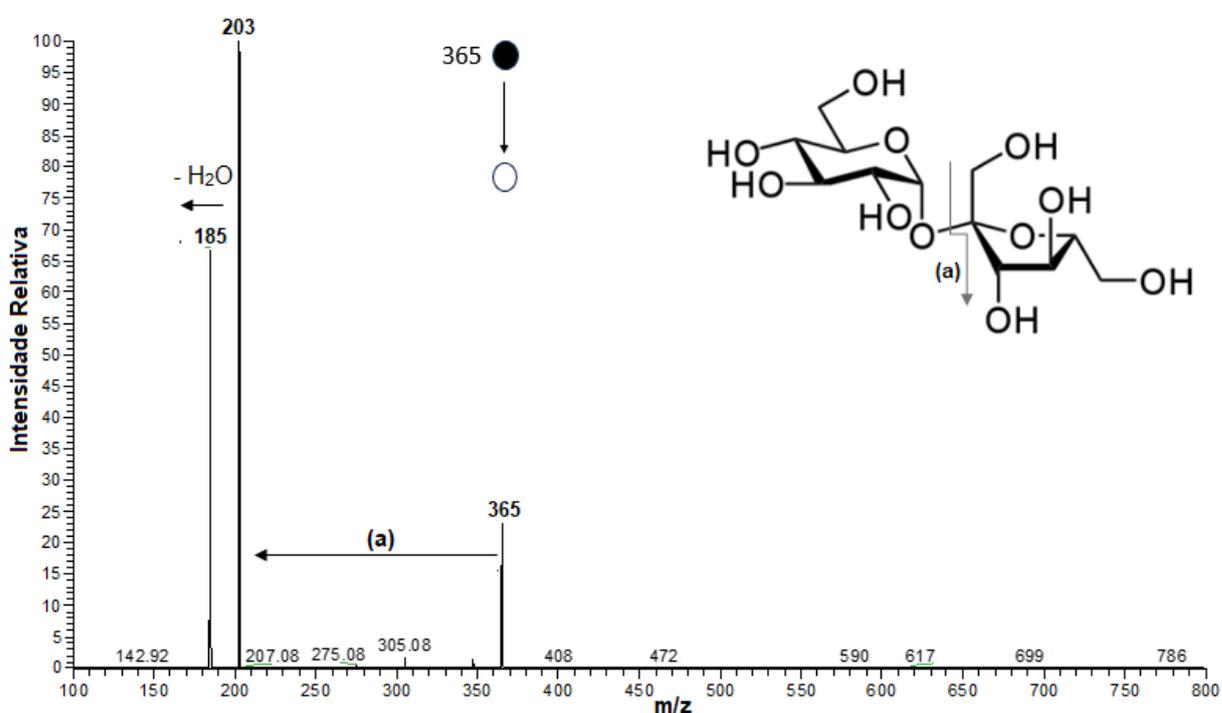


Figura 45: MS/MS (CID 19) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 365 (sacarose) de uma bala *halls* com açúcar.

Os espectros de fragmentação para alguns íons-precursores selecionados da amostra de goma de mascar podem ser vistos no Apêndice B2 e confirmam a presença do composto manitol.

7.3 Conclusões parciais

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a análise de amostras de balas e gomas de mascar pela técnica de SPS-MS apresentou resultados rápidos e significativos para a comparação da presença ou ausência de sacarose, quando são ditas com ou sem a presença de açúcar em seus rótulos, pela simples comparação entre os sinais obtidos em seus respectivos espectros de massas.

Capítulo 8. Análise de alimentos

8.1 Análise de Oleaginosas

Foram realizadas também análises por SPS-MS, nos modos positivo e negativo, de algumas oleaginosas, tais como, nozes, macadâmia, amêndoa, amendoim, pistache, castanha de caju e castanha do Pará. As oleaginosas são as ditas fontes de gordura “boa” para o organismo e são altamente recomendadas pela maioria dos nutricionistas. São fontes de gorduras insaturadas, proteínas, fibras e antioxidantes. Também fornecem vitaminas E, B e minerais como zinco, potássio, manganês, ferro, cobre e selênio e ajuda na saciedade do organismo [65]. São constituídas principalmente por lipídeos (ácidos graxos), proteínas (cujas fontes formadoras são os aminoácidos através das ligações peptídicas) e carboidratos. Por serem amostras de fácil acesso e sólidas, que é o interesse da técnica SPS-MS, optou-se por escolhê-las para este trabalho.

Os espectros de massas obtidos foram complexos, mas o objetivo foi identificar os *fingerprints* característicos de cada amostra. Todas as análises foram feitas em triplicatas. Para as amostras onde o grão estava contido numa casca, esta foi retirada previamente à análise. O procedimento experimental seguiu como descrito no item 4.2.3 desta tese.

Os espectros de SPS-MS obtidos nos modos positivo e negativo destas oleaginosas podem ser vistos nas Figuras 46, 47 e 48.

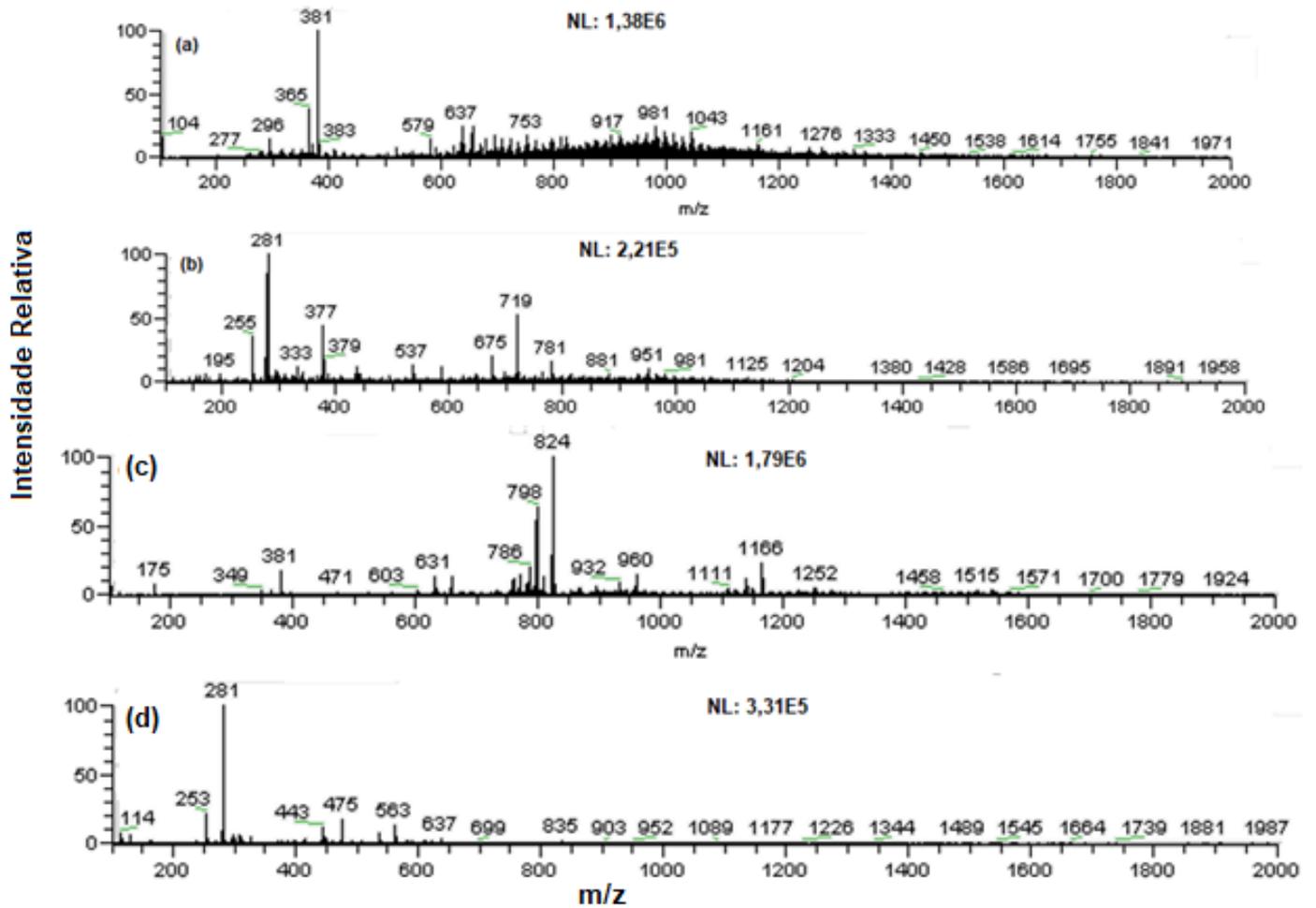


Figura 46: Espectros SPS(+)-MS e SPS(-)-MS, respectivamente, de amostras de nozes (a,b) e macadâmia (c,d).

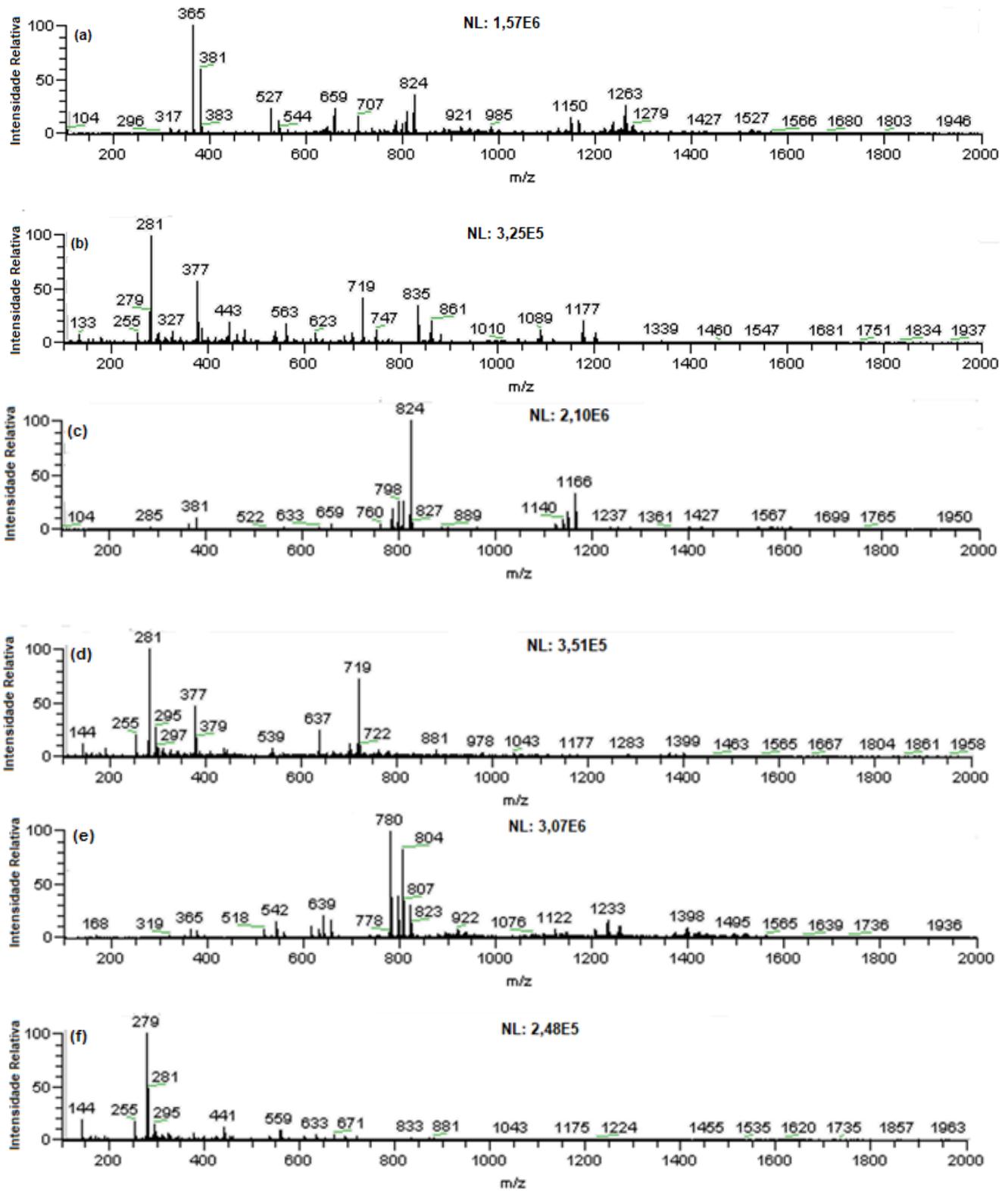


Figura 47: Espectros SPS(+)-MS de amostras de (a) amêndoa, (c) amendoim, (e) pistache. SPS(-)-MS de amostras de (b) amêndoa, (d) amendoim, (f) pistache.

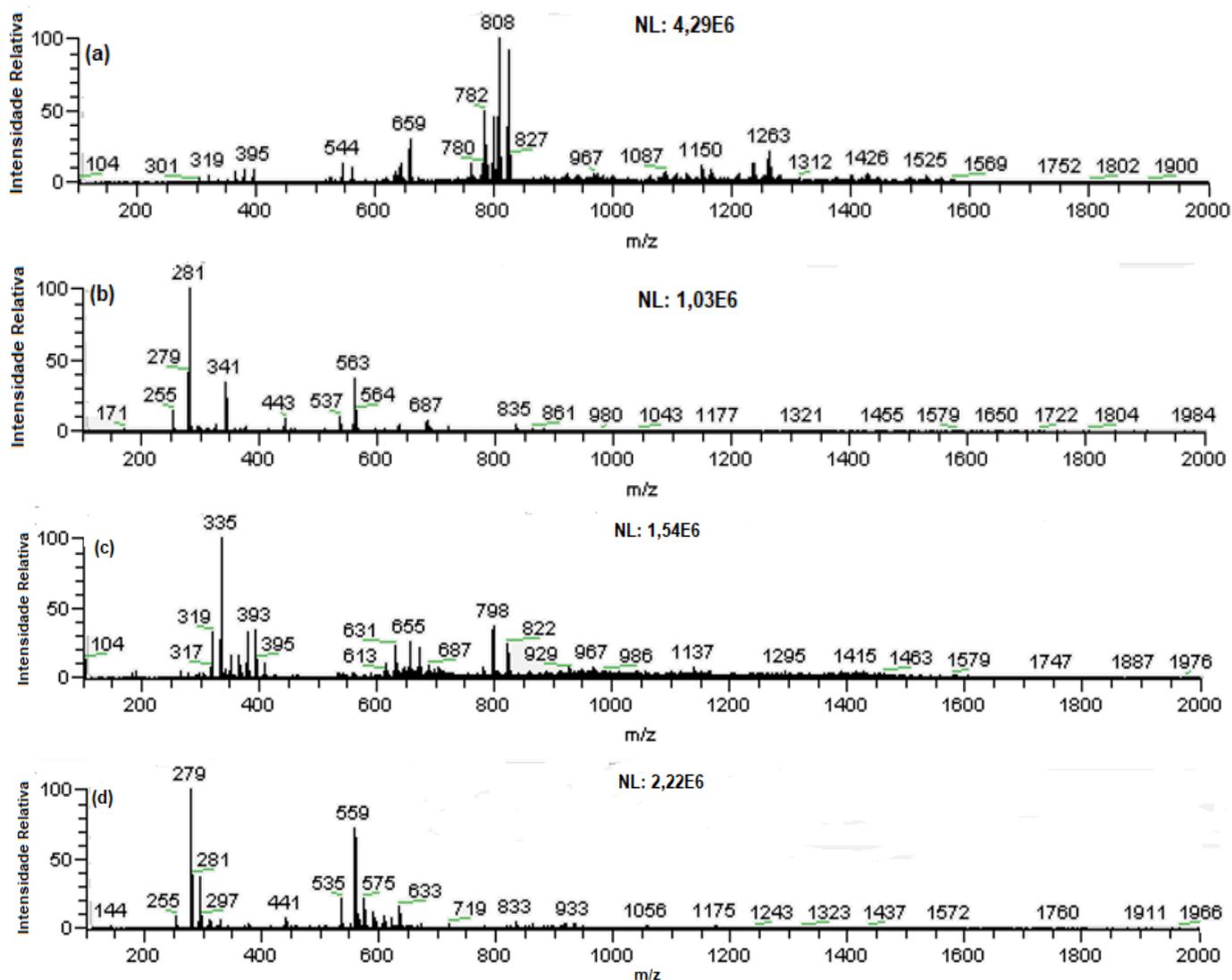


Figura 48: Espectros SPS(+)-MS de amostras de (a) castanha de caju, (c) castanha do Pará. SPS(-)-MS de amostras de (b) castanha de caju, (d) castanha do Pará.

Em todos os espectros de massas obtidos acima, percebe-se um padrão de semelhança entre eles, principalmente na faixa de m/z 200-1000. Em m/z 200-500 pode-se atribuir a presença dos ácidos graxos saturados e insaturados, dependendo da extensão de sua cadeia. Como exemplos, nos espectros SPS(-)-MS em m/z 255, 279 e 281 temos respectivamente os ácidos palmítico, esteárico e oléico [65]. Os demais sinais que aparecem na faixa citada podem estar associados à presença de proteínas, lipídeos e carboidratos presentes em suas estruturas.

Além disso, o perfil químico característico é diferente para cada uma dessas oleaginosas. Podemos associar esse fato as diferentes composições de proteínas, lipídeos, carboidratos e aminoácidos de cada uma. Comparando os perfis no modo negativo das nozes e macadâmia, percebe-se que a macadâmia possui uma maior constituição de ácidos graxos mono-insaturados, enquanto a nozes de poli-insaturados. Além disso, enquanto a primeira tem um maior teor de lipídeos, a segunda apresenta uma maior quantidade de carboidratos.

Já para a amêndoa, o amendoim e o pistache, a primeira apresenta maior teor de ácidos graxos mono-insaturados, enquanto o último de poli-insaturados. Ademais, as três amostras possuem um teor de lipídeos bem próximos entre si, sendo que o amendoim possui um teor majoritário de proteínas, enquanto que o pistache de carboidratos.

Por fim, comparando-se as castanhas de caju e do Pará, a primeira possui uma constituição majoritária de ácidos graxos mono-insaturados, de carboidratos e proteínas, enquanto a segunda de poli-insaturados e de lipídeos em sua constituição. Essas diferentes constituições presentes em cada uma das amostras, explica o perfil químico diferente e característico obtido nos espectros de massa.

8.2 Análise de raízes

Raízes de cúrcuma e ginseng brasileiro foram analisadas diretamente através da técnica SPS-MS com a finalidade de caracterização dos seus constituintes químicos. A cúrcuma, também chamada de açafrão-da-terra ou apenas açafrão, é uma planta bastante conhecida mundialmente devido suas propriedades medicinais e de seu uso culinário (condimento). Muito usada como corante natural, também possui óleos essenciais de qualidades organolépticas e técnicas com características antimicrobiana e antioxidante e por isso tem alta aplicação nos mercados medicinal, têxtil e alimentício [66]. Seus principais constituintes são a curcumina, demetoxicurcumina e bis-demetoxicurcumina (Figura 49) e os sinais de m/z destas substâncias puderam ser identificados no espectro de massas, SPS-MS, obtido.

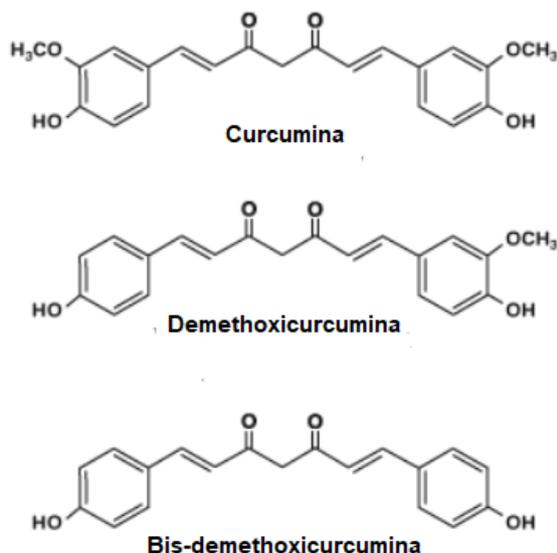


Figura 49: Principais constituintes da cúrcuma. Adaptado da referência [49].

No espectro de massas obtido no modo negativo (Figura 50) é possível observar a presença dessas três espécies em suas formas desprotonadas: curcumina (m/z 367), demetoxicurcumina (m/z 336) e bis-demetoxicurcumina (m/z 307). O íon de m/z 833, o mais intenso no espectro de massas, provavelmente refere-se a um aduto entre duas moléculas de curcumina e o ânion bifosfato (H_2PO_4^-).

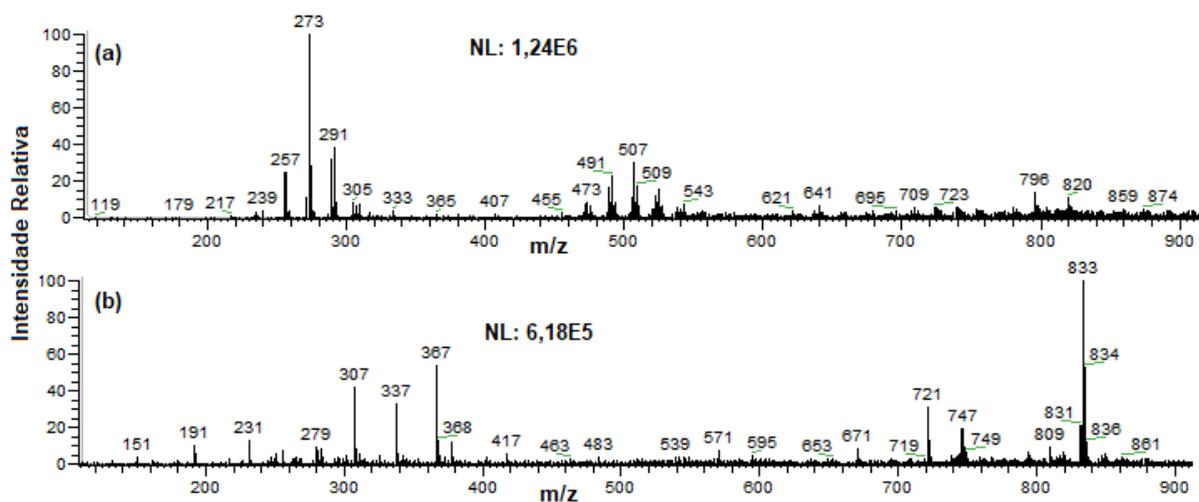


Figura 50: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de cúrcuma com uma faixa de m/z de 100-900.

O ginseng brasileiro pertence a espécie do gênero *Pfaffia* e a família *Amaranthaceae*, é uma planta de pequeno porte que facilita o seu cultivo, inclui cerca

de 170 gêneros e 2000 espécies e no Brasil podem ser encontrados cerca de 20 gêneros e 100 espécies. É uma planta que foi muito utilizada na medicina popular na cura de males que acometiam os povos da América Latina. Possui interesse de estudo devido suas propriedades terapêuticas, tais como atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral, melhorador da memória e tônico. No Brasil, a planta é bem adaptada ao clima quente e seu cultivo ocorre, preferencialmente, em matas e orlas de rios, onde é possível obter mais nutrientes e água para o seu melhor desenvolvimento [67-69].

Em relação a sua composição química, estudos demonstraram que um dos principais componentes presentes em sua raiz é um fitoesteróide denominado β -ecdisona, Figura 51b, um esteróide terpênico pertencente à classe das saponinas. As saponinas, Figura 51a, são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos que possuem em sua estrutura uma porção glicosídica com caráter polar (hidrofílico) e uma porção esteroidal ou triterpênica com caráter apolar (lipofílico), caracterizando-as como “sabão” [67-69].

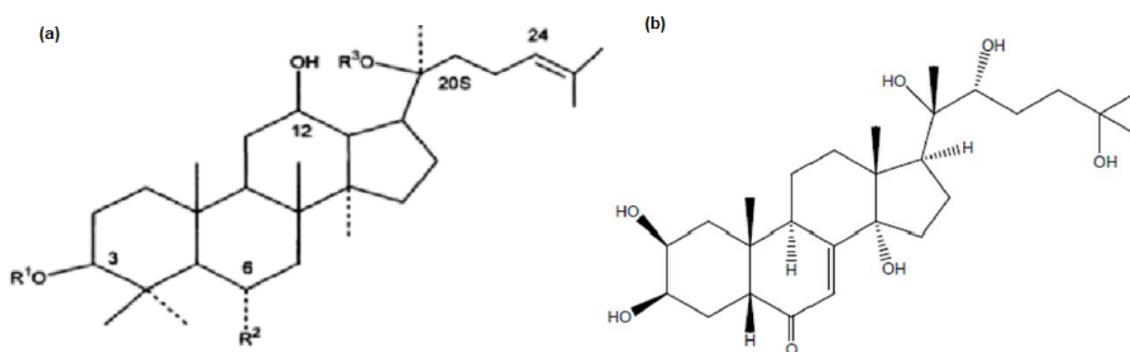


Figura 51: Estrutura química das saponinas (a) e (b) β -ecdisona.

Adaptado da referência [69].

Na análise do SPS(+)-MS obtido para a raiz do Ginseng brasileiro, percebe-se a presença de muitos sinais, os quais podem ser atribuídos às várias estruturas triterpênicas de acordo com sua terminação, sendo que algumas delas já foram

estudadas e identificadas, como por exemplo os sinais em m/z 365 (sacarose), 519, 851 e 1030 [69].

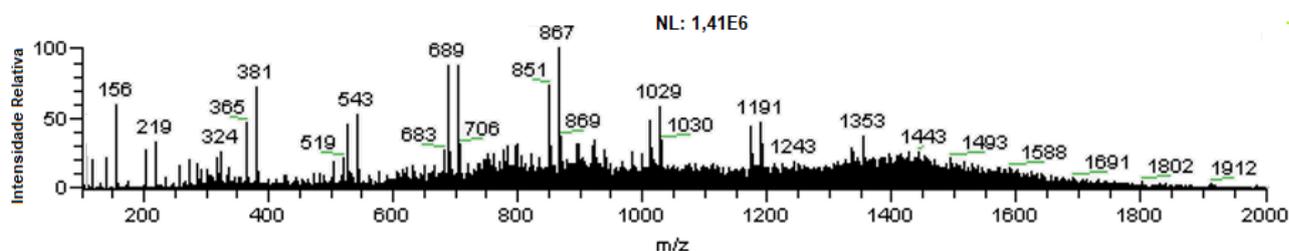


Figura 52: Espectro SPS(+)-MS para uma amostra de Ginseng brasileiro com uma faixa de m/z de 100-2000.

Já no modo negativo obteve-se um espectro mais “limpo”. A espécie β -ecdisona é observada em sua forma desprotonada em m/z 477. Outros íons observados no SPS(-)-MS referem-se às seguintes espécies de adutos, provavelmente: [sacarose + sacarose + Cl]⁻ (m/z 377/ 379), [β -ecdisona + β -ecdisona – H]⁻ (m/z 955). O íon mais intenso neste espectro de massas é o de m/z 793, o qual se refere, provavelmente, à espécie com a seguinte constituição: [β -ecdisona + β -ecdisona – 9 H₂O – H]⁻.

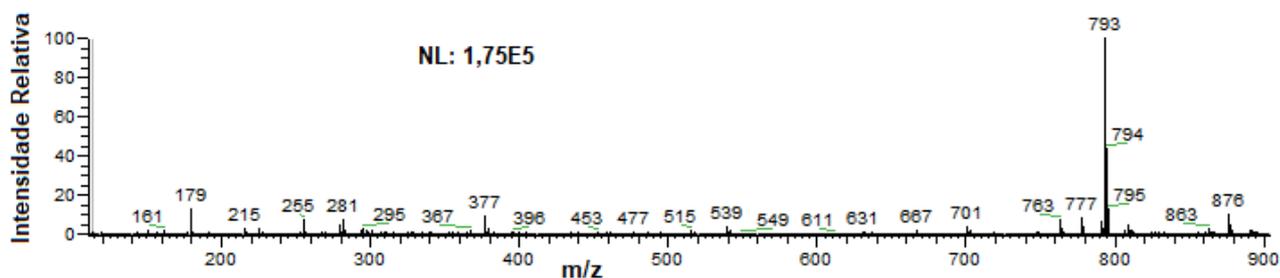


Figura 53: Espectro SPS(-)-MS para uma amostra de Ginseng brasileiro com uma faixa de m/z de 100-900.

8.3 Análise de sementes e grãos

Sementes de coentro e pimenta do reino, além de grãos de feijão e milho, também foram analisados por SPS-MS. O coentro, pertencente a espécie *Coriandrum sativum* L., é frequentemente usado na alimentação e em aplicações medicinais e estéticas. Possui uma elevada atividade antioxidante que pode ser atribuída a sua

fonte de polifenóis e outros fitoquímicos. Estudos anteriores propuseram a caracterização do seu óleo essencial, sendo que este é constituído majoritariamente por compostos de baixa massa molecular como mono e sesquiterpenos e seus análogos oxigenados e derivados fenólicos [53]. Os principais constituintes caracterizados nos estudos foram o linalool, o geraniol, a cânfora, alguns terpenos e ácido oleico e linoleico [70-72].

O SPS(+)-MS do coentro (Figura 54) apresentou uma grande variedade de íons. Vale destacar o íon de m/z 155 que pode ser atribuído à espécie protonada do linalool ou geraniol. Os íons referentes aos sinais de m/z superiores a 700 podem estar relacionados à presença de antocianinas. Já no SPS(-)-MS, vale destacar a presença do íon m/z 281 característico do ácido oléico.

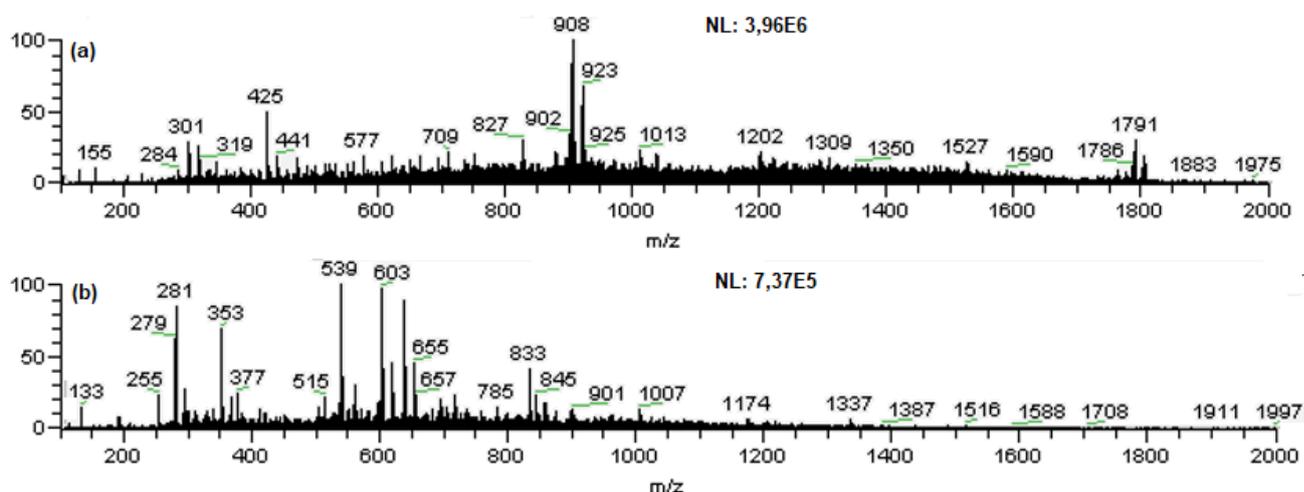


Figura 54: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de coentro com uma faixa de m/z de 100-2000.

A pimenta-do-reino, *Piper Nigrum L.*, também conhecida como pimenta-da-Índia, é uma planta trepadeira de grande produtividade e uma das mais valorizadas condimentares do mundo, com grande valor econômico. O Brasil é um dos maiores produtores de pimenta-do-reino, oscilando entre a segunda e terceira posição no mercado mundial. É vendida no mercado externo como pimenta-preta, pimenta-branca e pimenta-verde ou em salmoura, ao passo que no mercado interno, ela é comercializada como pimenta-preta e branca, pimenta em pó e misturada a outros condimentos, principalmente cominho [73].

Subprodutos como piperina e oleoresina – extraídos de grãos chochos de pimenta – são utilizados nas indústrias de embutidos, perfumaria e farmacêutica, cujos preços podem atingir até três vezes o valor obtido do produto comercializado na forma de grãos, além de também possuir uso para fins medicinais, como no tratamento de distúrbios gastrointestinais e ainda a malária crônica [74]. Quanto a sua constituição química, apresenta em sua maioria terpenos (cerca de 45%), seguida de alcalóides (21%) e flavonas (7%) [75,76]. Entre esses constituintes, aqueles de maior interesse e estudo são a piperina (metabólito secundário presente em maior concentração na semente) e a capsaicina (Figura 55).

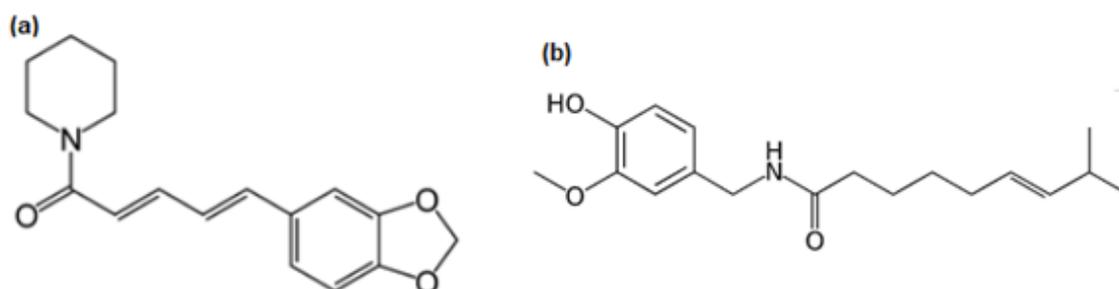


Figura 55: Estrutura química da (a) piperina e (b) capsaicina.

Adaptado da referência [74].

No SPS(+)-MS de uma amostra de pimenta-do-reino (Figura 56) aparecem vários íons. A espécie protonada da piperina é observada como um íon de m/z 286. Os demais íons podem estar relacionados ao alto número de terpenos presentes em sua estrutura. Já no SPS(-)-MS, destaca-se o íon de m/z 304 que corresponde à espécie desprotonada da capsaicina.

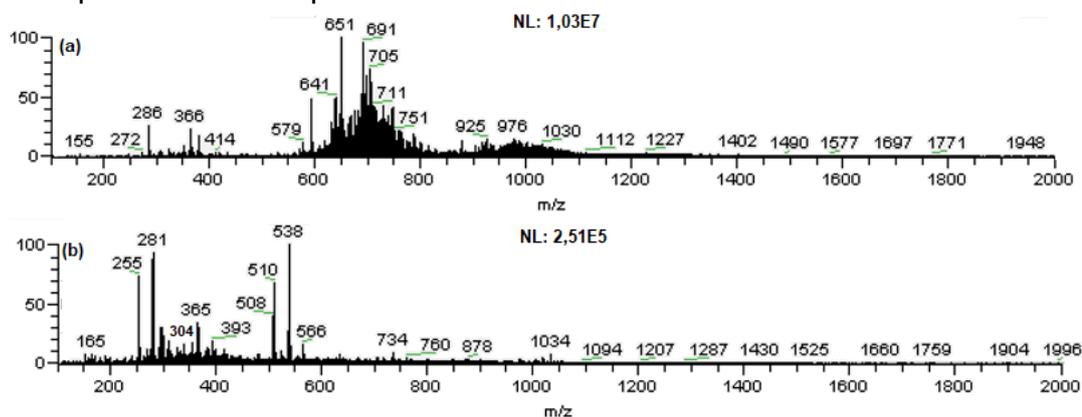


Figura 56: SPS(+)-MS (a) e SPS(-)-MS (b) para uma amostra de pimenta do reino com uma faixa de m/z de 100-2000.

Grãos de feijão preto e milho também foram analisados neste trabalho, cortando-os ao meio e passando a lixa diretamente sobre um dos pedaços obtidos. O feijão é importante fonte de proteínas (aminoácidos), apresentando elevado teor de lisina, fibras alimentares, fenóis, carboidratos complexos, minerais, como cálcio e, principalmente, ferro, além de vitaminas do complexo B [77]. Em relação à composição química do milho, a maioria dos conhecimentos disponíveis se restringe ao processo de acúmulo de reservas em espécies utilizadas para alimentação e indústrias de transformação, com maior destaque para aquelas contempladas em programas de melhoramento genético. Na semente estão presentes carboidratos, proteínas, lipídeos (gordura), ácidos graxos e fibras [78].

Os espectros de SPS(+)-MS e SPS(-)-MS para amostras de grão de feijão e milho podem ser vistos na Figura 57.

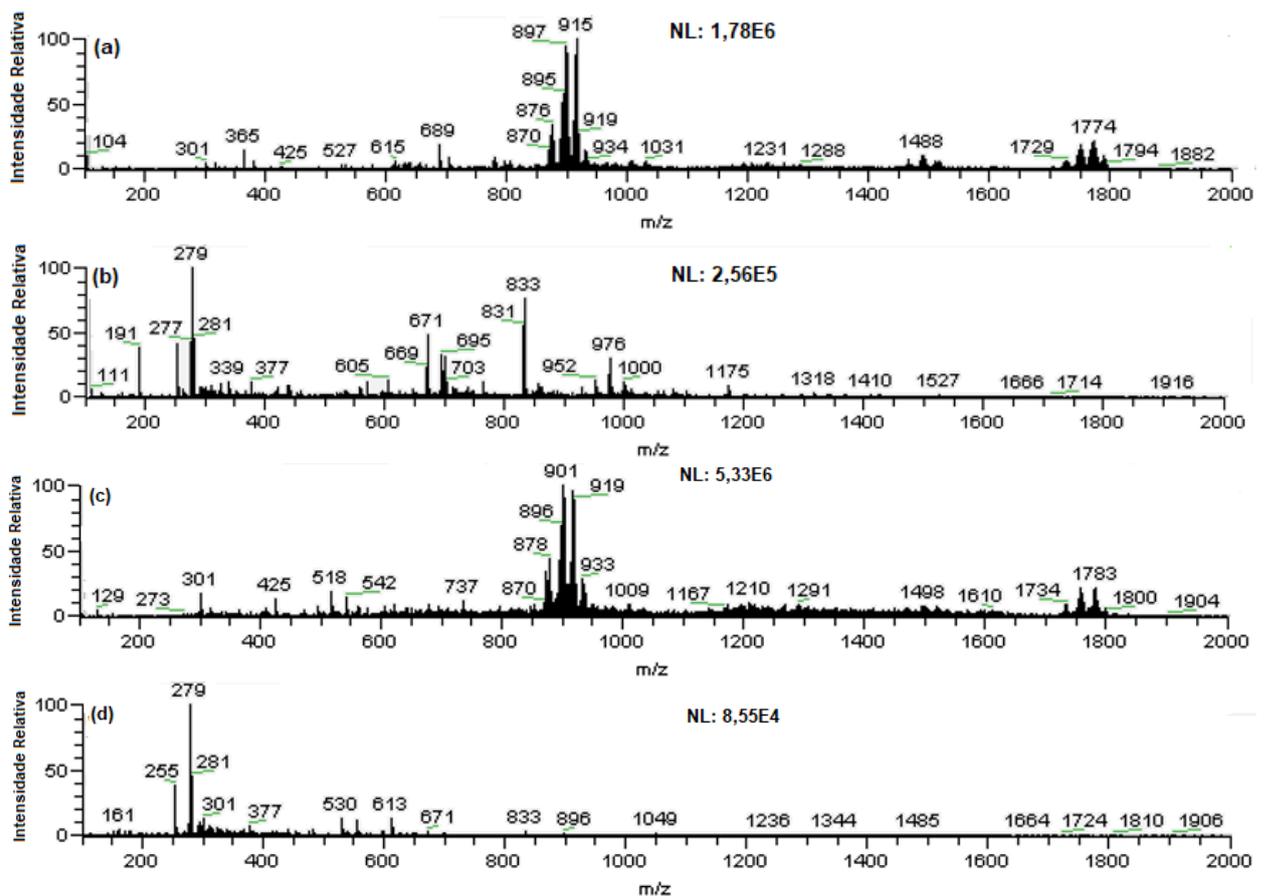


Figura 57: SPS(+)-MS e SPS(-)-MS para uma amostra de feijão preto (a) e (b) e milho (c) e (d) com uma faixa de m/z de 100-2000.

Comparando-se os espectros obtidos para as amostras de feijão preto e de milho, percebe-se que existe uma certa similaridade entre eles, principalmente na faixa de m/z 800-1000 no SPS(+)-MS e 200-400 no SPS(-)-MS. Nas outras regiões, existem diferenças quanto as intensidades dos sinais e também aos valores relativos de m/z .

Tal fato pode estar associado à composição química de cada um deles. O feijão é considerado um alimento de fonte proteica, além de apresentar uma alta presença de nitrogênio durante o seu cultivo. Já o milho tem um alto teor de amido (carboidrato) em sua estrutura (61-78 %), fato este que pode estar associado a essas diferenças nos sinais apresentados em seus respectivos espectros de massa.

8.4 Análise de alho

O alho (*Allium Sativum L.*) é uma especiaria amplamente consumida no mundo, seja como vegetal cru para fins culinários ou como ingrediente da medicina tradicional e moderna. Tem sido proposto como uma fonte rica em compostos fenólicos totais e por isso tem sido classificado positivamente quanto à sua contribuição na dieta humana. Além disso, estudos mostram que o alho contém diversos compostos bioativos, como a alicina, aliina, sulfeto, dissulfeto e trissulfeto de dialila e o ajoeno (Figura 58) levando a conclusão de que tais constituintes apresentam atividades antioxidantes, antiinflamatórias, antibacterianas, antifúngicas, imunomoduladoras, protetoras cardiovasculares, anticancerígenas, hepatoprotetoras, protetoras do sistema digestivo, antidiabéticas, antiobesidade, neuroprotetoras e protetoras renais [79].



Figura 58: Principais constituintes do alho.

O espectro SPS(+)-MS obtido de uma amostra comercial de alho pode ser visto na Figura 59. Nele é possível observar a identificação de um dos principais princípios ativos presente em sua composição e responsável por alguns dos benefícios medicinais, como atividade anti-inflamatória, a alicina, sob diferentes formas. Os picos correspondentes às razões m/z 163; 180; 198 e 324 podem ser associados, respectivamente, à alicina protonada $[\text{alicina} + \text{H}]^+$, $[\text{alicina} + \text{NH}_3 + \text{H}]^+$, $[\text{alicina} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ e ao aduto $[(\text{alicina})_2 + \text{H}]^+$ sendo confirmado em comparação com o trabalho descrito na literatura [80]. Como uma ideia futura, a SPS-MS pode ser aplicada para análise de comparação e distinção de diferentes espécies de alho.

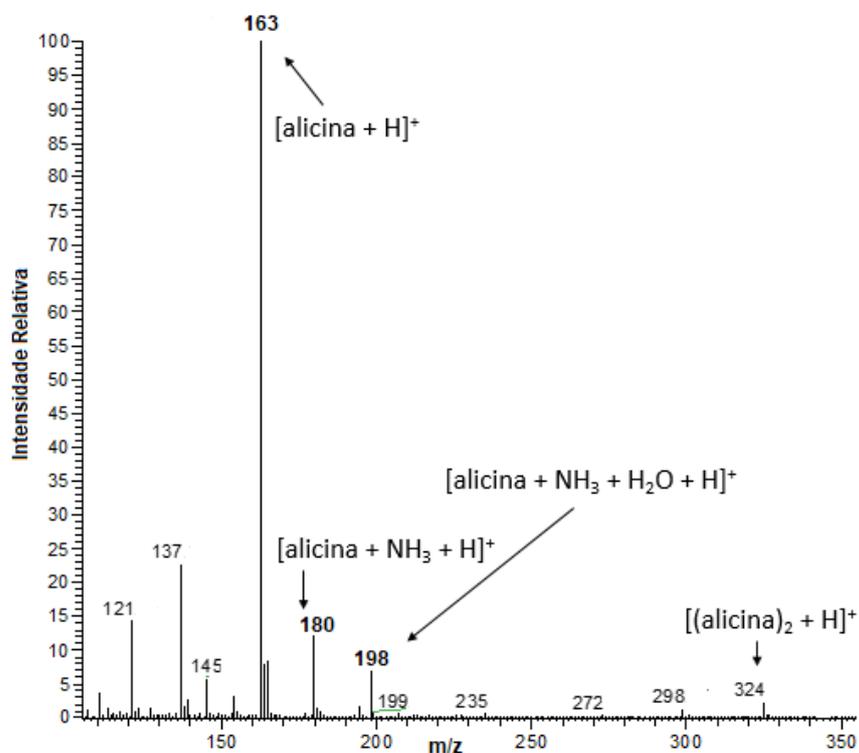


Figura 59: Espectro SPS(+)-MS para uma amostra de alho.

8.5 Cebola branca, pimentão e cenoura

Os vegetais são de grande importância para as dietas alimentares. São caracterizados por alta densidade nutricional com baixo conteúdo energético e contêm uma variedade de fitonutrientes biológicos que os tornam uma parte importante da dieta básica. Possuem um complexo conteúdo químico importante para o corpo humano em que inclui substâncias orgânicas (carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos orgânicos), substâncias antimicrobianas, um alto conteúdo de minerais (Ca, P, Fe, K, Mg, S, Cl, Zn e Cu) e de vitaminas (A, complexo B, C, E, F, K, P e PP) [81].

Além disso, os complexos produtos químicos dos vegetais têm um efeito favorável no corpo humano porque proporcionam hidratação devido ao seu alto teor de água, regulam o metabolismo em geral, estimulam os sistemas muscular e esquelético, as glândulas internas e a atividade enzimática. Dentre os vários vegetais existentes, realizou-se também a análise por SPS-MS de outros três importantes muito consumidos pela população: a cebola, o pimentão verde e a cenoura.

A cebola é uma especiaria notável em todo o mundo, provavelmente nativa do sudoeste da Ásia e origina inúmeras fitomoléculas, como substâncias polifenólicas, ácidos fenólicos, flavonóides e ácido ascórbico, que são responsáveis pela sua cor, sabor e aroma, bem como por suas possíveis vantagens à saúde, como propriedades antitóxicas, anticancerígenas, dentre outros [82].

O pimentão verde também contém em sua estrutura importantes substâncias ativas, com ação antioxidante, antiinflamatória, antitumoral e inseticida. Um óleo volátil pode ser obtido a partir dele e alguns estudos vem sendo feito ao longo dos últimos anos sobre esse tema [83]. Por fim, a cenoura é considerada um dos vegetais mais importantes ricos em compostos bioativos, como carotenóides e fibras alimentares, com níveis apreciáveis de vários outros componentes funcionais com propriedades significativas de promoção da saúde [84].

Os espectros obtidos a partir da análise por SPS(+)-MS desses três vegetais apresentaram alta similaridade conforme pode ser visto na Figura 60. Foi possível

identificar em todos eles a presença do monossacarídeo hexose ($C_6H_{12}O_6$) e do dissacarídeo sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) com intensidades bastante semelhantes, conforme indicado nas correspondentes razões m/z nos espectros. Como há a presença de minerais nesses vegetais, todos eles foram identificados na forma de aduto com o sódio ou o potássio. Os espectros de fragmentação MS/MS obtidos a partir de alguns íons-precusores selecionados para essas amostras podem ser vistos no Apêndice C.

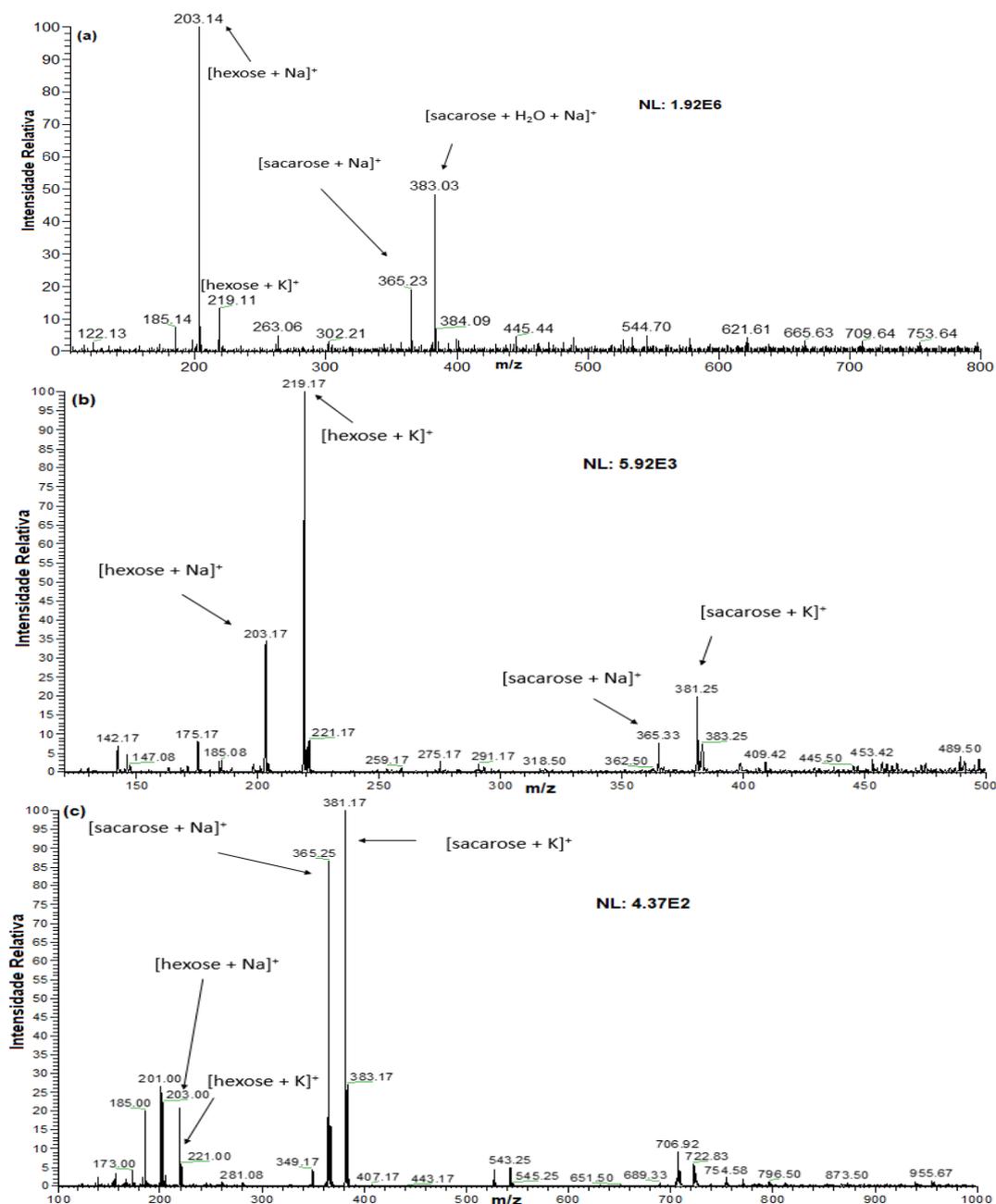


Figura 60: Espectros SPS-MS-(+) das amostras de (a) cebola, (b) pimentão verde e (c) cenoura.

8.6 Análise de frutas

Análise por SPS-MS com cascas de uva verde e de banana também foram realizadas neste trabalho. O consumo de uma variedade de frutas regularmente traz uma série de benefícios à saúde, incluindo a redução de alguns problemas como a hipertensão e doenças cardíacas. A uva é uma importante fonte de nutrientes capazes de contribuir para uma alimentação saudável. Seus principais componentes são água, seguida pelos açúcares, sendo principalmente a frutose, glicose e sacarose. Além disso também contém ácidos orgânicos e compostos fenólicos. O interesse em estudos sobre sua composição está associado aos seus possíveis benefícios à saúde, pois são fontes ricas de micronutrientes, açúcares e algumas outras substâncias importantes, como fitoquímicos [85].

A banana é uma das frutas mais acessíveis e amplamente consumidas em todo o mundo. Foi relatado que uma banana de tamanho médio, 100 g, possui cerca de 15 g de açúcares, 28 g de carboidratos e vários nutrientes como vitaminas e minerais. Além da glicose, a frutose é o monossacarídeo mais comum encontrado em sua estrutura. Eles se diferem quanto ao seu processo de metabolismo. Enquanto a glicose requer insulina para a sua digestão, a frutose é diretamente metabolizada pelo fígado [86].

Os espectros de massa SPS-MS obtidos no modo positivo para a análise da casca de uva e da banana podem ser vistos na Figura 61. Em ambas as amostras é possível identificar a presença do aduto de potássio da frutose, em uma razão m/z 219 e 237, respectivamente. No espectro da uva foi possível identificar também a presença da sacarose também como um aduto de potássio e água no pico correspondente a m/z 381 e 398.

Essas pequenas diferenças atribuídas nos espectros podem estar associadas as constituições químicas presentes na casca de cada uma delas. Uma casca de banana possui cerca de 89,47 g umidade, 0,95 g cinzas, 0,99 g lipídeos, 1,69 g proteínas, 1,99 g fibras e 4,91 g carboidratos, enquanto que uma de uva verde possui 58,01 % de fibras, 17,62 % de carboidratos e 12,46 % de cinzas, além de serem fontes

de antocianidinas e antocianinas [87,88]. Um trabalho recente publicado na literatura, analisou por PS-MS o perfil químico da farinha de casca de banana com seus principais componentes e suas propriedades antioxidantes indicando a presença da frutose, como encontrado no espectro de SPS-MS [89]. Os espectros de fragmentação MS/MS dos íons precursores selecionados para cada uma das amostras podem ser vistos nos Apêndices D1 e D2.

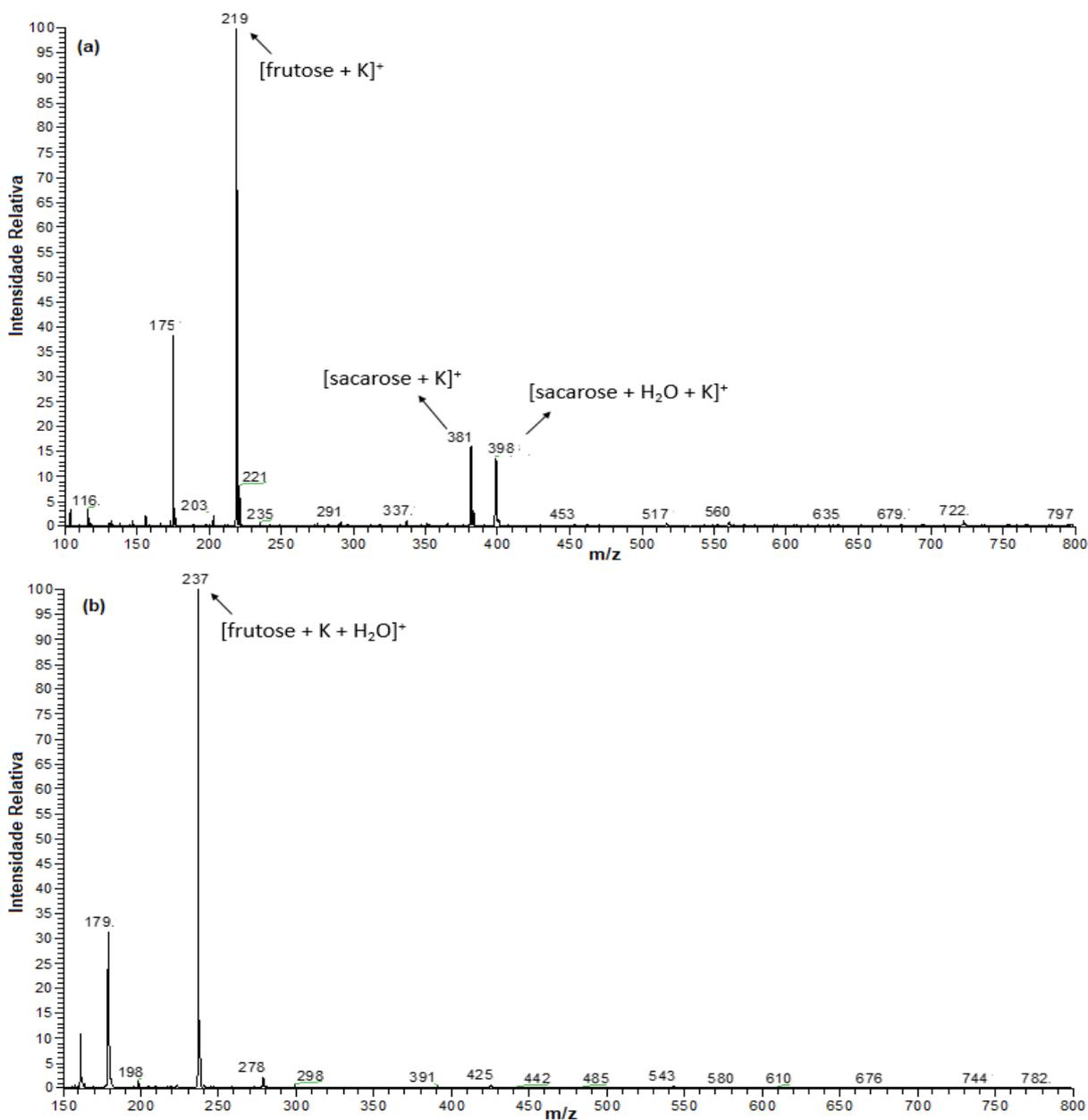


Figura 61: Espectros SPS(+)-MS das amostras de casca de (a) uva verde e (b) banana com uma faixa m/z 100-800.

Capítulo 9. Conclusão e perspectivas futuras

Uma nova técnica derivada da PS-MS tradicional, denominada de *sandpaper spray mass spectrometry* (SPS-MS), foi desenvolvida no intuito de se realizar análises diretas de matrizes sólidas passíveis de serem lixadas. Neste contexto, amostras de diferentes classes de fármacos, oleaginosas, raízes, sementes, grãos, vegetais com propriedades flavorizantes, de balas, *gomas de mascar* e multivitamínico, foram analisadas.

A técnica de ionização ambiente SPS-MS foi utilizada para obtenção de *fingerprints*. Utilizando um procedimento analítico simples, as amostras foram lixadas diretamente com lixas de parede com diferentes granulometrias, cortadas em formato triangular. Utilizando uma quantidade insignificante de solvente, espectros de massas com uma boa relação sinal/ ruído foram obtidos, apresentando sinais intensos e estáveis, mostrando o potencial desta técnica para análises futuras de diferentes matrizes sólidas.

Assim sendo, este trabalho demonstra uma potencial viabilidade do uso da técnica SPS-MS na análise de diferentes matrizes sólidas passíveis de serem polidas como uma alternativa rápida, econômica e simples em relação a outras técnicas que envolvem etapas de preparo de amostras. Pretende-se a partir dos resultados obtidos aplicar essa técnica em outras amostras sólidas como, por exemplo, na comparação entre diferentes espécies de madeiras, alhos, na diferenciação entre grãos de espécies transgênicas e não transgênicas e também uma possível utilização da técnica por parte da polícia como uma análise rápida em apreensões feitas em aeroportos, por exemplo.

REFERÊNCIAS

- [1] HOFFMAN, E.; STROOBANT, V. *Mass spectrometry – Principles and applications*, 3rd Edition. Chichester: John Wiley & Sons Inc, 2007.
- [2] HARRIS, G. A.; GALHENA, A. S.; FERNÁNDEZ, F. M. Ambient sampling/ionization mass spectrometry: applications and current trends. *Analytical chemistry*, v. 83, n. 12, p. 4508–4538, 2011.
- [3] WESTON, D. J. Ambient ionization *mass spectrometry*: current understanding of mechanistic theory; analytical performance and application areas. *The Analyst*, v. 135, n. 4, p. 661–668, 2010.
- [4] VENTER, A.; NEFLIU, M.; GRAHAM COOKS, R. Ambient desorption ionization *mass spectrometry*. *Trends in analytical chemistry: TRAC*, v. 27, n. 4, p. 284–290, 2008.
- [5] WANG, H.; LIU, J.; COOKS, R. G.; OUYANG, Z. Paper spray for Direct Analysis of Complex Mixtures Using Mass spectrometry. *Angewandte Chemie International Edition*. v. 49, p. 877-880, 2010.
- [6] NIER, A. O. Electron impact *mass spectrometry*. *Reviem of Scientific Instruments*, v. 415, 1947.
- [7] MUNSON, M. S. B.; FIELD, F. H. Chemical ionization *mass spectrometry*. I. general introduction. *Journal of the American Chemical Society*, v. 88, n. 12, p. 2621–2630, 1966.
- [8] BINATTI, I. et al. Paper *spray mass spectrometry* and related techniques applied to food and environmental analysis. In: *Ambient Mass Spectroscopy Techniques in Food and the Environment*. [s.l.] CRC Press, 2019. p. 187–219.
- [9] BOYD, R. K. Book review: *Mass spectrometry: Principles and applications*. E. de Hoffman, J. charette and W. stroobant. Wiley, Chichester 1996. ISBN 0 471 96697 5. *Rapid communications in mass spectrometry: RCM*, v. 11, n. 8, p. 948–948, 1997.
- [10] FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. *Electrospray ionization for mass spectrometry* of large biomolecules. *Science*, v. 24, p. 64-71, 1989.
- [11] CROTTI, A. E. M.; VESSECCHI, R.; LOPES, J. L. C.; LOPES, N. P. *Electrospray ionization mass spectrometry*: Chemical processes involved in the ion formation from low molecular weight organic compounds. *Quimica Nova*, v. 29, p. 287-292, 2006.
- [12] HARRIS, G. A.; GALHENA, A. S.; FERNÁNDEZ, F. M.. Ambient Sampling/Ionization *Mass spectrometry*: Applications and current trends. *Analytical Methods*, v. 83, p. 4508-4538, 2011.
- [13] TAKATS, Z., et al. Ambient *mass spectrometry* using desorption *electrospray ionization* (DESI): instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology. *Journal of Mass spectrometry*, v. 40, p. 1261–1275, 2005.

- [14] CODY, R. B. et al. Direct Analysis in Real Time (DARTtm) *Mass spectrometry*. JEOL News, v. 40, n.1, p. 8-12, 2005.
- [15] MC EWEN, C. N.; MCKAY, R. G.; LARSEN, B. S. Analysis of solids, liquids, and biological tissues using solids probe introduction at atmospheric pressure on commercial LC/MS instruments. *Analytical Chemistry*, v. 77, n. 23, p. 7826–7831 2005.
- [16] HARRIS, G. A.; NYADONG, L.; FERNANDEZ, F. M. Recent developments in ambient ionization techniques for analytical *mass spectrometry*. *The Analyst*, v. 133, n. 10, p. 1297–1301, 2008.
- [17] ALBERICI, R. M. et al. Ambient *mass spectrometry*: bringing MS into the “real world.” *Analytical and bioanalytical chemistry*, v. 398, n. 1, p. 265–294, 2010.
- [18] KERIAN, K. S.; JARMUSCH, A. K.; COOKS, R. G. Touch *spray mass spectrometry* for in situ analysis of complex samples. *The Analyst*, v. 139, n. 11, p. 2714–2720, 2014.
- [19] ESPY, R. D. et al. Paper *spray* and extraction *spray mass spectrometry* for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole blood. *Analytical chemistry*, v. 86, n. 15, p. 7712–7718, 2014.
- [20] KAUPPILA, T. J. et al. Desorption electrospray ionization *mass spectrometry* for the analysis of pharmaceuticals and metabolites. *Rapid communications in mass spectrometry: RCM*, v. 20, n. 3, p. 387–392, 2006.
- [21] RODRIGUEZ-CRUZ, S. E. Rapid analysis of controlled substances using desorption electrospray ionization *mass spectrometry*. *Rapid communications in mass spectrometry: RCM*, v. 20, n. 1, p. 53–60, 2006.
- [22] JURISCH, M.; AUGUSTI, R. Detection of signature forgery with erasable pens using paper *spray mass spectrometry* (PS-MS). *Analytical methods: advancing methods and applications*, v. 8, n. 23, p. 4543–4546, 2016.
- [23] MCBRIDE, E. M. et al. Paper *spray* ionization: Applications and perspectives. *Trends in analytical chemistry: TRAC*, v. 118, p. 722–730, 2019.
- [24] ZHANG, Z. P., X. N. LIU, e Y. J. ZHENG. Ambient Ionization-Paper *Spray* Ionization and Its Application. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v. 42, n. 1, p. 145-152, 2014.
- [25] YANG, Q. et al. Paper *spray* ionization devices for direct, biomedical analysis using *mass spectrometry*. *International journal of mass spectrometry*, v. 312, p. 201–207, 2012.
- [26] HU, B. et al. Electrospray ionization using wooden tips. *Analytical chemistry*, v. 83, n. 21, p. 8201–8207, 2011.
- [27] JACKSON, S. et al. Thread *spray mass spectrometry* for direct analysis of capsaicinoids in pepper products. *Analytica chimica acta*, v. 1023, p. 81–88, 2018.

- [28] LIU, J. et al. New urea-modified paper substrate for enhanced analytical performance of negative ion mode paper *spray mass spectrometry*. *Talanta*, v. 166, p. 306–314, 2017.
- [29] KIM, P.; CHA, S. Paper cone *spray ionization mass spectrometry* (PCSI MS) for simple and rapid analysis of raw solid samples. *The Analyst*, v. 140, n. 17, p. 5868–5872, 2015.
- [30] BORGES, M. et al. The use of conductive polymers as a substrate for paper *spray ionization mass spectrometry*. *Analytical methods*, v. 11, n. 27, p. 3388–3400, 2019.
- [31] LEE, H. et al. Rapid screening and determination of designer drugs in saliva by a nib-assisted paper *spray-mass spectrometry* and separation technique. *Journal of separation science*, v. 35, n. 20, p. 2822–2825, 2012.
- [32] LIU, W. et al. Development and applications of paper-based *electrospray ionization-mass spectrometry* for monitoring of sequentially generated droplets. *The Analyst*, v. 138, n. 7, p. 2163–2170, 2013.
- [33] SHEN, L. et al. High throughput paper *spray mass spectrometry* analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, v. 420, p. 28–33, 2013.
- [34] OBOT, M. U. et al. An Assessment on the Production of Abrasive Sandpaper from Locally Sourced Materials. *Tribology in Industry*, v. 38, n. 2, p. 176-185, 2016.
- [35] de PAULA, B. L. J. Análise de risco de processo da reação exotérmica de resina fenólica tipo Resol. Dissertação (Mestrado em Processos Industriais). Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. São Paulo, 2016.
- [36] BORGES, S. G. Síntese e caracterização de resinas fenólicas do tipo Novolaca aplicáveis no processo de Pultrusão. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Escola de Engenharia. Rio Grande do Sul, 2004.
- [37] dos SANTOS, F., CURVELO, A. A. S. Utilização de Ligninas em Resinas Fenólicas: 1. Preparação de Novolacas a Partir de Lignossulfonatos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 9, p. 49-58, 1999.
- [38] ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Pautas para la formulación de medidas para Combatir los medicamentos Falsificados. Ginebra: OMS, 1999.
- [39] Seminário nacional sobre identificação de medicamentos falsificados. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/INCQS, 1998.
- [40] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Counterfeit drugs: overview. Geneva, 2004. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/organization/qsm/activities/qualityassurance/cft/CounterfeitOverview.htm> Acesso em: 18 de fevereiro de 2022.

- [41] GOVERNO DO BRASIL. Notícia: Cresce o número de apreensões de drogas em um ano, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/justica-e-seguranca/2021/06/cresce-o-numero-de-apreensoes-de-drogas-em-um-ano>>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2022.
- [42] AGÊNCIA BRASIL. Notícia: Ministério registra a maior apreensão de drogas da história do país. Disponível em: <<https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2021-07/ministerio-registra-a-maior-apreensao-de-drogas-da-historia-do-pais>>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2022.
- [43] OLIVEIRA-NETO, J. R. et al. Electrochemical behavior and determination of major phenolic antioxidants in selected coffee samples. *Food Chemistry*, v. 190, p. 506–512, 2016.
- [44] BAGYARAJ, D. J. et al. Below ground microbial diversity as influenced by coffee agroforestry systems in the Western Ghats, India. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 202, p. 198-202, 2015.
- [45] STELMACH, E., POHI, P.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews. *Food Chemistry*, v. 182, p. 302- 308, 2015.
- [46] LIMA, A. R. et al. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante in vitro do café verde e torrado antes e após a descafeinação. *Química Nova*, v. 33, p. 20-24, 2010.
- [47] FARINHOTO, R. J. C. R. Análise física e química de cafés verdes com diferentes origens geográficas. Dissertação. Lisboa, Universidade Nova de Lisboa, 2012.
- [48] VIGNOLI, J. A., et al. Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*, v. 61, p. 279-285, 2014.
- [49] GARRETT, R.; Vaz, B. G.;HOVELL, A.M. C.; Eberlin,M. N.; Rezende,C. M. Arabica and Robusta Coffees: Identification of Major Polar Compounds and Quantification of Blends by Direct-Infusion Electro-spray Ionization-Mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 60, n. 17, p. 4253–425, 2012.
- [50] CLIFFORD, N. M.; KNIGHT, S.; KUHNERT, N. Discriminating between the Six Isomers of Dicafeoylquinic Acid by LC-MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 3821–3832, 2012.
- [51] GARRETT, R.; REZENDE, C. M.; IFA, D. R. Coffee Origin Discrimination by Paper Spray Mass spectrometry and Direct Coffee Spray Analysis. *Analytical Methods*, v. 5, n. 21, p. 5944–5948, 2013.
- [52] ZHONG, D.; XING, J.; ZHANG, S.; SUN, L. Study of the Electrospray Ionization Tandem Mass spectrometry of Sildenafil Derivatives. *Rapid Communications in Mass spectrometry*, v. 16, n. 19, p. 1836–1843, 2002.

- [53] LEE, J.; HONG, J.; HAN BIN OH; MOON, B. Fragmentation Pathways of Tadalafil and Its Analogues in Electrospray Ionization Tandem *Mass spectrometry*. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, v. 39, n. 2, p. 190–196, 2017.
- [54] ORTIZ, R. S.; MARIOTTI, K. de C.; ROMÃO, W.; EBERLIN, M. N.; LIMBERGER, R. P.; MAYORGA, P. Chemical Fingerprinting of Counterfeits of Viagra and Cialis Tablets and Analogues via Electrospray Ionization *Mass spectrometry*. *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 02, n. 08, p. 919–928, 2011.
- [55] S. ROWLANDS, D. A.; J. OBE, ASSI, S. "Identification of authentic and counterfeit Viagra tablets using near-infrared spectroscopic methods and machine learning algorithms," 15th International Conference on Developments in eSystems Engineering (DeSE), Baghdad & Anbar, pp. 387-391, 2023.
- [56] ORTIZ, R. S.; MARIOTTI, K. de C.; FANK, B.; LIMBERGER, R. P.; ANZANELLO, M. J.; MAYORGA, P. Counterfeit Cialis and Viagra Fingerprinting by ATR-FTIR Spectroscopy with Chemometry: Can the Same Pharmaceutical Powder Mixture Be Used to Falsify Two Medicines? *Forensic Science International*, v. 226, n. 1-3, p. 282–289, 2013.
- [57] ISAACS, R. C. A.; HARPER, M. M.; MILLER, E. C. Analytical challenges in the confirmative identification of dipyrone as an adulterant in illicit drug samples. *Forensic science international*, v. 270, p. 185–192, 2017.
- [58] BELAL, T.; AWAD, T.; CLARK, C. R. Determination of paracetamol and tramadol hydrochloride in pharmaceutical mixture using HPLC and GC-MS. *Journal of chromatographic science*, v. 47, n. 10, p. 849–854, 2009.
- [59] FAVRETO, W.A.J. et al. Determination of N-Butylscopolamine in Human Plasma by Solid-Phase Extraction and UHPLC-ESI-MS/MS: Development, Validation and Application to a Bioequivalence Study. *Journal of Bioequivalence Studies*, v. 5, p. 1-13, 2019.
- [60] FERNANDES, M. S.; GARCIA, R. K. *Princípios e inovações em ciência e tecnologia de alimentos*. Rio de Janeiro: Editora AMCGUEDES, 2015. 363p
- [61] KAVEH, M. et al. Chewing gum base: A comprehensive review of composition, production, and assessment methods: Advances and approaches in biodegradability. *Journal of Texture Studies*, v. 54, n. 6, p. 789–807, 2023.
- [62] SILVA, R. S. et al. Determination of chemical profile of *Eugenia dysenterica* ice cream using ps-ms and hs-spme/gc-ms. *Química Nova*, v. 44, n. 2, p. 129-136, 2021.
- [63] ALENCAR, B. B. M. DE; MORAIS, Y. DE J. Nutracêuticos e seus benefícios para a saúde do utente: revisão integrativa da literatura. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 12, p. 2525-3409, 2021.
- [64] Ministério da Saúde (BR), Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 243, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. *Diario Oficial Uniao*. 27 jul 2018; Seção 1:100.

- [65] FREITAS, J. B.; NAVES, M. M. V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. *Revista de Nutrição*, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.
- [66] FILHO, A.B.C. et al. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Ciência Rural*, v. 30, n. 1, p.171-175, 2000.
- [67] RATES, S. M. K.; GOSMANN, G. Gênero *Pfaffia*: aspectos químicos, farmacológicos e implicações para o seu emprego terapêutico. *Revista brasileira de farmacognosia: órgão oficial da Sociedade Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, n. 2, p. 85–93, 2002.
- [68] BALASTRERI, C.; SAKAI, O. A.; BARROS, B. C. B.; SEIXAS, F. A. V.; SATO, F.; OGAWA, C. Y. L.; ROCHA, S. A.; MELLO, J. C. P. Estudo Comparativo entre Técnicas de Extração Convencional e Limpa e, Caracterização dos Biocompostos do Ginseng Brasileiro *Pfaffia glomerata* utilizando FT-RAMAN e FT-NIR. 7th International Workshop | Advances in Cleaner Production – Academic Work, Colômbia, 2018.
- [69] YANG, Y.; YANG, Y.; QIU, H.; JU, Z.; SHI, Y.; WANG, Z.; YANG, L.; Localization of constituents for determining the age and parts of ginseng through ultraperformance liquid chromatography quadrupole/time of flight-mass spectrometry combined with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 193, n. 113722, p. 113722, 2021.
- [70] MISHARINA, T. A.; SAMUSENKO, A. L. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Applied biochemistry and microbiology*, v. 44, n. 4, p. 438–442, 2008.
- [71] DIAS, M. I. Caracterização química e molecular de amostras de *Coriandrum sativum* L. obtidas in vivo e in vitro. 2011. 123 p. Bragança: Escola Superior Agrária. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia, 2011.
- [72] MANDAL, M.; MANDAL, S. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 5, p. 421-428, 2015.
- [73] Evolução da Produção de Pimenta-do-reino. Jéssica Letícia Abreu Martins Elena Charlotte Landau Gilma Alves da Silva. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/214980/1/Cap36-EvolucaoProducaoPimentadoReino.pdf>>
- [74] SINGLETARY, K. Black pepper: Overview of health benefits. *Nutrition today*, v. 45, n. 1, p. 43–47, 2010.
- [75] SCOTT, I. M. et al. A review of *Piper spp.* (*Piperaceae*) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, v. 7, p. 65-75, 2008.

- [76] DYER, L. A.; RICHARDS, J.; DODSON, C. D. Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of Piper amides. In: Piper: A Model Genus for Studies of Phytochemistry, Ecology, and Evolution. Boston, MA: Springer US, 2004. p. 117–139.
- [77] CHIARADIA, A. C. N.; GOMES, J. C. Feijão: química, nutrição e tecnologia. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 1997. 180p.
- [78] STEFANELLO, R. Composição química e qualidade de sementes de variedades crioulas de milho no armazenamento. Tese de doutorado: UFSM, Santa Maria, 2014.
- [79] MARTINS, N.; PETROPOULOS, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, v. 211, p. 41–50, 2016.
- [80] PEREIRA, H. V. et al. A fast and effective approach for the discrimination of garlic origin using wooden-tip electrospray ionization *mass spectrometry* and multivariate classification. *Talanta*, v. 230, n. 122304, p. 122304, 2021.
- [81] BUTNARIU, M.; BUTU, A. Chemical composition of vegetables and their products. In: *Handbook of Food Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2015. p. 627–692.
- [82] DORRIGIV, M.; ZAREIYAN, A.; HOSSEINZADEH, H. Onion (*Allium cepa*) and its main constituents as antidotes or protective agents against natural or chemical toxicities: A comprehensive review. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, v. 20, n. 1, p. 3–26, 2021.
- [83] XIE, Z. et al. Research Progress on Nutrient Composition of Green Pepper. *International Conference on Tourism, Economy and Environmental Sustainability*, v. 251, 2021.
- [84] SHARMA, K. D. et al. Chemical composition, functional properties and processing of carrot-a review. *Journal of food science and technology*, v. 49, n. 1, p. 22–32, 2012.
- [85] LODAYA, J. D. et al. DETERMINATION OF SUGARS IN DIFFERENT GRAPES USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY – ELSD. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (JETIR)*, v. 5, n. 6, p. 324-326, 2018.
- [86] VEERAPANDI, G.; SEKAR, C. Investigation of glucose concentration in banana as a function of ripening time using Ni-Ca₂CuO₃ based electrochemical sensor. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 126, p. 105888, 2024.
- [87] NERIS, T. S. et al. Avaliação físico-química da casca da banana (*musa spp.*) in natura e desidratada em diferentes estádios de maturação. *Revista Ciência e Sustentabilidade*, v. 4, n. 1, p 5-21, 2018.
- [88] BENDER, A. B. B. et al. Obtenção e caracterização de farinha de casca de uva e sua utilização em snack extrusado. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 19, 2016.

[89] 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, n. 5, p. 579-585, 2020.

APÊNDICE

APÊNDICE A: Espectros de fragmentação ms/ms de íons precursores selecionados para alguns fármacos.

A.1. Cialis®

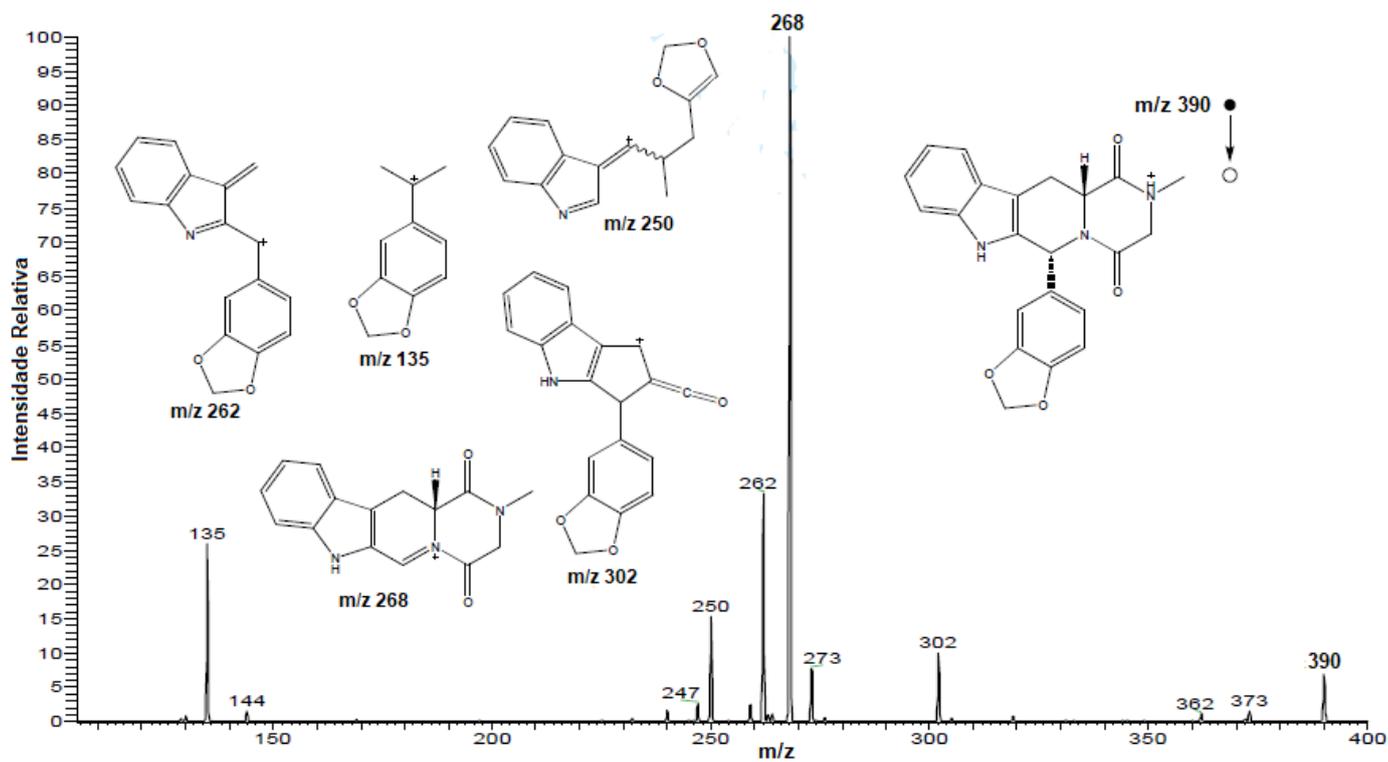


Figura A.1: Espectro MS/MS (CID 19) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 390 (tadalafila protonada) a partir do SPS(+)-MS de um comprimido de Cialis®.

A.2. Ramipril®

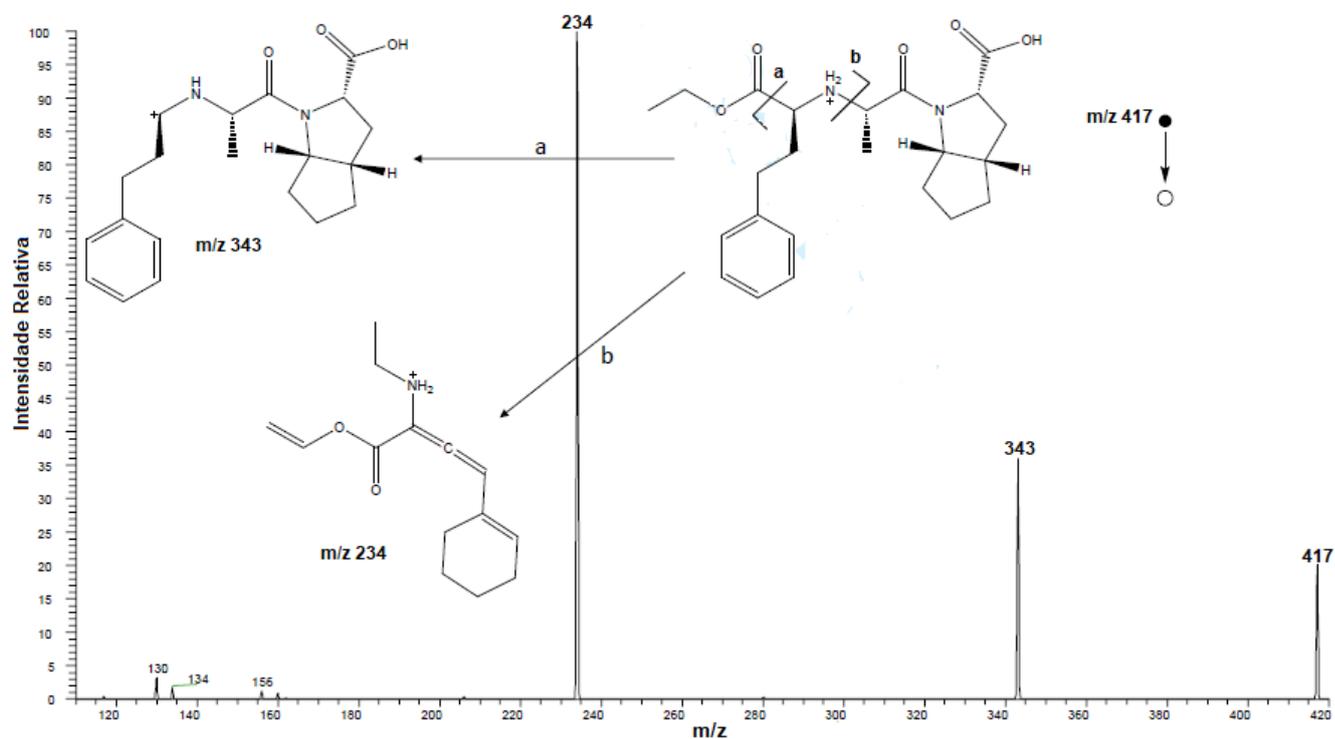


Figura A.2: Espectro MS/MS (CID 16) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 417 (ramipril protonado) a partir do SPS(+)-MS de um comprimido de Ramipril®.

A.3. Enalapril®

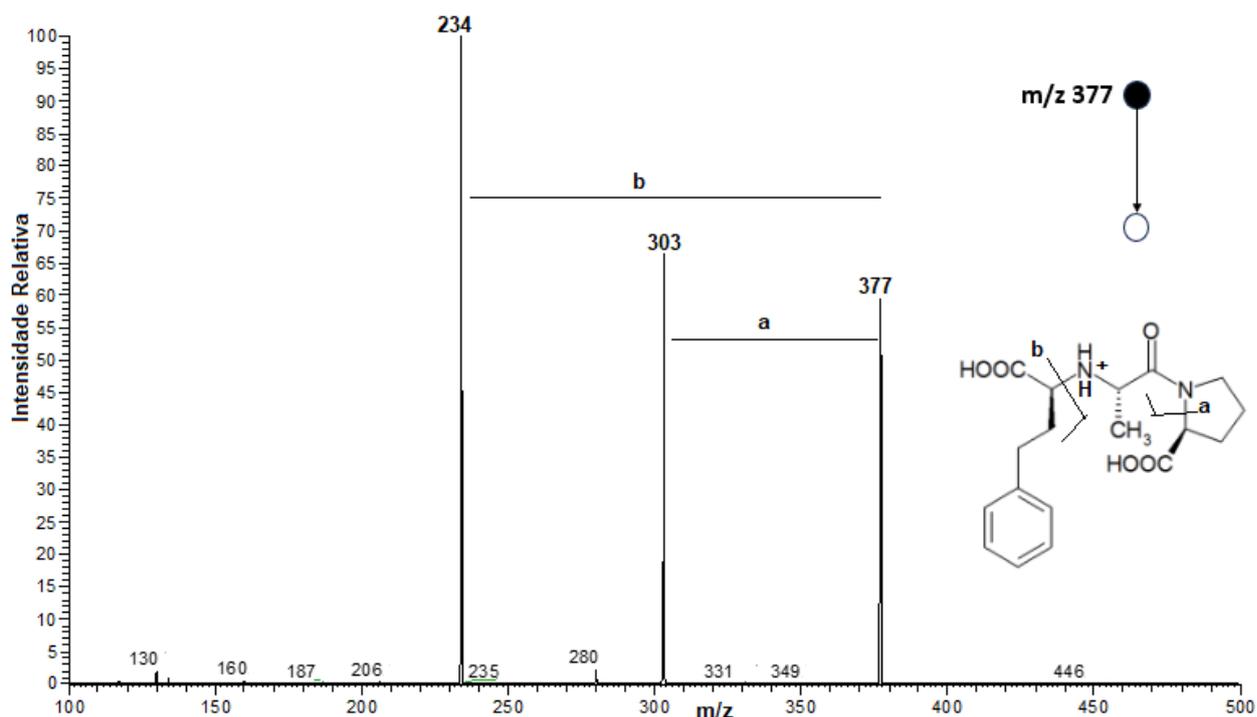


Figura A.3: Espectro MS/MS (CID 20) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 377 (enalapril protonado) a partir do SPS(+)-MS de um comprimido de Enalapril®.

A.4. Crestor®

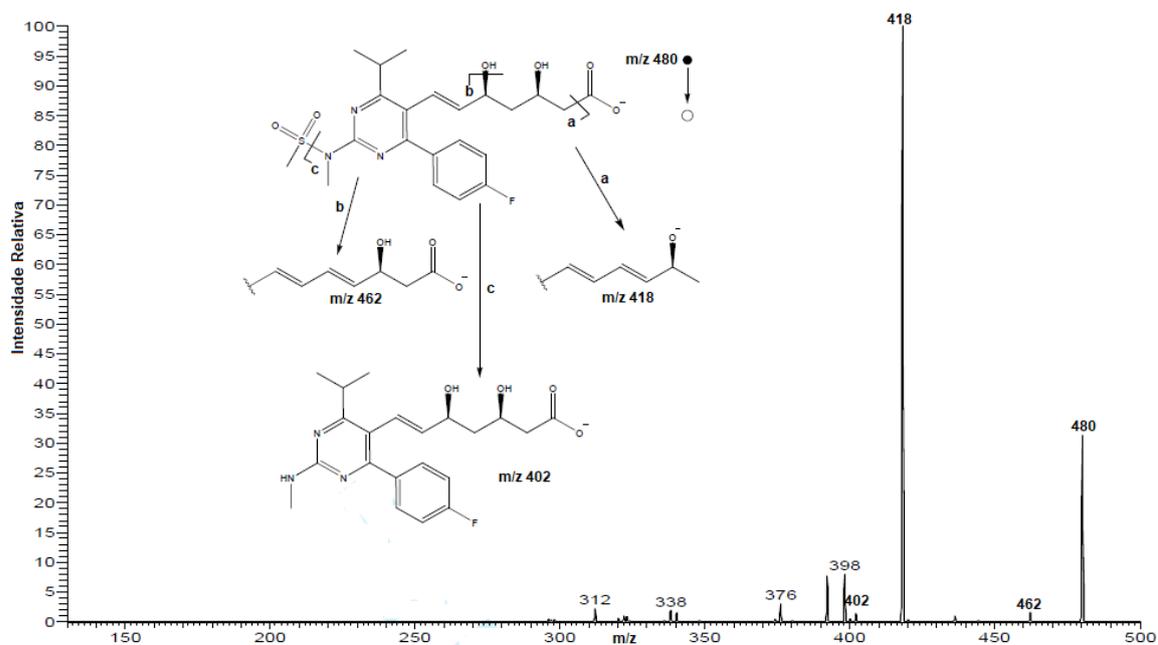


Figura A.4: Espectro MS/MS (CID 21) e proposta de fragmentação do íon precursor de m/z 480 (rosuvastatina protonada) a partir do SPS(-)-MS de um comprimido de Crestor®.

APÊNDICE B: Espectros de fragmentação ms/ms de íons precursores selecionados para amostras de balas do tipo *halls* e goma de mascar do tipo *trident*.

B.1. Halls Vermelho sem açúcar

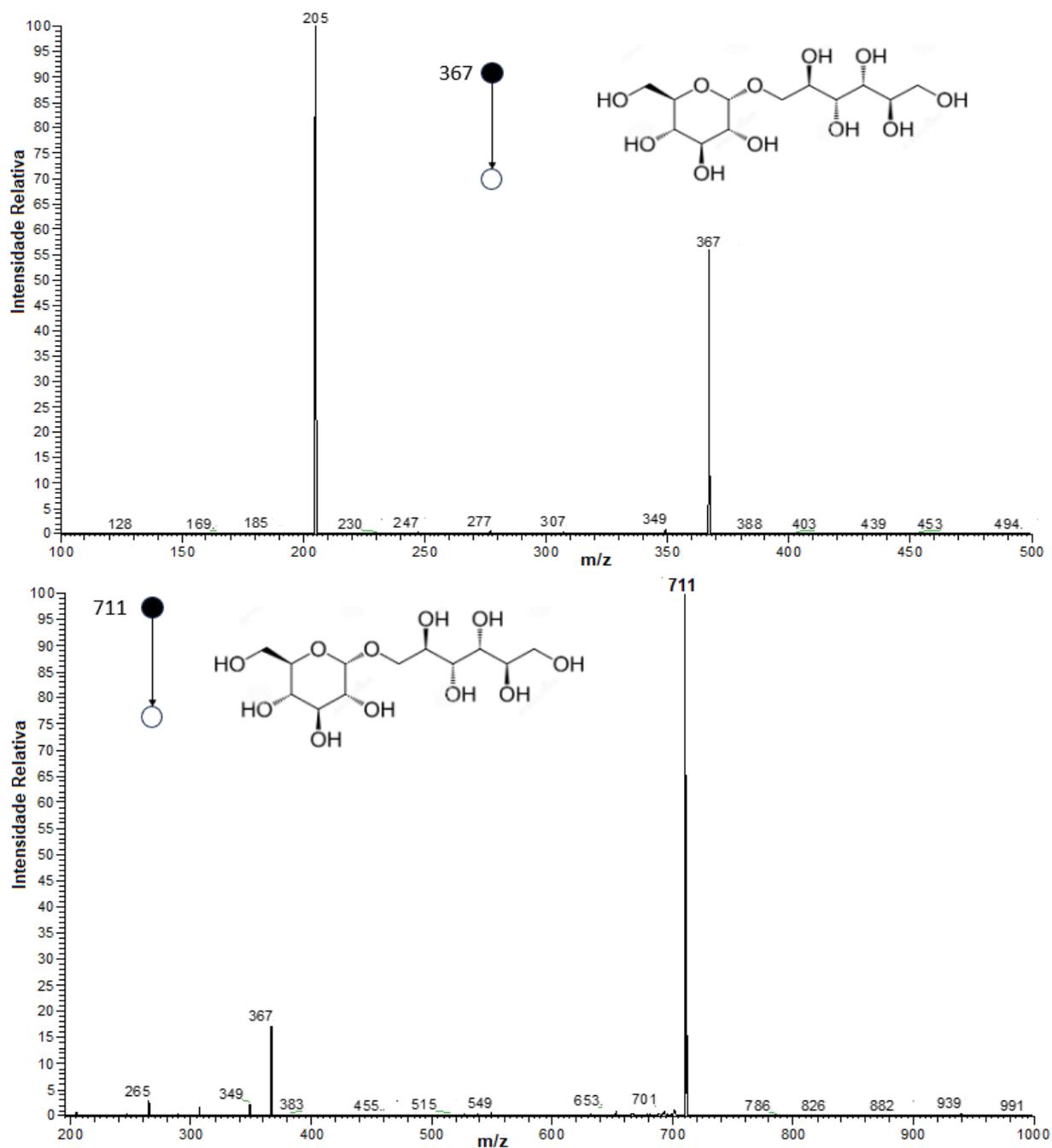


Figura B.1: Espectros MS/MS (+) (CID 20) para a fragmentação dos íons precursores m/z 367 e 711 correspondentes aos adutos de isomalte no Halls vermelho sem açúcar.

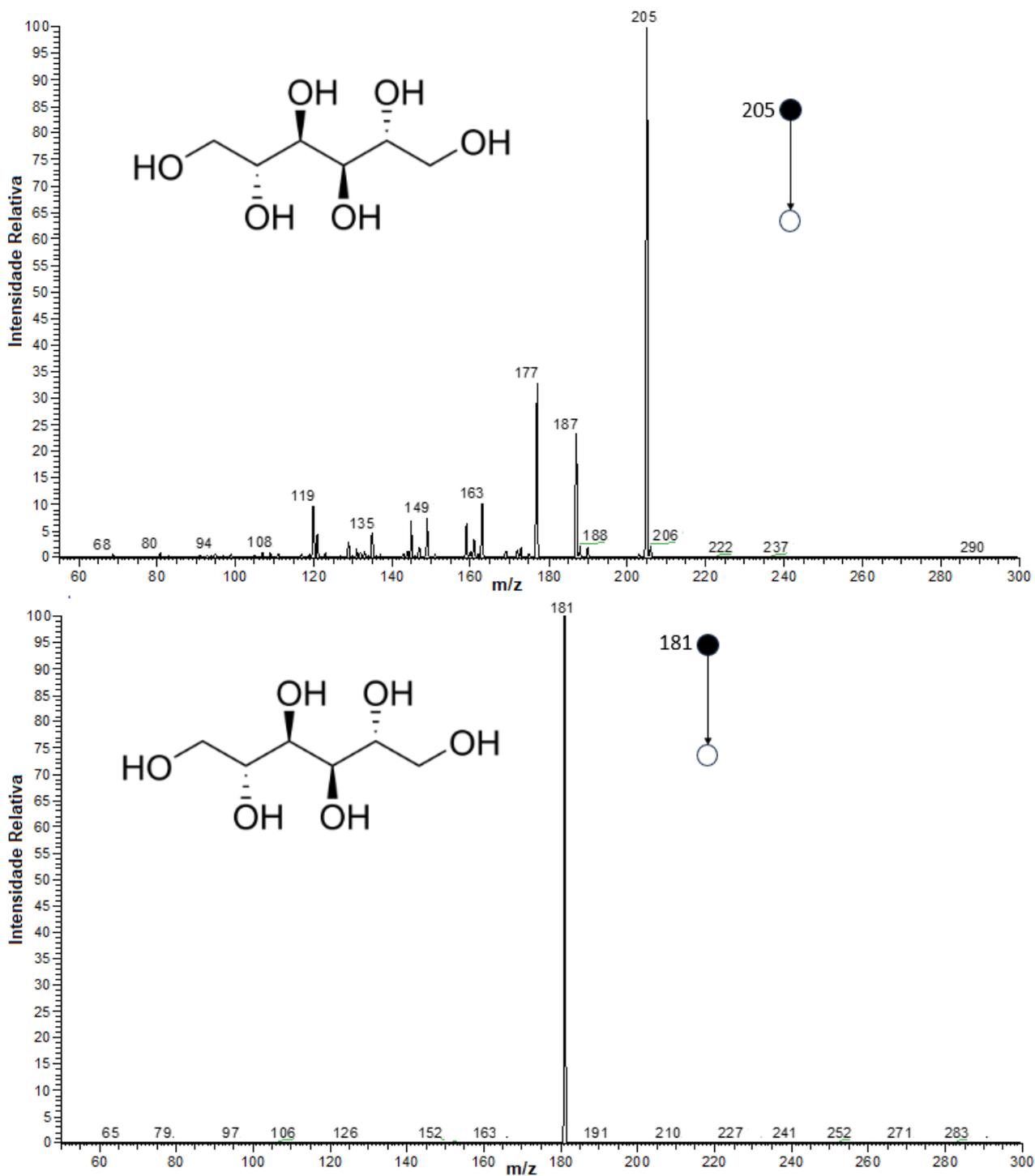
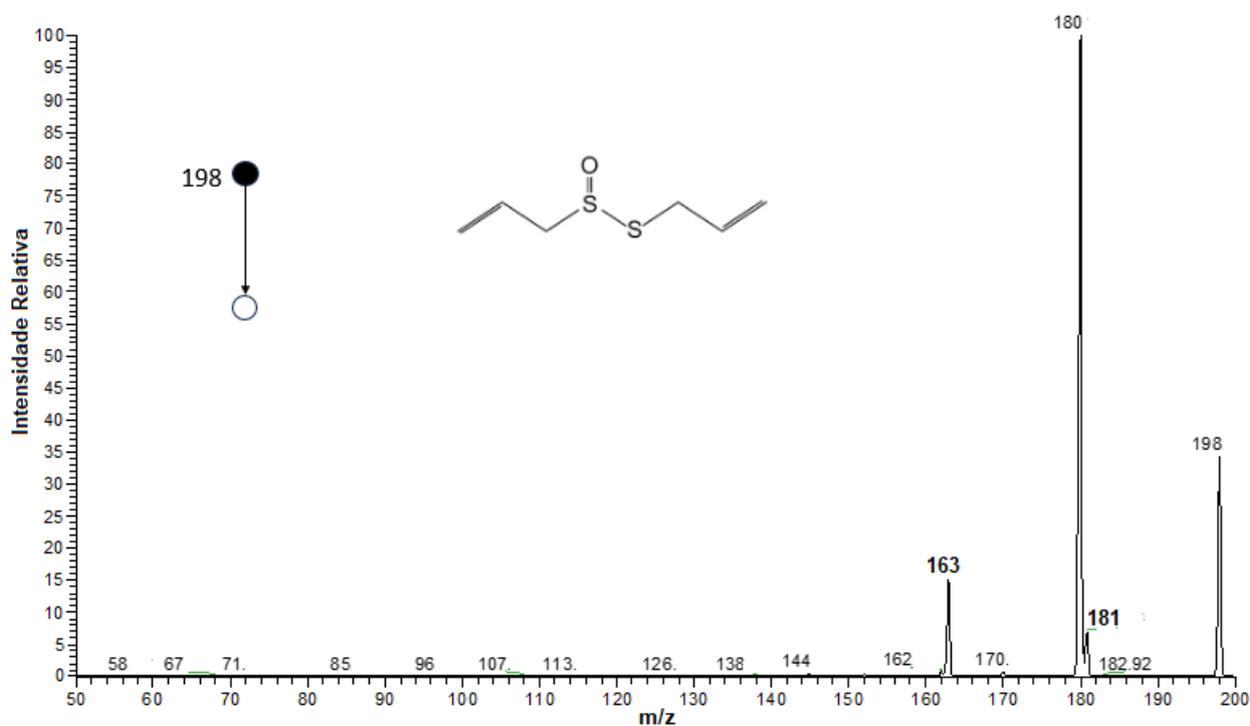
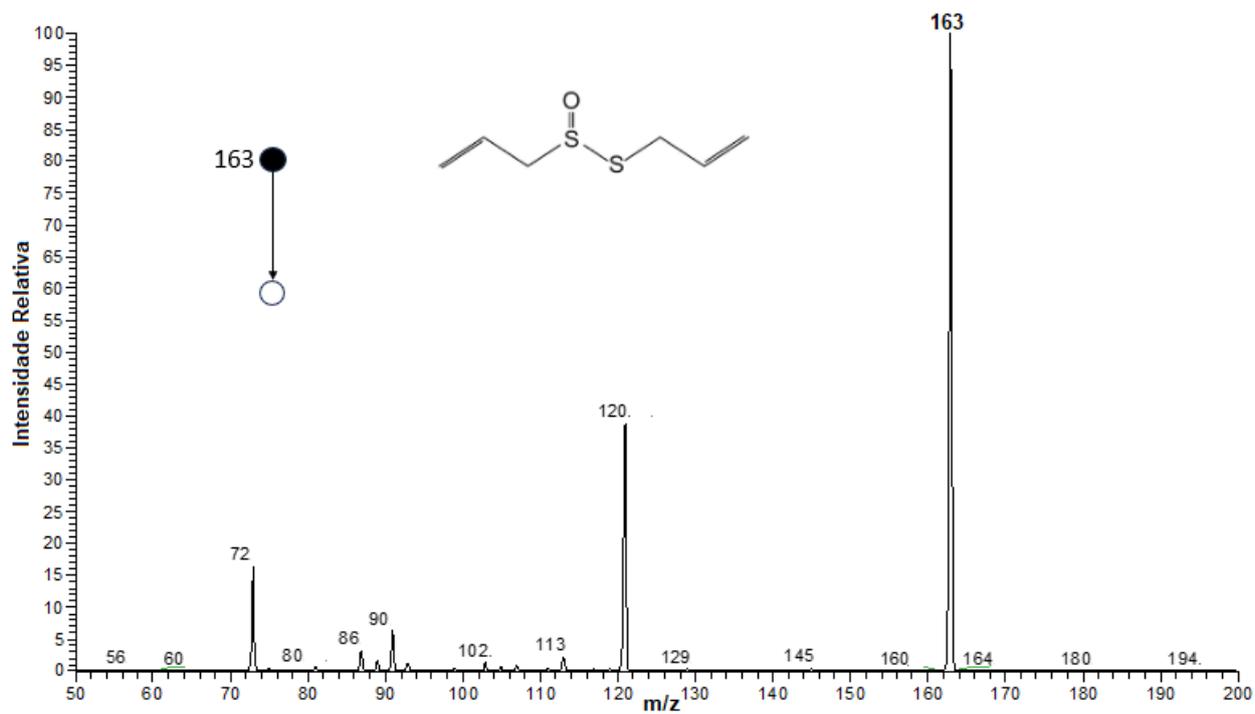
B.2. Trident sem açúcar

Figura B.2: Espectros MS/MS (CID 20) para a fragmentação dos íons precursores m/z 205 e 181 correspondentes aos adutos de manitol nos modos (+) e (-) no Trident sem açúcar.

APÊNDICE C: Espectros de fragmentação ms/ms de íons precursores
selecionados para amostras de vegetais flavorizantes

C.1 Alho



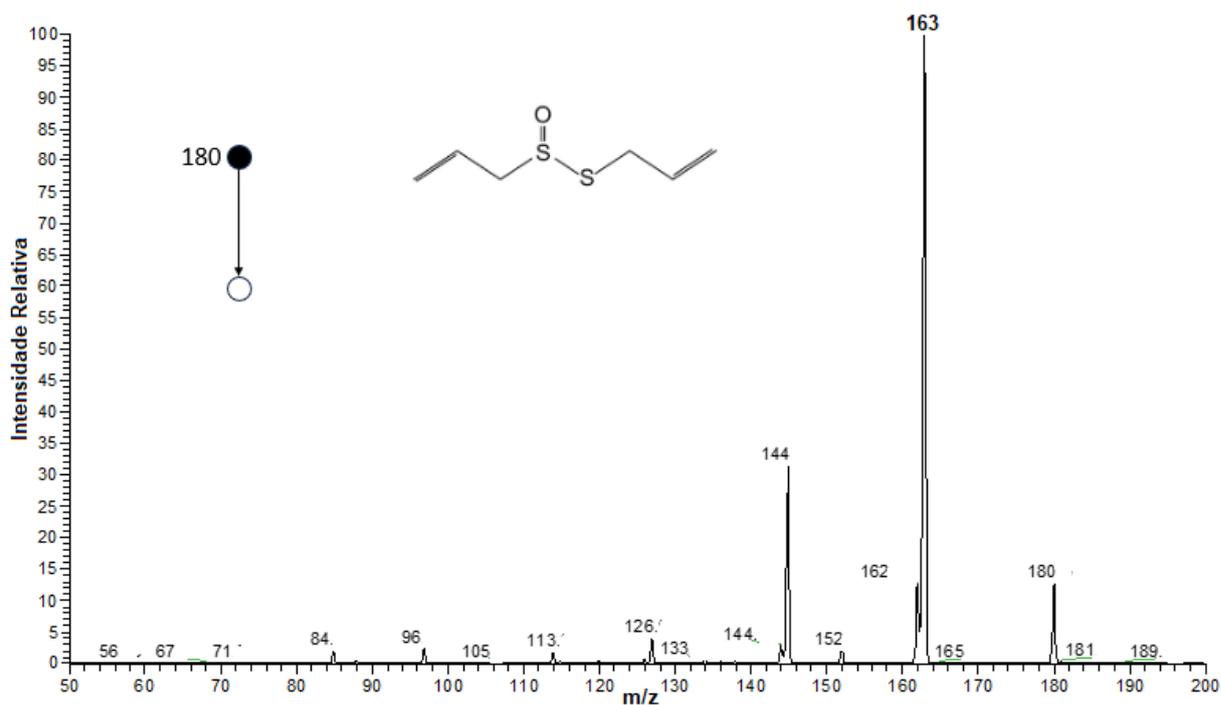


Figura C.1: Espectros MS/MS (CID 15) para a fragmentação dos íons precursor m/z 163, 180 e 198 correspondentes aos adutos de alicina presentes no alho.

C.2. Cebola

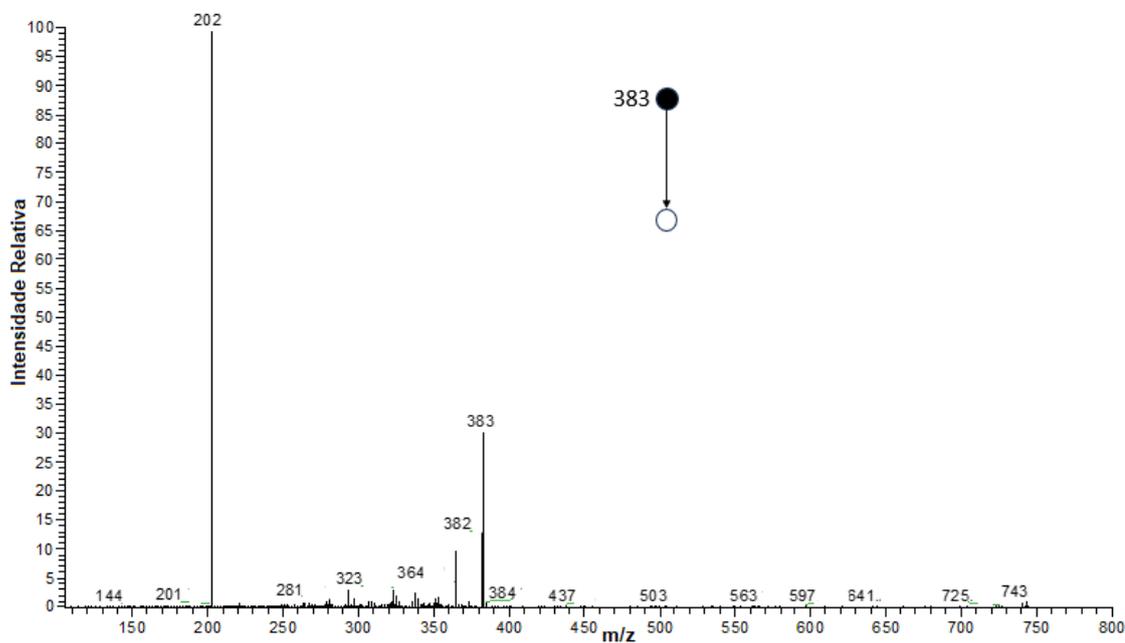


Figura C.2: Espectro MS/MS (CID 22) para a fragmentação do íon precursor m/z 383 (aduto de sacarose) presente na cebola.

C.3. Pimentão

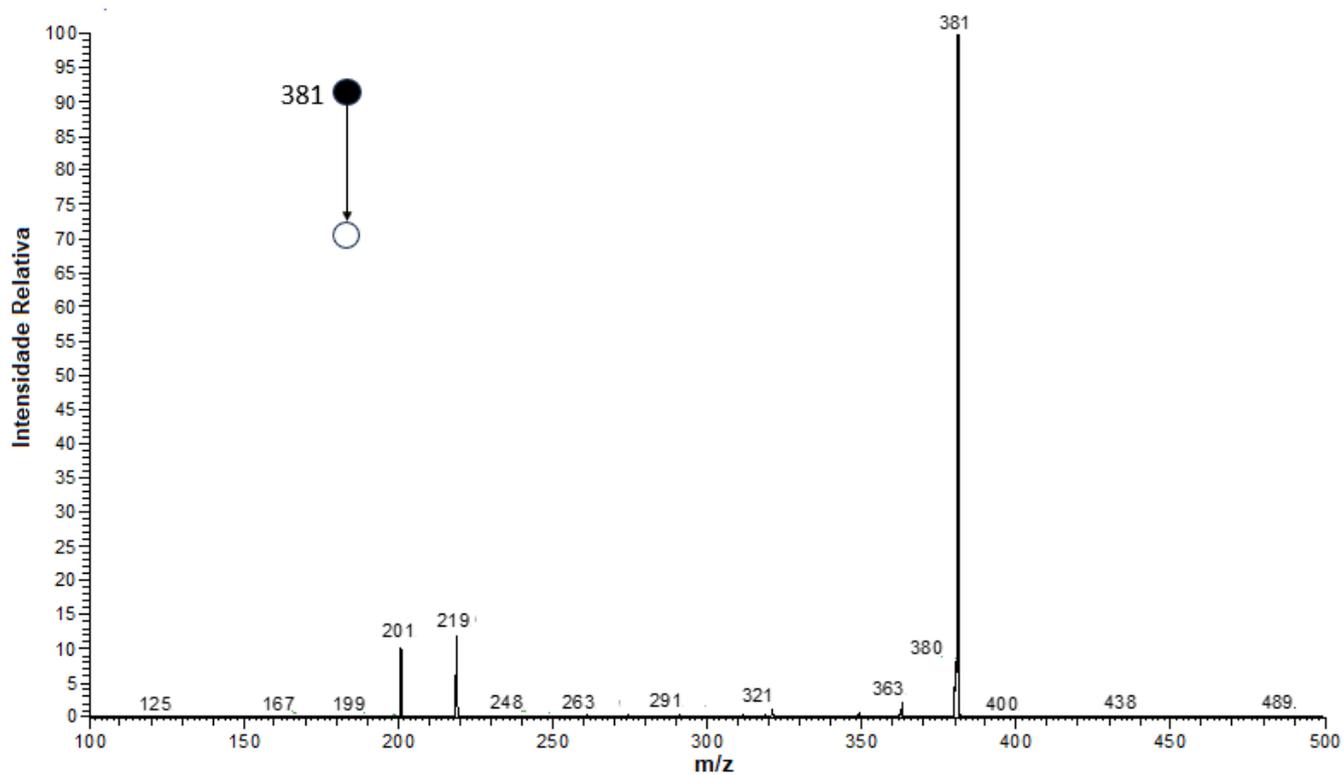


Figura C.3: Espectro MS/MS (CID 17) para a fragmentação do íon precursor m/z 381 (aduto de sacarose) presente no pimentão.

APÊNDICE D: Espectros de fragmentação ms/ms de íons precursores selecionados para amostras de frutas

D.1. Casca de uva

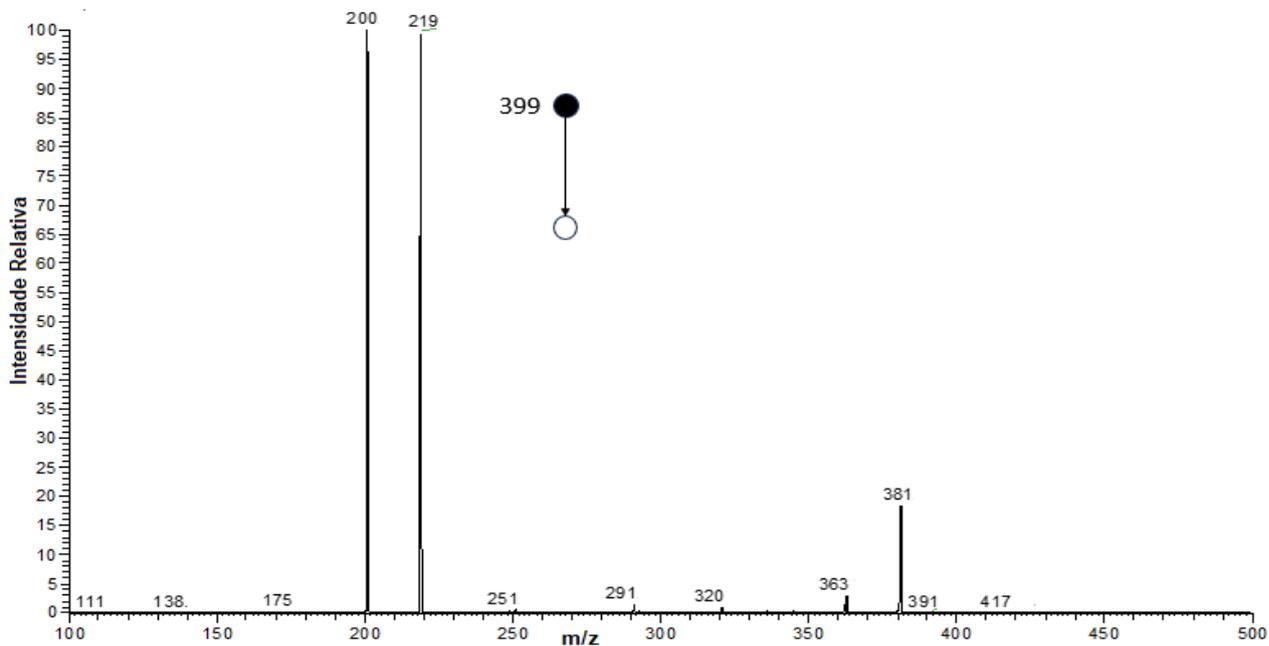


Figura D.1: Espectro MS/MS (CID 20) para a fragmentação do íon precursor m/z 399 (aduto de sacarose) presente na casca de uva.

D.2. Casca de banana

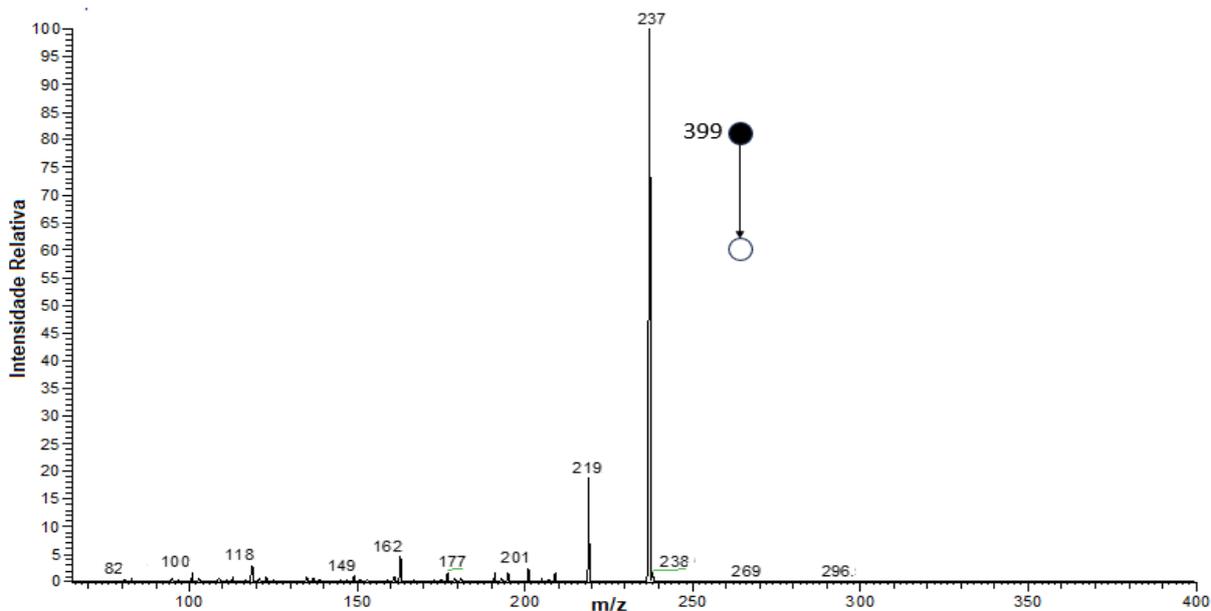


Figura D.2: Espectro MS/MS (CID 18) para a fragmentação do íon precursor m/z 399 (aduto de sacarose) presente na casca de banana.