

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

PAULA SUELLEN DA PAZ SILVA

**ANÁLISE LIPÍDICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DE
PALMEIRAS OLEAGINOSAS NATIVAS DA AMAZÔNIA**

MANAUS - AM

2018

PAULA SUELLEN DA PAZ SILVA

**ANÁLISE LIPÍDICA DE ALGUMAS ESPÉCIES DE
PALMEIRAS OLEAGINOSAS NATIVAS DA AMAZÔNIA**

Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Química, área de concentração: Química Orgânica com ênfase em química de Produtos Naturais e Biomoléculas.

Orientador: Dr. Sergio Massayoshi Nunomura

MANAUS - AM

2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586a	Silva, Paula Suellen da Paz Análise lipídica de algumas espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia / Paula Suellen da Paz Silva . 2018 161 f.: il.; 31 cm. Orientador: Sergio Massayoshi Nunomura Dissertação (Mestrado em Química de Prod. Naturais) - Universidade Federal do Amazonas. 1. Oenocarpus bacaba. 2. Bactris gasipaes. 3. Astrocaryum aculeatum. 4. lipídeos. 5. fragmentação sequenciada. I. Nunomura, Sergio Massayoshi. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título
-------	--

"Análise lipídica de algumas espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia"

Paula Suellen da Paz Silva

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovado, em 25 de setembro de 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Sérgio Massayoshi Nunomura

Universidade Federal do Amazonas

Orientador



Prof. Dr. Afonso Duarte Leão de Souza

Membro UFAM



Prof. Dr. Felipe Moura Araújo da Silva

Membro UFAM

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 25 de setembro de 2018.

Dedico este trabalho a minha família meus pais e aos meus irmãos por todo o amor, apoio e incentivo a mim concedidos, por me fazerem acreditar que com fé, esforço e persistência todos os nossos objetivos de vida poderão se alcançados.

A eles minha eterna gratidão

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, por ter me dado saúde e sabedoria, por todas as graças alcançadas ao longo de todos esses anos e por todas as oportunidades a mim concedidas que me fizeram crescer intelectualmente e me fizeram chegar até aqui.

À minha família, em especial aos meus pais Paulo Antonio e Luzia do Socorro que com muito amor, fé e dedicação educaram e prepararam seus filhos para viver uma vida com sabedoria. Aos meus irmãos Willamy Galdino, Ana Patricia, Thairys Daiana e Ariel William, aos meus cunhados Ádria Leal e John Carvalho, e aos meus sobrinhos, Gabriel Galdino, Rafael Galdino e Ana Clara pela força, união e por todo amor a mim concedidos.

Ao meu orientador Dr. Sergio Massayoshi Nunomura ao qual sou muito grata por todos os conhecimentos transmitidos desde a iniciação científica até o mestrado, pela disponibilidade, por toda a paciência e pela confiança a mim depositada.

As minhas amigas do grupo de pesquisa Rita Cynara, Berna Almeida e Yara Lins, por todo companheirismo e conhecimentos compartilhados. Aos amigos e colegas do INPA (Magno Muniz, Henrique Alves, Renan Feitosa, Andréia Montoia, Bruna Oliveira, Diana Sangama, Marlene Camargo, Dna. Lúrdes e Dna Delmira) que com alegria através de momentos de descontração tornaram os dias mais agradáveis.

Ao Magno Muniz (técnico do laboratório LTQPN do INPA) pela disponibilização e pelo auxílio na realização das análises por espectrometria de massas.

À equipe de pesquisa do laboratório LABCEM da Central Analítica da UFAM (Dr. Felipe Silva, Bruna Ribeiro, Elzalina Soares e César Souza) pelas análises no espectrômetro de massas presente no mesmo, aos quais foram essenciais para conclusão deste trabalho.

Aos amigos e colegas da UFAM, aos meus amigos que me acompanham desde a graduação e aos meus amigos da turma de mestrado (Em especial a Bruna Ribeiro, Airi Souza, Weider Paz, Noam Gadelha, Magaly Martins, Karen Maciel, Elzalina Soares, Richardson Souza e Lídia Procópio) por toda amizade e companheirismo.

Aos professores e ao programa de pós-graduação em química da UFAM, à Universidade Federal do Amazonas, ao Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas (INPA) e ao CNPq pela bolsa de estudo concedida.

E por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

A região amazônica apresenta inúmeras espécies vegetais das quais se extraem óleos e gorduras de composição química e propriedades físico-químicas diversas. Dentre estas, destacam-se as palmeiras (Arecaceae) que apesar da grande abundância, são poucas as que têm sido exploradas economicamente, tal situação pode estar relacionada com a falta de estudos mais aprofundados referentes as mesmas. Desta forma, visando contribuir com a obtenção de conhecimentos mais abrangente sobre a qualidade e composição química de espécies oleaginosas da Amazônia, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a composição estrutural dos triacilglicerídeos (TAGs) presentes em três espécies de palmeiras Amazônicas: bacaba *Oenocarpus bacaba* Martius, pupunha *Bactris gasipaes* Kunth e tucumã *Astrocaryum aculeatum* G. F. W Meyer. Os frutos dessas espécies foram adquiridos em feiras locais e tiveram seus óleos provenientes dos materiais secos e frescos das cascas, polpas e amêndoas submetidos à extração com acetona fria. Após obtenção dos óleos, os mesmos tiveram seus componentes graxos caracterizados e quantificados quimicamente após processo de derivatização por CG-DIC e confirmados por CG-EM. Posteriormente realizou-se a separação dos TAGs das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE), sendo em seguida isolados entre si pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) usando colunas do tipo C18 e C30. Os TAGs isolados foram identificados e caracterizados regioespecificamente por espectrometria de massas em múltiplos estágios (MSⁿ) com auxílio de sais de lítio e amônio, utilizando fonte de ionização do tipo “eletrospray” (ESI) em modo positivo e detecção em analisador do tipo “*ion trap*”. A partir das análises por CG-EM e CG-DIC foram identificados perfis de ácidos graxos semelhantes em todos os óleos provenientes das cascas e polpas dos frutos, com predominância de ácidos graxos insaturados, destacando a presença significativa de ácido oléico e ácidos graxos essenciais como ácido linoléico ($\omega 6$) e ácido linolênico ($\omega 3$) esse ultimo somente identificado nos óleos das cascas e polpas dos frutos de tucumã. Nas amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã observou-se a predominância de ácidos graxos saturados como ácido láurico, mirístico e palmítico, além da presença relevante de ácido oleico (ácido graxo monoinsaturado). Através das análises por expectrometria de massas dos TAGs isolados por CLAE, foi possível identificar e caracterizar regioespecificamente de 30 a 75 TAGs presentes nos óleos das polpas e amêndoas dos frutos. Os óleos das polpas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã apresentaram uma abundância de ácidos graxos insaturados como ácido oleico e/ou petroselínico, palmitoleico e ácidos graxos essenciais linoléico ($\omega 6$) e linolênico, esterificados na posição sn-2 de diferentes TAGs. Os óleos das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã mostraram serem ricos em ácidos graxos saturados de cadeia média, como ácido láurico, mirístico e palmítico, além da presença de ácido oleico e/ou petroselínico esterificados indistintamente nas posições regioespecíficas sn-1/sn-3 e sn-2 das moléculas de TAGs. A identificação da presença de ácidos graxos importantes para a dieta humana, como ácidos graxos insaturados e ácidos graxos essenciais esterificados na posição sn-2 de triacilglicerídeos, demonstram o potencial lipídico dos óleos amazônicos principalmente para fins alimentares, uma vez que esta posição regioespecífica apresenta grande importância biológica no processo de armazenamento e metabolismo de lipídeos.

Palavras Chaves: *Oenocarpus bacaba*, *Bactris gasipaes*, *Astrocaryum aculeatum*, lipídeos, fragmentação sequenciada, adutos de lítio.

ABSTRACT

The Amazon region presents numerous vegetal species from which oils and fats of chemical composition and diverse physicochemical properties are extracted. Among these, the palm trees (Arecaceae) stand out that despite the great abundance, few are those explored economically, such situation may be related to the lack of further studies on the lipid composition of the same. In this way, aiming to contribute to obtaining more comprehensive knowledge about the quality and chemical composition of Amazonian species, the present work had the objective to evaluate the structural composition of triacylglycerides (TAGs) present in three species of Amazonian palms: bacaba *Oenocarpus bacaba* Martius, pupunha *Bactris gasipaes* Kunth e tucumã *Astrocaryum aculeatum* G. F. W Meyer. The fruits of these species were purchased at local fairs and had their oils from the dry and fresh materials of the husks, pulps and almonds subjected to extraction with cold acetone. After obtaining the oils, they had their fatty acids characterized and quantified chemically after process of derivatization by CG-FID and confirmed by GC-MS. Subsequently, the TAGs were separated of the diverse lipid classes by solid phase extraction (SPE) and then isolated by high efficiency liquid chromatography (HPLC) using C18 and C30 columns. The isolated TAGs were identified and characterized regiospecifically by multi-stage mass spectrometry (MSⁿ) with the aid of lithium and ammonium salts, using electrospray ionization (ESI) source in positive mode and detection in ion-trap analyzer. The GC-MS and GC-FID analyzes showed similar fatty acid profiles in all oils from fruit peels and pulps, with predominance of unsaturated fatty acids, highlighting the significant presence of oleic acid and essential fatty acids as linoleic acid ($\omega 6$) and linolenic acid ($\omega 3$), the latter only identified in the oils of the barks and pulps of the fruits of tucumã. In the almonds of the fruits of pupunha and tucumã the predominance of saturated fatty acids as lauric, myristic and palmitic acids was observed, besides the relevant presence of oleic acid (monounsaturated fatty acid). Through the analysis by mass spectrometry of TAGs isolated by HPLC, it was possible to identify and characterize regiospecifically 30 to 75 TAGs present in the oil of the pulp and almond of the fruits. The fruit pulp oils showed an abundance of unsaturated fatty acids, such as oleic and / or petroselinic, palmitoleic and essential fatty acids linoleic ($\omega 6$) and linolenic ($\omega 3$) fatty acids, the latter in oils from pulps of tucumã, esterified in the sn-2 position of different TAGs. The oils of the almonds the pupunha and tucumã fruits have been shown to be rich in medium chain saturated fatty acids, such as lauric, myristic and palmitic acids, as well as the presence of oleic and / or petroselinic acid esterified indistinctly in the regional, sn- 1 / sn-3 and sn-2 of the TAG molecules. The presence of fatty acids important for the human diet, such as unsaturated acids and essential fatty acids esterified at the sn-2 position of triacylglycerides, demonstrate the lipid potential of the Amazonian oils for food purposes, since this regional position has great biological importance in the process storage and metabolism of lipids.

Keywords: *Oenocarpus bacaba*, *Bactris gasipaes*, *Astrocaryum aculeatum*, lipids, sequenced fragmentation, lithium adducts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação estrutural de uma molécula de TAG (LnOL) com distribuição estereoespecífica de ácidos graxos em posições sn-1/sn-3 e sn-2.	21
Figura 2 - Palmeiras e frutos de bacaba (<i>O. bacaba</i>)	26
Figura 3 - Palmeiras e frutos de pupunha (<i>B. gasipaes</i>)	27
Figura 4 - Palmeiras e frutos de tucumã (<i>A. aculeatum</i>)	28
Figura 5 - Representação estrutural do ácido oleico (C 18:1 Δ^9).....	31
Figura 6 - Nomenclatura ω do ácido linoléico (18:2, ω 6)	32
Figura 7 - Biossíntese de ácidos graxos insaturados	34
Figura 8 - Representação estrutural de moléculas de triacilglicerídeos SLO (a) e SOL (b). ...	36
Figura 9 - Hidrólise regioespecífica de ácidos graxos nas posições sn1/sn-3 e sn-2	37
Figura 10 - Perfis lipídicos por CCD dos óleos extraídos dos frutos em estudo	60
Figura 11 - Análise por CCD de FAMES obtidos no processo de derivatização dos óleos dos frutos em estudo	61
Figura 12 - Análise por CG-DIC de padrões de FAMES em coluna apolar e coluna polar	62
Figura 13 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das polpas frescas (OBPF) e polpa seca (OBPS) dos frutos de bacaba	67
Figura 14 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das cascas (OPC), amêndoas (OPA), polpas secas (OPPS) e polpas frescas (OPPF) dos frutos de pupunha	68
Figura 15 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das cascas (OTC), amêndoas (OTA), polpas secas (OTPS) e polpas frescas (OTPF) dos frutos de tucumã.	68
Figura 16 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de bacaba	71
Figura 17 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de bacaba.....	71
Figura 18 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de pupunha.....	72
Figura 19 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de pupunha.....	73
Figura 20 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de tucumã.....	74
Figura 21 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de tucumã.....	74
Figura 22 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha.....	75
Figura 23 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã.....	75
Figura 24 - Mapa de fragmentação de TAG.....	76
Figura 25 - Mecanismo de fragmentação proposta para a localização de ligações duplas nas cadeias de ácidos graxos.....	77

Figura 26 - Espectros de massas em MS da fração 21 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).....	81
Figura 27 - Espectros de massas do triacilglicerídeo OOO (C18:1/C18:1/C18:1-TAG) identificado na amostra 21 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 891 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 902 (b).....	82
Figura 28 - Espectros de massas em MS ³ do íon de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 609 (891 → 609) gerado a partir do triacilglicerídeo OOO (C18:1/C18:1/C18:1-TAG).....	82
Figura 29 - Espectros de massas em MS da fração 5 do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).....	83
Figura 30 - Espectros de massas do triacilglicerídeo LaLaLa (C12:0/C12:0/C12:0-TAG) identificado na amostra 5 do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 645 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 656 (b). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 445,34 (645 → 445) (c)	83
Figura 31 - Figura 32. Espectros de massas em MS da fração 32 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)	86
Figura 32 - Espectros de massas de triacilglicerídeo POP (C16:0/C18:1/C16:0-TAG) regioisomérico identificados na amostra 32 do óleo da polpa de pupunha. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 839 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 850 (b).	86
Figura 33 - Valores de <i>m/z</i> predeterminados para fragmentos em MS ³ de PPO/OPP e POP ..	87
Figura 34 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos POP e OPP/PPO identificados na amostra 32 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha. Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 583 (839 → 583) (a). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 557 (839 → 557) (b).....	89
Figura 35 - Espectros de massas em MS da fração 33 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).	89
Figura 36 - Espectros de massas em dos triacilglicerídeos POP e PPO/OPP identificados na amostra 33 do óleo da polpa da pupunha. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 839 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 850 (b).	90
Figura 37 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos POP e PPO/OPP identificados na amostra 33 do óleo da polpa da pupunha. Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 583 (839, → 583) (a). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 557 (839 → 557) (b)	91
Figura 38 - Espectros de massas em MS da fração 12 do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).....	92
Figura 39 - Espectros de massas do triacilglicerídeo MOO (C14:0/C18:1/C18:1-TAG) identificado na amostra 12 do óleo da polpa seca de bacaba. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 837 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 848 (b).	92
Figura 40 - Valores de <i>m/z</i> predeterminados para fragmentos em MS ³ de MOO/OOM.	93
Figura 41 - Espectros de massas do triacilglicerídeo MOO/OOM (C14:0/C18:1/C18:1-TAG) identificado na amostra 12 do óleo da polpa seca de bacaba. Espectro em MS ³ do íon de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 555 (837 → 555) (a) Espectro em MS ³ do íon de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 609,000 (837 → 555) (b).....	94

Figura 42 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos PPoO/OPoP, PoOP/POPo e OPPo/PoPO identificados na amostra 12 do óleo da polpa de bacaba. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 837 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 848 (b).	95
Figura 43 - Valores de <i>m/z</i> predeterminados para fragmentos em MS ³ de PPoO/OPoP, PoOP/POPo e OPPo/PoPO	95
Figura 44 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos PPoO, PoOP e OPPo identificados na amostra 12 do óleo da polpa de bacaba. Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 555 (837 → 555) (a). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 581 (837 → 581) (b). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 583 (837 → 583) (c)	97
Figura 45 - Espectros de massas em MS da fração 12 do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).	98
Figura 46 - Espectros de massas do triacilglicerídeo SOP identificado na amostra 25 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 867 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 878 (b).	99
Figura 47 - Valores de <i>m/z</i> predeterminados para fragmentos em MS ³ de SOP/POS, PSO/OSP e OPS/SPO.	99
Figura 48 - Espectros de massas do triacilglicerídeo SOP/POS identificado na amostra 25 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 611 (867 → 611) (a) Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 583 (867 → 583) (b) Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 585 (867 → 585) (c).	101
Figura 49 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos SOP/POS, PSO/OSP e OPS/SPO identificados na amostra 26 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 867 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 878 (b).	102
Figura 50 - Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 611 (867 → 611) (a). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 585 (867 → 585) (b). Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 583 (867 → 583) (c).	103
Figura 51 - Espectros de massas em MS da fração 11 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b).	104
Figura 52 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos OGLa/LaGO, GOLa/LaOG e GLaO/OLaG identificados na amostra 11 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha. Espectro em MS ² do íon de [TAG+Li] ⁺ <i>m/z</i> 837 (a). Espectro em MS ² do íon de [TAG+NH ₄] ⁺ <i>m/z</i> 848 (b).	105
Figura 53 - Valores de <i>m/z</i> predeterminados para fragmentos em MS ³ de OGLa, OLaG e GLaO.	105
Figura 54 - Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 637 (837 → 637) (a) Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 527 (837 → 527) (b) Espectro em MS ³ do íon fragmento de diacilglicerídeo <i>m/z</i> 555 (837 → 555) (c).	106
Figura 55 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de bacaba.	112
Figura 56 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de pupunha.	115
Figura 57 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de tucumã	118

Figura 58 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha.....	124
Figura 59 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã.....	129
Figura 60 - Análises por CLAE de padrões de trioleína (C18:1 cis-9) (a) e Tripetroselinina (C18:1 cis-6) (b). Concentração 1mg/mL, volume 10 µL, coluna C30, sistema de eluição: C: ACN; D: Hex/I-PrOH (5:4), C/D: 60:40.	131
Figura 61 - Ampliação dos espectros de massas em MS ³ para Trioleína (a) e tripetroselinina (C18:1 cis-6) (b), indicando os íons fragmentos que determinam a posição da dupla ligação no ácido oleico.....	131
Figura 62 - Ampliações dos espectros de massas em MS ³ de OOO presentes nas amostras OBPS 13 (a) OPPS 28 (b) OTPS 17 (c) OPA 21 (d) e OTA 21 (e).	133
Figura 63 - Espectro de massas em MS ³ (865 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis POO/OPO identificado na amostra 14 do óleo da polpa de bacaba.	134
Figura 64 - Espectro de massas em MS ³ (893 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis SOO/OSO identificado na amostra 34 do óleo da polpa de pupunha.	134
Figura 65 - Espectro de massas em MS ³ (889 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis LOO/OLO identificado na amostra 13 do óleo da polpa de tucumã.	134
Figura 66 - Espectro de massas em MS ³ (837 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis MOO/OMO identificado na amostra 19 do óleo da amêndoa de pupunha.	135
Figura 67 - Espectro de massas em MS ³ (893 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido do triacilglicerídeo OSO identificado na amostra 24 do óleo da amêndoa de tucumã.	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas espécies dos principais gêneros de palmeiras amazônicas.	23
Tabela 2 - Composição de ácidos graxos em frutos de algumas espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia.	25
Tabela 3 - Nomenclatura e estruturas de ácidos graxos comuns.	31
Tabela 4- Rendimentos de óleos obtidos da casca, polpas e amêndoas de frutos.	58
Tabela 5 - Média dos tempos de retenção dos padrões de FAMES analisados em triplicata por CG-DIC em colunas apolar e polar.	62
Tabela 6 - Composição média em ácidos graxos dos óleos provenientes das cascas, polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã quando analisados por CG-DIC em coluna apolar e polar.	64
Tabela 7 - Somatório dos percentuais de ácidos graxos saturados e insaturados dos óleos analisados.	64
Tabela 8. Valores de massas e rendimentos de TAGs obtidos das amostras de óleo quando submetidos a fracionamento por SPE com sistema de eluição em ordem crescente de polaridade.	69
Tabela 9. Somatório dos valores de massas de TAGs isolados nos três primeiros sistemas de eluição.	69
Tabela 10. Valores de m/z predeterminados para fragmentos em MS^3 de ácidos graxos litiados.	85
Tabela 11. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de bacaba (OBPS).	110
Tabela 12. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de pupunha (OPPS).	113
Tabela 13. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de tucumã (OTPS).	116
Tabela 14. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha (OPA).	120
Tabela 15. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã (OTA).	125

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Mecanismo proposto para formação do íon m/z 74 em ésteres metílicos através de rearranjo de McLafferty	40
Esquema 2 - Proposta de fragmentação sequenciada de aduto de triacilglicerídeo litiado para 18:1/18:1/18:1- TAG	80
Esquema 3 - Proposta de fragmentação sequenciada de $[LaLaLa+Li]^+$ para 12:0/12:0/12:0-TAG	84
Esquema 4 - Proposta mecanística de fragmentação do íon fragmento m/z 609 para localização de dupla ligação da trioleína (C18:1 cis-9) (a) e tripetroselinina (C18:1 cis-6) (b).	132
Esquema 5 - Rota biossintética do ácido petroselínico	136

ABREVIATURAS

AG	Ácido Graxo
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization (Ionização Química a Pressão Atmosférica)
BPC	Base Peak Chromatogram (Cromatogramas de Picos Bases)
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-DIC	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DAG	Diacilglicerídeo
ECN	Equivalent Carbon Number (Número de equivalente de carbono)
ESI	Electrospray Ionization (Ionização por electrospray)
FAME	Fatty Acid Methyl Ester (Éster metílico de ácidos graxos)
FFA	Free Fatty Acid (ácidos graxos livres)
LC-MS	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas)
MAG	Monoacilglicerídeo
MS ⁿ	Espectrometria de massas sequencial em múltiplos estágios
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
NARP-HPLC	Non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography (Cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa não aquosa)
OBPS	Óleo da polpa seca de bacaba
OBPF	Óleo da polpa fresca de bacaba
OPC	Óleo da casca de pupunha
OPA	Óleo da amêndoa de pupunha
OPPS	Óleo da polpa seca de pupunha
OPPF	Óleo da polpa fresca de pupunha
OTC	Óleo da casca de tucumã
OTA	Óleo da amêndoa de tucumã
OTPS	Óleo da polpa seca de tucumã
OTPF	Óleo da polpa fresca de tucumã
sn	Stereospecific Numbering (numeração estereoespecífica)
SPE	Solid-phase extraction (Extração em Fase Sólida)
TAG	Triacilglicerídeo
TIC	Total Ion Chromatogram (Cromatograma de Íon Totais)
<i>t_r</i>	Tempo de retenção
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

α - Alfa

β - Beta

γ - Gama

δ - delta

Δ - Delta

ω - Ômega

Σ - Somatório

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1. Oleaginosas brasileiras nativas da Amazônia	22
2.2. Palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia.....	22
2.2.1. Bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i> Mart.)	26
2.2.2. Pupunha (<i>Bactris gasipaes</i> Kunt.)	27
2.2.3. Tucumã (<i>Astrocaryum aculeatum</i> Meyer.)	28
2.3. Composição química e propriedades lipídicas de óleos vegetais.....	28
2.4. Ácidos graxos.....	30
2.4.1. Nomenclatura de ácidos graxos	31
2.4.2. Biossíntese de ácidos graxos insaturados.....	32
2.5. Triacilglicerídeos (TAGs)	35
2.5.1. Estereoespecificidade e regioespecificidade de triacilglicerídeos	35
2.5.2. Absorção de triacilglicerídeos.....	36
2.5.3. Composição de triacilglicerídeos regioespecíficos em óleos vegetais.....	37
2.6. Métodos analíticos empregados na caracterização de lipídeos	38
2.6.1. Cromatografia gasosa (CG).....	38
2.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	40
2.6.3. Espectrometria de massas	41
2.7. Caracterização estrutural de triacilglicerídeos em espécies oleaginosas nativas da Amazônia.....	43
3. OBJETIVOS.....	45
3.1. Objetivo Geral	45
3.2. Objetivos Específicos.....	45
4. MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1. Materiais.....	46
4.1.1. Produtos, Reagentes e Solventes.....	46
4.1.2. Equipamentos.....	46
4.2. Métodos.....	47
4.2.1. Seleção e obtenção dos óleos de frutos de palmeiras Amazônicas.....	47
4.2.2. Extração do óleo de frutos de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia	48
4.2.3. Extração do óleo presente nas polpas frescas de cada fruto.....	48

4.2.4. Extração do óleo presente no material seco de cada fruto	49
4.2.5. Caracterização preliminar dos resíduos de ácidos graxos por cromatografia gasosa	51
4.2.5.1. Derivatização dos óleos.....	51
4.2.5.2. Caracterização da cadeia graxa por CG-DIC.....	52
4.2.5.3. Caracterização da cadeia graxa por CG-EM.....	53
4.2.6. Isolamento de triacilglicerídeos	53
4.2.6.1. Fracionamento de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE).....	53
4.2.6.2. Isolamento de triacilglicerídeos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa não aquosa.	54
4.2.7. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos por espectrometria de massas utilizando ionização por “electrospray” e fragmentação sequenciada em MS ⁿ com adutos de lítio e amônio.	55
4.2.7.1. Identificação estrutural de triacilglicerídeos.....	55
4.2.7.2. Caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos.....	56
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1. Extração do óleo de frutos de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia	58
5.2. Caracterização preliminar dos resíduos de ácidos graxos por cromatografia gasosa	60
5.2.1. Derivatização dos óleos em estudo	60
5.2.2. Análise por CG-DIC de padrões de FAMES.....	61
5.2.3. Caracterização e quantificação da cadeia graxa por CG-DIC dos óleos das cascas polpas e amêndoa dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã	63
5.2.4. Caracterização da cadeia graxa dos óleos das cascas, polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã por CG-EM.....	66
5.3. Isolamento de triacilglicerídeos	67
5.3.1. Isolamento de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE).....	67
5.3.2. Isolamento de triacilglicerídeos individuais presentes nos óleos das polpas dos frutos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa não aquosa.....	70
5.3.2.1. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de bacaba	70
5.3.2.2. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de pupunha	72

5.3.2.3. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de tucumã	73
5.3.3. Isolamento de triacilglicerídeos individuais presentes nos óleos das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã por CLAE em fase reversa não aquosa.....	75
5.4. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos por espectrometria de massas utilizando ionização por electrospray e fragmentação sequenciada em MS ³ com adutos de lítio e amônio em analisador do tipo <i>Ion trap</i>	76
5.4.1. Interpretação de espectros de massas de triacilglicerídeos	77
5.4.1. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo AAA.....	78
5.4.1.2. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo AAB/BAA ou ABA	85
5.4.1.3. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo ABC, ACB ou BAC	94
5.4.2. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de bacaba.....	107
5.4.3. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de pupunha.	108
5.4.4. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de tucumã.	109
5.4.5. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã	119
6. CONCLUSÃO	137
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138
APÊNDICE A	146
APÊNDICE B	151
APÊNDICE C	153

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país rico em matérias-primas renováveis, principalmente na região amazônica. Nesta parte do território brasileiro, apresentam-se inúmeras espécies vegetais das quais se extraem óleos e gorduras vegetais de composição química e propriedades físico-químicas diversas (PESCE, 2009). Dentre as diversas espécies de oleaginosas nativas da Amazônia destacam-se as palmeiras pertencentes à família Arecaceae, sendo essas uma das principais e mais importante fonte de óleos vegetais, tanto pela quantidade de produção, quanto pelo valor comercial de seus óleos e gorduras (MONTÚFAR, 2010).

Os óleos e as gorduras provenientes de diversas espécies vegetais são constituídos predominantemente por triacilglicerídeos (TAGs) (superior a 95%), que geralmente seguem um padrão único e típico, que determinam as características de diferentes oleaginosas e desempenham papéis funcionais e sensoriais importantes em produtos alimentares (SANTOS et al, 2013.; FASINA et al., 2008), em alguns casos, apresentam também constituintes minoritários tanto derivados de ácidos graxos como ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e fosfolipídios; como não derivados, também conhecidos por insaponificáveis com destaque para esteróides, carotenóides, tocoferóis, entre outros (COZZOLINO & GIULIO, 2011). Estes apresentam diversas aplicações, tanto nas indústrias alimentícias como na fabricação de sabonetes, cosméticos e produtos farmacêuticos (FASINA et al., 2008).

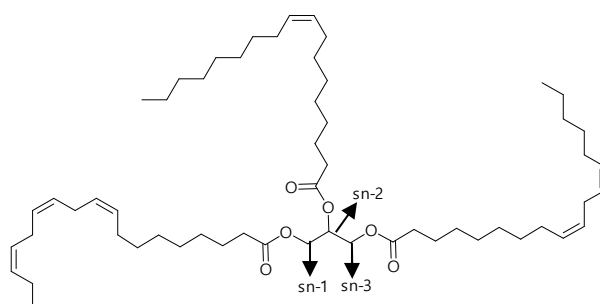
Apesar da grande biodiversidade de espécies oleaginosas nativas da amazonia e das diversas utilidades que seus óleos e gorduras podem apresentar, poucas são as espécies vegetais amazônicas conhecidas e, portanto, pouco exploradas economicamente. Dessa forma, o desenvolvimento de estudos mais abrangentes sobre a qualidade e composição química destas espécies são de grande importância e interesse pois podem promover o incentivo do seu uso além de avaliar seu potencial econômico (SANTOS et al., 2013).

Os estudos lipídicos realizados com as espécies vegetais amazônicas restringem-se a descrição de seus componentes graxos, no entanto a identificação e a caracterização regioespecífica de TAGs sendo este os principais componentes de óleos e gorduras vegetais ainda são pouco estudadas. Dentre os poucos trabalhos descritos na literatura, Santos et al (2013); Saraiva et al (2009) e Bataglion et al (2014) descrevem a composição de TAGs em frutos de algumas espécies oleaginosas nativas da Amazônia e Oboh e Oderinde (1988) descrevem a caracterização regioespecífica de TAGs em frutos amazônicos.

Os TAGs presentes em óleos e gorduras são componentes importantes na dieta humana, pois servem como fonte de reserva de energia no organismo, além de serem fontes de ácidos

graxos essenciais como linoléico e α -linolênico, vitaminas lipossolúveis e de outros constituintes apolares (LÍSA & HOLCAPEK, 2008). Estes apresentam três substituintes de ácidos graxos esterificados numa molécula de glicerol, aos quais se encontram distribuídos entre as posições estereoespecíficas denominadas de sn-1/sn-3 e sn-2 (figura 1) (HÁKOVÁ et al., 2015). O agrupamento dos ácidos graxos se dá de forma não randômica (aleatória) sobre a molécula de glicerol e devido à ampla gama de ácidos graxos existentes, estes podem apresentar grandes números de combinações possíveis, gerando um enorme número de TAGs individuais, demonstrando então a complexidade lipídica de óleos e gorduras vegetais (DUGO et al., 2006).

Figura 1 - Representação estrutural de uma molécula de TAG (LnOL) com distribuição estereoespecífica de ácidos graxos em posições sn-1/sn-3 e sn-2



Fonte: A autora (2018)

Tendo em vista tais complexidades, diversos estudos têm sido realizados para aperfeiçoar métodos analíticos que permitem a caracterização intacta de TAGs em diversas amostras lipídicas. Dentre estas técnicas destacam-se as cromatográficas de alta eficiência, tanto gasosa quanto líquida, acoplada ou não a técnicas de espectrometria de massas utilizando diferentes modos de ionização e análise. O emprego de estudos de fragmentação por espectrometria de massas sequenciada (MS^n) permite realizar uma completa análise regioespecífica de TAGs presentes em óleos e gorduras (HERREIRA et al., 2010; MARZILLI et al., 2003; LÉVÊQUE et al., 2010; LIN & ARCINAS, 2008; HOLCAPEK et al., 2010; HÁKOVÁ et al., 2015). A análise estrutural de TAGs, incluindo a análise da distribuição regioespecífica de ácidos graxos nas diferentes posições no esqueleto de glicerol de oleaginosas amazônicas poderia proporcionar informações importantes sobre tais espécies, tendo em vista que, tais características controlam a funcionalidade dos óleos e gorduras (LERMA-GARCÍA et al., 2011.; LIN et al., 2008) pois afetam tanto as propriedades físicas dos óleos para uso industrial quanto na absorção humana de lipídeos a partir dos alimentos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Oleaginosas brasileiras nativas da Amazônia

Os óleos e as gorduras vegetais despertam um crescente interesse mundial, especialmente aqueles que apresentam propriedades exóticas ou que podem ser produzidos sem degradar o meio ambiente. A região amazônica apresenta inúmeras espécies vegetais que produzem óleos e gorduras com composições químicas e propriedades físico-químicas diversas (PESCE, 2009). Dentre estes, a castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), a andiroba (*Carapa guianenses*), o babaçu (*Orbignya spp.*), o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), o murumuru (*Astrocaryum murumuru*), o buriti (*Muritia flexuosa*), o maracujá (*Passiflora spp.*) e a ucuúba (*Virola sebifera*) são exemplos representativos das diversas espécies vegetais amazônicas com grande valor econômico por seus óleos e gorduras, uma vez que estes apresentam diversas aplicações nos ramos nutricionais, farmacêuticos e cosméticos (CLAY et al., 2000; SARAIVA et al., 2009).

Embora os óleos e gorduras provenientes destas e de diversas espécies de oleaginosas apresentarem diversas aplicações, poucas são as espécies vegetais que têm sido exploradas economicamente, motivando então a realização de estudos científicos mais abrangentes sobre a qualidade e composição química das mesmas de forma a incentivar o seu uso (SANTOS et al., 2013). O conhecimento abrangente das composições químicas de espécies oleaginosas vegetais, além de ser essencial para o desenvolvimento de novos produtos comerciais provenientes de fontes de matérias primas naturais e renováveis, poderia também promover uma maior valorização das espécies amazônicas, de forma a agregar valor às mesmas e por consequência ocasionar um aumento da geração de lucro para a população que fazem da floresta fonte de renda familiar. A devida valorização e o interesse pelos óleos e gorduras vegetais podem também ser um incentivo à conservação da flora amazônica, o que poderia proporcionar ações para o desenvolvimento sustentável nesta região e promover a exploração renovável e por consequência a conservação da floresta e sua grande biodiversidade. (CLAY et al., 2000; SARAIVA et al., 2009).

2.2. Palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia

Dentre as diversas espécies oleaginosas nativas da Amazônia, as palmeiras são umas das principais e mais importantes fontes de óleos vegetais, tanto pela quantidade de produção, quanto pelo valor comercial dos óleos e gorduras que essas produzem (MONTÚFAR et al.,

2010). As plameiras são plantas pertencentes à família Arecaceae, antigamente denominada de Palmae e são representadas por cerca de 2.600 espécies distribuídas em mais de 240 gêneros. Dentre os quais, 50% dos gêneros e 30% das espécies ocorrem na região Amazônica (LORENZI et al., 2004; MIRANDA, 2001).

A tabela 1 apresenta de forma resumida, algumas das principais espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia, distribuídas em seus respectivos gêneros. Algumas dessas palmeiras embora apresentem os mesmos nomes populares tendo em vistas as suas características similares são correspondentes a espécies diferentes tais como o tucumã e o açaí, que muitas das vezes são referenciados pelos nomes dos locais de origem.

Tabela 1 - Algumas espécies dos principais gêneros de palmeiras amazônicas.

Gênero <i>Astrocaryum</i>		
tucumã-do Para	PA, MA, TO	<i>Astrocaryum vulgare</i> Mart
tucumã	AM, AC, MT, PA, RO	<i>Astrocaryum aculeatum</i> G. Mey
murumuru	AC, AM, PA, RO	<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.
Gênero <i>Attalea</i>		
inajá	AC, AM, MA, MT, MS, PA, RO	<i>Attalea maripa</i> (Aubl.) Mart.
uricuri	AC, PA, SP, Pantanal Matogrossense	<i>Attalea phalerata</i> Mart. Ex Spreng
Gênero <i>Bactris</i>		
pupunha	AM, AC	<i>Bactris gasipaes</i> Kunth
Gênero <i>Euterpe</i>		
açaí-do-pará	PA, AP, MA, TO	<i>Euterpe oleracea</i> Mart
açaí	AM, AC, PA, RO	<i>Euterpe precatória</i> (Mart.) Henderson
Gênero <i>Leopoldinia</i>		
piçava	AM	<i>Leopoldinia piassaba</i> A. Wallace
Gênero <i>Mauritia</i>		
buriti	Amazônia brasileira, BA, CE, MA, MG, PI, SP	<i>Mauritia flexuosa</i> Mart.
Gênero <i>Oenocarpus</i>		
bacaba	AM, PA	<i>Oenocarpus bacaba</i> Mart.
patauá	Amazônia brasileira	<i>Oenocarpus bataua</i> Mart.
Gênero <i>Orbignya</i>		
babaçu	Norte do Brasil, MA, PI, MT, CE, PE, AL	<i>Orbignya phalerata</i> Mart.

Fonte: PESCE, 2009; LORENZI et al., 2004.

As palmeiras destacam-se no cenário amazônico uma vez que ocorrem de forma característica como em adensamentos florestais e apresentam desenvolvimento individualizado caracterizados a suas formas e aspectos (LORENZI et al., 2004). As espécies da família Arecaceae são adaptáveis a diversos tipos de habitats como floresta de terra firme, floresta de campinarana, florestas periodicamente alagadas e em diversos ambientes degradados aos quais demonstram resistência ao desmatamento e queimadas (MIRANDA, 2001).

Assim como todas as plantas, as palmeiras apresentam raízes, caule folhas e produzem flores, frutos e sementes e apresentam utilidades em praticamente todas as suas partes. Os frutos e sementes são utilizados na alimentação humana e animal, além de apresentarem um grande potencial oleaginoso seja como óleo ou gorduras provenientes das polpas dos frutos (mesocarpo), das sementes (endocarpo) ou de ambos fornecendo matérias-primas para indústria de alimentos, cosméticos, uso medicinal e na produção de bioenergia. As folhas são utilizadas como telhas de casas e servem como abrigos na floresta, na coroa foliar são encontrados palmitos que apresentam grande valor alimentício e industrial, os estipes são utilizados como assoalhos e paredes e as raízes apresentam grandes valores medicinais (MIRANDA, 2001; CLEMENTE et al, 2005).

Devido aos diferentes produtos que podem ser obtidos de palmeiras amazônicas, essas acabam apresentando grandes valores alimentares, econômicos, ornamentais e ecológicos, sendo os produtos alimentares os que ocupam destaque uma vez que assim como outras espécies oleaginosas, essas se caracterizam como cultura básica alimentar (LORENZI et al., 2004; MIRANDA, 2001).

Estudos realizados com os óleos e gorduras de frutos de palmeiras amazônicas (tabela 2) demonstram que os óleos provenientes do mesocarpo (polpa) de frutas tendem a ser mais ricos em ácido oléico (monoinsaturado) e/ou ácido palmítico (saturado), tais como observados nas espécies de tucumã (*A. vulgare*) bacaba (*O. distichus*) e patauá (*O. bataua*). Os endocarpos (amêndoa) tendem a serem ricos em ácidos graxos saturados principalmente ácido láurico e ácido mirístico (MAMBRIM & BARRERA-ARELLANO, 1997; MONTÚFAR et al, 2010; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2009).

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos em frutos de algumas espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia.

Ácido graxo		caprílico	capríco	láurico	mirístico	palmitico	palmitoleico	estearico	oleico	linoléico	linolenico	araquídico	gadoleico	behênico
Átomos de Carbono		8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	22:0
Nome comum	Nome científico	Ácidos graxos (%)												
tucumã *	<i>Astrocaryum vulgare</i> Mart.	1,9 ^a	1,7 ^a	50,6 ^a	23,7 ^a	5,3 ^a	-	2,5 ^a	9,3 ^a	3,6 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	-	-
tucumã **	<i>Astrocaryum vulgare</i> Mart.	2,5 ^a	1,0 ^a	0,1 ^a	0,2 ^a	22,6 ^a 23,4 ^c	0,4 ^a	3,0 ^a 2,6 ^c	64,7 ^a 64,7 ^c	4,7 ^a 4,1 ^c	3,6 ^a 3,1 ^c	0,2 ^a	-	-
murumuru*	<i>Astrocaryum murumuru</i> Mart.	2,7 ^a	2,0 ^a	51,6 ^a	25,8 ^a	6,0 ^a	-	2,9 ^a	5,7 ^a	3,0 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a	-	-
pupunha	<i>Bactris gasipaes</i> Kunth	-	-	-	-	39,6 ^c 24,1 ^e	5,2 ^c 7,4 ^e	1,7 ^c 0,8 ^e	46,2 ^c 60,8 ^e	4,0 ^c 5,4 ^e	1,3 ^c 1,4 ^e	-	-	-
açaí	<i>Euterpe oleracea</i> Mart.	-	-	0,5 ^b	0,6 ^b	28,5 ^b	1,7 ^b	2,2 ^b	47,3 ^b	9,9 ^b	4,4 ^b	0,1 ^b	-	-
buriti	<i>Mauritia flexuosa</i> Mart.	-	-	-	-	20,8 ^c	-	1,6 ^c	71,6 ^c	2,5 ^c	1,4 ^c	-	0,7 ^c	-
inajá	<i>Attalea maripa</i> (Aubl.) Mart.	-	-	0,03 ^d	0,08 ^d	16,8 ^d	0,32 ^d	1,7 ^d	74,1 ^d	4,9 ^d	1,0 ^d	0,1 ^d	0,5 ^d	0,1 ^d
bacaba *	<i>Oenocarpus distichus</i> Mart.	-	-	-	-	24,7 ^a	1,1 ^a	3,5 ^a	49,7 ^a	18,7 ^a	1,8 ^a	0,5 ^a	-	-
bacaba **	<i>Oenocarpus distichus</i> Mart.	-	-	0,1 ^b	0,6 ^b	23,4 ^a 32,3 ^b 25,9 ^c	0,8 ^a 1,3 ^b 1,1 ^c	3,2 ^a 2,7 ^b 4,7 ^c	57,1 ^a 40,8 ^b 46,2 ^c	14,0 ^a 9,8 ^b 20,0 ^c	0,6 ^a 1,9 ^b 0,6 ^c	0,2 ^a 0,4 ^b	0,1 ^b	-
patauí**	<i>Oenocarpus bataua</i> Mart.	-	-	0,01 ^b	0,09 ^b	11,3 ^a 18,1 ^b	0,6 ^a -	3,9 ^a 1,7 ^b	77,7 ^a 72,7 ^b	4,9 ^a 1,9 ^b	0,5 ^a 0,8 ^b	0,1 ^a 0,1 ^b	0,1 ^b	-

* Amêndoa ** Polpa/ Fonte: (a) MAMBRIM & BARRERA-ARELLANO, 1997 (b) MONTÚFAR et al., 2010 (c) SANTOS et al., 2013, (d) SILVA et al., 2009, (e) YUYAMA, et al., 2003.

2.2.1. Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.)

A bacababeira corresponde a uma palmeira monocaule com 7 a 22 metros de altura, pertencente à família Arecaceae, ao gênero *Oenocarpus* e apresentam frutos de coloração escura arroxeado. Essa é uma espécie muito frequente na floresta de terra firme e áreas abertas. É nativa da Amazônia com ocorrência no estado do Amazonas e Pará, principalmente ao norte do Rio Amazonas. A planta apresenta atributos ornamentais recomendadas para o paisagismo em regiões tropicais e os frutos são amplamente empregados no preparo de bebida bastante apreciada ao qual desempenha um papel importante na dieta da população rural (CLAY et al., 2000; LORENZI et al., 2004).

Estudos realizados com extratos dessa espécie demonstram que a mesma apresenta um grande potencial antioxidante, pela presença de compostos fenólicos como os flavonoides e antocianinas, sendo esses compostos bioativos benéficos para a saúde humana, pois previne os danos oxidativos naturais no corpo e atuam na prevenção de doenças não transmissíveis (FINCO et al., 2012; PINTO et al 2018). Santos e colaboradores (2015) identificaram antioxidantes carotenos (α -caroteno e luteína) em alto teor no óleo de *O. bacaba*. Leba e colaboradores (2016), detectaram a presença de ácidos hidroxicinâmicos como ácidos cafeoilquínico e cafeoilchiquímico nos extratos da raiz e ácidos cafeoilquínicos e C- glicosil flavonas presentes nos extratos provenientes das folhas, sugerindo que tal espécie possa ser valorizada como uma nova fonte não citotóxica de antioxidantes da Amazônia. O óleo extraído da polpa de seus frutos é muitas das vezes utilizado em frituras caseiras e os óleos extraídos das amêndoas é empregado na alimentação e na fabricação de sabão. Essa espécie apresenta um potencial industrial na produção de óleo comestível e também como matéria-prima para a indústria de sabão, velas e alimentícias como no preparo de picolés, sorvetes, sucos e concentrado (CLAY et al., 2000; LORENZI et al., 2004).

Figura 2 - Palmeiras e frutos de bacaba (*O. bacaba*)



Fonte: LORENZI et al., 2004; COSTA et al, 2017.

2.2.2. Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunt.)

A pupunheira é uma palmeira espinhosa multicaule que pode atingir 20 ou mais metros de altura, os frutos são dispostos em cachos podendo conter de 50 a 1.000 unidades de frutos e cada cacho pode pesar de 1 a 25 Kg. Esta é uma palmeira cultivada em todo o bioma amazônico especialmente para a produção de frutos, em estados da região Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil é plantada para a produção de palmito. A polpa dos frutos com rendimento de $\pm 80\%$ em relação ao total do fruto é a parte comestível e o principal produto do fruto, que podem apresentar coloração alaranjado-escuro, alaranjado-claro ou amarelo-claro. A polpa e a amêndoa do fruto fornecem um óleo com potencial econômico na indústria alimentícia e de cosméticos (CLAY et al., 2000; MIRANDA et al., 2001; RABELO, 2012). A polpa de *B. gasipaes*, segundo YUYAMA et al., 2003, demonstrou ser rica em fibras alimentares solúveis e insolúveis, lipídeos, aminoácidos (triptofano e metionina) proteínas e minerais como potássio, selênio e cromo, sendo, portanto, adequado tanto para alimentação humana quanto animal.

A pupunha é um dos frutos amazônicos fontes de carotenóides, que dão a coloração alaranjada característica de sua e casca e polpa. Estudos descritos por Matos e colaboradores (2019) descrevem um maior teor de carotenoides nas cascas em comparação com as polpas, sendo o β -caroteno o principal carotenoide, seguindo de γ - caroteno e δ - caroteno. HEMPEL et al., 2014, também identificaram altos teores de β -caroteno, licopeno e γ - caroteno nas popas de *B. gasipaes*. Os carotenoides atuam como antioxidantes no organismo e são fontes de vitaminas A necessárias para a nutrição humana.

Figura 3 - Palmeiras e frutos de pupunha (*B. gasipaes*)



Fonte: LORENZI et al., 2004.

2.2.3. Tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer.)

O tucumã *A. aculeatum* é uma palmeira monocaule, apresenta altura de até 25 metros e caule coberto por espinhos negros de até 15 cm de comprimento. Essa apresenta ocorrência na Amazônia brasileira, nos estados do Amazonas, Acre, Mato Grosso, Pará, Rondônia e Roraima. Apresenta frutos com medidas e cores variadas de alaranjado-escuro, alaranjado-claro, amarelo-claro, amarelo-escuro, amarelo-esbranquiçado e raramente avermelhado, sendo conhecidas pelo menos três variedades comestíveis. A polpa do fruto apresenta rendimento entre 25-35% em relação ao total do fruto sendo a parte comestível e o principal produto do fruto, que é consumida *in natura*. Da amêndoa extrai-se um óleo que é empregado como matéria-prima para fazer sabões (MIRANDA et al., 2001; RABELO, 2012).

Assim como no fruto de pupunha (*B. gasipaes*), Matos e colaboradores (2019) identificaram uma quantidade superior de carotenóides nas cascas de tucumã (*A. aculeatum*) em relação aos encontrados nas polpas desse fruto. Resultado obtido por Sangrillo et al, 2015, confirmam que o extrato da polpa de tucumã é rico em β -caroteno, responsável pela coloração alaranjada da polpa de tucumã, além de quercetina, sendo também encontrado alto teores desses compostos nos extratos das cascas de tucumã e quantidades significantes de rutina, ácido gálico, ácido caféico e ácido clorogênico.

Figura 4 - Palmeiras e frutos de tucumã (*A. aculeatum*)



Fonte: LORENZI et al., 2004.

2.3. Composição química e propriedades lipídicas de óleos vegetais

O termo ‘lipídeo’ é o nome científico dado a uma grande variedade de constituintes naturais encontrados em seres vivos, que apresentam como característica marcante, a insolubilidade em água devido a sua natureza apolar, por apresentar uma predominância de grupos apolares (BRUCE, 2006; CAMPEBELL & FARRELL, 2007). Esses são importantes

na dieta humana e o seu desequilíbrio pode ocasionar várias doenças, tais como doenças cardíacas, coronária, obesidade, etc (LISA, 2008).

Os óleos vegetais por serem componentes importantes da dieta humana têm diversas origens e composições, muitas vezes associada às diferentes culturas. Esses são extraídos de sementes e polpas de frutas, proporcionando misturas complexas de uma ampla variedade de constituintes químicos e propriedades biológicas. Desses constituintes químicos, os triacilglicerídeos são os mais abundantes e podem corresponder até 95%. Os triacilglicerídeos, por serem formados através da reação de glicerol com moléculas de ácidos graxos, apresentam um papel crucial por serem reservatórios ideais para o armazenamento de energia no organismo, onde são fontes de ácidos graxos essenciais e atuam no transporte (fluídos) em sistemas biológicos de outros componentes lipídicos minoritários presentes em óleos e gorduras vegetais como esteróides, vitaminas solúveis, tocoferóis e tocotrienóis. Outros lipídeos presentes de forma minoritária são os ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, ésteres de cera, alcanos, hidrocarbonetos, fosfolipídios, triterpenos, dentre outros (COZZOLINO & GIULIO, 2011; JANSSEN et al., 2009; KAMAL-ELDIN, 2006; CAMPBELL & FARRELL, 2011).

Um aspecto muito interessante dos lipídeos é a diferença básica entre óleos e gorduras, que está no ponto de fusão. À temperatura ambiente, os óleos são líquidos e as gorduras sólidas. Esses aspectos são resultantes das interações intermoleculares e dependentes do grau de insaturação e das posições específica (regioespecificidade) em que esses resíduos de ácidos graxos estão ligados nas moléculas dos triacilglicerídeos (GONZALES et al., 2008). Portanto boa parte das diferentes propriedades de óleos e gorduras vegetais como diferenças de estabilidade, qualidades sensoriais e técnicas desses produtos são muitas vezes resultantes da constituição dos ácidos graxos presentes nos mesmos (KAMAL-ELDIN, 2006).

Do ponto de vista econômico, os óleos e gorduras apresentam um papel importante no comércio mundial, sendo amplamente utilizados em diversos setores industriais. As indústrias alimentícias correspondem aos principais campos de aplicação dos óleos e gorduras vegetais, tal como, na produção de margarinas, conservantes, emulsionantes e óleos de fritura. A outra parte é utilizada na produção de produtos não alimentares, como sabões, detergentes, cosméticos, medicamentos e mais recentemente na produção de energia (biodiesel) (LERMA-GARCÍA et al., 2011; COUTINHO et al., 2016; PESCE 2009).

Devido à grande importância econômica de óleos e gorduras, a sua caracterização é de grande importância. Os principais métodos de caracterização descritos na literatura

principalmente empregando métodos oficiais da AOAC (Association of Official Analytical Chemists) são baseados na caracterização físico-química dos óleos como índice de acidez, peróxidos, teor de insaponificáveis; e de propriedades físicas como massa específica (densidade), viscosidade, entre outros. Do ponto de vista molecular, devido a grande dificuldade de análise, é realizado normalmente pela caracterização da cadeia graxa pela análise de ésteres metílicos por cromatografia gasosa.

A determinação qualitativa e quantitativa de misturas de triacilglicerídeos é importante em diversas áreas, uma vez que, seguem um padrão único e característico nas diferentes oleaginosas. Assim sendo, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de controle de qualidade para confirmação da autenticidade, detecção de adulterantes e definição abrangente do perfil químico de misturas de triacilglicerídeos em diversas oleaginosas aos quais trazem informações valiosas a respeito das mesmas (CUNHA & OLIVEIRA, 2006; BUCHGRABER et al., 2004; LISA & HOLČAPEK, 2008).

2.4. Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos de cadeia linear, encontrados em óleos e gorduras naturais (vegetal e animal) esterificados em uma molécula de glicerol sob a forma de triacilglicerídeos e fosfolipídios ou quase que raramente como ácidos graxos livres insaturados. Esses contêm geralmente uma cadeia carbônica com um número par de átomos de carbonos, uma vez que são sintetizados a partir dos precursores acetil-CoA e malonil-CoA por reações de condensação de Claisen, dando origem normalmente a ácidos graxos com 16 a 18 carbonos, seguindo de posteriores modificações sendo as mais importantes a elongação e a dessaturação para formação de ácidos graxos de cadeia longa e insaturados (GURR et al., 2002; BRUICE, 2006; DEWICK, 2002; ŘEZANKA et al., 2016).

A tabela 3 descreve alguns dos principais ácidos graxos de ocorrência natural tanto vegetal quanto animal, podendo estes serem saturados, insaturados ou poliinsaturados. Tal característica dependerá da quantidade de insaturações presentes em suas cadeias carbônicas (SACKHEIM & LEHMAN, 2001).

Tabela 3 - Nomenclatura e estruturas de ácidos graxos comuns

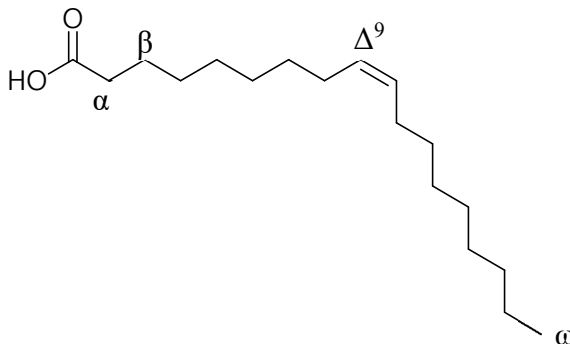
Nomenclatura comum	Nomenclatura sistemática	Símbolo	Série ω	Fórmula química	PF °C
butírico	butanóico	C 4:0	-	C ₄ H ₈ O ₂	-5,3
capróico	hexanóico	C 6:0	-	C ₆ H ₁₂ O ₂	-3,2
caprílico	octanóico	C 8:0	-	C ₈ H ₁₆ O ₂	16,5
cáprico	decanóico	C 10:0	-	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	31,6
láurico	dodecanóico	C 12:0	-	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	44,8
mirístico	tetradecanóico	C 14:0	-	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	54,4
palmitico	hexadecanóico	C 16:0	-	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	62,9
palmitoleico	hexadecenóico	C 16:1 Δ^9	-	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	-
estearico	octadecanóico	C 18:0	-	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	70,1
oléico	octadecenóico	C 18:1 Δ^9	9	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	16,2
linoléico	octadecadienóico	C 18:2 $\Delta^{9,12}$	6	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	-5,0
α -linolênico	octadecadienóico	C 18:3 $\Delta^{9,12,15}$	3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	-11,0
araquídico	eicosanóico	C 20:0	-	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	-
gadoleico	eicosaenóico	C 20:1 Δ^9	11	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	-
araquidônico	eicosatetraenóico	C 20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	6	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	-49
EPA	eicosapentaenóico	C 20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	3	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	-
DHA	docosahexaenóico	C 22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	3	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	-

Fonte: Adaptação de GUNSTONE, 2008

2.4.1. Nomenclatura de ácidos graxos

Na nomenclatura química convencional e sistemática de ácidos graxos, a numeração dos átomos de carbono se inicia pelo grupo carboxila, onde os átomos de carbono de número 2 e 3 adjacentes ao grupo carboxila são denominados respectivamente de carbonos α e β , enquanto que o último carbono é denominado de ω - ou n -carbono. A posição da dupla ligação é indicada pelo símbolo Δ , por exemplo; Δ^9 se refere à dupla ligação entre os carbonos 9 e 10 numerados a partir do grupo carboxila (figura 5) (MOREIRA, 2002).

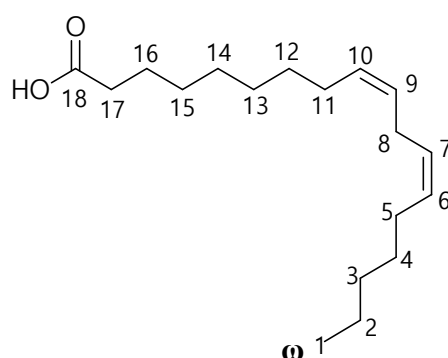
Figura 5 - Representação estrutural do ácido oleico (C 18:1 Δ^9)



Fonte: A autora (2018)

Alternativamente pode-se utilizar a nomenclatura ω para descrever as estruturas químicas dos ácidos graxos, que vem sendo utilizada para descrever os ácidos graxos com maior importância biológica. Na nomenclatura ω , a numeração se inicia através do grupo metila terminal e a nomenclatura se dá através da posição da primeira insaturação em direção a carboxila. Por exemplo, o ácido linoléico (figura 6), apresenta a primeira dupla ligação localizada entre os carbonos 6 e 7 do grupo metil terminal, sendo, portanto, descrito como ω 6 (MOREIRA, 2002).

Figura 6 - Nomenclatura ω do ácido linoléico (18:2, ω 6)



Fonte: A autora (2018)

Os ácidos graxos insaturados encontram-se naturalmente na forma *cis*, onde tal configuração normalmente produz uma dobra na cadeia alquílica da molécula, evitando o seu empacotamento (figura 5 e figura 6) ou agregação de moléculas como ocorre com os ácidos graxos saturados além de ajudar a manter a fluidez em óleos e membranas celulares. Os ácidos graxos *trans* são formados pelo processo de hidrogenação parcial de óleos vegetais como no processo de produção de margarinas, porém podem ser raramente encontrados de forma natural, como exemplo, o ácido *trans*-3-hexadecenóico é um dos componentes lipídicos dos cloroplastos vegetais (BRUICE, 2006; BELITZ et al., 2004; CHRISTIE & HAN, 2016; DEWICK, 2002; GURR et al., 2002).

2.4.2. Biossíntese de ácidos graxos insaturados

Os ácidos graxos saturados são precursores da biossíntese de ácidos graxos insaturados. O processo de dessaturação de ácidos graxos ocorre aerobicamente e estereoespecificamente através da ação das enzimas dessaturases em plantas e animais. O ácido oleico designado como

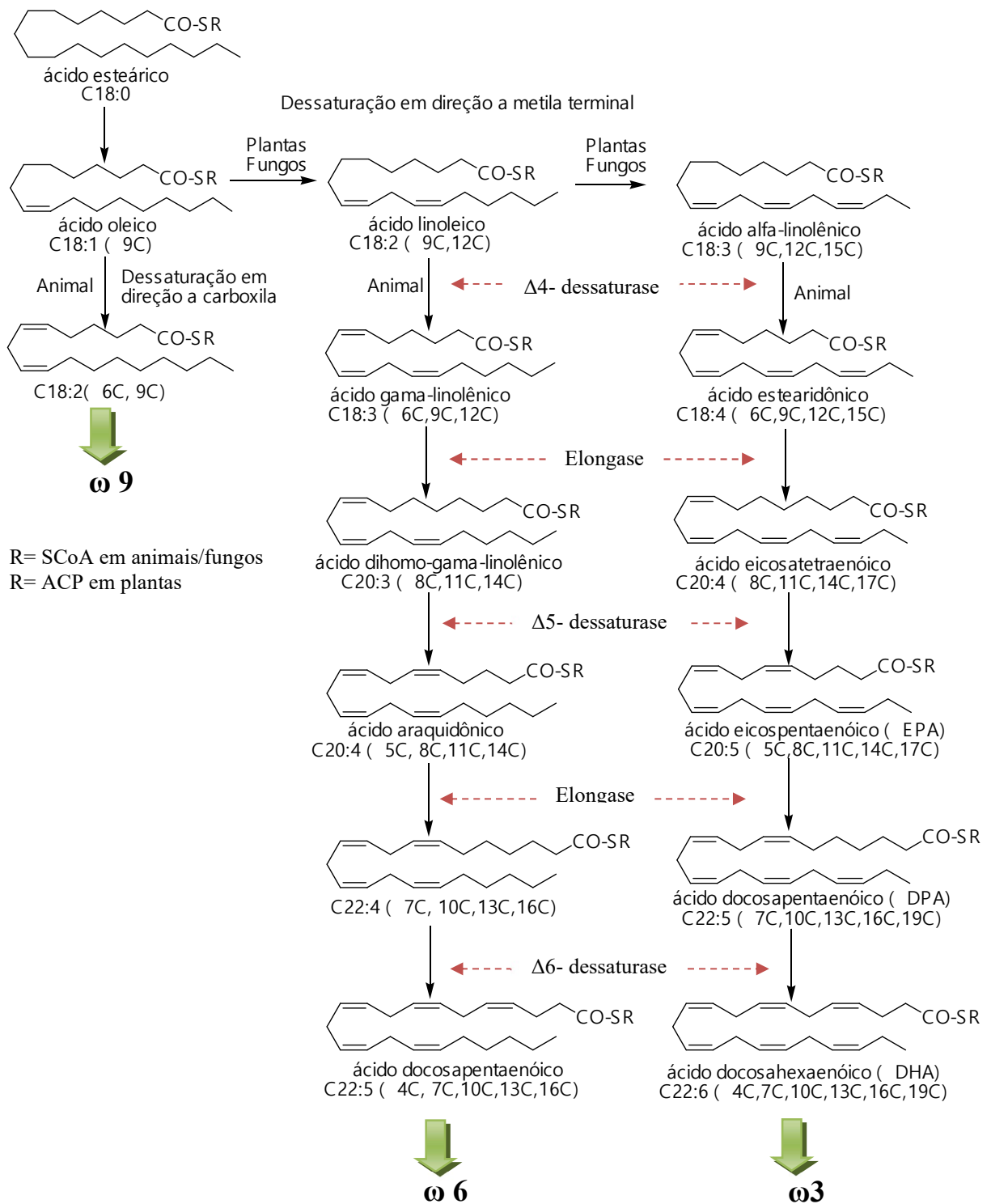
ácido graxo monoinsaturado ω 9 pode ser sintetizado por todos os mamíferos incluídos os seres humanos, no entanto os ácidos graxos linoleico e α -linolênico não podem ser sintetizados pelos organismos de mamíferos sendo então considerados como ácidos graxos essenciais ω 3 e ω 6, o que torna necessária a obtenção destes através da dieta (DEWICK, 2002; DUBOIS, 2007; GURR et al., 2002).

Os óleos vegetais são principais fontes de ácidos graxos essenciais linoléico (18:2 ω 6) e α -linolênico (18:3 ω 3) sendo esses precursores na biossíntese dos demais ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa essenciais aos organismos animais (JUMP, 2002).

Os ácidos graxos poliinsaturados das séries ω 3 e ω 6 apresentam funções importantes na saúde humana. Ao serem absorvidos nas células desempenham um grande número de funções biológicas, como o armazenamento e produção de energia, modulam a função de inúmeras enzimas e desempenham papéis importantes na função do sistema nervoso, além de atuarem no melhoramento e prevenção de muitas doenças crônicas tais como: aterosclerose, doenças coronárias, câncer, doenças inflamatórias e infecciosas (COONOR, 2000; JUMP, 2002).

A figura 7 demonstra as vias de biossíntese de ácidos graxos insaturados e poliinsaturados, demonstrando as diferenças na formação de duplas ligações, quando ocorrem as dessaturações adicionais em diferentes organismos vivos (DEWICK, 2002; DUBOIS et al., 2007). Nas plantas e em fungos as enzimas tendem a adicionar ligações duplas adicionais em direção ao grupo metila terminal, assim, o ácido oleico é desidrogenado em ácido linoléico e depois em ácido linolênico. Os animais tendem a inserir ligações duplas adicionais em direção ao grupo carboxila da molécula de ácidos graxos. A elongação da cadeia, seguida de dessaturação através de reações enzimáticas com enzimas elongases e enzimas Δ 6-, Δ 5-, e Δ 4- dessaturases em células animais, leva a formação de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa ω 3 e ω 6 como por exemplo, eicosapentaenóico (EPA) produzindo docosapentaenóico (DPA) e depois docosahexaenóico (DHA) (BELITZ *et al.*, 2004, DEWICK, 2002; DUBOIS, 2007).

Figura 7 - Biossíntese de ácidos graxos insaturados



Fonte: modificação de DEWICK, 2002; DUBOIS et al., 2007.

2.5. Triacilglicerídeos (TAGs)

Os triacilglicerídeos (TAGs) são os principais componentes de óleos vegetais e gorduras animais, sendo esses, substâncias lipídicas relativamente simples, formados através da esterificação de três ácidos graxos com uma molécula de glicerol, que podem ser iguais ou diferentes com relação ao comprimento da cadeia carbônica e do número de insaturações (ligações duplas) presente nos mesmos. Os triacilglicerídeos presentes na natureza podem apresentar grandes diversidades estruturais e demonstrar grandes variações no comprimento de suas cadeias carbônicas (MCANOY et al., 2005; LÉVÊQUE et al., 2010; FERNANDES et al., 2014). Se todos os três resíduos de ácidos graxos presentes na molécula de triacilglicerídeos forem os mesmos, esse é denominado de triacilglicerídeo simples. Caso esse apresente dois ou mais ácidos graxos diferentes o mesmo é denominado de triacilglicerídeo misto. A maioria das gorduras e óleos naturais é composta de triacilglicerídeos mistos (DEWICK, 2002).

2.5.1. Estereoespecificidade e regioespecificidade de triacilglicerídeos

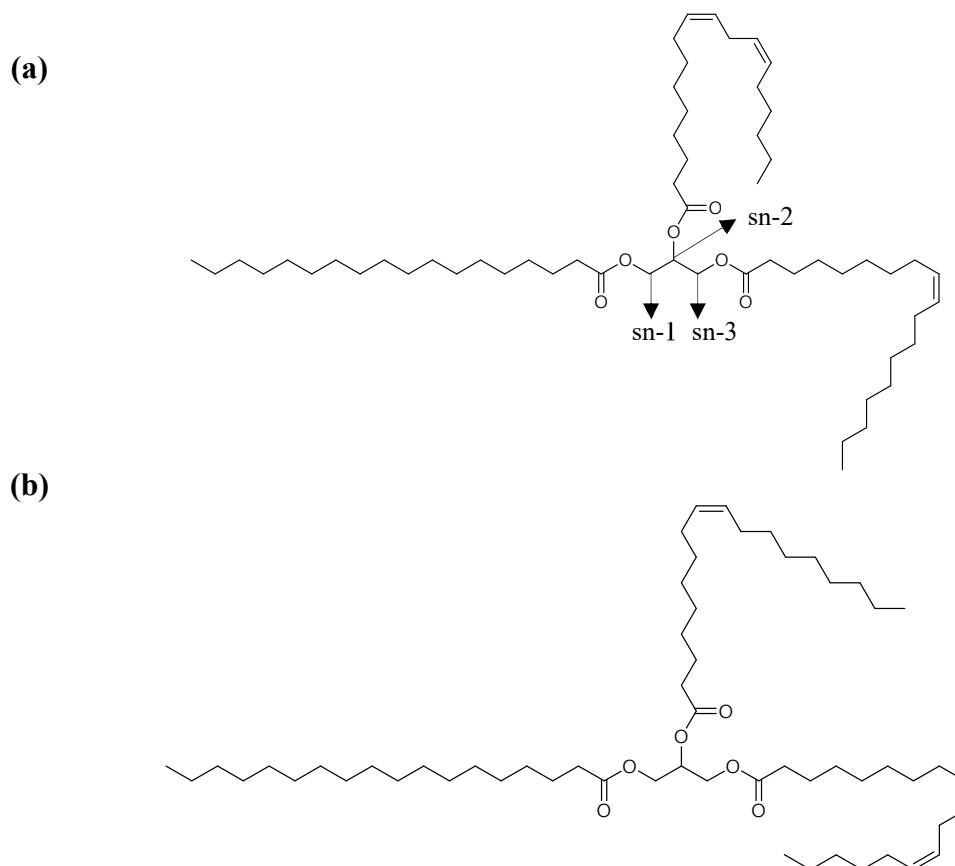
As posições ocupadas por esses ácidos graxos nas moléculas de TAGs são numerados em relação à sua estereoespecificidade ou numeração estereoespecífica (sn) descritos como sn-1/sn-3 e sn-2 (figura 8). Desta forma, os ácidos graxos que ocupam a parte superior e inferior na molécula de TAG são enumerados como sn-1 e sn-3 e os ácidos graxos localizados na parte central da molécula de TAG, são enumerados como sn-2 (KARUPAIAH & SUNDRAM, 2007).

A análise regioespecífica de triacilglicerídeos é restrita a determinação dos ácidos graxos presentes nas posições sn-1/sn-3 e posição sn-2 (KALO, 2013). A diferenciação entre os componentes graxos distribuídos nas posições sn-2 e sn-1/sn-3 (análise regioespecífica) é necessária para a maioria dos propósitos físicos e nutricionais de utilização de lipídeos, uma vez que, as localizações de cadeias de ácidos graxos em triacilglicerídeos afetam as propriedades físicas dos óleos para uso industrial, tais como, ponto de fluidez, ponto de fusão, calor de fusão, solubilidade, estrutura cristalina, e polimorfismo (LIN & ARCINAS, 2008; D'AGOSTINI & GIOIELLI, 2002; LÉVÊQUE et al., 2010; HOLČAPEK et al., 2010).

ŘEZANKA e colaboradores (2017) exemplificam a diferença em até 10 °C dos pontos de fusões das formas α e β cristalinas de regioisômeros SLO (ácido esteárico, linoleico e oleico) e SOL (ácido esteárico, oleico e linoleico). Estes são triacilglicerídeos formados pelos mesmos

ácidos graxos e apresentam a mesma massa molecular, no entanto, uma mera diferença nas posições dos ácidos graxos hidrolisados nas hidroxilas primárias e secundária do esqueleto de glicerol pode provocar tal mudança do ponto de fusão (figura 8).

Figura 8 - Representação estrutural de moléculas de triacilglicerídeos SLO (a) e SOL (b)



Fonte: A autora

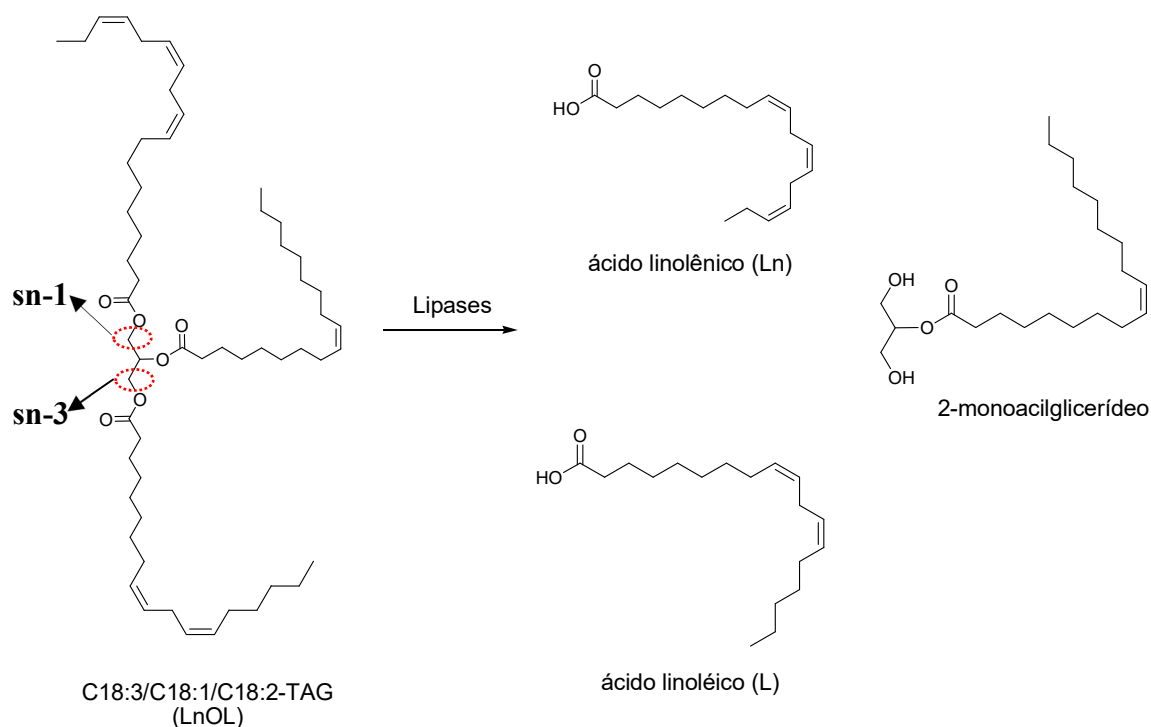
2.5.2. Absorção de triacilglicerídeos

As posições regioespecífica de ácidos graxos afetam também a absorção humana de triacilglicerídeos obtidos a partir dos alimentos. No processo de digestão no trato gastrointestinal, as lipases pancreáticas que são enzimas específicas, catalisam preferencialmente a hidrólise de ácidos graxos nas posições sn-1 e sn-3 liberando-os como ácidos graxos livres e os ácidos graxos na posição sn-2 são liberados na forma de 2-monoacilglicerídeos (figura 9) (ZENG et al., 2010; KARUPAIAH & SUNDRAM, 2007; HOLCAPEK et al., 2010). Posteriormente, os 2- monoacilglicerídeos são reacilados em novos triacilglicerídeos para entrarem nos quilomícrons que são grandes partículas denominadas de

lipoproteínas ricas em triacilglicerídeos e outras moléculas hidrofóbicas como fosfolípídeos e ésteres de colesterol (HUNTER, 2001). Essas lipoproteínas atuam no transporte de moléculas hidrofóbicas para os tecidos periféricos para o armazenamento ou metabolismo (GREEVENBROEK et al., 1998).

Os ácidos graxos livres hidrolisados da posição sn-1 e sn-3 apresentam destinos metabólicos diferentes dos 2-monoacilglicerídeos aos quais dependem do comprimento da cadeia carbônica de ácido graxo. Ácidos graxos com cadeia carbônica inferior a 10 átomos de carbonos podem ser solubilizados na fase aquosa do conteúdo intestinal sendo absorvidos, ligados à albumina e transportados para o fígado pela veia porta (HUNTER, 2001). Já os ácidos graxos com cadeia mais longa como palmítico e esteárico apresentam baixa absorção devido os pontos de fusão destes, serem acima da temperatura corporal.

Figura 9 - Hidrólise regioespecífica de ácidos graxos nas posições sn1/sn-3 e sn-2



Fonte: A autora

2.5.3. Composição de triacilglicerídeos regioespecíficos em óleos vegetais

Na maioria dos óleos vegetais, os ácidos graxos saturados podem ser encontrados principalmente nas posições terminais sn-1/sn-3. Os ácidos graxos insaturados como oleico (C18:1) e linoléico (C18:2) apresentam-se principalmente nas posições sn-2 de espécies de

triacilglicerídeos como OOO, LLL, POL e LLO, no entanto diferentemente o ácido α -linolênico (C18:3) menos frequente e quando presente encontra-se na posição sn-1/sn-3 como em OOLn (KARUPAIAH & SUNDRAM 2007; GERBIG & TAKÁTS, 2010).

Em estudos realizados por MOTTRAM et al., (1997) com diferentes óleos vegetais como groselha preta, semente de papoula azul, prímula, azeite de oliva extra virgem, avelã, milho e canola descrevem os perfis regioespecíficos de triacilglicerídeos, demonstrando que embora diferentes isômeros de triacilglicerídeos encontravam-se presentes, as moléculas de triacilglicerídeos POP, OLO, PLP, POS e AOO estavam presentes em todos os óleos. O óleo de canola apresentou predominância de ácidos graxos linoléico em sua composição lipídica estando esses presentes predominantemente como LLLn, LLL, OLO, LLS, PLO e POL. Segundo os autores, de forma geral, todos os óleos analisados apresentaram ácidos graxos insaturados esterificados preferencialmente na posição sn-2.

LIN e ARCINA (2008) realizaram análises regioespecíficas de triacilglicerídeos presentes no azeite de oliva extravirgem demonstrando que os ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico encontravam-se localizados nas posições sn-1/sn-3 e ácidos graxos insaturados oleico e linoleicos localizados principalmente na posição sn-2.

2.6. Métodos analíticos empregados na caracterização de lipídeos

Dada a grande complexidade de misturas de triacilglicerídeos em amostras lipídicas presentes, por exemplo, em óleos vegetais. A determinação da composição desses compostos em matrizes naturais acaba se tornando uma tarefa difícil e complexa, pois estes podem apresentar uma diversidade de ácidos graxos que podem se diferenciar no tamanho da cadeia graxa, no grau de insaturação e na distribuição destes ácidos graxos na estrutura do glicerol formando então, diversos tipos de triacilglicerídeos (LÉVÊQUE, et al., 2010). Assim sendo, diversas técnicas têm sido empregadas para separar, identificar e quantificar triacilglicerídeos de acordo com as suas propriedades físico-químicas em amostras naturais (ŘEZANKA et al., 2017), dentre estas técnicas as principais são as cromatográficas e as espectrométricas.

2.6.1. Cromatografia gasosa (CG)

A cromatografia gasosa está entre as técnicas mais comumente utilizadas na caracterização de óleos e gorduras vegetais, sendo algumas destas análises descritas na tabela

2. Tendo em vista que a técnica de CG é utilizada na separação de compostos voláteis ou volatilizáveis termicamente estáveis, a análise de óleos (derivados de ácidos graxos) restringe-se à identificação de ácidos graxos presentes nas diferentes classes de lipídeos somente após a derivatização da amostra a fim de converter compostos não voláteis (triacilglicerídeos, por exemplo) em voláteis (ésteres metílicos de ácidos graxos) (CHRISTIE & HAN, 2016; SARAIVA et al., 2009).

A caracterização dos ácidos graxos presentes em amostras lipídicas por cromatografia gasosa após processo de derivatização é alcançada através das separações da mistura de ésteres metílicos, pelo grau de interação destes com fases estacionárias polares ou apolares, seguida de posterior identificação em detectores como o de ionização de chama (DIC) e/ou espectrometria de massas (EM).

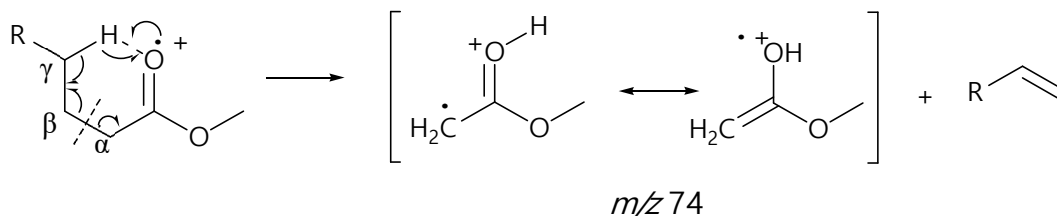
O detector por ionização de chama apresenta alta sensibilidade, alta estabilidade, baixo volume morto, tempo de resposta rápido e resposta linear em uma ampla faixa. Nas análises por CG-DIC, os íons são gerados, através da combustão dos compostos orgânicos emergentes da coluna em uma chama de hidrogênio e ar sintético que posteriormente são coletados por eletrodos coletores, amplificados e gravados para gerar picos cromatográficos. Esses podem ser identificados em comparação com padrões e em geral quantificados por normalização de área (CHRISTIE & HAN, 2016).

Na detecção por espectrometria de massas empregando quadrupolo simples, que é o principal analisador empregado, os constituintes separados e eluídos da coluna cromatográfica são primeiramente ionizados por elétrons, ou seja, são bombardeados por elétrons de alta energia (70 eV) e as moléculas dos analitos absorvem essa energia desencadeando processos químicos, dentre os quais, ocorre a ionização pela remoção de um elétron da molécula do analito formando cátions radicalares (M^+) que posteriormente são direcionados para um quadrupolo, onde serão separados em uma determinada faixa de razão m/z , amplificados e analisados (CHRISTIE & HAN, 2016; CHIARADIA et al., 2008).

Em espectros de massas de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) saturados e insaturados, são observados íons fragmentários com m/z 74 normalmente como pico base. Esse íon corresponde a um cátion radical formado através de um rearranjo de McLafferty tal como proposto no esquema 1. Nesse tipo de rearranjo, um átomo de hidrogênio presente no carbono γ distante do cátion radical carbonila é transferido para o mesmo através de um estado de transição de seis membros, seguindo de posterior clivagem homolítica da ligação sigma dos

carbonos α e β gerando um novo cátion-radical e um alceno estável. (HOFFMANN & STROOBANT, 2007; PAVIA et al., 2009; SILVERSTEIN et al., 2007).

Esquema 1 - Mecanismo proposto para formação do íon m/z 74 em ésteres metílicos através de rearranjo de McLafferty



2.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os componentes lipídicos dos óleos e gorduras podem ser separados através da cromatografia líquida, sem a necessidade de derivatização. A cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa não aquosa (NARP-HPLC) tem sido frequentemente utilizada para análise complexas de triacilglicerídeos naturais uma vez que as colunas de fase reversa são caracterizadas por sua elevada eficiência, resolução eficaz de compostos, reprodutibilidade e apresentam disponibilidade em uma ampla variedade de dimensões, tamanho de partícula e diferentes fases estacionárias tais como C8, C18, C30, sendo a coluna C18 a mais utilizada (DILLON et al., 2012).

Como os triacilglicerídeos naturais são constituídos principalmente por ácidos graxos na faixa de 16 á 22 carbonos, a utilização de fases estacionárias com comprimentos da cadeia semelhantes ao comprimento das cadeias dos ácidos graxos que compõem os triacilglicerídeos maximiza a interação dos mesmos promovendo uma melhor eficiência de separação (ŘEZANKA et al., 2017).

Em NARP-HPLC, a ordem de eluição ou retenção de triacilglicerídeos é baseada no aumento dos números de equivalentes de carbonos (ECNs) definidos pela equação $[ECN = CN - (2DB)]$, que relaciona o número de carbonos presentes na cadeia alifática (CN) e o número de ligações duplas presentes em cada triacilglicerídeo (DB). Exemplificando para o triacilglicerídeo OOO, chega-se ao $ECN = 48$ obtido por 54 carbonos e três ligações duplas; já para o triacilglicerídeo PPP chega-se ao $ECN = 48$, obtido por 48 carbonos e ausência de ligações duplas (ŘEZANKA et al., 2017; LEVÊQUE et al., 2010; HOLČAPEK et al., 2010; LERMA-GARCIA et al., 2011; LISA & HOLČAPEK, 2008).

Tendo em vista que acilglicerídeos (mono-, di- e triacilglicerídeos) não absorvem radiação UV acima de 220 nm, a detecção desses constituintes é alcançada quando utilizados comprimentos de ondas na faixa de 205-210 nm, que fornecem uma resposta linear, porém com sensibilidade mais baixa para triacilglicerídeos saturados (LISA & HOLČAPEK, 2008).

2.6.3. Espectrometria de massas

Em conjunto com a cromatografia líquida, a espectrometria de massas vem sendo bastante utilizadas nas análises de perfis de triacilglicerídeos em óleos e gorduras tanto de origem vegetal como animal, pois fornecem informações detalhadas sobre a massa molecular e a composição de ácidos graxos de moléculas de triacilglicerídeos, além de fornecer identificações de picos cromatográficos de CLAE mesmo que parcialmente resolvidos (COZZOLINO & GIULIO, 2010).

Tendo em vista a complexidade de misturas lipídica, diversas estratégias têm sido empregadas na análise de triacilglicerídeos e diversos modos de ionização e analisadores vêm sendo avaliados. Dentre as fontes de ionização a “electrospray” (ESI) e a ionização química à pressão atmosférica (APCI) vem sendo empregadas nas análises estruturais e regioespecíficas de triacilglicerídeos sem a necessidade de padrões de referência autênticos (HERREIRA et al., 2010; MARZILLI et al., 2003; LÉVÊQUE et al., 2010; LIN & ARCINAS, 2008; HOLCAPEK et al., 2010; HÁKOVÁ et al., 2015).

O método de ionização por “electrospray” (ESI) consiste em uma técnica de ionização mais abrangente sendo mais bem aplicada a moléculas polares, sem a necessidade de derivatização química ou extração a partir de soluções polares. Contudo, essa é considerada uma excelente técnica para ionização de triacilglicerídeos, em especial, quando usada em combinação com sais para formar moléculas cationizadas sem qualquer molécula protonada tais como: $[M+Na]^+$, $[M+K]^+$, $[M+Li]^+$ e $[M+NH_4]^+$ (COZZOLINO & GIULIO, 2010).

A ionização por ESI em combinação com analisador do tipo *ion-trap* fornece uma caracterização quase que completa de triacilglicerídeos, pois permite não apenas identificar os ácidos graxos, localizar as ligações duplas, mas principalmente determinar a posição de esterificação dos ácidos graxos na molécula de glicerol. Isso se torna possível devido este tipo de analisador proporcionar fragmentações sequenciadas ou fragmentações em múltiplos estágios MS^n (HSU & TURK, 2010).

O trabalho realizado por HSU e TURK (2010) descreve de forma detalhada os processos de detecção e caracterização regioespecífica de padrões de isômeros de triacilglicerídeos como por exemplos, TAGs do tipo AAB e ABA utilizando a abordagem de espectrometria de massas em múltiplos estágios MS^3 com *ion-trap* e ESI. A caracterização é realizada quando íons fragmentos de diacilglicerídeos $[M+Li-R_nCOOH]^+$ ($n = 1,2$ ou 3) são obtidos pela fragmentação em MS^2 de íons moleculares de adutos de lítio $[M+Li]^+$ aos quais refletem as perdas neutras de ácidos graxos nas posições sn-1/sn-3 e sn-2. Esses autores assim como outros, descrevem que a intensidade relativa dos íons fragmentos de diacilglicerídeos são dependentes das posições dos ácidos graxos no esqueleto de glicerol, onde a perda do ácido graxo na posição sn-2 é menos favoráveis e gera íon fragmento de mais baixa intensidade com relação aqueles presentes nas posições sn-1/sn-3 (HERREIRA et al., 2013; JAKAB et al., 2002).

A fragmentação adicional em MS^3 de $[M+Li-R_nCOOH]^+$ gera íons fragmentos característicos que podem localizar as duplas ligações ao longo das cadeias dos ácidos graxo, além de confirmar o ácido graxo ocupante da posição sn-2 pela formação de íon fragmento $[M+Li-RCOOH-R'CH=CHCOOH]^+$ que é referente a perda neutra deste ácido graxo como um composto α,β -insaturado, tais como $[ABA+Li-\underline{A}COOH-\underline{B}'CH=CHCOOH]^+$ e $[BAA+Li-\underline{A}COOH-\underline{A}'CH=CHCOOH]^+$ para distinguir os regioisômeros ABA e AAB (LIN & ARCINAS, 2008; HSU & TURK, 2010).

Usando essa mesma abordagem espectrométrica LIN e ARCINAS (2008) realizaram análises para a caracterização regioespecíficas de triacilglicerídeos em óleo de oliva extravirgem, onde os resultados obtidos demonstraram que os ácidos graxos saturados, palmítico e esteárico encontravam-se localizados nas posições sn-1/sn-3 e ácidos oleico e linoleico encontravam-se presentes principalmente nas posições sn-2.

LOUTELIER-BOURHIS e colaboradores (2009) forneceram uma caracterização detalhada de 26 triacilglicerídeos identificados no óleo de linhaça quando utilizado uma combinação de espectrometria de massas em múltiplos estágios MS^n tanto por infusão direta e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas LC-MS-MS em condições cromatográficas de fase reversa não aquosa. Nessas análises, as discriminações de regioisômeros foram obtidas por espectros em MS^3 e separações e identificações de espécies isobáricas por LC-MS-MS.

2.7. Caracterização estrutural de triacilglicerídeos em espécies oleaginosas nativas da Amazônia

Estudos descritos na literatura demonstram diferentes abordagens em análises estruturais de triacilglicerídeos presentes em óleos e gorduras de espécies oleaginosas amazônicas. A seguir são descritos os trabalhos encontrados na literatura para essas espécies.

OBOH E ODERINDE (1988) realizaram a caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa de tucumã encontrado no Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart). Nesse trabalho, a identificação de ácidos graxos na posição sn-2 de triacilglicerídeos foi realizada por lipólise com pancreatina previamente desengordurada e análises por CG-DIC após processo de derivatização. A composição dos triacilglicerídeos foi calculada de acordo com hipótese de distribuição aleatória 1,3-randômica e 2-randômica aos quais descreveram os ácidos graxos palmítico e oleico como predominantes na composição integral do óleo da polpa de tucumã (*A. vulgare* Mart) assim como nos triacilglicerídeos e nas posições sn-2 de triacilglicerídeos.

HOLČAPEK e colaboradores (2003) realizaram análises de triacilglicerídeos e diacilglicerídeos em 16 amostras de óleos vegetais, dentre estes, o óleo de castanha-do-Brasil. As análises foram realizadas em HPLC-MS com ionização química á pressão atmosférica (APCI) e *ion trap* como analisador, a caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos foi realizada com base nas diferentes abundancias relativas dos íons fragmentos formados pelas perdas neutras dos ácidos graxos presentes nas posições sn-1/sn-3 com relação aqueles presentes na posição sn-2. A concentração relativa de TAGs presentes nos óleos analisados foi estimada com bases nas áreas relativas dos picos medidos em UV a 205 nm. A partir destas análises, os autores puderam identificar triacilglicerídeos contendo ácidos graxos com números ímpares de átomos de carbonos em algumas das amostras de óleos vegetais, tais como: ácido margarico (C17:0) e heptadecenóico (C17:1), sendo esse último presente como LLMa e OLMa no óleo de castanha-do-Brasil.

O trabalho realizado por SARAIVA e colaboradores (2009) descreve os perfis característicos de triacilglicerídeos obtidos por MALDI-TOF-MS presentes nos óleos de andiroba (*Carapa guianensis*), castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*), buriti (*Mauritia flexuosa*), maracujá (*Passiflora* spp.) e gordura de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*) e ucuúba (*Virola sebifera*). Os resultados obtidos fornecem tipicação e informações diretas e detalhadas de perfis de TAGs pela combinação

variável de ácidos graxos. Segundo os autores os espectros de massas obtidos por essas análises podem ser utilizados para o desenvolvimento de um banco de dados a ser usado para tipificações rápidas e confiáveis.

SANTOS e colaboradores (2013) demonstram a composição de triacilglicerídeos presentes nos óleos obtidos de frutos de palmeiras amazônicas tal como: bacaba (*Oenocarpus bacaba*), buriti (*Mauritia flexuosa*), inajá (*Maximiliana maripa*), pupunha (*Bactris gasipaes*) e tucumã (*Astrocaryum vulgare*). A separação de triacilglicerídeos em base nos valores de ECNs foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa não aquosa (RP-HPLC) e detecção por índice de refração (IR). Dessas análises, os autores descrevem que os triacilglicerídeos POP, POO e OOO foram as principais espécies de TAGs encontrados em todas as amostras de óleos de frutos de palmeiras amazônica estudados.

BATAGLION e colaboradores (2014) realizaram a identificação estrutural de triacilglicerídeos em três óleos vegetais tais como: coco (*Cocos nucifera*), andiroba (*Carapa guianensis*), e óleo de sementes de mamona (*Ricinus communis*) utilizando espectrometria de massas com fonte de ionização EASI (Easy Ambient Sonic-spray Ionization), onde foi possível identificar 30 triacilglicerídeos diferentes distribuídos entre os óleos analisados, porém não foi realizada a análise regioespecífica destes triacilglicerídeos identificados nos óleos Amazônicos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a composição estrutural e regioespecífica dos triacilglicerídeos presentes nos frutos de três espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia: bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart), pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey), empregando métodos cromatográficos e espectrométricos.

3.2. Objetivos Específicos

- ❖ Realizar a extração dos óleos presentes nas cascas, polpas e amêndoas (secas e frescas) dos frutos de palmeiras Amazônicas;
- ❖ Realizar a análise dos perfis lipídico dos óleos provenientes das diversas partes dos frutos por cromatografia em camada delgada (CCD);
- ❖ Realizar a caracterização prévia da cadeia graxa dos óleos vegetais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e por cromatografia gasosa de alta resolução com detector de ionização de chama (CG-DIC), após processo de derivatização;
- ❖ Realizar o isolamento de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE);
- ❖ Realizar o isolamento de triacilglicerídeos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa não aquosa, utilizando colunas do tipo C18 e C30;
- ❖ Realizar a elucidação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos por espectrometria de massas através de fragmentação sequenciada de adutos de lítio e amônio utilizando fonte de ionização por *electrospray* (ESI) e detecção em analisador do tipo *ion- trap*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Produtos, Reagentes e Solventes

- ✓ Acetato de etila – Química CREDIE
- ✓ Acetona - Química CREDIE
- ✓ Acetonitrila, grau HPLC - Tedia
- ✓ Ácido acético glacial P.A - Labsynth
- ✓ Ácido fosfomolibdico P.A - QUEMIS
- ✓ Alumina - óxido de alumínio 90 (0,063-0,200 mm) - Merck
- ✓ Anisaldeído - Vetec
- ✓ Cloreto de sódio - Labsynth
- ✓ Cromatoplasca silica-gel 60 - Merck
- ✓ Éter etílico - Labsynth
- ✓ Hexano - Química CREDIE
- ✓ Hexano grau HPLC (95%) - Tedia
- ✓ Hidróxido de sódio P.A - Labsynth
- ✓ Isopropanol grau HPLC – J.T. Baker
- ✓ Metanol- Química CREDIE
- ✓ Metanol grau LC-MS ($\leq 99,9\%$) – Sigma-Aldrich
- ✓ Sulfato de sódio P.A - Labsynth
- ✓ Trifluoreto de Boro metanólico (BF_3 12%) - Aldrich

4.1.2. Equipamentos

- ✓ Balança analítica - Master, modelo AY220
- ✓ Balança semi-analítica - Adventurer OHAUS-Toledo, modelo ARC120
- ✓ Estufa de circulação de ar- FANEM, modelo 320-SE
- ✓ Evaporador rotativo - Fisatom, modelo 802
- ✓ Lâmpada UV - Entela, modelo UVGL-58, 254/365 nm
- ✓ Moinho de facas – Marconi, modelo MA340
- ✓ Processador de alimentos (MIX) - PHILIPS
- ✓ Ultrassom – Eco-Sonics, modelo Q9.5/25A

- ✓ Cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chamas (CG-DIC) - Agilent, modelo HP 6890 Plus, equipado com injetor automático e dois detectores do tipo DIC.
- ✓ Cromatógrafo gasoso acoplado com espectrômetro de massas (CG-EM) - Thermo, equipado com injetor automático, detector de espectrometro de massas, fonte de ionização por impacto de elétrons, analisador do tipo quadrupolo e software Xcalibur.
- ✓ Cromatógrafo líquido de alta eficiência- Shimadzu, equipado com bomba quartenária – DGU-10AT, desgaseificador - DGU-20A, detector de arranjo de diodo – SPD-M20A, injetor automático- SIL-20A, modulo de comunicação – CBM-20A e software Solutions.
- ✓ Espectrometro de massas do laboratório temático de produtos naturais – LTQPN (Central Análítica do INPA) – Bruker Daltonics, modelo Amazon Speed operado com fonte de ionização por “electrosplay” (ESI), analisador do tipo *ion-trap* e e software DataAnalysis.
- ✓ Espectrometro de massas do laboratório de cromatografia e espectrometria de massas – LABCEM (Central Análítica da UFAM) - Thermo Scientific, modelo LCQ-Fleet, operado com fonte de ionização por “electrosplay” (ESI), analisador do tipo *ion-trap* e software Xcalibur.

4.2. Métodos

4.2.1. Seleção e obtenção dos óleos de frutos de palmeiras Amazônicas

Os frutos de palmeiras foram selecionados com base nos trabalhos já publicados na literatura, dando preferência por aqueles que não apresentavam estudos e por aqueles que estavam disponíveis no período de análise. Os levantamentos bibliográficos foram baseados nas composições lipídicas dos mesmos, tanto em termo de composição graxa (ácidos graxos) quanto na caracterização de triacilglicerídeos.

Desta forma, três espécies de palmeiras Amazônicas foram selecionadas para a realização deste trabalho, sendo estas: bacaba (*Oenocarpus bacaba* Martius), pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. F. W Meyer).

Os frutos provenientes dessas espécies de palmeiras foram adquiridos em feiras localizadas na Zona Leste de Manaus, tais como: Feira do produtor (tucumã e pupunha) e Feira do Zumbi (bacaba). Os frutos de tucumã foram obtidos em agosto de 2016 e os frutos de pupunha e bacaba nos meses de janeiro e fevereiro de 2017.

4.2.2. Extração do óleo de frutos de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia

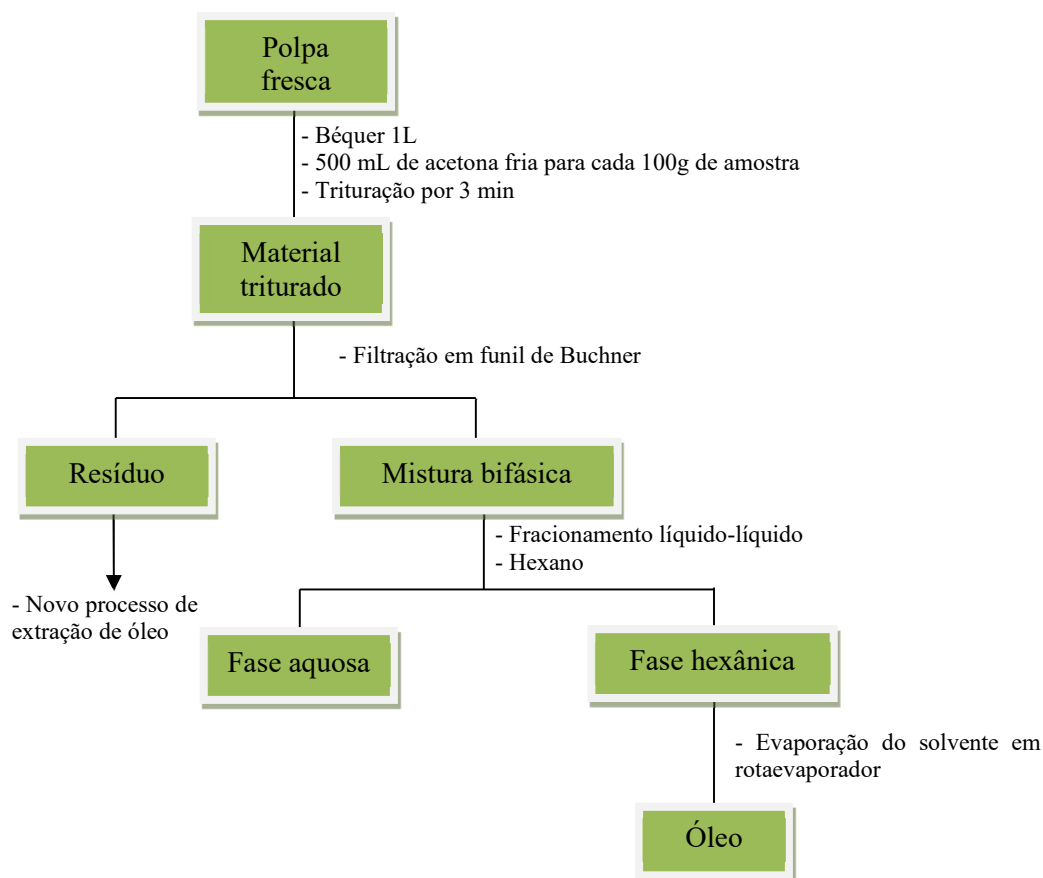
Os frutos obtidos foram lavados em água corrente e separados em partes (casca, polpa e amêndoa), seguindo de posterior extração dos óleos que foi realizada com as partes secas e frescas de cada fruto. Devido os frutos de bacaba apresentarem cascas de difícil remoção, as mesmas foram processadas junto com as polpas para obtenção do óleo dos frutos dessa espécie.

4.2.3. Extração do óleo presente nas polpas frescas de cada fruto

Para extração do óleo presente no material fresco foram utilizadas somente as polpas de cada fruto. Após separação e pesagem das partes dos frutos, a polpa fresca e pesada de cada espécie foi colocada em um béquer de 1 L sendo posteriormente adicionada acetona fria como solvente extrator em volume de 500 mL para cada 100 g de amostra. A mistura formada foi submetida a trituração com agitação vigorosa por 3 minutos com auxílio de um processador de alimentos tipo mixer (AMAYA, 2001). Ao término desse processo, o material triturado foi filtrado em funil de Buchner e o resíduo foi submetido novamente ao processo de extração de óleo. Ao final, obteve-se uma mistura bifásica, ao qual posteriormente foi concentrada em rotaevaporador até total evaporação do solvente.

A fase aquosa obtida contendo o óleo foi submetida a fracionamento líquido-líquido com hexano em funil de separação. A fração hexânica separada foi concentrada em rotaevaporador e os óleos obtidos das polpas frescas de cada fruto foram secos em atmosfera de nitrogênio e posteriormente pesados para determinação de rendimento (fluxograma 1).

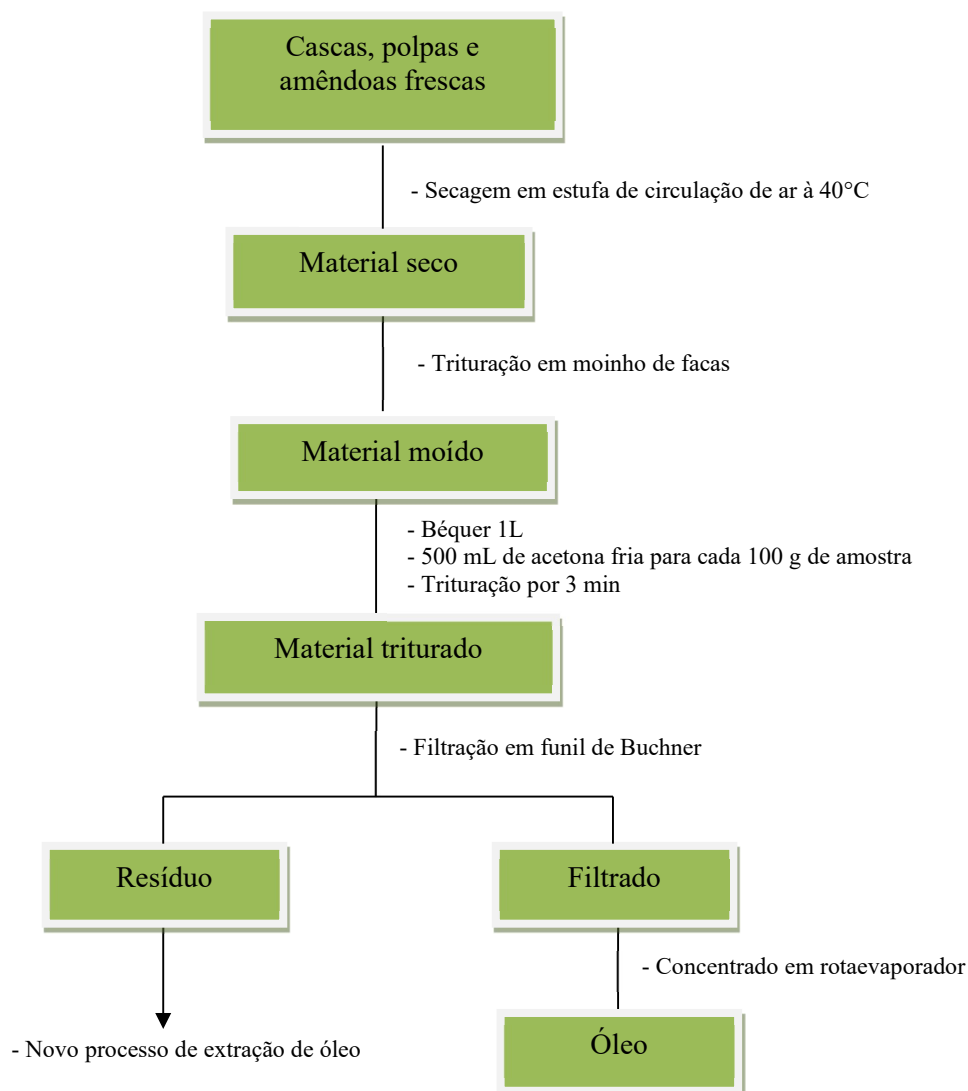
Fluxograma 1 - Processos de extração dos óleos provenientes das polpas frescas de cada fruto



4.2.4. Extração do óleo presente no material seco de cada fruto

Após pesagem das diferentes partes frescas de cada fruto (casca, polpa e amêndoa), as mesmas foram secas em estufa de circulação de ar e mantidas a temperatura constante de 40 °C. O material seco foi moído em moinho de facas, pesado e posteriormente colocado em um béquer de 1 L sendo em seguida adicionada acetona fria em volume de 500 mL para cada 100 g de amostra (AMAYA, 2001). O material seco junto com a acetona foi triturado utilizando um processador de alimentos do tipo mixer com agitação vigorosa por 3 minutos (conforme o procedimento anterior). Posteriormente foi realizada filtração em funil de Buchner e o material residual foi submetido novamente ao processo de extração de óleo. O filtrado foi concentrado em rotaevaporador obtendo ao final os óleos provenientes de cada parte dos frutos secos. Estes foram secos em atmosfera de nitrogênio e posteriormente pesados para determinação de rendimento (fluxograma 2).

Fluxograma 2 - Processos de extração dos óleos provenientes das polpas, cascas e amêndoas secas de cada fruto



Após obtenção de todos os óleos pelos dois processos de extração, os mesmos tiveram seus perfis químicos avaliados por cromatografia em camada delgada (CCD) de fase normal em sistema de eluição de hexano/éter etílico/ácido acético (glacial) 80:16:4 utilizando 5 µL amostras de óleos em concentração de 5 mg/mL e ácido fosfomolibdico como revelador.

4.2.5. Caracterização preliminar dos resíduos de ácidos graxos por cromatografia gasosa

4.2.5.1. Derivatização dos óleos

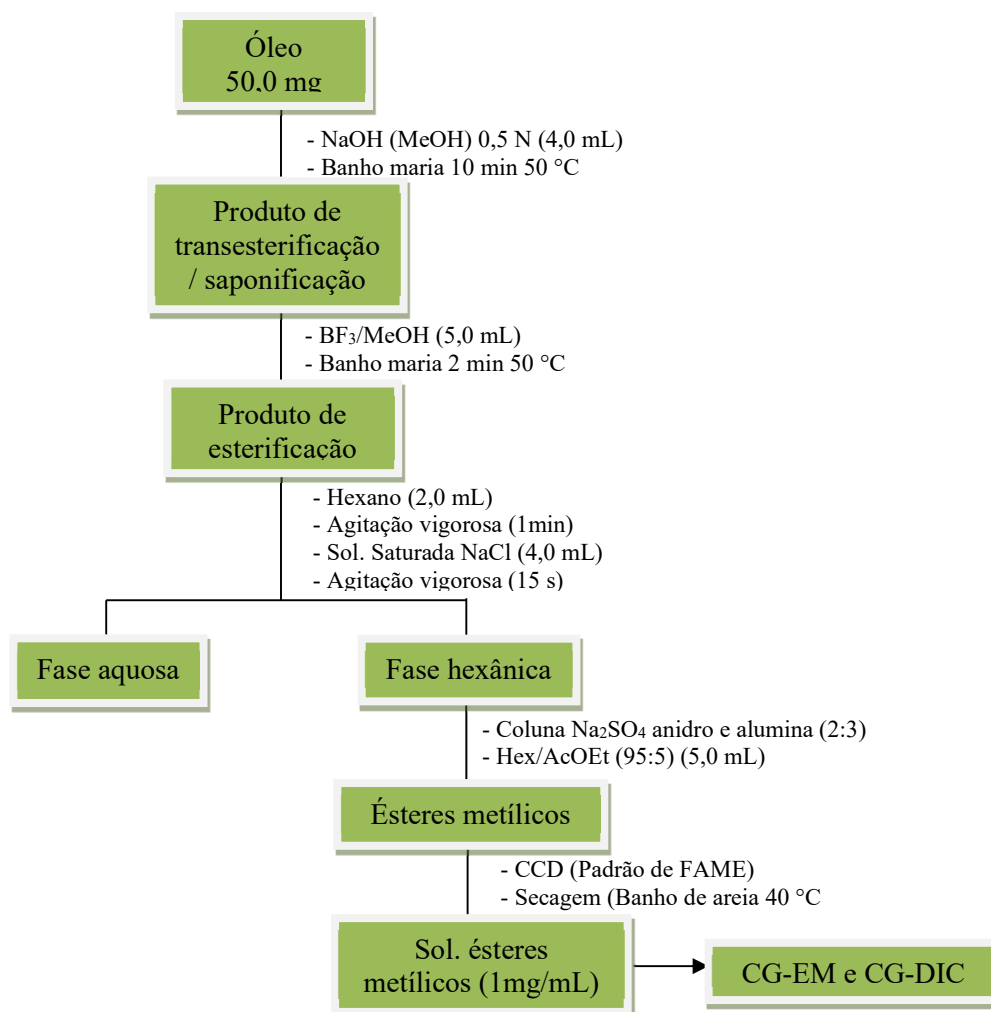
Para caracterização prévia dos óleos extraídos, realizou-se a derivatização desses óleos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES), para posterior análise por cromatografia gasosa.

Para esse procedimento, os FAMES foram preparados de acordo com o método descrito por METCALFE et al., (1966) com algumas modificações. O processo consiste num processo de transesterificação/saponificação, seguido de esterificação. Num tubo de ensaio, foram transferidos 50,0 mg de amostra de óleo, seguido de 4,0 mL de solução metanólica de hidróxido de sódio (0,5 N). Posteriormente, o tubo de ensaio foi vedado e submetido a aquecimento e agitação em ultrassom por 15 min a 50 °C. Após esse período de tempo, adicionou-se à mistura reacional 5,0 mL de BF₃/MeOH seguido novamente de aquecimento e agitação em ultrassom por mais 3 min. Logo após, adicionou-se 2 mL de hexano e após posterior agitação e aquecimento por 1 minuto adicionou-se ao mesmo 7,5 mL de solução saturada de cloreto de sódio com posterior agitação por 15 segundos.

A fase hexânica foi separada e submetida a filtração em uma pequena coluna cromatográfica empacotada com sulfato de sódio anidro para remoção de água e alumina (óxido de alumínio 90, 0,063-0,200 mm) para remoção de material graxo não convertido. A coluna foi eluída com 5 mL de Hex: AcOEt (98:2), na qual os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados dos eventuais constituintes que não reagiram durante o processo, assim como dos intermediários reacionais.

A conversão dos ácidos graxos em seus respectivos ésteres metílicos foi monitorada por cromatografia em camada delgada (seção 4.3.2) com o auxílio de padrão de FAMES para fins de comparação. Ao final, a amostra foi seca em banho de areia a 40 °C e após pesagem do material obtido, preparou-se uma solução hexânica de 1mg/ mL para posterior análise por cromatografia gasosa (fluxograma 3).

Fluxograma 3 - Processo de derivatização dos ácidos graxos presentes nos óleos em ésteres metílicos de ácidos graxos.



4.2.5.2. Caracterização da cadeia graxa por CG-DIC

Após processo de derivatização, os ácidos graxos convertidos em ésteres metílicos foram quantificados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC). Para isso, foi utilizado um cromatógrafo Agilent modelo 6890 plus, equipado com duas colunas capilares conectadas em paralelo, sendo uma polar (Innowax-20) e outra apolar (HP-5), ambas com dimensões de 30 m x 0,320 mm x 0,25 µm. Para essa análise, o injetor a 250 °C foi operado no modo split (20:1) e volume de injeção de 1 µL, com fluxo de gás de arraste (hidrogênio) a 3,6 mL/min. O forno foi programado com temperatura de 120 °C até 220 °C, com faixa de crescimento de 3 °C/min e isoterma de 6,67 min. Os detectores do tipo DIC foram operados à 260 °C com hidrogênio a 30 mL/min, nitrogênio a 30 mL/min e ar sintético a 300 mL/min (BARRETO, 2010).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram identificados através da comparação de seus tempos de retenção com os tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMEs), injetados nas mesmas condições de análise. A quantificação dos ésteres metílicos correspondentes aos ácidos graxos presentes em cada óleo foi realizada por normalização de área.

4.2.5.3. Caracterização da cadeia graxa por CG-EM

Os ésteres metílicos de ácidos graxos, identificados por CG-DIC, foram confirmados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, utilizando um cromatógrafo gasoso Thermo, modelo: Trace GC Ultra, equipado com injetor automático AI 300 e acoplado com espectrômetro de massas do tipo quadrupolo simples da marca, Thermo, modelo DSQ-II, com ionização por elétrons. Foi utilizada uma coluna apolar ZB-5MS (Phenomenex) com dimensões de 20 m x 0,18 mm x 0,18 μ m, e gás Hélio como gás de arraste com um fluxo constante a 2,0 mL/min, injetor a 250 °C e linha de transferência a 250 °C. O forno foi programado com temperatura de 70 °C até 220 °C, com faixa de crescimento de 3 °C/min. O espectrômetro de massas foi programado em modo de varredura (40-650 m/z) em modo positivo a 70 eV e fonte de íons a 200 °C.

Os ésteres metílicos de ácido graxo foram identificados com base na comparação de seus espectros de massas com os disponíveis nas bibliotecas presentes no equipamento: NIST, ADAMS e uma biblioteca montada pelo próprio grupo de pesquisa onde constam 43 padrões de ésteres metílicos.

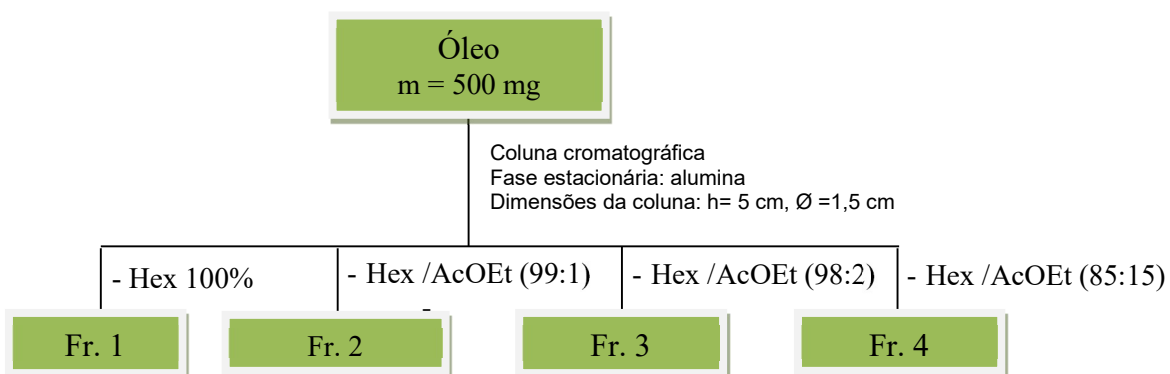
4.2.6. Isolamento de triacilglicerídeos

4.2.6.1. Fracionamento de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE)

Os triacilglicerídeos, presentes em cada amostra de óleos extraídos nos dois processos de extração foram separados das diversas classes de lipídeos utilizando um extrator do tipo SPE (extração em fase sólida). Para este procedimento, utilizou-se seringas de vidro de 10 mL da marca SUPELCO que foram empacotas com alumina neutra até uma altura de 5 cm. Posteriormente, foi adicionada às mesmas uma quantidade de 500 mg de amostra de óleos sendo em seguida eluídas com gradientes em ordem crescente de polaridade de hexano e acetato de etila. Para cada sistema de eluição foi utilizado um volume de 50 mL, obtendo ao final quatro

frações de cada amostra de óleo (fluxograma 4). Após isso, as frações obtidas foram concentradas em rotaevaporador, secas em atmosfera de nitrogênio e posteriormente pesadas para determinação de rendimento.

Fluxograma 4 - Processo de isolamento de triacilgliceróis presentes em cada amostra de óleo das diversas outras classes de lipídeos



Os perfis químicos das frações obtidas de cada óleo foram monitorados por CCD em fase normal, com sistema de eluição de Hex/AcOEt (85:15) e reveladas com anisaldeído.

4.2.6.2. Isolamento de triacilglicerídeos individuais por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa não aquosa.

Os TAGs presentes na fração 1 obtida por SPE de cada amostra de óleo foram separados entre si por CLAE em fase reversa não aquosa utilizando colunas do tipo C18 e C30. Para essas análises, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, em escala analítica equipado com uma bomba quaternária (LC-10AT), um degaseificador (DGU-20A), um detector de arranjo de diodo (SPD-M20A) com absorção de energia em comprimento de onda de 203 nm, um injetor (SIL-20A) programado para injeção de 10 µL de amostra, previamente solubilizada em isopropanol na concentração de 100 mg/mL. O equipamento possui ainda um módulo de comunicação (CBM-20A) e software LC-Solutions.

No processo de isolamento de TAGs individuais presentes nos óleos das cascas e polpas dos frutos, utilizou-se como fase estacionária uma coluna PrincetonSPHER C30 com dimensões de 4,0 mm por 25 cm de altura, diâmetro de partícula de 5 µm e diâmetro de poro de 200 Å. Como fase móvel utilizou-se acetonitrila e solução de isopropanol/ hexano (5:4) em proporção de 60:40 em modo isocrático com duração de análise de 40 minutos.

No processo de isolamento de TAGs presentes nos óleos das amêndoas dos frutos, utilizou-se uma coluna Shim-Pack-ODS (C-18) com dimensões de 4,6 mm por 25 cm de altura, diâmetro de partícula de 5 µm e diâmetro de poro de 100 Å. Como fase móvel utilizou-se acetonitrila e isopropanol na proporção de 70:30 com duração de análise de 50 minutos.

Como os isolamentos de TAGs foram realizados em aparelhos de CLAE em escala analítica fez-se necessário realizar em média 15 injeções de cada amostra a fim de obter quantidade de massa suficiente para posterior identificação estrutural e caracterização regioespecífica de cada TAG isolado por espectrometria de massa.

4.2.7. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos por espectrometria de massas utilizando ionização por “electrospray” e fragmentação sequenciada em MSⁿ com adutos de lítio e amônio.

Os triacilglicerídeos isolados por CLAE foram identificados e caracterizados por espectrometria de massas utilizando fonte de ionização por “electrospray” (ESI) em modo positivo e analisador do tipo *ion trap*. Para isso, seguiu-se o procedimento descrito por HSU e TURK (2010). O processo de identificação e caracterização regioespecífica de TAGs se deu através da realização de fragmentações sequenciadas até MS³ utilizando hidróxido de lítio (LiOH) e acetato de amônio (CH₃CO₂NH₄) para favorecer a fragmentação por ESI pela formação de adutos de lítio [TAG+Li]⁺ e amônio [TAG+NH₄]⁺.

As amostras de TAGs isolados dos óleos das diferentes partes de cada fruto foram solubilizadas em uma mistura de solventes de CHCl₃/MeOH (1/4) para preparar uma solução inicial de 1mg/mL. Posteriormente, 10 µL da solução contendo os TAGs obtidos da polpa dos frutos ou 6 µL da solução de TAGs obtidos das amêndoas e mais 10 µL de solução aquosa de hidróxido de lítio ou acetato de amônio (0,1 M) foram avolumados com MeOH (grau LC-MS) para obter 1 mL de uma solução final contendo 10 ppm de TAGs e 1mM de LiOH ou CH₃CO₂NH₄.

4.2.7.1. Identificação estrutural de triacilglicerídeos

O processo de identificação estrutural dos TAGs foi realizado no laboratório temático de produtos naturais (LTQPN) da Central Analítica do INPA pelo técnico Magno Muniz.

Após o preparo das amostras, 80 µL das mesmas foram injetados em sequência por inserção direta no espectrômetro de massas da marca Bruker Daltonics, modelo Amazon Speed

equipado com fonte de ionização do tipo “electrospray” (ESI) e analisador do tipo *ion trap*. As injeções das amostras foram realizadas através da utilização de uma bomba de um cromatógrafo líquido programado com fluxo de 0,020 mL/min em modo Split com divisor de fluxo de 1:3 (espectrômetro de massas e descarte). As tensões do capilar e da placa ESI foram ajustadas respectivamente em - 4,5 KV e -0,5 KV em modo positivo e a tensão da saída do capilar em 140 V. O gás nitrogênio ultrapuro produzido pelo gerador de N₂ da marca Peak Scientific foi usado como gás nebulizador e de secagem. No analisador *ion trap* utilizou-se o gás hélio como gás de fragmentação. A faixa de varredura foi de 100-1200 *m/z*. O número médio de espectros foi de 5 e a janela de isolamento para o íon precursor foi fixada em 2 Da. Cada análise por EM foi realizada em um período de tempo de 15 minutos dividido em três segmentos de 5 minutos cada.

O primeiro segmento de 0-5 min corresponde a obtenção de cromatogramas de picos bases (BPC) onde se apresentam os íon precursores (MS) derivados da formação de adutos de lítio ou amônio com os TAGs presentes em cada amostra [TAG+Li]⁺ ou [TAG+NH₄]⁺ formados no processo de ionização por electrospray (ESI) das moléculas de TAGs com os respectivos sais. Esses íons precursores descrevem as massas moleculares dos TAGs isolados de cada amostra de óleo. No segundo segmento de 5-10 min, obtêm-se os cromatogramas de íon totais (TIC), aos quais descrevem as fragmentações sequenciadas MSⁿ (n = 2 e 3) de cada íon precursor obtidos no segmento anterior. Essas fragmentações irão informar as características dos TAGs presentes em termos da composição de ácidos graxos identificados pela formação em íons moleculares em MS² e de adutos de diacilgliceróis originários da perda neutra de um ácido graxo de uma molécula de TAG formando os íons adutos [TAG+Li-RCO₂H]⁺ ou [TAG+NH₄-RCO₂H-NH₃]⁺. Nos experimentos é possível ainda atribuir a distribuição regioespecífica sn-1/sn-3 e sn-2 em espectros de MS³ dos ácidos graxos distribuídos no esqueleto de glicerol que compõe um TAG. O último segmento de 10-15 min corresponde ao processo de limpeza da fonte de ionização e do analisador para preparar o equipamento para as próximas análises.

4.2.7.2.Caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos

Através de análises prévias dos resultados obtidos no procedimento anterior, observou-se que no segundo fragmento, nem todos os fragmentos gerados em MS² correspondentes a adutos de diacilglicerídeos foram fragmentados em MS³ sendo estes fragmentos os responsáveis por fornecer informações a respeito da caracterização regioespecíficas de triacilglicerídeos. Desta

forma, foi necessário realizar inserções diretas e individuais de cada amostra de TAG já identificados anteriormente através de espectros de MS e MS², para obtenção direta de espectro de massas em MS³.

Devido a problemas no espectrômetro de massas da Bruker Daltonics da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais do INPA, as análises em MS³ de todas as amostras de TAGs foram realizadas no laboratório de cromatografia e espectrometria de massas (LABCEM) da central analítica da UFAM com acompanhamento dos discentes Bruna Ribeiro, Elzalina Soares e Cesar Souza.

Para cada análise, as amostras de TAGs foram preparadas conforme o procedimento de preparação de amostras descritos anteriormente e injetadas por inserção direta no espectrômetro de massas da marca Thermo Scientific, modelo LCQ-Fleet, equipado com fonte de ionização electrospray (ESI) e analisador do tipo ion-trap. A voltagem e a temperatura do capilar em ESI foram de 20,0 V e 200 °C respectivamente e a voltagem do Spray de 5,0 KV, sendo este operado em modo positivo e CID (dissociação por colisão induzida) de 25-28 %. O gás nitrogênio foi usado como gás nebulizador e gás de secagem e no analisador utilizou-se gás hélio como gás de fragmentação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Extração do óleo de frutos de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia

Os óleos obtidos das cascas, polpas e amêndoas dos frutos foram pesados e tiveram seus rendimentos descritos na tabela 4. Desses observa-se que o processo de extração utilizando acetona fria como solvente extrator é uma boa alternativa para extração de lipídeos de óleos de frutos, uma vez que apresentaram valores de rendimento aproximados aos descritos na literatura quando utilizado métodos e solventes diferentes no processo de extração de lipídeos de frutos, tais como: hexano em extrator semipiloto (MAMBRIM & BARRERA-ARELLANO, 1997) e éter etílico em extração por Soxhlet (SANTOS et al, 2013; YUYAMA et al, 2003).

O procedimento de extração utilizado neste trabalho mostrou ser eficientes, simples e rápido, além de não necessitar da utilização de altas temperaturas como na extração por Soxhlet, o que poderia ocasionar a degradação dos lipídios existentes. A acetona como solvente extrator não é um solvente tóxico em comparação ao clorofórmio e ao metanol aos quais são utilizados no método de Bligh e Dyer, sendo este, um bom solvente para extração de glicerolipídeos, porém não é adequado para a extração de fosfolipídeos devido a maior polaridade destes últimos constituintes. Para análises de lipídeos totais como lipídeos polares, o método de Bligh e Dyer se torna um método mais adequado para esse fim (CHRISTIE e HAN, 2016; BRUM et al., 2009).

Tabela 4- Rendimentos de óleos obtidos da casca, polpas e amêndoas de frutos

Frutos	Parte dos frutos	Massa material fresco (g)	Massa material seco (g)	Quantidade de óleo obtido (g)	Rendimento %	Literatura %
bacaba	polpa+casca (fresca)	51,4	---	2,7	5,2	22,1 ^b
<i>O. bacaba</i>	polpa+casca (seca)	54,7	28,9	8,7	29,9	24,9 ^a ; 38,3 ^b
Martius	amêndoa (seca)	87,6	40,5	---	---	---
	casca (seca)	47,1	19,4	3,6	18,7	---
pupunha	polpa (fresca)	110,2	---	3,6	3,3	5,9 ^b
<i>B. gasipaes</i>	polpa (seca)	117,2	59,5	6,7	11,3	17,0 ^b ; 11,5 ^c
Kunt	amêndoa (seca)	90,7	24,4	4,4	18,1	---
	casca (seca)	32,6	12,9	0,4	3,4	---
tucumã	polpa (fresca)	83,8	---	10,8	12,9	11,8 ^{b*}
<i>A. aculeatum</i>	polpa (seca)	109,2	59,7	25,2	42,2	18,2 ^{a*} ; 26,6 ^{b*}
Meyer	amêndoa (seca)	---	29,4	6,9	23,5	29,6 ^{a*}

Fonte: (a) MAMBRIM & BARRERA-ARELLANO, 1997; (b) SANTOS et al., 2013; (c) YUYAMA et al., 2003,

* Tucumã *A. vulgare*.

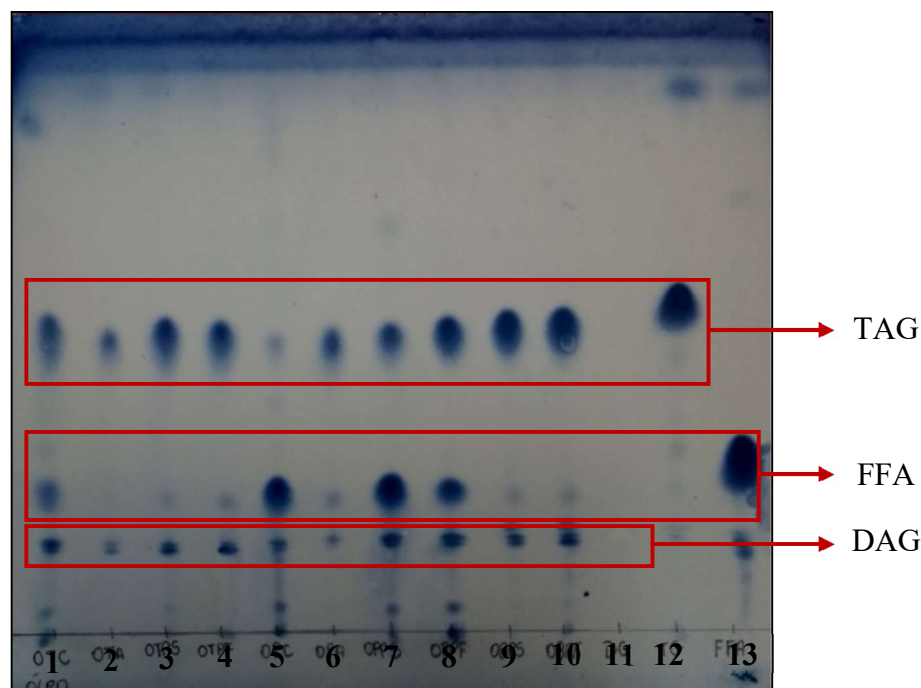
Ao observarmos os rendimentos de óleos obtidos após cada processo de extração, observa-se que dos frutos em estudo, o fruto de tucumã apresentou um maior percentual lipídico nas polpas frescas, polpas secas e amêndoas com relação aos demais, com valores respectivos de 12,9% e 42,2% e 23,5%. Ao compararmos a composição lipídica das cascas, os frutos de pupunha apresentaram uma maior composição lipídica de 18,7% em comparação com as cascas dos frutos de tucumã com 3,4%. Os estudos descritos na literatura com os frutos de tucumã são mais restritos a espécie *Astrocaryum vulgare*. Desses, MAMBRIM & ARELLANO (1997) apresentam valores aproximados de percentual lipídicos nas amêndoas 29,6% e assim como SANTOS et al, 2013 apresentam valores inferiores nas polpas secas 18,2% e 26,6% aos apresentados neste trabalho para a espécie *Astrocaryum aculeatum*.

Dos frutos de bacaba não foi possível realizar extração das cascas uma vez que essas são de difícil remoção, sendo, portanto, realizada extração dos óleos presentes na polpa junto com a casca. As cascas juntos com as polpas secas apresentaram composição lipídica de 29,9% similar ao obtido por MAMBRIM & ARELLANO (1997) e SANTOS et al., (2013) que identificaram respectivamente 24,9 % e 38,4 % de composição lipídica nas polpas secas deste fruto, no entanto foi obtido neste trabalho um percentual lipídico de 5,2 % nas cascas junto com as polpas frescas inferior ao descrito por SANTOS et al., (2013) de 22,1 %. Das amêndoas desse fruto, observou-se que não houve óleo extraído, sendo formado ao final apenas um produto de baixa massa e solúvel em solvente polar como metanol, o que não caracteriza o mesmo como sendo um produto lipídico, inviabilizando, portanto, a análise lipídica do óleo da amêndoa de bacaba por esse método de extração.

Os frutos de pupunha foram os que apresentaram menores percentuais lipídico tanto nas polpas frescas e secas com 3,3 % e 11,3 % quanto nas amêndoas com 18,1 %. Tais valores condizem com os obtidos por SANTOS et al., (2013) que descreve 5,9 % e 17,0 % nas polpas frescas e secas deste fruto e 11,5% nas polpas secas descritas por YUYAMA et al., (2003), demonstrando então que as polpas de pupunha apresentam baixos percentuais lipídicos.

A figura 10 demonstra os perfis químicos de todos os óleos quando analisados por CCD em fase normal, onde é possível observar perfis lipídicos similares para todos os óleos. Através da comparação com padrões autênticos observa-se as principais classes lipídicas derivadas de ácidos graxos que compõem os óleos e gorduras, que são os triacilglicerídeos denominados de TAG como componentes mais apolares, seguido de ácidos graxos livres (FFA) e diacilglicerídeos (DAG).

Figura 10 - Perfis lipídicos por CCD dos óleos extraídos dos frutos em estudo



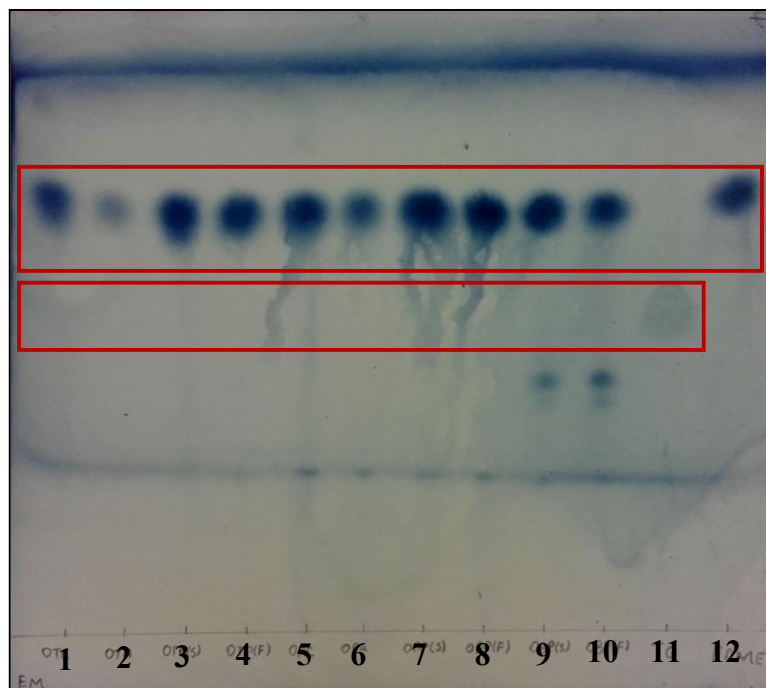
1- OTC- Óleo de tucumã – Casca; 2- OTA- Óleo de tucumã – Amêndoa; 3- OTPS- Óleo de tucumã – Polpa – Seca; 4- OTPF- Óleo de tucumã – Polpa – Fresca; 5- OPC -Óleo de pupunha – Casca; 6- OPA- Óleo de pupunha – Amêndoa; 7- OPPS- Óleo de pupunha – Polpa – Seca; 8- OPPF- Óleo de pupunha – Polpa – Fresca; 9- OBPS- Óleo de bacaba – Polpa – Seca; 10- OBPF- Óleo de bacaba – Polpa – Fresca; 11- DAG- Padrão de diacilglicerídeo; 12-TAG- Padrão de triacilglicerídeo; 13- FFA- Padrão de ácidos graxos livres. CCD de fase normal em sistema de eluição de hexano/éter etílico/ácido acético (glacial) 80:16:4 utilizando 5 µL em concentração de 5 mg/mL de amostras de óleos e 10 mg/mL de padrões e ácido fosfomolibdico como revelador.

5.2. Caracterização preliminar dos resíduos de ácidos graxos por cromatografia gasosa

5.2.1. Derivatização dos óleos em estudo

Para realizar a caracterização preliminar da composição graxa dos óleos provenientes das cascas, polpas e amêndoas dos frutos por cromatografia gasosa, foi necessário realizar a derivatização de todos os óleos, a fim de converter os derivados de ácidos graxos (ácidos graxos livres, monoacilglicerídeos, diacilglicerídeos e triacilglicerídeos em ésteres metílicos de ácidos graxos denominados de FAMES. Após esse processo, observou-se através de análise em CCD (figura 11), uma completa conversão dos ácidos graxos presentes nas formas de triacilgliceróis em ésteres metílicos de ácidos graxos e uma boa converção dos demais componentes derivados de ácidos graxos.

Figura 11 - Análise por CCD de FAMES obtidos no processo de derivatização dos óleos dos frutos em estudo



1- OTC- Óleo de tucumã – Casca; 2- OTA- Óleo de tucumã – Amêndoa; 3- OTPS- Óleo de tucumã – Polpa – Seca; 4- OTPF- Óleo de tucumã – Polpa – Fresca; 5- OPC -Óleo de pupunha – Casca; 6- OPA- Óleo de pupunha – Amêndoa; 7- OPPS- Óleo de pupunha – Polpa – Seca; 8- OPPF- Óleo de pupunha – Polpa – Fresca; 9- OBPS- Óleo de bacaba – Polpa – Seca; 10- OBPF- Óleo de bacaba – Polpa – Fresca; 11-TAG- Padrão de triacilglicerídeo; 12- Padrão de FAME. CCD de fase normal em sistema de eluição de hexano/éter etílico/ácido acético (glacial) 80:16:4 utilizando 5 μ L em concentração de 5 mg/mL de amostras de óleos e 10 mg/mL de padrões e ácido fosfomolibdico como revelador.

5.2.2. Análise por CG-DIC de padrões de FAMES

As identificações e quantificação dos FAMES obtidos de cada amostra de óleo oriundos das cascas, polpas e amêndoas dos frutos foram realizadas por CG-DIC através da comparação dos seus respectivos tempos de retenção com os tempos de retenção de padrões autênticos de FAMES que foram analisados em triplicata e nas mesmas condições das análises das amostras. A figura 13 mostra os cromatogramas de análises por CG-DIC em colunas apolar e polar destes padrões de FAMES e a tabela 5 apresentam os seus respectivos tempos de retenção.

Figura 12 - Análise por CG-DIC de padrões de FAMES em coluna apolar e coluna polar

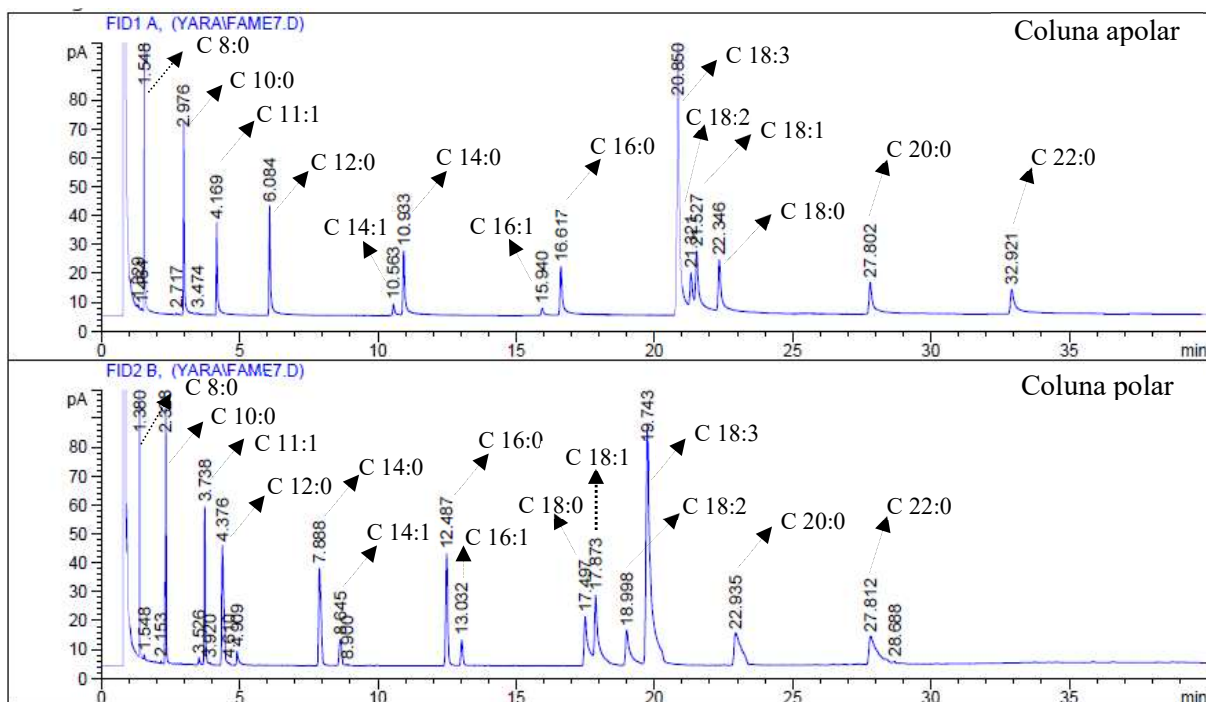


Tabela 5 - Média dos tempos de retenção dos padrões de FAMES analisados em triplicata por CG-DIC em colunas apolar e polar

Ácidos graxos correspondentes aos padrões de FAMES	Nº de carbono do ácido graxo	t _R apolar (min)	t _R polar (min)
caprílico	C 8:0	1,55 ± 0,00	1,38 ± 0,00
cáprico	C 10:0	2,98 ± 0,00	2,32 ± 0,01
undecenóico	C 11:1	4,17 ± 0,00	3,73 ± 0,02
laurico	C 12:0	6,08 ± 0,01	4,37 ± 0,01
mirístico	C 14:0	10,93 ± 0,01	7,87 ± 0,03
miristoleico	C 14:1	10,56 ± 0,01	8,61 ± 0,04
palmitico	C 16:0	16,61 ± 0,01	12,45 ± 0,03
palmitoleico	C 16:1	15,93 ± 0,01	13,00 ± 0,03
esteárico	C 18:0	22,34 ± 0,01	17,47 ± 0,02
oleico	C 18:1	21,52 ± 0,01	17,85 ± 0,02
linoleico	C 18:2	21,31 ± 0,01	18,97 ± 0,02
α-linolenico	C 18:3	20,84 ± 0,00	19,72 ± 0,03
araquídico	C 20:0	27,81 ± 0,10	22,88 ± 0,05
behênico	C 22:0	32,92 ± 0,01	27,74 ± 0,05

Nas análises dos padrões por CG-DIC em coluna apolar, observa-se que os ácidos graxos mais insaturados, ou seja, aqueles que apresentam uma maior quantidade de duplas ligações (ex. C18:2) apresentam menores tempos de retenção com relação ao seu análogo menos

insaturado (ex. C18:1). Isso ocorre devido a maior quantidade de dupla ligação favorecerem uma diminuição das interações com a fase estacionária mais apolar, sendo, portanto, eluídas em tempos de retenção menores. O contrário é observado quando as amostras de FAMES são analisadas em colunas polares, onde as ordens de eluições são de C18:0, C18:1, C18:2, etc, como reportado por GURR et al, 2002 e CHRISTIE & HAN, 2016.

5.2.3. Caracterização e quantificação da cadeia graxa por CG-DIC dos óleos das cascas polpas e amêndoa dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã

Os cromatogramas descritos no apêndice A demonstram os perfis cromatográficos por CG-DIC em coluna apolar e coluna polar dos FAMES de ácidos graxos presentes nos óleos extraídos das cascas, polpas secas, polpas frescas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã. Os ácidos graxos identificados em cada amostra de óleos das diferentes partes dos frutos estudados, assim como os resultados obtidos no processo de quantificação por normalização de área, tais como as médias dos valores das áreas de cada pico correspondentes aos ácidos graxos observados nas duas colunas (polar e apolar) quando analisados em duplicata e a média do desvio padrão obtidos no tratamento dos dados encontram-se descritos na tabela 6.

Através das análises dos perfis cromatográficos obtidos tanto em coluna apolar quanto em coluna polar dos óleos extraídos das polpas frescas e polpas secas dos frutos estudados, observou-se que não houve diferença nas composições graxas dos mesmos, demonstrando que independente das condições em que as polpas foram processadas, a composição dos ácidos graxos foram os mesmos. Os percentuais de área descritos na tabela 6 para essas amostras demonstram que não houve grandes mudanças nas concentrações médias dos componentes graxos presentes indicando, portanto, que não houve degradação dos ácidos graxos insaturados, detectável no processo de secagem (desidratação) das polpas.

Os resultados obtidos dos perfis graxos das cascas dos frutos de pupunha e tucumã indicam que esses apresentaram ácidos graxos semelhantes aos presentes nas polpas dos seus respectivos frutos. Tal resultado pode estar relacionado com o fato de que no processo de remoção da casca pequenas quantidades de polpas foram removidas juntas uma vez que não foi possível uma total separação destas partes.

Tabela 6 - Composição média em ácidos graxos dos óleos provenientes das cascas, polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã quando analisados por CG-DIC em coluna apolar e polar

Ácido graxo		caprílico	capríco	láurico	mirístico	palmitico	palmitoleico	estearico	oleico	linoléico	linolênico	araquídico
Símbolo		C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0
bacaba <i>O. bacaba</i> Martius	Polpa (seco)	---	---	0,01 ± 0,00	0,09 ± 0,00	18,19 ± 0,24	0,44 ± 0,02	4,00 ± 0,80	65,92 ± 0,26	10,71 ± 0,33	---	---
	Polpa (fresco)	---	---	0,02 ± 0,00	0,06 ± 0,00	18,02 ± 0,09	0,52 ± 0,01	3,53 ± 0,47	64,36 ± 0,18	12,80 ± 0,29	---	---
pupunha <i>B. gasipaes</i> Kunt	Casca	---	---	0,50 ± 0,00	0,10 ± 0,00	26,81 ± 0,13	7,16 ± 0,02	2,27 ± 0,04	54,69 ± 0,010	5,86 ± 0,05	---	0,12 ± 0,00
	Amêndoa	0,14 ± 0,01	1,26 ± 0,00	49,99 ± 0,02	23,89 ± 0,04	6,61 ± 0,02	---	1,92 ± 0,01	11,93 ± 0,02	3,64 ± 0,04	---	---
	Polpa (seco)	---	---	0,05 ± 0,00	0,08 ± 0,00	21,50 ± 0,05	7,75 ± 0,05	2,64 ± 0,15	62,46 ± 0,05	4,50 ± 0,09	---	---
	Polpa (fresco)	---	---	0,11 ± 0,00	0,13 ± 0,00	22,50 ± 0,05	9,17 ± 0,07	2,10 ± 0,13	59,86 ± 0,12	4,74 ± 0,07	---	---
tucumã do Amazonas <i>A. aculeatum</i> Meyer	Casca	---	---	0,10 ± 0,00	0,12 ± 0,01	6,11 ± 0,08	---	21,68 ± 0,24	61,54 ± 0,22	0,97 ± 0,01	11,02 ± 0,01	0,45 ± 0,00
	Amêndoa	---	0,55 ± 0,01	50,33 ± 0,06	32,03 ± 0,09	5,55 ± 0,03	---	1,91 ± 0,08	7,30 ± 0,07	1,50 ± 0,00	---	---
	Polpa (seco)	---	---	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01	4,29 ± 0,04	0,04 ± 0,00	12,54 ± 0,39	76,15 ± 0,62	0,77 ± 0,000	10,82 ± 0,01	0,10 ± 0,00
	Polpa (fresco)	---	---	0,01 ± 0,00	0,07 ± 0,00	6,31 ± 0,44	0,06 ± 0,00	8,78 ± 0,81	75,27 ± 0,77	0,80 ± 0,05	13,24 ± 0,01	---

Tabela 7 - Somatório dos percentuais de ácidos graxos saturados e insaturados dos óleos analisados

	bacaba		pupunha				tucumã			
	polpa (seca) (%)	polpa (fresca) (%)	casca (%)	amêndoa (%)	polpa (seca) (%)	polpa (fresca) (%)	casca (%)	amêndoa (%)	polpa (seca) (%)	polpa (fresca) (%)
Σ AG saturados	22,29	21,63	29,80	83,81	24,27	24,87	28,46	90,37	16,99	15,17
Σ AG monoinsaturados	66,36	64,88	61,85	11,93	70,21	69,03	61,54	7,30	76,19	75,33
Σ AG poliinsaturados	10,71	12,80	5,86	3,64	4,50	4,74	11,99	1,50	11,69	14,04

De forma geral, os resultados obtidos da quantificação por CG-DIC dos ácidos graxos presentes nas amostras de óleos (tabela 6 e 7) estão de acordo com os dados descritos na literatura (tabela 2, seção 2.2), onde os óleos oriundos das polpas de frutos de palmeiras são ricos em ácido oléico (monoinsaturado) e ácido graxo saturado de cadeia média como ácido palmítico principalmente nos óleos das polpas de bacaba e pupunha. Os óleos das amêndoas são ricos em ácidos graxos saturados de cadeia curta como láurico e mirístico e ácido oleico como ácido graxo monoinsaturado.

Os óleos das polpas dos frutos de bacaba mostraram ser compostos predominantemente por ácidos graxos insaturados correspondendo a cerca de 64-66 % de ácidos graxos monoinsaturados como ácido oleico e 10-12 % de ácido graxo poliinsaturados como ácido linoléico, a composição em ácidos graxos saturados de cadeia média corresponde a cerca de 21-23 % com predominância de ácido palmítico e esteárico. Tais resultados obtidos estão de acordo com os descritos por MAMBRIM E ARELLANO (1997), MONTUFAR et al., (2010) e SANTOS et al., (2013) para essa mesma espécie (tabela 2).

Assim como observado no óleo da polpa do fruto de bacaba, os óleos das polpas dos frutos de pupunha também apresentam uma abundância de ácidos insaturados, com cerca de 69-71 % de ácido monoinsaturados, principalmente ácido oleico e palmitoleico, sendo observado apenas traços desse último nos óleos das polpas de bacaba e tucumã. Os ácidos poliinsaturados correspondem a cerca de 4-5% exclusivamente de ácido linoléico e os ácidos saturados de cadeia média correspondem a cerca de 24-25 % com predominância de ácido palmítico e em menor quantidade de ácido esteárico. Valores semelhantes foram reportados por SANTOS e colaboradores (2013) e YAYAMA e colaboradores (2003), no entanto os mesmos identificaram uma quantidade de 1,4 % e 1,3 % de ácido linolênico nessa espécie, o que não foi observado nesse trabalho.

O óleo da amêndoa de pupunha demonstrou ser rico em ácidos graxos saturados de cadeia curta correspondendo a aproximadamente 84 % com predominância de ácido láurico e mirístico. Como ácidos insaturados, o ácido oleico apresentou-se com abundância de 12 % e o ácido linoléico em menor quantidade de cerca de 4 %.

Com relação aos óleos obtidos das polpas dos frutos de bacaba e pupunha, o óleo das polpas de tucumã mostrou ser diferente em sua composição graxa, indicando assim como os demais uma predominância de ácido graxo monoinsaturado (75-77 %) quase exclusivamente de ácido oleico e traços de ácido palmitoleico. Esses apresentam cerca de 13-15 % de ácidos poliinsaturados, no entanto nessa espécie foi observado baixas quantidades de

ácidos linoléico e quantidade significativa de ácido linolênico, que não foi observado nos óleos das polpas de bacaba e pupunha.

O óleo da polpa de tucumã apresenta cerca de 15-17 % de ácidos saturados de cadeia média correspondendo á ácidos palmítico e esteárico, e uma pequena quantidade de ácido araquídico (cadeia longa) que foi encontrado somente no óleo da casca da pupunha. Esse óleo mostrou ser semelhante ao óleo da amêndoa da pupunha tanto em termo de perfil graxo quando pela abundância de seus constituintes.

Para fins de comparação, não se encontrou trabalhos na literatura que descrevessem a composição graxa da polpa do tucumã (*A. aculeatum*), sendo encontrados somente trabalhos realizados para a espécie de tucumã-do-Pará (*A. vulgare*). Ao compararmos os resultados obtidos com os descritos na literatura para o tucumã-do-Pará (*A. vulgare*) (tabela 2), observa-se diferenças nas composições graxas dessas duas espécies. O trabalho realizado por MAMBRIM e ARELLANO (1997) com óleos da polpa de tucumã-do-Pará (*A. vulgare*) descreve quantidades maiores de ácido palmítico e menor quantidade de ácido esteárico, além de ácido linoleico em menor quantidade que o ácido linolênico nos óleos da polpa. Nesse trabalho, foram obtidos resultados contrários nos óleos das polpas dos frutos de tucumã (*A. aculeatum*), porém os óleos das amêndoas apresentaram porcentagens semelhantes de ácidos graxos entre as duas espécies de tucumã.

5.2.4. Caracterização da cadeia graxa dos óleos das cascas, polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã por CG-EM

Os cromatogramas obtidos através das análises por CG-EM das amostras de óleos das diferentes partes (cascas, polpas secas e frescas e amêndoas) dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã, encontram-se descritos no apêndice B e confirmam os componentes graxos identificados e quantificados por CG-DIC para tais amostras. Os resultados obtidos demonstram assim como observado por CG-DIC uma predominância de ácido oléico (C18:1), palmítico (C16:0) e linoléico (C18:2) nos óleos das polpas secas e frescas do fruto de bacaba. Ácido oleico (C18:1), palmítico (C16:0) e palmitoléico (C16:1) nos óleos das cascas, polpas secas e frescas dos frutos de pupunha e ácido oléico (C18:1), esteárico (C18:0) e palmítico (C16:0) identificados como predominantes nos óleos das cascas, polpas secas e frescas dos frutos de tucumã. Nas amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã confirmou-se a predominância de ácidos graxos saturados de cadeia média tais como ácido láurico (C12:0) e mirístico (C14:0).

5.3. Isolamento de triacilglicerídeos

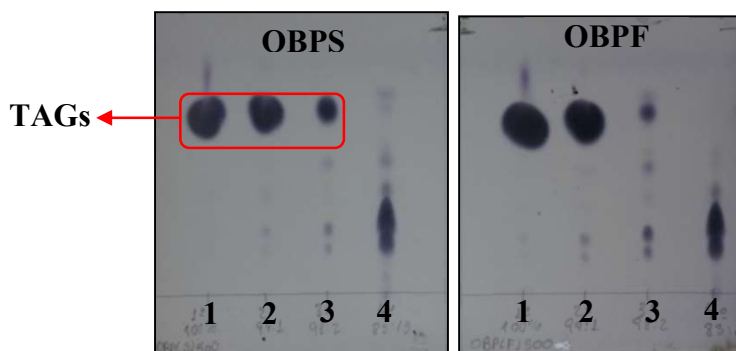
5.3.1. Isolamento de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos por extração em fase sólida (SPE)

As análises por CCD (figuras 13-15) mostram os resultados obtidos do fracionamento por SPE de triacilglicerídeos das diversas classes de lipídeos presentes em cada amostra de óleos, quando utilizado alumina neutra como fase estacionária e um sistema de eluição em ordem crescente de polaridade de hexano e acetato de etila.

Os resultados obtidos por essas análises demonstram a eficácia desta técnica para a separação de triacilglicerídeos das demais classes de lipídeos e preparação dessas amostras para posterior isolamento individuais dos diferentes triacilglicerídeos (TAGs) por CLAE. Tais resultados demonstram os triacilglicerídeos como componentes mais apolares (ver figura 10) eluídos nas frações 1,2 e 3 e na fração 4 observa-se a eluição dos demais componentes lipídicos mais polares (DAG, MAG, FFA, etc) presentes nas diferentes amostras de óleos.

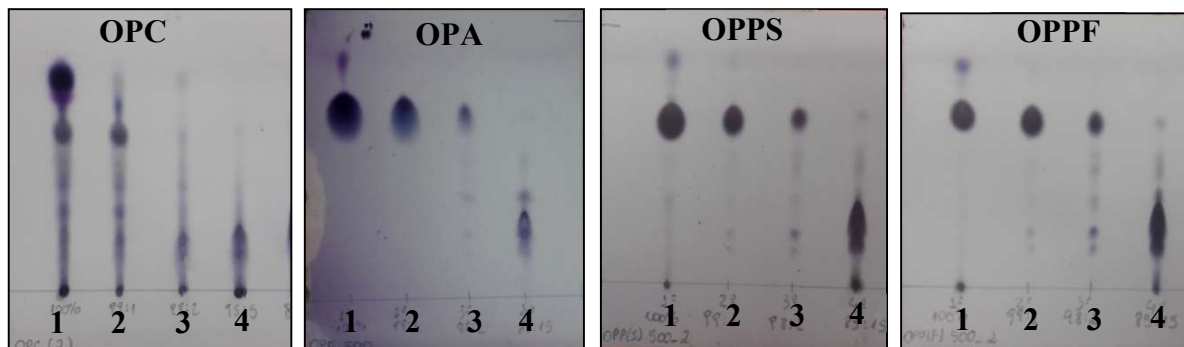
Na análise por CCD das frações obtidas do óleo da casca de pupunha (OPC) (figura 14), observe-se um perfil diferente dos demais óleos, demonstrando a presença de componentes com fatores de retenção um pouco distintos. Observou-se também manchas de constituintes menos polares do que os triacilgliceróis no óleo da casca de tucumã, porém em menor quantidade.

Figura 13 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das polpas frescas (OBPF) e polpa seca (OBPS) dos frutos de bacaba



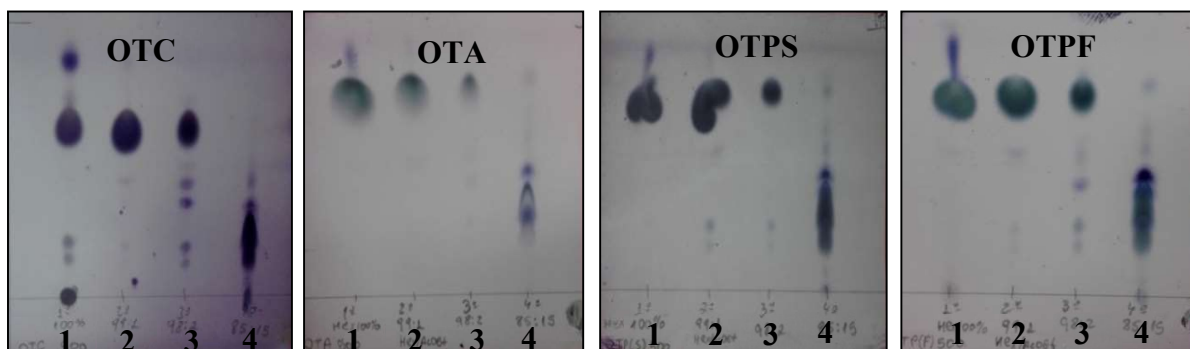
1- amostra obtida em hexano 100%, 2- amostra obtida em Hex: AcOEt (99:1), 3- amostra obtida em Hex: AcOEt (98:2), 4- amostra obtida em Hex: AcOEt (95:5). CCD de fase normal em sistema de eluição de hexano/acetato de etila 85:15 utilizando 5 µL em concentração de 5 mg/mL de amostras e anisaldeído como revelador.

Figura 14 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das cascas (OPC), amêndoas (OPA), polpas secas (OPPS) e polpas frescas (OPPF) dos frutos de pupunha



1- amostra obtida em hexano 100%, 2- amostra obtida em Hex: AcOEt (99:1), 3- amostra obtida em Hex: AcOEt (98:2), 4- amostra obtida em Hex: AcOEt (95:5).

Figura 15 - Análises por CCD das frações de triacilglicerídeos extraídos por SPE dos óleos das cascas (OTC), amêndoas (OTA), polpas secas (OTPS) e polpas frescas (OTPF) dos frutos de tucumã



1- amostra obtida em hexano 100%, 2- amostra obtida em Hex: AcOEt (99:1), 3- amostra obtida em Hex: AcOEt (98:2), 4- amostra obtida em Hex: AcOEt (95:5).

A partir dos valores de massas das amostras obtidas após cada eluição (tabela 8) e através da somatória das massas dos TAGs isolados nas três primeiras eluições (tabela 9), foi possível estimar os valores percentuais de TAGs presentes em cada amostra de óleo analisado. Destes, observa-se que os frutos apresentam valores significativos em percentual de massas de TAGs presentes nas polpas com valores na faixa de 60 % e nas amêndoas com valores, entre 70 % e 80 %, demonstrando dessa forma, o grande potencial lipídico em termo de triacilglicerídeos que os frutos amazônicos apresentam. Os valores descritos também demonstram uma exceção para as quantidades de triacilglicerídeos presentes nas polpas dos frutos de pupunha onde estes apresentam valores de massa abaixo de 50 %.

Tabela 8 - Valores de massas e rendimentos de TAGs obtidos das amostras de óleo quando submetidos a fracionamento por SPE com sistema de eluição em ordem crescente de polaridade

Descrição	1 ° sistema		2 ° sistema		3 ° sistema		4 ° sistema	
	Hexano 100%		Hex:AcOEt (99:1)		Hex:AcOEt (98:2)		Hex:AcOEt (95:5)	
	Massa (g)	Rend. (%)	Massa (g)	Rend. (%)	Massa (g)	Rend. (%)	Massa (g)	Rend. (%)
OBPS	0,2096	41,8	0,1222	24,4	0,0144	2,9	0,0437	8,7
OBPF	0,1923	38,4	0,1211	24,2	0,0048	0,9	0,0547	10,9
OPC *	0,0084	8,4	0,0047	4,7	0,0012	1,2	0,0028	2,8
OPA	0,2349	46,9	0,1472	29,4	0,0203	4,0	0,0412	8,2
OPPS	0,0942	18,8	0,0399	7,9	0,0058	1,2	0,0683	13,6
OPPF	0,0778	15,5	0,0791	15,8	0,0049	0,9	0,0971	19,4
OTC	0,1081	21,6	0,1543	30,8	0,0197	3,9	0,0629	12,5
OTA	0,2445	48,8	0,1167	23,3	0,0239	4,7	0,0352	7,0
OTPS	0,2119	42,3	0,1134	22,6	0,0010	0,2	0,0345	6,8
OTPF	0,1885	37,6	0,1067	21,3	0,0195	3,8	0,0567	11,3
Massa inicial ~ 0,5000 g e * 0,1000 g								

Tabela 9 - Somatório dos valores de massas de TAGs isolados nos três primeiros sistemas de eluição

Descrição	Σ de TAGs Massa (g)	(1°-3° eluição) Rendimento (%)
OBPS	0,3462	69,1
OBPF	0,3182	63,6
OPC *	---	---
OPA	0,4024	80,4
OPPS	0,1399	27,9
OPPF	0,1618	32,3
OTC	0,2821	56,4
OTA	0,3851	76,9
OTPS	0,3263	65,1
OTPF	0,3147	62,9

Através das análises por CG-DIC realizadas com os FAMES de ácidos graxos presentes nas amostras de triacilglicerídeos obtidas após as 1ª e 2ª eluições (onde apresentam maiores porcentagem de massa de TAGs) das colunas de SPE, observou-se que os perfis cromatográficos dos FAMES destes triacilglicerídeos (apêndice C) são os mesmos observados na composição total dos óleos analisados (apêndice B), evidenciando então que todos os ácidos graxos que compõe cada um dos óleos encontram-se presentes na forma de triacilglicerídeos.

5.3.2. Isolamento de triacilglicerídeos individuais presentes nos óleos das polpas dos frutos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa não aquosa

As análises por CLAE em modo isocrático utilizando sistema em fase reversa não polar em conjunto com colunas semi-preparativas do tipo C30 (polpas) e C18 (amêndoas), mostraram ser eficientes na separação de triacilglicerídeos individuais. Destas análises foram obtidos cromatogramas com perfis cromatográficos bem resolvidos (figura 33-40), uma vez que foi detectada em comprimento de onda baixo na faixa de 203 nm a presença de uma vasta quantidade de picos cromatográficos com boas resoluções e intensidades que possibilitaram o isolamento de possíveis TAGs.

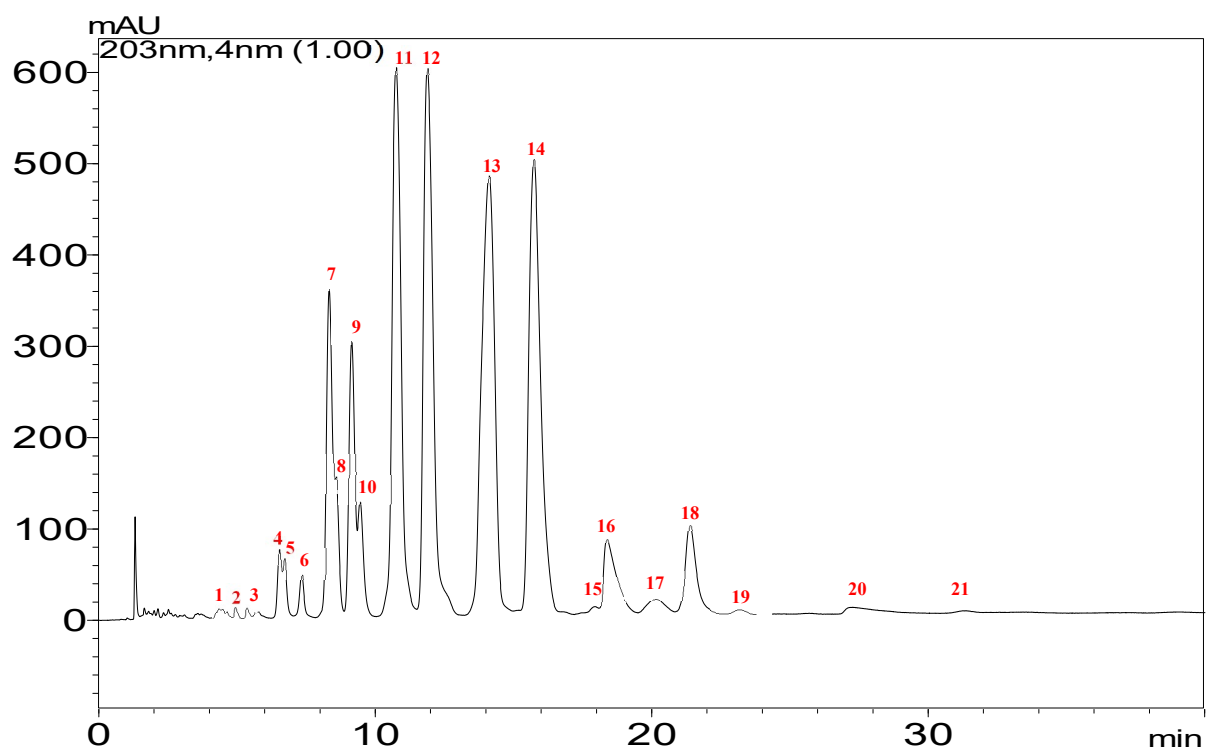
As figuras 16-23 apresentam os cromatogramas que demonstram os perfis cromatográficos dos TAGs presentes nos óleos das polpas frescas e secas dos frutos analisados por CLAE. Em todas as análises realizadas com as amostras obtidas após o primeiro sistema de eluição (onde foi obtida uma maior porcentagem de TAGs presentes em cada óleo) do fracionamento por SPE, observou-se uma reprodutibilidade dos perfis cromatográficos dos triacilglicerídeos presentes nos óleos obtidos tanto das polpas frescas quanto das polpas secas de cada fruto, uma vez que foi observada a presença de quantidades semelhantes de picos cromatográficos após os primeiros 6 minutos de cada análise.

As semelhanças observadas nos perfis cromatográficos por CLAE dos óleos extraídos tanto do material seco quanto do material fresco dos frutos, em conjunto com os resultados observados nas análises prévias por cromatografia gasosa e por CCD, indicam que a composição lipídica em termo de TAGs dos óleos obtidos nas duas condições tanto do material seco quanto do material fresco é a mesma. Assim sendo, decidiu-se realizar o isolamento apenas dos TAGs presentes nos óleos extraídos das polpas secas para posterior identificação e caracterização regioespecífica por espectrometria de massas.

5.3.2.1. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de bacaba

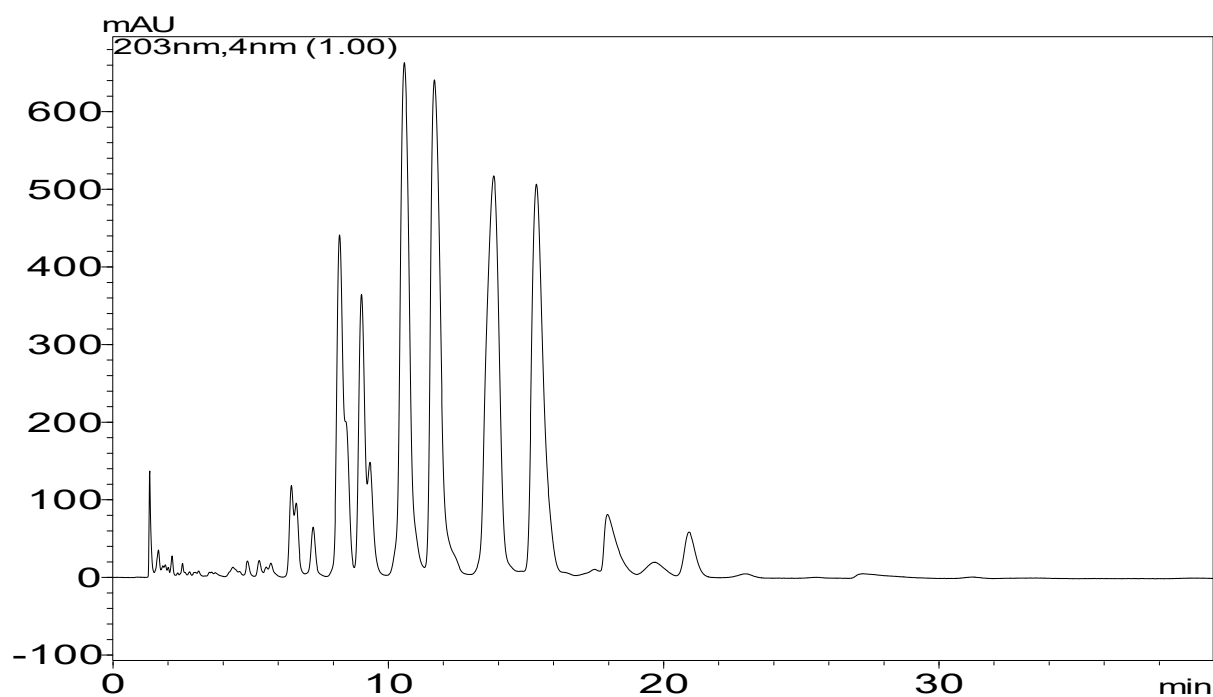
Das análises por CLAE das amostras de triacilglicerídeos obtidas dos óleos das polpas secas dos frutos de bacaba (figura 16) foram isoladas 21 substâncias de prováveis triacilglicerídeos diferentes que foram previamente codificadas com os números descritos após análises exploratórias dos óleos.

Figura 16 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de bacaba



Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

Figura 17 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de bacaba

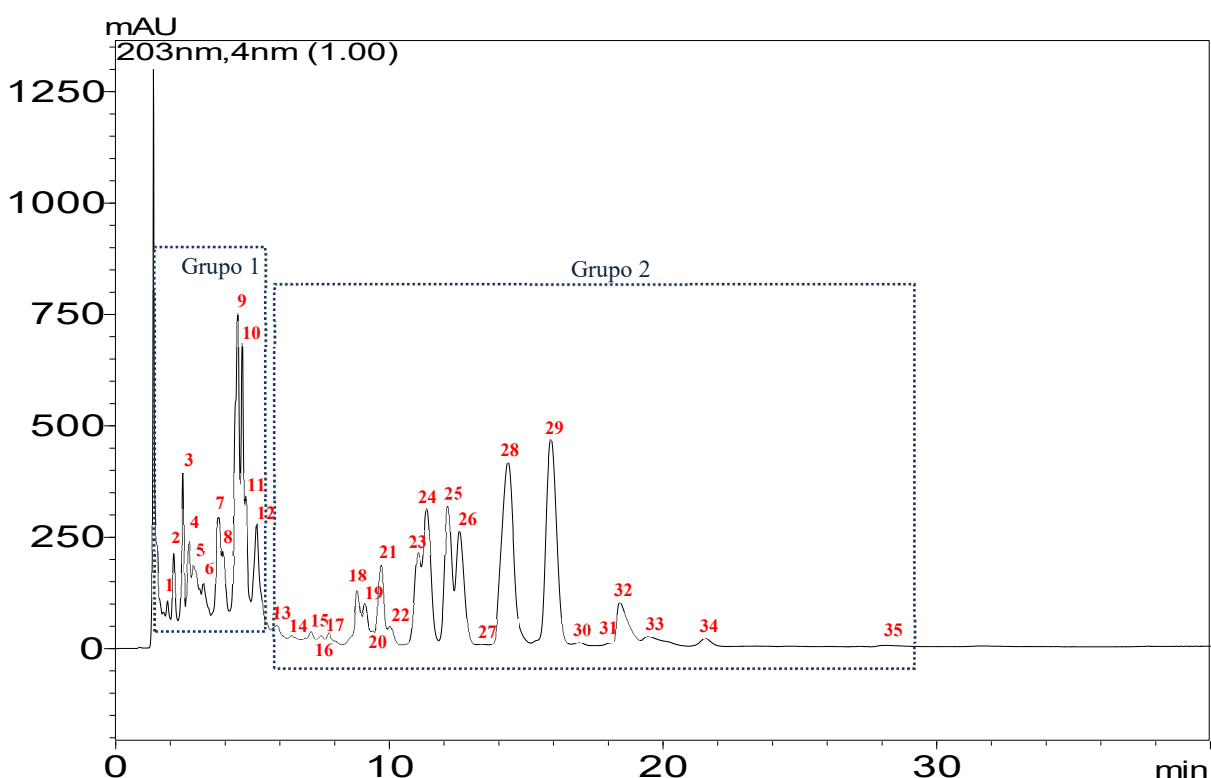


Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

5.3.2.2. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de pupunha

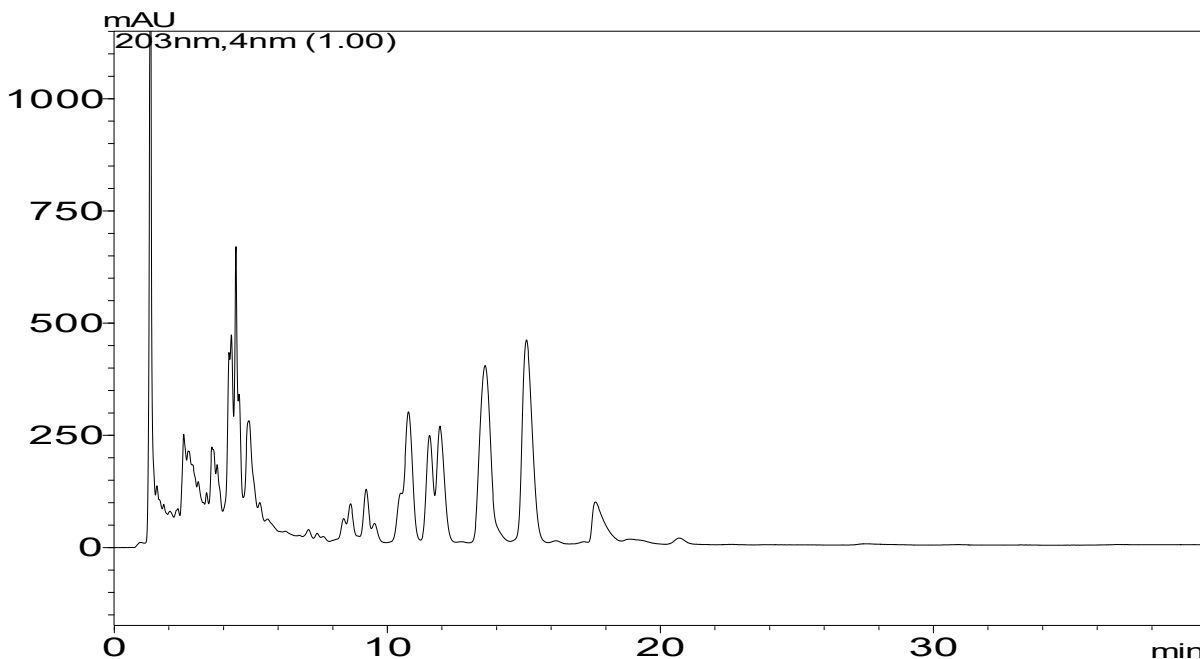
Nos perfis cromatográficos das misturas de triacilglicerídeos presentes nos óleos extraídos das polpas do fruto de pupunha (figuras 18 e 19), observa-se a separação de dois grupos diferentes, onde o primeiro é representado por picos cromatográficos intensos de maior polaridade amontoados e com baixas definições eluídos nos primeiros seis minutos (picos 1-12), o segundo grupo eluído após os seis minutos, são representados por compostos mais apolares com bandas cromatográficas mais definidas (picos 13-35) em comparação aos observados no grupo 1 (picos 13-35), possivelmente representando as misturas de triacilglicerídeos. Para verificar se estes compostos presentes no primeiro grupo são triacilglicerídeos, isolaram-se também os mesmos para posterior identificação por espectrometria de massas. Ao final foram obtidas 35 amostras de possíveis triacilglicerídeos enumerados de acordo com a ordem de eluição.

Figura 18 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de pupunha



Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

Figura 19 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de pupunha



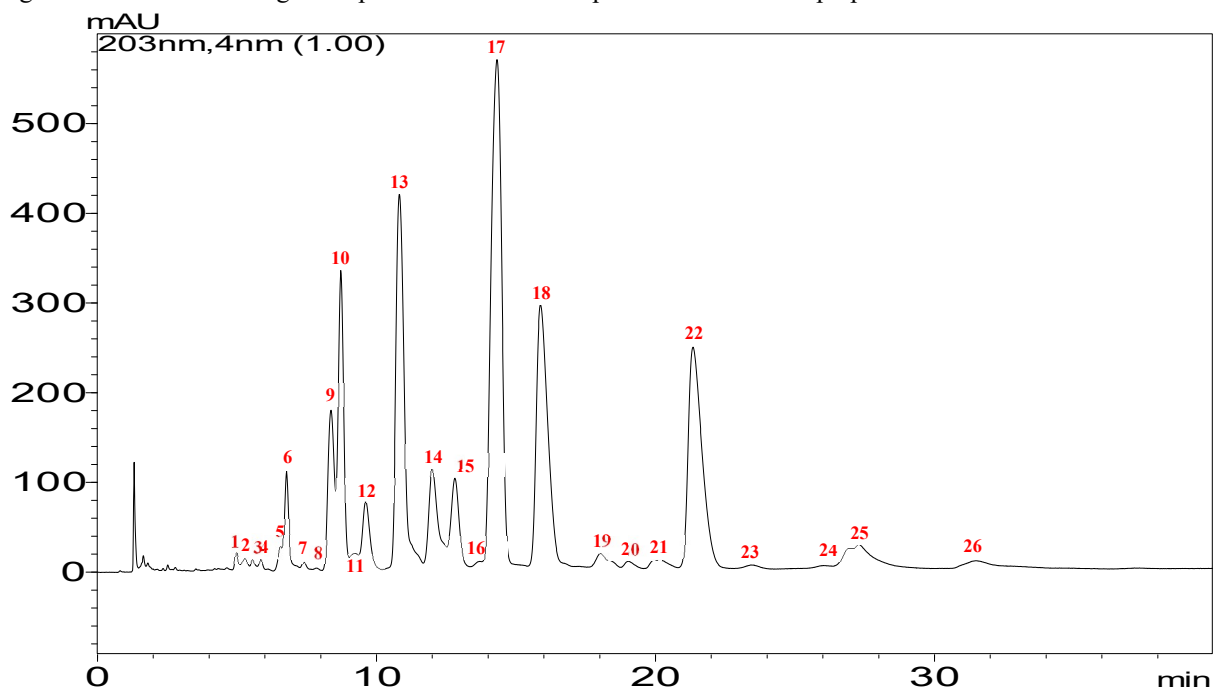
Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

5.3.2.3. Isolamento por CLAE em fase reversa não aquosa de triacilglicerídeos individuais presentes no óleo da polpa seca de tucumã

Nos cromatogramas obtidos após análises por CLAE em fase reversa não aquosa das amostras de misturas de triacilglicerídeos extraídos dos óleos das polpas secas e frescas dos frutos de tucumã (figuras 20 e 21), observou-se perfis cromatográficos mais parecidos aos das análises dos frutos de bacaba, pois apresentaram picos cromatográficos mais definidos e eluídos após os primeiros seis minutos (grupo 2). Na comparação destes dois perfis cromatográficos do fruto de tucumã, observa-se diferenças nos compostos eluídos no grupo 1, uma vez que se nota a presença desses compostos nas amostras de misturas de triacilglicerídeos obtidas dos óleos das polpas frescas (figura 21), que são quase que inexistentes nas amostras obtidas dos óleos das polpas secas (figura 20).

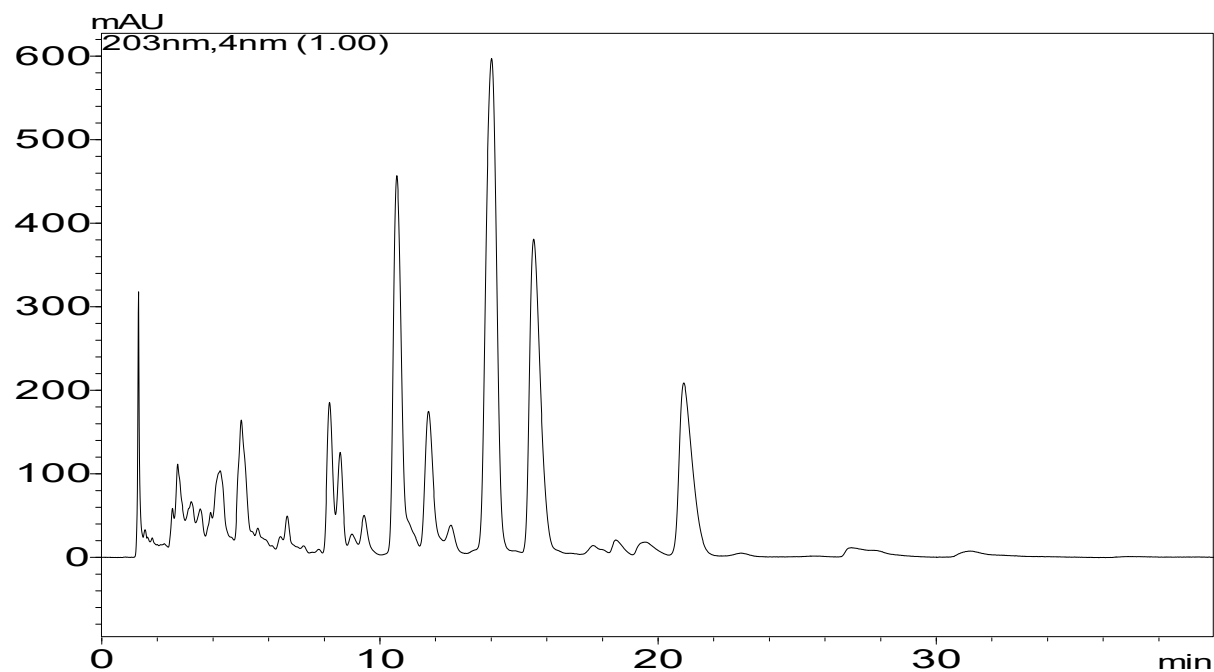
Para o isolamento de triacilglicerídeos, decidiu-se realizar apenas com a amostra obtida das polpas secas, pois apresentaram um perfil mais limpo na região do grupo 2. Desta forma, foram isoladas 26 amostras de TAGs presentes no óleo da polpa do fruto de tucumã para posterior identificação e caracterização por espectrometria de massas.

Figura 20 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de tucumã



Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

Figura 21 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da polpa fresca do fruto de tucumã

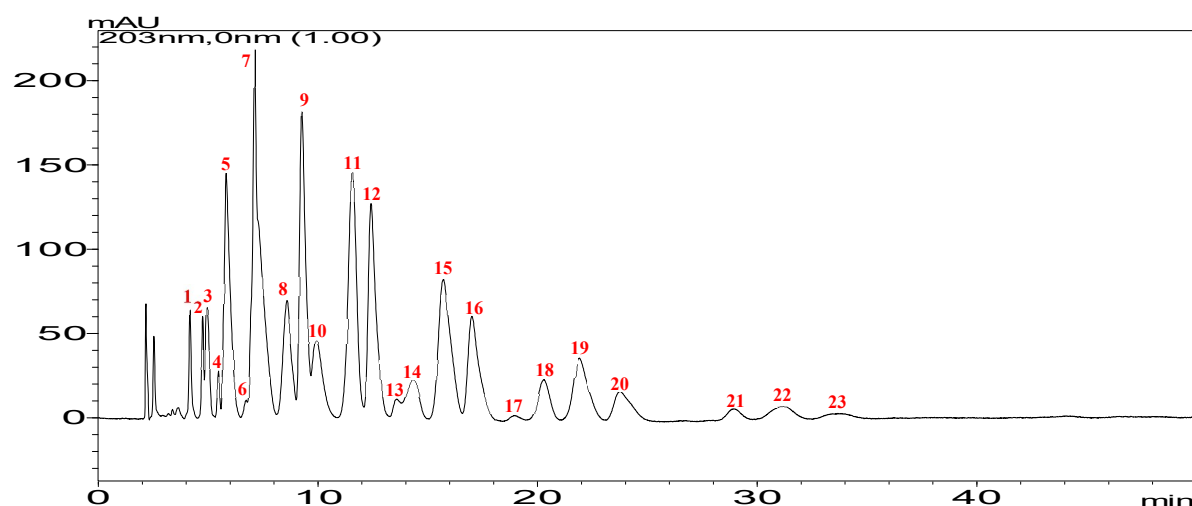


Análise realizada em coluna C30, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH/Hex (5:4); C/D: 60:40.

5.3.3. Isolamento de triacilglicerídeos individuais presentes nos óleos das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã por CLAE em fase reversa não aquosa

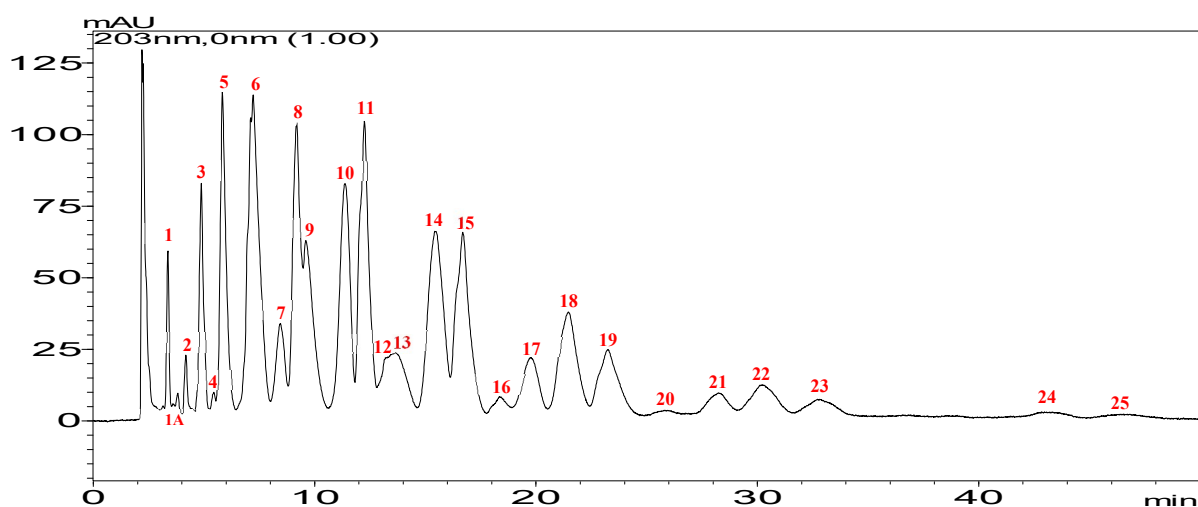
Após análises por CLAE das misturas de triacilglicerídeos presentes nos óleos das amêndoas de pupunha e tucumã, obtivemos cromatogramas com perfis cromatográficos bastante semelhantes entre si, evidenciando a presença de TAGs semelhantes, porém com diferentes abundâncias nas amêndoas dos dois frutos distintos. Para posterior identificação e quantificação por EM foram isoladas 23 amostras de TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha (figura 22) e 25 amostras de TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã (figura 23).

Figura 22 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha



Análise realizada em coluna C18, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH; C/D: 70:30.

Figura 23 - Perfil cromatográfico por CLAE dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã



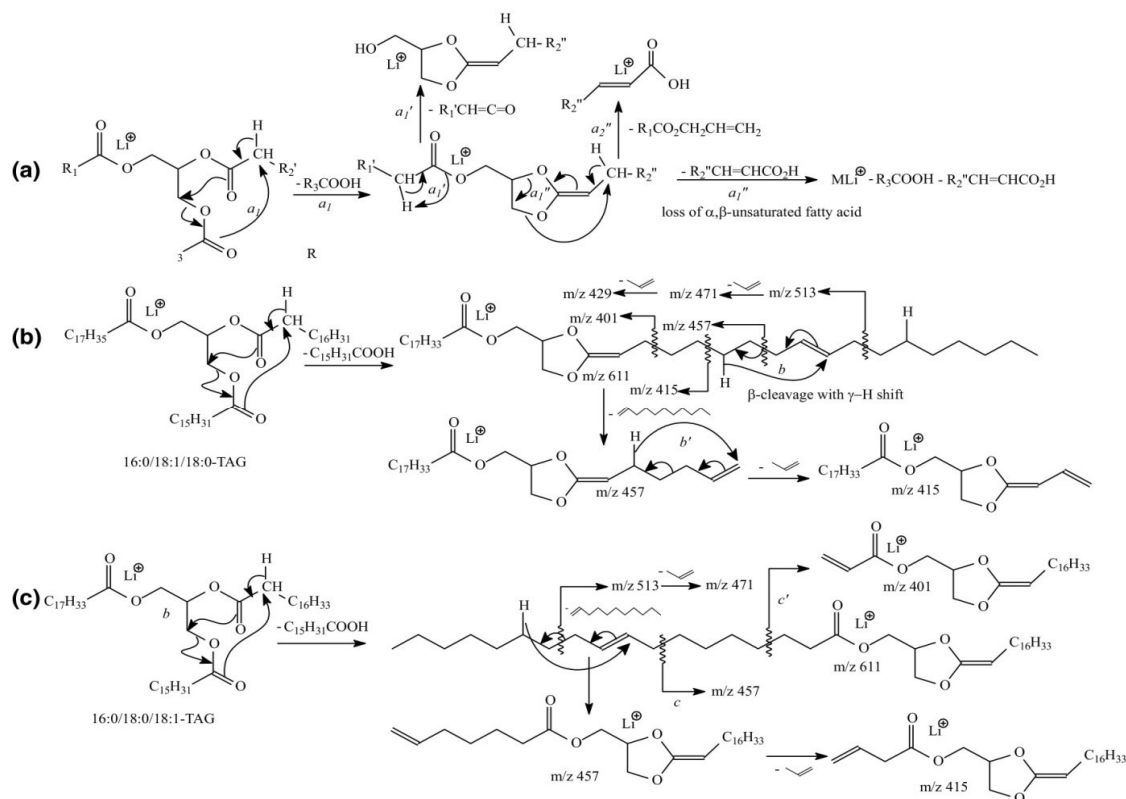
Análise realizada em coluna C18, com volume de injeção de 10 μ L de amostra em concentração de 100 mg/mL e sistema de eluição de C: ACN; D: I-PrOH; C/D: 70:30.

5.4. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos por espectrometria de massas utilizando ionização por electrospray e fragmentação sequenciada em MS³ com adutos de lítio e amônio em analisador do tipo *Ion trap*.

Ao final das separações por CLAE de todas as amostras de óleos dos três frutos, obteve-se um total de 131 amostras de possíveis triacilglicerídeos, que foram então submetidos a processos de identificação e caracterização regioespecífica por espectrometria de massas com auxílio de hidróxido de lítio e acetato de amônio, na formação dos seus respectivos adutos, correspondendo ao final um total de 262 amostras a serem analisadas.

Foi empregada uma metodologia de análise publicada por Hsu e Turk (2010), que fez a elucidação estrutural de triacilglicerídeos, que permitiu a identificação dos ácidos graxos esterificados no glicerol e localizar as ligações duplas nos ácidos graxos insaturados, empregando a ionização por eletrospray com a formação de adutos de lítio e amônio e análise em espectrômetros de massas do tipo *ion-trap*. De acordo com os autores, a metodologia propõe a seguinte mapa de fragmentação de triacilglicerídeos:

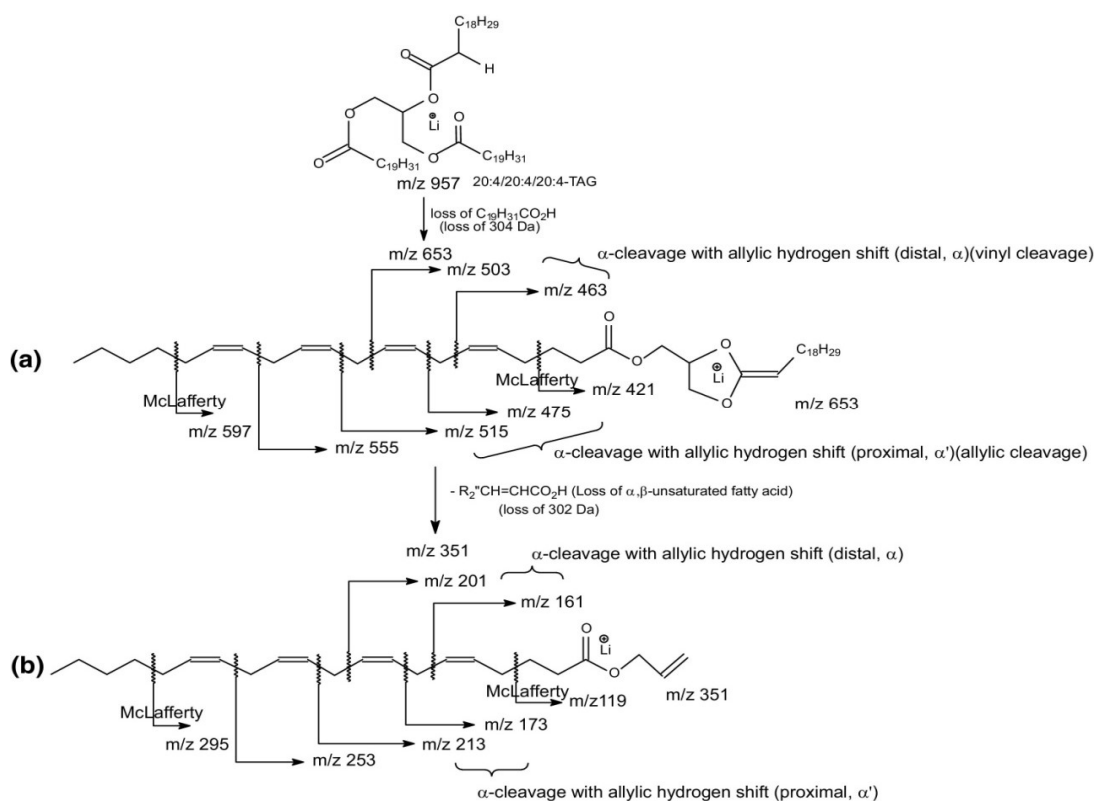
Figura 24 - Mapa de fragmentação de TAG



Fonte: Hsu e Turk (2010)

De acordo com os autores, através dessa metodologia é possível distinguir regioisômeros de triacilglicerídeos do tipo ABA de AAB/BAA e consequentemente também triacilglicerídeos com diferentes ácidos graxos, do tipo ABC/CBA, ACB/BCA e BAC/CAB, além de permitir localizar as ligações duplas nas cadeias de ácidos graxos, conforme apresentado na figura 25.

Figura 25 - Mecanismo de fragmentação proposta para a localização de ligações duplas nas cadeias de ácidos graxos



Fonte: Hsu e Turk, 2010

5.4.1. Interpretação de espectros de massas de triacilglicerídeos

No processo de identificação e caracterização regioespecífica dos triacilglicerídeos presentes em cada amostra de óleo, observou-se que os triacilglicerídeos que caracterizam cada óleo encontram-se presentes de três formas distintas: TAGs formados por um único tipo de ácido graxo (AAA), TAGs formados por dois ácidos graxos iguais e um diferente (AAB/BAA e ABA) e TAGs formados por três tipos de ácidos graxos diferentes (ABC, ACB e BAC). Levando em consideração tais características e para melhor entendimento dos processos de identificação e caracterização, os resultados a serem discutidos foram distribuídos nestes três grupos distintos de triacilglicerídeos.

5.4.1.1. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo AAA

O triacilglicerídeo C18:1 /C18:1 /C18:1-TAG ou simplesmente “OOO”, corresponde a um triacilglicerídeo do tipo AAA pois apresenta em sua composição os mesmos ácidos graxos (três ácidos oleicos). O mesmo foi identificado em todas as amostras de óleos dos frutos analisados e apresentou-se com maior abundância nas polpas e em menor abundância nas amêndoas, assim sendo, o mesmo foi escolhido para representar os demais TAGs do tipo AAA. As propostas de fragmentações de triacilglicerídeos a serem discutidas foram realizadas com base nas propostas de fragmentações descrita por HSU e TURK (2010) sendo então descrita no esquema 2.

No processo de fragmentação por ESI de moléculas de TAGs litiadas, primeiramente são formados em análises por MS adutos de lítio de um determinado triacilglicerídeo neste caso $[OOO + Li]^+$ com m/z 891,72, em posterior análise em MS^2 do aduto de triacilglicerídeo litiado ocorre a perda primária de um substituinte de ácido graxo presente em uma das extremidades (posição sn-1/sn-3) ao qual é favorecida pela deslocalização dos elétrons presentes nas ligações químicas de um desses ácidos graxos com aquele que se encontra na parte central ou posição sn-2 da molécula de TAG. Essa deslocalização eletrônica ocasiona a quebra da ligação entre os átomos e como resultado, o ácido graxo de uma das extremidades é perdido e posteriormente neutralizado com remoção consecutiva de um hidrogênio- α presente no ácido graxo adjacente a ele, formando então um intermediário de diacilglicerídeo contendo anel de cinco membros com m/z 609.

A fragmentação consecutiva em MS^3 de diacilglicerídeos gera íons fragmentos específicos para cada tipo de diacilglicerídeo, para o triacilglicerídeo OOO o diacilglicerídeo litiado $[OO+Li]^+$ correspondente ao mesmo é representado como [OO].

No espectro em MS^3 do íon fragmento m/z 609 ($891 \rightarrow 609$) observa-se a presença do íon fragmento $[OOO+Li-OCO_2H-R'CH=CHCO_2H]^+$ m/z 329 (denominado de fragmento 1) que foi originado através da perda do ácido graxo presente na posição sn-2 ao qual foi eliminado na forma neutra de um composto α , β -insaturado. Esse foi eliminado no momento em que ocorre a abertura do anel de cinco membros pelo deslocamento eletrônico no íon de diacilglicerídeo litiado seguido de posterior remoção de hidrogênio- α para estabilização do mesmo.

O íon fragmento $[OOO+Li-OCO_2H-R''CO_2CH_2CH=CH_2]^+$ m/z 287 denominado de fragmento 2, foi obtido através da perda neutra em MS^3 do ácido graxo presentes nas posições sn-1 e sn-3, segue a mesma rota de fragmentação para obtenção do fragmento 1, porém de forma inversa a esse.

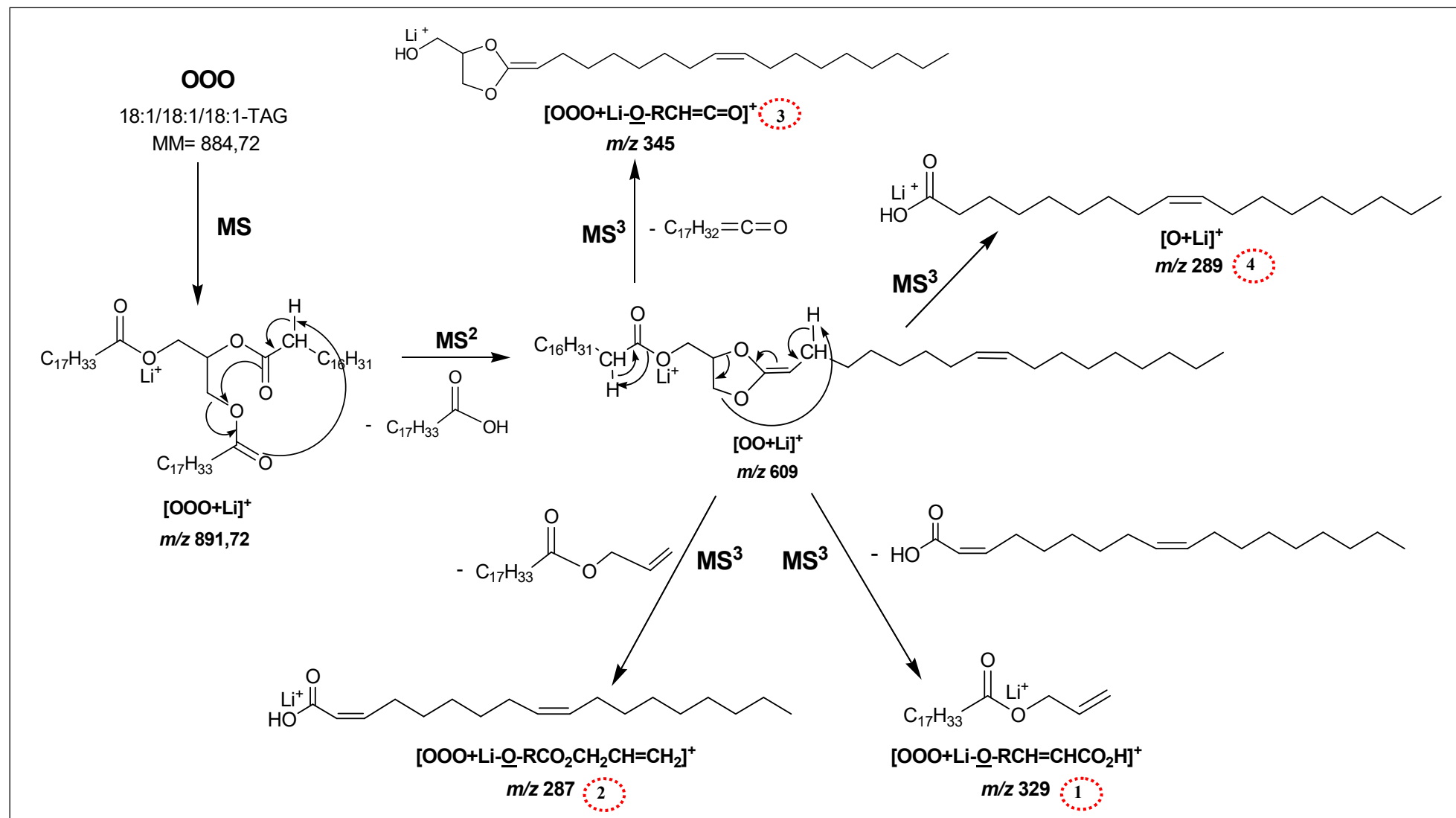
O íon fragmento $[OOO+Li-OCO_2H-R'''CH=C=O]^+$ m/z 345 denominado de fragmento 3, também foi obtido pela perda neutra do ácido graxo presente nas posições sn-1 e sn-3, porém

dessa vez na forma de um ceteno. Nas análises dos espectros de massas em MS³ de todas as amostras de triacilglicerídeos, observou-se que esses tipos de fragmentos (fragmento 1 e 2) apresentaram-se com baixas intensidades e algumas das vezes nem foram observados.

O íon fragmento [RCO₂H+ Li]⁺ m/z 289 (denominado de fragmento 4) é referente ao ácido graxo que compõe a estrutura do diacilglicerídeo litiado, nesse caso ao íon de ácido oleico, presente em OOO.

As fragmentações de adutos de lítio e amônio desses TAGs ocorrem de modos diferentes, porém apresentam um único íon fragmento em espectros de MS² que decorrem da perda neutra do único tipo de ácido graxo que esses apresentam.

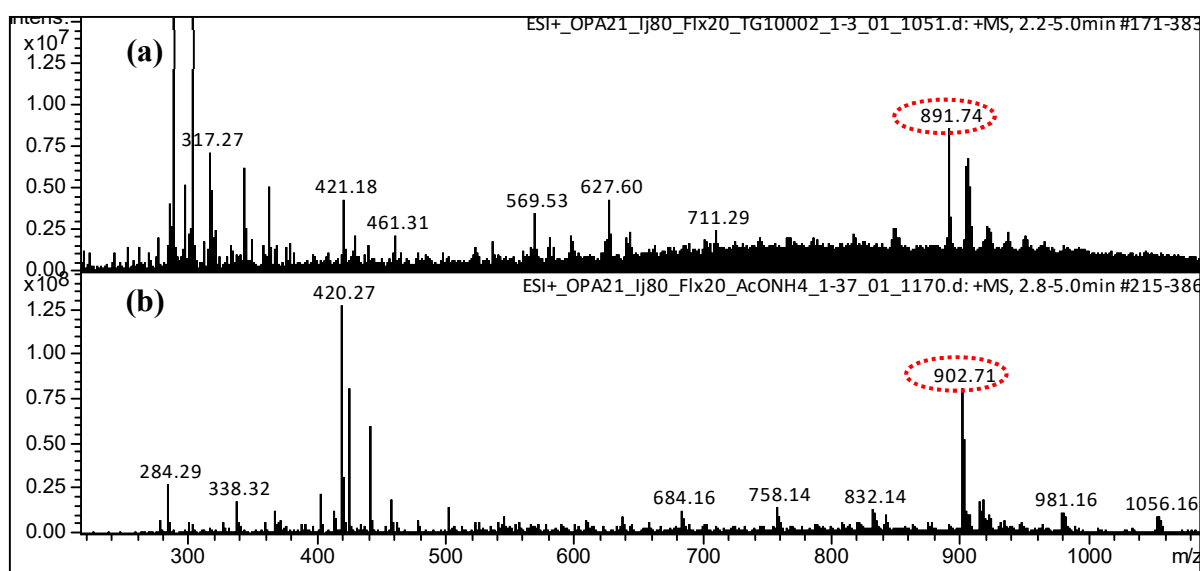
Esquema 2 - Proposta de fragmentação sequenciada de aduto de triacilglicerídeo litiado para 18:1/18:1/18:1- TAG



Fonte: Baseada na proposta mecanística descrita por Hsu & Turk, 2010.

A figura 26 apresenta os espectros de massas em MS obtidos da fração 21 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha utilizando sais de lítio (Figura 21 a) e amônio (figura 21 b), formando íons fragmentos de adutos de lítio $[M+Li]^+$ e aduto de amônio $[M+NH_4]^+$. Os íons fragmentos com m/z 891,74 e 902,71 indicam a provável presença do triacilglicerídeo OOO (884,78 g/mol), no entanto a identidade do mesmo só poderá ser confirmada através da obtenção de espectros em MS^2 dos presentes íons precursores, uma vez que os mesmos podem também corresponder a outros tipos de lipídeos ou triacilglicerídeos isobáricos.

Figura 26 - Espectros de massas em MS da fração 21 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



Nos espectros em MS^2 dos íons precursores m/z 891 $[OOO+Li]^+$ (figuras 27 a) e m/z 902 $[OOO+NH_4]^+$ (figuras 27 b), observa-se a presença de um único íon fragmento com m/z 609 correspondente ao diacilglicerídeo $[OO+Li]^+$ formado pela perda neutra de um dos ácidos oleicos e m/z 603 correspondente ao diacilglicerídeo $[OO+H]^+$ formados pela perda neutra de um dos ácidos oleicos e amônia (NH_3).

A posterior dissociação em MS^3 dos íons de diacilglicerídeo litiados m/z 609 ($891 \rightarrow 609$) (figura 28) leva a formação de íons fragmentos (fragmentos 1-4) que podem descrever as posições regioespecíficas sn-1/sn-2 e sn-3 ocupadas pelos ácidos graxos nas moléculas de TAGs (esquema 2).

Tendo em vista que os triacilglicerídeos do tipo AAA apresentam um único ácido graxo, determinar a posição dos mesmos se torna irrelevante, porém os princípio de fragmentações serão os mesmos para os demais tipos de triacilglicerídeos.

Figura 27 - Espectros de massas do triacilglicerídeo OOO (C18:1/C18:1/C18:1-TAG) identificado na amostra 21 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ m/z 891 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ m/z 902 (b)

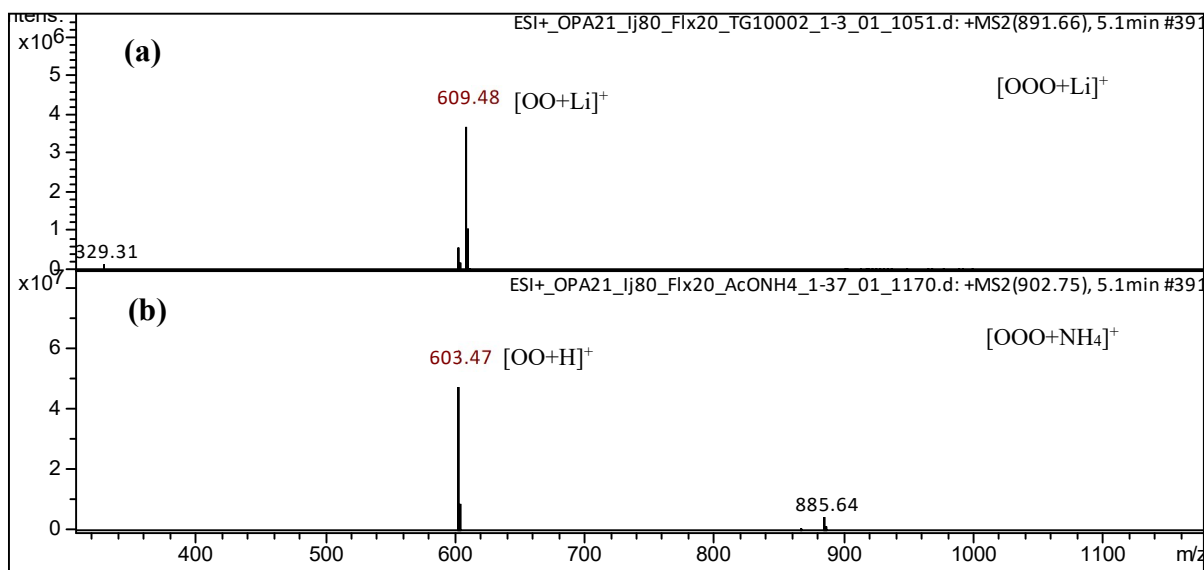
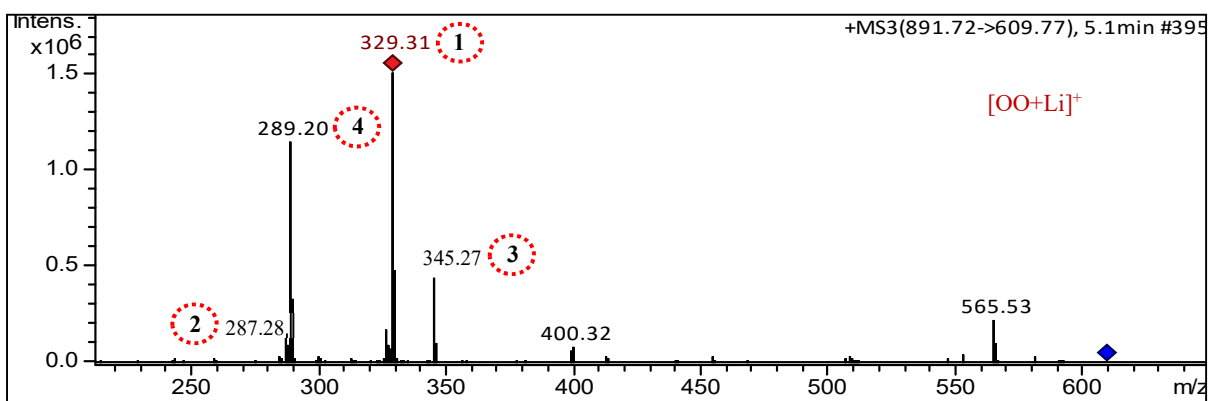


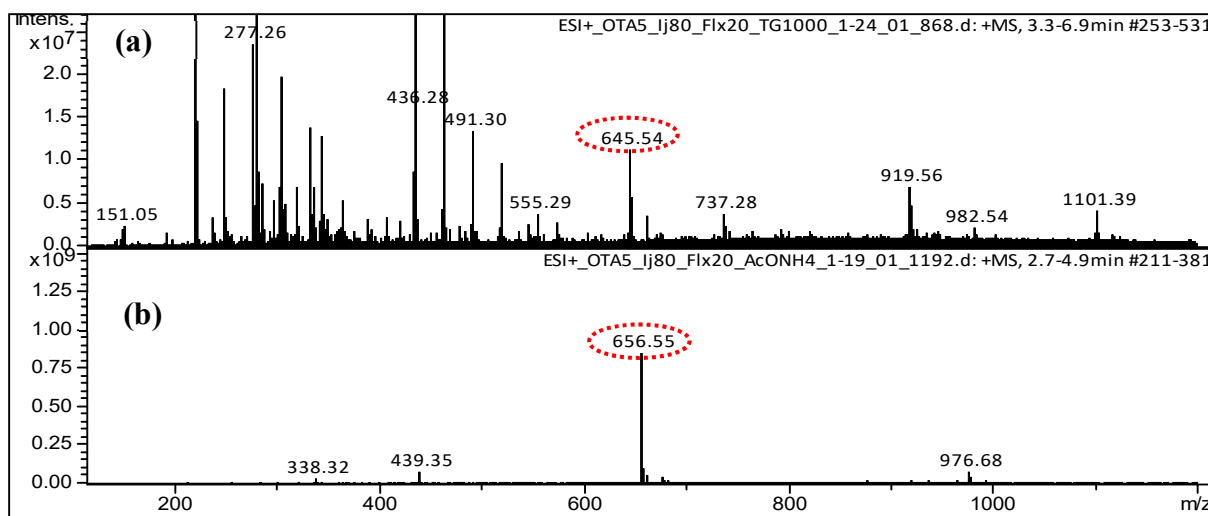
Figura 28 - Espectros de massas em MS³ do íon de diacilglicerídeo m/z 609 (891 → 609) gerado a partir do triacilglicerídeo OOO (C18:1/C18:1/C18:1-TAG)



Assim como ao triacilglicerídeo OOO, os demais triacilglicerídeos formados por um único tipo de ácido graxo (AAA) são identificados de igual forma. Resultados semelhantes foram obtidos nas fragmentações do triacilglicerídeo LaLaLa (C12:0/ C12:0/ C12:0- TAG) identificado na fração 5 do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã.

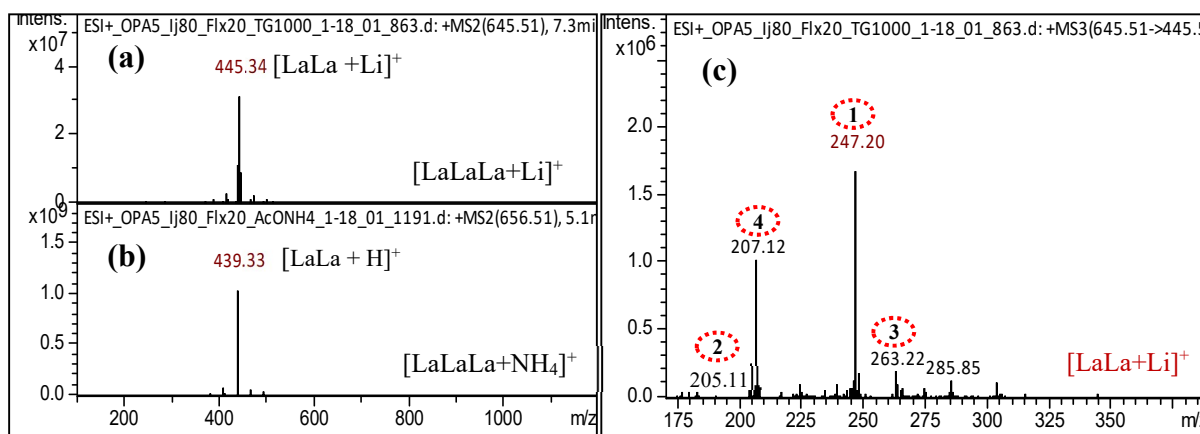
O espectro de MS dessa fração apresenta os íons fragmentos com m/z 645,54 e m/z 656,55 referentes aos adutos de lítio (figura 29 a) e aduto de amônio (figura 29 b), os mesmos indicam a possível presença do triacilglicerídeo LaLaLa, ao qual foi posteriormente confirmado através de análises por MS² dos presentes íons precursores.

Figura 29 - Espectros de massas em MS da fração 5 do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)

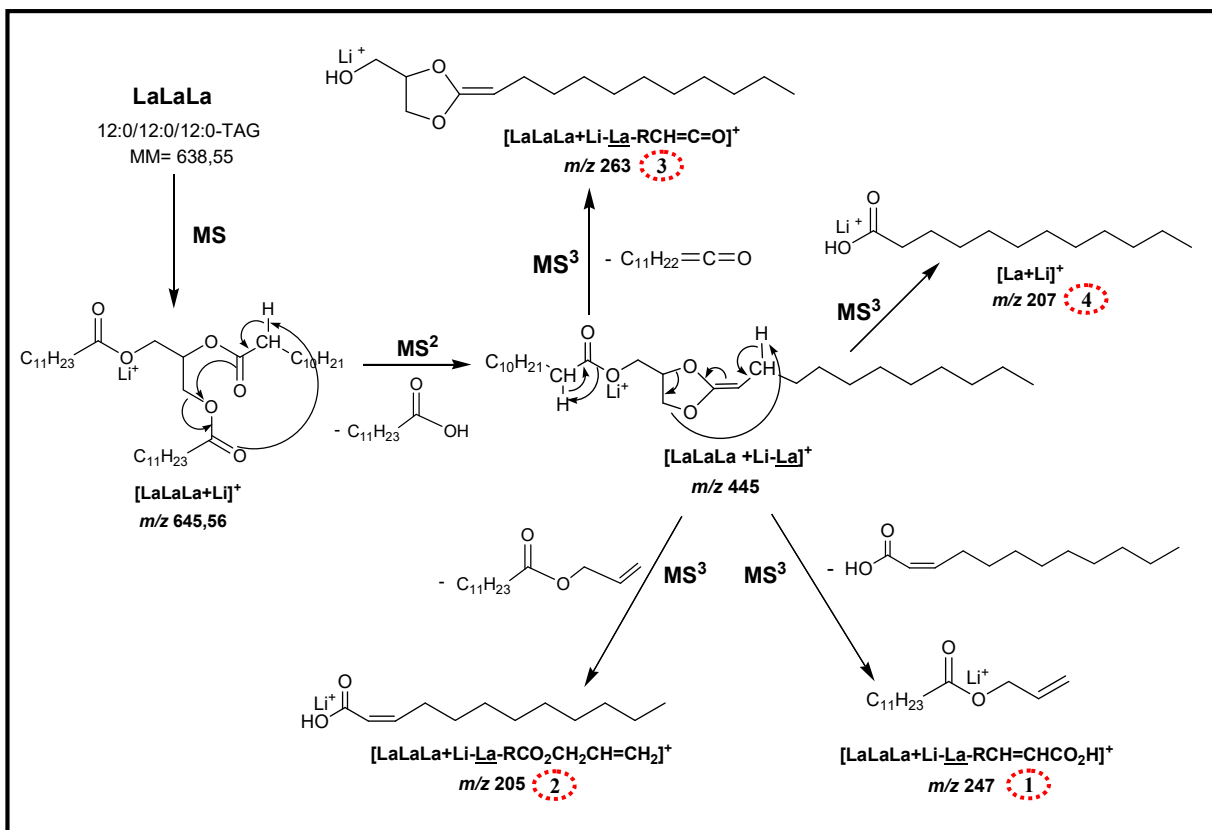


Para esse triacilglicerídeo observou-se na figura 30a e 30b os íons fragmentos de diacilglicerídeo m/z 445 e m/z 439 em MS^2 os quais foram originados pela perda neutra de ácido láurico presente na posição sn-2 e sn-1/sn-3 de $[LaLaLa + Li]^+$ e $[LaLaLa + NH_4]^+$ confirmando o presente triacilglicerídeo. A figura 30c apresenta o espectro de massas em MS^3 do íon fragmento (645 $\rightarrow$ 445) onde observa-se a presença dos íons fragmentos que caracterizam as posições regioespecíficas que os ácidos graxos ocupam na molécula de TAG, principalmente o íon fragmento m/z 247,18 (fragmento 1) que descreve a perda neutra do ácido graxo na posição sn-2, assim como observado no esquema 3.

Figura 30 - Espectros de massas do triacilglicerídeo LaLaLa (C12:0/C12:0/C12:0-TAG) identificado na amostra 5 do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã. Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+Li]^+$ m/z 645 (a). Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+NH_4]^+$ m/z 656 (b). Espectro em MS^3 do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 445,34 (645 $\rightarrow$ 445) (c)



Esquema 3 - Proposta de fragmentação sequenciada de $[\text{LaLaLa}+\text{Li}]^+$ para 12:0/12:0/12:0-TAG



Fonte: Baseada na proposta mecanística descrita por Hsu & Turk, 2010.

Ao analisar-se as características dos fragmentos obtidos por MS^3 (enumerados de 1-4) de cada triacilglicerídeo nas propostas de fragmentações (esquemas 2 e 3), observa-se que esses são fragmentos característicos que se repetem em fragmentações de qualquer tipo de triacilglicerídeo dependendo da cadeia carbônica dos ácidos graxos que os constituem. Tais características nos mostra, que podemos estabelecer um mapa de fragmentações com base nos valores estimados de m/z de prováveis íons fragmentos de qualquer espécie de TAG, quando submetidos à fragmentação por MS^3 , sendo possível definir as posições regioespecíficas dos ácidos graxos constituintes de qualquer tipo de triacilglicerídeo.

Assim sendo, para cada ácido graxo identificado nos óleos em análises de FAMES por CG-DIC e CG-EM, foram tabelados os possíveis valores de m/z que esses poderiam apresentar, quando estivessem nas formas de íons *quasi*-moleculares e íons fragmentos propostos para cada tipo de triacilglicerídeo. Os valores encontrados foram condizentes aos valores publicados por HSU & TURK (2010) BOURHIS et al., (2009) e LIN & ARCINAS (2008) e os resultados obtidos foram posteriormente organizados e descritos na tabela 10.

Tabela 10. Valores de m/z predeterminados para fragmentos em MS³ de ácidos graxos litiados

Ácido graxo	Abrev.	NC:DL	Fórmula	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4)
				$[M+Li-RCO_2H-R'CH=CHCO_2H]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R''CO_2CH_2CH=CH_2]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'''CH=C=O]^+$ m/z	$[RCO_2H+Li]^+$ m/z
Caprílico	C	C 8:0	C ₈ H ₁₆ O ₂	191	149	207	151
Cáprico	Ca	C 10:0	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	219	177	235	179
Laurico	La	C 12:0	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	247	205	263	207
Mirístico	M	C 14:0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	275	233	291	235
Miristoleico	Mo	C 14:1	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	273	231	289	233
Palmitoleico	Po	C 16:1	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	301	259	317	261
Palmitico	P	C 16:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	303	261	319	263
Linolenico	Ln	C 18:3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	325	283	341	285
Linoleico	L	C 18:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	327	285	343	287
Oleico	O	C 18:1 Δ ⁹	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	329	287	345	289
Petroselinico	Pe	C 18:1 Δ ⁶	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	329	287	345	289
Estearico	S	C 18:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	331	289	347	291
Gadoleico	G	C 20:1	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	357	315	373	317
Araquídico	A	C 20:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	359	317	375	319

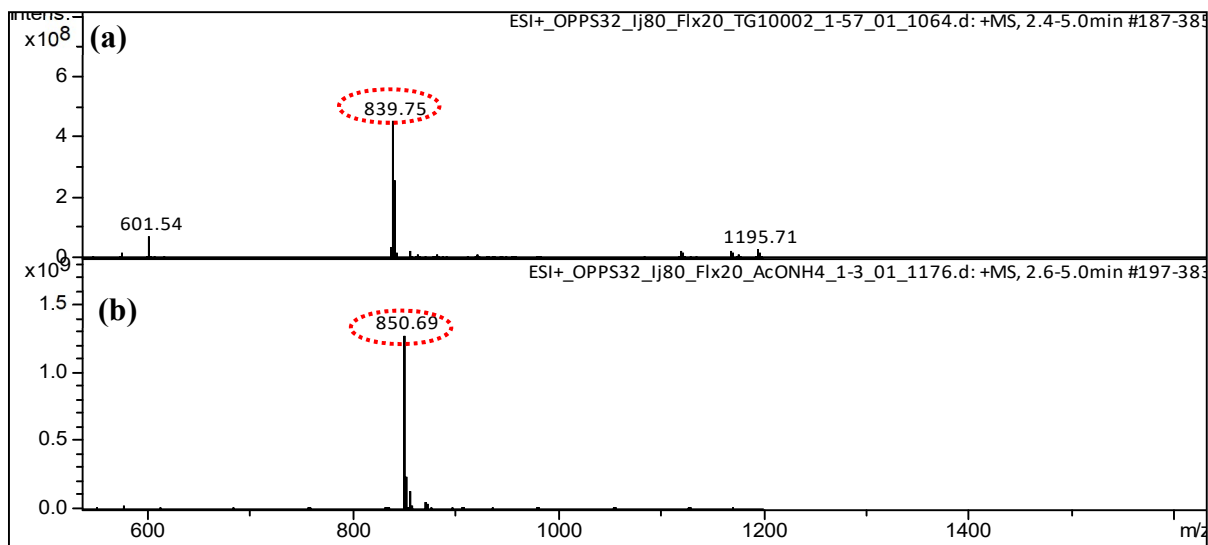
Tendo em vista que os triacilglicerídeos constituídos por dois ou três tipos de ácidos graxos diferentes podem apresentar até seis modelos diferentes de fragmentação, utilizar esses valores de m/z pré-estabelecidos e tabelados para cada tipo de TAG litiado, torna-se uma tarefa mais rápida e fácil no entendimento dos processos de fragmentações e determinação das posições regioespecíficas de ácidos graxos em diferentes espécies de triacilglicerídeos.

5.4.1.2. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo AAB/BAA ou ABA

Os triacilglicerídeos regioisoméricos (C16:0/C16:0/C18:01- TAG) e (C16:0/C18:1/C16:0- TAG) ou simplesmente PPO/OPP e POP são triacilglicerídeos do tipo AAB/BAA ou ABA que foram identificados em todas as amostras de óleos das polpas e amêndoas dos frutos analisados.

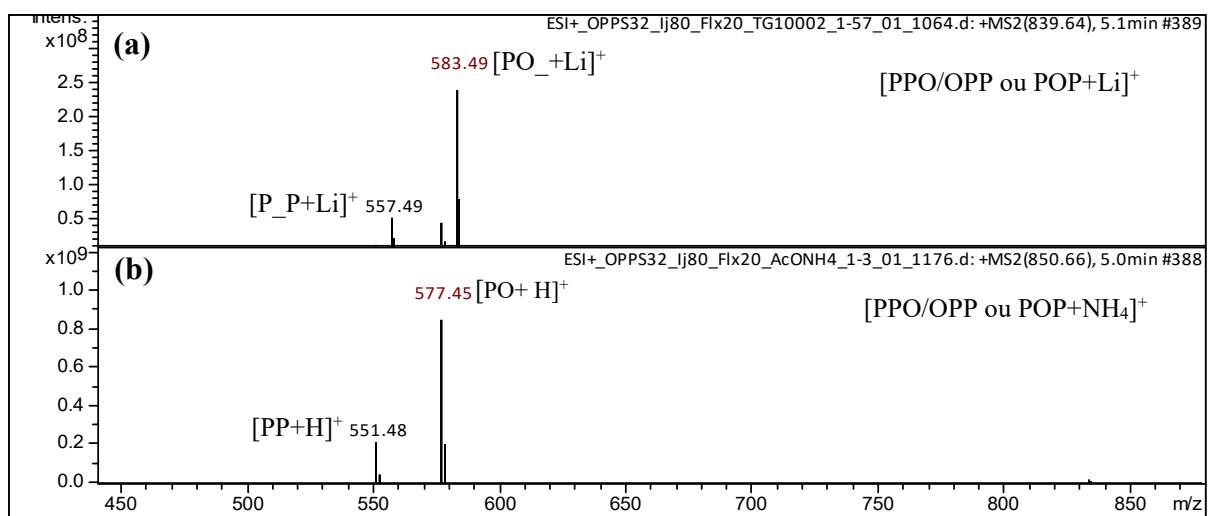
O espectro em MS da fração 32 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha (OPPS) apresenta os íons precursores m/z 839,75 e m/z 850,60 para aduto de lítio (figura 31 a) e aduto de amônio (figura 31b) sendo este compatível para os triacilglicerídeos PPO/OPP ou POP.

Figura 31 - Figura 32. Espectros de massas em MS da fração 32 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



Nos espectros em MS^2 referentes aos íons precursores m/z 839 $[POP+Li]^+$ e m/z 850 $[POP+NH_4]^+$, observa-se a presença dos íons fragmentos m/z 583 e m/z 557 (figura 32 a), m/z 577 e m/z 551 (figura 32 b), os quais são referentes as perdas neutras respectivas de ácido oleico e ácido palmítico. Tais resultados são compatíveis entre si e confirmam que o triacilglicerídeo analisado é composto por esses dois ácidos graxos.

Figura 32 - Espectros de massas de triacilglicerídeo POP (C16:0/C18:1/C16:0-TAG) regioisomérico identificados na amostra 32 do óleo da polpa de pupunha. Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+Li]^+$ m/z 839 (a). Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+NH_4]^+$ m/z 850 (b)



Após a identificação dos ácidos graxos que compõem os TAGs presente na amostra 32 de OPPS, pôde-se através da tabela 10 predeterminar os valores de m/z dos fragmentos a serem obtidos em espectros em MS^3 dos íons moleculares ($639 \rightarrow 583$) e ($639 \rightarrow 557$) de adutos de lítio (figura 33).

Figura 33 - Valores de m/z predeterminados para fragmentos em MS^3 de PPO/OPP e POP

POP OPP	$\xrightarrow{-P}$	m/z 583	—	[	PO	1	2	3	4	4a
						m/z 303	m/z 287	m/z 345	m/z 263	m/z 289
POP OPP	$\xrightarrow{-O}$	m/z 557	—	PP		m/z 303	m/z 261	m/z 319	m/z 263	---
						m/z 329	m/z 261	m/z 319	m/z 289	m/z 263

A figura 33 demonstra que os triacilglicerídeos PPO/OPP e POP podem apresentar três modelos diferentes de fragmentação. O primeiro e o segundo modelo são referentes ao íon fragmento m/z 583 corresponde aos diacilgliceróis PO e OP obtido pela perda neutra de ácido palmítico da posição sn-1/sn-3 dos TAGs POP e OPP conforme a proposta de fragmentação descrita nos esquemas 2 e 3.

O diacilglicerídeo PO_ com m/z 583 contendo o ácido oleico na posição sn-2 irá gerar em MS^3 de adutos de lítio o íon fragmento m/z 303 referentes ao fragmento 1 de ácido palmítico (tabela 10). Esse fragmento corresponde a perda do ácido oleico da posição sn-2 como um composto α , β -insaturado (esquemas 2 e 3), os íons fragmentos m/z 287 e m/z 345 correspondem aos fragmentos 2 e 3 do ácido oleico originados pela perda neutra de ácido palmítico nas posições sn-1/sn-3 e os íons fragmentos m/z 263 e m/z 289 são correspondentes aos fragmentos 4 e 4a que se referem aos ácidos graxos (oleico e palmítico) que o presente diacilglicerídeo apresenta.

O diacilglicerídeo OP_ com m/z 583 formado pela perda neutra de um ácido palmítico na posição sn-1/sn-3 de OPP e contendo outro ácido palmítico na posição sn-2 irá gerar em MS^3 os íons fragmentos m/z 329 referente ao fragmento 1 de ácido oleico pela perda neutra de ácido palmítico da posição sn-2, o qual irá sair na forma neutra de um composto α , β -insaturado, já os m/z 261 e m/z 319 correspondem ao fragmentos 2 e 3 do ácido palmítico (tabela 10) originados pela perda neutra de ácido oleico nas posições sn-1/sn-3, enquanto que os íons fragmentos m/z 289 e m/z 263 correspondentes aos fragmentos 4 e 4a referentes aos ácidos oleico e palmítico. O espectro de massa em MS^3 do íon molecular m/z 583 ($839 \rightarrow 583$) podem apresentar um desses grupos de íons fragmentos de PO_ ou OP_ que irá descrever as posições regioespecíficas do triacilglicerídeo identificado em MS^2 , ou poderá apresentar os dois grupos

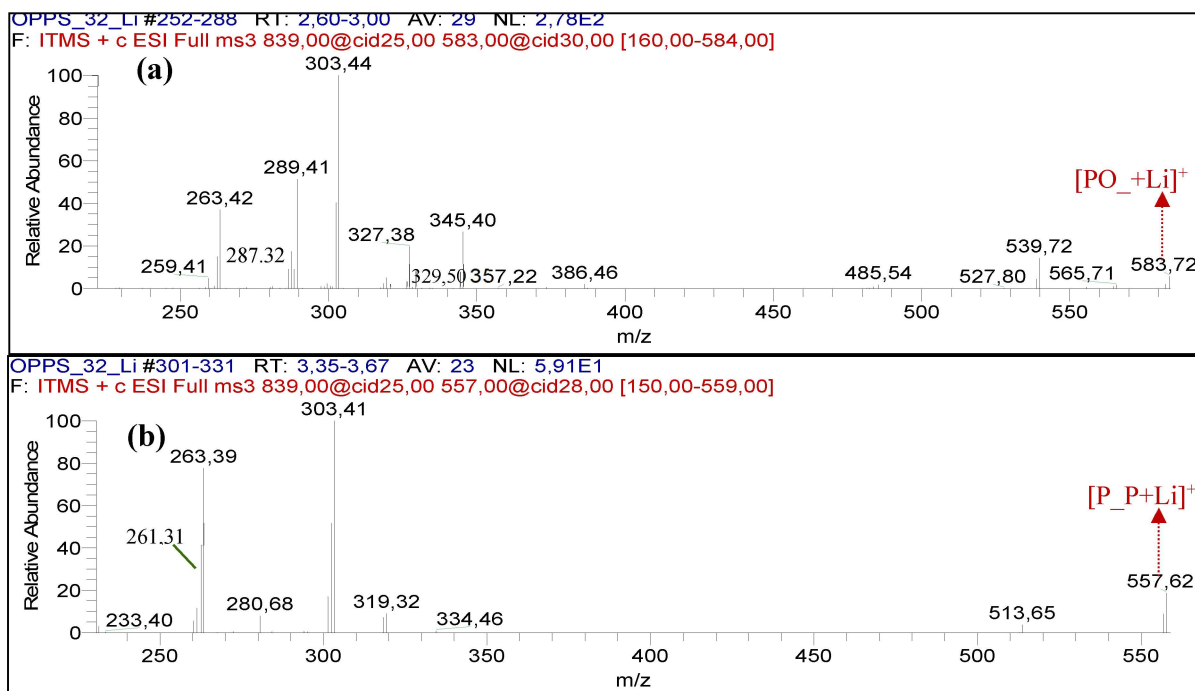
de fragmentos em um único espectro demonstrando que a amostra apresenta uma mistura dos dois regioisômeros de triacilglicerídeo, tal como observado em resultados obtidos por BOURHIS e colaboradores (2009).

O íon fragmento em MS^2 m/z 557 correspondente ao diacilglicerídeo PP_ formado pela perda neutra de ácido oleico da posição sn-1/sn-3 de PPO ou da posição sn-2 de POP. Assim como observado na tabela 10 e figura 33, experimentos em MS^3 geram os íons fragmentos m/z 303, m/z 261, m/z 319 e m/z 263, todos referentes aos fragmentos 1-4 de ácido palmítico, uma vez que esse é o único ácido graxo que compõe o diacilglicerídeo.

A análise do espectro de massas em MS^3 dos íons fragmentos m/z 583 ($839 \rightarrow 583$) (figura 34 a) confirma os íons fragmentos predeterminados, onde se observa a presença dos íons fragmentos m/z 303 (fragmento 1), m/z 287 (fragmento 2), m/z 345 (fragmento 3), m/z 263 (fragmento 4) e m/z 289 (fragmento 4a) para o triacilglicerídeo POP. Os íons fragmentos m/z 329 (fragmento 1), m/z 261 (fragmento 2), m/z 319 (fragmento 3), m/z 289 (fragmento 4) e m/z 289 (fragmento 4a) para o triacilglicerídeo OPP/PPO, identificando então uma mistura de triacilglicerídeos regioisoméricos POP, OPP/PPO na fração 32 do óleo da polpa de pupunha, no entanto a baixa intensidade do íon fragmento m/z 329 referente a OPP/PPO em relação ao m/z 303 de POP, indica que essa amostra apresenta uma maior abundância de triacilglicerídeo POP.

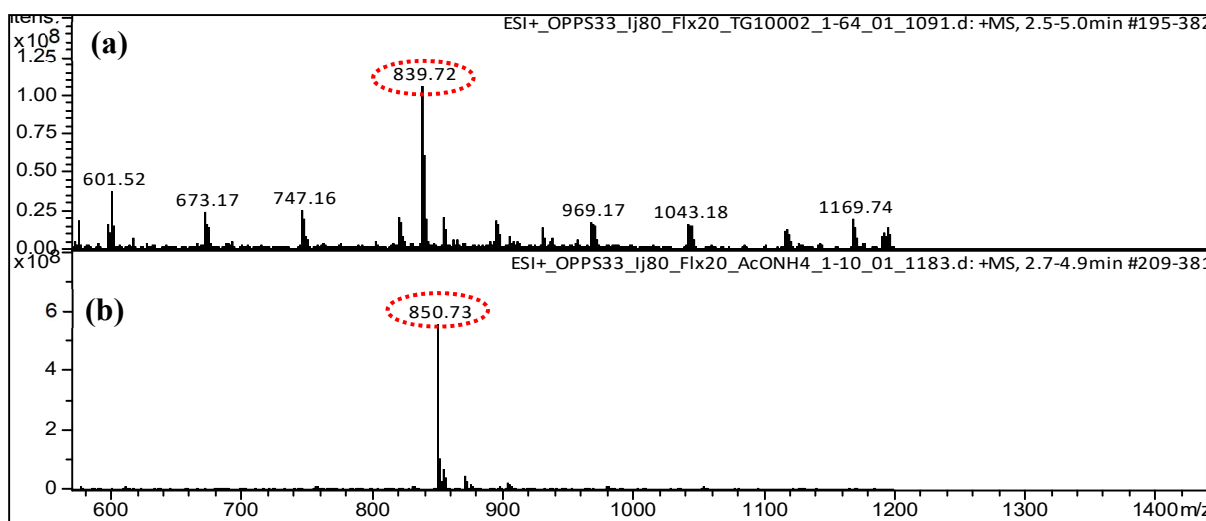
A figura 34b apresenta o espectro de massas em MS^3 do íon fragmento m/z 557 ($839 \rightarrow 557$) de P_P. Tais íons fragmentos obtidos estão de acordo com a figura 33 e demonstram a perda neutra do ácido oleico na posição sn-2 do triacilglicerídeo POP e sn1/sn3 de PPO. Segundo alguns autores a perda neutra de ácido graxo na posição sn-2 é estericamente menos favorecida que a perda neutra de ácidos graxos nas posições sn-1/sn-3 e por consequência leva a formação de íon menos intensos (HSU & TURK, 2010; BOURHIS et al., 2009.; LIN & ARCINAS, 2008), tal como observado nos espectros em MS^2 quando observamos a baixa intensidade dos íons fragmentos de aduto de lítio m/z 557 (figura 32a).

Figura 34 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos POP e OPP/PPO identificados na amostra 32 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha. Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 583 ($839 \rightarrow 583$) (a). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 557 ($839 \rightarrow 557$) (b)



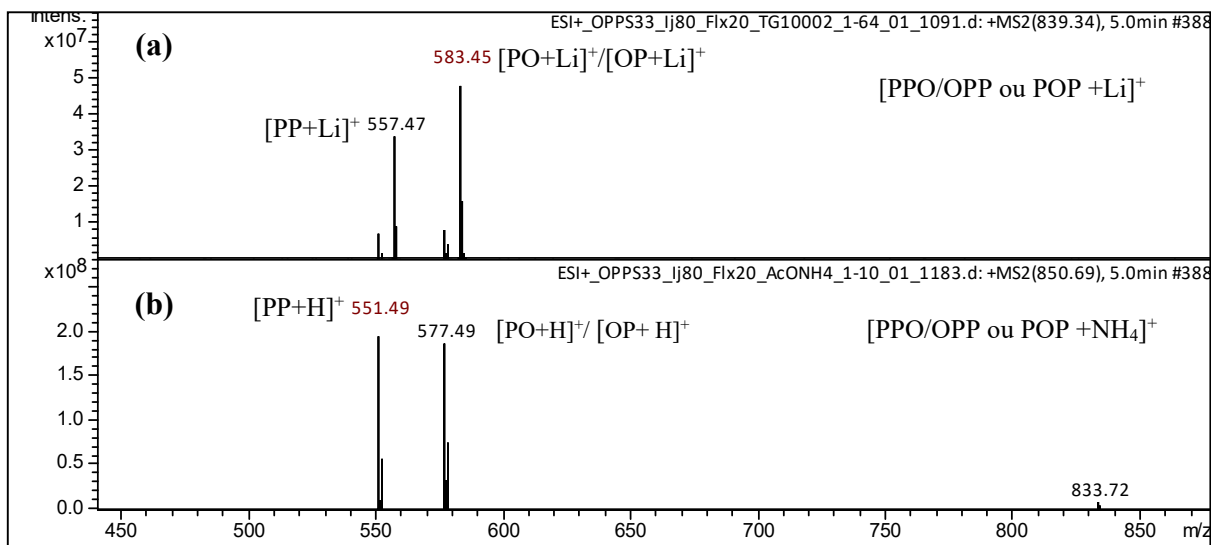
Nos espectros em MS da fração 33 de OPPS (figura 35a e 35b) é possível observar que os mesmos são semelhantes aos espectros em MS² da fração 32 de OPPS (figura 31a e figura 31b) e a presença dos íons precursoros m/z 839,72 para aduto de lítio (figura 35a) e m/z 850,73 para aduto de amônio (figura 35b) indicam também a provável presença dos TAGs POP e PPO/OPP.

Figura 35 - Espectros de massas em MS da fração 33 do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



Os espectros de massas em MS² da amostra 33 de OPPS (figura 36a e figura 36b) apresentam íons fragmentos referentes às perdas neutras de ácido oleico e palmítico de adutos de lítio e amônio, tal como observado nos espectros em MS² da amostra 32 de OPPS (figura 34a e figura 34b).

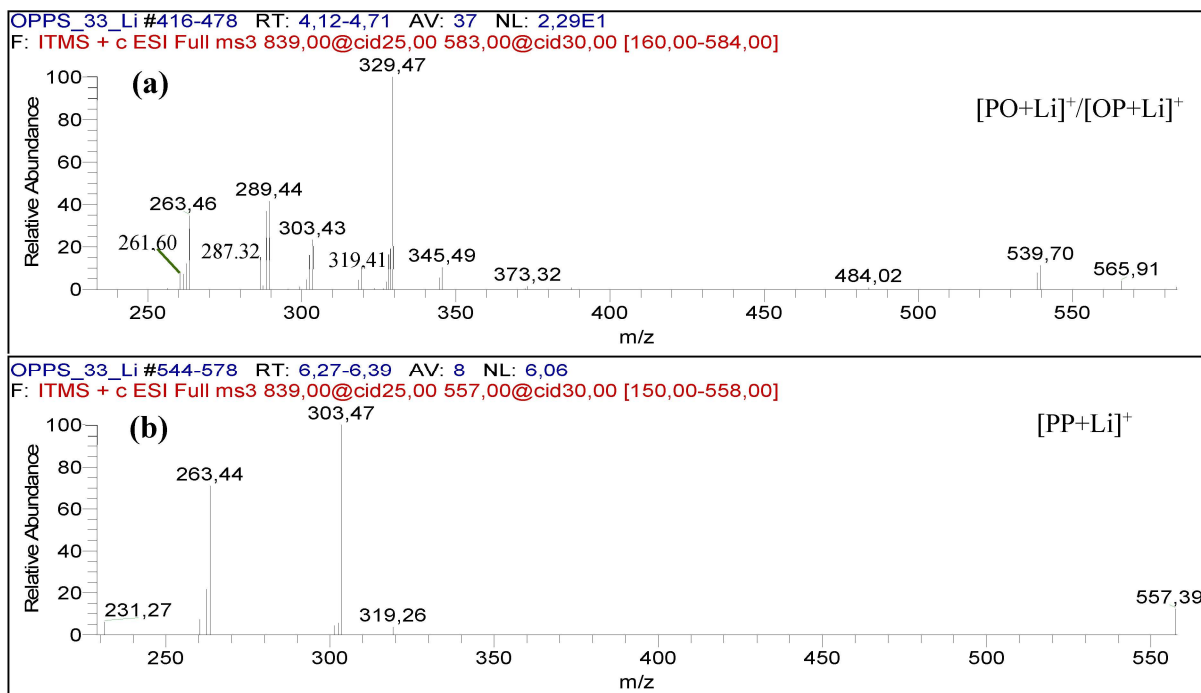
Figura 36 - Espectros de massas em dos triacilglicerídeos POP e PPO/OPP identificados na amostra 33 do óleo da polpa da pupunha. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ *m/z* 839 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ *m/z* 850 (b)



Através da análise do espectro de massas em MS³ para o íon molecular *m/z* 583 (839 → 583) da amostra 33 (figura 37a) observa-se a presença dos íons fragmentos *m/z* 303 e *m/z* 329 que indicam a presença respectivas do ácido oleico e ácido palmítico na posição sn-2 dos TAGs POP e PPO/OPP, estando de acordo com os previstos na figura 33. Nesse espectro de massas, observa-se também a presença dos demais íons fragmentos que caracterizam os presentes TAGs identificados. Ao analisarmos as intensidades dos íons fragmentos do espectro de massas em MS³ de *m/z* 583 (839 → 583) observa-se que o íon fragmento *m/z* 329 é mais intenso que o íon fragmento *m/z* 303 indicando a maior abundância do triacilglicerídeo PPO/OPP nessa amostra.

O espectro de massas em MS³ de *m/z* 557 (839 → 557) (figura 37b), apresenta valores de *m/z* de íons fragmentos semelhantes aos obtidos na amostra 32 de OPPS (figura 34b) sugerindo que a perda do ácido oleico pode ter ocorrido tanto das posições regioespecíficas sn-1/sn-3 de PPO/OPP e sn-2 de POP.

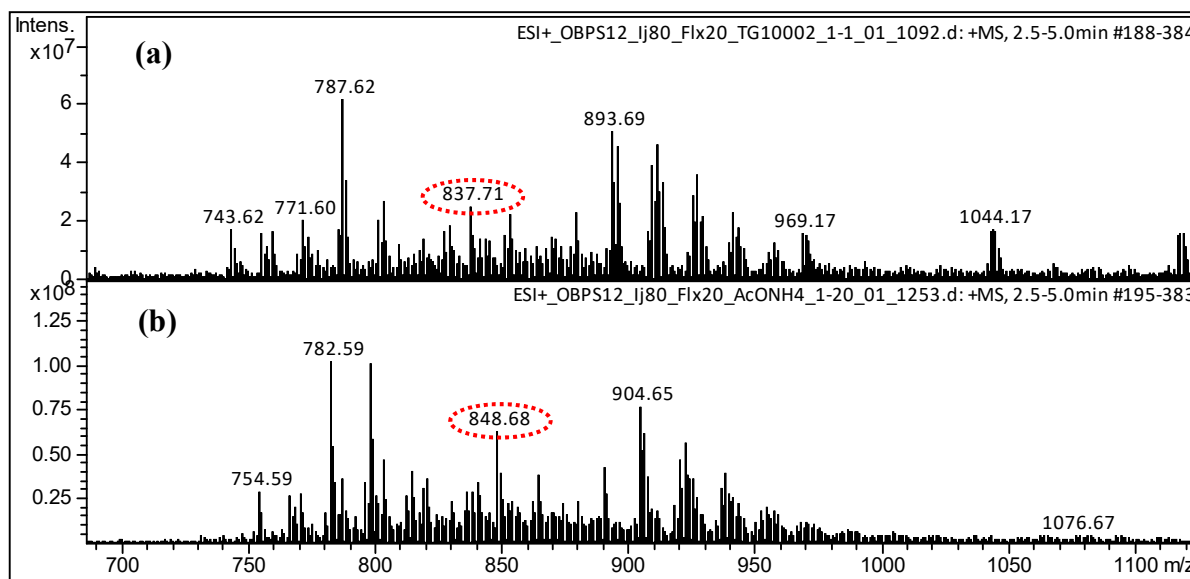
Figura 37 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos POP e PPO/OPP identificados na amostra 33 do óleo da polpa da pupunha. Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 583 ($839 \rightarrow 583$) (a). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 557 ($839 \rightarrow 557$) (b)



Na análise das intensidades dos íons fragmentos m/z 557 e m/z 551 de $[\text{TAG}+\text{Li}]^+$ e $[\text{TAG}+\text{NH}_4]^+$ (figura 36a e 36b) pôde-se comprovar que o triacilglicerídeo PPO/OPP encontra-se em maior abundância nessa amostra, uma vez que a intensidades desses íons fragmentos correspondentes a perda neutra de ácido oleico é maior, quase se igualando ao íon fragmento m/z 583 de $[\text{PO}+\text{Li}]^+$ e ultrapassando o íon fragmento m/z 557 de $[\text{PP}+\text{Li}]^+$. Tais resultados indicam que, assim como o ácido oleico, o ácido palmítico também se encontra presente nas posições sn-1/sn-3, sendo essas posições menos impedidas estericamente, portanto mais suscetíveis a perda e geração de íons mais intensos.

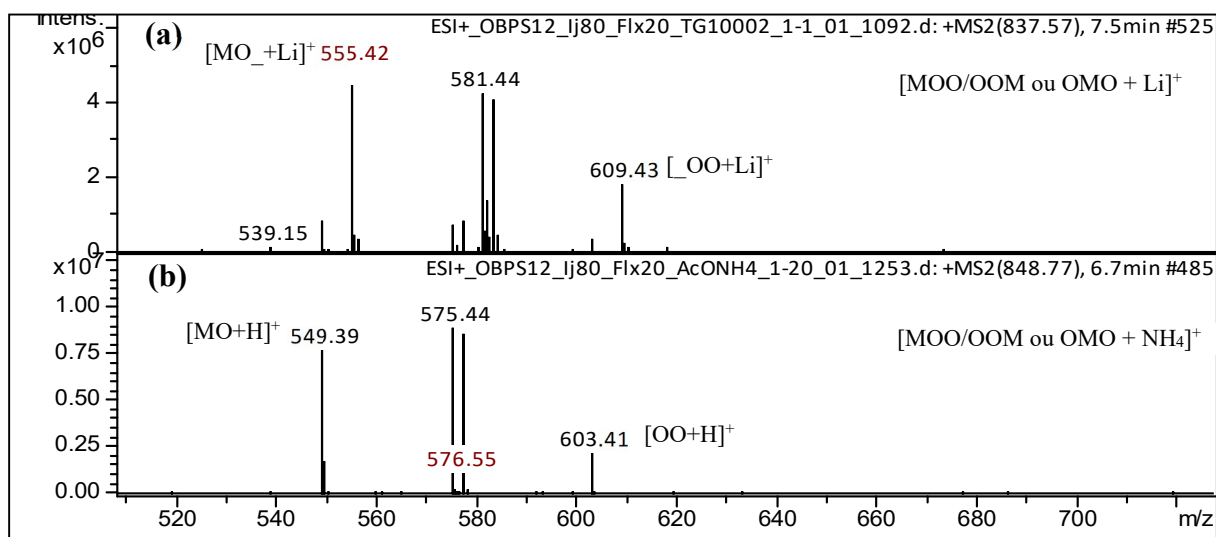
Nas análises por espectrometria de massas de algumas frações obtidas por SPE dos óleos das diferentes partes dos frutos amazônicos observou-se que algumas amostras apresentaram triacilglicerídeos diferentes, porém com a mesma massa molecular, podendo esses dividir os mesmos espectros de massas tanto em MS, MS², quanto em MS³. Por exemplo, a fração 12 de OBPS (óleo da polpa de bacaba) apresentou de forma isolada o triacilglicerídeo MOO e as misturas de triacilglicerídeos regioisoméricos POPo, OPPo e PPoO com as mesmas formas isobáricas (massas moleculares). O espectro de massas em MS (figura 38 a e figura 38b) dessa fração é possível identificar os íons moleculares (m/z 837,71 para aduto de lítio e m/z 848,68 para aduto de amônio) referentes a esses TAGs isobáricos, porém até então somente por MS não é possível identificar a identidade dos mesmos.

Figura 38 - Espectros de massas em MS da fração 12 do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



O triacilglicerídeo MOO/OOM (C14:0/C18:1/C18:1-TAG) também é um TAG do tipo AAB/BAA ou ABA e foi identificado através de análise das fragmentações em MS^2 dos íons precursoros m/z 837 e m/z 848 referentes a adutos de lítio e amônio. Estes apresentaram respectivamente perdas neutras de ácido oleico para formar os íons fragmentos de diacilglicerídeo m/z 555 e m/z 549 e de ácido mirístico para formar os íons fragmentos m/z 609 e m/z 603 (figura 39a e 39b).

Figura 39 - Espectros de massas do triacilglicerídeo MOO (C14:0/C18:1/C18:1-TAG) identificado na amostra 12 do óleo da polpa seca de bacaba. Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+Li]^+$ m/z 837 (a). Espectro em MS^2 do íon de $[TAG+NH_4]^+$ m/z 848 (b)



A caracterização regioespecífica foi realizada conforme discussão do triacilglicerídeo POP com valores de m/z predeterminados para fragmentos em MS³ segundo a tabela 10 e descritos na figura 40.

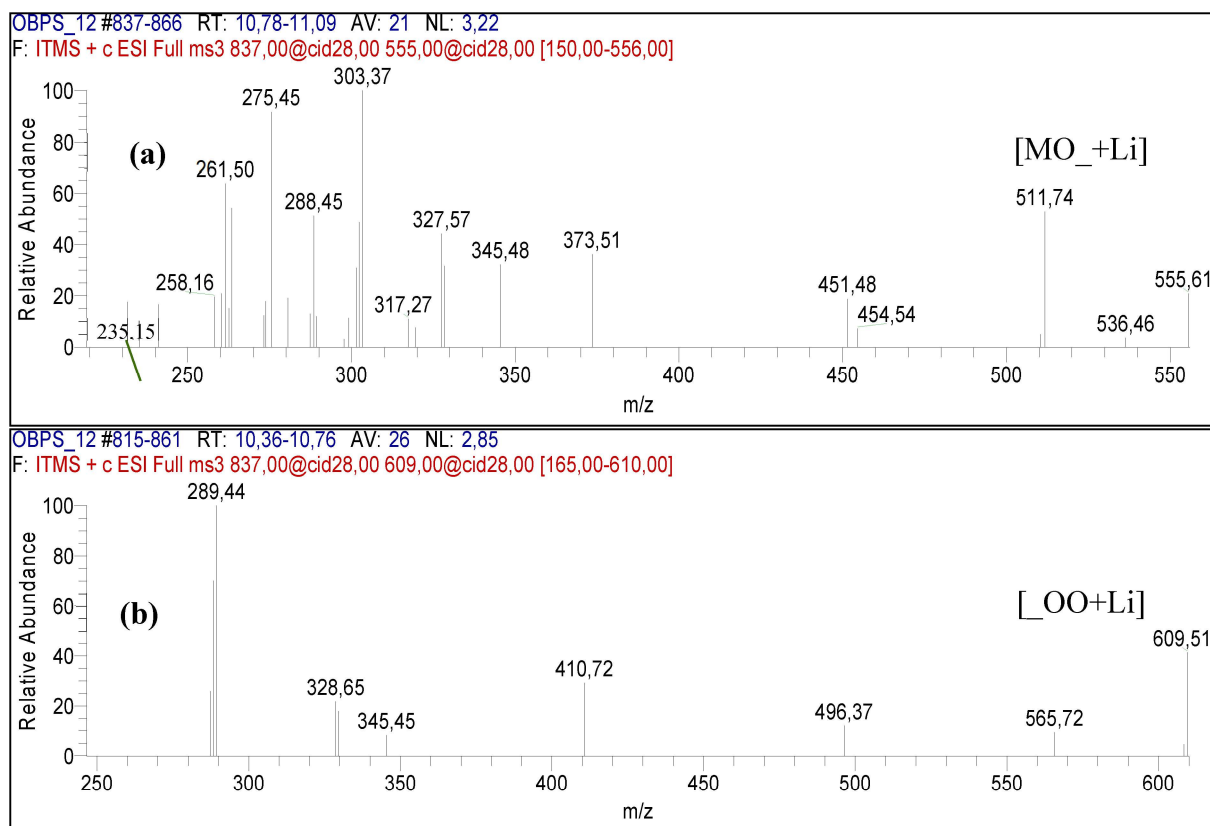
Figura 40 - Valores de m/z predeterminados para fragmentos em MS3 de MOO/OOM

			1	2	3	4	4a
OMO	- O	m/z 555	OM_ m/z 329	m/z 233	m/z 291	m/z 289	m/z 235
MOO			MO_ m/z 275	m/z 287	m/z 345	m/z 235	m/z 289
OOM	M	m/z 609	OO_ m/z 329	m/z 287	m/z 345	m/z 289	---

Ao compararmos os valores de m/z predeterminados para este triacilglicerídeo (figura 40) com os valores de m/z dos íons fragmentos obtidos nos experimentos em MS³ para os diacilgliceróis OM_ e MO_ com m/z 555 (837 → 555) (figura 41a) observa-se a presença do íon fragmento m/z 275 referente ao fragmento 1 de ácido mirístico obtido pela perda neutra de ácido oleico na posição sn-2, bem como os demais valores de m/z referentes aos outros íons fragmentos desse diacilglicerídeo. Desta mesma forma, observou-se a ausência do íon fragmento m/z 329 que indicaria a presença do ácido mirístico na posição sn-2, assim sendo somente o triacilglicerídeo MOO/OOM encontra-se presente na amostra 12 de OBPS.

O espectro de massas MS³ de m/z 609 (837→609) (figura 41b) nos mostra os fragmentos obtidos para o diacilglicerídeo OO originado pela perda neutra de ácido mirístico com valores de m/z compatíveis ao predeterminados na tabela 10 e descritos na figura 40.

Figura 41 - Espectros de massas do triacilglicerídeo MOO/OOM (C14:0/C18:1/C18:1-TAG identificado na amostra 12 do óleo da polpa seca de bacaba. Espectro em MS³ do íon de diacilglicerídeo m/z 555 (837 $\rightarrow$ 555) (a) Espectro em MS³ do íon de diacilglicerídeo m/z 609,000 (837 $\rightarrow$ 555) (b)

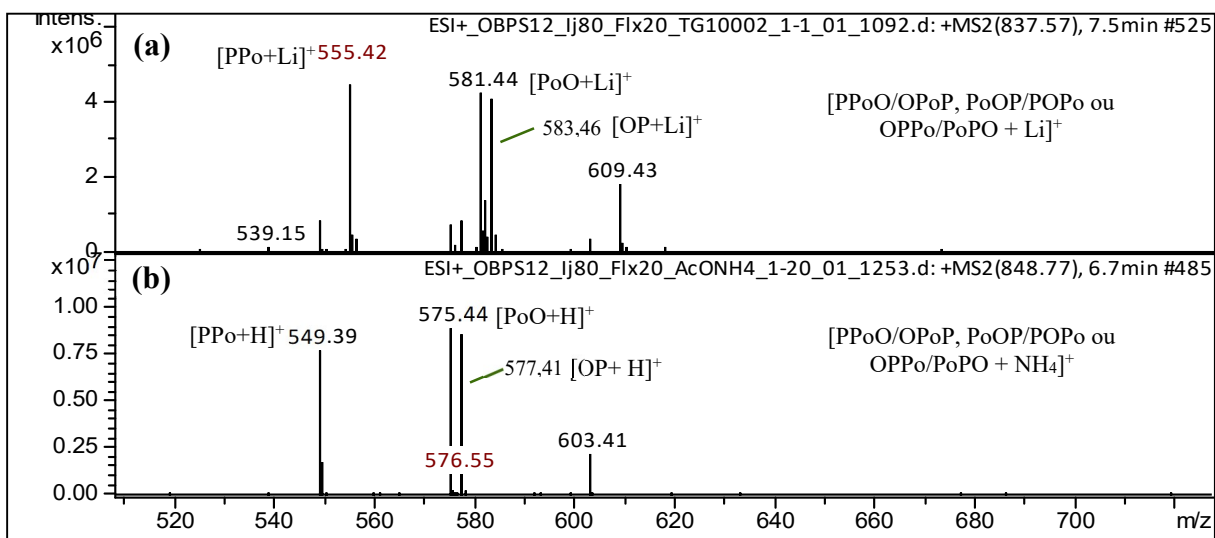


5.4.1.3. Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de TAGs do tipo ABC, ACB ou BAC

Conforme mencionando anteriormente, a fração 12 de OBPS além de apresentar o triacilglicerídeo MOO/OOM apresenta também as misturas de triacilglicerídeos regioisoméricos PPO, POOP e OPPO aos quais possuem a mesma massa molecular estando estes na forma de adutos de lítio (837,57 g/mol) ou amônio (848,77 g/mol) tal como observado nos espectros de massas em MS para esta fração (figura 38a e figura 38b). A presente mistura é constituída por triacilglicerídeos que apresentam três ácidos graxos diferentes, formando espécies de triacilglicerídeos do tipo ABC, ACB e BAC.

Os espectros em MS² (Figura 42a e figura 42b) dos íons precursores m/z 837 para aduto de lítio e m/z 848 para aduto de amônio, nos mostram íons fragmentos de diacilglicerídeo m/z 555 e m/z 549 referentes à diacilglicerídeos PPO/POP originados pela perda neutra de ácido oleico, m/z 581 e m/z 575 referentes a diacilglicerídeos POO/PO originados pela perda neutra de ácido palmítico e m/z 583 e m/z 577 referentes a diacilglicerídeos OP/PO originados pela perda neutra de ácido palmitoleico.

Figura 42 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos PPoO/OPoP, PoOP/POPo e OPPo/POPo identificados na amostra 12 do óleo da polpa de bacaba. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ *m/z* 837 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ *m/z* 848 (b)



Através da figura 43 é possível observar os valores de *m/z* predeterminados segundo a tabela 10 para o grupo de triacilglicerídeos PPoO/OPoP, PoOP/POPo e OPPo/POPo. Esses valores indicam que o presente grupo de triacilglicerídeos pode apresentar seis modelos diferentes de fragmentações, dois para cada tipo de triacilglicerídeo conforme os diacilglicerídeos que esses podem apresentar pela perda neutra de um ácido graxo específico localizado na posição sn-1/sn-3.

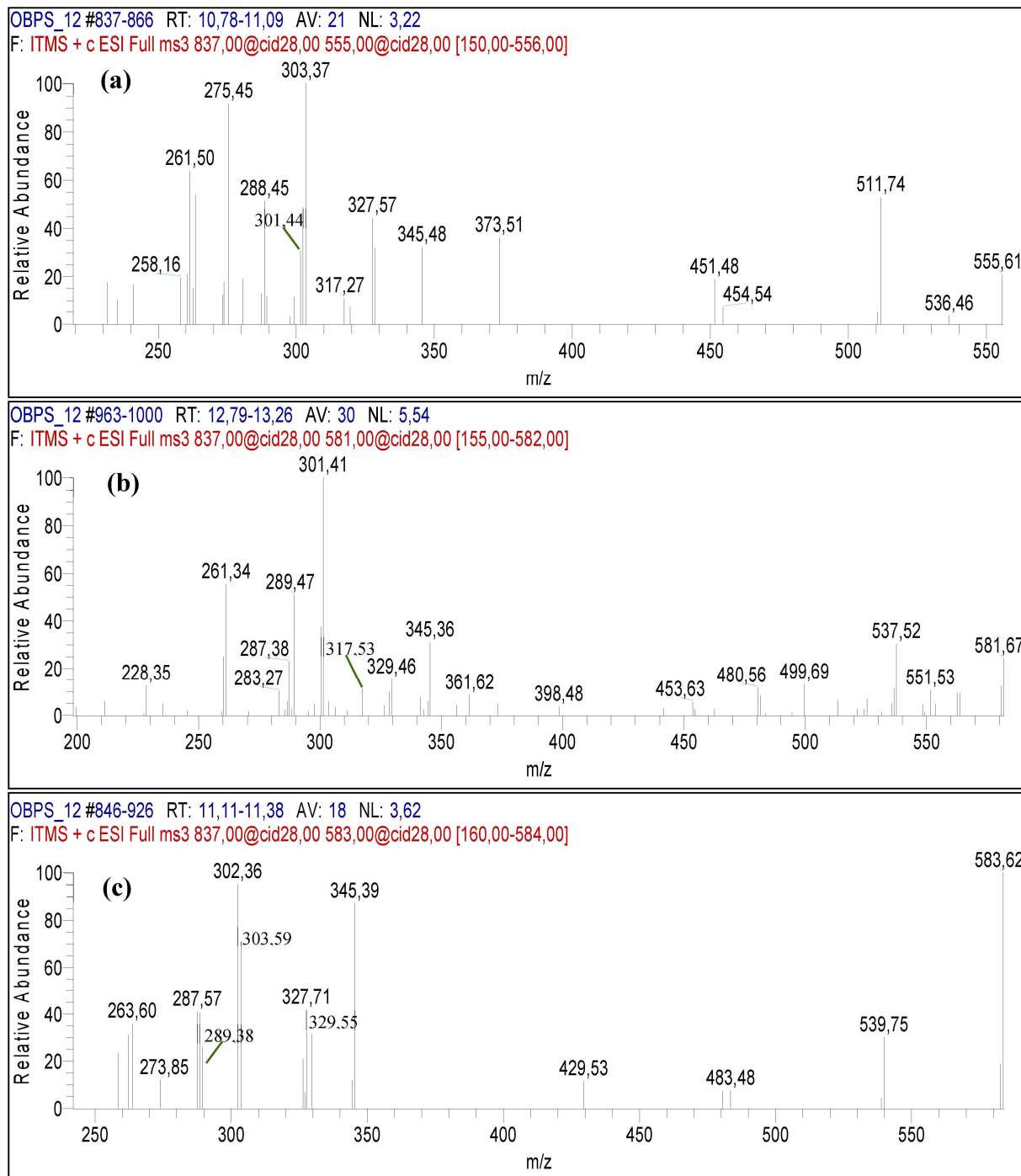
Figura 43 - Valores de *m/z* predeterminados para fragmentos em MS³ de PPoO/OPoP, PoOP/POPo e OPPo/POPo

			1	2	3	4	4a
PPoO	- O	<i>m/z</i> 555	PPo_ <i>m/z</i> 303	<i>m/z</i> 259	<i>m/z</i> 317	<i>m/z</i> 263	<i>m/z</i> 261
POPo			PoP_ <i>m/z</i> 301	<i>m/z</i> 261	<i>m/z</i> 319	<i>m/z</i> 261	<i>m/z</i> 263
PoOP	- P	<i>m/z</i> 581	PoO_ <i>m/z</i> 301	<i>m/z</i> 287	<i>m/z</i> 345	<i>m/z</i> 261	<i>m/z</i> 289
OPoP			OPo_ <i>m/z</i> 329	<i>m/z</i> 259	<i>m/z</i> 317	<i>m/z</i> 289	<i>m/z</i> 261
OPPpo	- Pc	<i>m/z</i> 583	OP_ <i>m/z</i> 329	<i>m/z</i> 261	<i>m/z</i> 319	<i>m/z</i> 289	<i>m/z</i> 263
POPpo			PO_ <i>m/z</i> 303	<i>m/z</i> 287	<i>m/z</i> 345	<i>m/z</i> 263	<i>m/z</i> 289

Ao analisarmos os espectros de massas em MS³ (837→555) (Figura 44a) referente aos diacilglicerídeos PPO e POP originados perda neutra de ácido oleico de PPOO ou POPO, (837→581) (Figura 44b) referente aos diacilglicerídeos POO e OPO obtidos perda neutra de ácido palmítico de POOP ou OPoP e (837→583) (Figura 44c) referente aos diacilglicerídeos OP e PO obtidos pela perda neutra de ácido palmitoleico de OPPo ou POPo, observa-se que esses apresentam todos os valores de *m/z* predeterminados para esse grupo com exceção dos íons fragmentos *m/z* 259 (fragmento 2) de PPO₋ (837→555) e os íons fragmentos *m/z* 261 (fragmento 2) e *m/z* 319 (fragmento 3) de OP₋ (837→583) que não foram detectados, porém todos os íons fragmentos denominados de fragmento 1 (fragmentos que determinam qual ácido graxo ocupa a posição sn-2 de um determinado TAG) foram detectados em todos os espectros de massas em MS³, indicando que a amostra 12 de OBPS também apresenta essa mistura de triacilglicerídeos regioisoméricos.

Esse grupo de triacilglicerídeos PPOO, POOP e OPPo também foi identificado na amostra 26 de OPPS (óleo da polpa seca de pupunha) com tempo de retenção aproximado. Na amostra 15 de OTPS (óleo da polpa seca de tucumã) foi possível determinar por MS² íons fragmentos de POPo, PPOO ou OPPo, no entanto não foi possível determinar a caracterização regioespecífica do mesmo e/ou determinar se esse encontra-se em mistura ou não com seus respectivos regioisômeros, pois não conseguiu-se obter fragmentações em MS³ para essa amostra.

Figura 44 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos PPoO, PoOP e OPPo identificados na amostra 12 do óleo da polpa de bacaba. Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 555 (837 $\rightarrow$ 555) (a). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 581 (837 $\rightarrow$ 581) (b). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 583 (837 $\rightarrow$ 583) (c)

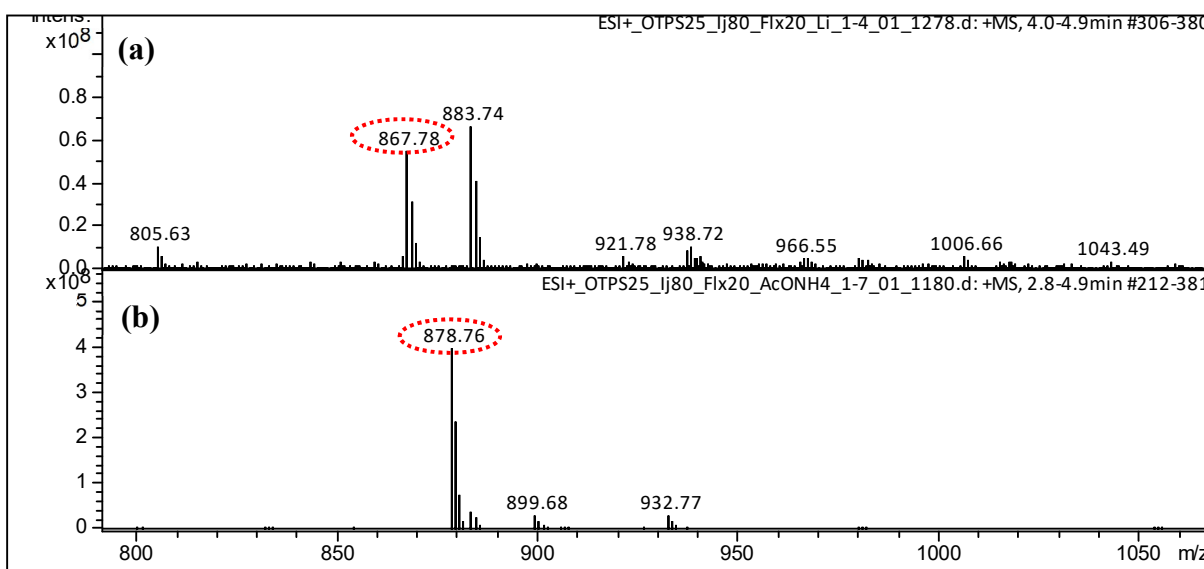


Os triacilglicerídeos regioisoméricos OSP/PSO (C18:1/C18:0/C16:0-TAG), SOP/POS (C18:0/C18:1/C16:0-TAG) e SPO/OPS (C18:0/C16:0/C18:1-TAG), também são triacilglicerídeos do tipo ABC, ACB e BAC, e foram identificados em misturas na fração 20 de OBPS (óleo da polpa de bacaba), fração 35 de OPPS (óleo da polpa de pupunha), e frações

25 e 26 de OTPS (óleo da polpa de tucumã), porém nas amêndoas foram identificados somente na amêndoa do fruto de tucumã na forma de OSP.

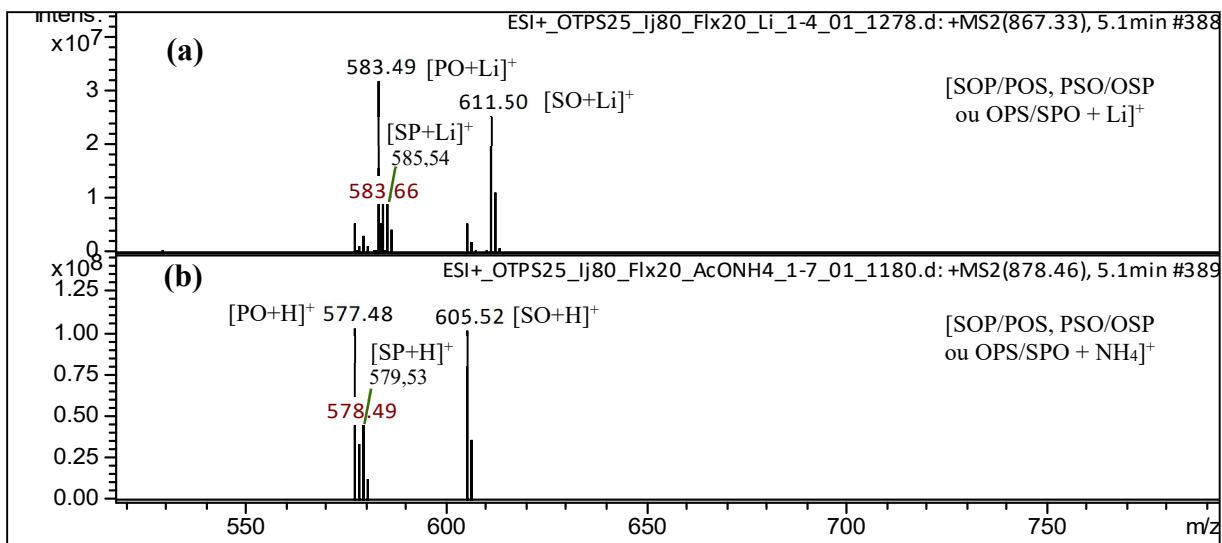
Os espectros de massas em MS da fração 25 do óleo da polpa seca dos frutos de tucumã (figura 45a e figura 45b) apresentam os íons moleculares m/z 867,78 para aduto de lítio e m/z 878,76 para aduto de amônio os quais indicam a provável presença dos triacilglicerídeos OSP/PSO, SOP/POS e SPO/OPS nesta amostra.

Figura 45 - Espectros de massas em MS da fração 12 do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



A figura 46a e 46b, apresenta os espectros de massas em MS^2 da fração 25 de OTPS onde se observa que os íons fragmentos m/z 583 e m/z 577 são referentes às perdas neutras de ácido esteárico dos adutos de lítio e amônio respectivamente, os íons fragmentos m/z 585 e m/z 579,53 são referentes às perdas neutras de ácido oleico e os íons fragmentos m/z 611,50 e m/z 605,52 são referentes às perdas neutras de ácido palmítico, os quais confirmam a composição em ácido graxo do triacilglicerídeo identificado.

Figura 46 - Espectros de massas do triacilglicerídeo SOP identificado na amostra 25 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ *m/z* 867 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ *m/z* 878 (b)



Após a identificação do triacilglicerídeo presente na fração 25 de OTPS pelas perdas em MS² de seus respectivos ácidos graxo, predeterminou-se de acordo com a tabela 10, os possíveis íons fragmentos a serem obtidos em espectros em MS³ dessa amostra para posterior caracterização regioespecífica do mesmo. Tais valores de *m/z* dos possíveis fragmentos foram organizados e descritos na figura 47.

Figura 47 - Valores de *m/z* predeterminados para fragmentos em MS³ de SOP/POS, PSO/OSP e OPS/SPO

			1	2	3	4	4a	
SOP OSP	- P	m/z 611	SO_-	m/z 331	m/z 287	m/z 345	m/z 291	m/z 289
			OS_-	m/z 329	m/z 289	m/z 347	m/z 289	m/z 291
PSO SPO	- O	m/z 585	PS_-	m/z 303	m/z 289	m/z 347	m/z 263	m/z 291
			SP_-	m/z 331	m/z 261	m/z 319	m/z 291	m/z 263
OPS POS	- S	m/z 583	OP_-	m/z 329	m/z 261	m/z 319	m/z 289	m/z 263
			PO_-	m/z 303	m/z 287	m/z 345	m/z 263	m/z 289

Ao compararmos os valores de *m/z* predeterminados com os obtidos nos espectros nos experimentos de fragmentação em MS³ para essa amostra, observou-se que o espectro de massas do íon *m/z* 611 (867 → 611) (figura 48a) apresenta todos os íons fragmentos predeterminados para os triacilglicerídeos SOP e OSP demonstrando estarem em mistura nessa amostra, no entanto ao serem analisadas as intensidades dos mesmos observa-se a presença do

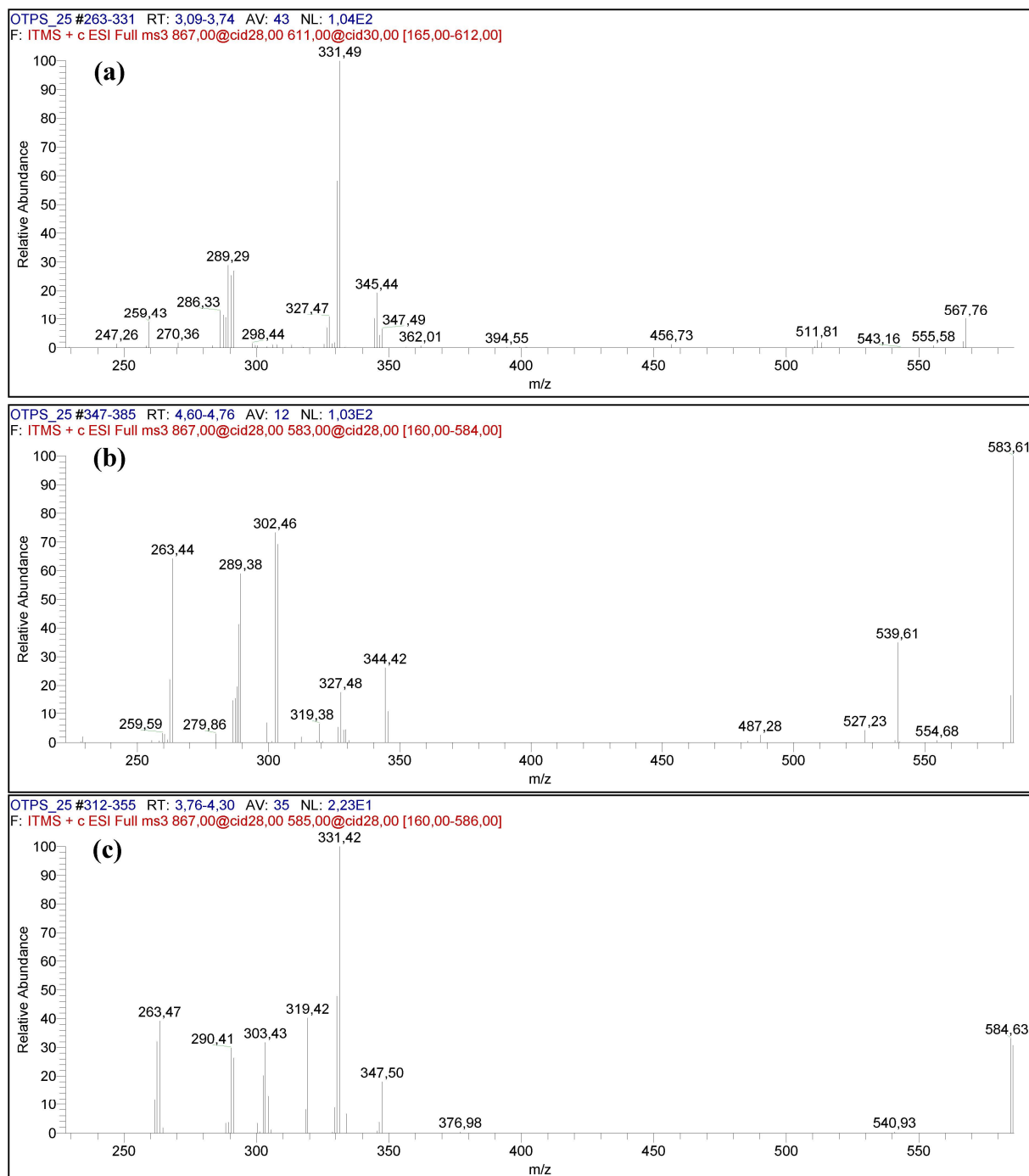
íon fragmento m/z 331 que corresponde a perda neutra de ácido oleico na posição sn-2 (fragmento 1) em maior intensidade quando comparado ao íon fragmento m/z 329 para o diacilglicerídeo OS_ com perda neutra de ácido esteárico na posição sn-2, sugeriu então uma maior abundância do triacilglicerídeo SOP nessa amostra.

O espectro de massas de m/z 583 em MS^3 ($867 \rightarrow 583$) (figura 48b) também apresenta todos os íons fragmentos referentes ao diacilglicerídeo OP_ o qual apresenta o ácido palmítico na posição sn-2 e PO_ com ácido oleico na posição sn-2. Nesse observa-se uma maior intensidade do íon fragmento m/z 303 de PO_, em relação ao íon fragmento m/z 329 de OP_, sugerindo também uma maior abundância do triacilglicerídeo POS na presente amostra sendo este análogo ao triacilglicerídeo SOP de ($867,00 \rightarrow 611,00$).

O espectro de massas em MS^3 do íon m/z 585 ($867 \rightarrow 585$) (figura 48c) apresenta os íons fragmentos de diacilglicerídeos PS e SP que são obtidos, através da perda neutra de ácido oleico das posições sn-2 de SOP/POS e sn-1/sn-3 de OPS/SPO e PSO/OSP.

A maior abundância de triacilglicerídeo SOP/POS foi sugerida pela baixa intensidade dos íons fragmentos m/z 585 e m/z 579 observado no espectro em MS^2 de adutos de lítio e amônio (figura 46a e figura 46b), demonstrando então a predominância de triacilglicerídeo SOP/POS, uma vez que a perda de ácido graxo na posição sn-2 é menos favorecida.

Figura 48 - Espectros de massas do triacilglicerídeo SOP/POS identificado na amostra 25 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 611 (867 → 611) (a) Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 583 (867 → 583) (b) Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 585 (867 → 585) (c)



Dessa mesma forma, identificou-se também a mistura de triacilglicerídeos regioisoméricos SOP/POS, OSP/PSO e SPO/OPS na amostra 26 de OTPS. Uma vez que essas apresentaram espectros de massas em experimentos de MS³ contendo todos os íons fragmentos com m/z predeterminados (figura 47) para todos os íons de diacilglicerídeos previstos, a partir da fragmentação dos presentes triacilglicerídeos.

Ao analisarmos nos espectros de massas em MS² (figura 49a e figura 49b) a intensidade dos íons fragmentos m/z 585 e m/z 579 que são referentes às perdas neutras de ácido oleico em adutos de lítio e amônio, observa-se que esses se encontram em maior intensidade que os demais, e bem mais intenso aos obtidos nos espectros de massas em MS² da amostra 25 de OTPS.

As altas intensidades desses íons fragmentos assim como a alta intensidade dos íons fragmentos m/z 329 observado nos experimentos em MS³ de 867 → 611 (figura 50a) e a alta intensidade de m/z 329 nos experimentos em MS³ espectro em 867 → 583 (figura 50c) indicam que nessa amostra há uma maior predominância de triacilglicerídeos OPS/SPO e PSO/OSP, contendo ácido oleico na posição sn-1/sn-3, do que o triacilglicerídeo SOP/POS contendo ácido oleico na posição sn-2.

Figura 49 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos SOP/POS, PSO/OSP e OPS/SPO identificados na amostra 26 do óleo da polpa de tucumã. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ m/z 867 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ m/z 878 (b)

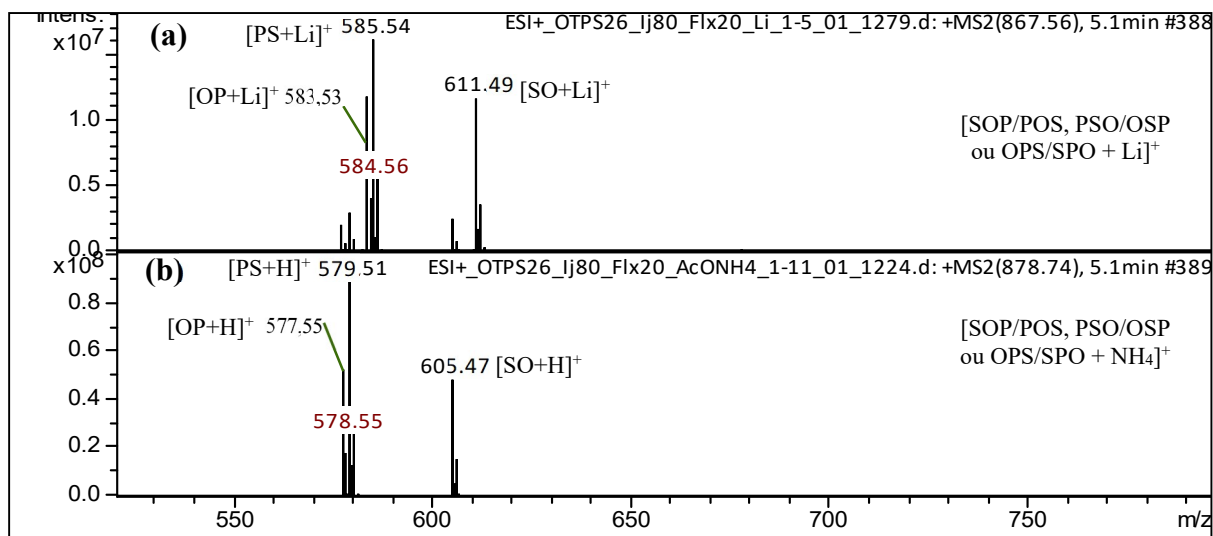
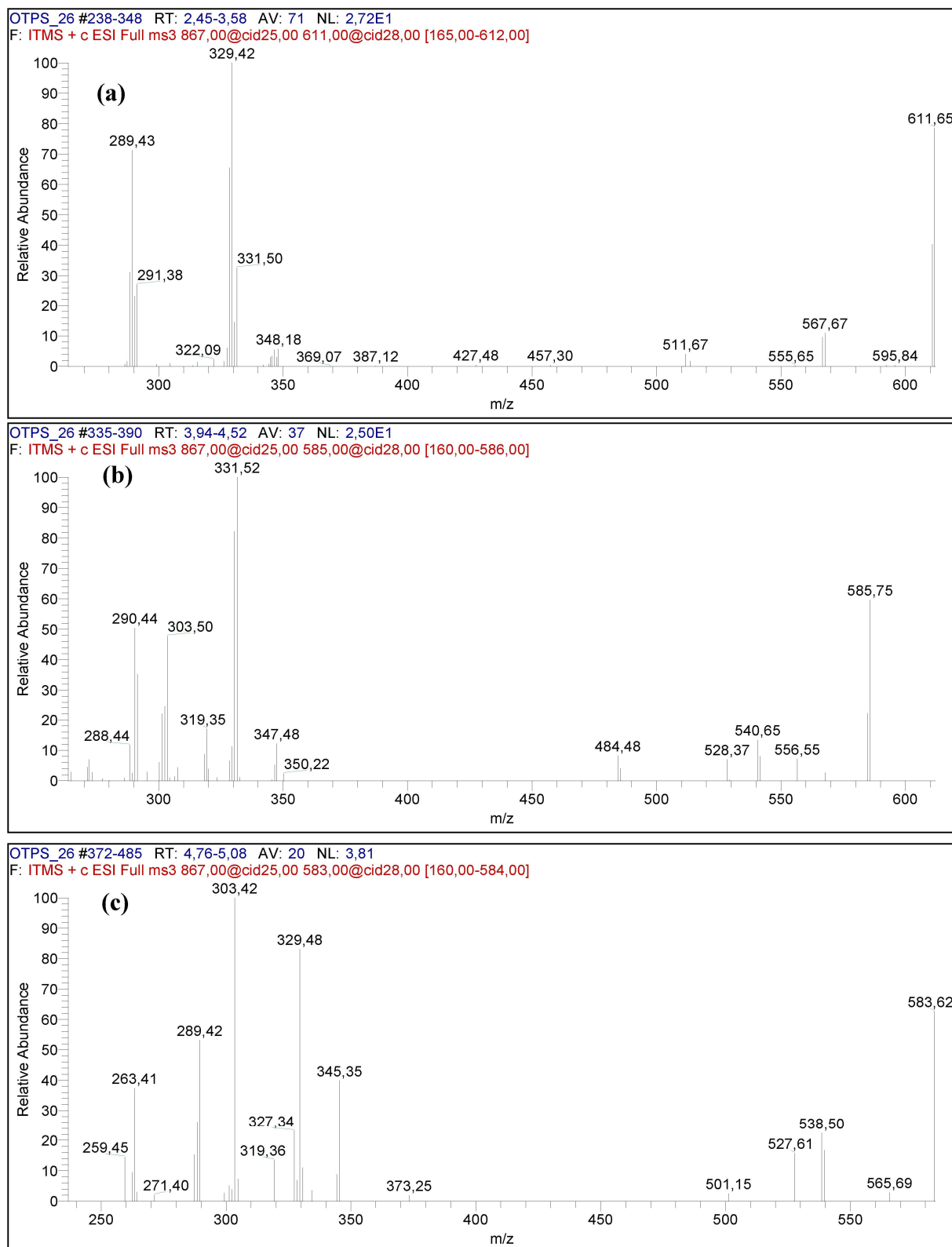


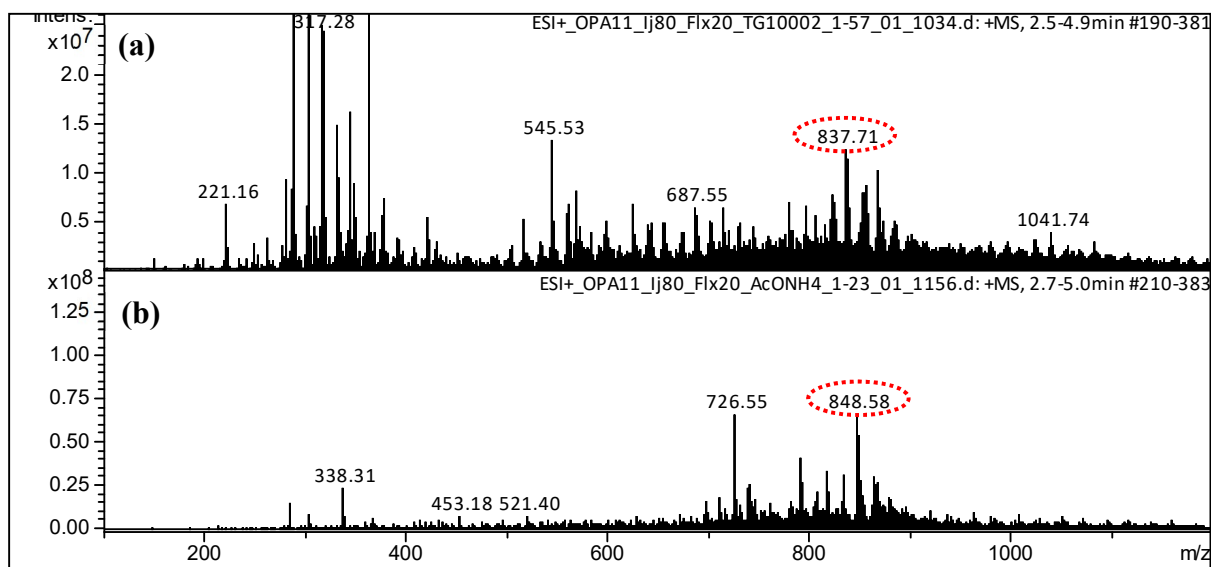
Figura 50 - Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 611 (867 → 611) (a). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 585 (867 → 585) (b). Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 583 (867 → 583) (c)



Os triacilglicerídeos OGLa/LaGO, GOLa/LaOG e GLaO/OLaG, também do tipo ABC, ACB ou BAC, e contendo ácido gadoleico (ácido graxo insaturado de cadeia longa da série ω -11) foram identificados por espectrometria de massas em quantidade razoável cerca de 11% em mistura regioisomérica e de forma isolada dos demais triacilglicerídeos nas amostras 11 de OPA (óleo da amêndoa dos frutos de pupunha) e 10 de OTA (óleo da amêndoa dos frutos de tucumã) no entanto esse ácido graxo não foi identificado em nenhuma dessas amostras quando analisados pela análise por FAME com análise por CG-DIC e CG-EM.

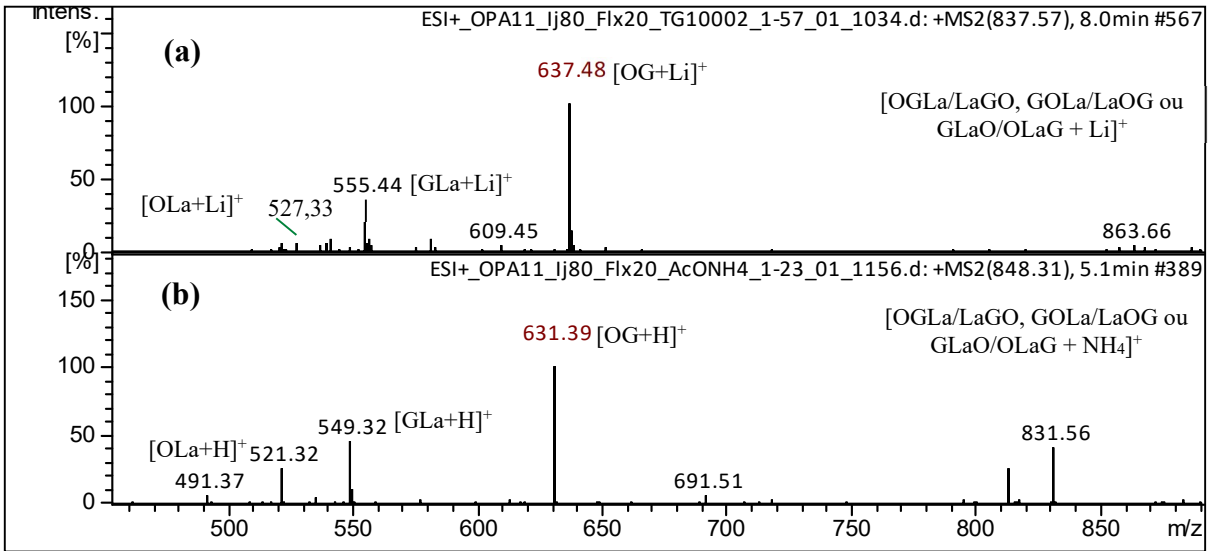
Nos espectros de massas em MS da fração 11 do óleo das amêndoas dos frutos de pupunha é possível observar os íons m/z 837,71 para aduto de lítio (figura 51a) e m/z 848,58 para aduto de amônio (figura 51b) descrevendo a possível presença dos triacilglicerídeos OGLa/LaGO, GOLa/LaOG e GLaO/OLaG.

Figura 51 - Espectros de massas em MS da fração 11 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha quando analisados com sais de lítio (a) e amônio (b)



Os espectros de massas em MS² da presente fração (figura 52a e 52b) confirmam que os triacilglicerídeos identificados são compostos por ácido láurico uma vez que se observa os íons fragmentos m/z 637 e m/z 631 referentes à adutos de lítio e amônio respectivamente os quais foram originizados pela perda neutra desse ácido graxo, o TAG também é composto por ácido oleico pela perda neutra do mesmo dando origem aos íons fragmentos m/z 555 e m/z 549 e ácido gadoleico gerando íons fragmentos m/z 527 e m/z 521.

Figura 52 - Espectros de massas dos triacilglicerídeos OGLa/LaGO, GOLa/LaOG e GLaO/OLaG identificados na amostra 11 do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha. Espectro em MS² do íon de [TAG+Li]⁺ *m/z* 837 (a). Espectro em MS² do íon de [TAG+NH₄]⁺ *m/z* 848 (b)



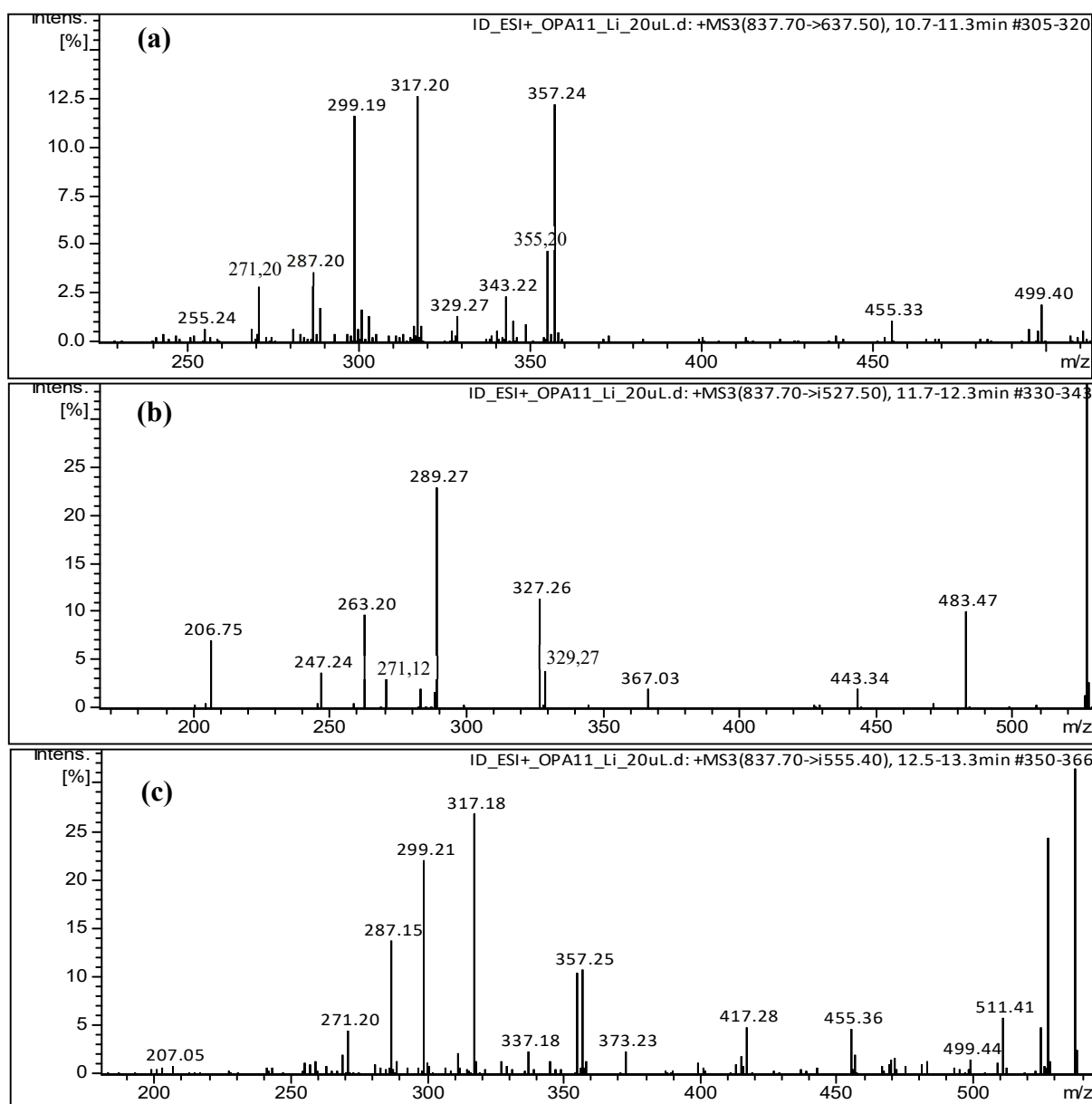
A figura 53 apresenta os valores de *m/z* predeterminados segundo a tabela 10 para os íons fragmentos em MS³ dos diacilgliceróis OG_ e GO_ pela perda neutra de ácido láurico com *m/z* 637, OLa_ e LaO_ pela perda neutra de ácido gadoleico com *m/z* 527 e diacilgliceróis GLa_ e LaG pela perda de ácido oleico com *m/z* 555 identificados em espectros de MS² de adutos de lítio.

Figura 53 - Valores de *m/z* predeterminados para fragmentos em MS³ de OGLa, OLaG e GLaO

			1	2	3	4	4a	
OGLa	- La	m/z 637	OG	m/z 329	m/z 315	m/z 373	m/z 289	m/z 317
GOLa			GO	m/z 357	m/z 287	m/z 345	m/z 317	m/z 289
OLaG	- G	m/z 527	OLa	m/z 329	m/z 205	m/z 263	m/z 289	m/z 207
LaOG			LaO	m/z 247	m/z 287	m/z 345	m/z 207	m/z 289
GLaO	- O	m/z 555	GLa	m/z 357	m/z 205	m/z 263	m/z 317	m/z 207
LaGO			LaG	m/z 247	m/z 315	m/z 373	m/z 207	m/z 317

Todos os íons fragmentos predeterminados para os seis diacilgliceróis diferentes foram identificados nos espectros de massas em MS³ de 837 → 637 (figura 54a), 837 → 527 (figura 54b) e 837 → 555 (figura 54c), confirmando a presença da mistura de triacilglicerídeos regioisoméricos na amostra 11 de OPA, que da mesma forma foram identificados na amostra 10 de OTA.

Figura 54 - Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 637 ($837 \rightarrow 637$). (a) Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 527 ($837 \rightarrow 527$) (b) Espectro em MS³ do íon fragmento de diacilglicerídeo m/z 555 ($837 \rightarrow 555$) (c)



Os resultados obtidos na identificação (MS²) e caracterização regioespecífica (fragmentação em MS³) dos triacilglicerídeos presentes nos óleos das polpas e amêndoas de cada fruto estudado, encontram-se descritos nas tabelas 11-15. As mesmas estão organizadas de acordo com os tipos de triacilglicerídeos identificados em cada pico cromatográfico isolado por CLAE. Como esperado muitos dos picos isolados apresentaram-se ainda como misturas de triacilglicerídeos, dada a dificuldade de resolver os TAGs.

Para todos os picos cromatográficos foram descritos os seus respectivos tempos de retenção, a percentagem de área por normalização de área, os triacilglicerídeos identificados e

caracterizados regioespecificamente, sendo esses codificados segundo as iniciais dos nomes dos ácidos graxos que os constituem (tabela 10), os valores de ECNs que descrevem as ordens de eluições dos triacilglicerídeos, as massas moleculares dos adutos formados (TAG+7 para adutos de lítio e TAG+18 para adutos de amônio) que foram identificados através das análises dos cromatogramas em MS obtidos por espectrometria de massas.

5.4.2. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de bacaba.

A tabela 11 apresenta os triacilglicerídeos identificados e caracterizados regioespecificamente em todas as amostras obtidas por CLAE da polpa seca de bacaba (OBPS) sendo esses descritos também para melhor visualização no cromatograma descrito na figura 55. A partir das análises por espectrometria de massas foi possível identificar e caracterizar regioespecificamente 30 triacilglicerídeos diferentes presentes no óleo da polpa do fruto de bacaba. Destes observou-se que todos encontravam-se em misturas com seus respectivos regioisômeros. Ao analisarmos as composições desses triacilglicerídeos, observa-se que os mesmos são compostos predominantemente por ácidos graxos: oleico (O), palmítico (P) linoleico (L) e esteárico (S) tal como observado na quantificação realizada por CG-DIC (tabela 9 e pela confirmação dos ácidos graxos identificados por CG-EM. No entanto, os ácidos cáprico (Ca), gadoleico (G) e araquidônico (A) que não foram identificados nas análises por CG-DIC e CG-EM, foram identificados nas amostras separadas por CLAE e analisadas por espectrometria de massas, via MSⁿ.

Dos 30 triacilgliceróis identificados, 17 são compostos por ácidos graxos insaturados como oleico (O), linoleico (L) e palmitoleico (Po) esterificados nas posições sn-2 das moléculas de gliceróis formando espécies de triacilglicerídeos como OLL, LOL, LLL, OOPo, OPoO, CaOO, CaOP, MOO, PPoO, PoOP, OOO, POO, OOG, POP, SOO, SOP, AOO; aos quais encontravam-se presentes com seus respectivos regioisômeros, estando inclusive em maior parte nos picos 7, 11, 12, 13, 14; que correspondiam a aproximadamente 70% de toda a composição lipídica em termo de triacilglicerídeos do óleo da polpa de bacaba. A identificação e caracterização regioespecífica de alguns picos cromatográficos coletados em pequena quantidade (picos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 19) não foi possível ser realizada, pois não foi possível obter as fragmentações necessárias para a identificação.

5.4.3. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de pupunha.

A tabela 12 e o cromatograma descrito na figura 56 apresentam 43 triacilglicerídeos diferentes identificados e caracterizados regioespecificamente nas amostras obtidas por CLAE do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha (OPPS). Destas análises observou-se que quase todos os triacilglicerídeos identificados também encontravam-se presentes em conjunto com seus respectivos regioisômeros (com exceção do triacilglicerídeo MOO identificado na amostra 12) com a predominância do ácido oleico (O), seguindo dos ácidos graxos palmítico (P) e palmitoleico (Po), que estão de acordo com os resultados obtidos na análise de FAMES por CG-DIC e CG-EM. O ácido cáprico (Ca), assim como na amostra da polpa seca de bacaba (OBPS), foi identificado nas análises por espectrometria de massas, porém não identificado pelas análises cromatográficas CG-DIC e CG-EM.

De todos os triacilglicerídeos caracterizados regioespecificamente observa-se que os ácidos graxos monoinsaturados, oleico e palmitoleico, mais abundantes nos óleos da polpa de pupunha, apresentam-se esterificados na posição sn-2 das moléculas de gliceróis formando espécies de triacilglicerídeos: PoOPo, PoPoO, OOLa, OPoM, PoOM, PPOPo, OOCa, OPoO, OOPo, POPo, PPOO, OOO, OOP, SPoO, POP, SOO e SOP. Esses TAGs estavam presentes nos picos que apresentaram como mais intensos (maiores porcentagens de áreas) nas análises cromatográficas, que foram os picos 18, 19, 21, 23, 24, 26, 28, 29, 32 e 33 (figura 43). As porcentagens de área de todos os triacilglicerídeos identificados no óleo da polpa de pupunha presentes no grupo 2, corresponde a cerca de 48% indicando, assim como nas análises por SPE, uma menor composição de triacilglicerídeos nos frutos de pupunha quando comparado aos demais frutos.

As análises por espectrometria de massas dos picos eluídos no grupo 1 de OPPS (picos 1-12) coletados nos primeiros seis minutos resultou em espectros de massas em EM contendo picos bases com valores de m/z acima dos esperados e, portanto, não compatíveis á triacilglicerídeos que seriam eluídos nesse grupo, ou seja, que apresentam menores valores de ECNs. Os espectros em MS^2 dos íons precursores identificados em MS para esses picos também não apresentaram íons fragmentos referentes a perdas neutras de ácidos graxos. Concluiu-se que as amostras 1-12, coletadas nos primeiros seis minutos, não são triacilglicerídeos. As amostras 15, 16, 17, 20, 25, 27 e 31 também não puderam ser identificadas pela baixa qualidade dos espectros obtidos por espectrometria de massas, provavelmente pela pequena quantidade coletada de cada uma dessa amostra.

5.4.4. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de tucumã.

Nas amostras extraídas por CLAE do óleo da polpa seca de tucumã (OTPS) (tabela 3 e figura 44) foram identificados e caracterizados regioespecificamente 44 triacilglicerídeos diferentes. Após a identificação dos mesmos, observou-se uma predominância dos ácidos graxos, oléico (O), esteárico (S), linolênico (Ln) e palmítico (P), que está de acordo com os resultados de perfis cadeia graxa por análise de FAMES por CG-DIC e CG-EM. O ácido gadoleico (G) foi identificado por espectrometria de massas na amostra 19 de OTPS compondo os triacilglicerídeos OOG/OGO, porém não foi identificado nas análises por FAME.

Assim como nos óleos das polpas dos demais frutos, observou-se que os triacilglicerídeos identificados e caracterizados regioespecificamente nos óleos da polpa dos frutos de tucumã encontram-se em mistura com seus respectivos regioisômeros. Esses apresentaram uma predominância de ácidos graxos insaturados como palmitoleico, oleico e ácidos graxos essenciais como linoléico e linolênicos esterificados nas posições sn-2 de moléculas de gliceróis para formar os triacilglicerídeos LOL, OLnO, OOLn, OPoM, PoOM, OOLa, PLM, OLO, OOL, LOP, POL, POPo, OOO, OOP, SLO, OLS, SOL, OOG, POP, SLP, SOO, SOP e AOO. Esses TAGs encontram-se presentes nos picos mais intensos e que corresponderam com cerca de 89% da composição lipídica, observado durante o processo de isolamento por CLAE (9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 22 e 25).

Ao compararmos os resultados obtidos nas análises regioespecíficas dos triacilglicerídeos presentes nos óleos das polpas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã, observou-se que esses apresentam predominância de ácidos graxos insaturados na posição sn-2 das moléculas de triacilglicerídeos. Tais resultados corroboram com os resultados já reportados na literatura tais como nos estudos de MOTTRAM et al., (1997); LIN & ARCINA (2008) e SANTOS e colaboradores (2013) que relataram que em amostras de óleos vegetais, os ácidos graxos insaturados como ácido oleico e linoléico encontram-se quase que exclusivamente na posição sn-2 de espécies de triacilglicerídeos.

Nas análises dos perfis cromatográficos dos triacilglicerídeos identificados nas amostras de todos os óleos obtidos das polpas dos frutos, observou-se perfis semelhantes de TAGs, com presença do triacilglicerídeo OOO, diferindo apenas nas intensidades dos picos e pureza (isolados ou em misturas com outros triacilgliceróis). Observou-se ainda que as espécies de triacilgliceróis OOO e os pares regioisoméricos POO/OPO predominaram em todas as amostras dos óleos de polpas.

Tabela 11 - Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de bacaba (OBPS)

Pico	t_R (min)	Área %	TAG	ECNs	MM (Da)	MS	MS ²	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4/4a)
						$[M+Li]^+ / [M+NH_4]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H]^+ / [M+NH_4-RCO_2H-NH_3]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'CH=CHCO_2H]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R''CO_2CH_2CH=CH_2]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'''CH=C=O]^+$ m/z	$[RCO_2H+Li]^+$ m/z
7	8,32	6,41	OLL/ LOL	44	880,8	887,8/nd	607,5/nd	[OL]/[LO] = 329/327	[OL]/[LO] = 285/287	[OL]/[LO] = nd/345	[O]/[L] = 289/287
							605,5/nd	[LL] = 327	[LL] = 285	[LL] = 343	[L] = 287
			LLL	42	878,7	885,7/nd	605,5/nd	[LL] = 327	[LL] = 285	[LL] = 343	[L] = 287
11	10,74	16,44	OPoO/ PoOO	46	856,8	863,7/874,7	581,4/575,4	[OPo]/[PoO] = 329/301	[OPo]/[PoO] = 259/287	[OPo]/[PoO] = 317/345	[O]/[Po] = 289/261
							609,4/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289
			OCaO/ CaOO	42	774,7	781,6/792,5	499,3/493,5 609,5/603,5	[CaO] = 219 [OO] = 329	[CaO] = 287 [OO] = 287	[CaO] = 345 [OO] = 345	[Ca]/[O] = 179/289 [O] = 289
12	11,87	17,74	CaPO/ CaOP/ OPCa	42	748,7	755,6/nd	473,3/nd 499,3/nd	[CaP]/[PCa] = 219/303 [CaO]/[OCa] = 219/329	[CaP]/[PCa] = nd/177 [CaO]/[OCa] = 287/177	[CaP]/[PCa] = 319/235 [CaO]/[OCa] = 345/235	[Ca]/[P] = 179/263 [Ca]/[O] = 179/289
							583,4/nd	[OP]/[PO] = 303/329	[OP]/[PO] = 261/287	[OP]/[PO] = nd/345	[O]/[O] = 289/263
			MOO	46	830,7	837,6/848,8	555,4/549,4 609,4/603,4	[MO] = 275 [OO] = 329	[MO] = 287 [OO] = 287	[MO] = 345 [OO] = 345	[M]/[O] = 235/289 [O] = 289
							555,4/549,4	[PPo]/[PoP] = 303/301	[PPo]/[PoP] = nd/261	[PPo]/[PoP] = 317/319	[P]/[Po] = 263/261
			PPoO/ PoOP/ OPPo	46	830,7	837,6/848,8	581,4/575,4 583,5/577,4	[PoO]/[OPo] = 301/329 [OP]/[PO] = 329/303	[PoO]/[OPo] = 287/259 [OP]/[PO] = nd/287	[PoO]/[OPo] = 345/317 [OP]/[PO] = nd/345	[O]/[Po] = 261/289 [O]/[P] = 289/263
13	14,11	19,11	OOO	48	884,8	891,8/902,7	609,5/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289
14	15,73	18,17	PPePe/ PePPe	48	858,8	865,7/876,7	583,5/577,5 609,5/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [OO] = 329	[OP]/[PO] = 261/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [O] = 289
15	17,92	0,05	OGO/ OOG	50	912,8	920,8/930,8	637,5/631,5 609,6/603,5	[OG]/[GO] = 329/357 [OO] = 329	[OG]/[GO] = 315/287 [OO] = 287	[OG]/[GO] = 373/345 [OO] = 345	[O]/[G] = 289/317 [O] = 289

16	18,37	3,25	OPP/ POP	48	832,8	839,7/850,7	583,5/577,5 557,6/551,4	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = 261	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263
17	20,14	0,91	OPP/ POP	48	832,8	839,8/850,6	583,5/577,5 557,5/551,4	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = 261	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263
18	21,36	3,30	OSO/ OOS	50	886,8	893,7/904,8	611,5/605,5 609,5/603,5	[OS]/[SO] = 329/331 [OO] = 329	[OS]/[SO] = 289/287 [OO] = 287	[OS]/[SO] = 347/345 [OO] = 345	[S]/[O] = 291/289,42 [O] = 289
20	27,24	0,02	SOP/ PSO/ OPS	50	860,8	867,7/878,7	611,5/605,5 585,6/579,5 583,5/577,5	[SO]/[OS] = 331/329 [PS]/[SP] = 303/331 [OP]/[PO] = 329/303	[SO]/[OS] = 287/289 [PS] / [SP] = 289/nd [OP]/[PO] = nd /287	[SO]/[OS] = 345/347 [PS]/[SP] = 347/319 [OP]/[PO] = 319/345	[O]/[S] = 289/291 [P]/[S] = 263/291 [O]/[P] = 289/263
21	31,26	0,05	AOO/ OOA	52	914,8	921,7/932,8	639,5/633,5 609,5/603,5	[AO]/[AO] = 329/359 [OO] = 329	[AO]/[AO] = 317/287 [OO] = 287	[AO]/[AO] = 375/345 [OO] = 345	[O]/[A] = 289/319 [O] = 289

* nd = não detectado.

* Obs: Os triacilglicerídeos foram codificados de acordo com a inicial dos nomes dos ácidos graxos que os constituem, ex: OLL (C18:1/C18:2/C18:2-TAG) corresponde a (oleico/linoleico/linoleico -TAG); **Ca** = ácido capríco (10:0); **Po** = ácido palmitoleico (C16:1); **P** = ácido palmítico (C16:0); **L** = ácido linoleico (C18:2); **O** = ácido oleico (C18:1 Δ^9); **S** = ácido esteárico (C18:0); **G** = ácido gadoleico (C20:1); **A** = ácido araquídico (C20:0).

Figura 55 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de bacaba

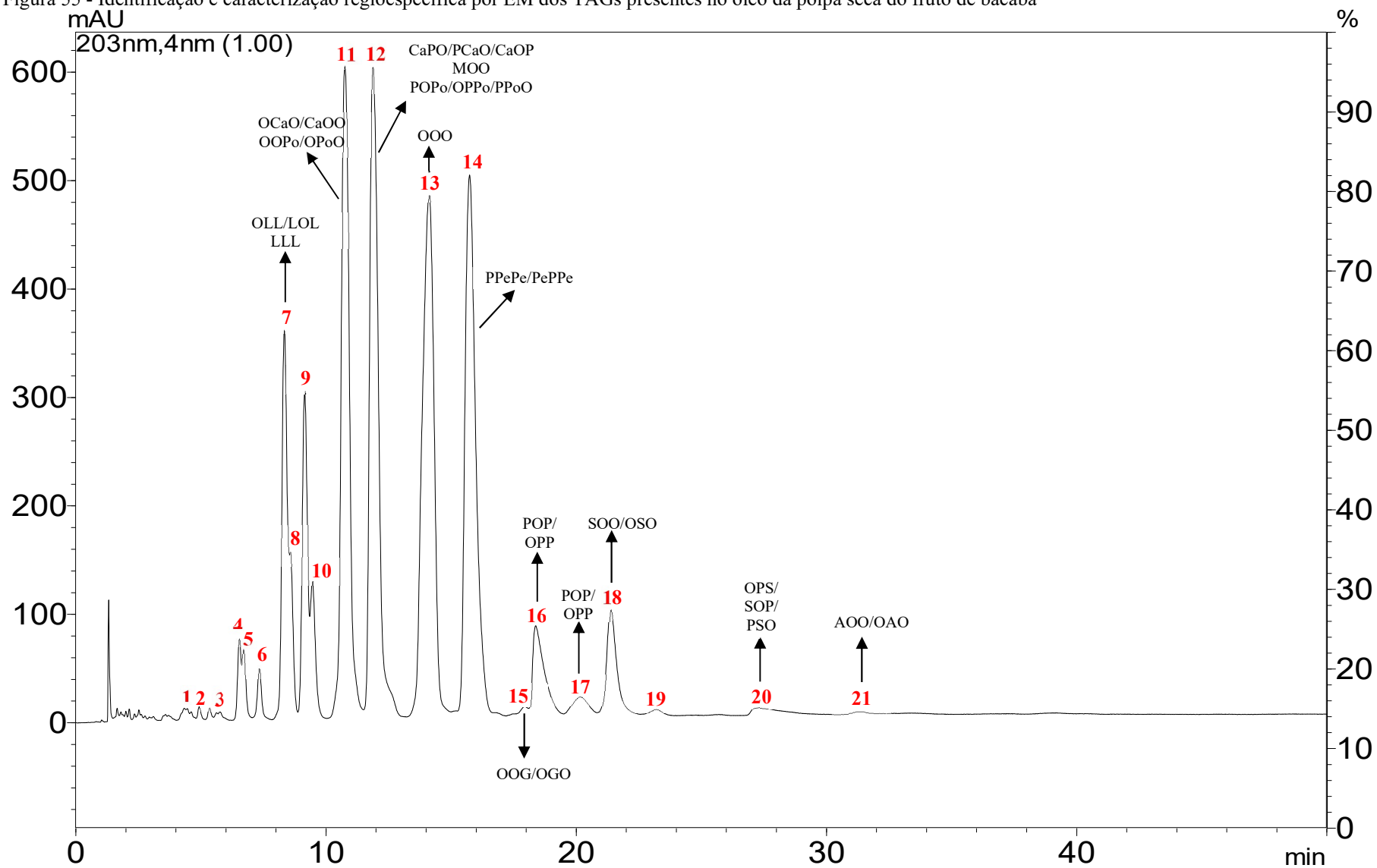


Tabela 12 - Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de pupunha (OPPS)

Pico	t_R (min)	Área %	TAG	ECNs	MM (Da)	MS	MS ²	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4/4a)
						$[M+Li]^+ / [M+NH_4]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H]^+ / [M+NH_4-RCO_2H-NH_3]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'CH=CHCO_2H]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R''CO_2CH_2CH=CH_2]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'''CH=C=O]^+$ m/z	$[RCO_2H+Li]^+$ m/z
14	6,42	0,64	LaMLa/ LaLaM	38	666,6	673,5/684,4	473,4/467,3	[LaM]/[MLa] = 247/275	[LaM]/[MLa] = 233/205	[LaM]/[MLa] = 291/263	[La]/[M] = 207/235
							445,3/439,3	[LaLa] = 247	[LaLa] = 205	[LaLa] = 263	[La] = 207
			LaLaP/ LaPLa	40	694,6	701,5/712,4	501,4/495,4	[PLa] = 303	[PLa] = nd	[PLa] = 263	[P]/[La] = 263/207
							445,3/439,3	[LaLa] = 247	[LaLa] = 205	[LaLa] = 263	[La] = 207
			MMLa/ MLaM	40	694,6	701,5/712,6	473,4/467,4	[MLa]/[LaM] = 275/247	[MLa]/[LaM] = nd/nd	[MLa]/[LaM] = 263/291	[M]/[La] = 235/207
							501,4/495,4	[MM] = 275	[MM] = 233	[MM] = 291	[M] = 235
18	8,82	1,91	PoOPo/ PoPoO	44	828,7	835,2/846,6	581,4/575,4	[OPo]/[PoO] = 329/301	[OPo]/[PoO] = 259/287	[OPo]/[PoO] = 317/345	[O]/[Po] = 289/261
							553,4/547,4	[PoPo] = 301	[PoPo] = 259	[PoPo] = 317	[Po] = 261
19	9,09	1,26	PoOPo/ PoPoO	44	828,7	835,6/846,7	581,5/575,4	[OPo]/[PoO] = 329/301	[OPo]/[PoO] = 259/287	[OPo]/[PoO] = 317/345	[OPo]/[PoO] = 289/261
							553,4/ 547,4	[PoPo] = 301	[PoPo] = 259	[PoPo] = 317	[Po] = 261
21	9,68	2,52	OOLa/ OLaO	44	802,7	809,7/820,5	527,4/521,4	[LaO]/[OLa] = 247/329	[LaO]/[OLa] = 287/205	[LaO]/[OLa] = 345/263	[La]/[O] = 207/289
							609,6/603,4	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289
			OPoM/ PoOM/ OMPo	44	802,7	809,7/820,5	581,5/575,4	[OPo]/[PoO] = 329/301	[OPo]/[PoO] = 259/287	[OPo]/[PoO] = 317/345	[O]/[Po] = 289/261
							527,4/521,4	[PoM]/[MPo] = 301/275	[PoM]/[MPo] = 233/259	[PoM]/[MPo] = 291/317	[Po]/[M] = 261/235
							555,5/549,4	[MO]/[OM] = 275/329	[MO]/[OM] = 287/233	[MO]/[OM] = 345/291	[M]/[O] = 235/289
			PPoPo/ PoPPo	44	802,7	809,7/820,5	555,5/549,4	[PPo]/[PoP] = 301/303	[PPo]/[PoP] = 259/261	[PPo]/[PoP] = 317/319	[P]/[Po] = 263/261
							553,5/ 547,4	[PoPo] = 301	[PoPo] = 259	[PoPo] = 317	[Po] = 261
22	10,01	0,69	PPoPo/ PoPPo	44	802,7	809,6/820,6	555,4/549,4	[PoP]/[PPo] = 301/303	[PoP]/[PPo] = nd/261	[PoP]/[PPo] = 319/317	[Po]/[P] = 261/263
							553,4/547,4	[PoPo] = 301	[PoPo] = 259	[PoPo] = nd	[Po] = 261
23	11,03	3,21	OOCa/ OCaO	42	774,7	781,6/nd	499,4/nd	[OCa]/[CaO] = 329/219	[OCa]/[CaO] = 177/287	[OCa]/[CaO] = 235/345	[O]/[Ca] = 289/179
							609,5/nd	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289

24	11,35	5,46	OPoO/ OOPo	46	856,8	863,7/874,7	581,5/575,5 609,5/603,5	[OPo]/[PoO] = 329/301 [OO] = 329	[OPo]/[PoO] = 259/287 [OO] = 287	[OPo]/[PoO] = 317/345 [OO] = 345	[O]/[Po] = 289/261 [O] = 289
26	12,55	4,98	POPo/ PPoO/ OPPo	46	830,7	837,7/848,6	583,5/577,5 555,5/549,5 581,5/575,4	[OP]/[PO] = 329/303 [PPo]/[PoP] = 301/303 [OPo]/[PoO] = 329/301	[OP]/[PO] = 261/287 [PPo]/[PoP] = 259/261 [OPo]/[PoO] = 259/287	[OP]/[PO] = 319/345 [PPo]/[PoP] = 317/319 [OPo]/[PoO] = 317/345	[O]/[P] = 289/263 [P]/[Po] = 263/261 [O]/[Po] = 289/261
28	14,32	11,29	OOO	48	884,8	891,7/902,7	609,5/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289
29	15,90	11,63	OOP/ OPO	48	858,8	865,7/876,7	583,4/ 577,5 609,5/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [OO] = 329	[OP]/[PO] = nd/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [O] = 289
30	16,94	0,09	PoS/ OSPo/ SPoO	48	858,8	865,8/876,7	581,5/575,5 583,5/577,5 611,5/605,5	[OPo]/[PoO] = 329/301 [SPo]/[PoS] = 331/301 [OS]/[SO] = nd/331	[OPo]/[PoO] = 259/287 [SPo]/[PoS] = 259/289 [OS]/[SO] = 289/nd	[OPo]/[PoO] = 317/345 [SPo]/[PoS] = 317/347 [OS]/[SO] = nd/nd	[O]/[Po] = 289/261 [S]/[Po] = 291/261 [S]/[O] = nd/289
32	18,41	2,73	PPO / POP	48	832,8	839,6/850,7	583,5/577,5 557,5/551,5	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = 261	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263
33	19,44	1,21	PPO / POP	48	832,8	839,3/850,7	583,5/577,5 557,5/551,5	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = 261	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319,26	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263
34	21,55	0,57	PPO/ POP SPePe/ PeSPe	48 50	832,8 886,8	839,4/850,6 893,3/404,7	583,5/577,5 557,5/551,5 611,5/605,5 609,5/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303 [OS]/[SO] = 329/331 [OO] = 329	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = 261 [OS]/[SO] = 289/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319 [OS]/[SO] = 347/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263 [S]/[O] = nd/289 [O] = 289
35	28,07	0,05	SOP/ OSP/ SPO	50	860,8	867,6/878,7	611,5/605,5 585,5/579,5 583,5/577,5	[SO]/[OS] = 331/329 [SP]/[PS] = nd/303 [OP]/[PO] = 329/303	[SO]/[OS] = nd/289 [SP]/[PS] = 261/289 [OP]/[PO] = 261/287	[SO]/[OS] = 345/347 [SP]/[PS] = 319/nd [OP]/[PO] = 319/345	[S]/[O] = nd/289 [S]/[P] = nd/263 [O]/[P] = 289/263

Ca = ácido capríco (10:0); **La** = ácido láurico (C12:0); **M** = ácido mirístico (C14:0); **Po** = ácido palmitoleico (C16:1); **P** = ácido palmítico (C16:0); **O** = ácido oleico (C18:1 Δ⁹); **Pe** = ácido petroselínico (C 18:1 Δ⁶); **S** = ácido esteárico (C18:0).

Figura 56 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de pupunha

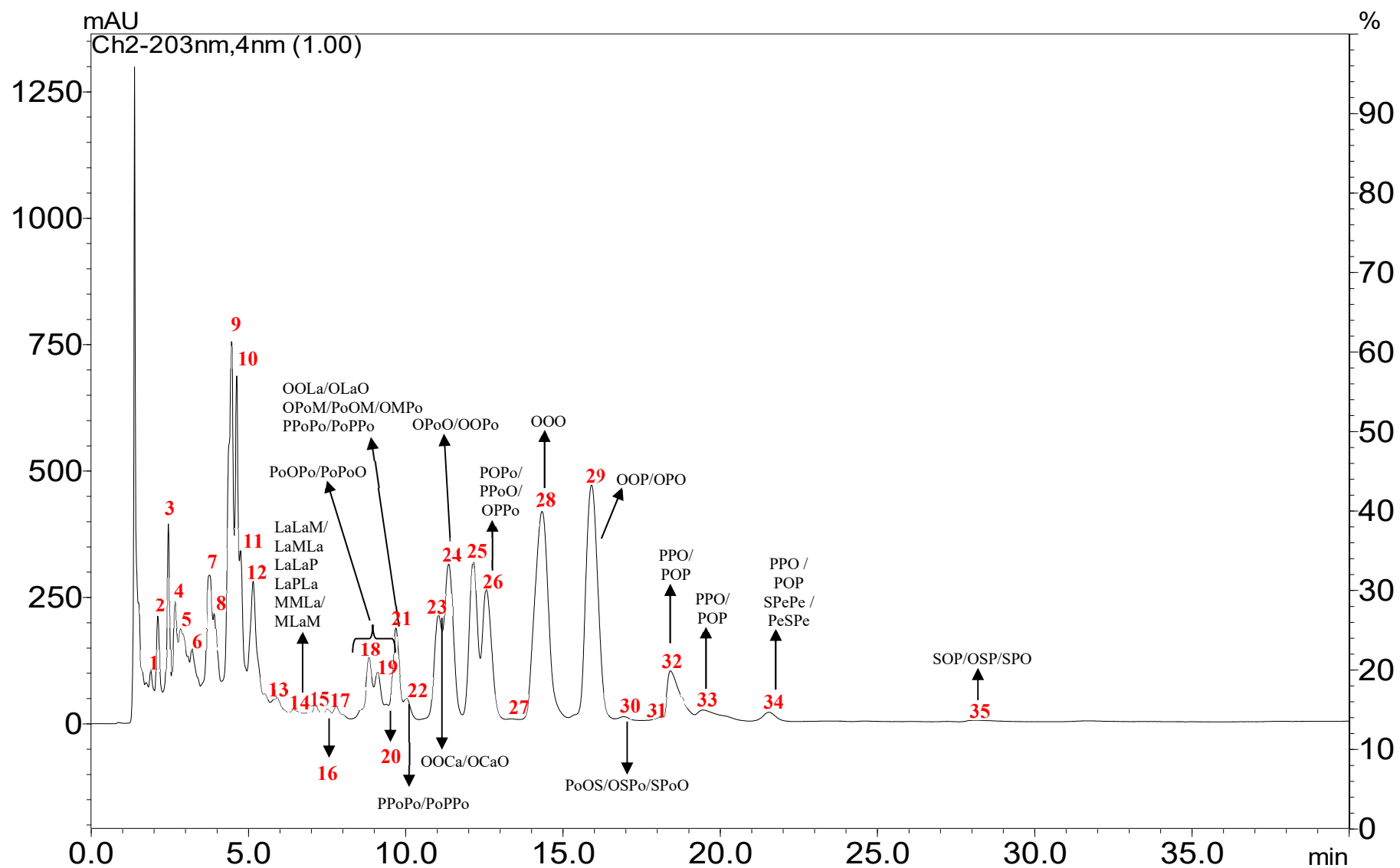
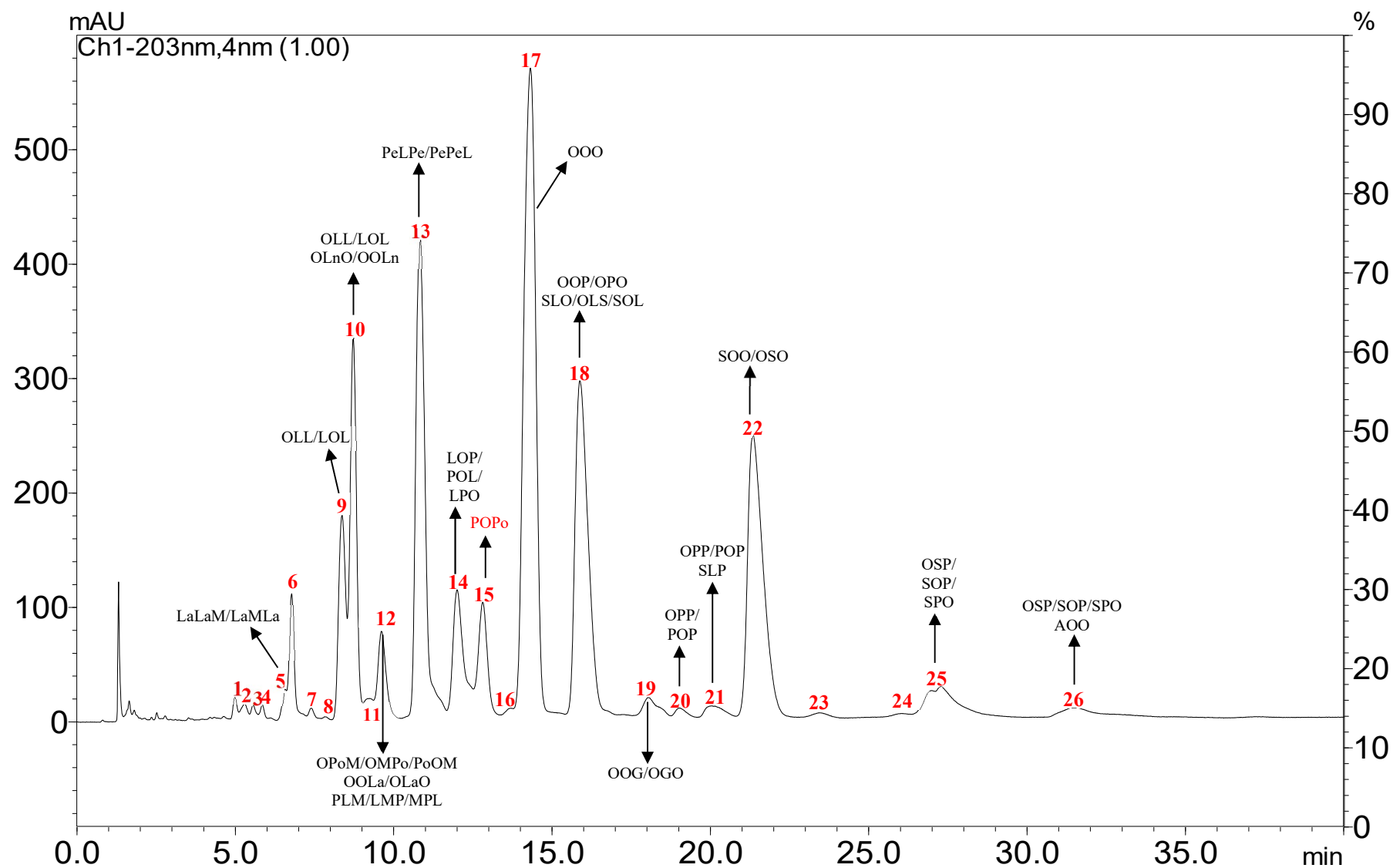


Tabela 13 - Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da polpa do fruto de tucumã (OTPS)

Pico	t_R (min)	Área %	TAG	ECNs	MM (Da)	MS	MS ²	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4/4a)
						$[M+Li]^+ / [M+NH_4]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H]^+ / [M+NH_4-RCO_2H-NH_3]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'CH=CHCO_2H]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R''CO_2CH_2CH=CH_2]^+$ m/z	$[M+Li-RCO_2H-R'''CH=C=O]^+$ m/z	$[RCO_2H+Li]^+$ m/z
4	5,84	0,24	LaMLa/ LaLaM	38	666,6	673,1/684,5	473,4/467,3 445,7/439,3	[LaM]/[MLa] = 247/275 [LaLa] = 247	[LaM]/[MLa] = 233/205 [LaLa] = 205	[LaM]/[MLa] = 291/263 [LaLa] = 263	[La]/[M] = 207/235 [La] = 207
9	8,36	4,23	LOL/ LLO	44	880,8	887,7/ 898,7	607,5/601,5 605,4/599,5	[LO]/[OL] = 327/329 [LL] = 327	[LO]/[OL] = 287/285 [LL] = 285	[LO]/[OL] = 345/343 [LL] = 343	[L]/[O] = 287/289 [L] = 287
10	8,71	7,38	LOL/ LLO	44	880,8	887,6/898,7	607,4/601,5 605,5/599,5	[LO]/[OL] = 327/329 [LL] = 327	[LO]/[OL] = 287/285 [LL] = 285	[LO]/[OL] = 345/343 [LL] = 343	[L]/[O] = 287/289 [L] = 287
			OLnO/ OOLn	44	880,8	887,6/898,7	605,5/599,5 609,5/603,5	[OLn]/[LnO] = 329/325 [OO] = 329	[OLn]/[LnO] = 283/287 [OO] = 287	[OLn]/[LnO] = 341/345 [OO] = 345	[Ln]/[O] = 285/289 [O] = 289
12	9,60	2,34	OPoM/ PoMO/ MOPo	44	803,7	809,7/820,5	581,5/575,3 527,5/521,4 555,5/549,4	[OPo]/[PoO] = 329/301 [PoM]/[MPo] = 301/275 [MO]/[OM] = 275/329	[OPo]/[PoO] = 259/287 [PoM]/[MPo] = 233/259 [MO]/[OM] = 287/233	[OPo]/[PoO] = 317/345 [PoM]/[MPo] = 291/317 [MO]/[OM] = 345/291	[O]/[Po] = 289/261 [Po]/[M] = 261/235 [M]/[O] = 235/289
			OLaO/ OOLa	44	803,7	809,7/820,5	527,5/521,4 609,6/603,5	[OLa]/[LaO] = 329/247 [OO] = 329	[OLa]/[LaO] = nd/287 [OO] = 287	[OLa]/[LaO] = 263/345 [OO] = 345	[O]/[La] = 289/207 [O] = 289
			LPM/ PML/ MLP	44	803,7	809,7/820,5	581,5/575,3 529,5/523,1 553,4/547,3	[LP]/[PL] = 327/303 [PM]/[MP] = 303/275 [ML]/[LM] = 275/327	[LP]/[PL] = 285/261 [PM]/[MP] = 233/nd [ML]/[LM] = 261/233	[LP]/[PL] = 319/nd [PM]/[MP] = 291/319 [ML]/[LM] = 343/291	[L]/[P] = 287/263 [P]/[M] = 263/235 [M]/[L] = 235/287
13	10,81	13,54	PeLPe/ PePeL	46	882,8	889,7/900,7	607,5/601,5 609,5/603,5	[OL]/[LO] = 329/327 [OO] = 329	[OL]/[LO] = 285/287 [OO] = 287	[OL]/[LO] = 343/345 [OO] = 345	[O]/[L] = 289/287 [O] = 289
14	11,99	4,34	OLP/ LPO/ POL	46	856,8	863,7/874,7	607,5/601,4	[OL]/[LO] = 329/327	[OL]/[LO] = 285/287	[OL]/[LO] = 343/nd	[O]/[L] = 289/287
							581,5/575,4	[LP]/[PL] = 327/303	[LP]/[PL] = 285/261	[LP]/[PL] = 319/343	[L]/[P] = 287/263
							583,5/577,4	[PO]/[OP] = 303/ 329	[PO]/[OP] = 287/261	[PO]/[OP] = 345/319	[P]/[O] = 263/289

15	12,80	3,44	POPo	46	830,7	837,4/848,6	583,5/577,4 555,4/549,4 581,5/575,4	*** *** ***	*** *** ***	*** *** ***	*** *** ***
17	14,31	23,53	OOO	48	884,8	891,7/902,7	609,5/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289
18	15,87	14,66	OPO / OOP	48	858,8	865,7/876,7	583,5/577,5 609,5/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [OO] = 329	[OP]/[PO] = 261/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [O] = 289
			SLO/ OSL/ LOS	48	884,8	891,8/902,7	609,5/603,5 611,5/605,5 607,5/601,5	[SL]/[LS] = 331/327 [OS]/[SO] = 329/331 [LO]/[OL] = 327/329	[SL]/[LS] = 285/289 [OS]/[SO] = 289/287 [LO]/[OL] = 287/285	[SL]/[LS] = 343/347 [OS]/[SO] = 347/345 [LO]/[OL] = 345/343	[S]/[L] = 291/287 [S]/[O] = 291/289 [L]/[O] = 287/289
			OGO/ OOG	50	912,8	919,7/930,7	637,5/631,5 609,5/603,5	[OG]/[GO] = 329/357 [OO] = 329	[OG]/[GO] = 315/287 [OO] = 287	[OG]/[GO] = 373/345 [OO] = 345	[O]/[G] = 289/317 [O] = 289
			POP/ PPO	48	832,8	839,6/850,7	583,5/577,5 557,5/551,5	[PO]/[OP] = 303/329 [PP] = 303	[PO]/[OP] = 287/261 [PP] = 261	[PO]/[OP] = 345/319 [PP] = 319	[P]/[O] = 263/289 [P] = 263
21	20,01	0,26	POP/ PPO	48	832,8	839,7/850,7	583,5/577,5 557,5/551,5	[PO]/[OP] = 303/329 [PP] = 303	[PO]/[OP] = 287/261 [PP] = nd	[PO]/[OP] = 345/319 [PP] = 319	[P]/[O] = 263/289 [P] = 263
			PLS	48	858,8	865,7/876,7	609,5/603,5 585,6/579,5 581,5/575,5	[SL] = 331 [PL] = 303 ***	[SL] = 285 [PL] = 285 ***	[SL] = 343 [PL] = 343 ***	[S]/[L] = 291/287 [P]/[L] = 263/287 ***
			OSO/ OOS	50	886,8	893,7/904,7	611,5/605,5 609,5/603,6	[OS]/[SO] = 329/331 [OO] = 329	[OS]/[SO] = 289/287 [OO] = 287	[OS]/[SO] = 347/345 [OO] = 345	[S]/[O] = 291/289 [O] = 289
			SOP/ OPS/ PSO	50	860,8	867,3/878,5	611,5/605,5 583,5/577,5 585,5/579,5	[SO]/[OS] = 331/329 [OP]/[PO] = 329/303 [PS]/[SP] = 303/331	[SO]/[OS] = 287 /289 [OP]/[PO] = 261/287 [PS]/[SP] = 289/261	[SO]/[OS] = 345/347 [OP]/[PO] = 319/345 [PS]/[SP] = 347/319	[O]/[S] = 289/291 [O]/[P] = 289/263 [P]/[S] = 263/291
26	31,51	0,92	SOP/ PSO/ OPS	50	860,8	867,6/878,7	611,5/605,5 585,5/579,5 583,5/ 577,5	[SO]/[OS] = 331/329 [PS]/[SP] = 303/331 [OP]/[PO] = 329/303	[SO]/[OS] = 287/289 [PS]/[SP] = 289/261 [OP]/[PO] = nd /287	[SO]/[OS] = 345/347 [PS]/[SP] = 347/319 [OP]/[PO] = 319/345	[O]/[S] = 289/291 [P]/[S] = 263/291 [O]/[P] = 289/263
			OAQ/ AAO	52	914,8	921,5/932,6	639,5/633,5 609,6/603,5	[OA]/[AO] = 328/358 [OO] = 328,44	[OA]/[AO] = nd/286 [OO] = 288	[OA]/[AO] = 374/344 [OO] = 345	[O]/[A] = 288/318 [O] = 288

Figura 57 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da polpa seca do fruto de tucumã



5.4.5. Identificação e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã

A tabela 14 e o cromatograma descrito na figura 58 apresentam 73 triacilglicerídeos identificados e caracterizados regioespecificamente nas amostras obtidas por CLAE do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha (OPA) e as tabelas 15 e o cromatograma descrito na figura 59 apresentam 75 triacilglicerídeos identificados e caracterizados regioespecificamente nas amostras do óleo da amêndoa do tucumã (OTA).

Os resultados obtidos nos óleos das amêndoas dos frutos de pupunha e tucumã demonstram a predominância de ácidos graxos saturados de cadeia média como ácido láurico, mirístico e palmítico presente esterificado de forma quase que equivalentes em todas as posições regioespecíficas sn-1/sn3 e sn-2 das moléculas de triacilglicerídeos.

Nas análises dos componentes identificados, observa-se que os óleos das amêndoas dos dois frutos apresentaram perfis semelhantes de triacilglicerídeos com diferenças mais atenuadas nas intensidades dos picos cromatográficos. No entanto no óleo da amêndoa dos frutos de tucumã identificou-se baixas quantidades de misturas de triacilglicerídeos regioisoméricos OSO, SOO (pico 24) e OSP, POS e OPS (pico 25) das quais não foram identificados no óleo da amêndoa dos frutos de pupunha.

Tabela 14 - Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha (OPA)

Pico	t _R (min)	Área %	TAG	ECNs	MM (Da)	MS	MS ²	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4/4a)
						[M+Li] ⁺ / [M+NH ₄] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H] ⁺ / [M+NH ₄ -RCO ₂ H-NH ₃] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R'CH=CHCO ₂ H] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R''CO ₂ CH ₂ CH=CH ₂] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R'''CH=C=O] ⁺ m/z	[RCO ₂ H+ Li] ⁺ m/z
1	4,16	1,41	LaCLa/ LaLaC	32	582,5	589,5/600,4	389,3/383,3 445,4/439,3	[LaC]/[CLa] = 247/191 [LaLa] = 247	[LaC]/[CLa] = 149/205 [LaLa] = 205	[LaC]/[CLa] = 207/263 [LaLa] = 263	[La]/[C] = 207/151 [La] = 207
2	4,74	1,15	LaCaLa/ LaLaCa	34	610,5	617,5/628,5	417,3/411,3 445,3/439,3	[LaCa]/[CaLa] = 247/219 [LaLa] = 247	[LaCa]/[CaLa] = 177/205 [LaLa] = 205	[LaCa]/[CaLa] = 235/263 [LaLa] = 263	[La]/[Ca] = 207/179 [La] = 207
3	4,92	2,26	CaLaLa MLaC/ LaCM/ CMLa	34	610,5	617,5/628,5	417,3/411,3 445,4/439,3	[CaLa] = 219 [LaLa] = 247	[CaLa] = 205 [LaLa] = 205	[CaLa] = 263 [LaLa] = 263	[Ca]/[La] = 179/207 [La] = 207
				34	610,5	617,5/628,5	473,3/467,4 389,3/383,3 417,3/411,3	[MLa]/[LaM] = 275/247 [LaC]/[CLa] = 247/191 [CM]/[MC] = 191/275	[MLa]/[LaM] = 205/nd [LaC]/[CLa] = nd/205 [CM]/[MC] = 233/nd	[MLa]/[LaM] = 263/291 [LaC]/[CLa] = 207/263 [CM]/[MC] = 291/207	[M]/[L] = 235/207 [La]/[C] = 207/151 [C]/[M] = 151/235
				36	638,6	645,5/656,5	445,3/439,3	[LaLa] = 247	[LaLa] = 205	[LaLa] = 263	[La] = 207
				38	666,6	673,3/684,5	473,4/467,3 445,4/439,3	[LaM]/[MLa] = 247/275 [LaLa] = 247	[LaM]/[MLa] = 233/205 [LaLa] = 205	[LaM]/[MLa] = 291/263 [LaLa] = 263	[La]/[M] = 207/235 [La] = 207
8	8,59	4,97	LaMLa/ LaLaM PMC/ MCP/ CPM	38	666,6	673,6/684,5	473,6/467,3 445,4/439,3	[LaM]/[MLa] = 247/275 [LaLa] = 247	[LaM]/[MLa] = 233/205 [LaLa] = 205	[LaM]/[MLa] = 291/263 [LaLa] = 263	[La]/[M] = 207/235 [La] = 207
				38	666,6	673,6/684,5	529,5/523,4 417,4/411,3 445,4/439,4	*** [MC]/[CM] = 275/191 [CP]/[PC] = 275/303	*** [MC]/[CM] = 149/233 [CP]/[PC] = 261/nd	*** [MC]/[CM] = 207/291 [CP]/[PC] = 319/207	*** [M]/[C] = 235/151 [C]/[P] = 151/235
				40	720,6	727,3/738,6	527,4/ 521,4 445,3/439,3	[LaO]/[OLa] = 247/ 329 [LaLa] = 247	[LaO]/[OLa] = 287/nd [LaLa] = nd	[LaO]/[OLa] = 345/263 [LaLa] = 263	[O]/[La] = 289/207 [La] = 207
				40	694,6	701,5/712,5	501,4/ 495,3 445,3/439,4	[LaP]/[PLa] = 247/ 303 [LaLa] = 247	[LaP]/[PLa] = 261/ 205 [LaLa] = 205	[LaP]/[PLa] = 319/ 263 [LaLa] = 263	[P]/[La] = 263/207 [La] = 207
10	9,90	4,15	MLaM/ MMLa	40	694,6	701,5/712,5	473,4/467,4 501,4/495,3	[MLa]/ [LaM] = 275/247 [MM] = 275	[MLa]/ [LaM] = 205/ 233 [MM] = 233	[MLa]/ [LaM] = 263/ 291 [MM] = 291	[M]/[La] = 235/207 [M] = 235

11	11,56	10,65	OGLa/ OLaG/ GLaO	46	830,7	837,7/848,3	637,5/631,4 527,3/521,3 555,4/549,3	[OG]/[GO] = 329/357 [OLa]/[LaO] = 329/247 [GLa]/[LaG] = 357/247	[OG]/[GO] = 315/287 [OLa]/[LaO] = 205/297 [GLa]/[LaG] = 205/315	[OG]/[GO] = 373/345 [OLa]/[LaO] = 263/345 [GLa]/[LaG] = 263/373	[O]/[G] = 289/317 [O]/[La] = 289/207 [G]/[La] = 317/207
12	12,41	8,69	MOLa/ LaMO/ OLaM	42	748,7	755,6/766,6	555,5/549,4 473,4/467,4 527,4/521,4	[MO]/[OM] = 275/329 [LaM]/[MLa] = 247/275 [OLa]/[LaO] = 329/247	[MO]/[OM] = 287/nd [LaM]/[MLa] = 233/205 [OLa]/[LaO] = nd/287	[MO]/[OM] = 345/291 [LaM]/[MLa] = 291/263 [OLa]/[LaO] = 263/345	[M]/[O] = 235/289 [La]/[M] = 207/235 [O]/[La] = 289/207
13	13,56	0,73	PMLa/ MLaP/ LaPM	42	722,6	729,6/740,6	529,4/523,4 473,4/467,4 501,4/495,4	[PM]/[MP] = 303/275 [MLa]/[LaM] = 275/247 [LaP]/[PLa] = 247/303	[PM]/[MP] = 233/261 [MLa]/[LaM] = 205/233 [LaP]/[PLa] = 261/205	[PM]/[MP] = 291/nd [MLa]/[LaM] = 263/291 [LaP]/[PLa] = 319/263	[P]/[M] = 263/235 [M]/[La] = 235/207 [La]/[P] = 207/263
			LaSLa LaLaS	42	722,6	729,6/740,6	529,4/523,4 445,4/439,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [LaLa] = 247	[LaS]/[SLa] = 289/205 [LaLa] = 205	[LaS]/[SLa] = 347/263 [LaLa] = 263	[S]/[La] = 291/207 [La] = 207
14	14,30	2,61	PMLa/ MLaP/ LaPM	42	722,6	729,7/740,6	529,4/523,4 473,4/467,4 501,4/495,4	[PM]/[MP] = 303/275 [MLa]/[LaM] = 275/247 [LaP]/[PLa] = 247/303	[PM]/[MP] = 233/nd [MLa]/[LaM] = 205/233 [LaP]/[PLa] = 261/205	[PM]/[MP] = 291/319 [MLa]/[LaM] = 263/291 [LaP]/[PLa] = 319/263	[P]/[M] = 263/235 [M]/[La] = 235/207 [La]/[P] = 207/263
			LaLaS	42	722,6	729,7/740,6	529,4/523,4 445,4/439,3	[SLa] = 331 [LaLa] = 247	[SLa] = nd [LaLa] = nd	[SLa] = 263 [LaLa] = 263	[S]/[La] = 291/207 [La] = 207
15	15,69	8,79	OLaO/ OOLa	44	802,7	809,7/820,6	527,4/521,4 609,5/603,4	[OLa]/[LaO] = 329/247 [OO] = 329	[OLa]/[LaO] = nd/287 [OO] = 287	[OLa]/[LaO] = 263/345 [OO] = 345	[O]/[La] = 289/207 [OO] = 289
16	16,99	5,84	LaPO/ OLaP/ POLa	44	776,7	783,6/794,6	501,4/495,4 527,5/521,4 583,5/577,4	[LaP]/[PLa] = nd/303 [OLa]/[LaO] = 329/247 [PO]/[OP] = 303/nd	[LaP]/[PLa] = nd/nd [OLa]/[LaO] = nd/287 [PO]/[OP] = 287/nd	[LaP]/[PLa] = nd/nd [OLa]/[LaO] = 263/345 [PO]/[OP] = 345/319	[La]/[P] = 207/nd [O]/[La] = 289/207 [P]/[O] = 263/289
			MOM/ MMO	44	776,7	783,6/794,6	555,4/549,4 501,4/495,4	[MO]/[OM] = 275/329 [MM] = 275	[MO]/[OM] = 287/nd [MM] = 233	[MO]/[OM] = 345/291 [MM] = nd	[M]/[O] = 235/289 [M] = 235

17	18,92	0,22	LaSM/ MLaS/ SMLa	44	750,7	757,7/768,6	529,5/523,4 473,4/467,4 557,5/551,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [MLa]/[LaM] = 275/247 [SM]/[MS] = 331/275	[LaS]/[SLa] = 289/205 [MLa]/[LaM] = 205/nd [SM]/[MS] = 233/nd	[LaS]/[SLa] = 347/263 [MLa]/[LaM] = 263/291 [SM]/[MS] = 291/347	[La]/[S] = 207/291 [M]/[L] = 235/207 [S]/[M] = 291/235
			PLaP/ PPLa	44	750,7	757,7/768,6	501,4/495,4 557,5/551,4	[PLa] = 303 [PP] = 303	[PLa] = nd [PP] = 261	[PLa] = 263 [PP] = 319	[P]/[La] = 263/207 [P] = 263
			MPM/ MMP	44	750,7	757,7/768,6	529,5/523,4 501,4/495,4	[MP]/[PM] = 275/303 [MM] = 275	[MP]/[PM] = 261/233 [MM] = 233	[MP]/[PM] = 319/291 [MM] = 291	[P]/[M] = 263/235 [M] = 235
18	20,28	2,56	LaSM/ MLaS/ SMLa	44	750,7	757,5/768,5	529,4/523,4 473,3/467,3 557,4/551,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [MLa]/[LaM] = 275/247 [SM]/[MS] = 331/275	[LaS]/[SLa] = 289/205 [MLa]/[LaM] = 205/233 [SM]/[MS] = nd/289	[LaS]/[SLa] = 347/263 [MLa]/[LaM] = 263/291 [SM]/[MS] = 291/347	[La]/[S] = 207/291 [M]/[L] = 235/207 [S]/[M] = 291/235
			PLaP/ LaPP	44	750,7	757,5/768,5	501,4/495,4 557,4/551,4	[PLa]/[LaP] = 303/247 [PP] = 303	[PLa]/[LaP] = 205/261 [PP] = 261	[PLa]/[LaP] = 263/319 [PP] = 319	[P]/[La] = 263/207 [P] = 263
			MPM/ MMP	44	750,7	757,5/768,5	529,4/523,4 501,4/495,4	[MP]/[PM] = 275/303 [MM] = 275	[MP]/[PM] = 261/233 [MM] = 233	[MP]/[PM] = 319/291 [MM] = 291	[M]/[P] = 235/263 [M] = 235
19	21,88	4,79	PeMPe/ PePeM	46	830,7	837,6/848,7	555,5/549,5 609,5/603,5	[OM]/[MO] = 329/275 [OO] = 329	[OM]/[MO] = 233/287 [OO] = 287	[OM]/[MO] = 291/345 [OO] = 345	[O]/[M] = 289/235 [O] = 289
20	23,76	2,65	OPM/ PMO/ MOP	46	804,7	811,6/822,7	583,5/577,5 529,4/523,4 555,5/549,5	[OP]/[PO] = 329/303 [PM]/[MP] = 303/275 [MO]/[OM] = 275/329	[OP]/[PO] = 261/287 [PM]/[MP] = 233/261 [MO]/[OM] = 287/nd	[OP]/[PO] = 319/345 [PM]/[MP] = 291/319 [MO]/[OM] = 345/291	[O]/[P] = 289/263 [P]/[M] = 263/235 [M]/[O] = 235/289
			SOLa/ LaSO/ OLaS	46	804,7	811,6/822,7	611,5/605,5 529,4/523,4 527,5/521,5	[SO]/[OS] = 331/329 [LaS]/[SLa] = 247/331 [OLa]/[LaO] = 329/247	[SO]/[OS] = nd/nd [LaS]/[SLa] = 289/nd [OLa]/[LaO] = 205/287	[SO]/[OS] = 345/347 [LaS]/[SLa] = 347/263 [OLa]/[LaO] = 263/345	[S]/[O] = 291/nd [La]/[S] = 207/291 [O]/[La] = 289/207
21	28,89	0,14	PePePe	48	884,8	891,6/902,7	609,5/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289

22	31,29	0,71	OPO/ OOP	48	858,8	865,7/876,7	583,5/577,5 609,6/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [OO] = 329	[OP]/[PO] = 261/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [O] = 289
23	33,24	0,21	OPO/ OOP	48	832,8	839,7/850,6	583,5/577,5 557,5/551,5	[OP]/[PO] = 329/303 [PP] = 303	[OP]/[PO] = 261/287 [PP] = nd	[OP]/[PO] = 319/345 [PP] = 319	[O]/[P] = 289/263 [P] = 263
			MOS/ OSM/ SMO	48	832,8	839,7/850,7	555,5/549,4	[MO]/[OM] = 275/329	[MO]/[OM] = 287/nd	[MO]/[OM] = 345/291	[M]/[O] = 235/289
							611,5/605,5	[OS]/[SO] = 329/331	[OS]/[SO] = 289/nd	[OS]/[SO] = nd/345	[O]/[S] = 289/291
							557,5/551,5	[SM]/[MS] = 331/275	[SM]/[MS] = nd/nd	[SM]/[MS] = 291/nd	[S]/[M] = 291/235

C = ácido caprílico (C8:0); **Ca** = ácido capríco (10:0); **La** = ácido láurico (C12:0); **M** = ácido mirístico (C14:0); **Po** = ácido palmitoleico (C16:1); **P** = ácido palmítico (C16:0); **L** = ácido linoleico (C18:2); **O** = ácido oleico (C18:1 Δ^9); **P** = ácido petroselínico (C18:1 Δ^6); **S** = ácido esteárico (C18:0); **G** = ácido gadoleico (C20:1).

Figura 58 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha

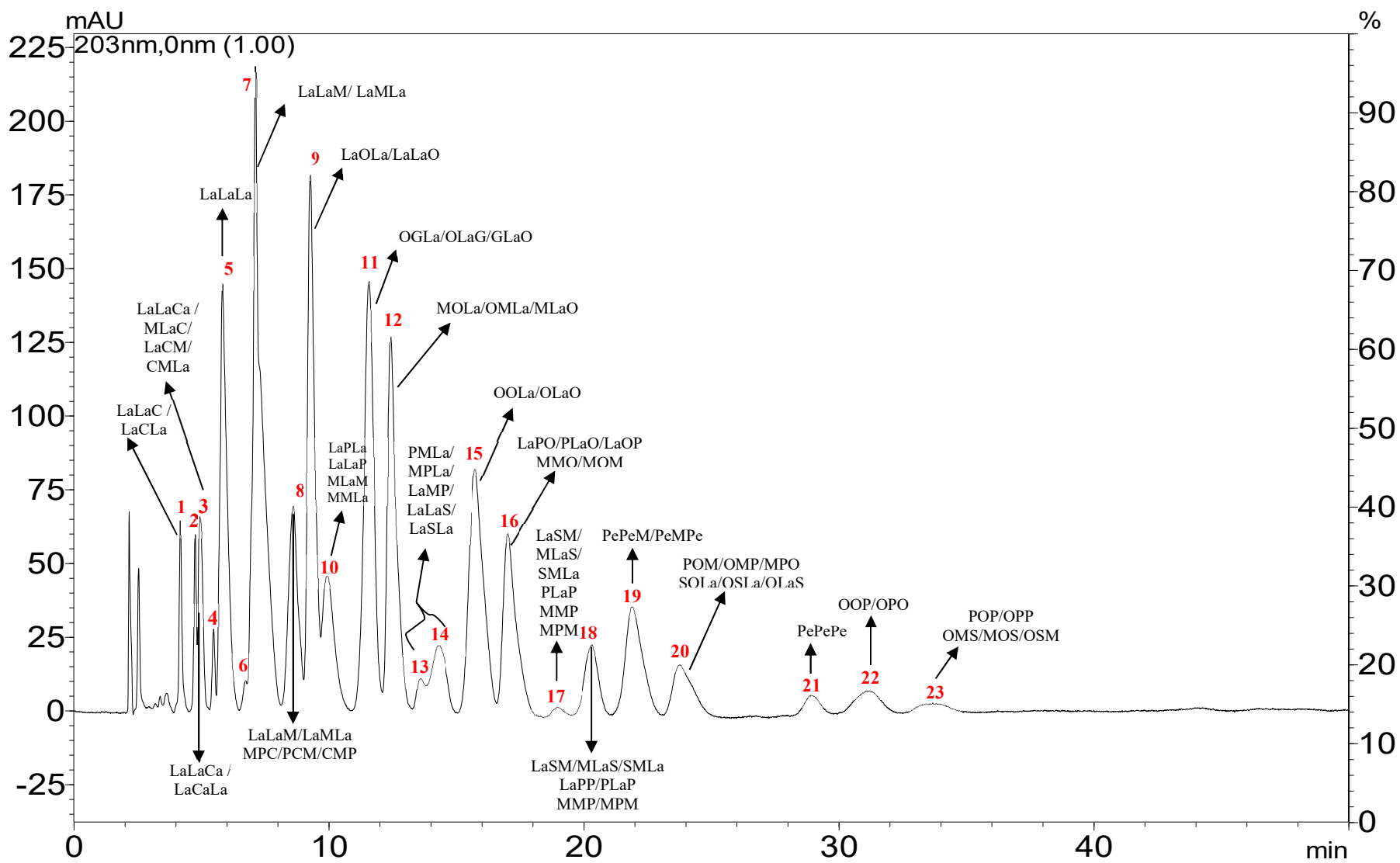


Tabela 15 - Identificação estrutural e caracterização regioespecífica de triacilglicerídeos presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã (OTA)

Pico	t _R (min)	Área %	TAG	ECNs	MM (Da)	MS	MS ²	MS ³ (1)	MS ³ (2)	MS ³ (3)	MS ³ (4/4a)
						[M+Li] ⁺ / [M+NH ₄] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H] ⁺ / [M+NH ₄ -RCO ₂ H-NH ₃] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R'CH=CHCO ₂ H] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R''CO ₂ CH ₂ CH=CH ₂] ⁺ m/z	[M+Li-RCO ₂ H- R'''CH=C=O] ⁺ m/z	[RCO ₂ H+ Li] ⁺ m/z
2	4,17	0,77	LaClLa/ LaLaC	32	582,5	589,5/600,5	389,3/383,2 445,3/439,3	[LaC]/[CLa] = 247/191 [LaLa] = 247	[LaC]/[CLa] = 149/205 [LaLa] = 205	[LaC]/[CLa] = 207/263 [LaLa] = nd	[La]/[C] = 207/151 [La] = 207
3	4,87	3,14	LaCaLa/ LaLaCa	34	610,5	617,5/628,5	417,3/411,3 445,4/439,3	[LaCa]/[CaLa] = 247/219 [LaLa] = 247	[LaCa]/[CaLa] = 177/205 [LaLa] = 205	[LaCa]/[CaLa] = 235/263 [LaLa] = 263	[La]/[Ca] = 207/179 [La] = 207
				34	610,5	617,5/628,5	473,3/467,3 389,3/383,3 417,3/411,3	[MLa]/[LaM] = 275/247 [LaC]/[CLa] = 247/191 [CM]/[MC] = 191/275	[MLa]/[LaM] = 205/233 [LaC]/[CLa] = nd/205 [CM]/[MC] = 233/149	[MLa]/[LaM] = 263/291 [LaC]/[CLa] = 207/263 [CM]/[MC] = 291/207	[M]/[L] = 235/207 [La]/[C] = 207/151 [C]/[M] = 151/235
			MLaC/ LaCM/ CMLa	34	610,5	617,5/628,5	417,3/411,3	[CM]/[MC] = 191/275	[CM]/[MC] = 233/149	[CM]/[MC] = 291/207	[C]/[M] = 151/235
5	5,83	6,19	LaLaLa	36	638,6	645,4/656,5	445,3/439,3	[LaLa] = 247	[LaLa] = 205	[LaLa] = 263	[La] = 207
6	7,12	11,31	LaMLa/ LaLaM	38	666,6	673,2/684,6	473,4/467,3 445,4/439,3	[LaM]/[MLa] = 247/275 [LaLa] = 247	[LaM]/[MLa] = 233/205 [LaLa] = 205,32	[LaM]/[MLa] = 291/263 [LaLa] = 263	[La]/[M] = 207/235 [La] = 207
8	9,17	6,81	LaPLa/ LaLaP	40	694,6	701,5/712,4	501,4/495,4 445,4/439,4	[LaP]/[PLa] = 247/303 [LaLa] = 247	[LaP]/[PLa] = nd/nd [LaLa] = 205,58	[LaP]/[PLa] = 319/263 [LaLa] = 263	[La]/[P] = 207/263 [La] = 207
				40	694,6	701,5/712,4	473,4/467,4 501,4/495,4	[MLa]/[LaM] = 275/247 [MM] = 275	[MLa]/[LaM] = 205/233 [MM] = nd	[MLa]/[LaM] = 263/291 [MM] = 291	[M]/[La] = 235/207 [M] = 235
			LaOLa/ LaLaO	40	720,6	727,6/738,6	527,5/521,4 445,4/439,3	[LaO]/[OLa] = 247/329 [LaLa] = 247	[LaO]/[OLa] = 287/205 [LaLa] = 205	[LaO]/[OLa] = 345/263 [LaLa] = 263	[La]/[O] = 207/289 [La] = 207
				40	720,6	727,6/738,6	527,5/521,4 445,4/439,3	[LaO]/[OLa] = 247/329 [LaLa] = 247	[LaO]/[OLa] = 287/205 [LaLa] = 205	[LaO]/[OLa] = 345/263 [LaLa] = 263	[La]/[O] = 207/289 [La] = 207
9	9,59	5,42	LaPLa/ LaLaP	40	694,6	701,6/712,5	501,4/495,4 445,4/439,4	[LaP]/[PLa] = 247/303 [LaLa] = 247	[LaP]/[PLa] = 261/nd [LaLa] = 205	[LaP]/[PLa] = 319/263 [LaLa] = 263	[La]/[P] = 207/263 [La] = 207
				40	694,6	701,6/712,5	473,4/467,4 501,4/495,4	[MLa]/[LaM] = 275/247 [MM] = 275	[MLa]/[LaM] = 205/233 [MM] = 233	[MLa]/[LaM] = 263/291 [MM] = 291	[M]/[La] = 235/207 [M] = 235
			MLaM/ MMLa	40	694,6	701,6/712,5	501,4/495,4	[MM] = 275	[MM] = 233	[MM] = 291	[M] = 235

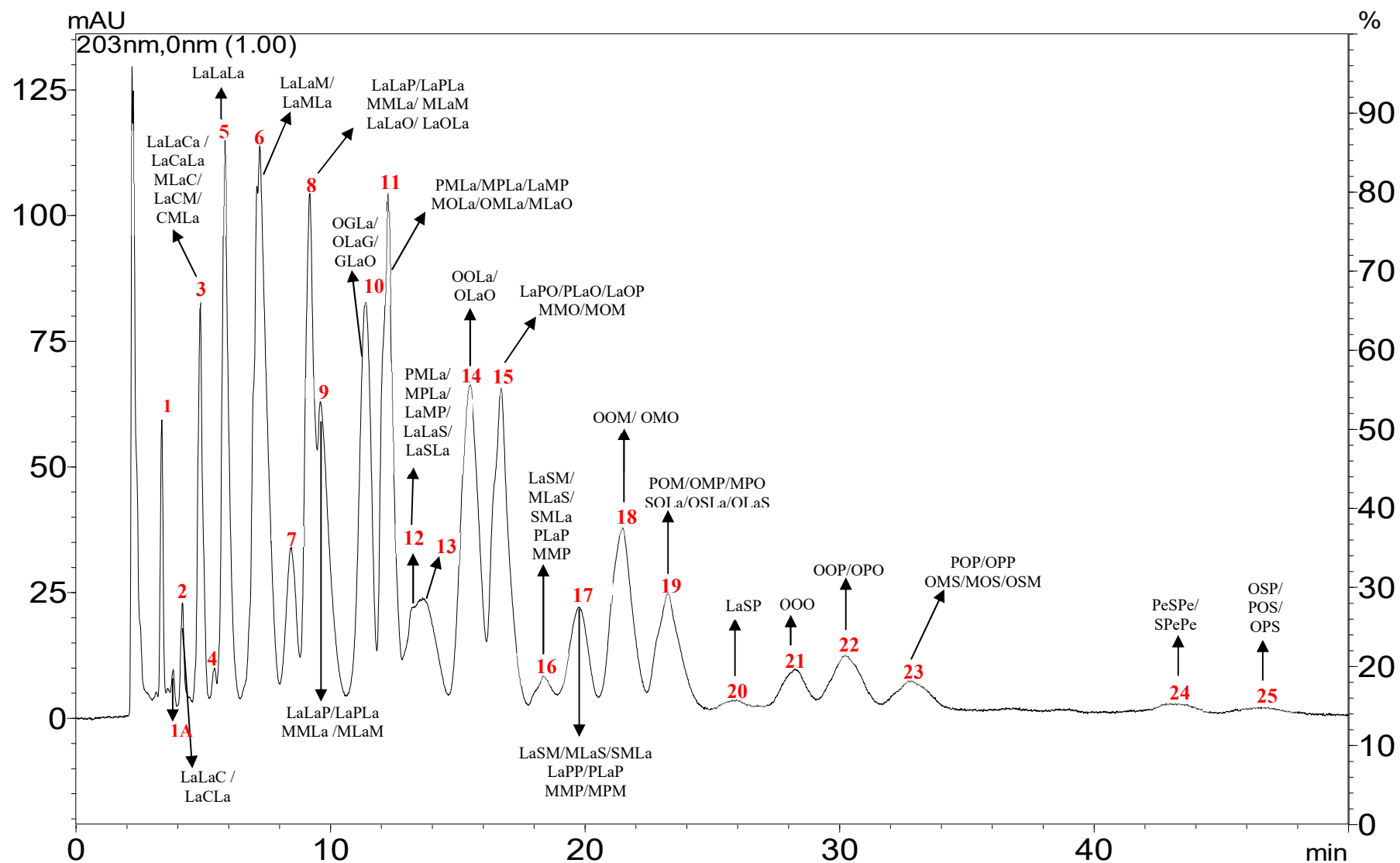
10	11,36	7,39	OGLa/ LaOG/ GLaO	46	830,7	837,6/848,6	637,5/631,3 527,3/521,5 555,4/549,3	[OG]/[GO] = 329/357 [LaO]/[OLa] = 247/329 [GLa]/[LaG] = 357/247	[OG]/[GO] = 315/287 [LaO]/[OLa] = nd/205 [GLa]/[LaG] = 205/315	[OG]/[GO] = 373/345 [LaO]/[OLa] = 345/263 [GLa]/[LaG] = 263/373	[O]/[G] = 289/317 [La]/[O] = 207/289 [G]/[La] = 317/207
11	12,24	8,51	PMLa/ MLaP/ LaPM	42	722,6	729,6/740,6	529,5/523,4 473,4/467,4 501,4/495,3	[PM]/[MP] = 303/275 [MLa]/[LaM] = 275/247 [LaP]/[PLa] = 247/303	[PM]/[MP] = nd/nd [MLa]/[LaM] = 205/233 [LaP]/[PLa] = 261/nd	[PM]/[MP] = 291/319 [MLa]/[LaM] = 263/291 [LaP]/[PLa] = 319/263	[P]/[M] = 263/nd [M]/[La] = 235/207 [La]/[P] = 207/263
			MOLa/ LaMO/ OLaM	42	748,7	755,5/766,6	555,5/549,4 473,4/467,4 527,5/521,4	[MO]/[OM] = 275/329 [LaM]/[MLa] = 247/275 [OLa]/[LaO] = 329/247	[MO]/[OM] = 287/233 [LaM]/[MLa] = 233/205 [OLa]/[LaO] = 205/287	[MO]/[OM] = 345/291 [LaM]/[MLa] = 291/263 [OLa]/[LaO] = 263/345	[M]/[O] = 235/289 [La]/[M] = 207/235 [O]/[La] = 289/207
12	13,62	4,66	PMLa/ MPLa/ LaPM	42	722,6	729,6/740,6	529,5/523,4 473,4/467,4 501,4/495,4	[PM]/[MP] = 303/275 [MLa]/[LaM] = 275/247 [LaP]/[PLa] = 247/303	[PM]/[MP] = 233/261 [MLa]/[LaM] = 205/233 [LaP]/[PLa] = 261/nd	[PM]/[MP] = 291/319 [MLa]/[LaM] = 263/291 [LaP]/[PLa] = 319/263	[P]/[M] = 263/235 [M]/[La] = 235/207 [La]/[P] = 207/263
			LaSLa/ LaLaS	42	722,6	729,7/740,6	529,5/523,5 445,4/439,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [LaLa] = 247	[LaS]/[SLa] = 289/205 [LaLa] = 205	[LaS]/[SLa] = 247/263 [LaLa] = 263	[La]/[S] = 207/291 [La] = 207
14	15,45	8,61	OLaO/ OOLa	44	802,7	809,7/820,7	527,4/521,4 609,5/603,5	[OLa]/[LaO] = 329/247 [OO] = 329	[OLa]/[LaO] = nd/287 [OO] = 287	[OLa]/[LaO] = 263/345 [OO] = 345	[O]/[La] = 289/207 [O] = 289
15	16,68	7,65	LaPO/ OLaP/ POLa	44	776,7	783,7/794,6	501,5/495,4 527,4/521,4 583,5/577,4	[LaP]/[PLa] = 247/303 [OLa]/[LaO] = 329/247 [PO]/[OP] = 303/329	[LaP]/[PLa] = 261/nd [OLa]/[LaO] = 205/287 [PO]/[OP] = 287/261	[LaP]/[PLa] = 319/263 [OLa]/[LaO] = 263/345 [PO]/[OP] = 345/319	[La]/[P] = 207/263 [O]/[La] = 289/207 [P]/[O] = 263/289
			MOM/ MMO	44	776,7	783,7/794,6	555,4/549,4 501,5/495,4	[MO]/[OM] = 275/329 [MM] = 275	[MO]/[OM] = 287/233 [MM] = 233	[MO]/[OM] = 345/291 [MM] = 291	[M]/[O] = 235/289 [M] = 235

16	18,32	0,92	LaSM/ MLaS/ SMLa	44	750,7	757,7/768,6	529,5/523,4 473,5/467,4 557,4/551,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [MLa]/[LaM] = 275/247 [SM]/[MS] = 331/275	[LaS]/[SLa] = 289/nd [MLa]/[LaM] = nd/233 [SM]/[MS] = 233/289	[LaS]/[SLa] = nd/263 [MLa]/[LaM] = 263/291 [SM]/[MS] = 291/347	[La]/[S] = 207/291 [M]/[L] = 235/nd [S]/[M] = 291/235
			PLaP	44	750,7	757,7/768,6	501,4/495,4 557,5/551,4	[PLa] = 303 [PP] = 303	[PLa] = nd [PP] = nd	[PLa] = 263 [PP] = 319	[P]/[La] = 263/207 [P] = 263
			MMP	44	750,7	757,7/768,6	529,5/523,4 501,4/495,4	[PM] = 303 [MM] = 275	[PM] = nd [MM] = 233	[PM] = 291 [MM] = 291	[P]/[M] = 235/263 [M] = 235
17	19,72	3,03	LaSM/ MLaS/ SMLa	44	750,7	757,6/768,6	529,4/523,4 473,4/467,4 557,5/551,4	[LaS]/[SLa] = 247/331 [MLa]/[LaM] = 275/247 [SM]/[MS] = 331/275	[LaS]/[SLa] = 289/205 [MLa]/[LaM] = 205/233 [SM]/[MS] = 233/289	[LaS]/[SLa] = 347/263 [MLa]/[LaM] = 263/291 [SM]/[MS] = 291/ nd	[La]/[S] = 207/291 [M]/[L] = 235/207 [S]/[M] = 291/235
			PLaP/ LaPP	44	750,7	757,6/768,6	501,4/495,4 557,5/551,4	[PLa]/[LaP] = 303/247 [PP] = 303	[PLa]/[LaP] = 205/261 [PP] = 261	[PLa]/[LaP] = 263/319 [PP] = 319	[P]/[La] = 263/207 [P] = 263
			MPM/ MMP	44	750,7	757,6/768,6	529,4/523,4 501,4/495,4	[MP]/[PM] = 275/303 [MM] = 275	[MP]/[PM] = 261/233 [MM] = 233	[MP]/[PM] = 319/291 [MM] = 291	[M]/[P] = 235/263 [M] = 235
18	21,45	5,74	OMO/ OOM	46	830,7	837,7/848,7	555,5/549,4 609,5/603,5	[OM]/[MO] = 329/275 [OO] = 329	[OM]/[MO] = 233/287 [OO] = 287	[OM]/[MO] = 291/345 [OO] = 345	[O]/[M] = 289/235 [O] = 289
19	23,23	4,04	OPM/ PMO/ MOP	46	804,7	811,7/822,6	583,5/577,5 529,5/523,4 555,4/549,4	[OP]/[PO] = 329/303 [PM]/[MP] = 303/275 [MO]/[OM] = 275/329	[OP]/[PO] = 261/287 [PM]/[MP] = 233/261 [MO]/[OM] = 287/nd	[OP]/[PO] = 319/345 [PM]/[MP] = 291/319 [MO]/[OM] = 345/nd	[O]/[P] = 289/263 [P]/[M] = 263/235 [M]/[O] = 235/289
			SOLa/ LaSO/ OLaS	46	804,7	811,7/822,6	611,5/605,5 529,5/523,4 527,4/521,4	[SO]/[OS] = 331/329 [LaS]/[SLa] = 247/331 [OLa]/[LaO] = 329/247	[SO]/[OS] = 287/289 [LaS]/[SLa] = 289/205 [OLa]/[LaO] = 205/287	[SO]/[OS] = 345/347 [LaS]/[SLa] = 347/263 [OLa]/[LaO] = 263/345	[S]/[O] = 291/289 [La]/[S] = 207/291 [O]/[La] = 289/207
20	25,81	0,42	LaSP	46	778,7	785,6/796,6	529,5/523,4 501,4/495,4 585,5/579,5	*** *** ***	*** *** ***	*** *** ***	*** *** ***
21	28,23	1,61	OOO	48	884,8	891,7/902,7	609,5/603,5	[OO] = 329	[OO] = 287	[OO] = 345	[O] = 289

22	30,22	2,46	OPO/ OOP	48	858,8	865,7/876,7	583,6/577,5 609,5/603,5	[OP]/[PO] = 329/303 [OO] = 329	[OP]/[PO] = 261/287 [OO] = 287	[OP]/[PO] = 319/345 [OO] = 345	[O]/[P] = 289/263 [O] = 289
23	32,70	1,39	POP/ OPP	48	832,8	839,7/850,6	583,5/577,5 557,5/551,5	[PO]/[OP] = 303/329 [PP] = 303	[PO]/[OP] = 287/nd [PP] = 261	[PO]/[OP] = 345/319 [PP] = 319	[P]/[O] = 263/289 [P] = 263
			OMS/ SOM/ MSO	48	832,8	839,7/850,6	555,5/549,5	[OM]/[MO] = 329/275	[OM]/[MO] = nd/287	[OM]/[MO] = 291/345	[O]/[M] = 289/235
							611,5/605,4 557,5/551,5	[SO]/[OS] = 331/329 [MS]/[SM] = 275/331	[SO]/[OS] = 287/289 [MS]/[SM] = 289/233	[SO]/[OS] = 345/347 [MS]/[SM] = nd/291	[S]/[O] = 291/289 [M]/[S] = 235/291
24	42,98	0,44	PeSPe/ PePeS	50	886,8	893,6/904,6	611,5/605,5 609,5/603,5	[OS]/[SO] = 329/331 [OO] = 329	[OS]/[SO] = 289/287 [OO] = 287	[OS]/[SO] = 347/345 [OO] = 345	[S]/[O] = 291/289 [O] = 289
25	46,69	0,18	SOP/ PSO/ OPS	50	860,8	867,2/878,4	611,5/605,5	[SO]/[OS] = 331/329	[SO]/[OS] = 287/289	[SO]/[OS] = 345/347	[O]/[S] = 289/291
							585,5/579,5	[PS] = 303	[PS] = nd	[PS] = nd	[P]/[S] = 263/nd
							583,5/577,5	[OP]/[PO] = 329/303	[OP]/[PO] = 261/287	[OP]/[PO] = 319/345	[O]/[P] = 289/263

C = ácido caprílico (C8:0); **Ca** = ácido caprico (10:0); **La** = ácido láurico (C12:0); **M** = ácido mirístico (C14:0); **Po** = ácido palmitoleico (C16:1); **P** = ácido palmítico (C16:0); **L** = ácido linoleico (C18:2); **O** = ácido oleico (C18:1 Δ^9); **P** = ácido petroselínico (C18:1 Δ^6); **S** = ácido esteárico (C18:0); **G** = ácido gadoleico (C20:1).

Figura 59 - Identificação e caracterização regioespecífica por EM dos TAGs presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã



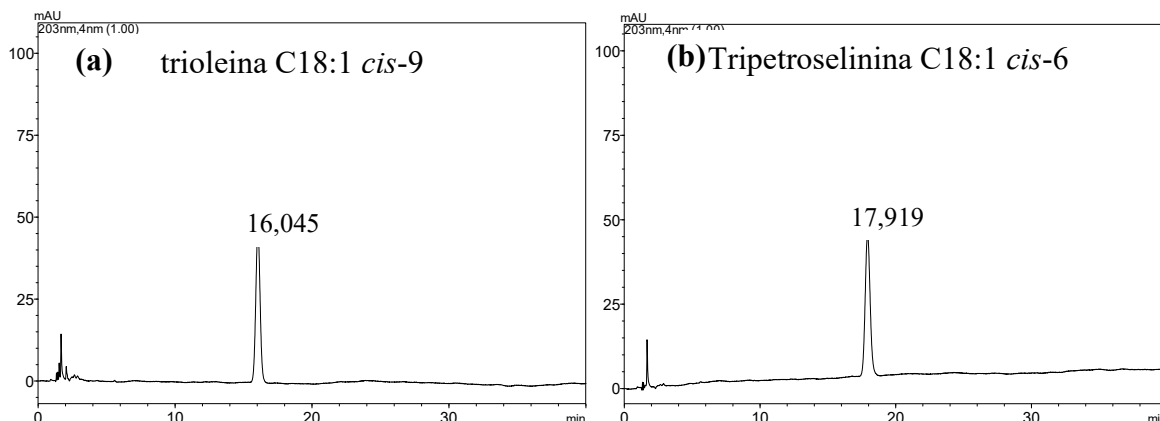
Ao analisarmos todas as tabelas de identificação e caracterização de triacilglicerídeos presentes tanto nas polpas quanto nas amêndoas, assim como seus respectivos perfis cromatográficos, observou-se coerências nas ordens de eluição dos triacilglicerídeos.

Tendo em vista que as separações de triacilglicerídeos ocorrem com base nas massas moleculares e no grau de insaturação que cada um apresenta, observou-se valores de ECNs (número equivalente de carbonos) em ordem crescente com exceção dos triacilglicerídeos constituídos por ácido gadoleico (G) encontrados na amostra 15 de OBPS (tabela 11), 19 de OTPS (tabela 13), 11 de OPA (tabela 14) e 10 de OTA (tabela 15) que foram encontrados com valores de ECNs não sequenciados. As ordens de eluições dos demais triacilglicerídeos segundo os valores de ECNs seguem as mesmas ordens observadas em resultados descritos na literatura como nos trabalhos de FAUCONNOT et al., (2004), HU et al., (2014), LERMÁ-GARCÍA et al., (2011) LÍSA E HOLCAPEK (2008), PARK et al., (2010), WEI et al., (2013), ZEB & MURKOVIC (2010) e ZHOU et al., (2013), que descrevem análises qualitativas e quantitativas de triacilglicerídeos em amostras de óleos e gorduras vegetais.

Um fato observado em todas as análises por CLAE foi a separação cromatográfica não usual de diferentes triacilglicerídeos contendo os mesmos ácidos graxos, por exemplo os pares regioisoméricos de triacilglicerídeo PPO/POP identificado nas amostras 20 e 21 de OTPS (tabela 13), 32 e 33 de OPPS (tabela 12) e 16 e 17 de OBPS (tabela 11). Essas separações de triacilglicerídeo PPO/POP em tempos de retenções diferentes podem estar relacionadas com as diferenças das localizações da dupla ligação na cadeia carbônica dos isômeros de ácido oleico (C18:1 *cis*-9) e ácido petroselinico (C18:1 *cis*-6) formando dois triacilglicerídeos POP e dois triacilglicerídeos PPO diferentes.

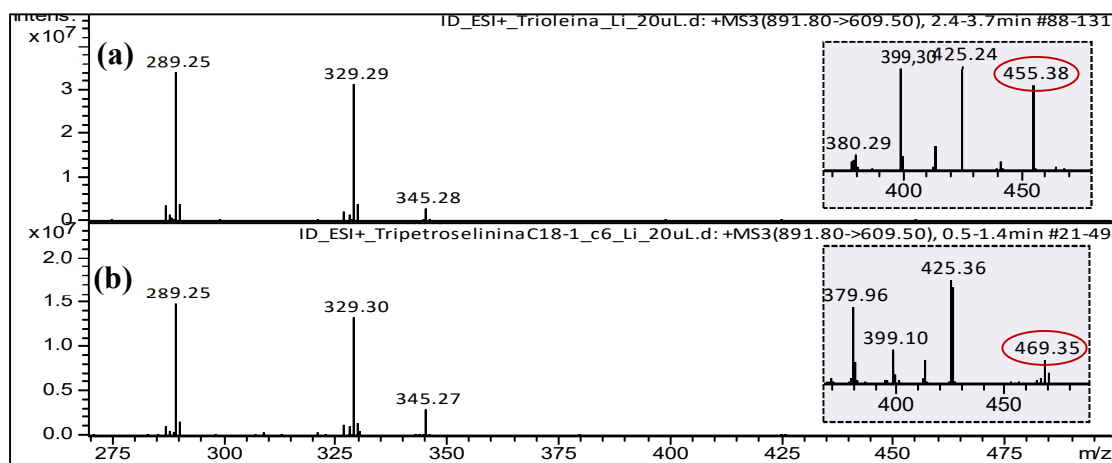
Para explicar tal observação, decidiu-se realizar análises por CLAE nas mesmas condições com padrões de triacilglicerídeo OOO (trioleína C18:1 *cis*-9), que apresentam ácidos oléicos com insaturação no carbono 9 e triacilglicerídeo OOO (tripetroselinina C18:1 *cis*-6) que apresentam ácidos oléicos com insaturação no carbono 6, devido a diferença nas posições das duplas ligações, esse último foi codificado como PePePe. Nas análises por CLAE observou-se que esses triacilglicerídeos apresentaram tempos de retenções diferentes (figura 60) comprovando então a hipótese levantada, onde observou-se diferenças nos tempos de retenção de isômeros de triacilglicerídeos, mas que se diferenciavam apenas nas posições das duplas ligações dos ácidos graxos que os constituem.

Figura 60 - Análises por CLAE de padrões de trioleína (C18:1 *cis*-9) (a) e Tripetroselinina (C18:1 *cis*-6) (b). Concentração 1mg/mL, volume 10 μ L, coluna C30, sistema de eluição: C: ACN; D: Hex/I-PrOH (5:4), C/D: 60:40

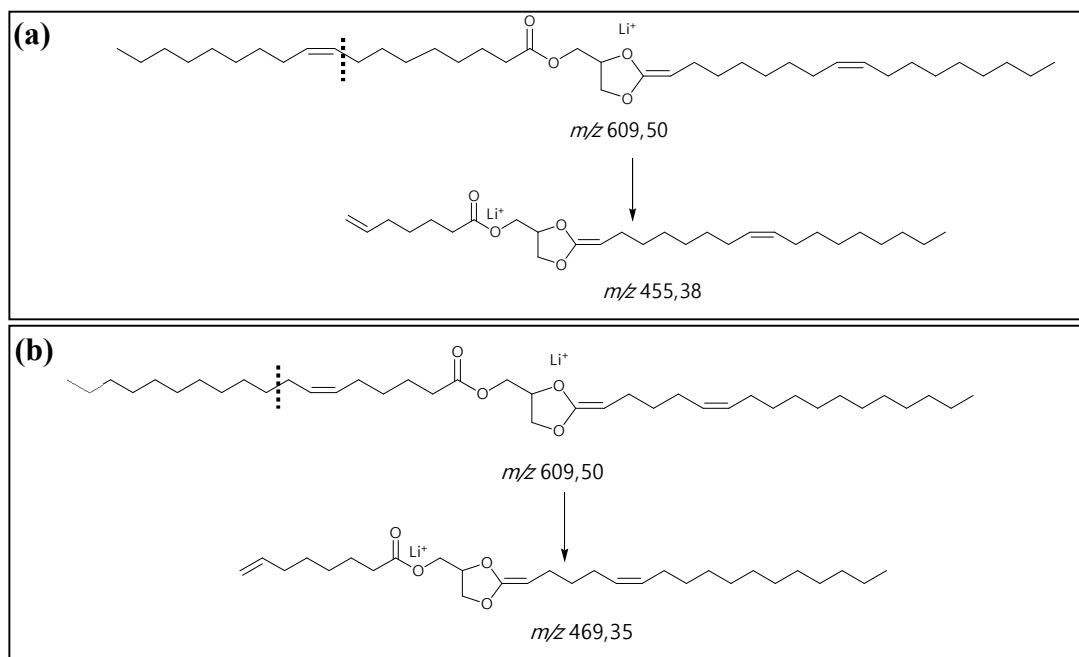


Para identificar os íons fragmentos que discriminam as espécies de triacilglicerídeos OOO (trioleína) e PePePe (tripetroselinina) pela posição da dupla ligação presente no ácido oleico, realizou-se uma ampliação dos espectros em MS³ de padrões de trioleína (C18:1 *cis*-9) e tripetroselinina (C18:1 *cis*-6) (figura 61a e figura 61b). A partir dos resultados obtidos, observou-se os íons fragmentos m/z 455 (trioleína) e m/z 469 (tripetroselinina) obtidos pela fragmentação do diacilglicerídeo m/z 609 ($891 \rightarrow 609$) sendo estes os íons fragmentos que localizam as duplas ligações nas cadeias carbônicas dos ácidos oléicos e que distingui os triacilglicerídeos OOO (C18:1 *cis*-9) e PePePe (C18:1 *cis*-6) (esquema 4).

Figura 61 - Ampliação dos espectros de massas em MS³ para Trioleína (a) e tripetroselinina (C18:1 *cis*-6) (b), indicando os íons fragmentos que determinam a posição da dupla ligação no ácido oleico

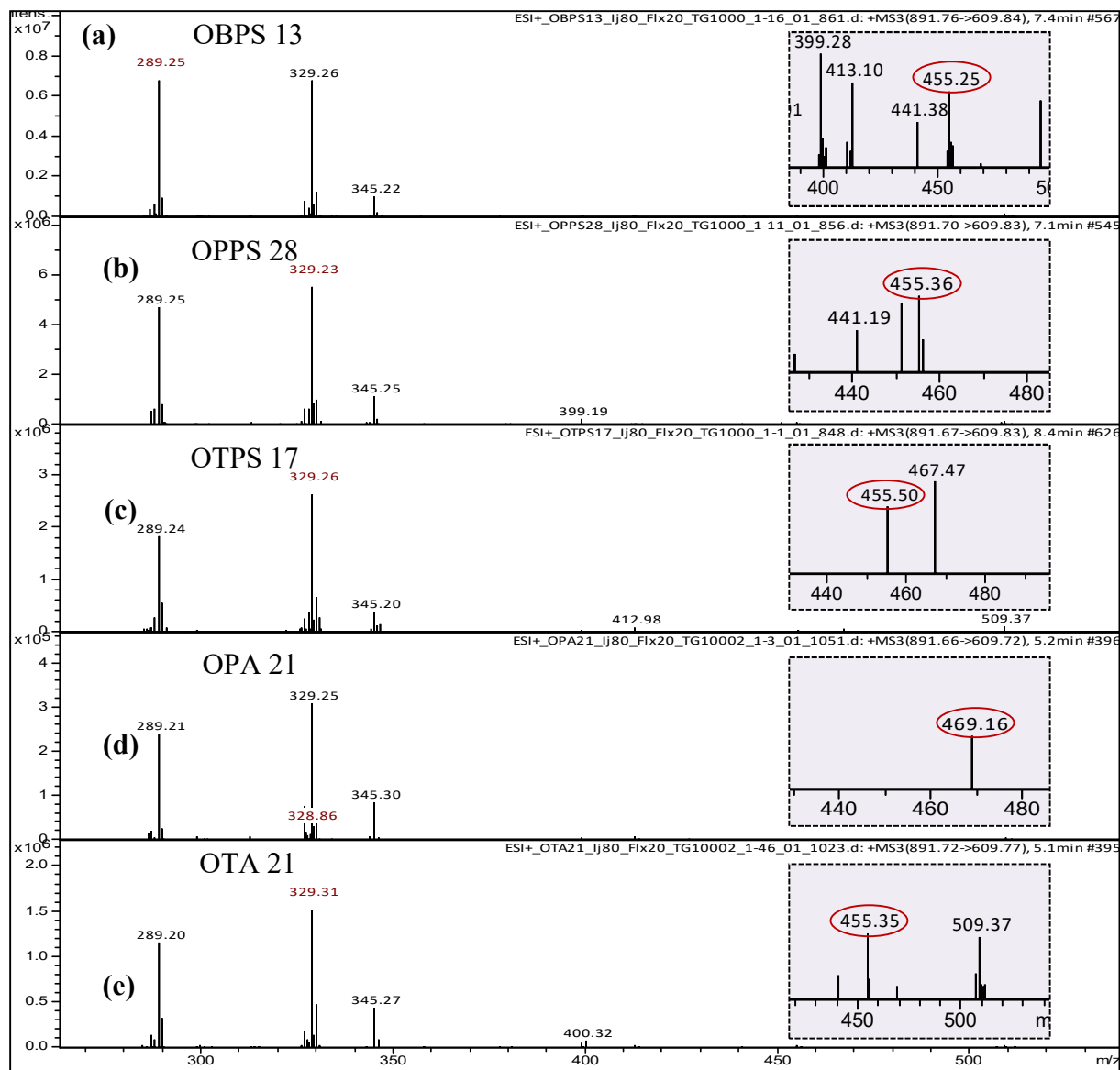


Esquema 4 - Proposta mecanística de fragmentação do íon fragmento m/z 609 para localização de dupla ligação da trioleína (C18:1 *cis*-9) (a) e tripetroselinina (C18:1 *cis*-6) (b)



Ao realizar-se ampliações dos espectros de massas em MS³ dos íons fragmentos [OO] m/z 609 dos triacilglicerídeos OOO identificados em todas as amostras de óleos das polpas e amêndoas dos frutos (figura 62a-e) observou-se a presença do triacilglicerídeo trioleína (C18:1 *cis*-9) em quase todos os óleos, uma vez que foi observado o íon fragmento m/z 455 referente a clivagem da dupla ligação na posição 9 da cadeia carbônica do ácido oleico. Diferente desses, foi identificado o triacilglicerídeo tripetroselinina (C18:1 *cis*-6) no óleo da amêndoa de pupunha (OPA), apresentando esse, o íon fragmento m/z 469 referente a clivagem da dupla ligação na posição 6 da cadeia carbônica do ácido petroselínico C18:1 *cis*-6.

Figura 62 - Ampliações dos espectros de massas em MS³ de OOO presentes nas amostras OBPS 13 (a) OPPS 28 (b) OTPS 17 (c) OPA 21 (d) e OTA 21 (e)



O íon fragmento m/z 469 também foi identificado em espectros de massas de MS³ de íons fragmentos de diacilglicerídeo [OO] obtidos de triacilglicerídeos PPePe/PePpe identificados na amostra 14 do óleo da polpa de bacaba (figura 63), SPePe/PeSPe identificados na amostra 34 do óleo da polpa de pupunha (figura 64), PeLPe/PeLL identificados na amostra 13 do óleo da polpa de tucumã (figura 65), PePeM/PeMpe identificados na amostra 19 do óleo da amêndoa de pupunha (figura 66) e PeSPe identificado na amostra 24 do óleo da amêndoa de tucumã (figura 67). A identificação deste íon fragmento confirma a presença de ácido petroselinico (C18:1 *cis*-6) nas amostras de óleo das polpas e amêndoas dos frutos analisados.

Figura 63 - Espectro de massas em MS³ (865 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis POO/OPO identificado na amostra 14 do óleo da polpa de bacaba

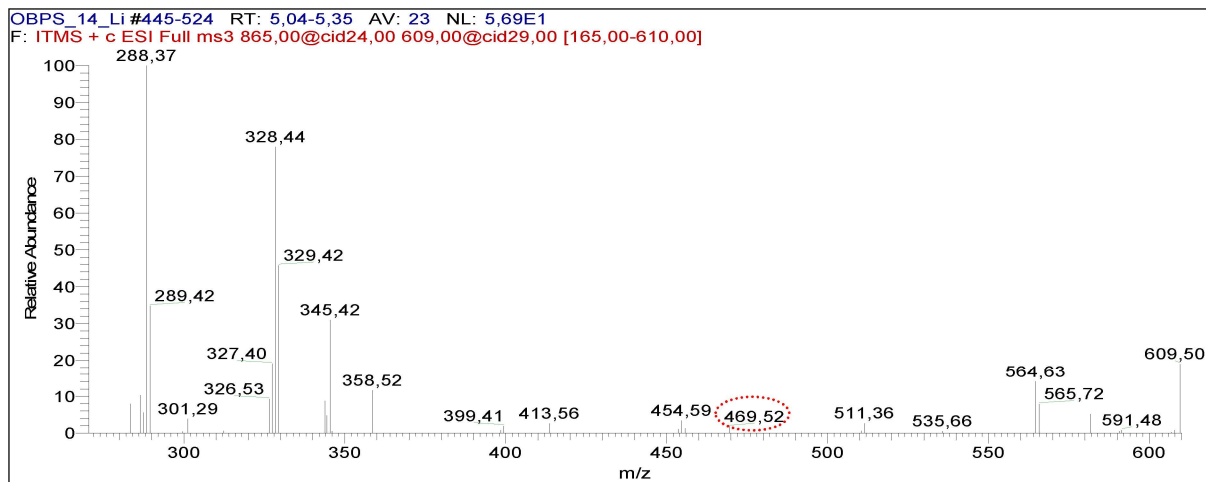


Figura 64 - Espectro de massas em MS³ (893 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis SOO/OSO identificado na amostra 34 do óleo da polpa de pupunha

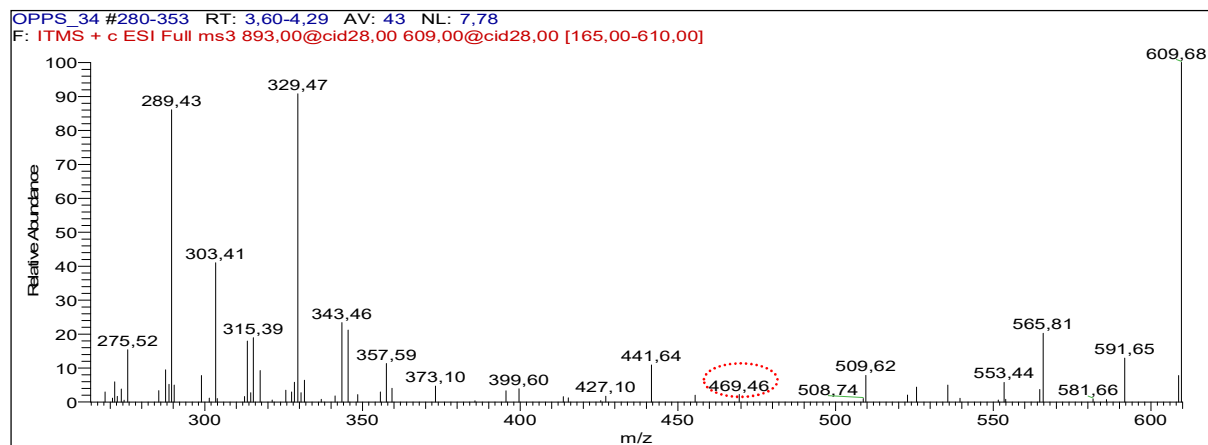


Figura 65 - Espectro de massas em MS³ (889 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis LOO/OLO identificado na amostra 13 do óleo da polpa de tucumã

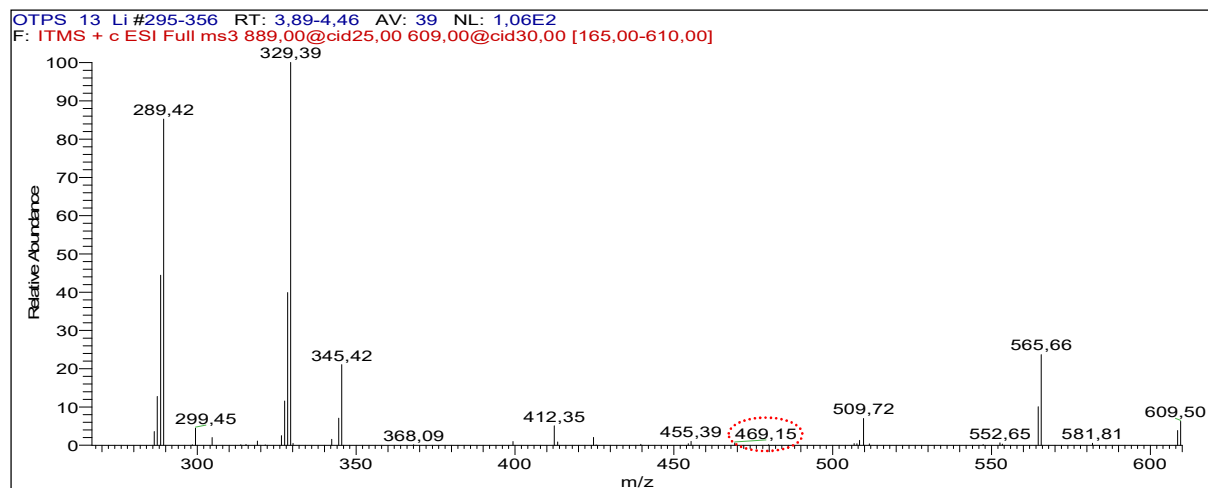


Figura 66 - Espectro de massas em MS3 (837 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido dos triacilgliceróis MOO/OMO identificado na amostra 19 do óleo da amêndoa de pupunha

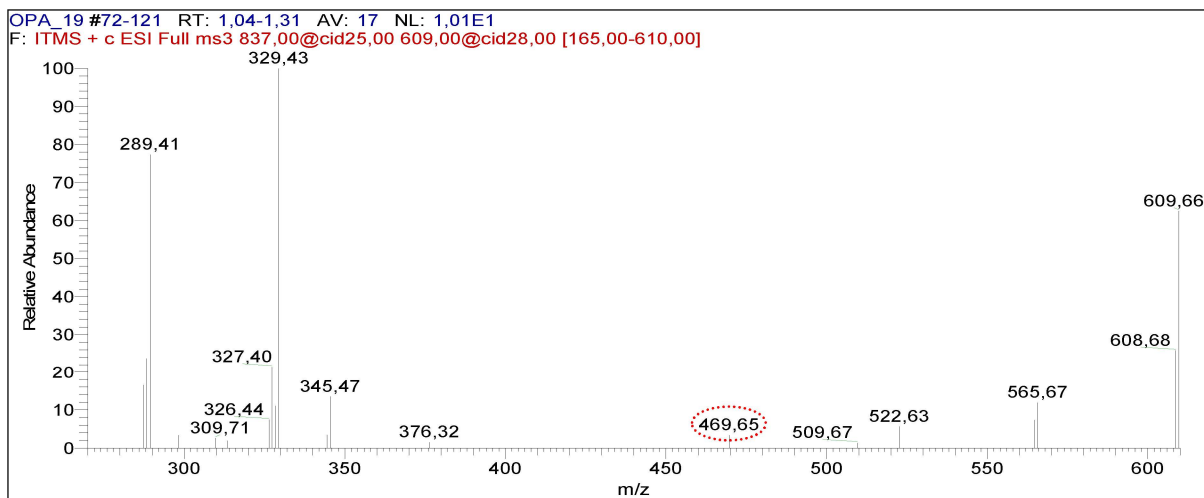
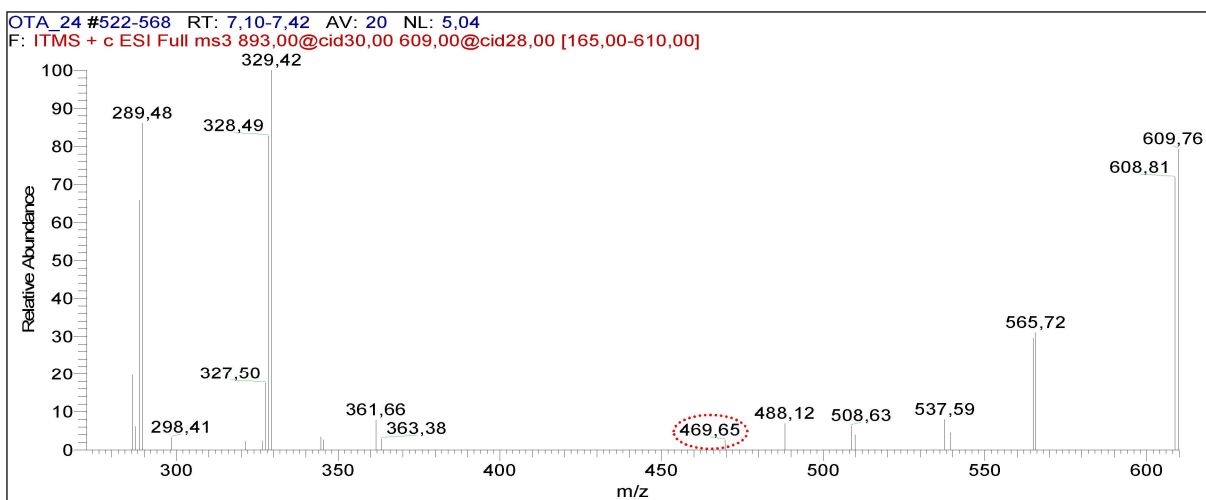
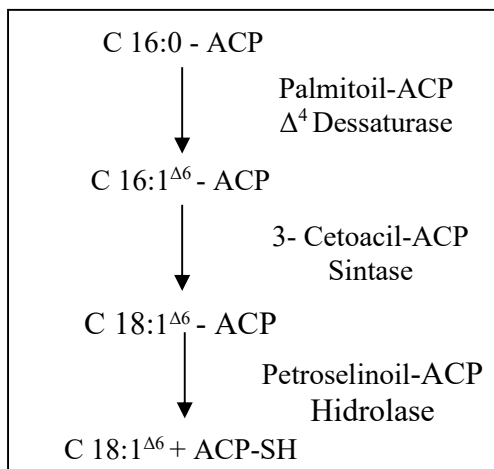


Figura 67 - Espectro de massas em MS3 (893 → 609) do íon fragmento de diacilglicerídeo [OO] obtido do triacilglicerídeo OSO identificado na amostra 24 do óleo da amêndoa de tucumã



O ácido petroselínico é biossintetizado a partir do ácido palmítico (C16:0) através da ação de três enzimas específicas (esquema 4). Na rota biossintética, primeiramente a enzima acil-ACP dessaturase introduz uma dupla ligação *cis* na posição Δ^4 do palmitoil-ACP, posteriormente o 16:1 *cis*- Δ^4 é alongado para produzir petrocelinoil-ACP e ao final uma enzima tioesterase acil-ACP altamente seletiva para o petrocelinoil-ACP libera o ácido petroselínico do ACP para que possa ser incorporado em moléculas de triacilglicerídeos armazenados (OHLROOGGE, 1994).

Esquema 5 - Rota biossintética do ácido petroselínico



Estudos realizados por AVATO e colaboradores (2001) identificaram o ácido petrosilínico como sendo o principal ácido graxo presente na forma de triacilglicerídeos nos óleos de frutos de plantas silvestres pertencentes a diversas espécies de *Thapsia* (Apiaceae). Esse, segundo CAHOON e colaboradores (1992) apresenta uma grande importância na indústria, uma vez que a clivagem da ligação dupla na posição 6 torna-o precursor do ácido láurico (C12:0), que é um dos componentes de detergentes e surfactantes e precursor do ácido adípico (C6:0 dicarboxílico) sendo esse um componente monomérico do nylon 66.

6. CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou uma abordagem simples, rápida e eficiente no processo de separação, identificação e caracterização regioespecífica de diferentes triacilglicerídeos, através da combinação do uso da cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa não aquosa com a espectrometria de massas com fragmentação sequenciada utilizando ionização por electrospray com o auxílio de sais de lítio e amônio e analisador do tipo ion-trap.

Quando comparada às técnicas mais utilizadas na determinação de perfis graxos de óleos e gorduras que envolvem a derivatização das amostras em ésteres metílicos e análise por cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massas de quadrupolo simples, a técnica apresentada permitiu não apenas resolver os diferentes regioisômeros de TAG presentes, mas também identificar ácidos graxos minoritários que não puderam ser identificados por análises de FAMES em CG-EM ou CG-DIC, como foi o caso dos ácidos petroselínico e gadoleico.

Ao todo, na caracterização lipídica dos óleos de frutos de três espécies de palmeiras oleaginosas nativas da Amazônia, bacaba (*Oenorcapus bacaba* Mart), pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey), foi possível identificar 30 triacilglicerídeos presentes no óleo das polpas dos frutos de bacaba, 43 triacilglicerídeos no óleo das polpas dos frutos de pupunha, 44 triacilglicerídeos no óleo das polpas dos frutos de tucumã, 73 triacilglicerídeos no óleo das amêndoas dos frutos pupunha e 75 triacilglicerídeos presentes no óleo das amêndoas dos frutos de tucumã. Isso demonstra a grande diversidade estrutural envolvida na análise de triacilglicerídeos presentes em óleos vegetais amazônicos.

A análise regioespecífica permitiu identificar que os óleos provenientes das polpas de todos os frutos estudados são ricos em triacilglicerídeos contendo ácidos graxos monoinsaturados esterificados na posição sn-2, tais como oleico (C18:1 *cis*-9) e/ou ácido petroselínico (C18:1 *cis*-6), palmitoleico (C16:1) e ácidos graxos essenciais linoléico (C18:2 ω 6) e linolênico (C18:3 ω 3), esses últimos identificados nos óleos das polpas de tucumã. Isso confirma o potencial lipídico dos óleos das polpas dessas espécies, especialmente para fins alimentares, uma vez que esses ácidos graxos insaturados, quando esterificados na posição sn-2 de triacilglicerídeos, possuem importantes propriedades para a nutrição humana.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMAYA, D.B.R. A guide to carotenoid analysis in foods. **ILSI press**, 2001.
- AVATO, P.; FANIZZI, F.P.; ROSITO, I. The Genus *Thapsia* as a Source of Petrocelinic acid. **Lipids**, v. 36, n. 8, p. 848–850, 2001.
- BARRETO, C.A. Óleo e biodiesel de uricuri (*Scheelea phalerata* Mart. Spreng). 2010. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas.
- BATAGLION, G.A.; SILVA, F.M.S.; SANTOS, J.M.; SANTOS, F.N.; BARCIA, M.T.; LOURENÇO, C.C.; SALVADOR, M.J.; GODOY, H.T.; EBERLIN, M.N.; KOOLEN, H.H.F. Comprehensive characterization of lipids from Amazonian vegetable oils by mass spectrometry techniques. **Food Research International**, v. 64, p. 472–481, 2014.
- BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Food Chemistry. **Springer**, 3rd rev. ed, 1070 p, 2004.
- BOURHIS, C.L.; ZIVI, O.; LECAMP, L.; BUNEL, C. LANGE, C.M. Contribution of two approaches using electrospray ionization with multi-stage mass spectrometry for the characterization of linseeds oil. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v.23, p. 3743-3752, 2009.
- BRUCE, P. Y. Química orgânica. **Pearson Prentice Hall**, 4 ed, v.2, São Paulo, 2006.
- BRUM, A.A.S.; ARRUDA, L.F.; ARCE, M.A.B.R. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009.
- BUCHGRABER, M.; ULBERTH, F.; EMONS, H.; ANKLAM, E. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, n. 9, p. 621–648, 2004.
- CAMPBELL, M.K.; FARREL, S. O. Bioquímica. **Cengage Learning**, 1 ed, V. 1, São Paulo, 2007, 263p.
- CAHOON, E.B.; SHANKLIN, J.; OHLROGGE, J.B. Expression of a coriander desaturase results in petroselinic acid production in transgenic tobacco. **Proceedings of the National Academy of Science**. USA, v. 89, p. 11184-11188, 1992.
- CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.
- CLAY, J.W.; SAMPAIO, P.T.B.; CLEMENT, C.R. Biodiversidade Amazônica. **Programa de Desenvolvimento Empresarial e tecnológico**, 1 ed, Manaus, 409p, 2000.

CLEMENT, C.R.; LLERAS, E; LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: Acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociência**, v. 4, n. 1 e n. 2, p. 66-71, 2005.

CONNOR, W.E. Importance of n-3 fatty acid in health and diseases. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, (suppl): 171-5S, 2000.

COSTA, W.A.; OLIVEIRA, M.S.; SILVA, M.P.; CUNHA, V.M.B.; PINTO, R.H.H.; BEZERRA, F.W.F.; JUNIOR, R.N.C. Açaí (*Euterpe oleracea*) and Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) as Functional Food. **Superfood and Functional food- An Overview of their Processing and Utilization**. <http://dx.doi.org/10.5772/65881>.

COUTINHO, D.J. G.; BARBOSA, M.O.; SOUZA, R.J.C.; SILVA, A.S.; SILVA, S.I.; OLIVEIRA, A.F.M. Biodiesel potential of the seed oils from some Brazilian native Euphorbiaceae species. **Renewable Energy**, v. 91, p. 275–281, 2016.

COZZOLINO, R.; GIULIO, B. D. Application of ESI and MALDI-TOF MS for triacylglycerols analysis in edible oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 2, p. 160–167, 2011.

CHRISTIE, W.W.; HAN, X. Lipid analysis: Isolation, separation, identification and lipidomic analysis. **Woodhead Publishing**, 4 ed, 428 p, 2016.

CUNHA, S. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Discrimination of vegetable oils by triacylglycerols evaluation of profile using HPLC/ELSD. **Food Chemistry**, v. 95, n. 3, p. 518–524, 2006.

D’AGOSTINI, D.; GIOIELLI, L. A. Distribuição estereoespecífica de lipídios estruturados a partir de gorduras de palma, palmiste e triacilgliceróis de cadeia média. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 3, 2002.

DILLON, J. T.; APONTE, J. C.; TAROZO, R.; HUANG, Y. Efficient liquid chromatographic analysis of mono-, di-, and triglycerols using silver thiolate stationary phase. **Journal of Chromatography A**, v. 1240, p. 90–95, 2012.

DUBOIS, V.; BRETON, S.; LINDER, M.; FANNI, J.; PARMENTIER M. Fatty acid profile of 80 vegetable oil with regard to their nutritional potential. **European Journal of Lipids Science and Tecnolog**, v. 109, p. 710–732, 2007.

DUGO, P.; KUMM, T.; CRUPI, M.L.; COTRONEO, A.; MONDELLO, L. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography combined with mass spectrometry detection in the analyses of triacylglycerol in natural lipidic matrixes. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, p. 269-275, 2006.

DWICK, P. M. Medicinal natural products. **Wiley**, 2 ed, 515p, 2002.

FASINA, O. O.; CRAIG-SCHMIDT, M.; COLLEY, Z.; HALLMAN, H. Predicting melting characteristics of vegetable oils from fatty acid composition. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1501–1505, 2008.

FAUCONNOT, L.; HAU, J.; AESCHLIMANN, J.-M.; FAY, L.-B.; DIONISI, F. Quantitative analysis of triacylglycerol regioisomers in fats and oils using reversed-phase high- performance liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry: RCM**, v. 18, n. 2, p. 218–224, 2004.

FERNANDES, A. M. A. P.; FERNANDES, G. D.; BARRERA-ARELLANO, D.; et al. Desorption/ionization efficiencies of triacylglycerols and phospholipids via EASI-MS. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 49, n. 5, p. 335–341, 2014.

FINCO, F. D. B.A.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R.; TSENG, W.; BOSER, S.; GRAEVER, L. Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MSⁿ. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7665–7673, 2012.

GERBIG, S.; TAKÁTS. Analysis of triglycerides in food items by desorption electrospray ionization mass spectrometry. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 24, p. 2186–2192, 2010.

GONZALEZ, W.A.; MACHADO, C.R.; BARRETO, E.J.F.; DALL’OGLIO, E.L.; CORREIA, J.C.; BORGES, L.E.P.; ALMEIDA, M.D.; PASTURA, N.M.R.; MENDONÇA, N.B.; JUNHO, P.T.S.; NUNES, P.P.; SILVA, R.M.; SOUZA, R.O.L.; RODRIGUES, V. Biodisel e óleo vegetal in natura: solução energetica para a Amazônia. **Ministerio de Minas e Energia**, 1 ed, 170 p, 2008.

GREENVENBROEK, M.M.J.; BRUIM, T.W.A. Chylomicron synthesis by intestinal cells in vitro and in vivo. **Atherosclerosis**, v. 141, Suppl. 1 S90-S16, 1998.

GURR, M.I.; HARWOOD, J.L.; FRAYN, K.N. Lipid Biochemistry. **Blackwell Science**, 5 ed, 320 p, 2002.

GUSTONE, F. D. Oils and fats in the foods industry. **Wiley-Brackwell**. 2008.

HÁKOVÁ, E.; VRKOSLAV, V.; MÍKOVÁ, R.; SCHWARZOVÁ-PECKOVÁ, K.; BOSÁKOVÁ, Z.; CVAČKA, J. Localization of double bonds in triacylglycerols using high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization ion-trap mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, p. 5175–5188, 2015.

HEMPEL, J.; AMREHN, E.; QUESADA, S.; ESQUIVEL, R.; JIMÉNEZ, V.M.; HELLER, A.; CARLE, R.; SCHWEIGGERT, R.M. Lipid-dissolved γ -carotene, β -carotene, and lycopene in

globular chromoplasts of peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) fruits. **Plants**, v. 240, p. 1037-1050, 2014.

HERRERA, L. C.; POTVIN, M. A.; MELANSON, J. E. Quantitative analysis of positional isomers of triacylglycerols via electrospray ionization tandem mass spectrometry of sodiated adducts. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24 n. 18, p. 2745-2752, 2010.

HERREIRA, L.C.; RAMALEY, L.; POTVIN, M.A.; MALANSON, J.E. A method for determining regioisomer abundances of polyunsaturated triacylglycerols in Omega-3 enriched fish oils using reversed-phase liquid chromatography and triple-stage mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 139, p. 655-662, 2013.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. Mass Spectrometry-Principles and applications. **Wiley**, 3rd ed, 287 p, 2007.

HOLČAPEK, M.; JANDERA, P.; ZDERADIČHA, P.; HRUBÁ, L. Characterization of triacylglycerol and diacylglycerol composition of plant oils using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1010, p. 195-215, 2003.

HOLČAPEK, M.; DVOŘÁKOVÁ, H.; LÍSA, M.; GIRÓN, A. J.; SANDRA, P.; CVAČKA, J. Regioisomeric analysis of triacylglycerols using silver-ion liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry: Comparison of five different mass analyzers. **Journal of Chromatography A**, v. 1217 n. 52, p. 8186-8194, 2010.

HU, N.; WEI, F.; LV, X.; WU, L.; DONG, X-Y.; CHEN, H. Profiling of triacylglycerols in plant oils by high-performance liquid chromatography-atmosphere pressure chemical ionization mass spectrometry using a novel mixed-mode column. **Journal of Chromatography B**, v. 972 n. 1, p. 65-72, 2014.

HUNTER, J.E. Studies on Effects of Dietary Fatty Acid as Related to Their Position on Triacylglycerides. **Lipids**, v. 36, n. 7, 2001.

HSU, F.F.; TURK, J. Electrospray ionization with low-energy collisionally activated dissociation tandem mass spectrometry of glycerophospholipids: Mechanisms of fragmentation and structural Characterization. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 2673-2695, 2009.

HSU, F.F.; TURK, J. Electrospray ionization multiple-stage linear ion-trap mass spectrometry for structural elucidation of triacylglycerols: Assignment of fatty acid groups on the glycerol backbone and location of Double bonds. **Journal American Society for Mass Spectrometry**, v. 21, p. 657-669, 2010.

- JAKAB, A.; HEBERGER, K.; FORGACS, E. Comparative analysis of different plant oils by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 976, n. 1, p. 255-263, 2002.
- JUMP, D.B. The Biochemistry of *n*-3 polyunsaturated Fatty Acid. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 11, p. 8755-8758, 2002.
- JANSSEN, H.G.; STEENBERGEN, H.; KONING, S.D.E. The role of comprehensive chromatography in the characterization of edible oils and fats. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n. 12, p. 1171–1184, 2009.
- KALO, P.J.; KEMPPINEN, A. Regioespecific analysis of TAGs using chromatography, MS^m and chromatography-MS. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 114, p. 399–411, 2012.
- KAMAL-ELDIN, A. Effect of fatty acids and tocopherols on the oxidative stability of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 108, n. 12, p. 1051–1061, 2006.
- KARUPAIAH, T.; SUNDRAM, K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. **Nutrition & metabolism**, v. 4, p. 16, 2007.
- LEBA, L.; BRUNSCSHWING, C.; SAOUT, M.; MARTIAL, K.; BEREAU, D.; ROBINSON, J. *Oenocarpus bacaba* and *Oenocarpus bataua* Leaflets and Roots: A New Source of Antioxidant Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1014, 2016.
- LERMA-GARCÍA, M. J.; LUSARDI, R.; CHIAVARO, E.; CERRETANI, L.; BENDINI, A.; RAMIS-RAMOS, G.; SIMÓ-AFONSO, E. F. Use of triacylglycerol profiles established by high performance liquid chromatography with ultraviolet-visible detection to predict the botanical origin of vegetable oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 42, p. 7521–7527, 2011.
- LÉVÊQUE, N.L.; HÉRON, S.; TCHAPLA, A. Regioisomer characterization of triacylglycerols by non-aqueous reversed-phase liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry using silver nitrate as a postcolumn reagent. **Journal of mass spectrometry**, v. 45, n. 3, p. 284–296, 2010.
- LIN, J.T.; ARCINAS, A. Analysis of Regiospecific Triacylglycerols by Electrospray Ionization- Mass Spectrometry³ of Lithiated Adducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 4909–4915, 2008.
- LÍSA, M.; HOLCAPEK, M. Triacylglycerols profiling in plant oils important in food industry, dietetics and cosmetics using high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure

chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1198- 1199, n. 1-2, p. 115–130, 2008.

LORENZI, K.; SOUZA, H. M. S.; CERQUEIRA, L. S.C.; COSTA, J. T. M.; FERREIRA, E. Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas, **Instituto Plantarum**, São Paulo, 416p, 2004.

MAMBRIM, M.C.T.; BARRERA-ARELLANO, D. Caracterización de aceites de frutos de palmeras de la región amazónica del Brasil. *Grasas y aceites*, v. 48, n. 3, p. 154-158, 1997.

MARZILLI, L.A.; FAY, L.B.; DIONISI, F.; VOUIROS, P. Structural characterization of triacylglycerols using electrospray ionization-MSn ion-trap MS. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, n. 3, p. 195–202, 2003.

MATOS, K.A.N.; LIMA, D.P.; BARBOSA, A.P.P.; MERCADANTE, A.Z.; CHISTÉ, R.C. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food Chemistry**, vol 272, p. 216-221, 2019.

MCANOY, A.M.; WU, C.C.; MURPHY, R.C. Direct qualitative analysis of triacylglycerols by electrospray mass spectrometry using a linear ion trap. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, n. 9, p. 1498–1509, 2005.

METCALFE, L.D.; SCHMITZ, A.A.; PELKA, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Analytical chemistry**, v. 38, n.3, p.514-515, 1966.

MELLO, M.A.M.F. Avaliação das Propriedades de Óleos Vegetais visando a Produção de Biodiesel. Dissertação (Mestrado em química) - **Universidade Federal da Paraíba**, João Pessoa, p.118, 2010.

MIRANDA, I.P.A.; RABELO, A.; BUENO, C.R.; BARBOSA, E.M.; RIBEIRO, M.N.S. Frutos de Palmeiras da Amazônia, **MCTI-INPA**, Manaus, 2001, 109p.

MONTÚFAR, R.; LAFFARGUE, A.; PINTAUD, J. C.; HAMON, S.; AVALLONE, S.; DUSSERT, S. *Oenocarpus bataua* Mart. (arecaceae): Rediscovering a source of high oleic vegetable oil from amazonia. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 87, n. 2, p.167–172, 2010.

MOREIRA, N. X.; CURI, R.; FILHO, J. M. Ácidos graxos: uma revisão. *Nutrire*; **Brazilian Soc. Food Nutr**, São Paulo, v. 24, p. 105-126, 2002.

MOTTRAM, H.R.; WOODBURY, S.E.; EVERSLED, R.P. Identification of Triacylglycerol Positional Isomers Present in Vegetable Oils by High Performance Liquid Chromatography/ Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, vol. 11, p. 1240-1252, 1997.

OBOH, F.O.J.; ODERINDE, R.A. Analysis of the pulp and pulp oil of the tucum (*Astrocaryum vulgare* Mart) fruit. **Food Chemistry**, vol.30, p. 277-287, 1988.

OHLROGGE, J.B. Design of new plant products: Engineering of fatty acid metabolism. **Plant Physiology**, v. 104, p. 821–826, 1994.

PARK, Y.W.; CHANG, P-S.; LEE, J. Application of triacylglycerol and fatty acid analyses to discriminate blended sesame oil with soybean oil. **Food Chemistry**, v. 123, p. 377–383, 2010.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. Introduction to spectroscopy. **Brooks/Cole**, 4rd ed, 250p, 2009.

PINTO, R.H.H.; SENA, C.; SANTOS, O.V.; DA COSTA, W.A.; RODRIGUES, A.M.C.; JUNIOR, R.N.C. Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas y Aceites**, v. 69, n.2, 2018.

ŘEZANKA, T.; PÁDROVÁ, K.; SIGLER, K. Regioisomeric and enantiomeric analysis of triacylglycerols. **Analytical Biochemistry**. p. 1-10, 2016.

PESCE, C. Oleaginosas da Amazônia. **Museu Paraense Emílio Goeldi Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural**, 2 ed, Belém, 335p, 2009.

ABELO, A. Frutos nativos da Amazônia: comercializados nas feiras de Manaus-AM, **INPA**, Manaus, 390p, 2012.

SACKHEIM, G.; LEHMAN, D.D. Química e bioquímica para ciências biomédicas. 1. ed. São Paulo: **Manole**, 2001.

SAGRILLO, M.R.; GARCIA, L.F.M.; FILHO, O.C.S.; DUARTE, M.M.M.F.; RIBEIRO, E.E.; CADONÁ, F.C.; CRUZ, I.B.M. Tucumã fruit extracts (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. **Food Chemistry**, v. 173, p. 741–748, 2015.

SANTOS, M.F.G.; MARMESAT, S.; BRITO, E.S.; ALVES, R.E.; DOBARGANES, M.C. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v. 64, n.3, p. 328–334, 2013.

SANTOS, M.F.G.; ALVES, R.E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oil obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon, **Grasas y Aceites**, v. 66, n.3, e-086, 2015.

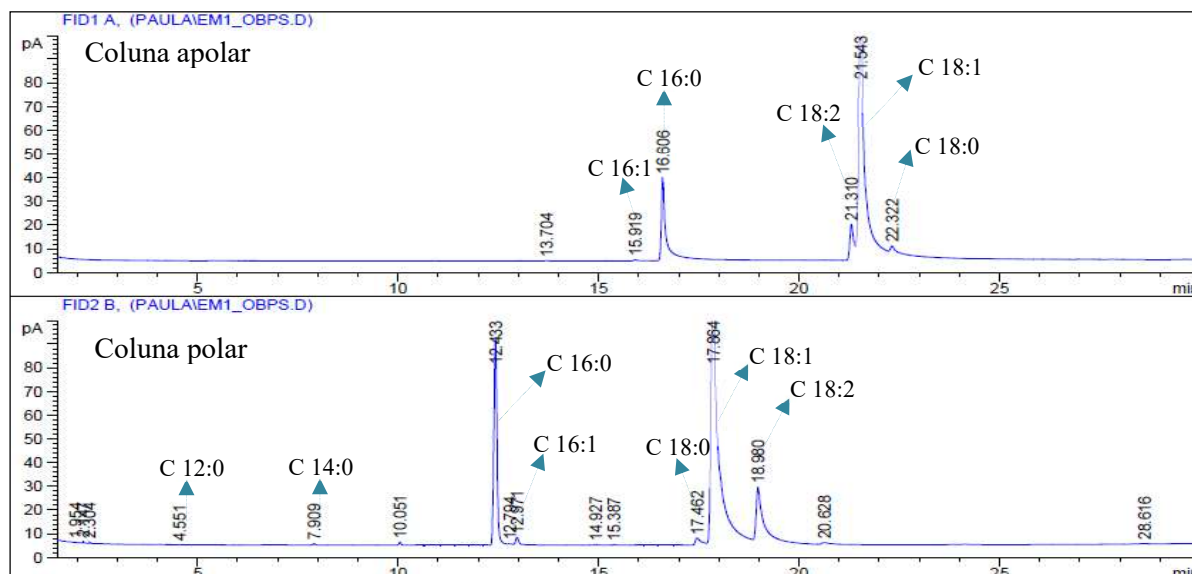
SARAIVA, S.A.; CABRAL, E.C.; EBERLIN, M.N.; CATHARINO, R.R. Amazonian vegetable oils and fats: Fast typification and quality control via triacylglycerol (TAG) profiles from dry matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry fingerprinting. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 10, p.4030–4034, 2009.

- SILVA, S.M.; SAMPAIO, K.A.; TAHAM, T.; ROCCO, S.A.; CERIANE, R.; MEIRELLES, A.J.A. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. **Journal of the American Oil Chemists' Societs**, v. 86, p.611–616, 2009.
- SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. Spectrometric Identification of organic compounds. **Wiley**, 7rd ed, 19p, 2005.
- WEY, F.; JI, S-X.; HU, N.; LV, X.; DONG, X-Y.; FENG, Y-Q.; CHEN, H. Online profiling of triacylglycerols in plant oils by two-dimensionalliquid chromatography using a single column coupled withatmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1312, p. 69-79, 2013.
- YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; YUYAMA, K.; CLEMENT, C.R.; MACEDO, S.H.M.; FÁVARO, D.I.T.; AFONSO, C.; CASCONCELLOS, M.B.A.; PIMENTEL, S.A.; BADOLATO, E.S.G.; VANNUCCHI, H. Chemical composition of the fruit mesocarp of three peach palm (*bactris gasipaes*) populations grown in Central Amazonian, Brazil. **International Journal of Food Sciense and Nutrition**, v. 54, p. 49-56, 2003.
- ZEB, A.; MURKOVIC, M. Analysis of triacylglycerols in refined edible oils by isocratic HPLC-ESI-MS. **Eur. J. Lipid Sci. Technol**, n. 112, p.844-851, 2010.
- ZENG, Y.-X.; ARAUJO, P.; DU, Z.-Y. Elucidation of triacylglycerols in cod liver oil by liquid chromatography electrospray tandem ion-trap mass spectrometry. **Talanta**, v. 82, n. 4, p. 1261–1270, 2010.
- ZHOU, Y.; XUE, Y.; CHEN, G.C.; ZHANG, A.J.; CHEN, Z.F.; LIAO, X.; DING, L.S. Rapid separation and characterisation of triacylglycerols in ostrich oil by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Food Chemistry**, n. 145, p. 2098–2102, 2013.

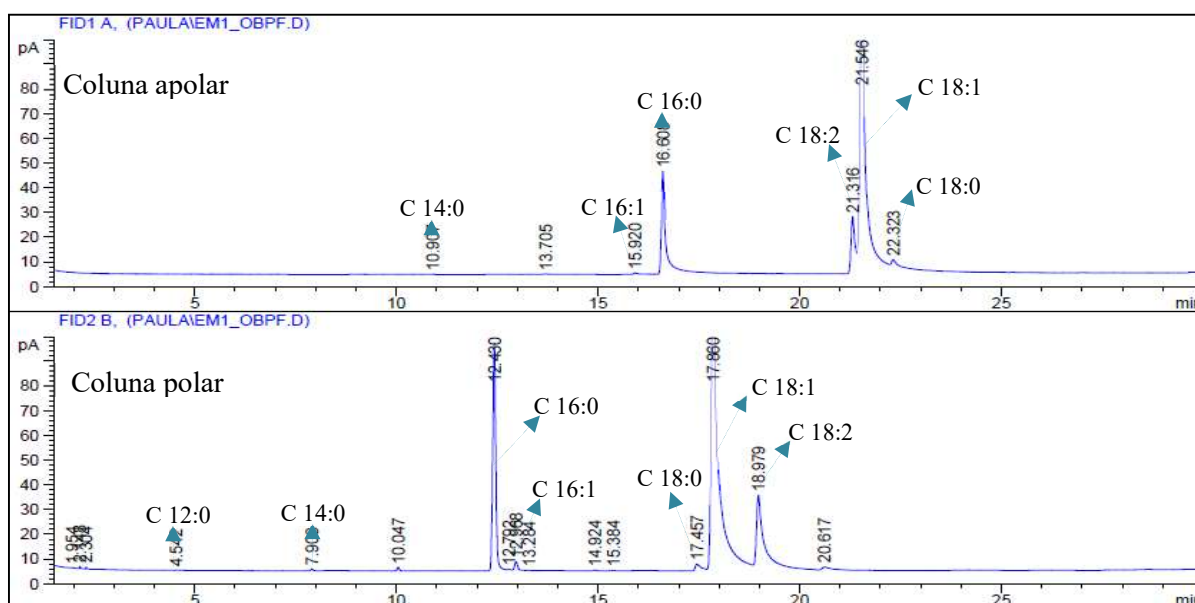
APÊNDICE A

Cromatogramas obtidos por CG-DIC das análises de FAMES dos óleos das polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã.

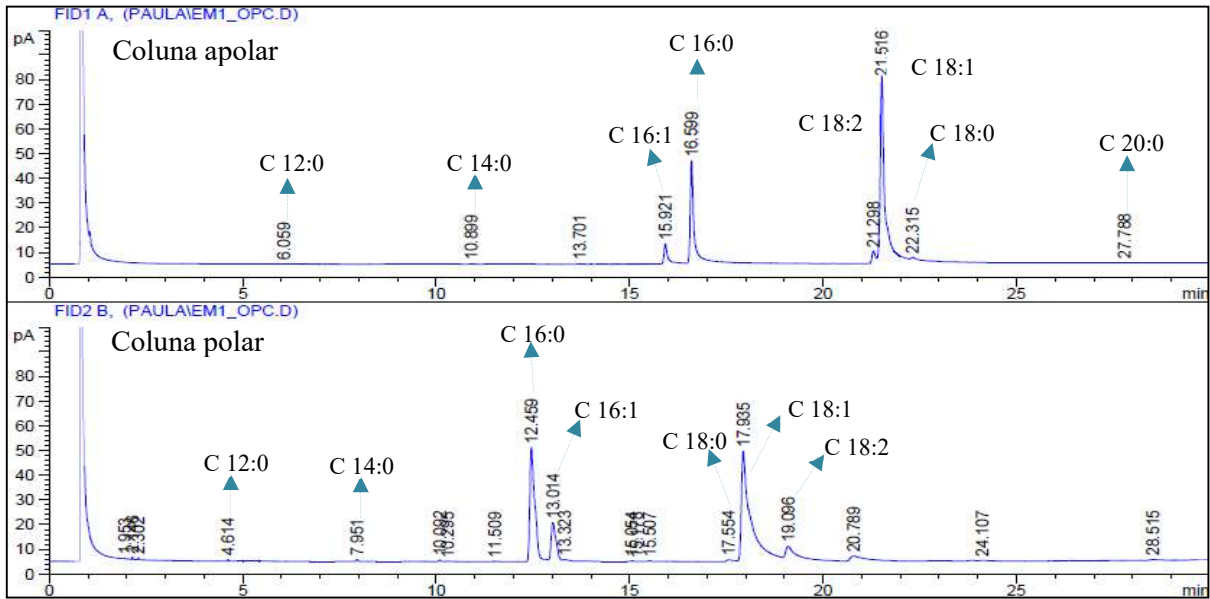
Cromatograma 1 - Perfil cromatográfico por CG-DIC em colunas apolar e polar dos FAMES derivados dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa seca do fruto de bacaba



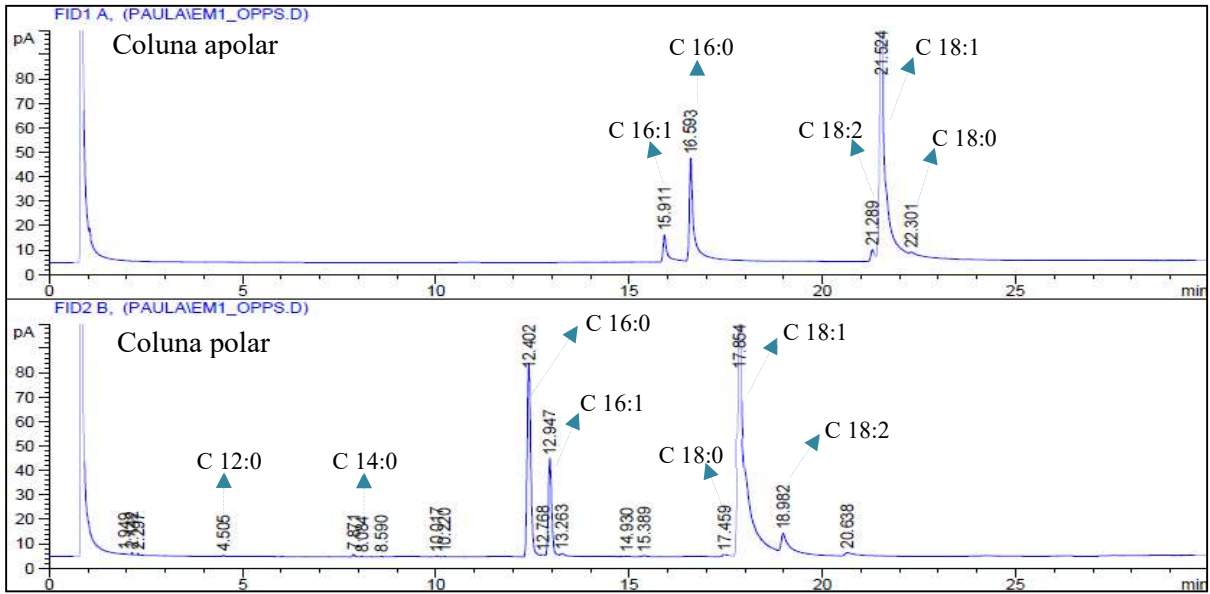
Cromatograma 2 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa fresca do fruto de bacaba



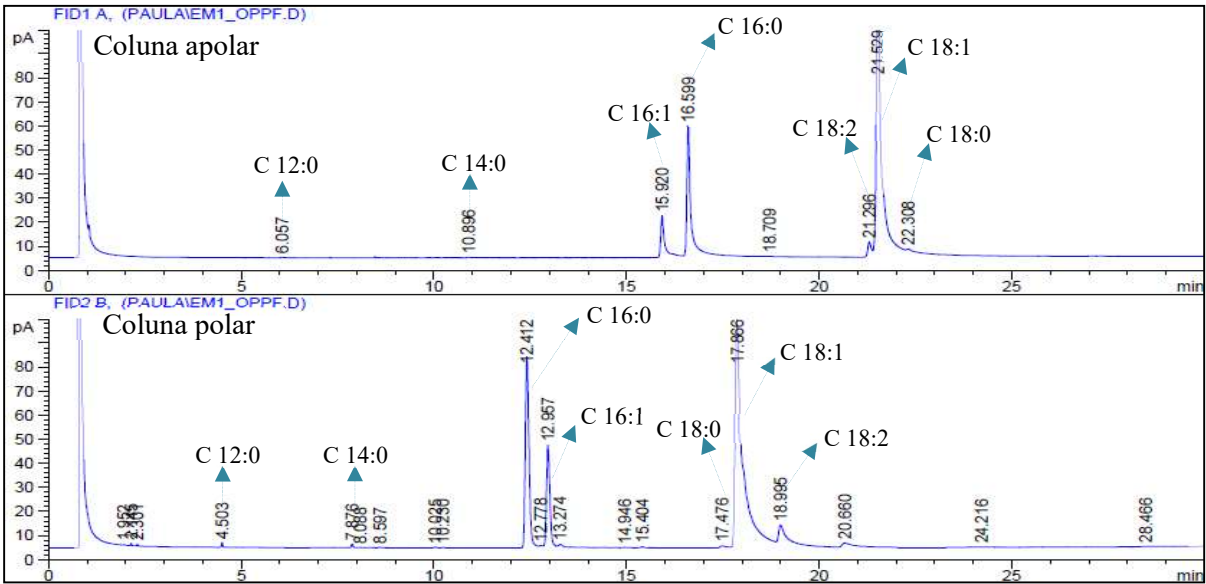
Cromatograma 3 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da casca do fruto de pupunha



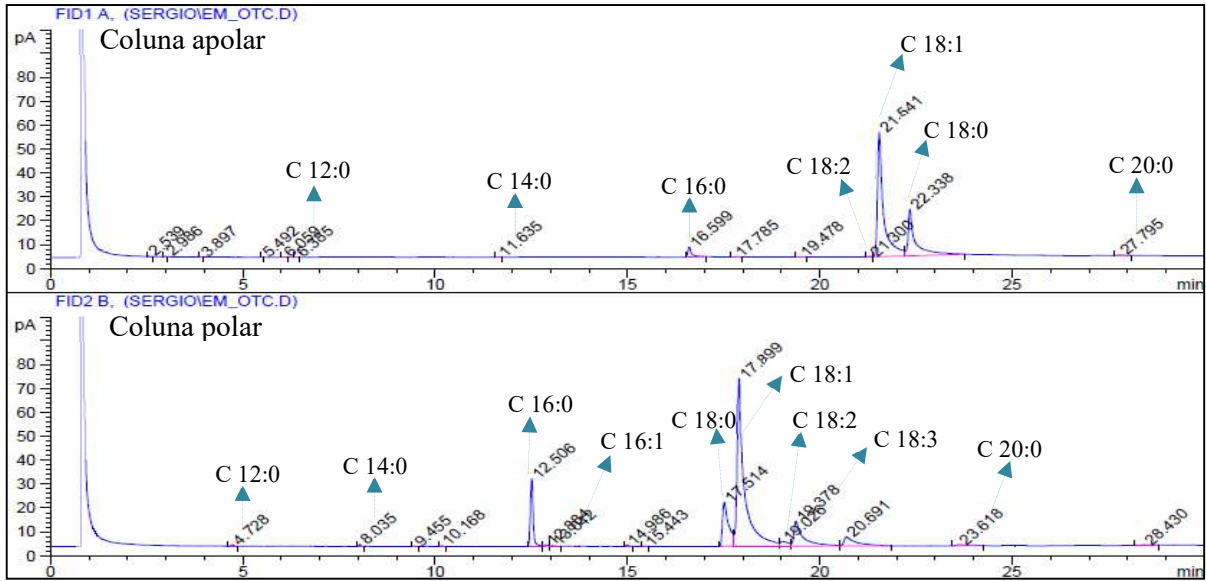
Cromatograma 4 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa seca do fruto de pupunha



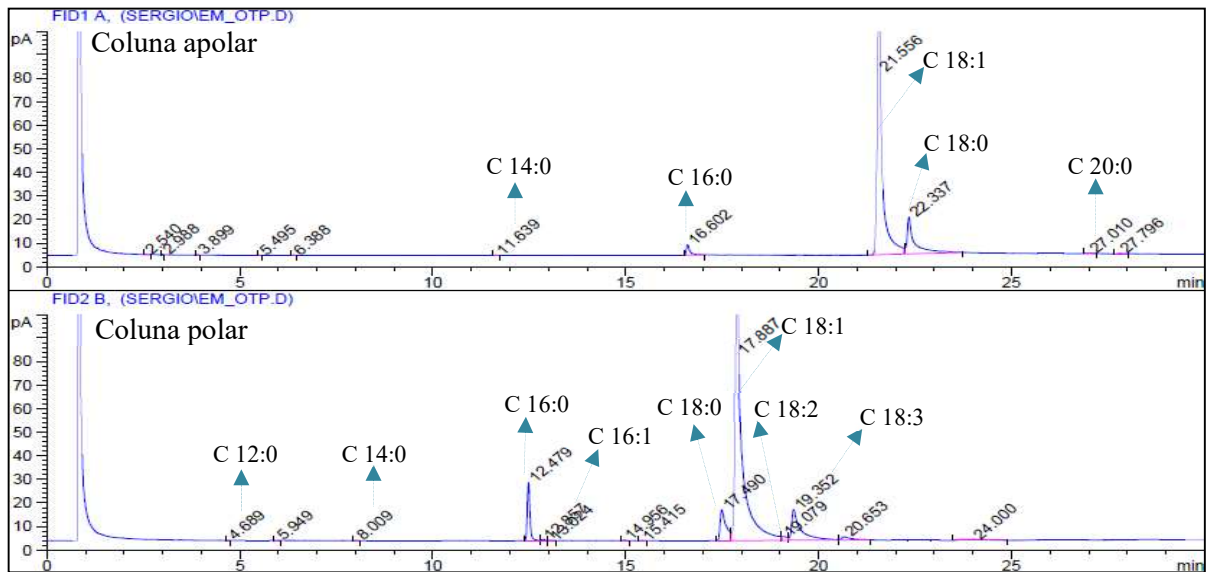
Cromatograma 5 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa fresca do fruto de pupunha



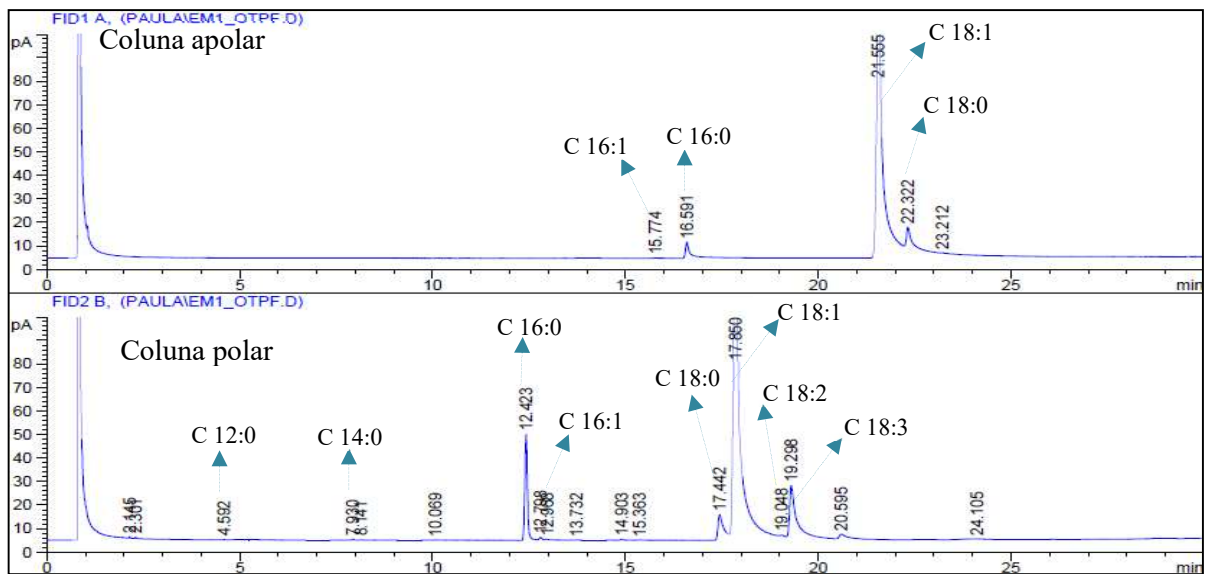
Cromatograma 6 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da casca do fruto de tucumã



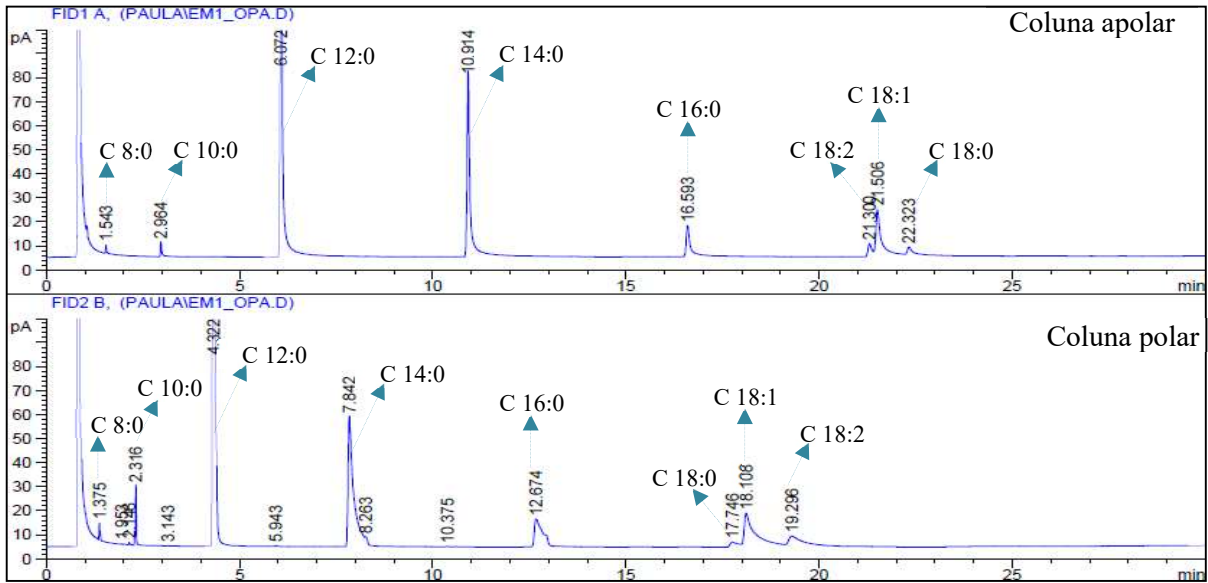
Cromatograma 7 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa seca do fruto de tucumã



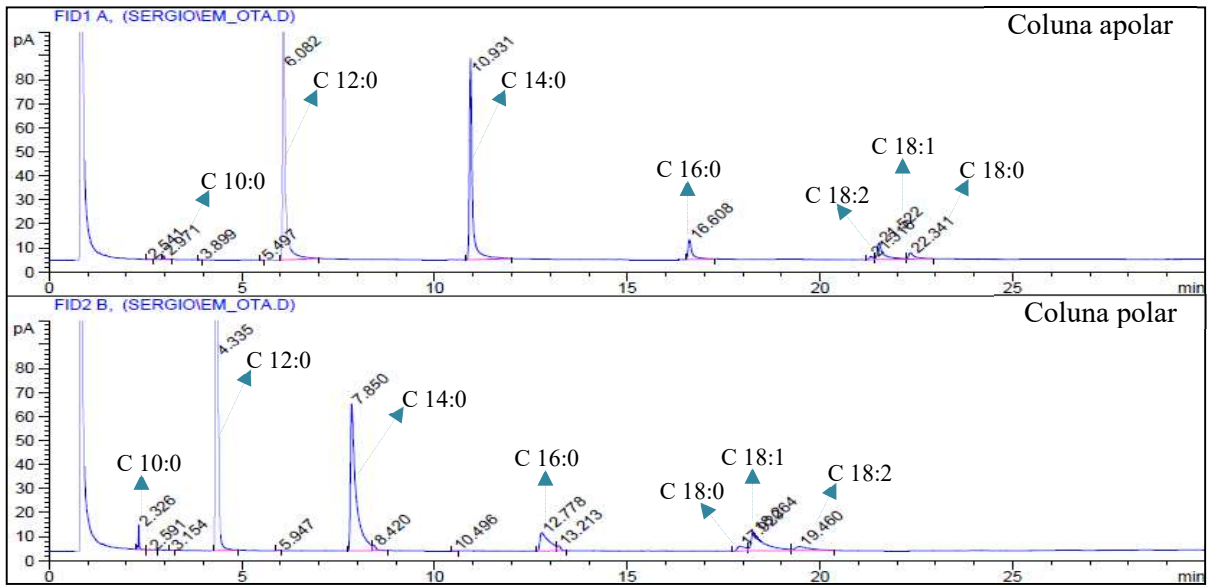
Cromatograma 8 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da polpa fresca do fruto de tucumã



Cromatograma 9 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da amêndoa do fruto de pupunha



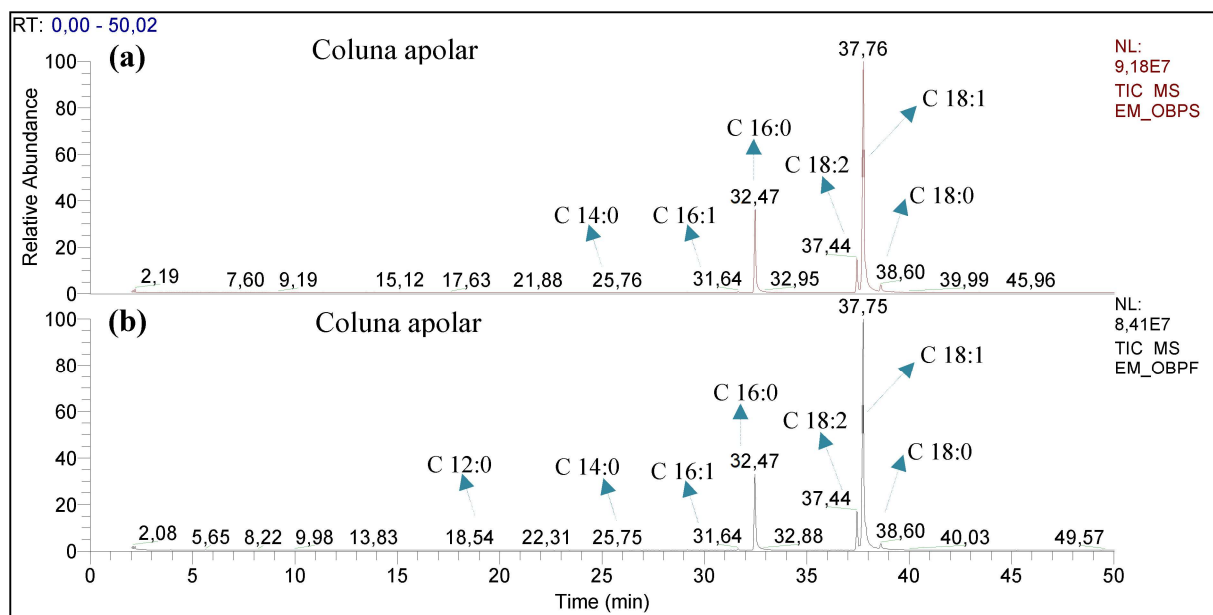
Cromatograma 10 - Perfil cromatográfico por CG-DIC dos ácidos graxos presentes no óleo da amêndoa do fruto de tucumã



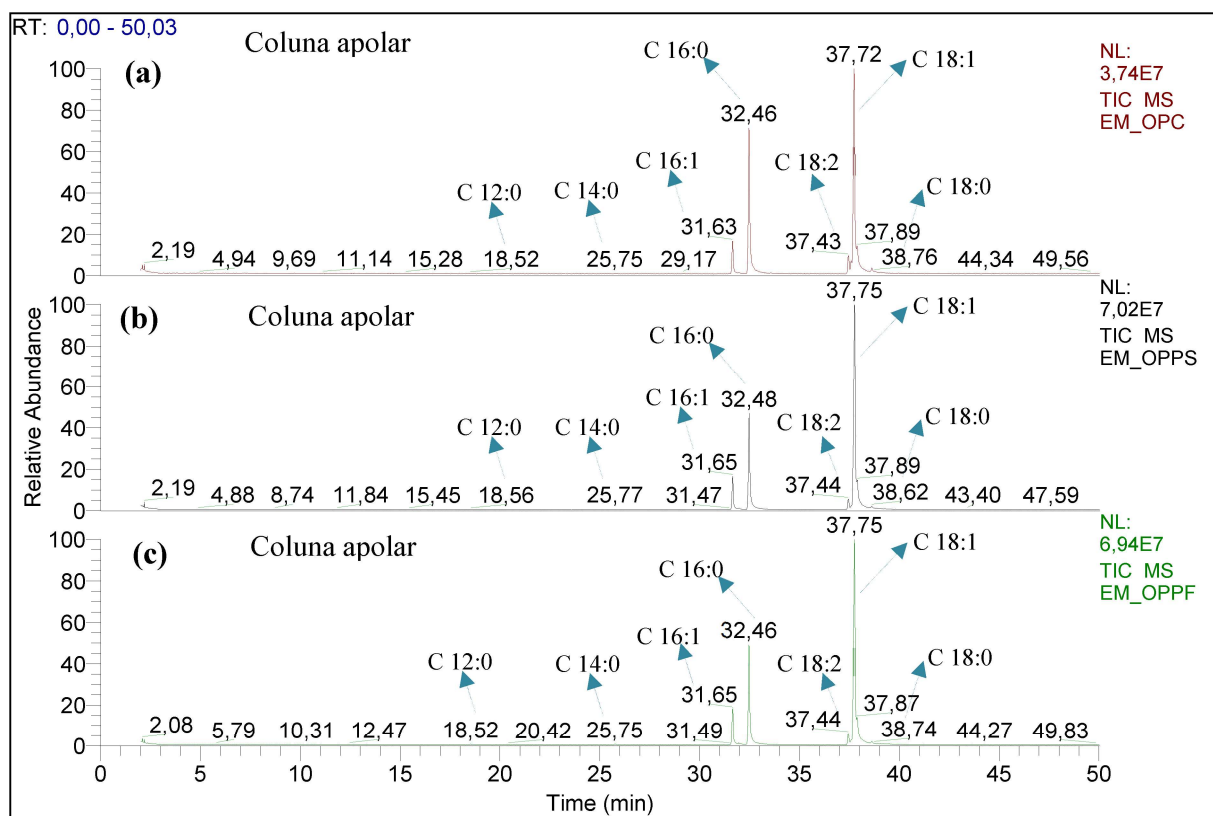
APÊNDICE B

Cromatogramas obtidos por CG-EM das análises de FAMES dos óleos das polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã.

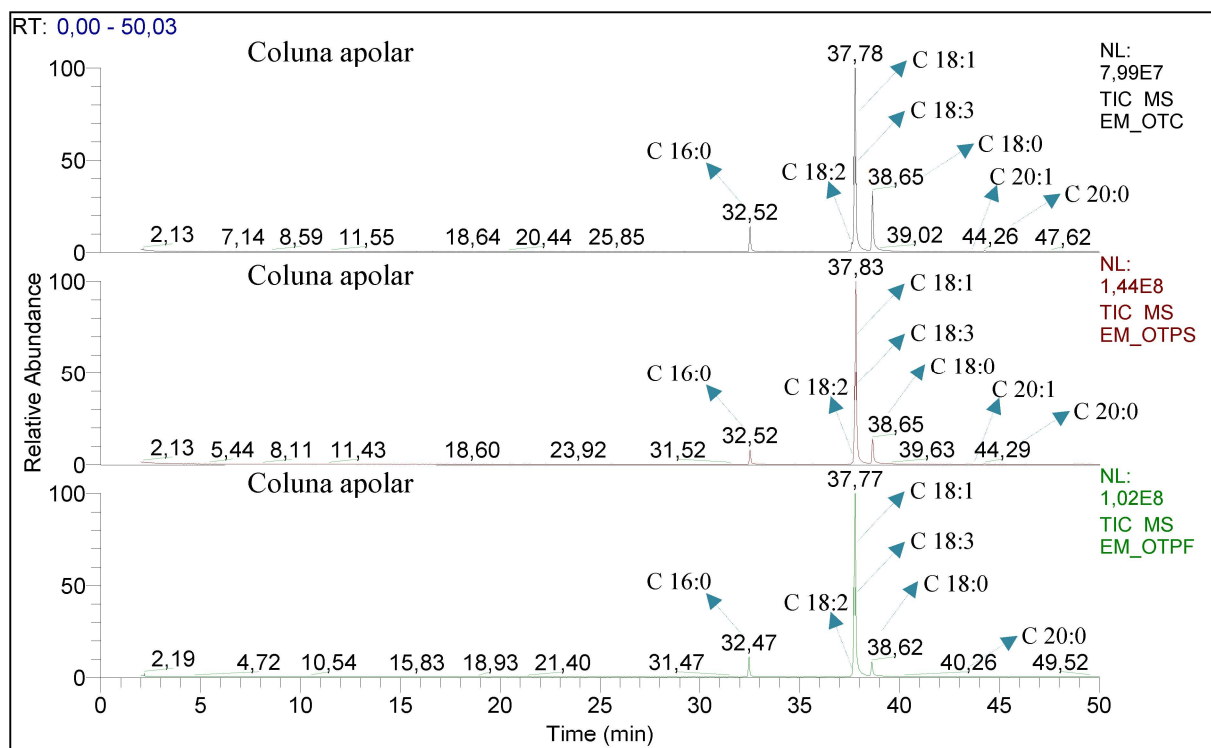
Cromatograma 11 - Perfis cromatográficos por CG-EM dos FAMES do óleo da polpa seca do fruto de bacaba (a) e do óleo da polpa fresca (b) dos frutos de bacaba



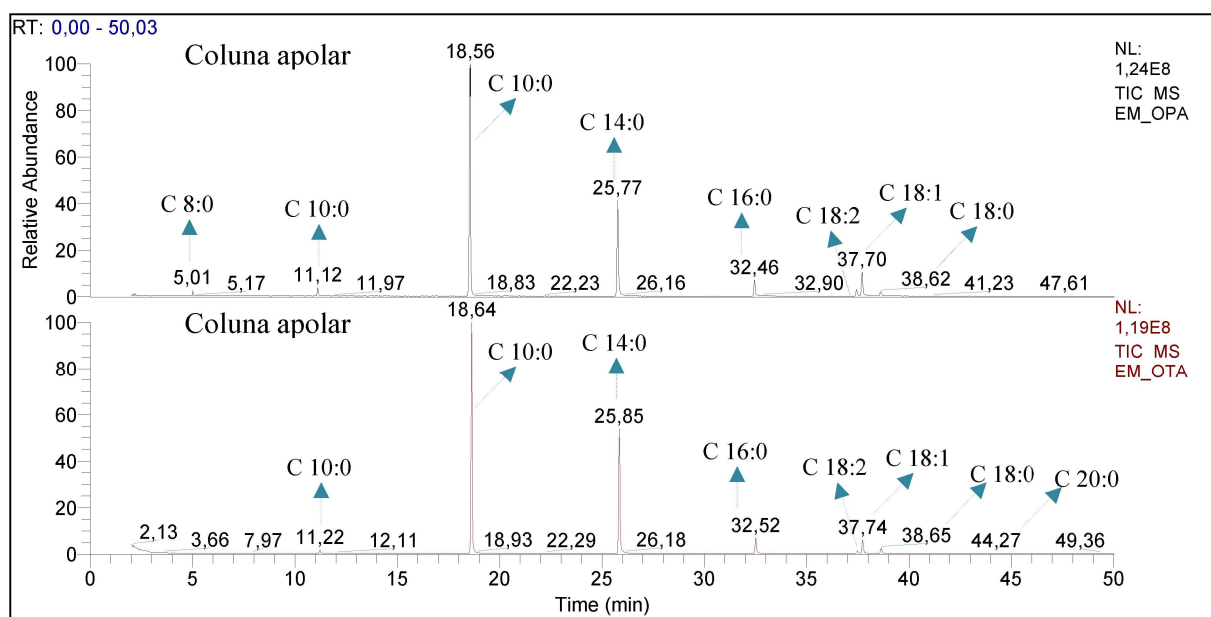
Cromatograma 12 - Perfis cromatográficos por CG-EM dos FAMES dos óleos da casca (a) polpas secas (b) e polpas frescas (c) dos frutos de pupunha



Cromatograma 13 - Perfis cromatográficos por CG-EM dos FAMES dos óleos da casca (a) polpas secas (b) e polpas frescas (c) dos frutos de tucumã



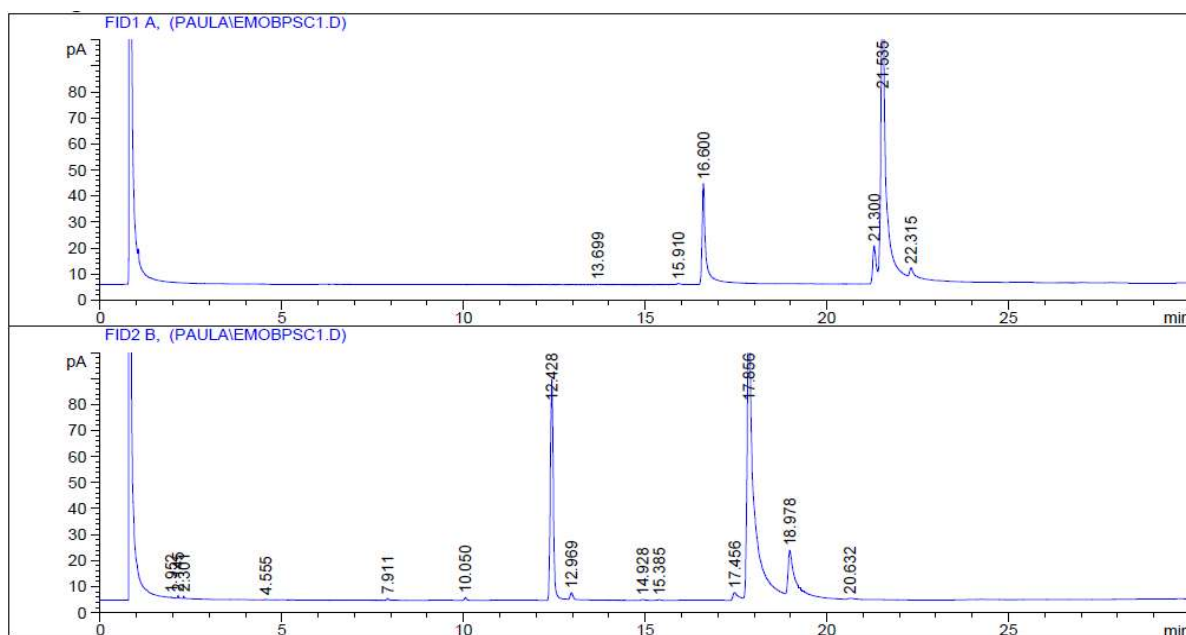
Cromatograma 14 - Perfil cromatográfico por CG-EM dos FAMES dos óleos da amêndoa do fruto de pupunha (a) e amêndoa dos frutos de tucumã (b)



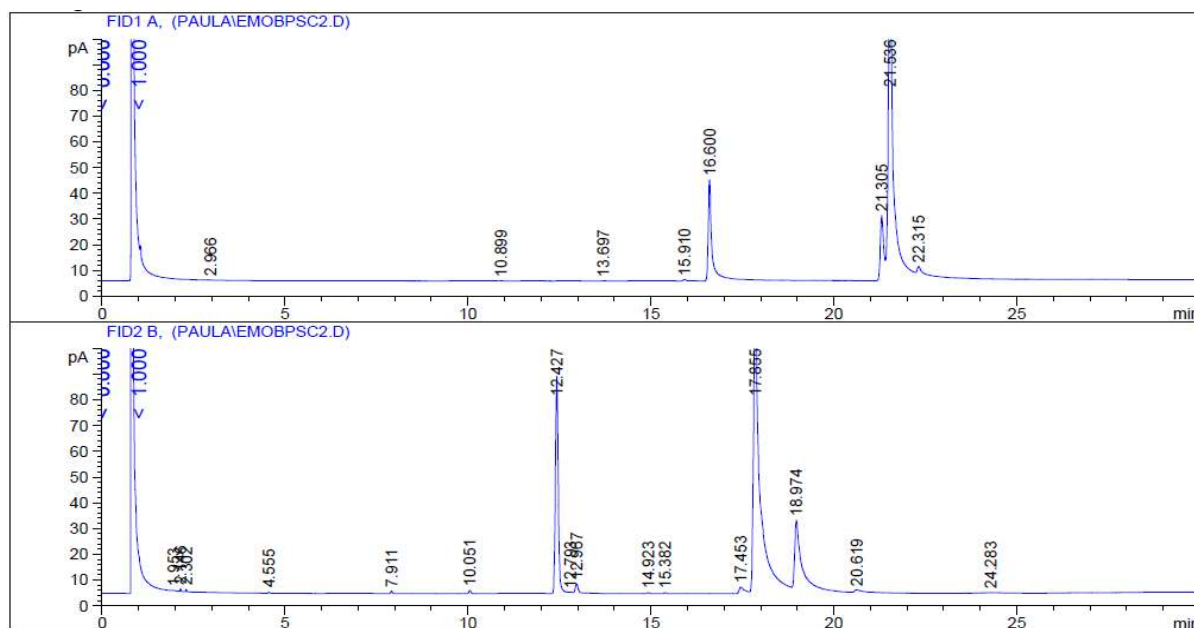
APÊNDICE C

Cromatogramas obtidos por CG-DIC das análises de FAMES das frações de triacilglicerídeos obtidas dos óleos das polpas e amêndoas dos frutos de bacaba, pupunha e tucumã após fracionamento por SPE.

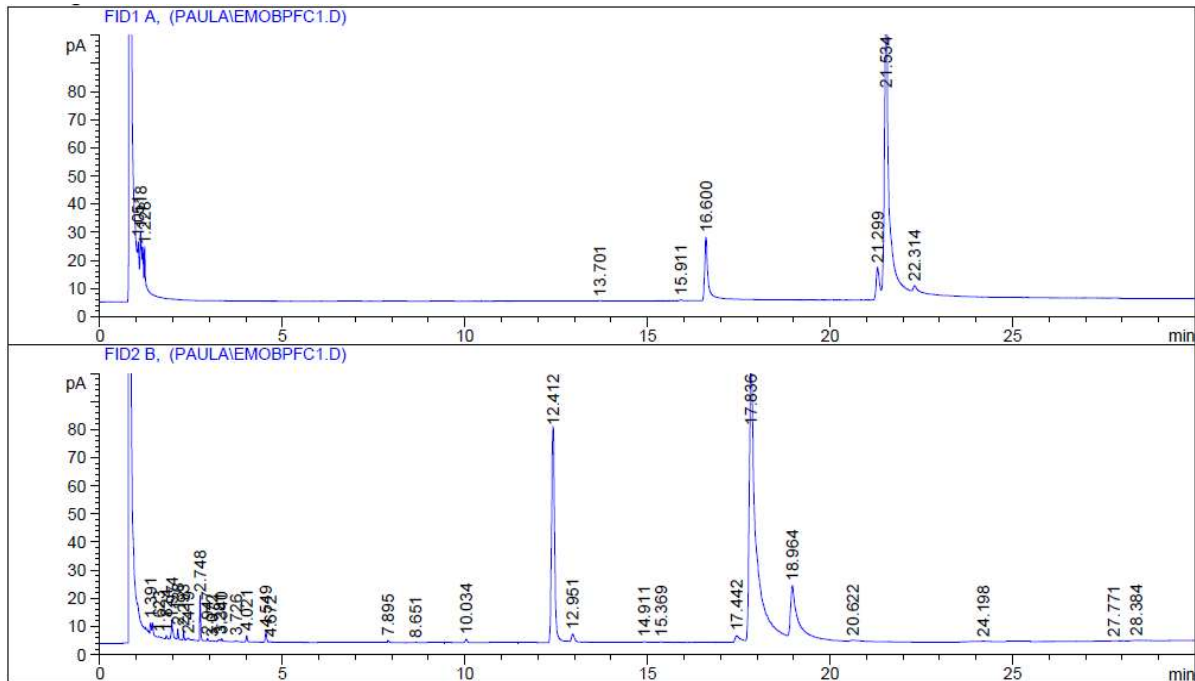
Cromatograma 15 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba após a primeira eluição em extração por SPE



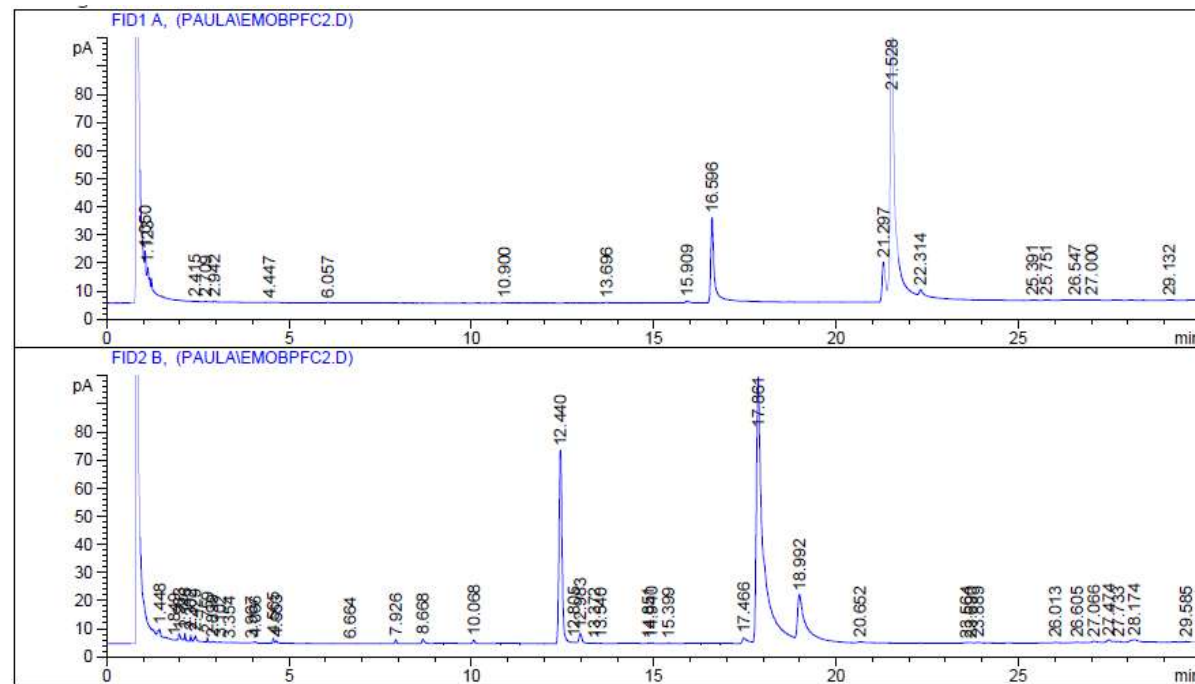
Cromatograma 16 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de bacaba após a segunda eluição em extração por SPE



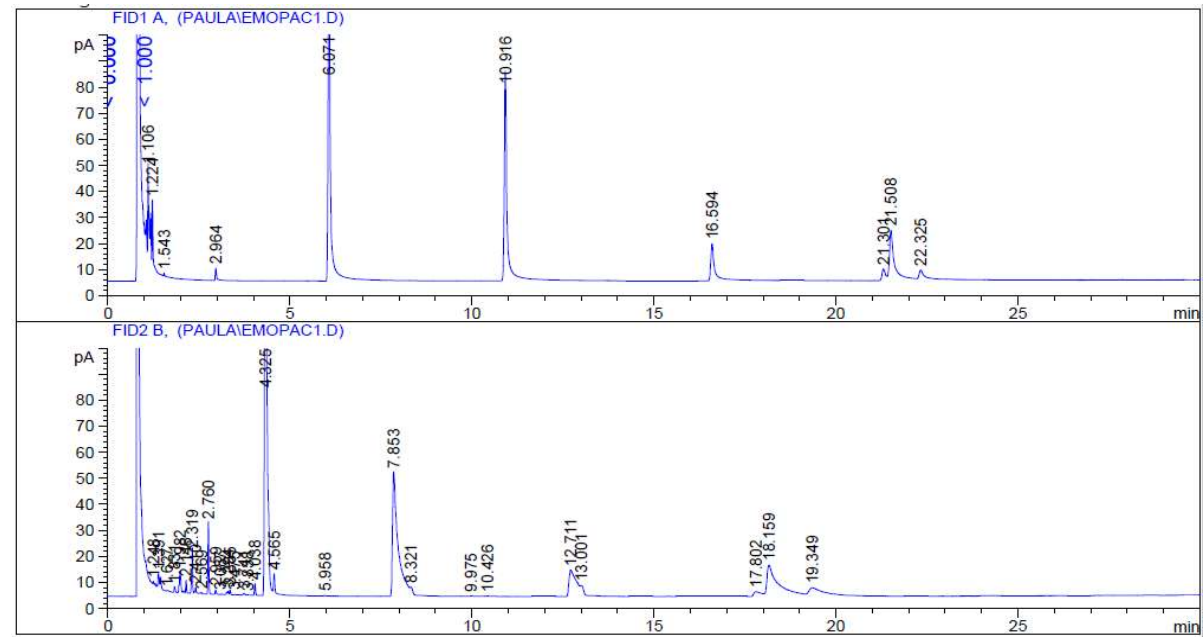
Cromatograma 17 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa fresca dos frutos de bacaba após a primeira eluição em extração por SPE



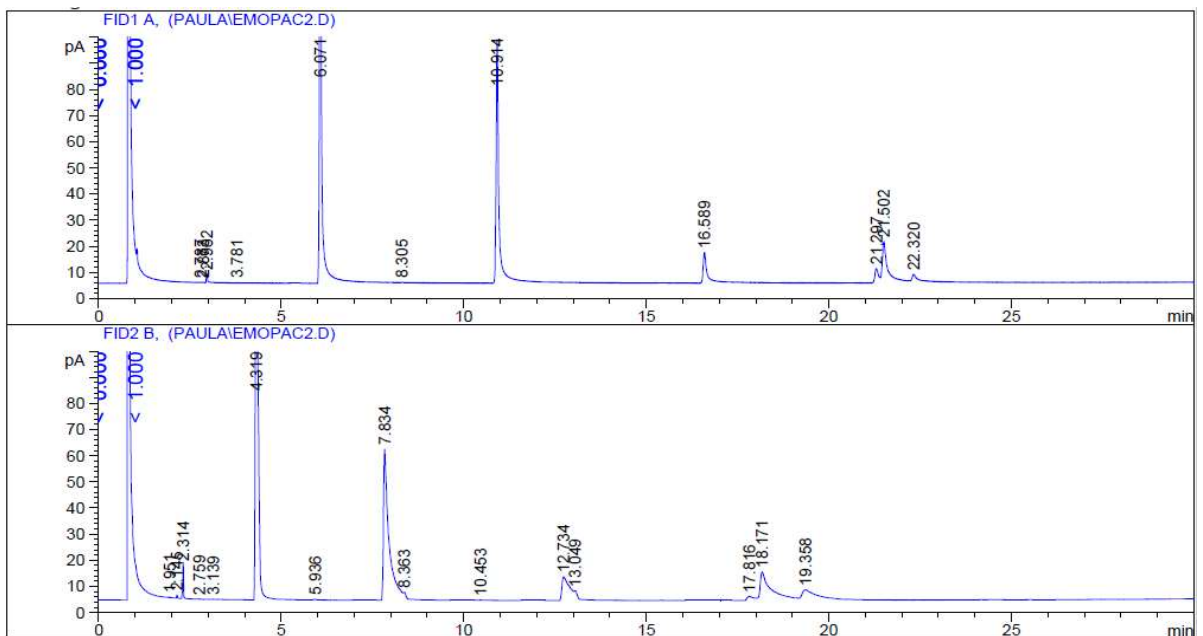
Cromatograma 18 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa fresca dos frutos de bacaba após a segunda eluição em extração por SPE



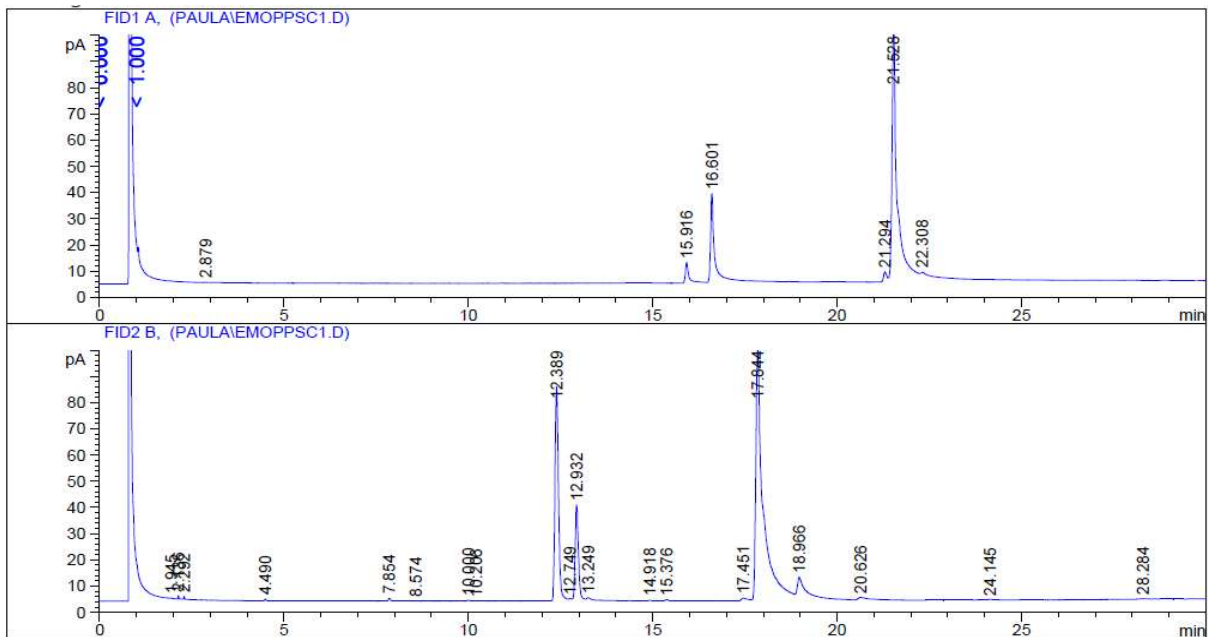
Cromatograma 19 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha após a primeira eluição em extração por SPE.



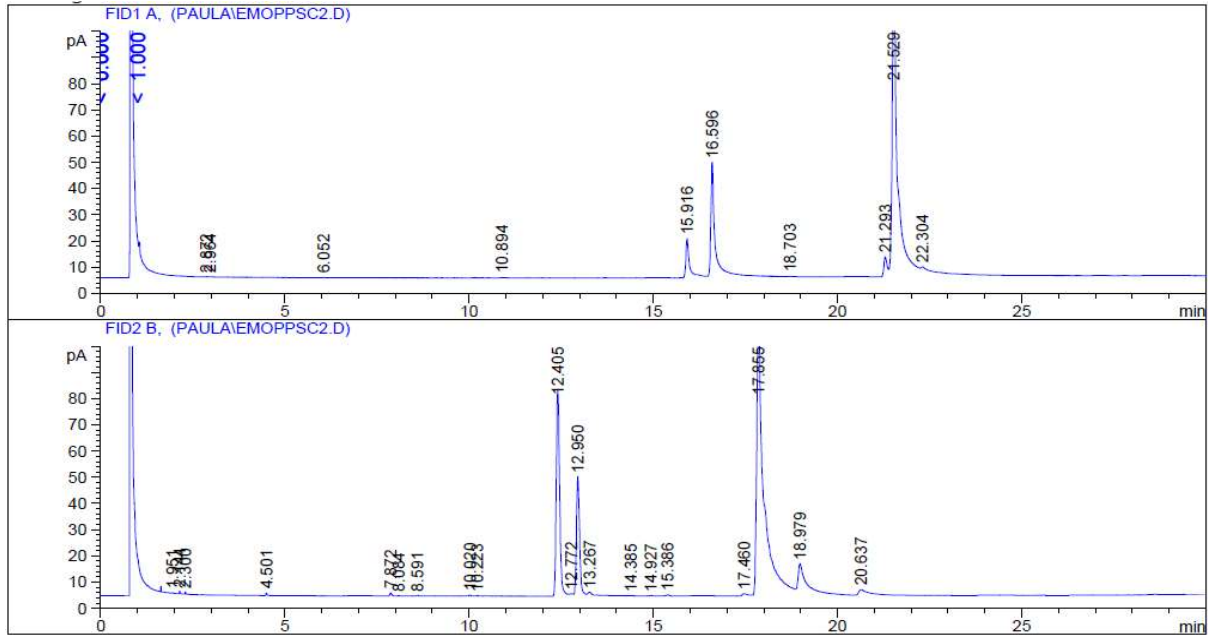
Cromatograma 20 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da amêndoa dos frutos de pupunha após a segunda eluição em extração por SPE



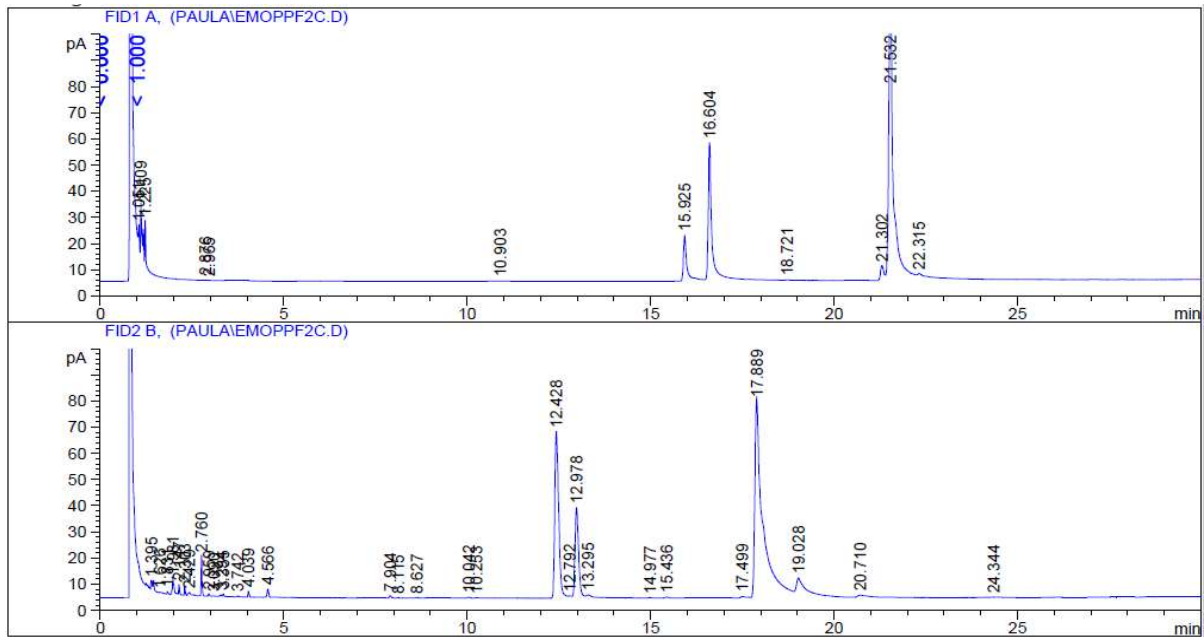
Cromatograma 21 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha após a primeira eluição em extração por SPE



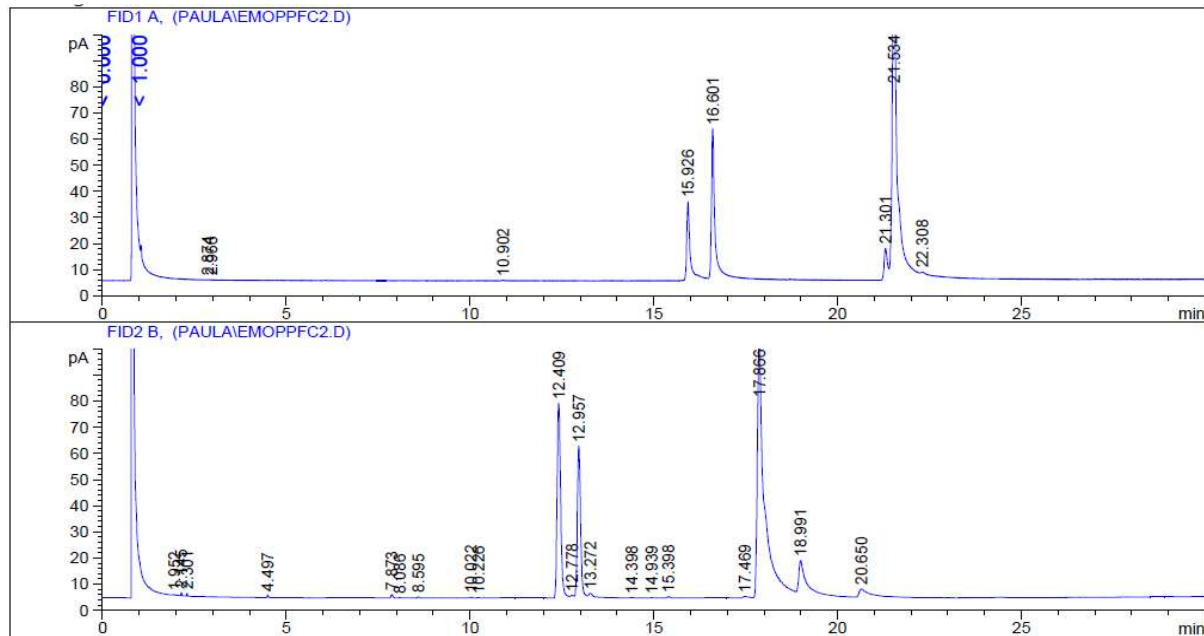
Cromatograma 22 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de pupunha após a segunda eluição em extração por SPE



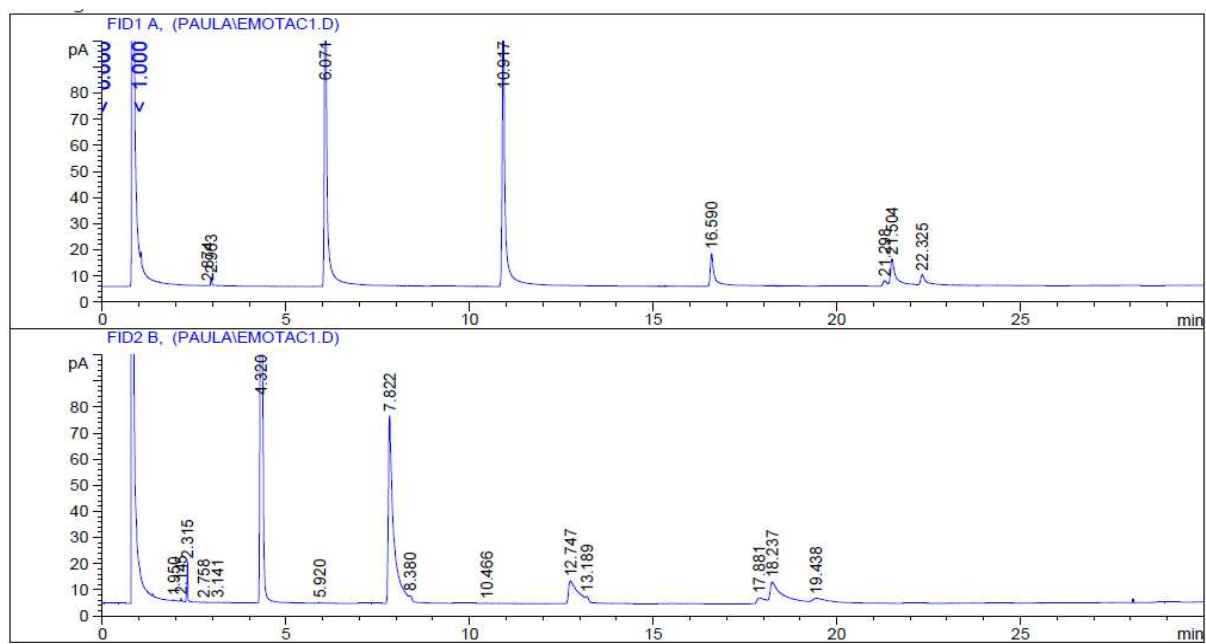
Cromatograma 23 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa fresca dos frutos de pupunha após a primeira eluição em extração por SPE



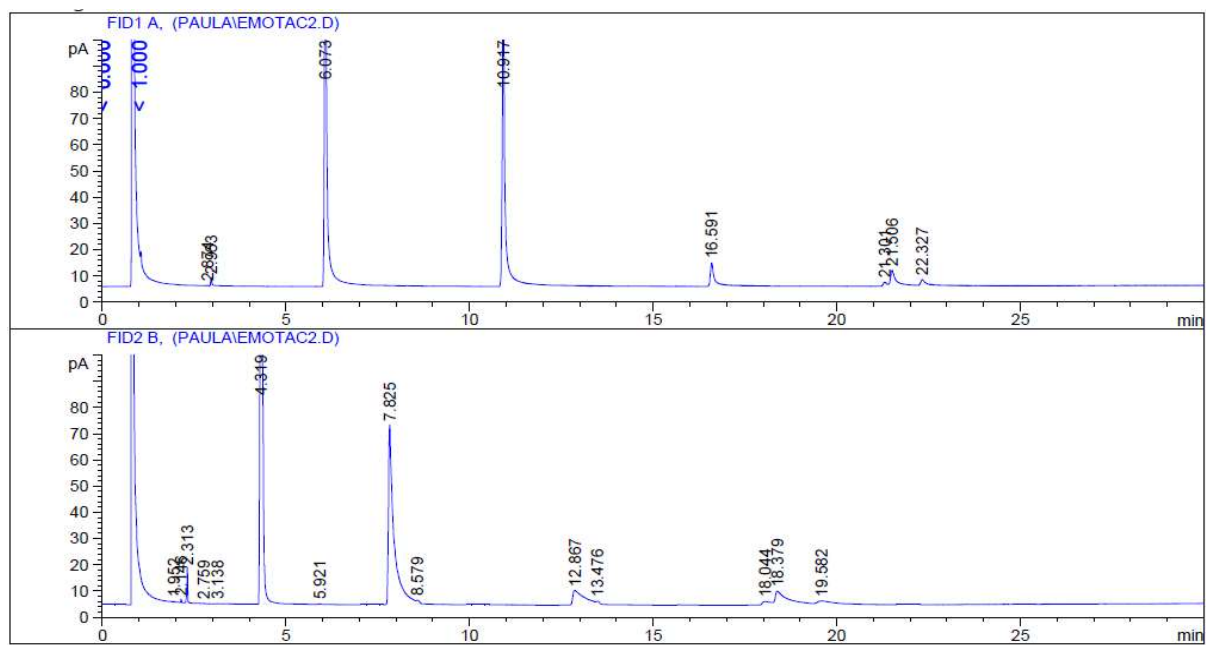
Cromatograma 24 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa fresca dos frutos de pupunha após a segunda eluição em extração por SPE



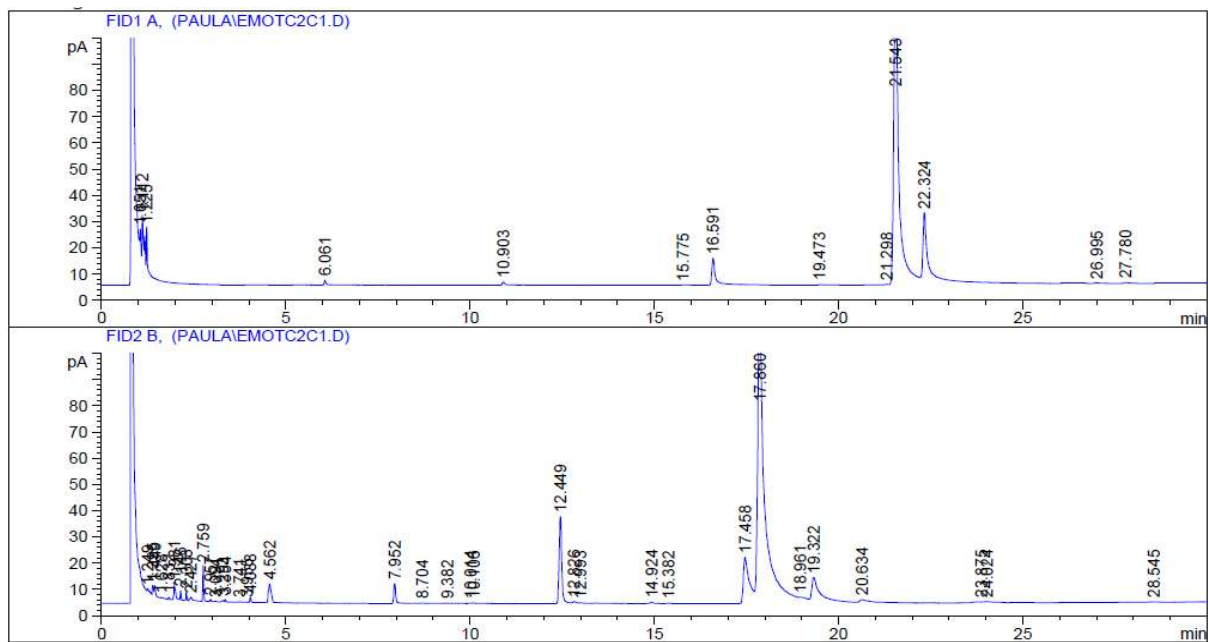
Cromatograma 25 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã após a primeira eluição em extração por SPE



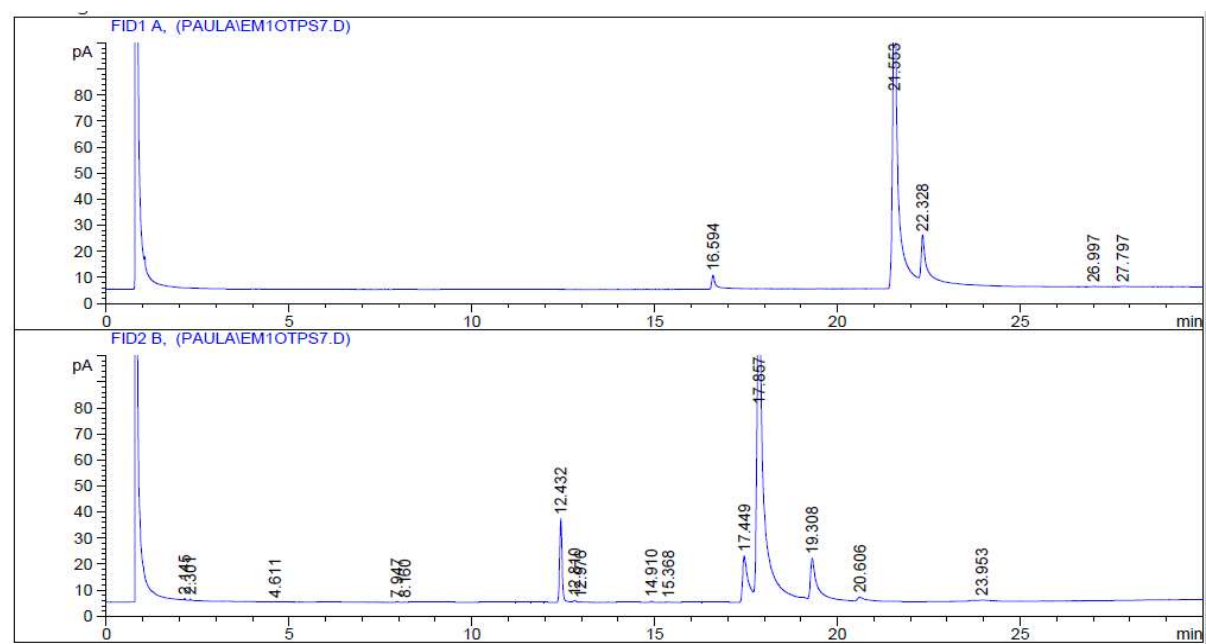
Cromatograma 26 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da amêndoa dos frutos de tucumã após a segunda eluição em extração por SPE



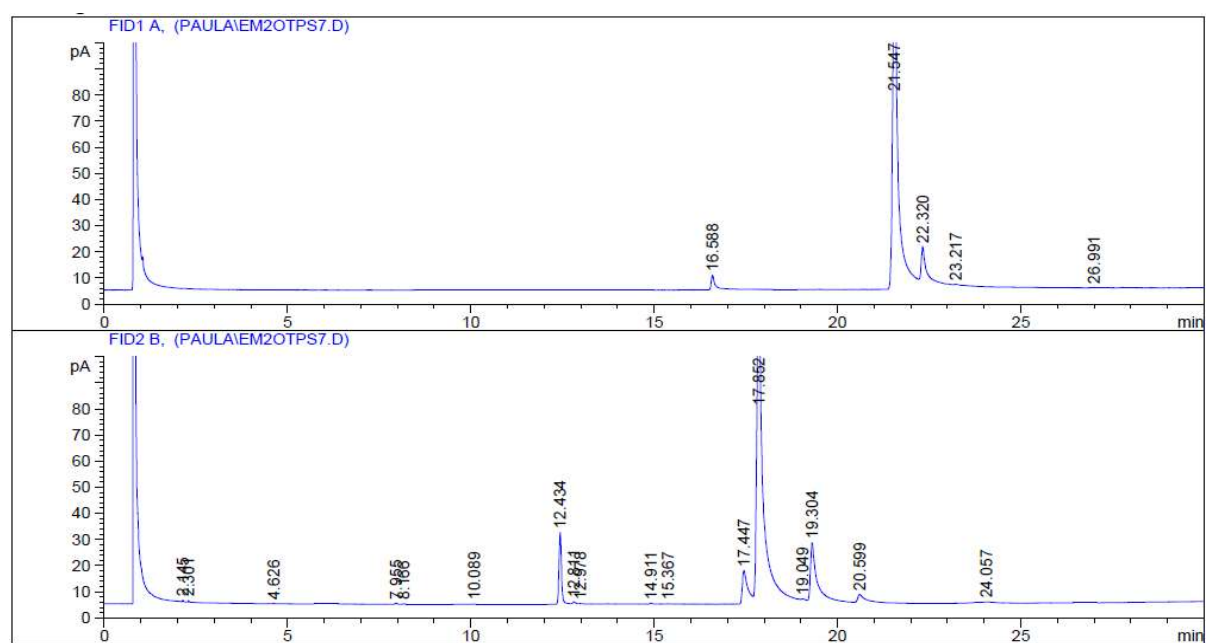
Cromatograma 27 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da casca dos frutos de tucumã após a primeira eluição em extração por SPE



Cromatograma 29 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de tucumã após a primeira eluição em extração por SPE



Cromatograma 30 - Perfil cromatográfico por CG-DIC de FAMES de TAGs isolados do óleo da polpa seca dos frutos de tucumã após a segunda eluição em extração por SPE



Chromatogram FID1 A (PAULA\EMOTPFC1.D) shows peaks at retention times: 1.051, 1.108, 1.225, 15.778, 16.596, 21.547, 22.324, 23.219, and 27.789 minutes. The y-axis is labeled pA and ranges from 0 to 80. The x-axis is labeled min and ranges from 0 to 30.

Chromatogram FID2 B (PAULA\EMOTPFC1.D) shows peaks at retention times: 1.386, 1.591, 1.801, 2.363, 2.761, 3.068, 3.743, 4.040, 4.569, 8.934, 10.105, 12.451, 12.888, 12.998, 14.932, 15.388, 17.462, 17.864, 19.071, 19.331, 20.638, and 24.233 minutes. The y-axis is labeled pA and ranges from 0 to 80. The x-axis is labeled min and ranges from 0 to 30.

FID1 A, (PAULA1EMOTPF2C2.D)

Retention Time (min)
1.2051
2.418
2.966
3.461
6.061
10.904
15.779
16.594
21.547
22.322
26.437
26.736
27.011
27.775

FID2 B, (PAULA1EMOTPF2C2.D)

Retention Time (min)
1.553
1.953
2.053
2.153
2.253
2.353
2.453
2.553
2.653
2.753
2.853
2.953
3.053
3.153
3.253
3.353
3.453
3.553
3.653
3.753
3.853
3.953
4.049
4.551
7.984
8.720
10.987
12.457
13.005
13.405
13.772
14.849
15.394
17.462
17.863
19.076
19.327
20.632
23.769
24.074
27.643
28.079
28.354
28.964
29.332