



Campinas, Junho de 2011

Laboratório Thomson de Espectrometria de Massas

Instituto de Química

Relatório Técnico de Análise

Amostra: Maná

Prof. Gerson - UNASP

1. Objetivo

Esse trabalho visou a análise da amostra declarada como maná e entregue em nosso laboratório pelo Prof. Gerson (UNASP). O objetivo foi de caracterizá-la, através das técnicas de espectroscopia e espectrometria.

2. **Técnicas empregadas.** infravermelho médio (Mid-IR), espectroscopia de fluorescência de raio-X (XRF) e espectrometria de massas por ressonância ciclotrônica de íons aplicando transformada de Fourier (FT-ICR MS).

3.

4. Parte Experimental

Uma mesma amostra foi dividida em três partes, e estocada de diferentes modos:

- a) A primeira foi estocada em armário a temperatura ambiente
- b) A segunda foi estocada em geladeira
- c) A terceira foi submetida a 60°C por cerca de sete dias em estufa

As partes então foram analisadas por três técnicas:

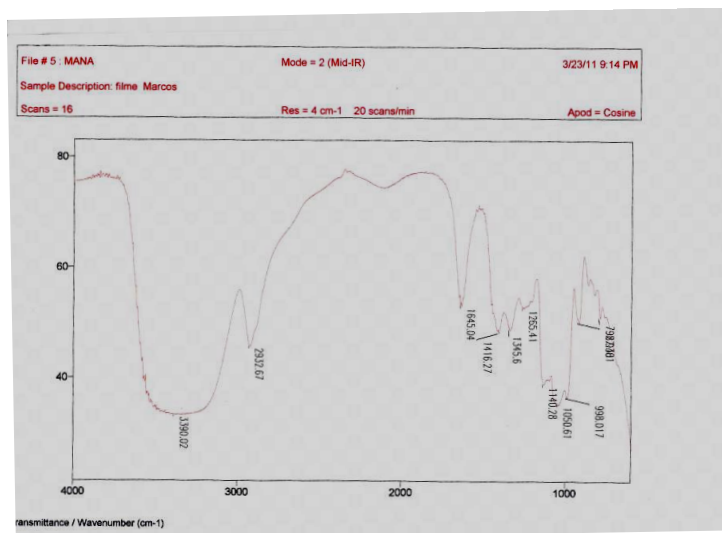
- 1) **Espectroscopia de infravermelho médio (400 a 4000cm⁻¹)(Mid-IR):** análise das partes (a), (b) e (c) no equipamento institucional da Química-Unicamp, sendo (a) em filme e (b) e (c) em pastilha de KBr.
- 2) **Espectroscopia de fluorescência de raio-X (XRF):** análise das partes (b) e (c) realizada no equipamento do laboratório da Professora Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno, do departamento de química analítica do Instituto de Química da Unicamp. As partes foram analisadas sem preparo prévio da amostra.
- 3) **Espectrometria de massas:** análise da parte (b) realizada nos modos positivo e negativo no equipamento ESI LTQ Ultra FT-ICR MS de 7 Tesla da Thermo-Finnigan do laboratório Thomson de espectrometria de massas.
Para isso 5mg de amostra foi dissolvida em 1mL de mistura água/metanol 1:1, seguida de diluição de 0,5mL dessa solução para 1,0mL com metanol. Realizou-se uma análise com aditivo hidróxido de amônio 0,2% no metanol e outra com somente metanol, ambos no modo negativo e no modo positivo, uma análise realizada com aditivo ácido fórmico 0,2% no metanol e outra com metanol puro.

Resultados e discussões

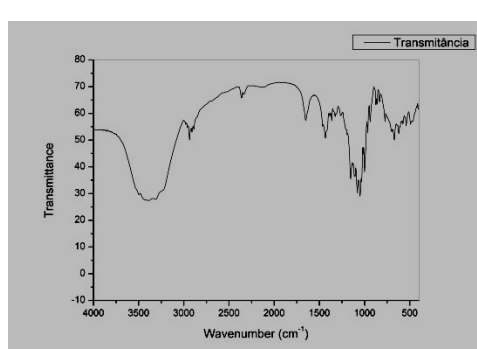
Após uma semana de armazenamento, a amostra (a) caramelizou-se e esse novo estado formado foi analisado.

1) Espectroscopia de infravermelho médio (Mid-IR):

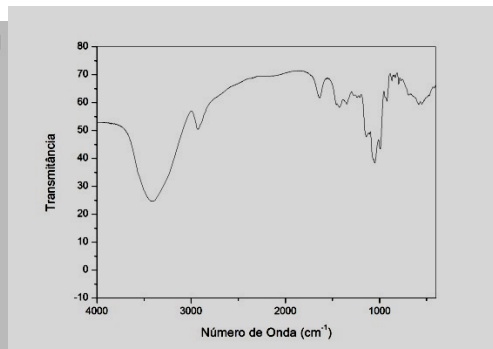
Os resultados da técnica de Mid-IR estão denotados na figura 1:



(a)



(b)

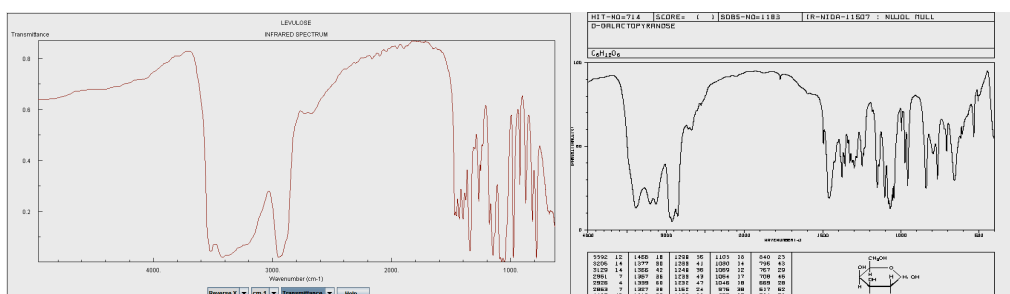


(c)

Figura 1: Espectros de IV da amostra de (a) caramelo, (b) maná úmido e (c) maná seco

Pela análise dos espectros de IV da Figura 1, pode-se perceber a semelhança entre os espectros (a), (b) e (c), com diferenças somente na banda do estiramento O-H em cerca de 3300cm⁻¹, dependendo da umidade da amostra, com maior intensidade e alargamento para a parte (a), e com relação as formas das bandas em que mais uma vez a parte (a) apresentou maior irregularidade.

Comparando-se com alguns espectros de açúcares comuns como frutose e sacarose (Figura 2), pode-se observar muita semelhança em especial ao espectro de IV da glicose, o que confirma o gosto adocicado da amostra.^{3,4}



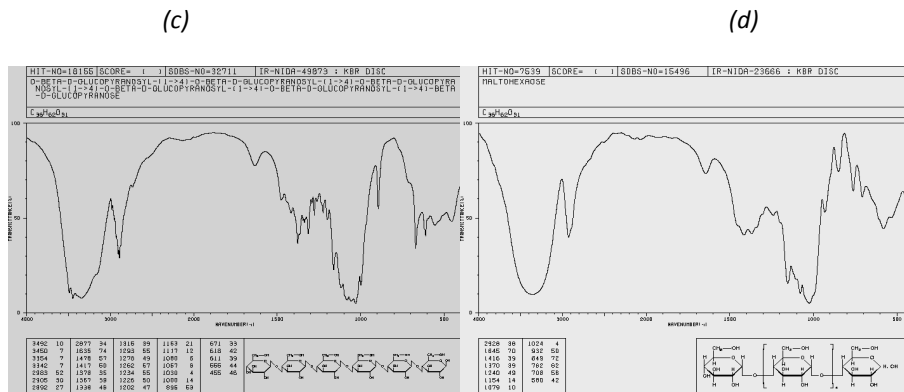
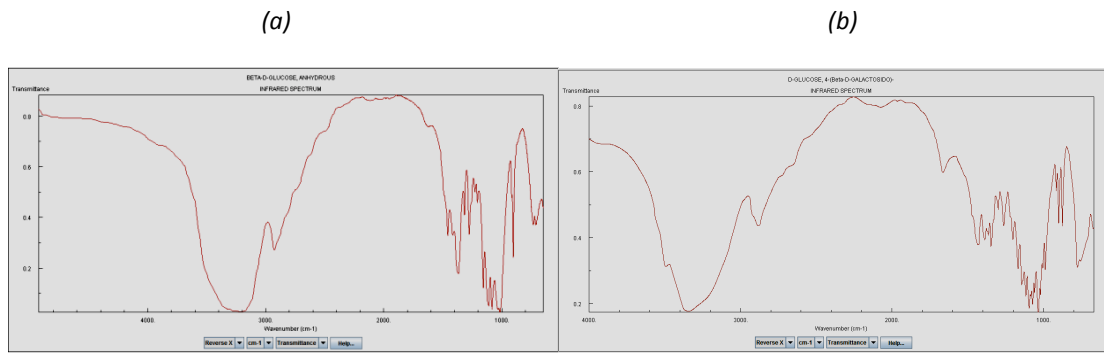
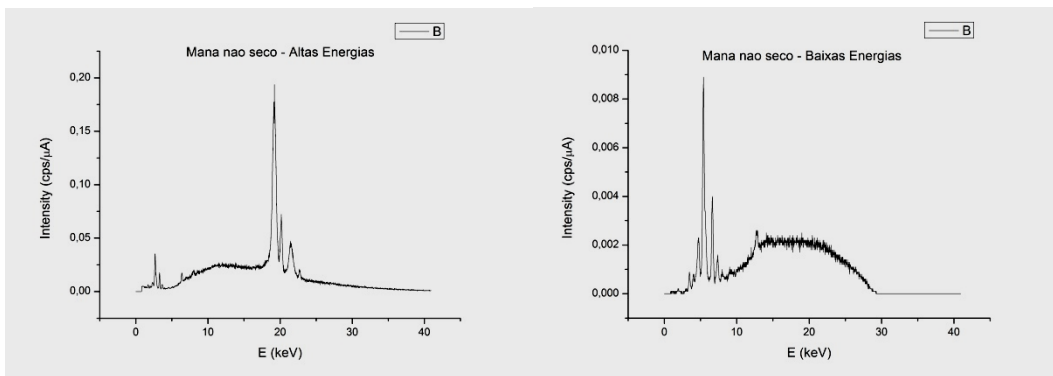


Figura 2: Espectros de IV da (a) frutose¹ (b) galactose² (c) glicose¹ (d) sacarose¹ (e)cellohexaose² (f)maltohexaose²

2) Espectroscopia de fluorescência de raios-X (XRF):

O Figura 3 mostra os espectros obtidos pela fluorescência de raios-X.:



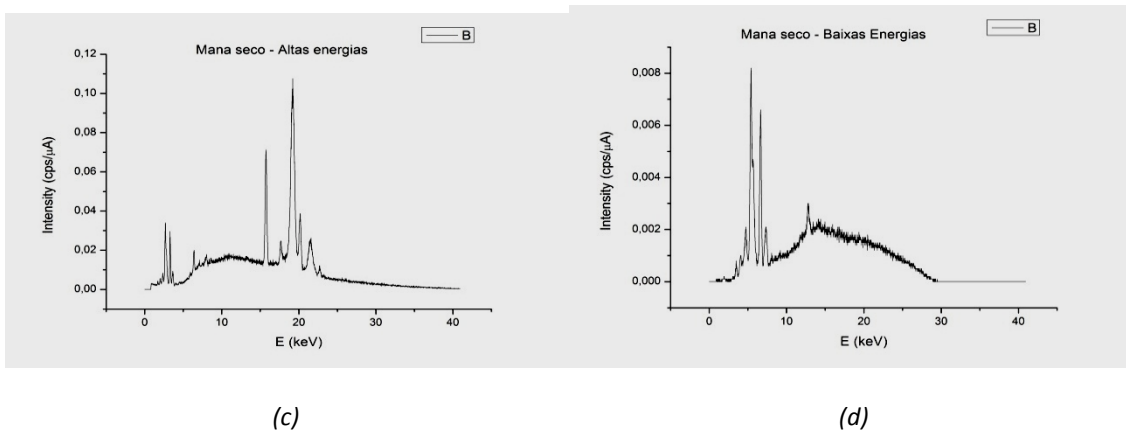


Figura 3: Espectros de fluorescência de raio-X: (a) altas energias para a parte estocada em geladeira (não-seco); (b) baixas energias para a parte estocada em geladeira (não-seco); (c) altas energias para a parte seca em estufa; (d) baixas energias para a parte seca em estufa

As nomenclaturas “altas” e “baixas” energias correspondem à região de energia que é favorecida em cada aquisição, detectando elementos mais e menos pesados, respectivamente. A parte (a) não foi analisada por essa técnica pelo fato que transformações como a que ela sofreu não afetariam o teor de metais e semi-metais da amostra.

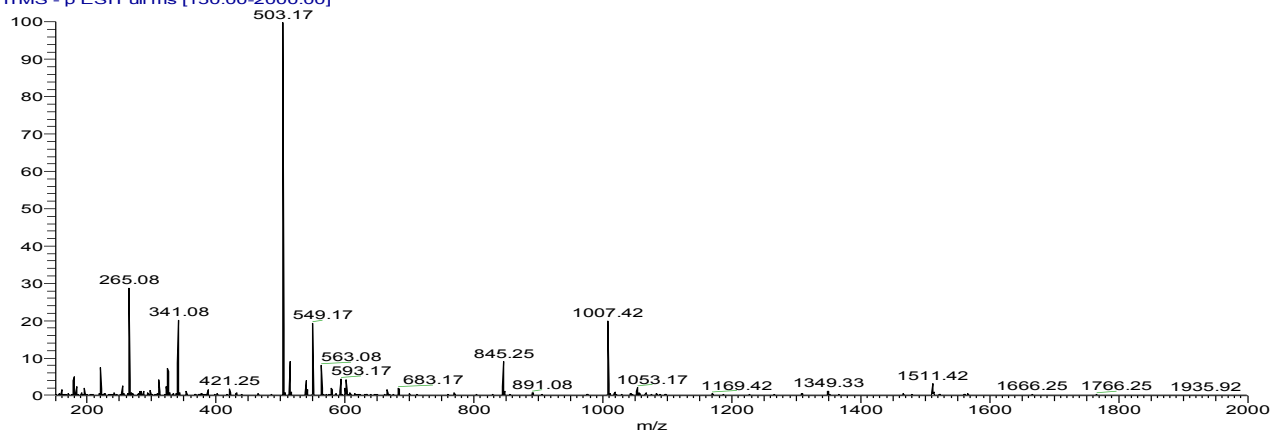
A análise por XRF indicou a presença dos íons potássio, cálcio, fósforo, ferro (III), silício, enxofre e cobre (II) na forma de óxidos (K_2O , CaO , P_2O_5 , Fe_2O_3 , SiO_2 , SO_3 e CuO), cada um presente em quantidades menores que 0,2% da parcela analisada, com 99,47% de matéria orgânica, nesse caso, combinação de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio (presente em açúcares e proteínas). Todos esses elementos metálicos desempenham funções importantes no metabolismo humano, desde regulação nervosa, passando a formação da estrutura óssea, até transporte de oxigênio na circulação sanguínea. Esse resultado demonstrou a presença de elementos não só aceitáveis ao ser humano, como essenciais ao funcionamento de seu organismo.

3) Espectrometria de massas:

As Figuras 4 e 5 mostram os espectros das análises realizadas por FT-ICR MS em equipamento LTQ-Ultra da Thermo:

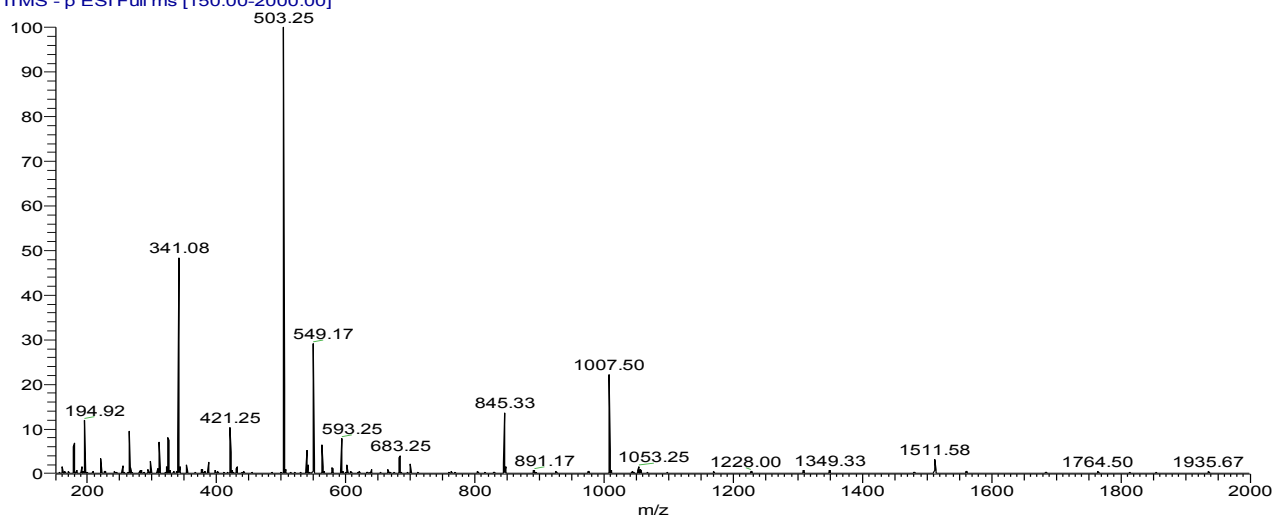
- Modo negativo:

Mana_neg_cal #2-39 RT: 0.00-0.64 AV: 38 NL:
T: ITMS -p ESI Full ms [150.00-2000.00]



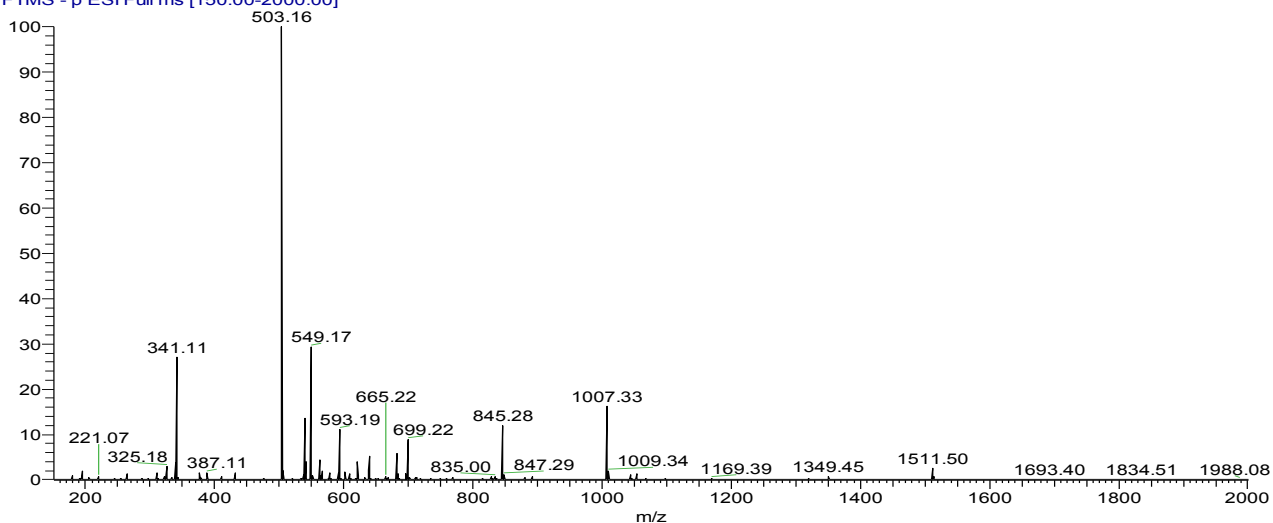
(a)

Mana_neg_cal_NH4OH #3-22 RT: 0.01-0.45 AV: : 8.04E5
T: ITMS -p ESI Full ms [150.00-2000.00]



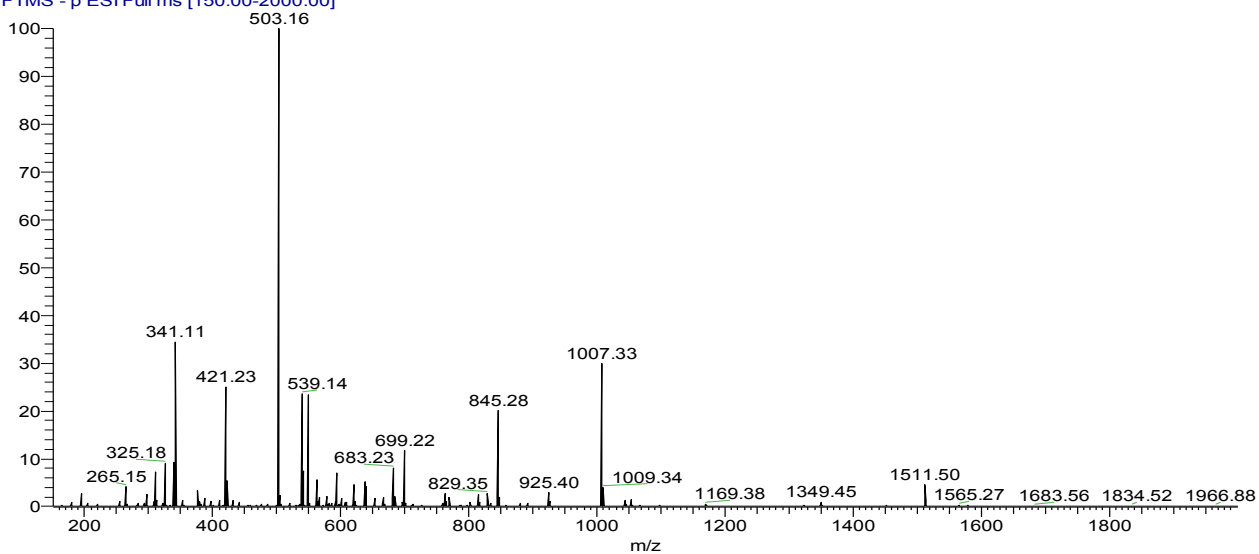
(b)

Mana_neg_cal #40-61 RT: 0.69-1.03 AV: 22 NL 6
T: FTMS - p ESI Full ms [150.00-2000.00]



(c)

Mana_neg_cal_NH4OH #23-38 RT: 0.51-3.45 AV L: 1.13E6
T: FTMS - p ESI Full ms [150.00-2000.00]

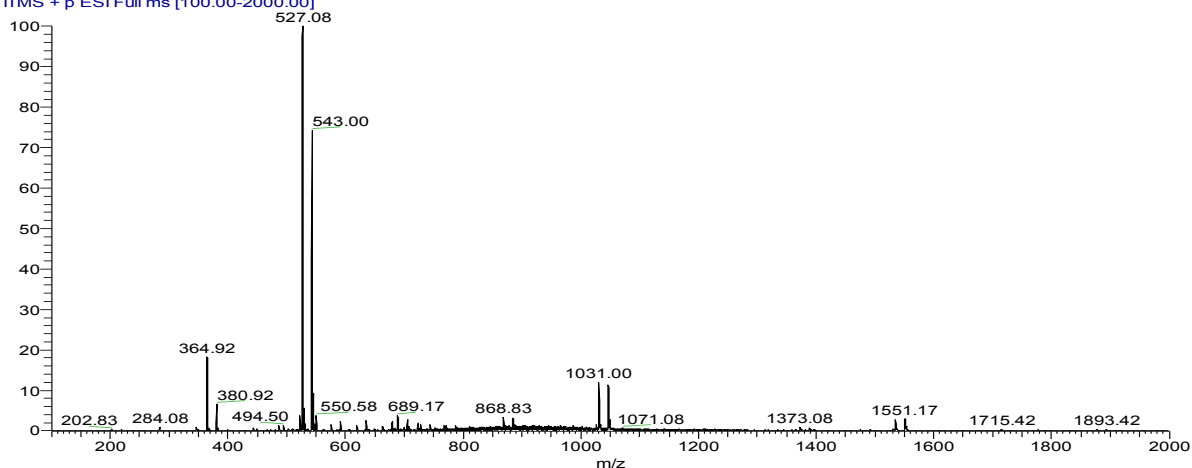


(d)

Figura 4: Espectros de massas obtidos no modo negativo: (a) Ion-Trap sem NH_4OH ; (b) Ion-Trap com NH_4OH ; (c) FT-ICR sem NH_4OH e (d) FT-ICR com NH_4OH

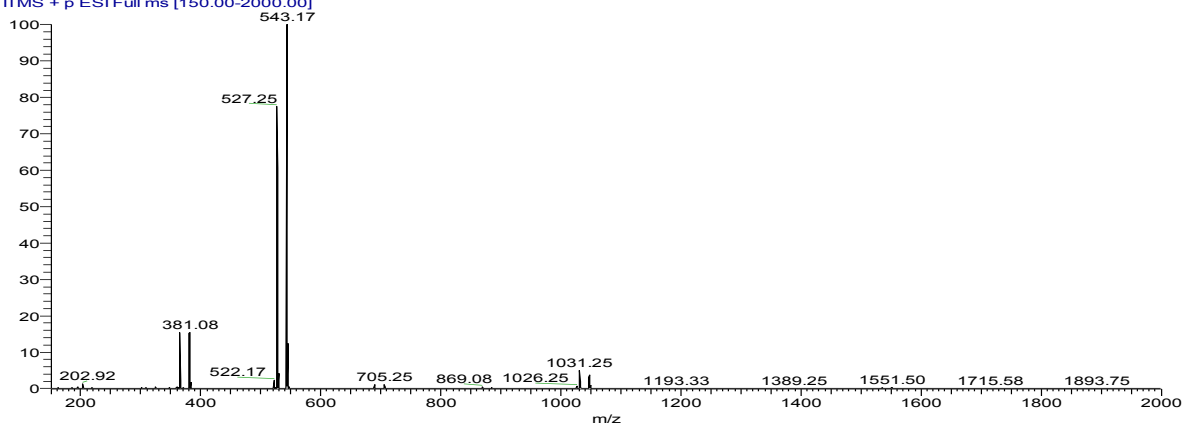
- Modo Positivo:

Mana_pos_cal #2-25 RT: 0.06-1.53 AV: 24 NL:
T: ITMS + p ESI Full ms [100.00-2000.00]



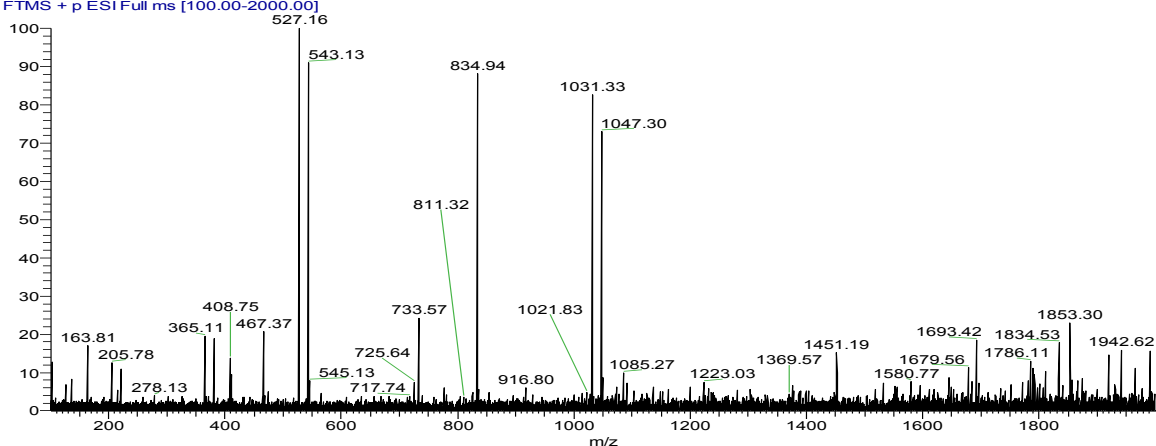
(a)

Mana_pos_cal_acid #1-65 RT: 0.00-3.76 AV: 65 98E5
T: ITMS + p ESI Full ms [150.00-2000.00]

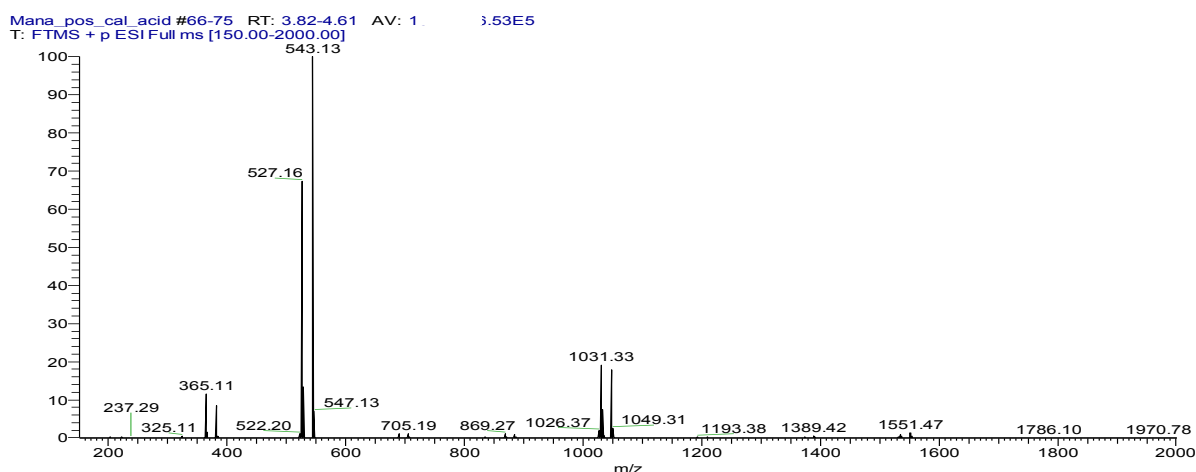


(b)

Mana_pos_cal #26-32 RT: 1.59-8.73 AV: 7 NL:
T: FTMS + p ESI Full ms [100.00-2000.00]



(c)



(d)

Figura 5: Espectros de massas obtidos no modo negativo: (a) Ion-Trap sem HCOOH; (b) Ion-Trap com HCOOH; (c) FT-ICR sem HCOOH e (d) FT-ICR com HCOOH

De acordo com os espectros obtidos no modo positivo com o aditivo, que apresentou menor relação sinal/ruído além de maior correlação com o espectro preliminar realizado no Ion-Trap pode-se confirmar a presença de oligossacarídeos constituídos por hexoses (fórmula molecular $C_6H_{12}O_6$), nas m/z 365, 381, 527, 543, 1031 e 1047 conforme a literatura⁵. A Tabela 1 lista as atribuições destes compostos:

Tabela 1: Atribuições de algumas razões m/z obtidas nos espectros obtidos no modo positivo⁵

m/z (Da)	Íon
365,11	$[Hex_2 + Na]^+$
381,08	$[Hex_2 + K]^+$
527,16	$[Hex_3 + Na]^+$
543,13	$[Hex_3 + K]^+$
1031,33	$[2Hex_2 + Na]^+$
1047,30	$[2Hex_2 + K]^+$

Percebe-se a presença de adutos de dissacarídeos com sódio e potássio, comuns em análises por eletrospray (ESI) semelhantes àqueles reportados na literatura.⁵

4) Análise Elementar

A Tabela 2 lista os resultados obtidos para análise elementar.

Tabela 2: Proporções elementares encontradas na análise elementar comparados com o esperado para a molécula de $C_6H_{12}O_6$

	Experimental			Esperado para $C_6H_{12}O_6$
	1	2	Média	
C	37,78	37,66	37,72	40,00
H	6,39	6,70	6,55	6,71
O	55,70	55,45	55,58	53,29
Total	99,87	99,81	99,84	100,00

A comparação com os valores esperados para $C_6H_{12}O_6$ foi realizada utilizando a massa molar da molécula de $C_6H_{12}O_6$ e as proporções mássicas dos elementos com a massa total da molécula. Os resultados são coincidentes com a presença da glicose na amostra, sendo que a diferença para 100% nos valores experimentais corresponde a níveis próximos de 0,20% para nitrogênio.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos pôde-se concluir que a amostra é constituída majoritariamente de açúcares (oligossacarídeos), bem como pequenas quantidades de compostos nitrogenados e óxidos de elementos metálicos adequados a alimentação humana. A amostra poderia então fornecer uma boa fonte de nutrientes para a dieta humana, o que coincide com as expectativas para uma amostra de maná.^{3,4}

Marcos N. Eberlin e Marcos A. Pudenzi

Laboratório ThoMSon de espectrometria de Massas
Instituto de Química
UNICAMP

Referências Bibliográficas

1. Extraído do webbook da NIST hospedado em <http://webbook.nist.gov/chemistry/>
2. Extraído da base de dados da SDBS hospedado em http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi
3. "Revista Adventista", novembro 1948 p.26-27
4. Keller W., E a Bíblia tinha razão, p. 114-117
5. Sanvido, Gustavo B. ; Garcia, Jerusa S. ; Corilo, Yuri E. ; Vaz, Boniek G. ; Zacca, Jorge J. ; Cosso, Ricardo G. ; Eberlin, Marcos N. ; Peter, Martin G. . Fast Screening and Secure Confirmation of Milk Powder Adulteration with Maltodextrin via Electrospray

Ionization- Mass Spectrometry [ESI(+)-MS] and Selective Enzymatic Hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58 (17), p. 9407-9412.