



ESPECTROSCOPIA RAMAN PORTÁTIL E QUIMIOMETRIA PARA A IDENTIFICAÇÃO RÁPIDA DE SUPLEMENTOS DE ÓLEO DE PEIXE ÔMEGA-3 CERTIFICADOS

Palavras-Chave: ESPECTROSCOPIA RAMAN PORTÁTIL, ANÁLISES DIRETA, QUIMIOMETRIA

Autores(as):

WEDILLEY FONSECA SOARES, IQ – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). JAVIER ERICK LOBATÓN VILLA (orientador), IQ - UNICAMP

INTRODUÇÃO

Suplementos de óleos de peixe ômega-3 apresentam grande importância na dieta contendo vários benefícios para saúde humana, o seu uso previne doenças cardíacas, crônico-degenerativas e inflamações, atua na redução do colesterol tão quanto deficiências vasculares, tais efeitos são devido a sua composição rica de ácidos graxos poli-insaturado em sua estrutura proveniente do ácido docosaenoico (DHA) e do ácido eicosapentaenoico (EPA), além da sua comercialização em forma de cápsulas eles também são encontrados de forma natural em animais marinhos. O mercado atual contempla amostras com marcas certificadas pelo programa internacional “The International Fish Oil Standards” (IFOS) e não certificadas dessas, tais divergem por apresentar maior controle na eficácia da garantia desse produto, para tanto é necessário determiná-las com um alto padrão no controle de qualidade, onde para quantificar os índices de EPA e DHA é empregado métodos de análise utilizando técnicas de separação como cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa-espectrometria de massa (CG-MS), o que envolve maior custo, preparo e tempo para atingir os resultados ao compará-la com a técnica de espectroscopia Raman.¹⁻²

O uso da espectroscopia Raman tem a capacidade de identificar os tipos de estruturas químicas dos materiais mediante a sua disposição vibracional, devido a uma aplicação de radiação eletromagnética diretamente na amostra que corrobora a um espalhamento pela transição dos níveis de energia³, o uso do instrumento portátil mostra grande relevância por sua facilidade de mobilidade, transporte e valor, obtendo a mesma capacidade na aquisição dos resultados de maneira rápida e direta, ou seja sem a necessidade de realizar qualquer tipo de preparo das amostras. Com a automatização os dados Raman gerados tornam a análise mais prática e eficiente, fazendo assim com que se diminuam os tipos de erro dado uma resposta ágil e confiável.

Atualmente a inteligência artificial (AI) e o aprendizado de máquina (ML) têm contribuído no processamento e análise de dados químicos (quimiometria), permitindo desenvolver e automatizar tarefas complexas.⁴ Sendo assim, neste trabalho, nós propomos a utilização de ferramentas

quimiométricas para a caracterização de diferenciação de suplementos de ômega 3 certificados e não certificados.

METODOLOGIA:

Foram analisadas dois tipos de amostras comerciais de ômega 3 encapsuladas de forma aleatória de diferentes marcas onde 8 delas eram certificadas com 248 medidas e 26 não certificadas com 520 medidas, os espectros Raman foram adquiridos com mesma condição experimental de 4 exposições com 5 segundos de acumulação e 100% da capacidade do laser, a partir de um espectrômetro Raman portátil modelo BWS465-785S iRaman Plus (B&W Tek) com resolução de 4.8 cm⁻¹, equipado a um laser na região do infravermelho com detecção de 785 nm, equivalente a 400 mW.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada empregando a linguagem de programação em Python e o software Spyder. A partir da matriz de dados, a PCA proporcionou a variância explicada, escores e pesos, que foram utilizados para estabelecer diferenças espectrais entre as amostras certificadas e não certificadas. Finalmente, as diferenças espectrais foram associadas com a composição química das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os espectros obtidos das amostras de ômega 3 indicado na figura 1 foram aplicados um pré-processamento de correção da linha de base e remoção de variações sistemáticas, organizando os dados e melhorando sua visualização, posterior foi realizado uma tentativa de atribuição de bandas que se dispõem na tabela 1.

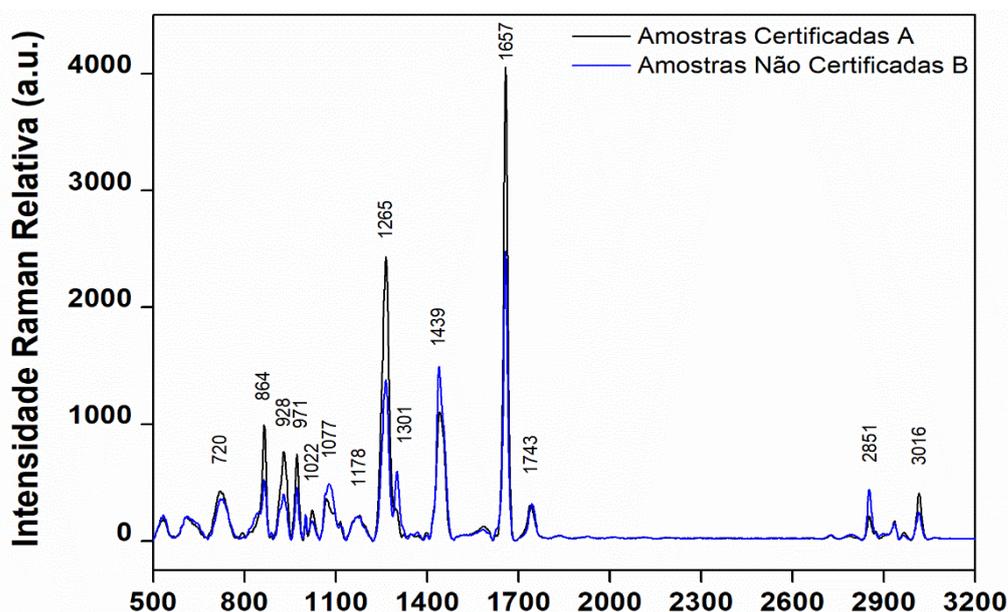


Figura 1: Média espectro Raman em cápsulas de soft-gel de amostras certificadas e não certificadas de ômega 3.

Deslocamento Raman (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição de banda*
928 e 971	Fraca	δ (C-H) Flexão de alceno C-H
1265	Forte	δ (=C-H) Flexão de alceno C-H
1301	Fraca	Torção C-H do metileno

1439	Média	δ (CH ₂) Tesoura
1657	Forte	ν (C=C) Alongamento de alceno
1743	Fraca	Alongamento ν (C=O)
2851	Fraca	ν (C-H) Alongamento de grupos metileno
3016	Fraca	ν (C-H) Alceno isolado alongamento C-H

Tabela 1: Atribuição das bandas de interesse referente a cápsulas de ômega 3.

* ν = estiramento δ = deformação

Na figura 1, pode-se observar que a intensidade das bandas em 928, 971, 1439 e 1743 cm^{-1} são relativamente iguais entre as amostras do tipo A e do tipo B. Já quando analisamos as bandas em 1265, 1657 e 3016 cm^{-1} , a intensidade da amostra A é maior do que a intensidade da amostra B. Por outro lado, nas bandas em 2859 cm^{-1} e 1303 cm^{-1} a intensidade da amostra B é maior do que a intensidade da amostra A.

Óleos com maior concentração de ômega 3 possuem maior intensidade na região de 1660 cm^{-1} . Já, bandas mais intensas na região de 2851 indica um menor teor de ômega 3.⁵

O pico em 1301 cm^{-1} que corresponde a torção C-H do grupo metileno⁶, é mais intenso nas amostras B do que nas amostras A. Nesse caso, podemos associar que as amostras B possuem maior quantidade de ligações saturadas nas cadeias de EPA e DHA. Por outro lado, o pico em 1263 cm^{-1} que corresponde a torção C-H do grupo metina⁶, é mais intenso nas amostras A do que nas amostras B. Isso está relacionado com números de insaturações nas moléculas de interesse, de modo que as amostras A possuem mais insaturações nas cadeias de EPA e DHA.

Os picos 3015, 1657 e 1285 estão relacionados com o nível de insaturação nos óleos de peixe⁷, e esses picos têm sido utilizados por outros autores para quantificar e classificar óleos/gorduras insaturados puros.

Ao identificar uma diferença entre as espécies fazer a aplicação do método de análise de componentes principais (PCA), pela redimenssionalização reduzida dos dados é possível observar as amostras a partir da correlação delas em seu comportamento e verificar diferenças presente nas variáveis, sem afetar as informações na projeção multivariada deles.⁸

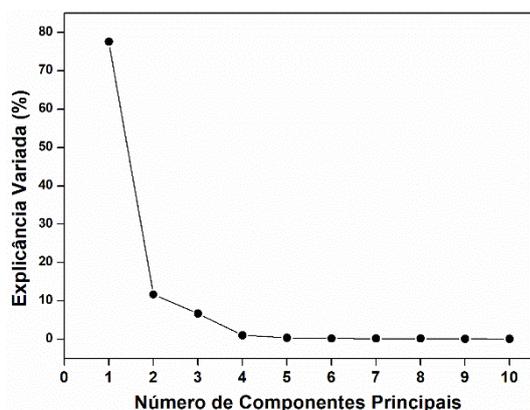


Figura 2: Gráfico de porcentagem da variância explicada pelo número de componentes principais.

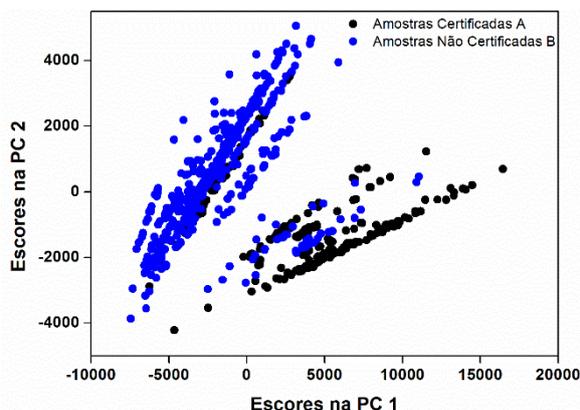


Figura 3: Gráfico de escores da PC1 pela PC2.

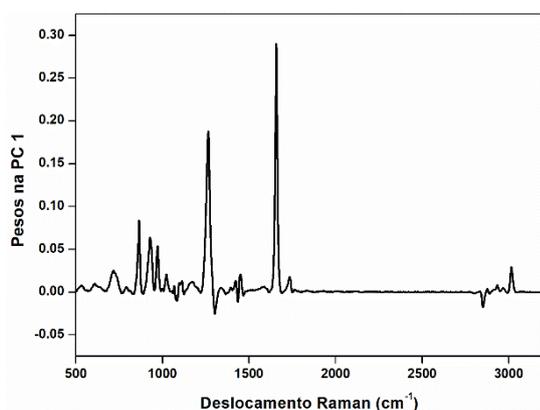


Figura 4: Pesos na PC 1 pelo deslocamento Raman

Análise de componentes principais: ao empregar a PCA para uma análise qualitativa segundo a figura 2, a partir da variância explicada obteve-se uma combinação de três principais componentes (PCs) compondo 95,90 % de variância, através da composição entre 77,56% PC1, 11,65% PC2 e 6,69% PC3 respectivamente.

Interpretando a figura 2 dos escores foi considerado as PCs mais importantes, ao qual representam mais de 89% das informações das amostras, a visualização do eixo em que apresenta a

maior diferença desses dados são encontradas na PC1, embora a concentração das informações apontarem um valor relevante, não é possível observamos agrupamentos isolados, mas sim regiões sobrepostas entre si.

Examinando os pesos atribuído a PC com maior diferença para avaliação retratada no posicionamento que as amostras foram associadas na figura 4, as informações com maior diferença nas variáveis são expressas pelas regiões aproximadamente em 1650 e 1250 cm^{-1} mediante aos maiores pesos positivos e 1300 cm^{-1} negativos relativo a PC1, observando as variáveis de aproximadamente 1800 até 2800 cm^{-1} mostrando a ausência de picos por conta do ruído gerado, confirmam a não existência de informação química nas cápsulas de ômega 3.

Ao fazer a análise exploratória responsável por apresentar elementos fundamentais na diferenciação de dados, utilizando-a não é possível classificar amostras que são certificadas de não certificadas. Portanto, desenvolver um modelo multivariado para classificar e tomar decisões a partir de vários fatores simultaneamente, decorrente a um amplo conjunto de dados de maneira rápida, é essencial seu uso junto a validação de amostras externas para confirmação na identificação das diferenças, sendo possível prever distinções através de uma interpretação química.

Contudo, amostras certificadas apresentam melhor qualidade comparado as não certificadas em relação a sua composição química elucidada a partir das bandas Raman por apresentarem a quantidade adequada dos compostos de EPA e DHA especificados dentro de um padrão certificado, levando a uma

maior precisão desses componentes por meio da sua intensidade relativa e deslocamento Raman das bandas características.

CONCLUSÕES:

Utilizar a técnica de espectroscopia Raman permitiu a interpretação de compostos presentes em amostras a partir dos modos vibracionais. Os espectros gerados contêm muitas informações químicas e podem ser redimensionalizados usando quimiometria, o que permite a identificação de diferenças na composição. Como forma de discriminar fraudes em materiais ao fazer o uso dessas técnicas é possível identificar divergência de informações, como feitos nesse estudo para amostras que são certificadas e não certificadas de ômega 3 modificadas em sua composição. Além da identificação, adotar essa prática no controle de qualidade desses produtos na verificação de sua composição é muito eficiente, realizado de maneira rápida e prática.

BIBLIOGRAFIA

- [1] VAZ, Diana S.S., GUERRA, Fernando M.R.M., GOMES, Cristiane F., SIMÃO, Andréa N.C., JUNIOR, Joaquim M. A importância do ômega 3 para saúde humana: um estudo de revisão. **Uningá Review**. Maringá, v.20, p.49, 2014
- [2] HANDAYANI, Sri, BUDIMARWANTI, Cornelia. Developmente of simple analytical method of omega-3 fatty acid by propanoic acid determination using alkalimetric titration, **Indonesian Journal of Chemistry**. Joguejacarta, v. 6 p. 322, 2006
- [3] STAVELEY, L.A.K. **The Characterization of Chemical Purity**, Londres, Butterworth Heinemann, 1971
- [4] EMMERT-STREIB, Frank, YLI-HARJA, Olli, DEHMER, Matthias. Explainable artificial intelligence and machine learning: A reality rooted perspective. **WIRES Data Mining Knowl Discov**, Nova Jersey, v.10, p. 1-2, 2020
- [5] KILLEEN, Daniel P., MARSHALL, Susan N., BURGESS, Elaine J., GORDON, Keith C., PERRY, Nigel B. Raman spectroscopy of fish oil capsules: polyunsaturated fatty acid quantitation plus detection of ethyl esters and oxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 65, p. 3554, 2017
- [6] KILLEEN, Daniel P., CARD, Asli, GORDON, Keith C., PERRY, Nigel B. First use of handheld Raman spectroscopy to analyze omega-3 fatty Acids in intact fish oil capsules. **Applied Spectroscopy**. Londres, v. 74, p. 367, 2020
- [7] BEKHIT, Michael Y., GRUNG, Bjørn, MJØS, Svein A. Determination of omega-3 fatty acids in fish oil supplements using vibrational spectroscopy and chemometric methods. **Applied Spectroscopy**. Londres, v. 74, p. 1194, 2014
- [8] FERREIRA, Márcia M. C. **Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações**. Campinas, Editora da Unicamp, 2015