

**JAMILLE CARVALHO DE SOUZA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES DE ÔMEGA-3  
UTILIZANDO UM ESPECTROFOTÔMETRO DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE  
BAIXO CUSTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Maria do Carmo Hespanhol

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S729a  
2021 Souza, Jamille Carvalho de, 1996-  
Avaliação da qualidade de suplementos alimentares de  
ômega-3 utilizando um espectrofotômetro de infravermelho  
próximo de baixo custo / Jamille Carvalho de Souza. – Viçosa,  
MG, 2021.  
58 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Maria do Carmo Hespanhol.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 45-50.

1. Espectroscopia de infravermelho próximo. 2. Análise  
multivariada. 3. Ácidos graxos ômega-3. 4. Suplementos  
dietéticos - Modelos matemáticos. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação  
em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 543.57


JAMILLE CARVALHO DE SOUZA


**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES DE  
ÔMEGA-3 UTILIZANDO UM ESPECTROFOTÔMETRO DE  
INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE BAIXO CUSTO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Agroquímica, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2021.

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Jamille Carvalho de Souza  
Autora

  
\_\_\_\_\_  
Maria do Carmo Hespanhol  
Orientadora

*Dedico este trabalho à minha mãe, por todo amor e por todos os esforços para sempre fazer de meus objetivos, seus objetivos e de meus sonhos, seus sonhos.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica por permitirem a concretização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES 88882.437055/2019-01), pelo fornecimento da bolsa de mestrado.

À CAPES, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

À Professora Dra. Maria do Carmo Hespanhol, por ter aceitado me orientar, pelos ensinamentos, pela paciência e pelo entusiasmo durante o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. Celio Pasquini, pelas aulas teóricas, ensinamentos, discussões e contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto Harris, pelo fornecimento de amostras de suplementos de ômega-3 com seus respectivos relatórios de ensaio de ômega-3 por cromatografia gasosa.

Aos professores que aceitaram o convite para participar desta defesa.

Aos meus pais, pelo amor, apoio e confiança incondicionais.

Ao meu irmão Jefferson e à minha tia Renata, pelo amor incondicional e apoio.

À minha sobrinha Ágatha, por me dar forças com sua doçura e inocência nos dias difíceis.

Aos meus amigos, em especial, Ana Carolina, Ana Luiza e Gabriel, por torcerem pelo meu sucesso e por tornarem essa caminhada mais fácil.

Aos meus colegas de trabalho do GAES 2019-2021 (Daliane, Francielle, Juliana, Mayara, Thaís, Danillo, Leonardo, Kaíque, Adriane, Debora e Ueslei), pelo apoio e por me fornecerem toda a ajuda necessária para a realização deste trabalho.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento!

*“Nunca recebi dez com louvor, sempre sete com distinção.”*  
Bartolomeu Campos de Queirós

## RESUMO

SOUZA, Jamille Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2021. **Avaliação da qualidade de suplementos alimentares de ômega-3 utilizando um espectrofotômetro de infravermelho próximo de baixo custo.** Orientadora: Maria do Carmo Hespanhol.

Suplementos alimentares de ômega-3 são especificados de acordo com a quantidade de ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA). A principal matéria-prima usada é o óleo de peixe. Devido aos efeitos benéficos para a saúde associados ao consumo de ômega-3, existe um grande número de marcas de suplementação. Portanto, faz-se necessário um controle da qualidade desses suplementos. Neste sentido, este trabalho visa utilizar um espectrofotômetro de infravermelho próximo portátil e de baixo custo para avaliar a qualidade de suplementos alimentares de ômega-3. O espectrofotômetro NanoNIR (Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, EUA), que possui um custo aproximado de US\$ 1000, foi empregado, operando na faixa espectral de 900 – 1700 nm, para obter os espectros de absorção de 83 suplementos de ômega-3, adquiridos nas farmácias e lojas de Minas Gerais e São Paulo – Brasil. Além disso, 43 amostras de óleos vegetais também foram medidas. Os dados espectrais foram pré-tratados, usando-se o método da 2ª derivada (Savitzky-Golay, 15 pontos, polinômio de 2º grau) e submetidos a análise das componentes principais, usando o software quimiométrico Unscrambler 10.5.1 (CAMO - Noruega). Em seguida, uma maneira não convencional de construir modelos de regressão multivariada, com base em regressão de mínimos quadrados parciais, foi proposta para determinar o conteúdo de ômega-3 nos suplementos, na qual poucos valores de referência foram utilizados e o conjunto de dados foi completado com os valores do teor de ômega-3 informados nos rótulos. Os resultados mostraram que a abordagem simples, rápida e econômica proposta pode fornecer informações relevantes relacionadas à qualidade dos suplementos *in situ*, como triagem do conteúdo dos componentes ativos e identificação de fraudes e/ou não conformidades.

Palavras-chave: Espectroscopia de infravermelho próximo. Análise multivariada. Ácidos graxos ômega-3. Suplementos alimentares – Modelos matemáticos.

## ABSTRACT

SOUZA, Jamille Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2021. **Quality screening of omega-3 dietary supplements using a low-cost near-infrared spectrophotometer.** Adviser: Maria do Carmo Hespanhol.

Omega-3 dietary supplements are specified according to the amount of eicosapentaenoic acid, EPA, and docosahexaenoic acid, DHA. The principal raw material used in these supplements is fish oil. A number of trading brands is commercially available due to its benefic effects to health associated with the protection against all sorts of diseases. Therefore, a fast and acting at the point-of-interest quality control of these supplements is necessary. In this sense, this work aims to use a low cost, portable near infrared spectrophotometer to evaluate the quality of commercial omega-3 dietary supplements. The NanoNIR spectrophotometer (Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, USA), which costs, approximately, US\$ 1,000.00, was used, operating in the spectral range of 900 – 1700 nm, to obtain the absorption spectra of 83 omega-3 supplements samples, purchased at pharmacies and supplement stores in the states of Minas Gerais and São Paulo - Brazil. In addition, 43 samples of vegetable edible oils were also measured. The spectral data set was pretreated using the second derivative (Savitzky-Golay, 15 points, 2nd degree polynomial) and submitted to a principal component analysis, using the chemometric software Unscrambler 10.5.1 (CAMO - Norway). Then, an unconventional way of building multivariate regression models based on partial least squares regression was proposed to evaluate the content of omega-3 in the supplements, in which few reference values were used and the data set was completed with the values of omega-3 content informed on the selected labels. The results showed that the simple, fast and economical approach proposed can provide *in situ* relevant information related to the quality of supplements, such as identification of several raw materials used in their manufacture, screening of the content of active components, identification of fraud/non-conformities and reports on dishonest marketing practices.

Keywords: Near infrared spectroscopy. Multivariable analysis. Omega-3 fatty acids. Food supplements – Mathematical models.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
1.1. Ômega-3.....	10
1.2. Espectroscopia de infravermelho próximo.....	11
1.2.1. Fundamentos da espectroscopia vibracional .....	11
1.2.2. Modelo do oscilador harmônico.....	12
1.2.3. Modelo do oscilador anarmônico.....	13
1.2.4. Origem das bandas de absorção na região do infravermelho próximo.....	15
1.2.5. Formas de interação da radiação eletromagnética com a matéria .	15
1.3. Instrumentação .....	16
1.5. Aplicações analíticas .....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
2.1. Objetivo geral .....	20
2.2. Objetivos específicos .....	20
<b>3. MATERIAIS E MÉTODO</b> .....	<b>21</b>
3.1. Amostras.....	21
3.2. Espectrofotômetro infravermelho próximo .....	22
3.3. Cella de medida e protocolo de aquisição dos espectros.....	25
3.4. Análise do conjunto de dados .....	27
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
4.1. Performance do instrumento NanoNIR .....	28
4.2. Características dos espectros de infravermelho próximo de suplementos de ômega-3 e de óleos vegetais .....	29
4.3. Análise de Componentes Principais (PCA) .....	31
4.4. Estimando o conteúdo de DHA + EPA dos suplementos de ômega-3 ..	35
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa do tipo ômega-3 são predominantemente encontrados em peixes marinhos de águas profundas [1]. Dentre esses ácidos graxos, os que são frequentemente reportados em estudos como benéficos para a saúde humana, principalmente pelo fato de reduzirem o risco da ocorrência de doenças crônicas, são os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) [2].

Devido aos benefícios associados ao consumo desses ácidos graxos, os suplementos alimentares de ômega-3 provenientes de óleo de peixe são atualmente muito consumidos pela população [3]. De acordo com uma avaliação recente de mercado, o consumo de suplementos alimentares contendo ômega-3 tem aumentado ano após ano, permitindo uma projeção de tamanho de mercado mundial de US\$ 2 bilhões até 2025 [4].

Sendo assim, não é uma surpresa que o número de varejistas de suplementos de ômega-3 possa ser facilmente estimado em centenas de diferentes rótulos. Entretanto, dois fatores devem ser levados em consideração quanto à eficácia desses suplementos comerciais disponíveis: a dose de ingestão e os parâmetros de qualidade, associados à presença de contaminantes (incluindo os metais tóxicos, como mercúrio, por exemplo, no caso de produtos derivados de óleo de peixe) e produtos de oxidação [5,6].

A alta demanda e a grande diversidade de marcas comerciais de suplementos de ômega-3 disponível exigem um processo de controle de qualidade rigoroso.

Atualmente, os métodos analíticos de referência empregados no controle de qualidade de suplementos de ômega-3 são baseados na cromatografia, que é capaz de determinar o conteúdo do material analisado com alta seletividade e precisão. Entretanto, as técnicas cromatográficas, em geral, requerem um pré-tratamento de amostra demorado e complicado [7,8], impedindo seu uso *in situ*. Dessa forma, métodos úteis, rápidos, *in situ* e de baixo custo para investigar a qualidade e detectar fraudes de suplementos alimentares de ômega-3 são necessários para substituir ou aliviar a carga de trabalho de laboratório.

Para atender a essa demanda, a literatura reporta diversas tentativas de usar técnicas analíticas espectrométricas diretas, como ressonância magnética nuclear (NMR) [9,10], infravermelho médio (MIR) [9-15], infravermelho próximo (NIR) [9,10,13-

20], e Raman [13,21], a fim de apoiar métodos analíticos desenvolvidos para determinar a quantidade de DHA e EPA nos suplementos de ômega-3 ou para atestar suas autenticidades.

Esses métodos apresentam as vantagens tipicamente associadas aos métodos diretos, impedindo o laborioso pré-tratamento químico da amostra e fornecendo exatidão, precisão e velocidade de resposta suficientes para atestar a qualidade dos suplementos em relação aos seus conteúdos de DHA e EPA. O uso de instrumentos portáteis também é descrito na literatura para o monitoramento da qualidade de suplementos de ômega-3 utilizando, principalmente, a espectroscopia MIR e NIR [11,18]. Entretanto, a maioria dos instrumentos empregados nesses casos são de alto custo, o que restringe seu uso *in situ* por agentes de inspeção de qualidade.

Este trabalho, portanto, visa avaliar a viabilidade do emprego de um espectrofotômetro NIR portátil de baixo custo (aproximadamente US\$ 1000) na triagem qualitativa rápida e *in situ* de suplementos alimentares de ômega-3 comerciais.

### **1.1. Ômega-3**

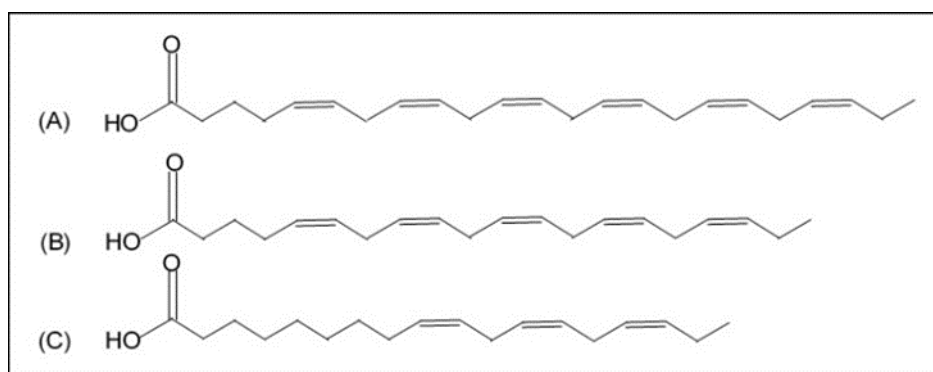
Os compostos do tipo ômega-3 são ácidos graxos (cadeias hidrocarbônicas com o grupo carboxila em uma extremidade e o grupo metila na extremidade oposta) com uma ligação dupla no terceiro carbono, contando-se a partir da extremidade do grupo metila. Quando esses ácidos graxos possuem mais de uma ligação dupla, eles são chamados de ácidos graxos poli-insaturados [21].

O consumo de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa do tipo ômega-3 é reportado na literatura como benéfico para a saúde humana, pois ajuda a combater diversos tipos de doenças, tais como câncer de mama, depressão, transtorno do déficit de atenção com hiperatividade (TDAH), além de várias doenças inflamatórias e cardiovasculares [22,23]. Visto que os seres humanos não são capazes de sintetizar ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa em seus organismos através de precursores mais simples, é necessário ingeri-los através de uma dieta alimentar equilibrada ou através da ingestão de suplementos alimentares de ômega-3 [21].

Peixes marinhos de águas profundas e geladas (arenque, cavala, atum, salmão e sardinha) são a principal fonte animal de ácidos graxos poli-insaturados de cadeias longas [21]. Os principais representantes dessa família de ácidos graxos são o EPA e o DHA. O EPA possui uma cadeia constituída de 20 carbonos e 5 ligações duplas e o

DHA possui 22 carbonos e 6 ligações duplas [22].

Além do EPA e do DHA, outro importante representante da família dos ômega 3 é o ácido alfa-linolênico (ALA), de origem vegetal. O ALA é constituído por 18 carbonos e 3 ligações duplas [24]. Na Figura 1, são representadas as estruturas dos três principais ácidos ômega-3.



**Figura 1.** Fórmulas moleculares dos ácidos (A) docosahexaenóico, DHA, ( $C_{22}H_{32}O_2$ ), (B) eicosapentaenóico, EPA, ( $C_{20}H_{30}O_2$ ), e (C) alfa-linolênico, ALA, ( $C_{18}H_{30}O_2$ ). Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Devido aos benefícios da ingestão desses ácidos graxos, muitas marcas comerciais de ômega-3 têm surgido como uma alternativa ao consumo de peixes ou mesmo como uma suplementação dietética desses ácidos graxos [3].

## 1.2. Espectroscopia de infravermelho próximo

As técnicas espectroscópicas NIR, MIR e Raman são baseadas na espectroscopia vibracional, e a capacidade dessas técnicas em fornecer informações analíticas, em amostras moleculares complexas, tem sido explorada há anos pelos campos farmacêutico e alimentício [26].

Em especial, a espectroscopia NIR (do inglês, *near-infrared*), que é um tipo de espectroscopia vibracional de alta energia e que compreende a faixa espectral de 750 a 2500 nm ( $13333$  a  $4000$   $cm^{-1}$ ), é a técnica espectrofotométrica prevalente empregada para o monitoramento e identificação de falsificações de medicamentos e qualidade de alimentos devido à sua robustez e aplicação quase universal em sistemas moleculares [26].

### 1.2.1. Fundamentos da espectroscopia vibracional

A informação analítica, qualitativa ou quantitativa, que pode ser obtida,

utilizando-se a espectroscopia NIR como uma técnica analítica, advém da interação da radiação eletromagnética com os constituintes da amostra analisada [26]. Os espectros NIR têm origem na conversão da energia da radiação NIR em energia vibracional associada ao movimento dos átomos mantidos juntos por ligações químicas em uma molécula [27].

À temperatura ambiente, a maioria das moléculas está no nível fundamental de energia vibracional. Os átomos que participam das ligações químicas estão se deslocando uns em relação aos outros em uma frequência que é definida pela força da ligação e pela massa de cada átomo participante da ligação. As amplitudes dessas vibrações são da ordem de alguns poucos nanômetros e aumentam se energia é transferida para a molécula. Essa energia pode ser transferida por um fóton de um determinado comprimento de onda ( $\lambda$ ), para o qual a energia ( $E_p$ ) pode ser dada por:

$$E_p = \frac{hc}{\lambda} \quad (1)$$

onde  $h$  é a constante de Planck e  $c$  é a velocidade da luz [26].

### 1.2.2. Modelo do oscilador harmônico

O modelo da mecânica clássica para uma molécula diatômica é uma boa aproximação que ajuda a explicar como a energia proveniente da radiação eletromagnética pode ser convertida em energia mecânica, colocando as ligações químicas para vibrarem em diferentes frequências.

Neste modelo, os dois átomos da molécula diatômica são representados por duas esferas de massas  $m_1$  e  $m_2$ , conectadas por uma mola (ligação química) de constante elástica  $k$ .

A lei de Hooke afirma que a energia desse sistema é dada por:

$$E = \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (2)$$

em que  $\mu$  é a massa reduzida dos dois átomos:

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (3)$$

Considerando o modelo do oscilador harmônico (Figura 2A), a energia potencial (V) associada à vibração molecular pode ser descrita como uma função da posição dos átomos:

$$V = \frac{1}{2} k d^2 \quad (4)$$

Entretanto, esse modelo da mecânica clássica apresenta alguns problemas quando aplicado a sistemas microscópicos, como é o caso de uma molécula diatômica. A principal falha surge do fato de que sistemas moleculares não podem assumir valores contínuos de energia previstos pela equação (4). Portanto, aplicando a correção da mecânica quântica no modelo do oscilador harmônico, que permite apenas níveis discretos de energia, tem-se a seguinte equação:

$$E_n = \left( n + \frac{1}{2} \right) h\nu \quad (5)$$

onde  $n$  é o número quântico vibracional,  $E_n$  é a energia associada ao  $n$ -ésimo nível quântico e  $\nu$  é a frequência fundamental de vibração.

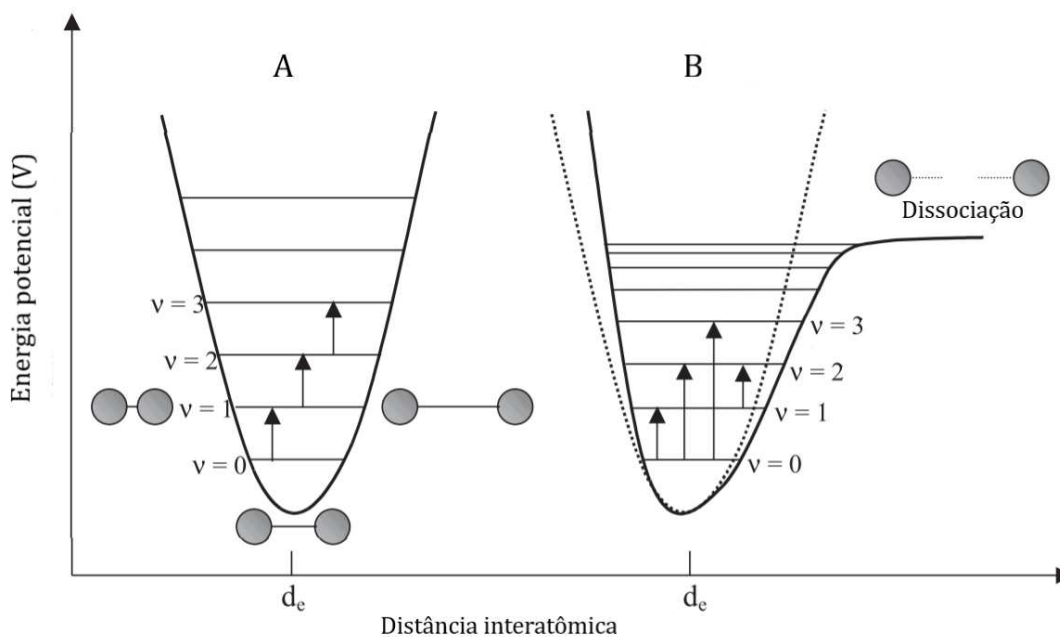
Uma nova restrição imposta por essa correção quântica do modelo do oscilador harmônico diz que as transições vibracionais só podem ocorrer entre níveis adjacentes. Além disso, para esse modelo harmônico/quântico, a diferença de energia entre níveis adjacentes é sempre a mesma.

Novamente, o modelo do oscilador harmônico falha ao tentar explicar a realidade, pois bandas de combinação e sobretudo são observadas na região espectral do NIR e, de acordo com este modelo, elas não poderiam existir visto que transições onde  $\Delta n > 1$  são proibidas e as vibrações no modelo harmônico são independentes [27].

### 1.2.3. Modelo do oscilador anarmônico

O modelo do oscilador anarmônico é outra tentativa de explicar a interação da radiação eletromagnética na região espectral do NIR com as espécies químicas. Nesse modelo, a molécula diatômica ainda é considerada como duas esferas

conectadas por uma mola. No entanto, é levando em conta a repulsão entre as nuvens eletrônicas quando dois núcleos atômicos se aproximam e a variação da força de ligação quando os átomos se distanciam muito um do outro. Portanto, esse modelo é mais complexo e descreve melhor a realidade (Figura 2B).



**Figura 2.** Representação esquemática dos modelos do oscilador harmônico (A) e do oscilador anarmônico (B) para a energia potencial de uma molécula diatômica. Reimpressa de [27]. Copyright 2003 por *Journal of the Brazilian Chemical Society*.

Uma função que descreve, aproximadamente, o comportamento anarmônico de uma molécula diatômica é a função de Morse, que pode ser expressa como:

$$V = D_e(1 - e^{-a(d-d_e)})^2 \quad (6)$$

onde  $D_e$  é a energia de dissociação espectral,  $a$  é uma constante para uma dada molécula,  $d_e$  é a distância de equilíbrio entre os átomos e  $d$  é a distância entre os átomos em qualquer instante.

Aplicando as correções da mecânica quântica na equação de Morse, tem-se que os níveis vibracionais da molécula podem ser descritos pela seguinte equação:

$$E = hv\left(n + \frac{1}{2}\right) - d_m hv\left(n + \frac{1}{2}\right)^2 \quad (7)$$

onde  $d_m$  é a constante de anarmonicidade da vibração.

O modelo anarmônico/quântico prevê, então, a ocorrência de transições vibracionais  $\Delta n \geq 2$  e também a existência de bandas de combinação entre vibrações. Além disso, esse modelo também prevê que a separação entre dois níveis adjacentes de energia diminui com o aumento de  $n$  [27].

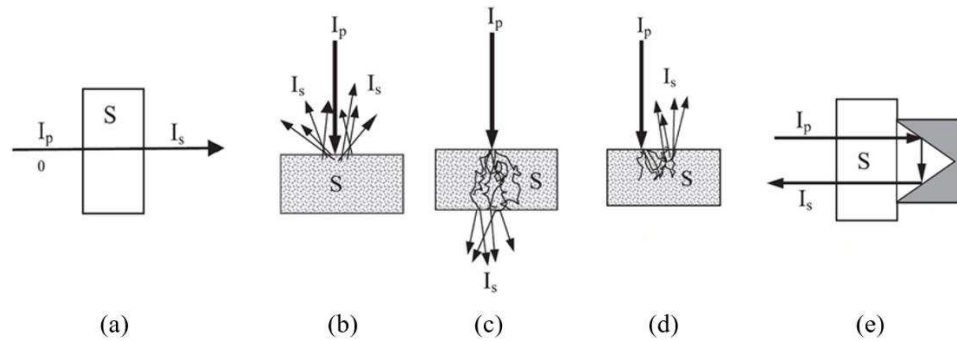
#### **1.2.4. Origem das bandas de absorção na região do infravermelho próximo**

A radiação em determinada frequência pode ser absorvida por uma molécula e excitá-la para um nível vibracional mais alto, pois esta energia é de mesma magnitude que a energia existente entre dois níveis vibracionais da molécula ou seus respectivos sobretons ou combinações entre duas ou mais vibrações [27]. Entretanto, para que a radiação seja efetivamente absorvida, não basta apenas que a quantidade de fótons fornecida seja compatível com a diferença de energia entre os níveis vibracionais. É necessário também, que o campo eletromagnético da radiação interaja com a molécula, o que só é possível se houver uma variação no momento de dipolo elétrico da molécula [27].

As intensidades das bandas de absorção na região do NIR estão relacionadas com a magnitude da variação do momento de dipolo da molécula e também com o grau de anarmonicidade da molécula [27]. Através da interação da radiação eletromagnética com as moléculas é que surgem os espectros de absorção na região do NIR.

#### **1.2.5. Formas de interação da radiação eletromagnética com a matéria**

A radiação NIR pode interagir espacialmente com a matéria de diferentes formas, sendo elas: transmitância, refletância difusa, transmitância difusa, interatância e transflectância (Figura 3). A diferença entre cada forma de interação está no arranjo espacial entre a amostra, o feixe de radiação NIR e o sistema de detecção [26].



**Figura 3.** Formas de interação da radiação NIR com a amostra: (a) transmitância; (b) refletância difusa; (c) transmitância difusa; (d) interatância; (e) transflectância. S é a amostra.  $I_p$  é o feixe de radiação incidente.  $I_s$  é o feixe de radiação final, após interagir com a amostra. Reimpresa de [27]. Copyright 2003 por *Journal of the Brazilian Chemical Society*.

Entre essas principais formas de medir a interação da radiação com a amostra, o arranjo de refletância difusa é o mais utilizado. Nesse tipo de medida, como mostrado na Figura 3b, a radiação na região do NIR é incidida sobre a amostra sólida intacta, interagindo com ela. A radiação que é refletida, após interação com moléculas da amostra, é coletada pelo detector e depois analisada. Os principais fenômenos que afetam os espectros de refletância na região do NIR são a absorção da radiação pelos constituintes da amostra e o espalhamento de parte dessa radiação. Esse arranjo de refletância difusa é muito utilizado na análise de sólidos, pois permite a análise direta e não destrutiva da amostra [28-32].

### 1.3. Instrumentação

Um espectrofotômetro NIR se assemelha, no que se refere aos componentes ópticos empregados, a um espectrofotômetro de absorção molecular na região do ultravioleta-visível. Os detectores mais frequentemente empregados na região do NIR são os de InGaAs, PbS e silício. Esses detectores, juntamente com fontes de radiação energéticas, conseguem fornecer uma boa razão sinal/ruído para as medidas na região do NIR [27].

Os instrumentos NIR mais modernos podem ser classificados de acordo com a tecnologia empregada para selecionar os comprimentos de onda desejados. Dessa forma, eles se dividem em: instrumentos que utilizam filtros, LED, grades de dispersão, e interferômetro (transformada de Fourier). A escolha do instrumento a ser utilizado em uma análise depende do objetivo da aplicação. Instrumentos de baixo custo

baseados em filtros ou que utilizam LEDs, por exemplo, devem ser utilizados para análises específicas, de rotina [27].

Nos últimos anos, a tecnologia tem se desenvolvido a tal ponto que já existem muitas marcas comerciais de espectrofotômetros NIR portáteis. Esses espectrofotômetros podem ser extremamente pequenos e de baixo custo [26]. A Tabela A do Anexo mostra uma relação dos instrumentos NIR portáteis disponíveis comercialmente.

Os espectrofotômetros NIR modernos requerem um computador conectado a eles com o objetivo de controlar o sistema de aquisição de dados, que pode ser feita com o auxílio de portas de comunicação (como, por exemplo, portas USB). Além disso, os computadores também desenvolvem um importante papel, pois auxiliam no tratamento dos dados multivariados e no desenvolvimento de novos métodos analíticos [27].

#### **1.4. Quimiometria**

A quimiometria consiste no uso de técnicas matemáticas e estatísticas para extrair informações relevantes de dados analíticos. No caso da espectroscopia NIR, as ferramentas quimiométricas são extremamente importantes para se obter informações dos dados espectrais, pois as informações analíticas presentes nos espectros NIR são muito complexas, auto correlacionadas e, normalmente, não estão prontamente disponíveis para o propósito analítico. Portanto, a espectroscopia NIR nasceu como uma técnica analítica multivariada [33].

Geralmente, o conjunto de dados espectrais NIR passa por algum tipo de pré-tratamento antes de ser usado para fins qualitativos ou quantitativos, com o intuito de corrigir problemas associados ao espalhamento da radiação (no caso de amostras sólidas) e outros fenômenos que podem afetar a linha base dos espectros. A primeira e segunda derivada do espectro original têm sido usada para corrigir problemas relacionados a efeitos multiplicativos e aditivos nos espectros [34].

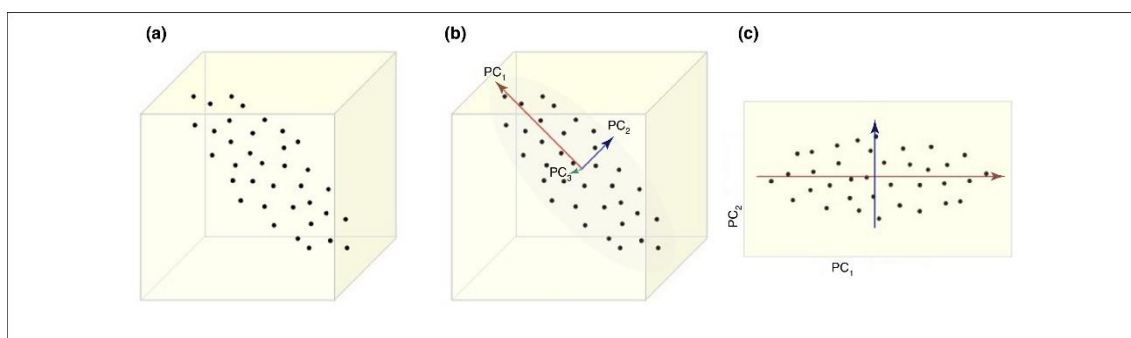
Outra estratégia de pré-tratamento dos dados que tem evoluído notavelmente é a seleção de variáveis relevantes. O uso do processo de seleção de variáveis antes da etapa de modelagem tem contribuído para se alcançar modelos melhores e de mais fácil compreensão [35].

Existem diversas ferramentas quimiométricas dedicadas a extrair informações dos espectros NIR, as mais comuns são: regressão linear múltipla (MLR), regressão

de componentes principais (PCR) e regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS). Todas elas pressupõem uma relação linear entre os dados espectrais e alguma característica da amostra a ser determinada, como, por exemplo, a concentração de um composto de interesse na amostra [36].

Qualitativamente, o uso da espectroscopia NIR para a obtenção de informações analíticas tem se tornado comum, por exemplo, para o controle da qualidade de fármacos. A técnica mais empregada para análise qualitativa usando espectroscopia NIR é baseada na análise de componentes principais (PCA) e é conhecida como Software Independent Modelling by Class Analogy (SIMCA) [37].

Quando a PCA é aplicada em um conjunto de dados espectrais, o conjunto de dados original é substituído por um novo conjunto de variáveis, denominado de componentes principais (PCs). A principal característica deste novo conjunto é a ortogonalidade entre as PCs. Consequentemente, esse novo conjunto de variáveis gerado concentra a maior parte da informação (variância) em poucas variáveis, diminuindo assim a dimensionalidade dos dados, sem perda significativa da informação química [50]. Uma visão geométrica intuitiva da PCA pode ser observada na Figura 4.



**Figura 4.** Esboço geométrico da PCA, onde (a) representa uma nuvem de dados tridimensional; em (b), os três componentes principais do conjunto de dados são desenhados – o comprimento dos vetores correspondentes é proporcional à variância explicada por cada componente principal (PC); e, em (c), as unidades estatísticas são projetadas no espaço abrangido pelos dois componentes principais. Reimpressa de [51]. Copyright 2017 por *Drug Discovery Today*.

A maioria dos aplicativos disponíveis utiliza a técnica de decomposição do valor singular (SDV) para obter as PCs. Neste caso, a primeira componente principal (PC1) é definida na direção (eixo) de maior variância do conjunto das variáveis originais. De forma decrescente, são definidas as demais componentes principais e estas serão sempre ortogonais entre si e em relação à PC1 [50].

No caso de um conjunto de dados espectrais, esses dados podem ser representados na forma matricial, onde  $\mathbf{X}$  ( $m \times n$ ) é a matriz de dados, sendo que  $m$  corresponde ao número de amostras (espectros) e  $n$  corresponde ao número de variáveis (comprimentos de onda do espectro) [50].

A matriz  $\mathbf{X}$  pode ser decomposta em outras três matrizes:  $\mathbf{U}$ ,  $\mathbf{S}$  e  $\mathbf{V}$ , conforme se segue:

$$\mathbf{X} = \mathbf{U} \mathbf{S} \mathbf{V}^t \quad (8)$$

A matriz  $\mathbf{V}$  é a matriz dos pesos, em que a primeira coluna contém os pesos de PC1 e assim por diante. O produto  $\mathbf{U} \times \mathbf{S}$  corresponde à matriz  $\mathbf{T}$  dos escores. Por fim,  $\mathbf{S}$  é uma matriz diagonal, cujos elementos (valores singulares) contém informações sobre a quantidade de variância que cada componente principal descreve [50].

### 1.5. Aplicações analíticas

Os métodos analíticos que empregam a espectroscopia NIR são rápidos, não destrutivos, não invasivos, adequados para uso em linha, e, caso seja necessário, um mínimo de preparo de amostra é o suficiente para a análise [26]. As aplicações desses métodos são quase universais, uma vez que qualquer molécula que contenha ligações C-H, N-H, S-H, O-H poderá em princípio ser analisada. Portanto, as indústrias agrícola, farmacêutica, petroquímica, ambiental, têxtil, clínica e de cosméticos têm feito uso dessa técnica [38-49].

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Avaliar a viabilidade do uso de um espectrofotômetro de infravermelho próximo portátil e de baixo custo para a triagem qualitativa e quantitativa rápida de suplementos alimentares de ômega-3 *in situ*.

### 2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho do instrumento portátil a fim de garantir a robustez e a confiança dos resultados analíticos.
- Extrair informações qualitativas e quantitativas relevantes das amostras, empregando uma abordagem simples, baseada em técnicas de quimiometria exploratórias, usando, principalmente, a análise de componentes principais (PCA) de um conjunto abrangente de espectros obtidos de amostras e possíveis adulterantes.
- Estimar o conteúdo de DHA + EPA nas cápsulas de *softgel* dos suplementos alimentares de ômega-3, utilizando modelos quantitativos de triagem baseados em regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR).
- Avaliar a qualidade dos suplementos alimentares de ômega-3 e detectar possíveis fraudes e práticas de marketing desonestas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODO

#### 3.1. Amostras

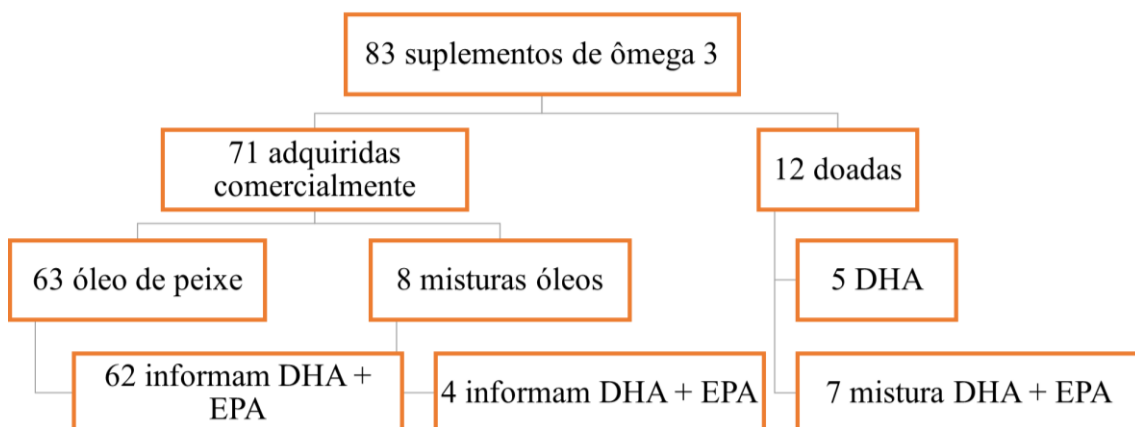
O conjunto de amostras de ômega-3 foi constituído de um total de 83 amostras, todas comercializadas como suplementos alimentares de ômega-3, conforme mencionado nos rótulos dos seus respectivos frascos, com doses individuais fornecidas em cápsulas de *softgel*.

Setenta e uma amostras de diferentes fabricantes e varejistas foram adquiridas em farmácias ou lojas de suplementos, localizadas nos Estados de Minas Gerais e São Paulo, ao longo de seis meses. Doze amostras adicionais, de um único varejista e lotes diferentes, acompanhadas do conteúdo de EPA e DHA certificado de acordo com o método padrão de referência foram doadas.

O método padrão para a determinação de ácidos graxos insaturados é baseado na extração hidrolítica desses ácidos graxos em HCl 4,5 mol L<sup>-1</sup>. Os produtos extraídos são metilados em ésteres metílicos de ácidos graxos usando BF<sub>3</sub> em metanol. Finalmente, os ésteres metílicos são quantificados por cromatografia gasosa capilar com detector por ionização em chama [7].

Dentro do conjunto dessas 12 amostras certificadas, tem-se que 5 delas continham quase que apenas DHA (488,8 - 496,8 mg / cápsula) e as 7 restantes continham DHA (165,0 - 189,9 mg / cápsula) e EPA (235,0 - 296,2 mg / cápsula) em uma proporção de massa aproximadamente igual a 2 : 3, respectivamente.

A Figura 5 abaixo mostra um resumo do conjunto de amostras e a Tabela B do Anexo detalha as informações de composição de cada uma das amostras analisadas neste trabalho.



**Figura 5.** Conjunto de amostras analisadas neste trabalho.

De acordo com as informações fornecidas pelos rótulos das embalagens dos suplementos alimentares de ômega-3, as 83 amostras puderam ser subclassificadas como: 75 amostras provenientes de óleo de peixe; 3 provenientes de misturas de óleos de borragem + peixe + linhaça; 2 de misturas de óleos de borragem + linhaça + primula; 1 proveniente da mistura de óleos de borragem + linhaça + cártamo + gergelim + girassol; 1 da mistura de óleos de linhaça + gergelim; e 1 da mistura de óleos de microalgas + óleo de girassol. Os rótulos não mencionavam a proporção de cada componente nas misturas.

Das 75 amostras provenientes de óleo de peixe, 74 relataram os conteúdos de DHA e EPA, individualmente ou somados, em seus rótulos. Das 8 amostras provenientes da mistura de diferentes óleos, 4 não mencionaram seus conteúdos de DHA ou EPA. A soma de DHA + EPA das 78 amostras, expressa como mg de DHA + EPA por grama de cápsula, estavam na faixa de 30 – 630 mg g<sup>-1</sup>, de acordo com seus respectivos rótulos ou conforme certificado por cromatografia.

Todas as 83 amostras foram armazenadas em um refrigerador a 12 °C.

O conjunto de amostras foi ampliado com a adição de 43 amostras de óleos vegetais comestíveis de diversos produtores, provenientes de diferentes matérias-primas e adquiridos no mercado local de Viçosa (MG – Brasil). Este conjunto de amostras de óleos vegetais foi subclassificado de acordo com o seu tipo matéria-prima, sendo: 11 óleos de canola; 7 óleos de milho; 3 óleos de linhaça; 8 azeites; 1 óleo de cártamo; 6 óleos de soja; e 8 óleos de girassol. As três amostras restantes de óleos comestíveis foram misturas não especificadas de óleos vegetais, comercializadas como fontes vegetais de ômega-3.

Uma amostra de suplemento alimentar de ômega-3 proveniente de óleo de peixe certificada e um azeite de oliva comercial foram selecionados como amostras de controle, usadas para atestar o desempenho do espectrofotômetro portátil NIR e o protocolo de medida. Essas amostras foram armazenadas em geladeira e protegidas da luz e os espectros dessas amostras foram adquiridos no início e no final de cada sessão de medidas.

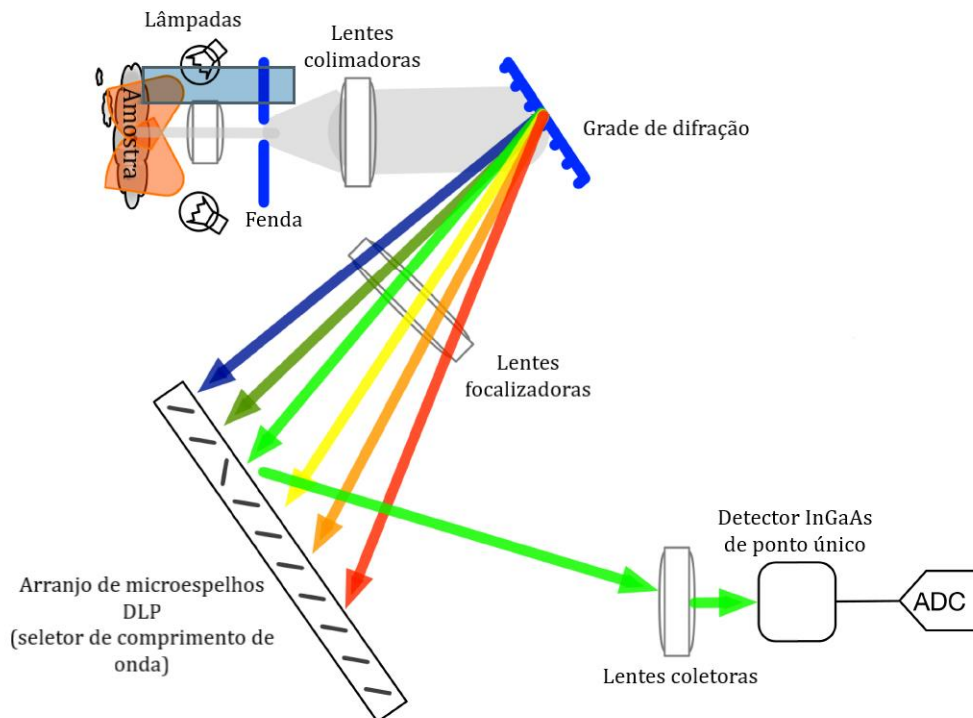
### **3.2. Espectrofotômetro infravermelho próximo**

O espectrofotômetro infravermelho próximo (NanoNIR) portátil e de baixo custo (Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, EUA), usado neste trabalho e em trabalhos anteriores [26,30], monitora a região espectral do infravermelho próximo de 900 a

1700 nm, com uma resolução nominal de 10 nm. O instrumento não apresenta partes mecânicas móveis. Ele possui duas pequenas fontes de radiação de filamento de tungstênio (0,7 W), incorporadas próximas à sua janela de medição. A radiação NIR que retorna da amostra, em uma medida de reflectância difusa, passa por uma fenda de entrada e é direcionada a uma grade de difração fixa, que, por sua vez, projeta a radiação dispersa na superfície de um arranjo bidimensional de microespelhos [30,31].

O arranjo espectrométrico do NanoNIR emprega a tecnologia *Micro Electro Mechanical System* (MEMS), que controla a matriz bidimensional de microespelhos capazes de desviar um elemento de comprimento de onda selecionado em direção ao detector InGaAs de ponto único, que registra as intensidades da radiação NIR. O usuário pode programar o número de comprimentos de onda a serem detectados em cada varredura (resolução nominal) para cobrir a faixa espectral do instrumento, o tempo de integração, o número de varreduras a serem feitas para a média e o protocolo de medição. O último pode ser selecionado para realizar uma varredura sequencial, onde cada coluna de microespelhos desvia sequencialmente os elementos de comprimentos de onda ou para realizar um protocolo Hadamard de multiplexação, que melhora a razão sinal-ruído (SNR) das medições espectrométricas [30,31].

A Figura 6 a seguir ilustra o sistema óptico do NanoNIR descrito anteriormente.



**Figura 6.** Sistema óptico do espectrofotômetro NIR portátil (NanoNIR, Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, EUA), adaptado de [53]. Os feixes de radiação NIR estão representados com cores para fins didáticos.

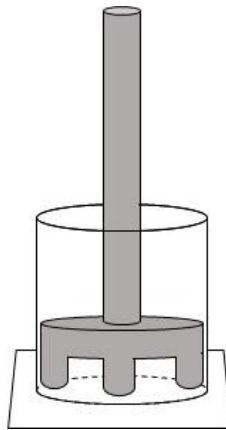
Na presente investigação, a unidade comercializada sem nenhuma proteção de seus eletrônicos, foi inserida em uma caixa de acrílico e teve sua janela de medição exposta através de um orifício quadrado, aberto na tampa da caixa e cortado de modo a comportar a cela de medida. O instrumento foi conectado a um laptop por um cabo USB.

Para a aquisição dos dados espectrais, foi empregado o protocolo de medida multiplexado de Hadamard [32,33]. O NanoNIR operou com o *gain* do amplificador do detector igual a 16. Os espectros foram adquiridos através da média de 30 varreduras, com 221 pontos amostrados na faixa de 900 a 1700 nm. O tempo total de varredura por amostra foi de 8 segundos.

O desempenho do NanoNIR foi verificado durante todo o período de aquisição dos dados deste trabalho (30 dias), através do monitoramento do ruído, da variação da linha base e também através da dispersão dos espectros das duas amostras usadas como controle (ômega-3 e azeite).

### 3.3. Cella de medida e protocolo de aquisição dos espectros

A medição direta das cápsulas intactas de *softgel* é possível. Entretanto, a realização das medidas dessa forma é menos reprodutível e impossibilita a comparação dos espectros dos suplementos de ômega-3 com os de substâncias comuns, encontradas comercialmente na forma líquida, e que são possíveis candidatas a adulterantes desses suplementos. Além disso, as cápsulas de *softgel* utilizadas por cada fabricante apresentam diferentes tamanhos e espessuras (e, talvez, até mesmo diferentes composições), o que dificulta também a comparação entre os espectros das amostras. Dessa forma, uma cela de medida para a aquisição dos espectros NIR foi confeccionada (Figura 7).



**Figura 7.** Cella de medida utilizada na aquisição dos espectros NIR de suplementos dietéticos de ômega-3 e de amostras de óleos vegetais diversas. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

A cela é composta por um cilindro de vidro de 1,6 cm de diâmetro e 2,5 cm de altura, que foi colado em uma base feita de uma placa BK7 quadrada (2,5 cm × 2,5 cm, com 1,0 mm de espessura), utilizando-se resina epóxi.

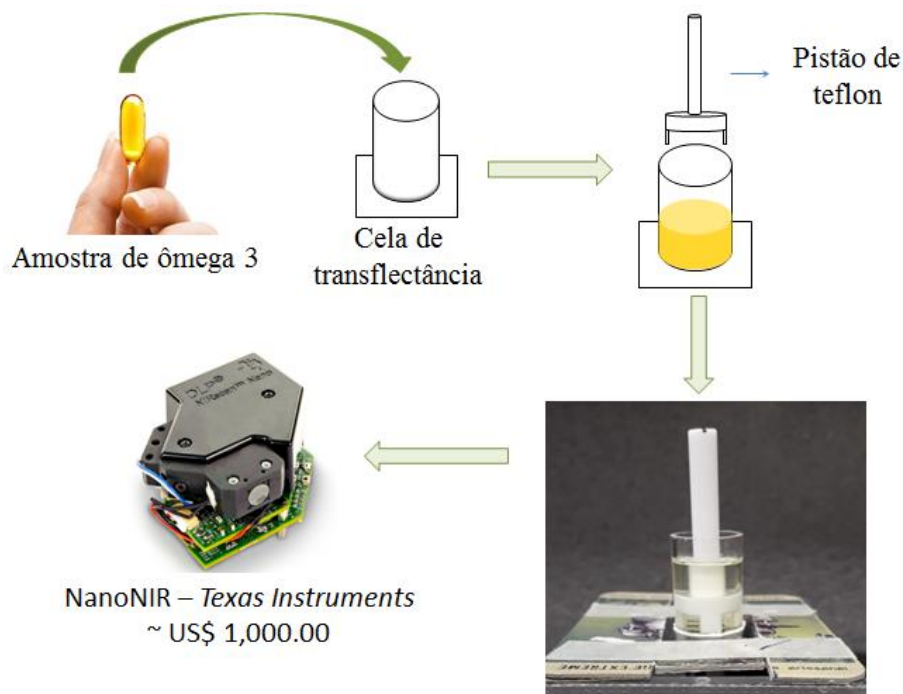
A cela foi projetada para funcionar no modo de transfectância. O caminho óptico nominal foi determinado usando um refletor traseiro plano feito de Teflon®. A distância compreendida entre a parte inferior da cela até o refletor é de 0,5 cm. Portanto, o caminho óptico nominal foi de 1,0 cm.

O sinal de referência (*background*), usado para o cálculo da absorvância, foi obtido utilizando-se um disco de Spectralon® (1 cm de espessura), colocado sobre uma placa BK7. O disco de Spectralon® foi colocado a 2 mm de distância da janela de medição do NanoNIR, a fim de produzir um sinal de referência que resulte em uma linha base com absorvância de cerca de 0,4 em 900 nm. Novos sinais de referência

foram obtidos a cada 10 amostras medidas. A variabilidade da linha base (absorbância zero) foi estimada durante o tempo decorrido para a aquisição de todo o conjunto de dados espectrais empregado neste trabalho (30 dias).

Para a aquisição dos espectros das amostras, a cápsula de *softgel* do respectivo suplemento contendo ômega-3 era perfurada com uma agulha e seu conteúdo era espremido dentro da cela de medida. A altura do líquido dentro da cela foi igual ou superior a 1,0 cm, a fim de que todo o caminho óptico estivesse preenchido com a amostra. Dessa forma, um número adequado de cápsulas (2 a 3) era utilizado para atingir o volume necessário. Em seguida, o pistão de teflon (refletor traseiro) era inserido na cela, tomando-se o cuidado de não aprisionar de bolhas de ar no caminho óptico.

A cela, com o refletor, era colocada sobre a janela de medida do NanoNIR, e o espectro da amostra adquirido conforme descrito anteriormente. Todas as medidas foram realizadas em duas celas, confeccionadas igualmente, e utilizou-se o espectro médio das duas medidas no tratamento dos dados coletados. O esquema de aquisição dos espectros, como descrito acima, está representado na Figura 8.



**Figura 8.** Esquema ilustrando a sequência experimental para a obtenção dos espectros de absorvância NIR de suplementos alimentares de ômega-3 e de amostras de óleos vegetais diversas.

Para garantir a qualidade do conjunto de dados espectrais e o desempenho adequado do NanoNIR, espectros das amostras controle (um suplemento de ômega-

3 e uma amostra de azeite) foram adquiridos no início e no final da sequência de medição, que nunca ultrapassou dez amostras. Ao final de cada análise, as celas e os pistões foram lavados com água e detergente neutro, em seguida, com água destilada, e secos com lenços de papel.

O software livre do proprietário (Texas Instruments Inc., Dallas, Texas, EUA) foi empregado para programar os parâmetros de varredura, para realizar a configuração do instrumento e para armazenar os dados no formato ASCII.

### **3.4. Análise do conjunto de dados**

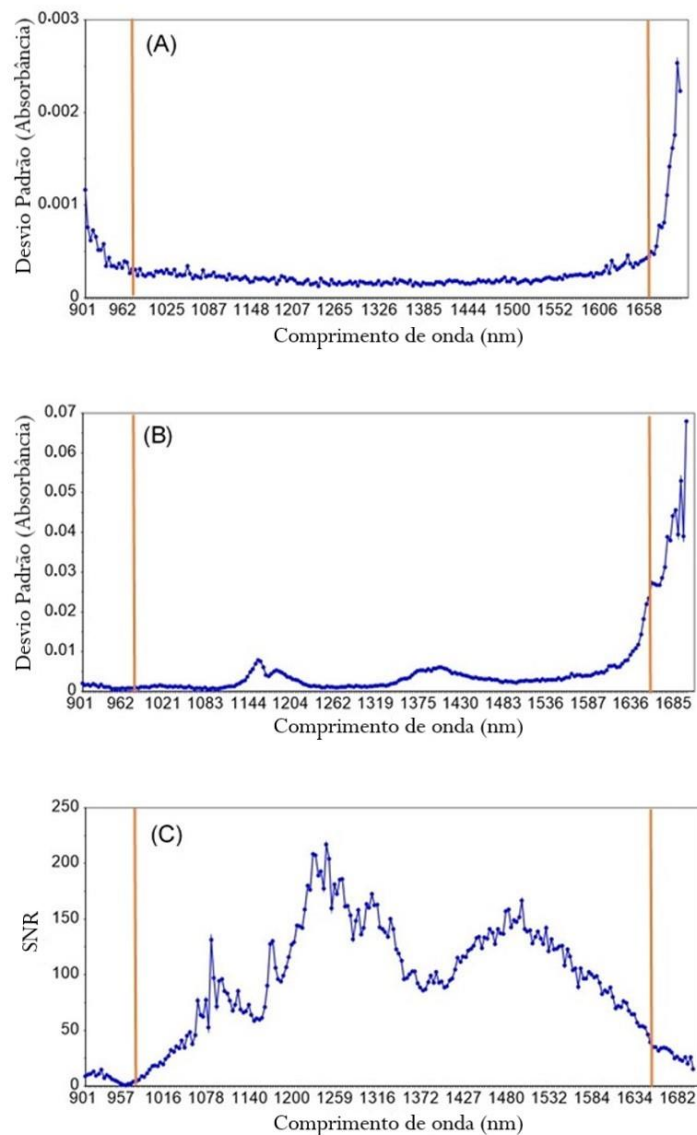
O conjunto de espectros foi pré-processado e analisado usando o software quimiométrico Unscrambler 10.5.1 (CAMO - Noruega). No pré-tratamento do conjunto de dados, aplicou-se a segunda derivada sobre os espectros, utilizando-se o algoritmo de Savitsky-Golay, janela de 15 pontos, polinômio de 2º grau. Posteriormente, a PCA desse conjunto de dados pré-processados foi realizada.

Os modelos PLSR foram desenvolvidos utilizando-se a derivada de 2º grau e a soma dos teores de DHA e EPA, conforme consta nas etiquetas dos produtos, exceto para as amostras de referência, cujos teores de DHA + EPA foram determinados por cromatografia.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Performance do instrumento NanoNIR

Durante o desenvolvimento deste trabalho, avaliou-se amplamente o desempenho do instrumento portátil de baixo custo que foi empregado na coleta dos dados. A Figura 9 a seguir mostra o desempenho geral do espectrofotômetro portátil NanoNIR.



**Figura 9.** Desempenho geral do espectrofotômetro portátil NanoNIR. Em (A), tem-se o desvio padrão da linha base; em (B), está representado o desvio padrão de um espectro típico de suplemento de ômega-3; e, por fim, em (C), está representada a relação sinal-ruído (SNR) de um espectro típico de um suplemento de ômega-3. As linhas vermelhas delimitam a região espectral ideal para a faixa de trabalho do instrumento. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Na Figura 9A, é representado o comportamento do desvio padrão das medidas de referência (sinal do *Spectralon*®), expresso em absorvância ao longo de toda a faixa espectral compreendida pelo NanoNIR. Essas medidas foram realizadas durante os 30 dias em que o instrumento foi utilizado para a aquisição dos dados deste trabalho, totalizando um conjunto de 44 medidas.

O desempenho do espectrofotômetro se mostrou muito bom por quase toda a extensão da faixa espectral do instrumento (900 a 1700 nm) com um desvio padrão médio de  $3,0 \times 10^{-4}$ , assemelhando-se a vários instrumentos de bancada. Entretanto, como pode ser observado pela delimitação das linhas vermelhas na Figura 9A, seu desempenho piora nas extremidades desse intervalo, de forma que a faixa espectral ideal de trabalho escolhida para este instrumento foi de 966 a 1664 nm.

Também foi avaliado o desempenho do instrumento com relação ao comportamento da razão sinal-ruído (SNR) de um suplemento típico de ômega-3 proveniente de óleo de peixe. Inicialmente, o desvio padrão de 34 espectros de um mesmo produto foi avaliado, conforme ilustrado pela Figura 9B. Nesse conjunto de 34 espectros, foram levadas em consideração as variações espectrais advindas do manuseio da amostra e de sua apresentação ao equipamento. Foi realizada a correção do deslocamento da linha base para todos os espectros.

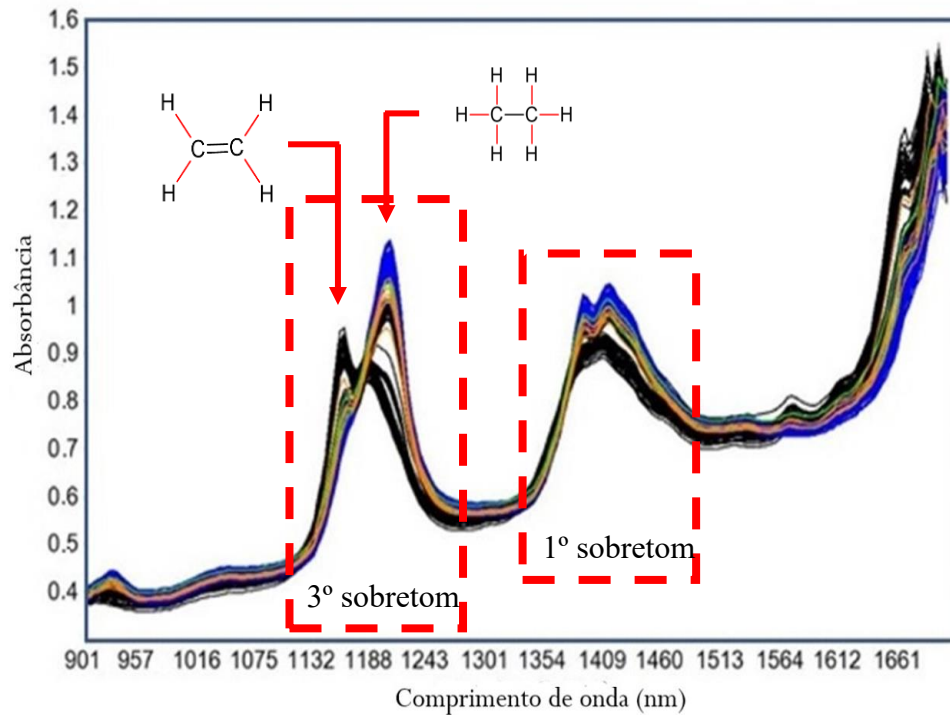
Posteriormente, calculou-se a SNR para toda a faixa espectral, dividindo-se a média do sinal em cada comprimento de onda por seu respectivo desvio padrão. Na Figura 9C, pode-se observar os valores da SNR de uma amostra de suplemento de ômega-3. Para a maior parte da faixa espectral escolhida como ideal para este instrumento, observou-se uma SNR acima de 50. Conforme será discutido na seção 4.2, essa é a região que contém informações espectrais sobre as características relevantes dos suplementos de ômega-3.

O conhecimento da performance do instrumento portátil a longo prazo, em especial, para os espectros das amostras de ômega-3 deste trabalho, é fundamental para atribuir significância aos resultados qualitativos e quantitativos obtidos a partir da análise multivariada dos dados coletados.

#### **4.2. Características dos espectros de infravermelho próximo de suplementos de ômega-3 e de óleos vegetais**

Os espectros brutos, na região do infravermelho próximo, obtidos para todas as amostras analisadas, tanto as de suplementos de ômega-3 quanto as de óleos

vegetais comestíveis, estão mostrados na Figura 10 a seguir.



**Figura 10.** Conjunto de espectros NIR brutos de todas as amostras analisadas neste trabalho. Os espectros em azul, verde, preto e rosa representam, respectivamente, as amostras de: óleos vegetais, ômega-3 proveniente da mistura de óleos de peixe e óleos vegetais, ômega-3 proveniente exclusivamente de óleo de peixe, e ômega-3 proveniente exclusivamente de óleos vegetais. Adaptada de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

As características espectrais mais relevantes ocorrem na faixa de 990 a 1620 nm, que está dentro da faixa da SNR ideal para o instrumento portátil utilizado. Pode-se perceber que a faixa espectral compreendida entre 990 a 1310 nm apresenta duas bandas de absorção proeminentes. Essa região do espectro está associada com a presença de duplas ligações C=C e a seus modos vibracionais das ligações C-H [56]. Como mostrado na Figura 1, os ácidos graxos poli-insaturados do tipo ômega-3 são compostos que possuem ligações C=C. Dessa forma, essa região (990 – 1310 nm) fornece informações associadas ao conteúdo de DHA e EPA das amostras.

De modo especial, é possível observar que os suplementos de ômega-3, ricos em ligações C=C provenientes dos compostos DHA e EPA, apresentam uma banda de absorção característica em 1166 nm, que pode ser atribuída ao terceiro sobretom do alongamento da ligação C-H proveniente de H-C=C. Por outro lado, os óleos vegetais apresentam um pico de absorção mais intenso em 1211 nm, que pode ser atribuído aos modos vibracionais C-H predominantes das cadeias de ligações C-C

saturadas, associados ao terceiro sobretom do alongamento de CH<sub>2</sub> [56].

Diferenças importantes entre os espectros de amostra de óleos vegetais e de suplementos de ômega-3 também podem ser observadas na faixa de 1300 a 1540 nm e podem ser atribuídas ao primeiro sobretom das combinações dos modos vibracionais das ligações C-H descritas acima [56].

### 4.3. Análise de Componentes Principais (PCA)

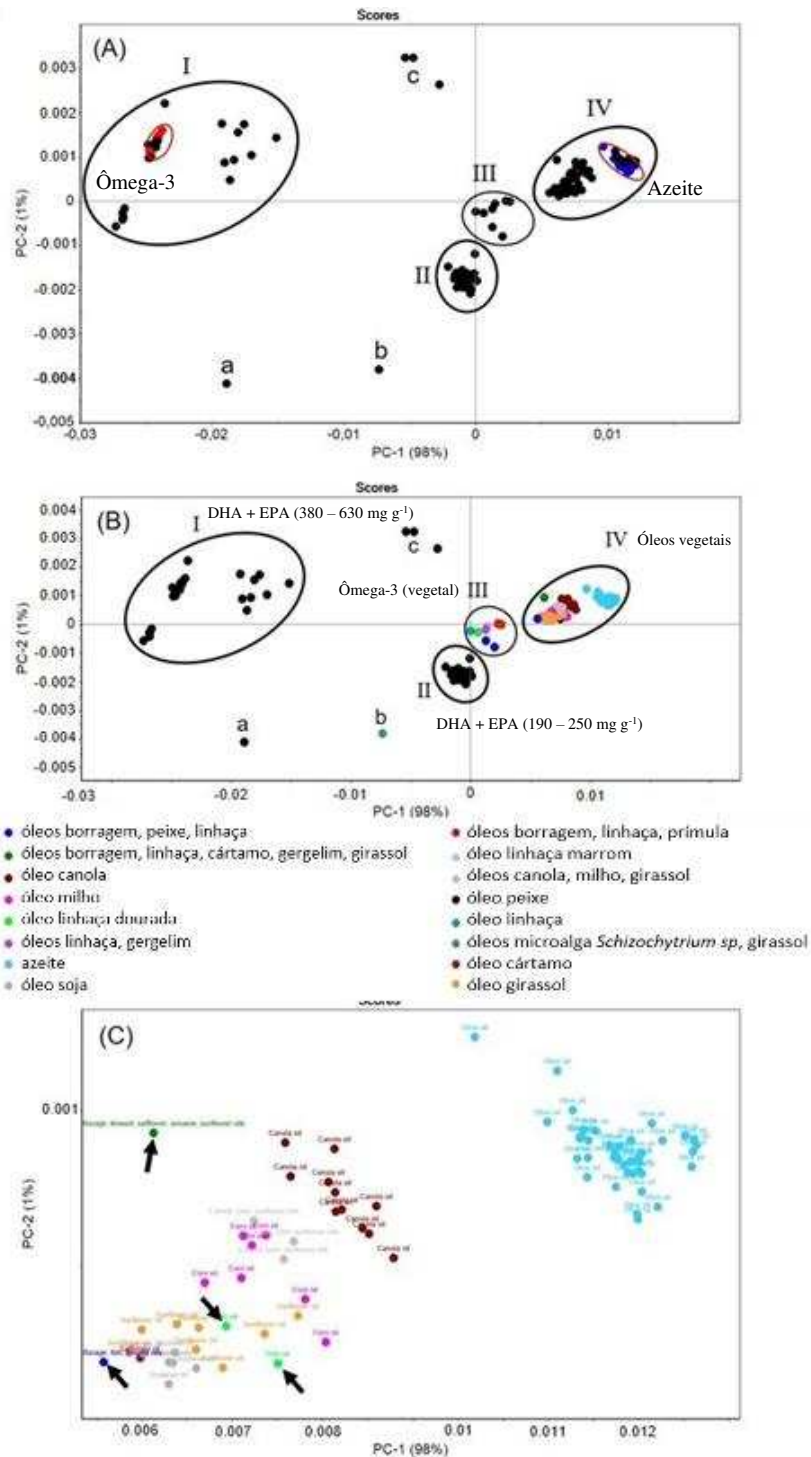
As replicatas das medidas da amostra de suplemento de ômega-3 e da amostra de azeite usadas como amostras controle foram adicionadas ao conjunto de espectros mostrados na Figura 10. Em seguida, a segunda derivada do conjunto total de dados espectrais foi calculada, usando-se o algoritmo de Savitzky-Golay com uma janela simétrica de 15 pontos e polinômio de segundo grau. Este pré-tratamento dos dados ajuda a minimizar fontes indesejadas de variabilidade encontradas no espectro original devido a alterações aditivas e de mudanças de inclinação da linha base espectral.

O conjunto de espectros pré-tratado foi então submetido a uma PCA, usando o método da decomposição em valores singulares (SVD) e, com isso, as cinco primeiras componentes principais (PC) foram extraídas.

A Figura 11A mostra o gráfico dos *scores* para a primeira e a segunda PCs das amostras de suplementos de ômega-3, de óleos vegetais e das amostras controle. Juntas, essas duas PCs capturam 99% da variância total do conjunto de dados espectrais. Somente a primeira PC sozinha já captura 98% da variância original, sendo a mais relevante para a análise qualitativa dos suplementos de ômega-3.

É possível visualizar a variabilidade das amostras controle, que estão destacadas pelas linhas vermelhas dentro dos grupos I e IV no gráfico dos *scores* mostrado na Figura 11A. Pode-se dizer que esta variabilidade é pequena quando comparada a de todo o conjunto amostral.

A inserção das amostras controle na PCA é relevante, pois permite avaliar as distâncias entre os *scores* das amostras e os grupos de amostras, por meio da comparação com a dispersão dos valores de *scores* das amostras controle, tomadas como referência. Esse procedimento é significativo e frequentemente negligenciado quando a PCA é usada como método de triagem. O procedimento proposto permite considerar, simultaneamente, o efeito do desempenho do instrumento e do procedimento de aquisição dos dados de medidas das amostras.



**Figura 11.** Scores da análise de componente principal para o primeiro e segundo componente principal do conjunto completo de dados espectrais das amostras, transformado pela segunda derivada. (A) distribuição dos scores, destacando-se, com as linhas vermelhas dentro dos grupos I e IV, a dispersão dos valores dos scores para as amostras controle de suplemento de ômega-3 e de azeite durante os 30 dias do período de aquisição de dados. (B) distribuição dos scores de acordo com a matéria-prima das amostras. (C) zoom da distribuição dos scores do grupo IV (óleos vegetais comestíveis), onde as setas grossas indicam amostras fraudulentas. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

A Figura 11B mostra o mesmo gráfico de *scores* que a Figura 11A. Entretanto, na Figura 11B, as amostras estão categorizadas de acordo com a matéria-prima que as compõem. À esquerda, o grupo rotulado como I é constituído por suplementos de ômega-3 provenientes de óleo de peixe com maiores teores de DHA + EPA ou apenas DHA por grama de cápsula (380 - 630 mg g<sup>-1</sup>). Os suplementos de ômega-3 analisados por cromatografia e que possuem seus conteúdos de DHA e EPA certificados estão presentes neste grupo. Esse fato também ajuda a atribuir significância à distribuição de *scores*, sem a necessidade de analisar cada uma das amostras usando a técnica de referência que é onerosa e laboriosa.

As amostras do grupo I com valores de *scores* menores que zero referem-se aos suplementos de ômega-3 que contêm predominantemente DHA em sua composição, na proporção aproximada de 577 mg de DHA para 3,7 mg de EPA por grama de cápsula, conforme certificado pela análise cromatográfica.

O grupo rotulado como II contém suplementos de ômega-3 também derivados de óleo de peixe, conforme declarado em seus rótulos. No entanto, apresentam menor teor de DHA + EPA por cápsula (190 - 250 mg g<sup>-1</sup>) quando comparados ao grupo I. O grupo rotulado como III contém amostras de suplementos de ômega-3 derivados de óleos vegetais ricos em ALA ou DHA + EPA, e uma amostra que é uma mistura de óleo vegetal e óleo de peixe. Por fim, o grupo IV é constituído predominantemente pelos óleos vegetais comestíveis extraídos de diferentes matérias-primas.

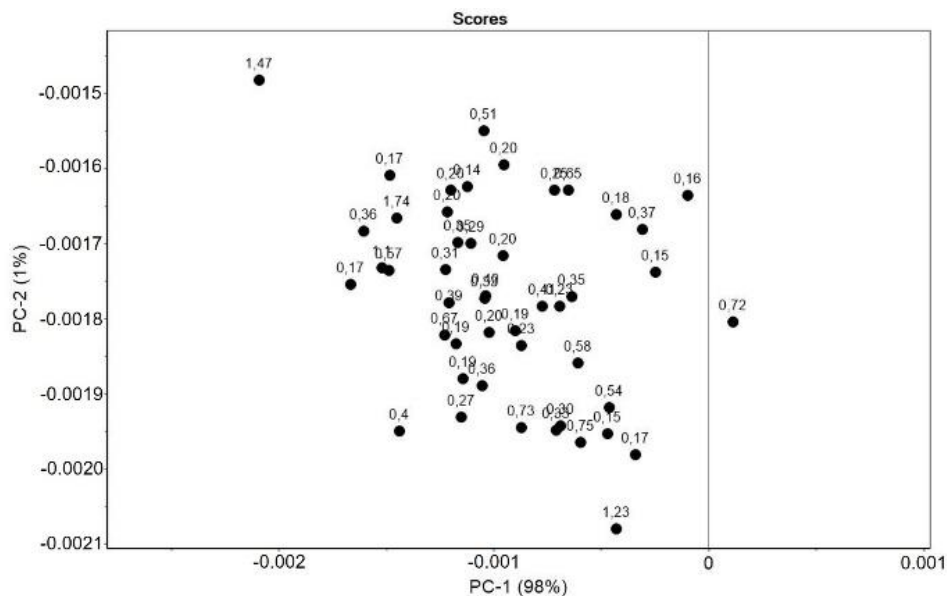
Os *scores* de algumas amostras permanecem fora dos grupos predominantes. A amostra marcada como “b” contém óleo extraído de uma microalga (*Schizochytrium sp.*). Esse fato justifica sua identificação como um *outlier*. A amostra rotulada como “a” e as três amostras indicadas como “c”, nas Figuras 10A e 10B, são identificadas como óleo de peixe pelo rótulo de seus respectivos frascos. No entanto, suas localizações no gráfico de *scores* revelam alguma irregularidade em suas composições. Informações adicionais, não disponíveis no momento, seriam necessárias para concluir sobre as causas desse comportamento.

A distribuição dos *scores*, mostrada na Figura 11C, é um *zoom* do grupo IV mostrado na Figuras 10A e 10B. Nesta ampliação, conforme indicado pelas setas, é possível identificar quatro amostras, comercializadas como suplementos alimentares de ômega-3, que possuem seus *scores* projetados entre as amostras pertencentes ao grupo dos óleos vegetais comestíveis. Portanto, é possível suspeitar que essas amostras estejam fraudadas. De acordo com os seus respectivos rótulos, uma das

amostras contém uma mistura de óleos vegetais, incluindo óleo de borragem; outra amostra contém borragem e óleo de peixe; e as outras duas declararam conter apenas óleo de peixe. De fato, essas duas amostras foram falsificadas e provavelmente são constituídas apenas por óleo de girassol. Fraudes como essa foram detectadas anteriormente no mercado brasileiro por meio de análises cromatográficas [5]. Conforme demonstrado, a análise simples de PCA pode detectar rapidamente esse tipo grosseiro de fraude e fazer a triagem de amostras suspeitas.

Em contraste com o trabalho anterior de Gouvêa *et al.* (2019), a abordagem adotada neste trabalho permite a detecção de fraudes em amostras de suplementos alimentares de ômega-3 sem o suporte da análise cromatográfica. Os fundamentos da espectroscopia NIR e o uso de algumas poucas amostras certificadas de ômega-3 são suficientes para identificar a fraude de composição inequivocamente dentro de uma precisão aceitável ( $\pm 10\%$ ).

Os *scores* da PCA também podem ser utilizados para detectar práticas de marketing desonestas. Por exemplo, com base na ampliação do gráfico de *scores* do grupo II, mostrado na Figura 12, é possível relacionar o preço de mercado (expresso como US\$ por grama de DHA + EPA) com o conteúdo de DHA + EPA dos suplementos comerciais de ômega-3.



**Figura 12.** Zoom do grupo II – apresentado nas Figuras 10A e 10B – demonstrando a utilização da PCA para identificação de práticas de marketing inescrupulosas exemplificadas, neste caso, pela relação (conteúdo / preço DHA + EPA). Os valores de cada amostra estão em US\$ por grama de DHA + EPA. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

O conteúdo de DHA + EPA do grupo II está em uma faixa relativamente estreita (190-250 mg g<sup>-1</sup>). Entretanto, os preços apresentam grandes variações em seus valores, que não são justificadas pelo conteúdo do material analisado. O maior preço chega a ser dez vezes maior que o menor preço dentro desse mesmo grupo (0,14 - 1,75 US\$ g<sup>-1</sup>). Outra observação que pode ser feita é que vários suplementos de ômega-3 com menor teor de DHA + EPA estão sendo comercializados a preços equivalentes aos de maior teor (representados pelo grupo I nas Figuras 10A e 10B). Inclusive, os dois suplementos fraudulentos identificados como contendo apenas óleo vegetal comestível, indicados na Figura 11C, apresentam um preço equivalente à média dos suplementos comerciais de ômega-3 genuínos, exibidos no grupo I da Figura 11B.

Certamente, vários outros fatores também precisam ser levados em consideração na formulação do preço final dos produtos, como, por exemplo, a origem da matéria-prima e o seu processamento, usado não apenas para concentrar o material de interesse, mas também para purificar a matéria-prima quanto à presença de metais tóxicos. Entretanto, essa análise simples fornece uma boa ideia geral quanto à variação dos preços desses suplementos no mercado.

#### **4.4. Estimando o conteúdo de DHA + EPA dos suplementos de ômega-3**

Normalmente, a construção de um modelo quantitativo baseado em dados espectrais visando à determinação de DHA + EPA nos suplementos de ômega-3 depende dos resultados da determinação desses ácidos graxos para um grande número de amostras pelo método cromatográfico de referência [9-20]. Portanto, o custo e o tempo necessários para produzir o modelo com base em dados espectroscópicos NIR podem se tornar inviáveis.

Tendo isso em vista, este trabalho propõe a construção de um modelo de regressão para investigar o conteúdo de DHA + EPA em suplementos de ômega-3 de uma forma não convencional, dispensando a maioria das análises laboratoriais de referência. O procedimento emprega poucas amostras de referência (no caso deste trabalho, foram 12), para as quais o conteúdo de DHA + EPA foi previamente determinado por cromatografia. Para as demais amostras restantes, incluídas no conjunto de calibração, os valores de seus conteúdos de DHA + EPA utilizados são os mesmos especificados em seus respectivos rótulos.

Esse procedimento se baseia na seguinte hipótese: "A maioria dos teores reais

dos compostos ativos (EPA + DHA, no presente caso) de suplementos alimentares e de medicamentos (pode-se dizer que 90%) é igual ao valor declarado no rótulo do produto, com uma incerteza relativa média de  $\pm 10\%$ .”

Essa hipótese pode ser sustentada pelas seguintes propostas: i) as indústrias de suplementos alimentares e de medicamentos são muito bem regulamentadas; ii) historicamente, os dados raramente revelaram ocorrência de fraudes ou de não conformidades superiores a 10% em relação ao teor dos compostos de interesse.

Para ilustrar essa segunda proposta, considerando amostras de suplementos alimentares de ômega-3, um estudo publicado recentemente mostrou que o conteúdo de DHA + EPA de 37 de 42 produtos comerciais analisados estavam em conformidade com  $\pm 10\%$  do valor que tinha sido declarado em seus respectivos rótulos [57], o que implica que o conteúdo verdadeiro de DHA + EPA dos suplementos deve estar na faixa de  $\pm 10\%$  do conteúdo declarado para a grande maioria dos produtos. Além disso, os resultados estatísticos da análise multivariada (como a PCA, por exemplo) podem ser usados para excluir amostras resultantes de fraudes grosseiras e/ou especificações incorretas do conteúdo no rótulo.

A Tabela 1 abaixo permite comparar o conteúdo de DHA + EPA determinado por cromatografia com o valor especificado no rótulo dos frascos de suplementos de ômega-3 para as 12 amostras de referência empregadas neste trabalho. Apenas uma amostra (representada pelo número 12 na Tabela 1) tem um valor declarado no rótulo que difere mais que 10% do valor real determinado pela análise cromatográfica. Em geral, os valores estão de acordo com a hipótese anunciada.

Para que o modelo seja mais preciso, no entanto, é necessário detectar as amostras (*outliers*) cujo rótulo está em grande desacordo com o conteúdo real de DHA + EPA, pois os *outliers* conferem um efeito deletério ao modelo PLSR. O conjunto inicial de amostras usado para construir e validar o modelo PLSR incluiu todas as amostras declaradas como suplementos de ômega-3, indicando seu conteúdo de DHA + EPA no rótulo e as 12 amostras de referência, cujo conteúdo foi determinado por cromatografia gasosa (totalizando 78 amostras). Um modelo PLSR preliminar foi construído usando todo esse conjunto de dados. O modelo necessitou de apenas uma variável latente para capturar 99% da variabilidade encontrada no conteúdo de DHA + EPA do conjunto de amostras.

**Tabela 1.** Caracterização dos suplementos de ômega-3 analisados por cromatografia gasosa e pelo modelo PLSR. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Amostra	(DHA + EPA) / mg g <sup>-1</sup>		Diferença relativa** / (%)	(DHA + EPA) / mg g <sup>-1</sup>		
	Rótulo (A)	Referência* (B)		Validação cruzada (C)	Validação (D)	Diferença (C or D) - B
1	563	588	-4,4	-	579	-9
2	563	617	-9,6	-	610	-7
3	563	617	-9,6	-	610	-7
4	563	573	-1,8	-	579	6
5	563	617	-9,6	-	608	-9
6	563	584	-3,7	-	573	-11
7	563	589	-4,6	570	-	-19
8	563	575	-2,1	584	-	9
9	563	615	-9,2	609	-	-6
10	563	576	-2,3	568	-	-8
11	577	630	-9,4	615	-	-15
12***	563	494	-12	-	-	-

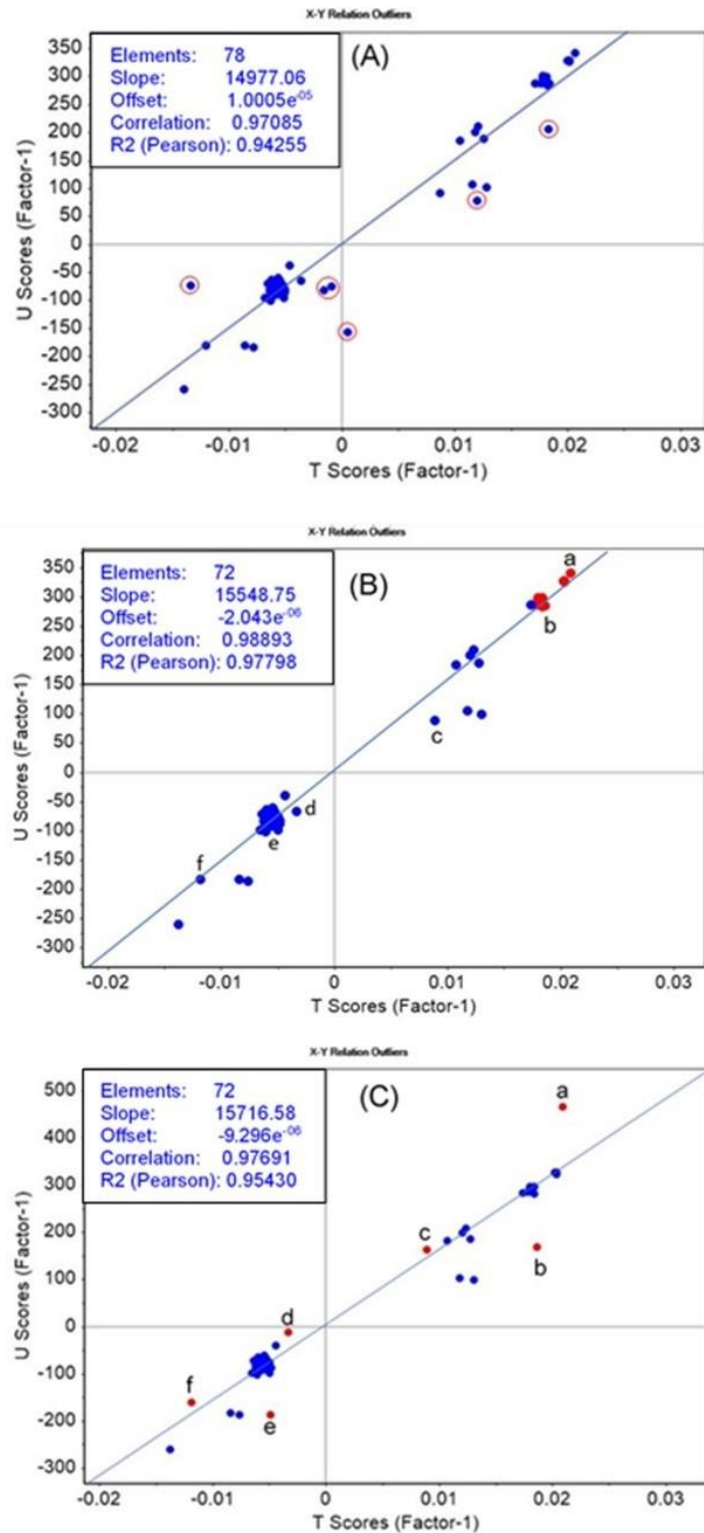
\*Valores de referência obtidos a partir da análise cromatográfica [7].

\*\* $[(B - A) / A] \times 100$

\*\*\*Amostra removida do conjunto de calibração usado no modelo PLSR.

Seis *outliers* foram removidos do conjunto original antes da construção do modelo final, com base na análise do gráfico da relação X-Y de *outliers* para a primeira variável latente, nos resíduos espectrais e na *leverage* das amostras.

A Figura 13A mostra o gráfico da relação X-Y de *outliers* obtido após a construção do modelo PLSR preliminar. Na Figura 13A, as seis amostras que foram eliminadas estão circuladas de vermelho. A relação X-Y de *outliers* é uma ferramenta quimiométrica do software Unscrambler que permite a identificação de *outliers* na relação entre o conteúdo espectral e o de referência de uma espécie química presente na amostra [58].



**Figura 13.** Gráfico da relação X-Y de *outliers*. (A) As amostras *outliers* removidas do conjunto de dados antes do PLRS (marcadas com círculos vermelhos). (B) Amostras restantes (pontos em azul) e as amostras de referência (pontos em vermelho). (C) Mudança nos *scores* Y causada pela simulação de uma mudança nos valores de DHA + EPA indicados pelos rótulos das amostras representadas pelos pontos vermelhos. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

A ferramenta acessa a relação entre os *scores* dos espectros (X) e os *scores* do conteúdo químico (Y) um a um para todas as variáveis latentes relevantes usadas no modelo. Neste caso, a análise foi feita apenas para a primeira variável latente relevante. Esta ferramenta é muito importante no presente trabalho porque, além de identificar os *outliers* espectrais, também permite identificar aqueles pontos que não se enquadram na relação entre a composição espectral e química. Dois dos *outliers* detectados foram os suplementos falsos de ômega-3 previamente identificados pela PCA, um foi a amostra de óleo proveniente de microalgas e os outros três foram amostras rotuladas como óleo de peixe e que podem ter um conteúdo de DHA + EPA muito longe do indicado em seu rótulo. Uma amostra de referência (representada pelo número 12 na Tabela 1) estava entre as amostras removidas. Para esta amostra, é possível detectar uma discrepância entre o rótulo e os valores de referência superiores a 10%.

A Figura 13B mostra o gráfico da relação X-Y de *outliers* obtido para o modelo PLSR construído com as 72 amostras restantes. As amostras plotadas em vermelho identificam as 11 amostras de referência restantes no conjunto de dados.

A Figura 13C mostra a mudança nos *scores* Y resultante da simulação de uma mudança na quantidade de DHA + EPA declarada no rótulo (ou do conteúdo de referência) de 6 amostras (plotadas em vermelho) das 72 amostras previamente selecionadas. As amostras marcadas como "a" e "b" são amostras de referência cujo conteúdo de DHA + EPA foi alterado em + 20% e -20%, respectivamente. As amostras "c" e "f" tiveram o conteúdo informado pelos seus respectivos rótulos alterado em + 20%. O rótulo da amostra "d" foi alterado adicionando-se duas vezes o erro quadrático médio de predição (RMSEP), ou seja, + 54 mg g<sup>-1</sup> do modelo de PLSR validado. O conteúdo da amostra "e" foi alterado para simular uma mudança drástica de -50% em relação ao seu rótulo, o que poderia ocorrer caso as cápsulas de ômega-3 fossem embaladas com um rótulo errado.

No geral, a simulação revela que é mais fácil detectar amostras fora das especificações quando o seu conteúdo de ômega-3 é maior. Alterações drásticas no conteúdo do rótulo de amostras com o conteúdo médio de ômega-3 (cerca de 200 mg g<sup>-1</sup>) também são facilmente identificadas nos gráficos da relação X-Y de *outliers*. No entanto, mudanças moderadas no rótulo de amostras de baixo conteúdo (na Figura 13C, representadas pelas letras "c", "d" e "f") são mais difíceis de serem identificadas.

Por outro lado, o modelo PLSR construído apenas removendo as amostras "a",

"b" e "e" (certamente detectadas como *outliers*) do conjunto de dados e mantendo-se as outras três amostras com seu conteúdo de rótulo alterado (resultando em um conjunto de dados de 69 amostras) mostra que o valor previsto por validação cruzada para essas três amostras alteradas não sofre alteração significativa no conteúdo de DHA + EPA quando comparado com os valores obtidos anteriormente, conforme pode ser observado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resultado da validação cruzada dos modelos PLSR para três amostras que tiveram os valores de seus conteúdos de DHA +EPA alterados em relação aos rótulos. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Amostra*	Antes da alteração / mg g <sup>-1</sup>		Depois da alteração / mg g <sup>-1</sup>	
	Rótulo	Previsto**	Rótulo	Previsto**
f	108	106	130	109
c	379	430	455	430
d	224	239	278	240

\* Conforme indicação nas Figuras 12B e 12C.

\*\* Valores da validação cruzada previstos pelos modelos PLSR.

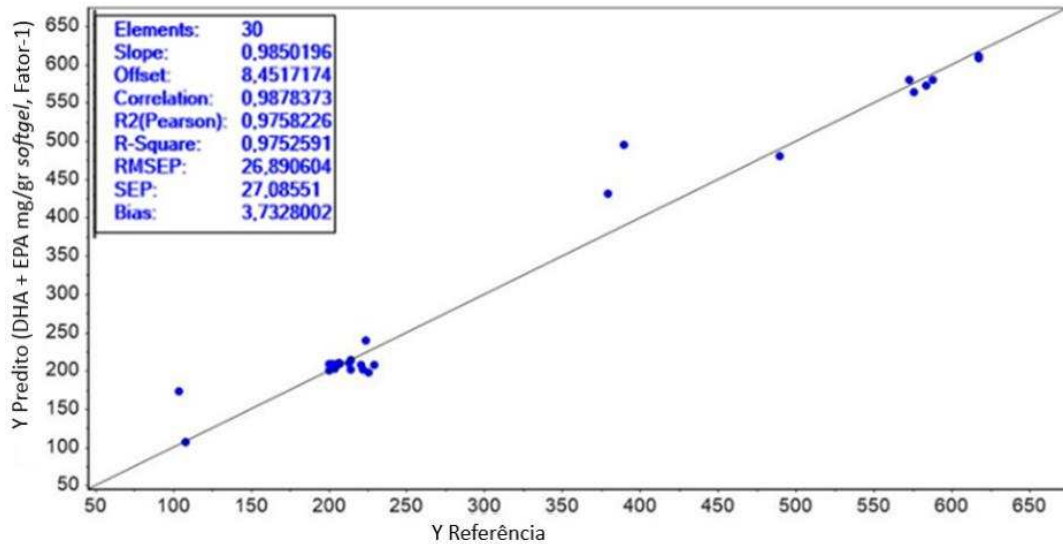
A razão para isto é que, de acordo com a hipótese sugerida neste trabalho, os coeficientes de regressão do modelo PLSR são determinados principalmente pelas 66 amostras para as quais o rótulo ou os valores de referência foram considerados corretos dentro do limite especificado de  $\pm 10\%$ .

Por fim, o conjunto de 72 amostras selecionadas originalmente foi dividido aleatoriamente em dois subconjuntos contendo os espectros de 42 e 30 amostras para calibrar e validar o modelo final, respectivamente. Das 11 amostras de referência, 5 ficaram no conjunto de calibração e as outras 6 fizeram parte do conjunto de validação.

O modelo PLSR final exigiu apenas uma variável latente, produzindo um erro quadrático médio de uma validação cruzada (RMSECV) de 20 segmentos de 22 mg g<sup>-1</sup> e um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) igual a 0,977. A validação revelou um RMSEP igual a 27 mg g<sup>-1</sup> e um  $R^2$  igual a 0,975, que é próximo a  $\pm 10\%$  do conteúdo médio mais usual de DHA + EPA de 200 mg g<sup>-1</sup>. A Figura 14 mostra os resultados da validação do modelo PLSR empregado para prever o conteúdo de DHA + EPA de suplementos comerciais de ômega-3.

As 11 amostras de referência (5 empregadas na calibração e 6 na validação),

que têm seus conteúdos de DHA + EPA certificados, determinados por cromatografia, foram muito bem ajustadas pelo modelo e resultaram em valores previstos aceitáveis, como pode ser observado na Tabela 1.



**Figura 14.** Resultados da validação do modelo de regressão PLS construído para estimar o conteúdo de DHA + EPA ( $\text{mg g}^{-1}$ ) das cápsulas *softgel* dos suplementos alimentares de ômega-3. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Um *bias* negativo pode ser observado, pois a maioria dos valores previstos são inferiores aos resultados de referência. No entanto, a diferença mais acentuada observada foi de  $-19 \text{ mg g}^{-1}$  ( $-3,2\%$ ), que é significativamente inferior ao RMSEP do modelo PLSR.

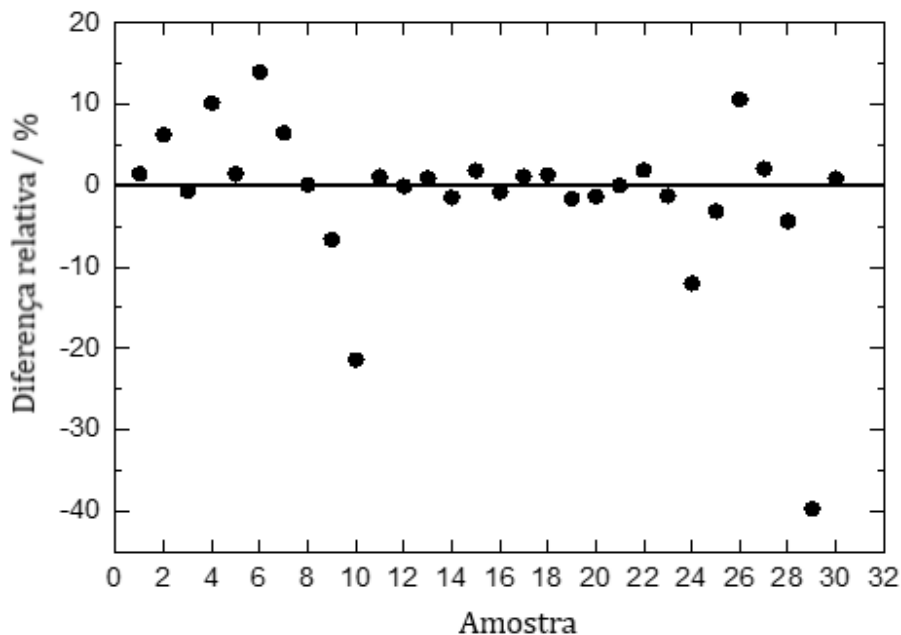
A tentativa de previsão das seis amostras deixadas de fora da etapa de construção do modelo revelou que, em média, os valores previstos diferem do valor do rótulo em  $106 \text{ mg g}^{-1}$ . A diferença relativa observada é de  $50\%$  ( $\text{BIAS} = 30\%$ ). Como pode ser observado na Tabela 3 a seguir, cinco valores previstos são maiores do que os valores do rótulo e um valor é menor.

**Tabela 3.** Predição dos valores de DHA + EPA das seis amostras deixadas de fora da construção do modelo PLSR. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Amostra	(DHA + EPA) / mg g <sup>-1</sup>			Diferença relativa / %
	Rótulo	Previsto	Diferença	
1	213	282	69	32
2	367	482	115	31
3	207	272	65	31
4*	494	582	88	18
5	214	86	-128	-60
6	133	303	170	128

\*Valor de referência da cromatografia

Por outro lado, as trinta amostras do conjunto de validação foram previstas com uma diferença absoluta média de 15 mg g<sup>-1</sup> e uma diferença relativa média de apenas 1,5% (BIAS = -1,1%). A Figura 15 mostra a distribuição das diferenças relativas entre os valores previstos e os de referência para as trinta amostras do conjunto de validação.



**Figura 15.** Distribuição das diferenças relativas entre os valores previstos e os valores rotulados ou de referência para as trinta amostras do conjunto de validação. Reimpressa de [25]. Copyright 2020 por *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.

Cinco valores previstos ultrapassaram o limite de hipótese de 10% e duas amostras excederam significativamente esse limite de 10%.

Certamente, o desempenho geral do modelo proposto é pior do que daqueles

relatados anteriormente [9-20], que foram construídos com um tipo mais restrito de amostras e empregando resultados de referências para todo o conjunto de amostras de modelagem e validação. No entanto, o modelo PLSR aqui proposto não visa substituir o método cromatográfico de referência para o controle de qualidade nas indústrias. O modelo pretende ser usado para triagem de conteúdo DHA + EPA, visando detectar fraudes grosseiras.

## 5. CONCLUSÃO

As abordagens qualitativa e quantitativa propostas para avaliar os dados espectrais NIR de suplementos de ômega-3, seus possíveis adulterantes e possíveis substâncias falsas, mostram que as informações já disponíveis, aliadas aos fundamentos da espectroscopia NIR e da análise multivariada robusta e direta de dados por PCA, são capazes de caracterizar os produtos comerciais. A qualidade dos produtos e as fraudes podem ser facilmente detectadas, mesmo *in situ*, usando o espectrofotômetro portátil de baixo custo.

A abordagem proposta não utilizou os modelos convencionais de classificação automática. Por outro lado, para caracterizar uma amostra desconhecida, seus espectros NIR devem ser pré-tratados e projetados no espaço da componente principal. A localização da amostra (*scores*) é determinada, permitindo sua caracterização. A PCA pode ser refeita, se necessário, para expandir o escopo da biblioteca espectral. O conhecimento da base de dados original e sua abrangência garantem a caracterização da amostra desconhecida. Este procedimento automaticamente atualiza e aumenta a robustez do procedimento de caracterização conforme novas amostras são incorporadas ao banco de dados. Naturalmente, modelos de classificação (não avaliados neste trabalho) também poderiam ser desenvolvidos com base nas informações fornecidas pela PCA.

A abordagem quantitativa não convencional foi conduzida usando apenas cinco amostras analisadas por cromatografia para seu conteúdo de DHA + EPA no procedimento de calibração. Os resultados mostram eficiência preditiva suficiente ( $RMSEP = 27 \text{ mg g}^{-1}$ ) para estimar o conteúdo dos componentes ativos dos suplementos de ômega-3, dentro da faixa de  $\pm 10\%$  do conteúdo mais usual de DHA + EPA ( $200 \text{ mg g}^{-1}$ ) encontrado em uma cápsula. Novamente, os resultados de PCA (*resíduos e leverages*) e PLSR (valores discrepantes da relação X-Y) são empregados para selecionar as amostras cujo conteúdo de DHA + EPA representado em seus rótulos pode ser confiável o suficiente para alimentar o modelo PLSR.

De maneira geral, a caracterização por meio da informação espectroscópica NIR, proposta neste trabalho, é realizada minimizando o custo de construção de modelos qualitativos e quantitativos multivariados.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] J. C. Sullivan, S. M. Budge, M. St-Onge, Determining ethyl esters in fish oil with solid phase microextraction and GC–MS, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86 (2009) 743–748. Doi:10.1007/s11746-009-1412-5
- [2] K. S. Sidhu, Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 38 (2003) 336–344.
- [3] P. M. Barnes, B. Bloom, R. L. Nahin, Complementary and alternative medicine use among adults and children; United States, 2007, *Nat Health Stat. Rep.* 10 (2008) 1–23.
- [4] Adroit Market Research, Omega 3 fatty acids market size, by application, demand, production, revenue, benefits, growth opportunities, regional forecast to 2025 <https://www.reuters.com/brandfeatures/venture-capital/article?id=75722>, 2019 (20 October 2019).
- [5] H.R.G. de Gouvêa, D.F. Paula, T.A.P. Silva, A.F.C. Campos, M.K. Itoa, Fatty acid content, oxidation markers and mercury in fish oil supplements commercialized in Brasília, Brazil, *Orbital: Electron. J. Chem.* 11 (2019) 168-177. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v11i3.1390>.
- [6] J.C.S. Ritter, S. M. Budgeb, F. Jovica, Quality analysis of commercial fish oil preparations, *J. Sci. Food Agric.* 93 (2013) 1935-1939. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5994>.
- [7] Official Methods of Analysis of AOAC international, 20th ed., AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA, 2016, Official Method 996.06, 41.1.28A.
- [8] G. Jiao, J.P.M. Hui, I.W. Burton, M.H. Thibault, C. Pelletier, J. Boudreau, N. Tchoukanova, B. Subramanian, Y. Djaoued, S. Ewart, J. Gagnon, K.V. Ewart, J. Zhang, Characterization of Shrimp Oil from *Pandalus borealis* by High Performance Liquid Chromatography and High Resolution Mass Spectrometry, *Mar. Drugs* 13 (2015) 3849-3876. <https://doi.org/10.3390/md13063849>.
- [9] E. Giese, O. Winkelmann, S. Rohnb, J. Fritschec, Determining quality parameters of fish oils by means of <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance, mid-infrared, and near-infrared spectroscopy in combination with multivariate statistics, *Food Res. Int.* 106 (2018) 116–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.041>.
- [10] Y.H.D. Wu, Potential of spectroscopic techniques and chemometric analysis for rapid measurement of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in algal oil,

- Food Chem. 158 (2014) 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.109>.
- [11] S.R. Karunathilakaa, S.H. Choia, M.M. Mossobaa, B.J. Yakesa, L. Brücknera, Z. Ellsworth, C.T. Srigleya, Rapid prediction of fatty acid content in marine oil omega-3 dietary supplements using a portable fourier transform infrared (FTIR) device and partial least-squares regression (PLSR) analysis, *J. Agric. Food Chem.* 65 (2017) 224–233. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04463>.
- [12] M. Plans, M.J. Wenstrup, L.E. Rodriguez-Saona, Application of infrared spectroscopy for characterization of dietary omega-3 oil supplements, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 92 (2015) 957–966. <https://doi.org/10.1007/s11746-015-2666-8>.
- [13] M.Y. Bekhit, B. Grung, S.A. Mjøsa, Determination of omega-3 fatty acids in fish oil supplements using vibrational spectroscopy and chemometric methods, *Appl. Spectrosc.* 68 (2014) 1190–1200. <https://doi.org/10.1366/13-07210>.
- [14] S. R. Karunathilaka, S.H.Choi, M. M. Mossoba, B. J. Yakes, L. Brückner, Z. Ellsworth, C. T. Srigley, Rapid classification and quantification of marine oil omega-3 supplements using ATR-FTIR, FT-NIR and chemometrics. *J. Food Compost Anal.* 77 (2019) 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.12.009>.
- [15] S. R. Karunathilaka, B.J. Yakes, S. H. Choi, L. E. A. Bruckner, M. M. Mossoba, Comparison of the Performance of Partial Least Squares and Support Vector Regressions for Predicting Fatty Acids and Fatty Acid Classes in Marine Oil Dietary Supplements by Using Vibrational Spectroscopic Data. *J. Food Prot.*, 83 (2020) 881–889. <https://doi.org/10.4315/JFP-19-563>.
- [16] S. van der Merwe, M. Manley, M. Wicht, Enhancing near infrared spectroscopy models to identify omega-3 fish oils used in the nutraceutical industry by means of calibration range extension. *J. Near Infrared Spec.* 26 (2018) 245–261. <https://doi.org/eres.qnl.qa/10.1177/0967033518795811>.
- [17] Y. Meiyang, L. Jing, N. Shaoping, H. Jielun, Y. Qiang, X. Mingyong, X. Hua, D. Zeyuan, Z. Weiwan, Rapid determination of docosahexaenoic acid in powdered oil by near-infrared spectroscopy, *Food Sci. Technol. Int.* 16 (2010) 187–193. <https://doi.org/10.1177/1082013209353379>.
- [18] L.M. Leme, F. Nakamura, A.A.C. Tanamati, P. Valderrama, P.H. Marçó, Fast non-invasive screening to detect fraud in oil capsules, *LWT – Food Sc. Technol.* 109 (2019) 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.088>.
- [19] M.M. Cascant, C. Breil, A.S. Fabiano-Tixier, F. Chemat, S. Garrigues, M. de la Guardia, Determination of fatty acids and lipid classes in salmon oil by near infrared

- spectroscopy, *Food Chem.* 239 (2017) 865-871. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.158>.
- [20] D. Cozzolino, I. Murray, A. Chreeb, J.R. Scaife, Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy, *LWT-Food Sci. Technol.* 38 (2005) 821–828. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.10.007>.
- [21] P. C. Calder, P. Yaqoob, Understanding Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids, *Postgraduate Medicine* 121 (2009) 148-157.
- [22] M. Y. Bekhit, B. Grung, S. A. Mjøs, Determination of omega-3 fatty acids in fish oil supplements using vibrational spectroscopy and chemometric methods, *Appl. Spectrosc.* 68 (2014) 1190–1200.
- [23] C. J. Lavie, R. V. Milani, M. R. Mehra, H. O. Ventura, Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Diseases, *Journal of the American College Cardiology* 54 (2009) 585-594.
- [24] J.R. Bonilla-Méndez, J.L. Hoyos-Concha, Methods of extraction, refining and concentration of fish oil as a source of omega-3 fatty acids, *Corpoica* 19 (2018) 645-668. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol19\\_num2\\_art:684](https://doi.org/10.21930/rcta.vol19_num2_art:684).
- [25] M. C. Hespanhol, J. C. Souza, C. Pasquini, Feasibility of a portable, low-cost near-infrared spectrophotometer for the quality screening of omega-3 dietary supplements, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 189 (2020) 113436. Doi: 10.1016/j.jpba.2020.113436.
- [26] C. Pasquini, Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives - A review, *Anal. Chim. Acta* 1026 (2018) 8-36. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.004>.
- [27] C. Pasquini, Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications, *J. Braz. Chem. Soc.* 14 (2003) 198-219. Doi: 10.1590/S0103-50532003000200006.
- [XXVIII] [28] J.H. Hart, K.H. Norris, Direct spectrophotometric determination of moisture content of grain and seeds, *J. Near Infrared Spectrosc.* 4 (1996) 23.
- [29] I. Bengera, K.H. Norris, Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products, *J. Food Sci.* 33 (1968) 64-67.
- [30] H.M. Shapiro, In memoriam: tomas hirschfeld (1939-1986), *Cytometry* 7 (1986) 399.
- [31] M.P. Fuller, P.R. Griffiths, Diffuse reflectance measurements by infrared fourier-transform spectrometry, *Anal. Chem.* 50 (1978) 1906-1910.

- [32] J.M. Olinger, P.R. Griffiths, Quantitative effects of an absorbing matrix on near-infrared diffuse reflectance spectra, *Anal. Chem.* 60 (1988) 2427-2435.
- [33] B.R. Kowalski, Chemometrics - views and propositions, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 15 (1975) 201-203.
- [34] L. Antonov, An alternative for the calculation of derivative spectra in the near-infrared spectroscopy, *J. Near Infrared Spectrosc.* 25 (2017) 145-148.
- [35] M.C.U. Araújo, R.K.H. Galvão, Linear regression modeling: variable selection, in: 1aedBeata Walczak; Rom\_a Tauler Ferr\_e; Steven Brown. (Org.). *Comprehensive Chemometrics: Chemical and Biochemical Data Analysis (Four-volume Set)*, vol. 3, Elsevier, Amsterd~a, 2009, pp. 233-283.
- [36] S. Wold, H. Martens, H. Wold, The multivariate calibration problem in chemistry solved by the PLS, in: *Matrix Pencils - Proceedings of a Conference Held at Pite Havsbad, Sweden, March 22e24*, Springer, Heidelberg, 1982, pp. 286-293.
- [37] R.M. Balabin, R.Z. Safieva, E.I. Lomakina, Gasoline classification using near infrared (NIR) spectroscopy data: comparison of multivariate techniques, *Anal. Chim. Acta* 671 (2010) 27-35.
- [38] D.F. Barbin, A. Felicio, D.W. Sun, S.L. Nixdorf, E.Y. Hirooka, Application of infrared spectral techniques on quality and compositional attributes of coffee: an overview, *Food Res. Int.* 61 (2014) 23-32.
- [39] D. Cozzolino, W. Cynkar, N. Shah, P. Smith, Technical solutions for analysis of grape juice, must, and wine: the role of infrared spectroscopy and chemometrics, *Anal. Bioanal. Chem.* 401 (2011) 1475-1484.
- [40] C.A.T. dos Santos, R. Pascoa, J.A. Lopes, A review on the application of vibrational spectroscopy in the wine industry: from soil to bottle, *Trac. Trends Anal. Chem.* 88 (2017) 100-118.
- [41] H. Ayvaz, L.E. Rodriguez-Saona, Application of handheld and portable spectrometers for screening acrylamide content in commercial potato chips, *Food Chem.* 174 (2015) 154-162.
- [42] L.J. Xie, A.C. Wang, H.R. Xu, X.P. Fu, Y.B. Ying, Applications of near-infrared systems for evaluation of fruits: a review, *Trans. Asabe* 59 (2016) 399-419.
- [43] A. Poonia, A. Jha, R. Sharma, H.B. Singh, A.K. Rai, N. Sharma, Detection of adulteration in milk: a review, *International Journal of Dairy Technology* 70 (2017) 23-42.

- [44] N. Prieto, O. Pawluczyk, M.E.R. Dugan, J.L. Aalhus, A review of the principles and applications of near-infrared spectroscopy to characterize meat, fat, and meat products, *Appl. Spectrosc.* 71 (2017) 1403-1426.
- [45] D. Cozzolino, Near infrared spectroscopy in natural products analysis, *Planta Med.* 75 (2009) 746-756.
- [46] T. Woodcock, C.C. Fagan, C.P. O'Donnell, G. Downey, Application of near and mid-infrared spectroscopy to determine cheese quality and authenticity, *Food Bioprocess Technol.* 1 (2008) 117-129.
- [47] M. Casale, R. Simonetti, Review: near infrared spectroscopy for analysing olive oils, *J. Near Infrared Spectrosc.* 22 (2014) 59-80.
- [48] J. Luypaert, D.L. Massart, Y.V. Heyden, Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis, *Talanta* 72 (2007) 865-883.
- [49] T. De Beer, A. Burggraef, M. Fonteyne, L. Saerens, J.P. Remon, C. Vervaet, Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production processes, *Int. J. Pharm.* 417 (2011) 32-47.
- [50] J. G. Sabin, M. F. Ferrão, J. C. Furtado, Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 40 (2004) 387-396.
- [51] A. Giuliani, The application of principal component analysis to drug discovery and biomedical data, *Drug Discovery Today* 22 (2017) 1069-1076. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.01.005>.
- [52] M.C. Hespanhol, C. Pasquini, A.O. Maldaner, Evaluation of a low-cost portable near-infrared spectrophotometer for in situ cocaine profiling. *Talanta* 200 (2019) 553-561. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.091>.
- [53] DLP® NIRscan™ Nano EVM User's Guide. (*Texas Instruments*, 2017).
- [54] P. J. Treado, M. D. Morris, A thousand points of light: the Hadamard transform in chemical analysis and instrumentation. *Anal. Chem.* 61, (1989) 723A-734A. <https://doi.org/10.1021/ac00186a002>.
- [55] H. E. B. da Silva, C. Pasquini, Dual-Beam Near-Infrared Hadamard Spectrophotometer. *Appl. Spectrosc.* 55 (2001) 715-721.
- [56] J. Workman Jr., L. Weyer, *Practical Guide to Interpretative Near-Infrared Spectroscopy*, CRC Press, Boca Raton, 2008.
- [57] G. Bannenberga, H. B. Ricea, A. Bernasconia, A. Ferrarib, C. Mallonc, L.

Navarrete, R. Hughes, J. Igarashif, K. Personsg, L. Latynskih, A. Phungi, S. Wangi, A. Ismailj, Ingredient label claim compliance and oxidative quality of EPA/DHA omega-3 retail products in the U.S. *J. Food Compost. Anal.* 88 (2020) 103435. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103435>.

[58] K.H. Esbensen, B. Swarbrick, *Multivariate Data Analysis*, sixth ed., CAMO Software AS, Magnolia, 2018.

Anexo

**Tabela A.** Principais especificações dos espectrofotômetros comerciais disponíveis.

Fabricante	Modelo	Tecnologia	Resolução espectral (nm)	Faixa espectral (nm)	Detector (Elementos)	SNR	Tempo de integração	Importação dos dados/Armazenamento	Peso
Si-Ware Systems	NeoSpectra	MEMS - FT	8–16	1250–1700	InGaAs (1)	3000:1	2 s	USB	X
Brimrose	Luminar 5030	AOTF	1–10	900–1800	InGaAS (1)	30 $\mu$ Abs	~5 s	TCP IP, I/O cabo	X
Spectral Engines	NIRONE 2.0	MEMS Fabry-Perot	16–2	1550–1950	InGaAS (1)	10000:1	0.5 s	USB Bluetooth	15 g
ConsumerPhysics	SCiO	X	X	X	X	X	1.5 s	Bluetooth	35 g
Stratio Tecnologia Inc.	Link Square	X	10	450–1000	X	X	X	Wi-Fi	57 g
Texas Instruments	NanoNIR	Grade - MEMS - DMD	10	900–1700	InGaAS (1)	6000:1	0.3 s	USB, Bluetooth/Cartão de memória	85 g
Viavi Solutions	MicroNIR OnSite	LVF – Filtro linear variável	12–20	950–1650	InGaAs (128)	25000:1	0.25–0.50 s	USB	100 g
Young Green	NIR Scan	MEMS - DMD	10	900–1700	InGaAS (1)	6000:1	0.3 s	USB, Bluetooth/Cartão de memória	120 g
Stellar Inc.	Red-Wave-Micro	MEMS Fabry-Perot	10	1750–2150	InGaAS (1)	5000:1	0.1–10 ms	USB	<125 g

Fabricante	Modelo	Tecnologia	Resolução espectral (nm)	Faixa espectral (nm)	Detector (Elementos)	SNR	Tempo de integração	Importação dos dados/Armazenamento	Peso
RGB Photonics	Q-Red	Grade de Czerny-Tuner	4	900–1700	InGaAs (512)	X	7 $\mu$ s–600 s	USB, Bluetooth e proprietário	160 g
Ocean Optics	Flame NIR	Grade	~10	950–1650	InGaAs (128)	6000:1	1 ms–60 s	USB	265 g
ThouLabs	CCS 175	Grade	0.8	500–1000	CCD (3648)	2000:1	5 ms	USB	400 g
Xian Yima Optoelec. Co., Ltd	NIRMagic 1210	X	12.5	950–1650	X	X	<5 s	USB/Armazenamento interno	850 g
Felix Instruments	F 750	Grade	8–13	310–1100	Si (256)	X	4–6 s	Wi-Fi/Armazenamento interno	1050 g
ThermoFisher Scientific	MicroPhasir	Grade – MEMS Hadamard	11	900–1690	InGaAs (1)	X	~1 s	USB/Armazenamento interno	1250 g
Spectral Evolution	LF - 2500	Czerny-Turner	10–20	1000–2500	InGaAs (256)	X	0.5–15 ms	USB, Bluetooth	1500 g
IOU3 S.r.l	PoliSpec NIR	Grade côncava	2.2	900–1700	InGaAs (256)	X	0.1–100 s	USB, RS232, Bluetooth	1500 g
ASD Inc. Panalytical	QualitySpec Trek	X	3–8	350–2500	X	X	X	X	2000 g

**Tabela B.** Descrição das amostras analisadas neste trabalho.

<b>Amostra</b>	<b>Tipo</b>	<b>Matéria-prima</b>	<b>EPA/ mg cápsula<sup>-1</sup></b>	<b>DHA/ mg cápsula<sup>-1</sup></b>	<b>EPA + DHA/ mg cápsula<sup>-1</sup></b>	<b>Preço por quantidade de EPA + DHA por cápsula/ 10<sup>-3</sup> reais</b>
AM01*	ômega-3	óleo de peixe	296,15	180,11	476,26	5,61
AM02*	ômega-3	óleo de peixe	3,19	496,81	500,00	5,96
AM03*	ômega-3	óleo de peixe	281,64	189,92	471,56	5,66
AM04*	ômega-3	óleo de peixe	299,33	179,21	478,54	5,58
AM05*	ômega-3	óleo de peixe	3,19	496,81	500,00	5,96
AM06*	ômega-3	óleo de peixe	3,31	488,8	492,11	6,06
AM07*	ômega-3	óleo de peixe	291,43	175,12	466,55	4,82
AM08*	ômega-3	óleo de peixe	3,31	488,8	492,11	6,06
AM09*	ômega-3	óleo de peixe	235,00	165,00	400,00	5,63
AM10*	ômega-3	óleo de peixe	286,91	177,07	463,98	4,85
AM11*	ômega-3	óleo de peixe	3,19	496,81	500,00	5,96
AM12*	ômega-3	óleo de peixe	295,32	181,68	477,00	5,60
AM13	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	1,58
AM14	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	2,06
AM15	ômega-3	óleo de peixe	170,00	125,00	295,00	0,78
AM16	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,10
AM17	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	4,40

AM18	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,17
AM19	ômega-3	óleo de peixe				
AM20	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	1,34
AM21	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	0,83
AM22	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	2,17
AM23	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	2,63
AM24	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	2,30
AM25	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,60
AM26	ômega-3	óleo de peixe	90,00	60,00	150,00	3,03
AM27	ômega-3	óleo de peixe	19,25	20,50	39,75	5,03
AM28	ômega-3	óleo de peixe	200,00	133,33	333,33	0,71
AM29	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,73
AM30	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	0,57
AM31	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,60
AM32	ômega-3	óleo de peixe			300,00	4,00
AM33	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,50
AM34	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	2,33
AM35	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,33
AM36	ômega-3	óleo de peixe			300,00	2,89
AM37	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,03
AM38	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	3,87
AM39	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,93
AM40	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,67
AM41	ômega-3	óleo de peixe	165,00	110,00	275,00	4,84

AM42	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,57
AM43	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,63
AM44	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,23
AM45	ômega-3	óleo de peixe	100,00	60,00	160,00	6,99
AM46	ômega-3	óleo de peixe	200,00	100,00	300,00	0,83
AM47	ômega-3	óleo de peixe	200,00	100,00	300,00	1,40
AM48	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	2,94
AM49	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,92
AM50	ômega-3	óleo de peixe	120,00	300,00	420,00	6,07
AM51	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,83
AM52	ômega-3	óleo de peixe	94,00	63,00	157,00	2,68
AM53	ômega-3	óleo de peixe	200,00	100,00	300,00	1,44
AM54	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,83
AM55	ômega-3	óleo de peixe	200,00	100,00	300,00	1,10
AM56	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,69
AM57	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,81
AM58	ômega-3	óleo de peixe	200,00	500,00	700,00	2,14
AM59	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	4,93
AM60	ômega-3	óleo de peixe	330,00	220,00	550,00	2,09
AM61	ômega-3	óleo de peixe	100,00	250,00	350,00	2,63
AM62	ômega-3	óleo de peixe	200,00	100,00	300,00	1,43
AM63	ômega-3	óleo de peixe			300,00	4,00
AM64	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,77
AM65	ômega-3	óleo de peixe	166,67	133,33	300,00	1,27

AM66	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,70
AM67	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,03
AM68	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,63
AM69	ômega-3	óleo de peixe	918,00	141,00	1059,00	4,18
AM70	ômega-3	óleo de peixe	120,00	300,00	420,00	2,33
AM71	ômega-3	óleo de peixe	100,00	100,00	200,00	5,90
AM72	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	0,77
AM73	ômega-3	óleo de peixe	180,00	120,00	300,00	1,47
AM74	ômega-3	óleo de peixe	97,50	61,00	158,50	1,64
AM75	ômega-3	óleo de peixe	160,00	130,00	290,00	1,00
AM76	ômega-3	óleos de borragem, linhaça e peixe	96,50	55,50	152,00	7,12
AM77	ômega-3	óleos de borragem, linhaça e peixe	96,50	55,50	152,00	5,46
AM78	ômega-3	óleos de borragem, linhaça e peixe	96,50	55,50	152,00	2,63
AM79	ômega-3	óleos de borragem, linhaça e primula				
AM80	ômega-3	óleos de borragem, linhaça e primula				
AM81	ômega-3	óleos de borragem, cártamo, gergelim, girassol e linhaça				
AM82	ômega-3	óleos de gergelim e linhaça				
AM83	ômega-3	óleos de girassol e da microalga Schizochytrium sp.	0,00	200,00	200,00	12,85
AM84	óleo comestível	óleo de canola				
AM85	óleo comestível	óleo de canola				
AM86	óleo comestível	óleo de canola				
AM87	óleo comestível	óleo de canola				
AM88	óleo comestível	óleo de canola				
AM89	óleo comestível	óleo de canola				

AM90	óleo comestível	óleo de canola
AM91	óleo comestível	óleo de canola
AM92	óleo comestível	óleo de canola
AM93	óleo comestível	óleo de canola
AM94	óleo comestível	óleo de canola
AM95	óleo comestível	óleo de milho
AM96	óleo comestível	óleo de milho
AM97	óleo comestível	óleo de milho
AM98	óleo comestível	óleo de milho
AM99	óleo comestível	óleo de milho
AM100	óleo comestível	óleo de milho
AM101	óleo comestível	óleo de milho
AM102	óleo comestível	óleo de linhaça marrom
AM103	óleo comestível	óleo de linhaça dourada
AM104	óleo comestível	óleo de linhaça
AM105	óleo comestível	azeite de oliva
AM106	óleo comestível	azeite de oliva
AM107	óleo comestível	azeite de oliva
AM108	óleo comestível	azeite de oliva
AM109	óleo comestível	azeite de oliva
AM110	óleo comestível	azeite de oliva
AM111	óleo comestível	azeite de oliva
AM112	óleo comestível	azeite de oliva
AM113	óleo comestível	óleo de cártamo

AM114	óleo comestível	óleo de soja
AM115	óleo comestível	óleo de soja
AM116	óleo comestível	óleo de soja
AM117	óleo comestível	óleo de soja
AM118	óleo comestível	óleo de soja
AM119	óleo comestível	óleo de soja
AM120	óleo comestível	óleo de girassol
AM121	óleo comestível	óleo de girassol
AM122	óleo comestível	óleo de girassol
AM123	óleo comestível	óleo de girassol
AM124	óleo comestível	óleo de girassol
AM125	óleo comestível	óleo de girassol
AM126	óleo comestível	óleo de girassol
AM127	óleo comestível	óleo de girassol
AM128	óleo comestível	óleos de canola, girassol e milho
AM129	óleo comestível	óleos de canola, girassol e milho
AM130	óleo comestível	óleos de canola, girassol e milho

---

\* Amostras com certificação do seu respectivo conteúdo de ômega-3 por análise cromatográfica.