

Universidade Federal do Rio Grande do Sul



ESTUDO DE COMPOSTOS ÔMEGA-3 POR
TÉCNICAS DE FEIXE DE ÍONS

Douglas Newton Bilhalva

2024

ESTUDO DE COMPOSTOS ÔMEGA-3 POR TÉCNICAS DE FEIXE DE ÍONS

Douglas Newton Bilhalva

Trabalho de conclusão apresentado ao Curso de Bacharelado em Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Física.

Orientador: Livio Amaral

Porto Alegre
Agosto de 2024

ESTUDO DE COMPOSTOS ÔMEGA-3 POR TÉCNICAS DE FEIXE DE ÍONS

Douglas Newton Bilhalva

TRABALHO DE CONCLUSÃO SUBMETIDO AO CORPO DOCENTE DO CURSO DE BACHARELADO EM FÍSICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE BACHAREL EM FÍSICA

Examinada por:

Prof. Henrique Trombini, Ph.D.

Prof. Cilaine Veronica Teixeira , Ph.D.

PORTO ALEGRE, RS – BRASIL

AGOSTO DE 2024

Bilhalva, Douglas Newton

Estudo de compostos ômega-3 por técnicas de feixe de íons/Douglas Newton Bilhalva. – Porto Alegre: UFRGS, 2024.

XV, 61 p.: il.; 29, 7cm.

Orientador: Livio Amaral

Trabalho de conclusão (física) – UFRGS/ Curso de Bacharelado em Física, 2024.

Referências Bibliográficas: p. 52 – 54.

1. ômega-3. 2. DHA. 3. DHA-EE. 4. EPA. 5. EPA-EE. 6. PIXE. 7. MeV-SIMS. I. Amaral, Livio. II. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curso de Bacharelado em Física. III. Título.

Dedico este trabalho à minha mãe.

Agradeço à minha mãe, Sheila Maria da Cunha Jacques Bilhalva, que é a pessoa mais batalhadora que conheço. Ela criou a mim e aos meus irmãos sozinha, e nunca deixou de nos proporcionar o melhor que pôde. Se hoje posso dizer que sou físico, é graças ao seu apoio incondicional e à oportunidade que ela me deu de estudar.

Ao meu irmão Olímpio que sempre me serviu de inspiração.

A minha namorada Stefany por sempre me apoiar até nos momentos mais difíceis.

Aos professores Livio e Johnny que me guiaram por dois anos nessa jornada no LII.

Aos meus amigos e companheiros de pesquisa, Henrique, Luiz, Thiago, Dennis, M. Deros, L. Pessoa, L. Pezzin, Gabriela e Paula.

Ao Agostinho, Kovalick e Leandro, do Laboratório de Implantação Iônica, agradeço imensamente, sem eles este trabalho não teria sido possível.

Resumo da Trabalho de conclusão apresentado à UFRGS como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Bacharel em Física.

Estudo de compostos ômega-3 por técnicas de feixe de íons

Douglas Newton Bilhalva

Agosto/2024

Orientador: Livio Amaral

Curso: Bacharelado em Física

Este trabalho realizou uma caracterização elementar e molecular de suplementos alimentares ômega-3 utilizando técnicas de análise por feixes de íons. Foram analisados quatro suplementos ômega-3, disponíveis comercialmente na região de Porto Alegre. Inicialmente, foram desenvolvidos protocolos específicos para a preparação das amostras, devido à natureza oleosa dos materiais. Os estudos foram realizadas no Laboratório de Implantação Iônica (LII) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), utilizando as técnicas de Particle-Induced X-ray Emission (PIXE) e Megaelectron Volt Secondary-Ion Mass Spectrometry (MeV-SIMS). Os resultados obtidos permitiram determinar as concentrações de elementos existentes nos suplementos, bem como identificar moléculas dos ácidos graxos DHA, DHA-EE, EPA, EPA-EE e algumas de suas fragmentações associadas a diferentes mecanismos físicos.

Palavras-chave: ômega-3, DHA, DHA-EE, EPA, EPA-EE, PIXE, MeV-SIMS.

Abstract of Undergraduate Project presented to UFRGS as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Physics.

Study of omega-3 compounds by ion beam techniques

Douglas Newton Bilhalva

August/2024

Advisor: Livio Amaral

Course: Bachelor Physics

This study conducted an elemental and molecular characterization of omega-3 dietary supplements using ion beam analysis techniques. Four commercially available omega-3 supplements from Porto Alegre surrounding were analyzed. Initially, specific protocols were developed for sample preparation due to the oily nature of the materials. The research was carried out at the Ion Implantation Laboratory (LII) of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), utilizing Particle-Induced X-ray Emission (PIXE) and Megaelectron Volt Secondary-Ion Mass Spectrometry (MeV-SIMS) techniques. The results obtained allowed for the determination of the concentrations of elements present in the supplements as well as the identification of molecules of fatty acids DHA, DHA-EE, EPA, EPA-EE, and some of their fragmentations associated with different physical mechanisms.

Keywords: omega-3, DHA, DHA-EE, EPA, EPA-EE, PIXE, MeV-SIMS

Sumário

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xii
Lista de Siglas e Abreviaturas	xv
1 Introdução	1
1.1 Objetivo	2
1.1.1 Objetivo Geral	2
1.1.2 Objetivo Específico	2
1.2 Estrutura do Trabalho	3
2 Conceitos e Instrumentação	4
2.1 Ácidos Graxos	4
2.1.1 Ácidos graxos saturados	5
2.1.2 Ácidos graxos insaturados	5
2.2 Técnicas de Análise com Feixe de Íons	7
2.2.1 Acelerador de íons	7
2.2.2 Particle-Induced X-ray Emission (PIXE)	8
2.2.3 MeV-Secondary Ion Mass Spectrometry (MeV-SIMS)	13
3 Metodologia: Amostras e Medidas	17
3.1 Amostras	17
3.2 Preparação das Amostras	18
3.2.1 PIXE - Protocolo Experimental	18
3.2.2 MeV-SIMS - Protocolo Experimental	21
3.3 Medidas	24
3.3.1 Linha PIXE	24
3.3.2 Linha MeV-SIMS	26
4 Análises e Resultados	27
4.1 PIXE	27

4.1.1	Doctor First	28
4.1.2	Biogens	31
4.1.3	Neo Química	32
4.1.4	Oficial Farma	33
4.2	MeV-SIMS	36
4.2.1	Doctor First	37
4.2.2	Biogens	40
4.2.3	Neo Química	42
4.2.4	Oficial Farma	44
5	Discussão	46
5.1	PIXE	46
5.2	MeV-SIMS	48
6	Conclusão	49
	Referências Bibliográficas	52
A	Anexo A - Parâmetros Experimentais	55
A.1	Medidas PIXE	55
A.2	Medidas MeV-SIMS	56
A.2.1	Protocolo 1	56
A.2.2	Protocolo 2 - 2.500 rpm	58
A.2.3	Protocolo 2 - 5.000 rpm	59

Lista de Figuras

2.1	Nomenclatura para ácidos graxos.	4
2.2	Representação estrutural dos ácidos graxos DHA e EPA.	6
2.3	Representação estrutural dos ácidos graxos ésteres etílico DHA e EPA.	6
2.4	Esquema do acelerador Tandetron.	7
2.5	Uma representação esquemática da geração de raios X por excitação energética de partículas e os diagramas de níveis de energia correspondentes.	9
2.6	Possibilidades de desexcitação eletrônica.	10
2.7	Espectro típico de PIXE para amostra de camarão.	11
2.8	Ilustração simples de uma cascata de colisões instantâneas gerada como resultado de impacto de partículas primárias em espectrometria de massa.	13
2.9	Descrição esquemática de um instrumento TOF equipado com um reflectômetro. Íons de mesma massa, mas com energia cinética diferente passam pelo reflectômetro para compensar a diferença de energia e chegam ao detector com o mesmo tempo.	15
2.10	Espectro típico de MeV-SIMS para uma amostra de leucina.	16
3.1	Cápsulas dos suplementos ômega-3	17
3.2	Processo térmico de solidificação do óleo.	19
3.3	Amostra após 4-5 horas de tratamento térmico pronta para pastilhamento.	20
3.4	Pastilhador utilizado para a prensagem e amostra após a pastilhagem	20
3.5	Amostra do suplemento Oficial Farma pastilhada.	21
3.6	Amostras do Protocolo 1 ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.	22
3.7	Amostras do Protocolo 2 com 2.500 rpm ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.	23
3.8	Amostras do Protocolo 2 com 5.000 rpm ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.	23
3.9	Experimento PIXE. 1) pré-câmara.2) câmara de reações principal. 3) linha do feixe.	24
3.10	Porta-Amostra da técnica PIXE	25

3.11	1) espectrômetro TOF 2) câmara de reações. 3) linha do feixe.	26
3.12	Porta-Amostras da técnica MeV-SIMS	26
4.1	Reta de calibração, energia em função de canal para uma padrão de "buf-falo liver".	27
4.2	Espectro PIXE do recipiente inox utilizado no tratamento térmico.	28
4.3	Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Doctor First normalizado pela carga.	29
4.4	Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Doctor First.	29
4.5	Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Biogens normalizado pela carga.	31
4.6	Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Biogens.	31
4.7	Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Neo Química normalizado pela carga.	32
4.8	Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Neo Química.	33
4.9	Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Oficial Farma normalizado pela carga.	34
4.10	Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Doctor First.	34
4.11	Espectro de massa da face polida e não polida substrato de silício	37
4.12	Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 1	38
4.13	Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 2 - 2.500 rpm	39
4.14	Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 2 - 5.000 rpm	39
4.15	Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 1	40
4.16	Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 2 - 2.500 rpm	41
4.17	Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 2 - 5.000 rpm	41
4.18	Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 1	42
4.19	Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 2 - 2.500 rpm	43
4.20	Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 2 - 5.000 rpm	43
4.21	Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 1	44
4.22	Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 2 - 2.500 rpm	45
4.23	Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 2 - 5.000 rpm	45

Lista de Tabelas

3.1	Concentrações de EPA e DHA conforme informadas no rótulo da tabela nutricional das marcas utilizadas. *Concentração não informada no rótulo.	18
4.1	Informações sobre o canal e as energias dos raios X característicos de uma amostra padrão de "buffalo liver".	27
4.2	Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Doctor First	30
4.3	Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Biogens	32
4.4	Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Neo Química	33
4.5	Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Oficial Farma	35
4.6	Concentração elementar em partes por milhão (ppm), dos suplementos ômega-3 analisados	35
4.7	Massa para os principais ácidos graxos ômega-3	36
4.8	Principais fragmentações (em Da) das moléculas de DHA/DHA-EE e EPA/EPA-EE protonadas	36
5.1	Quantidade elementar em miligramas (mg), dos suplementos ômega-3 analisados	46
5.2	Razão entre os valores máximos e mínimos para cada elemento da Tabela 5.1	47
5.3	Quantidade máxima e mínima em miligramas (mg) de cada elemento recomendado para consumo diário	48
5.4	Nas colunas, veem-se as massas aproximadas correspondentes às fragmentações em Da. □ representa as fragmentações da molécula DHA/DHA-EE, △ indica fragmentações da molécula EPA/EPA-EE e ⊗ identifica as molécula que apresetam fragmentações de diferentes moléculas que possuem mesma razão m/z.	48

A.1	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Doctor First	55
A.2	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Biogens	55
A.3	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Neo Química	55
A.4	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Oficial Farma	56
A.5	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1	56
A.6	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 1	56
A.7	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1	56
A.8	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 1	57
A.9	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1	57
A.10	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 1	57
A.11	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1	57
A.12	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 1	57
A.13	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor Firstna face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	58
A.14	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	58
A.15	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	58
A.16	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	58
A.17	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	59
A.18	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	59
A.19	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	59

A.20	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm	59
A.21	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	60
A.22	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	60
A.23	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	60
A.24	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	60
A.25	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	60
A.26	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	61
A.27	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	61
A.28	Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm	61

Lista de Siglas e Abreviaturas

AGs ácidos graxos. 1

Da Daltons. 26

DHA ácido docosahexaenóico. 1

DHA-EE ésteres etílicos de ácido docosahexaenóico. 36

EE ésteres etílicos. 5

EPA ácido eicosapentaenóico. 1

EPA-EE ésteres etílicos de ácido eicosapentaenóico. 36

FFA ácidos graxos livres. 5

LII Laboratório de Implantação Iônica. 2

MeV-SIMS MeV-Secondary Ions Mass Spectrometry. 2

PIXE Particle-Induced X-ray Emission. 2

PUFAs ácidos graxos poliinsaturados. 5

TG triglicerídeos. 5

1 Introdução

Ácidos graxos ômega-3, como o ácido docosahexaenóico (DHA), e o ácido eicosa-pentaenóico (EPA) dentre outros, constituem um grupo de lipídios que exercem funções significativas no organismo humano. Estudos apontam vários benefícios da ingestão de ômega-3, como prevenção e tratamento de enfermidades cardiovasculares, doenças inflamatórias, infecções e redução de ocorrência de lesões, alterações imunológicas além de atuar na diminuição do declínio cognitivo (SAAVEDRA et al., 2016) (LAYÉ et al., 2018).

A presença de tais ácidos graxos são essenciais para a alimentação humana. São chamados de essenciais porque o nosso corpo não consegue produzi-los. Os ácidos graxos (AGs) ômega-3 são encontrados em concentrações mais expressivas em lipídios de peixes e animais marinhos de águas frias.

Os ácidos graxos poliinsaturados, são produzidos apenas pelas plantas e pelo fitoplâncton e são essenciais para todos os organismos superiores, incluindo mamíferos e peixes. Os ácidos graxos ômega-3 (ω -3) não podem ser interconvertidos e são nutrientes essenciais (RUSTAN; DREVON, 2005).

O óleo de peixe é uma importante fonte de nutrientes como proteínas, lipídios poliinsaturados e fosfolipídios, bem como de vários micronutrientes, vitaminas do grupo B, vitaminas A e D e minerais (P, K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu e I). Embora seja difícil determinar valores exatos de concentração para os minerais, devido à influência de diversos fatores, como espécie, ciclo biológico e porção de peixe analisada, bem como de fatores ecológicos como estação, local de desenvolvimento e disponibilidade de nutrientes (GUARDIA; GARRIGUES, 2015).

A Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a ingestão de 20-35% de gordura total, 10% de ácido graxo saturado, 15-20% de ácido graxo monoinsaturado e 6-11% de ácido graxo poliinsaturado, em relação ao consumo total de energia diária fornecida pela dieta (FATTORE; FANELLI, 2013).

Com base em inúmeros estudos relacionados aos efeitos benéficos dos ácidos graxos, nestes últimos anos vários suplementos alimentares à base de óleo de peixe ou derivados surgiram no mercado nacional e internacional. Como decorrência, vários estudos passaram a ser desenvolvidos para mensuração, caracterização e quantificação dos ácidos graxos nestes suplementos alimentares.

Por outro lado, feixe de íons vem sendo usado, há bastante tempo, para pesquisa nas áreas de Física e Materiais e, mais recentemente na caracterização de materiais orgânicos, tais como, fármacos, alimentos, ou até mesmo suplementos alimentares.

O Laboratório de Implantação Iônica (LII) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul possui um acelerador do tipo Tandatron de 3 MV, o qual possibilita várias destas técnicas de caracterização de materiais, entre as quais, encontram-se as linhas de Particle-Induced X-ray Emission (PIXE) e MeV-Secondary Ions Mass Spectrometry (MeV-SIMS). Essas duas técnicas apresentam características bastante específicas que possibilitam a caracterização elementar e molecular dos ácidos graxos ômega-3.

1.1 Objetivo

1.1.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como principal objetivo investigar e caracterizar os ácidos graxos ômega-3 em produtos comercializados como suplementos alimentares utilizando as técnicas de feixe íons do LII - IF UFRGS.

1.1.2 Objetivo Específico

Dentro desse objetivo geral, encontram-se como metas específicas:

- Desenvolver protocolo de preparação de amostras de ácidos graxos para medidas de PIXE (Particle Induced X-ray Emission) e MeV-SIMS (Megaelectron Volt Secondary Ions Mass Spectrometry);
- Medir e estabelecer comparações das concentrações elementares dos ácidos graxos em diferentes suplementos alimentares;
- Estudar mecanismos físicos fundamentais nas interações de íons - moléculas em função de energia e corrente dos feixes de íons utilizados nas técnicas PIXE e MeV-SIMS.

1.2 Estrutura do Trabalho

Esse trabalho está organizado da seguinte maneira: No capítulo 2 são apresentados conceitos e nomenclaturas sobre ácidos graxos e uma explicação sucinta sobre técnicas de análise de feixe de íons, denominadas PIXE e MeV-SIMS. No capítulo 3 é apresentada a metodologia empregada para preparação de amostras para as técnicas citadas, assim como os parâmetros experimentais das linhas do PIXE e MeV-SIMS. No capítulo 4 são apresentados os resultados obtidos no trabalho e por fim, o capítulo 5 apresenta as discussões referentes ao capítulo anterior.

2 Conceitos e Instrumentação

Este capítulo apresenta uma revisão acerca da fundamentação teórica e da definição dos conceitos e dos aspectos necessários para o entendimento do trabalho, como a compreensão do que são os ácidos graxos ômega-3, suas nomenclaturas, características e, também, uma breve apresentação sobre os aspectos fundamentais das técnicas de feixes de íons e suas aplicações.

2.1 Ácidos Graxos

Os AGs são considerados os principais componentes dos lipídios ou gorduras. Pode-se dizer que eles são a estrutura ou esqueleto da gordura, sendo parte essencial de compostos mais complexos, como fosfolipídios, ésteres de colesterol e triglicerídeos (LORENZO et al., 2022). São moléculas de longa cadeia de hidrocarbonetos com um grupo carboxilato terminal, originadas do organismo ou dos alimentos. Sua nomenclatura, estrutura e propriedades dependem do comprimento da cadeia de hidrocarbonetos, do grau de insaturação e da posição da(s) ligação(ões) dupla(s) (CABALLERO; FINGLAS; TOLDRA, 2015).

Os ácidos graxos (AGs) possuem uma estrutura composta por uma cadeia carbônica, onde uma extremidade é terminada por um grupo metila, denominado ômega (ω), e a outra extremidade é terminada por um grupo carboxila. O primeiro carbono adjacente ao grupo carboxila é chamado de carbono- α , enquanto o carbono seguinte é conhecido como carbono- β , conforme ilustrado na Figura 2.1.

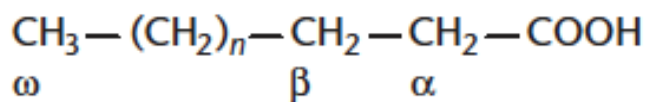


Figura 2.1: Nomenclatura para ácidos graxos.

Fonte: (RUSTAN; DREVON, 2005)

A letra n também é usada em vez da letra grega ω para indicar a posição da dupla ligação próxima da metila. A nomenclatura para os AGs também pode ser indicada pela localização de dupla ligação em referência ao grupo da carboxila.

Por exemplo o ácido esteárico é um nome para um ácido graxo saturado com 18 átomos de carbono e sem ligações duplas (18:0). O ácido oleico tem 18 átomos de carbono e uma ligação dupla na posição ω -9 (18:1 ω -9), enquanto o ácido eicosapentaenóico (EPA), com múltiplas ligações duplas, é representado como 20:5 ω -3.

2.1.1 Ácidos graxos saturados

Os AGs saturados são ácidos carboxílicos com longas cadeias hidrocarbônicas que não possuem duplas ligações. Apresentam um número par de átomos de carbono, contendo 12–22 átomos de carbono.

2.1.2 Ácidos graxos insaturados

Os AGs monoinsaturados têm uma ligação dupla carbono-carbono, que pode ocorrer em diferentes posições. Os monoinsaturados mais comuns têm um comprimento de cadeia de 16–22 e uma ligação dupla com a configuração *cis*. Nos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), a primeira ligação dupla pode ser encontrada entre o terceiro e o quarto átomo de carbono do carbono- ω . Estes são chamados de ácidos graxos ômega-3 (ω -3). Se a primeira ligação dupla estiver entre o sexto e o sétimo átomo de carbono, então eles são chamados de ácidos graxos ômega-6 (ω -6). As ligações duplas nos PUFAs são separadas umas das outras por um agrupamento metileno.

2.1.2.1 Ácidos graxos ômega-3

Os ácidos graxos ômega-3 existem em frutos do mar, especialmente em peixes de regiões frias. Ocorrem nas membranas celulares dos peixes na forma de triglicerídeos (TG) (CARLIER; BERNARD; CASELLI, 1991). As culturas alimentares de alguns povos, que, de há muito consomem regularmente peixes, têm sido estudadas e mostram os efeitos já citados sobre a saúde. E como decorrência, em anos mais recentes, para oportunizar estes efeitos sobre a saúde, aumentou-se enormemente o uso de diferentes suplementos contendo "ômegas". Entre outros, e muito significativamente, apareceram suplementos contendo ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) com elevadas taxas de DHA e EPA entre 30-90%. Em sua maioria, são encontrados na forma de ácidos graxos livres (FFA) e ésteres etílicos (EE). Os FFAs são ácidos graxos não ligados a triglicerídeos, enquanto os EEs são derivados de ácidos graxos onde o grupo carboxílico é esterificado com etanol, formando uma ligação éster (DYERBERG et al., 2010). Os suplementos alimentares de ômega-3 são obtidos de óleo de peixe e passam por processos de purificação e transformação, convertendo os ácidos graxos da forma de triglicerídeos (TG) para ácidos graxos livres (FFA) e ésteres etílicos (EE). Esses suplementos estão disponíveis em cápsulas com diferentes concentrações dos principais ácidos graxos ômega-3

docosahexaenóico (DHA) e eicosapentaenóico (EPA).

Os ácidos graxos DHA 22:6 n-3 - ($C_{22}H_{32}O_2$) e o ácido eicosapentaenóico (EPA) 20:5 n-3 - ($C_{20}H_{30}O_2$), são vistos na Figura 2.2 com respectivas massas de 328.488 Da e 302.451 Da.

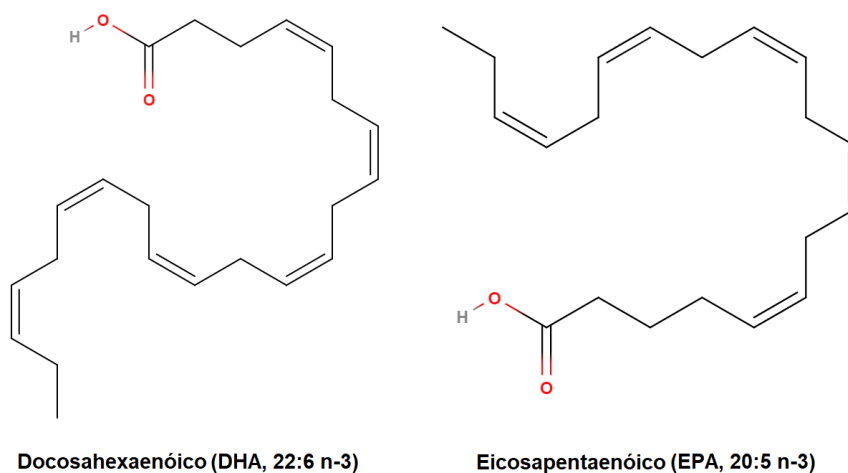


Figura 2.2: Representação estrutural dos ácidos graxos DHA e EPA.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Enquanto os ésteres etílicos com estrutura representada na Figura 2.3 do DHA 22:6 n-3 e do EPA 20:5 n-3 (DHA-EE e EPA-EE) contém respectivas massas de ($C_{24}H_{38}O_2$) - 356.534 Da e ($C_{22}H_{34}O_2$) - 330.492 Da.

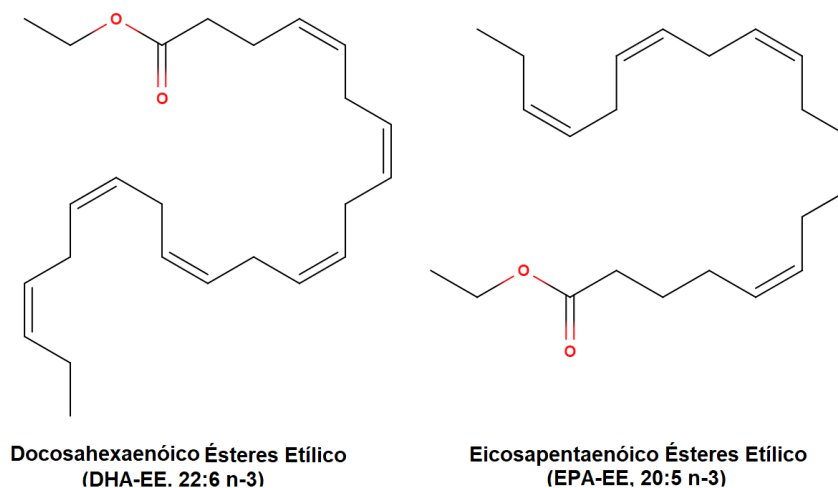


Figura 2.3: Representação estrutural dos ácidos graxos ésteres etílico DHA e EPA.

Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2 Técnicas de Análise com Feixe de Íons

As técnicas de análise com feixes iônicos são utilizadas para obter uma série de informações de constituintes de uma amostra, como sua composição elementar e molecular dentre outras. Para tanto, a amostra a ser analisada é usada como alvo para um feixe de partículas aceleradas.

As interações do feixe com o alvo ocorre por meio da ionização dos átomos que o constituem. Esse processo promoverá, entre outros, a emissão de raios-X característicos e a ejeção de moléculas, processos que são fundamentais para as técnicas de Particle-Induced X-ray Emission (PIXE) e MeV-Secondary Ion Mass Spectrometry (MeV-SIMS), respectivamente. As próximas seções terão como objetivo apresentar de forma sucinta o funcionamento do acelerador de íons em conjunto com a base das técnicas utilizadas.

2.2.1 Acelerador de íons

Os aceleradores lineares basicamente fazem uma partícula carregada seguir uma trajetória retilínea, na qual a energia final é proporcional à soma das diferenças de potencial geradas a partir dos mecanismos de aceleração dispostos ao longo da trajetória. Aceleradores de íons são constituídos essencialmente por: uma fonte geradora de íons, um sistema de análise, sistema de seleção de massa e uma unidade dedicada a aceleração. A figura 2.4 representa o acelerador Tandetron TN-4130-HC com tensão terminal de 3MV, construído pela High Voltage Engineering Europa.

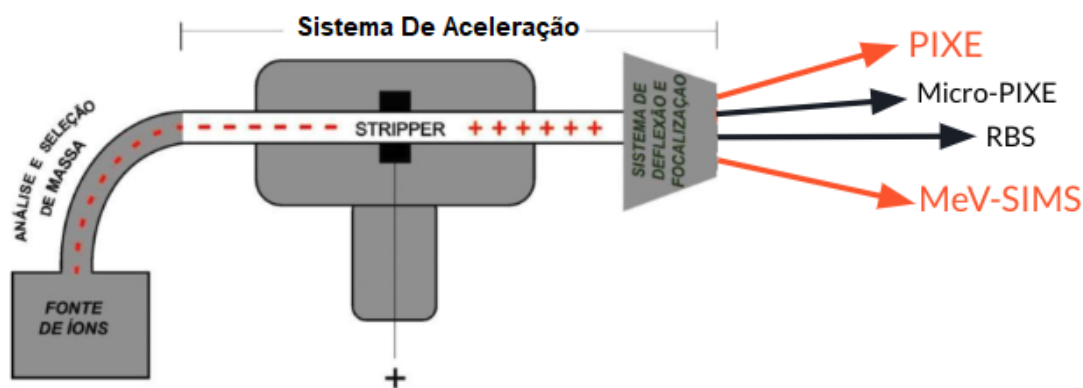


Figura 2.4: Esquema do acelerador Tandetron.

Adaptado de: (SOUZA, 2013)

2.2.1.1 Fonte de íons

Câmara onde se tem as fontes para obtenção do feixe. As fontes presentes no LII são de dois tipos: sputtering ou duoplasmatron, as quais são utilizadas de acordo com o íon a ser produzido. A fonte de sputtering consiste do bombardeio de átomos de césio em um alvo sólido, onde via sputtering ejeta íons negativos do alvo. Já no duoplasmatron, um cátodo com um filamento de platina é utilizado como fonte de elétrons que são submetidos a uma cavidade preenchida por gás de hidrogênio ou hélio, gerando H^- ou He^- .

2.2.1.2 Sistema de Seleção de Massas

Os íons gerados pelas fontes são direcionados por um potencial elétrico até o analisador de massa que consiste de um eletroímã, que seleciona apenas os íons com uma razão carga/massa desejada.

2.2.1.3 Sistema de Aceleração

A tensão máxima de operação do acelerador Tandetron do LII é de 3 MV, cujo funcionamento consiste em acelerar íons em dois estágios, sendo o primeiro estágio chamado de região baixa energia (LE) e o segundo estágio chamado de região de alta energia (HE).

O feixe de íons negativos é encaminhado para o primeiro estágio de aceleração (LE). Os íons são atraídos até o terminal de tensão positivo de 1,5 MV, ocorrendo o primeiro estágio de aceleração. No terminal, existe um trocador de cargas constituído por um gás de nitrogênio chamado de stripper. O trocador de cargas faz com que as partículas do feixe percam elétrons, tornando assim o feixe de íons carregado positivamente. Dessa forma inicia-se o segundo estágio de aceleração (HE), no qual os íons positivos são repelidos pelo potencial positivo, sendo novamente acelerados.

Tem-se finalmente, no término do segundo estágio de aceleração, um sistema de deflexão que irá direcionar o feixe até a linha da técnica que será utilizada.

2.2.2 Particle-Induced X-ray Emission (PIXE)

Um feixe de íons ao incidir em um alvo, pode, entre vários mecanismos, causar a ionização dos seus átomos constituintes. Os átomos ionizados encontram-se em um estado excitado, sendo um estado de configuração instável, assim, visando retornar à sua estabilidade energética (estado de menor energia), ocorrendo um processo de decaimento eletrônico. Para a técnica PIXE, esse decaimento ocorre pelo mecanismo de fluorescência de raios-X característicos. Entretanto, esse mesmo processo pode ocorrer também via emissão Auger, sendo este outro tipo de espectroscopia não utilizada neste trabalho.

O processo de ionização (no caso a incidência de um próton) promove a ejeção de elétrons. Assim, a vacância gerada é preenchida por elétrons de camadas mais externas.

Nessa transição eletrônica, há a liberação de um fóton de raios X, cuja energia é dada pela Equação (2.1):

$$E_{\gamma} = \Delta E \quad (2.1)$$

Onde E_{γ} é a energia do fóton emitido e ΔE a diferença entre a energia de ligação do elétron ejetado e do elétron decaído, como pode ser visto na Figura 2.5.

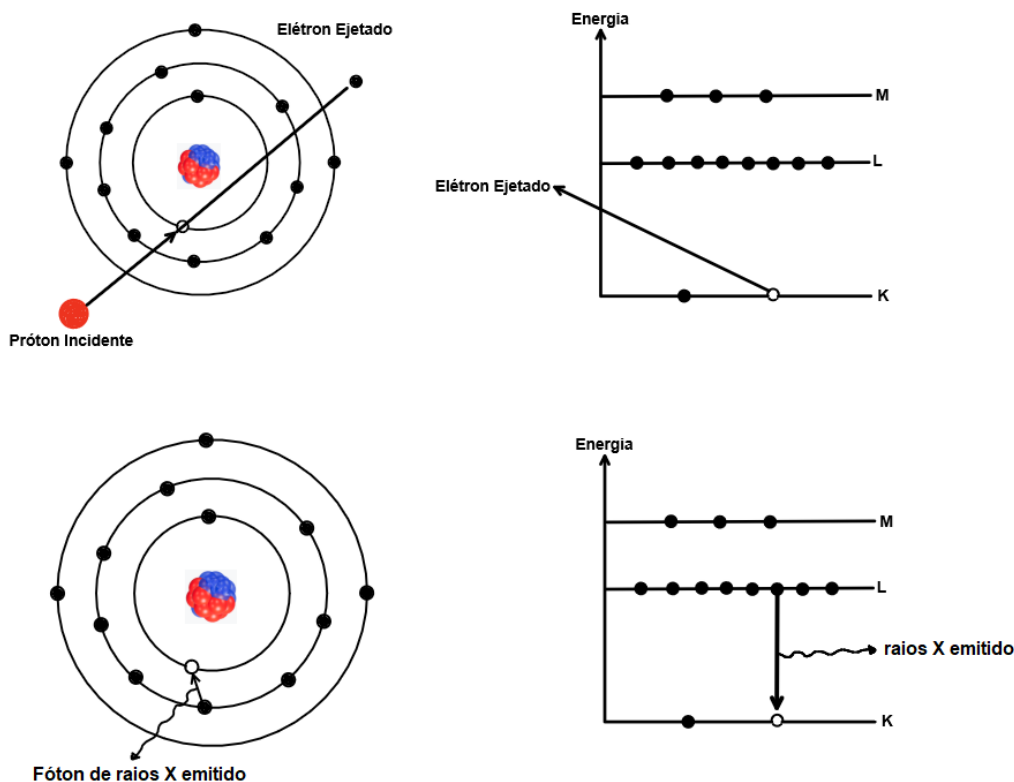


Figura 2.5: Uma representação esquemática da geração de raios X por excitação energética de partículas e os diagramas de níveis de energia correspondentes.

Adaptado de: (BASSANI; LIEDL; WYDER, 2005)

O PIXE utiliza íons com energia na ordem de MeV, e os elétrons ejetados serão majoritariamente da camada K. Visto que a energia de ligação para esses elétrons é alta, as energias ΔE geradas resultam na emissão de fótons de raios X. Sabendo que os elétrons ligados apresentam níveis de energia bem definidos, os fótons de raios X são emitidos com frequências características de cada átomo e transição eletrônica. Dessa forma, a técnica PIXE baseia-se na emissão de raios X característicos, sendo possível assim obter um espectro multielementar de uma dada amostra.

2.2.2.1 Espectro PIXE

O espectro que se obtém da técnica PIXE é composto por picos referentes aos raios X característicos e por uma curva de fundo devido ao efeito de bremsstrahlung.

2.2.2.2 Picos de Raios X Característicos

Como acima descrito, a lacuna gerada na camada K ela pode ser preenchida por um elétron proveniente da camada L, emitindo a correspondente linha de raios X conhecida como linha K_{α} . Por outro lado, se o átomo contém elétrons suficientes, a lacuna na camada K pode ser preenchida por um elétron vindo do nível M, que é acompanhado pela emissão da linha K_{β} . Os íons no estado L ou M que permanecem também podem dar origem à emissão se as lacunas de elétrons forem preenchidas por elétrons caindo de órbitas mais distantes (GRIEKEN; MARKOWICZ, 2001). Na Figura 2.6 encontram-se algumas possibilidades de emissão de raio-X com as respectivas nomenclaturas.

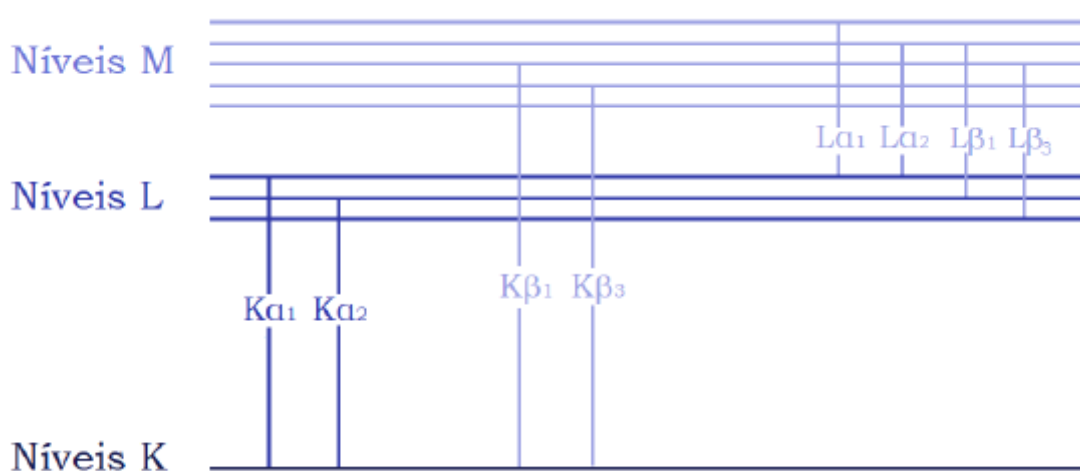


Figura 2.6: Possibilidades de desexcitação eletrônica.

Fonte: (SOUZA, 2023)

2.2.2.3 Radiação de Fundo

Um espectro PIXE apresenta como característica a presença de uma radiação de fundo, conhecida como bremsstrahlung, um processo resultante da emissão de partículas carregadas quando são aceleradas. No PIXE esse processo é proveniente dos elétrons secundários que são gerados no processo de ionização. Na Figura 2.7 é apresentado um exemplo típico de espectro PIXE. Os picos identificam os elementos químicos existentes no material e, suas intensidades, as quantidades relativas deles. Neste espectro (típico) pode-se notar que os picos na região entre ~ 8 e 16 keV tem contagem da ordem da dezena, enquanto entre 0 e ~ 8 keV os valores são pelo menos uma ordem de grandeza maior, justamente devido ao efeito de bremsstrahlung.

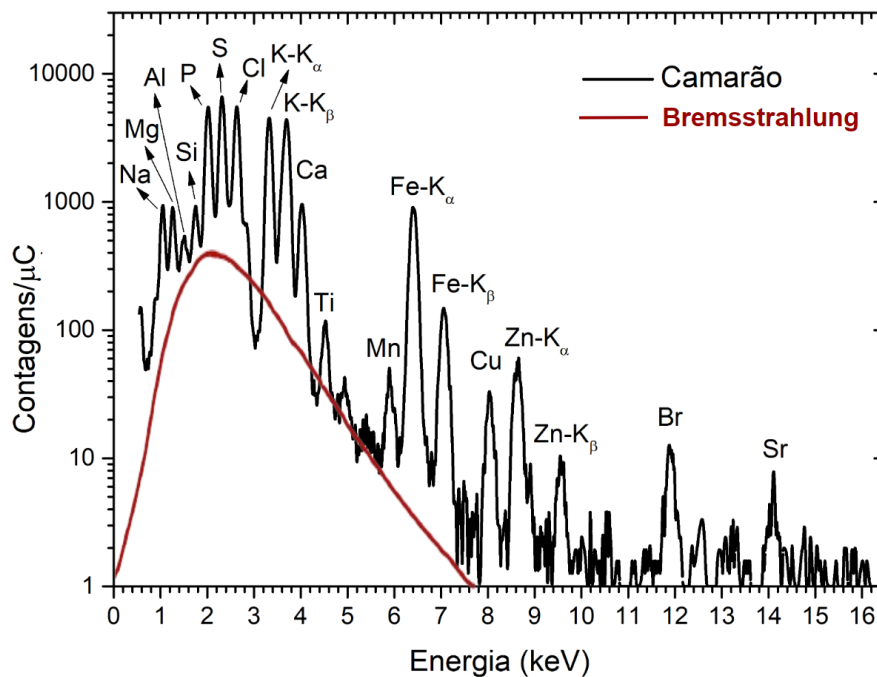


Figura 2.7: Espectro típico de PIXE para amostra de camarão.

Fonte: elaborado pelo autor

2.2.2.4 Concentração Elemental

A técnica de PIXE é amplamente reconhecida por sua versatilidade e eficiência na análise elemental. Ela permite não apenas a obtenção de um espectro multielementar, mas também fornece informações qualitativas e quantitativas sobre a composição elemental da amostra. Isso ocorre porque a intensidade dos picos no espectro de raios X é diretamente proporcional à quantidade de cada elemento presente na amostra.

Considerando que a trajetória do feixe de íons dentro da amostra é retilínea, a perda de energia pode ser atribuída exclusivamente à interação dos íons com os elétrons. Assim, para um material composto por uma matriz elemental (M), o poder de freamento (S_M) pode ser expresso pela Equação (2.2):

$$S_M(E) = \frac{1}{\rho} \frac{dE}{dx} \quad (2.2)$$

onde ρ é a densidade do material e $\frac{dE}{dx}$ é a energia perdida por unidade de distância através do alvo.

O número de vacâncias geradas pelo feixe de íons (N_X) em uma dada camada (X) de elemento com número atômico Z pode ser determinado pela Equação (2.3):

$$dN_X = \frac{N_p N_{av} C_Z \sigma_Z(E)}{A_Z S_M(E)} \quad (2.3)$$

onde N_p é o número de íons incidindo na amostra, N_{av} é o número de Avogadro, C_Z é a concentração do elemento Z no material, $\sigma_Z(E)$ é a seção de choque de ionização e A_Z é a massa do elemento Z. A partir da Equação (2.3), é possível determinar o número de fótons de raios X gerados pelo processo de transição eletrônica. No entanto, como discutido anteriormente, nem toda transição resulta na emissão de raios X, e nem todos os fótons gerados serão efetivamente detectados. Considerando esses dois fatores, é possível calcular a área do pico correspondente ao elétron ejetado da linha X do elemento Z, conforme descrito pela Equação (2.4):

$$Y(Z) = \frac{N_{av}\omega_Z t_Z b_Z \epsilon_Z}{A_Z} \frac{\Omega}{4\pi} N_p C_Z \int_{E_0}^{E_f} \frac{\sigma_Z(E) T_Z(E)}{S_M(E)} dE \quad (2.4)$$

onde ω_Z é o rendimento de fluorescência da linha X para o elemento Z, b_Z é a fração de intensidade entre raios-X referente às transições alfa e beta, t_Z é a taxa de transmissão dos raios-X através de qualquer absorvedor entre a amostra e o detector, ϵ_Z é a eficiência do detector, Ω é o ângulo sólido do detector e T_Z é a taxa de transmissão dos raios-X. A Equação (2.4) apresenta um alto grau de complexidade para ser resolvida de forma analítica. Por essa razão, são utilizados softwares de análise que conseguem estimar a área teórica esperada para um sinal de PIXE de um determinado elemento. Assim, a Equação (2.4) pode ser reescrita de forma simplificada, resultando na Equação (2.5):

$$Y(Z) = Y_t(Z) C_Z f_q Q t_Z \epsilon_Z \Omega = Y_t(Z) C_Z t_Z H \epsilon_Z \quad (2.5)$$

onde Y_t é o número de contagens de raios-X, Q é a carga depositada sobre a amostra pelo feixe de íons e f_q é o fator de conversão de carga absoluta. Os fatores Q, Ω e f_q são agrupados em um fator de padronização (H). O mesmo é determinado a partir de medidas de padrões com concentrações conhecidas.

2.2.3 MeV-Secondary Ion Mass Spectrometry (MeV-SIMS)

Secondary ion Mass spectrometry (SIMS) é uma técnica capaz de detectar diferentes fragmentos de massa extraídos de uma dada amostra. Isso ocorre quando um feixe de íons (primários) com energias de keV atinge a superfície da amostra e a energia transferida pelas partículas incidentes causa uma cascata de colisões, como pode ser visto na Figura 2.8, a qual é acompanhada por processos de transferência de energia e interação eletrônica na região superficial do alvo. Isso resulta na emissão de elétrons, átomos e moléculas. Enquanto no SIMS os íons a serem analisados pelo analisador de massa são ejetados por um feixe com energia de algumas dezenas de keV, no MeV-SIMS usa-se um feixe com energia de vários MeV, o que dá origem à sigla dessa técnica. A maior energia do feixe primário resulta em uma ionização mais eficiente e uma menor danificação da superfície da amostra. Isso permite a ejeção de uma maior quantidade de íons secundários, inclusive moléculas maiores e íons complexos.

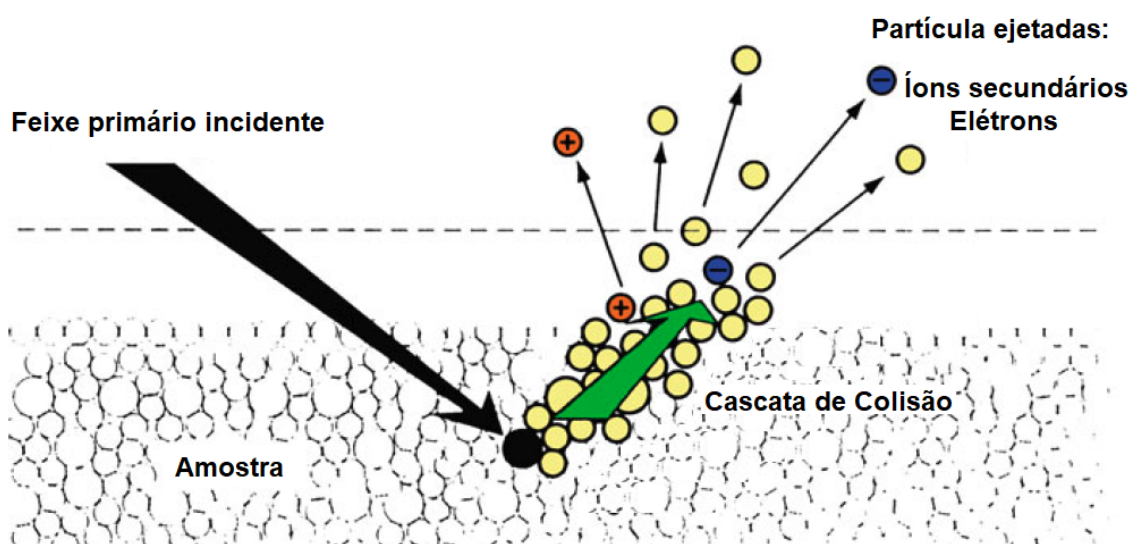


Figura 2.8: Ilustração simples de uma cascata de colisões instantâneas gerada como resultado de impacto de partículas primárias em espectrometria de massa.

Adaptado de: (GROSS, 2018)

2.2.3.1 Geração de íons secundários

A geração de íons secundários é feita por sputtering como resultado do bombardeio de íons primários fornecendo diversas espécies de íons. As espécies variam de íons monoatômicos de vários estados de carga a aglomerados multiatômicos e eventualmente íons moleculares (GROSS, 2018).

2.2.3.2 Analisador de massa por tempo de voo (TOF)

As partículas pulverizadas da amostra irão formar uma nuvem de partículas próximas à superfície da amostra (SOM; KANJILAL, 2012). Os íons secundários que compõem a nuvem serão direcionados ao espectrômetro por tempo de voo (TOF¹) devido a diferença de potencial aplicada entre o porta-amostras e a entrada do analisador de massa. A resolução de massa no MeV-SIMS é obtida com base no tempo que os íons secundários levam para percorrer no espectrômetro de tempo de voo, que depende das suas razões massa/carga (m/z). Ao aplicar a diferença de potencial sobre o porta-amostra, é dada uma energia às partículas ejetadas da amostra. A energia cinética de um íon acelerado por um potencial elétrico V é dada pela Equação (2.6)

$$T = zV \quad (2.6)$$

onde T é a energia cinética da partícula, z a carga da partícula e V a tensão aplicada.

A velocidade é dada por $v = \frac{L}{\Delta t}$ onde L é a distância percorrida pelo fragmento dentro do espectrometro e Δt o tempo medido. Dessa forma,

$$\frac{1}{2}m \frac{L^2}{\Delta t^2} = zV \quad (2.7)$$

Portanto, a razão m/z (Equação 2.8) possibilita determinar diferentes massas de íons que chegam ao detector.

$$\frac{m}{z} = \frac{2V}{L^2} \Delta t^2 \quad (2.8)$$

Devido ao pulso de extração, íons de mesma massa podem apresentar diferentes velocidades. Portanto, o tempo registrado para uma mesma partícula será diferente, ocasionando uma dispersão maior na resolução em massa. Uma forma de reverter isso é posicionando ao final do espectrômetro um reflectômetro que consiste em uma pilha de eletrodos fixados por espaçadores de cerâmica.

O seu funcionamento pode ser visto na Figura 2.9. Sua função consiste em compensar a diferença de tempo percorrido por partículas de mesma massa aplicando campo elétrico entre as placas do reflectrômetro, permitindo que íons façam a volta e sejam direcionados em direção ao detector.

Quanto maior a energia cinética da partícula, maior será sua penetração ao longo do reflectrômetro, fazendo com que percorra um caminho levemente mais longo em direção ao detector. Essa compensação faz com que íons de mesma massa cheguem ao detector em um mesmo tempo, diminuindo a dispersão da resolução em massa.

¹Time-of-flight

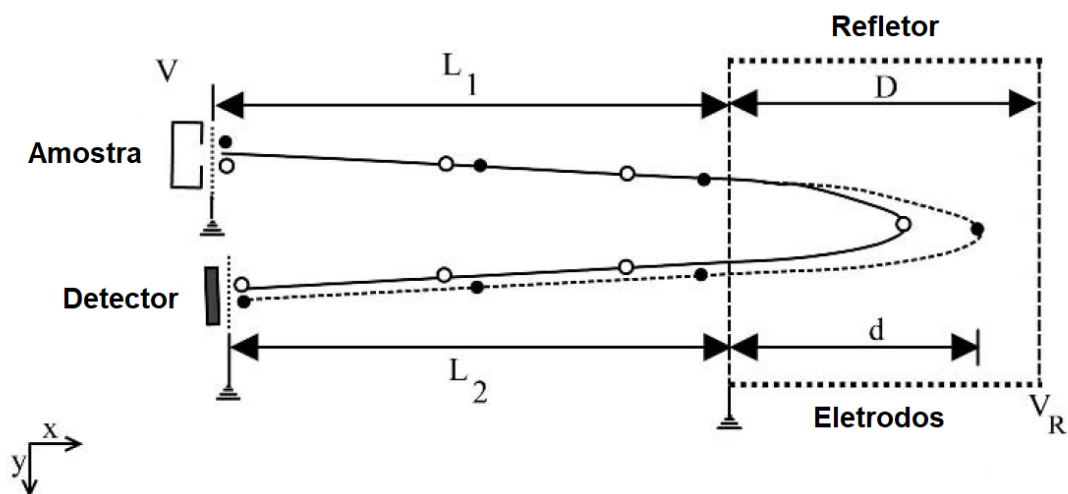


Figura 2.9: Descrição esquemática de um instrumento TOF equipado com um refletor. Íons de mesma massa, mas com energia cinética diferente passam pelo refletor para compensar a diferença de energia e chegam ao detector com o mesmo tempo.

Adaptado de: (HOFFMANN; CHARETTE; STROOBANT, 1996)

2.2.3.3 Espectro MeV-SIMS

O espectro que se obtém da técnica MeV-SIMS apresenta picos referentes à massa de cada composto (molécula) em função da relação m/z e a intensidade dos mesmos é relacionada às respectivas contagens. A Figura 2.10 apresenta o espectro característico de uma amostra padrão de leucina. O espectro revela uma grande quantidade de picos, alguns dos quais podem ser bem identificados e correspondem aos compostos (moléculas) assinaladas.

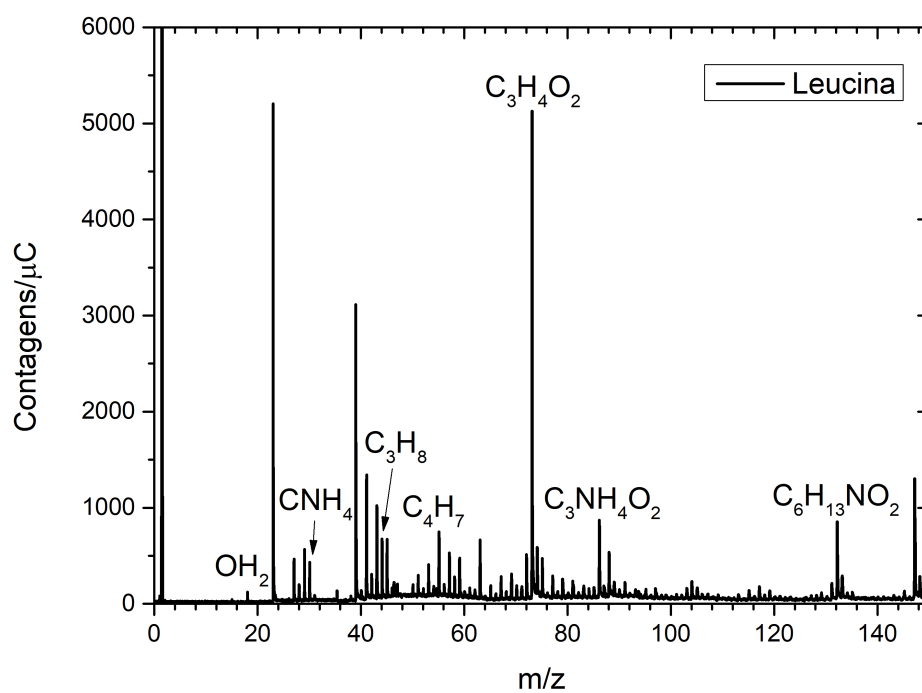


Figura 2.10: Espectro típico de MeV-SIMS para uma amostra de leucina.
Fonte: elaborado pelo autor.

3 Metodologia: Amostras e Medidas

Foram analisadas diferentes marcas de suplementos alimentares ômega-3 com a finalidade de realizar sua caracterização e comparação entre eles.

Foram feitas medidas de PIXE e MeV-SIMS das seguintes marcas de suplementos alimentares ômega-3: Doctor Firts, Biogens, Neo Química e Oficial Farma.

Ao longo deste capítulo, será apresentada a metodologia utilizada para os protocolos de preparação das amostras para as diferentes medidas realizadas.

3.1 Amostras

Os suplementos alimentares ômega-3 utilizados para caracterização foram adquiridos no varejo. A marca Doctor Firts e Biogens apresentam o selo MEG-3, emitido pela Ocean Nutrition Canada (ONC). O selo MEG-3 é uma certificação que indica a presença do ácido graxo ômega-3 EPA e DHA nos produtos. Por outro lado, as marcas Neo Química e Oficial Farma não exibem nenhum selo de certificação em relação à presença de ácidos graxos ômega-3.

Esses suplementos são compostos por pequenas cápsulas de gel preenchidas com óleo de peixe, enquanto o suplemento da Oficial Farma está na forma de pó, como pode ser visto na Figura 3.1.

Os suplementos de ômega-3 são geralmente comercializados em duas variações de



(a) Suplemento em óleo de peixe



(b) Suplemento em pó

Figura 3.1: Cápsulas dos suplementos ômega-3

Fonte: elaborado pelo autor

concentração, tanto de DHA quanto de EPA. Os mais comuns informam na tabela nutricional do rótulo a porção de 3 cápsulas com concentração de 540mg de EPA e 360mg de DHA, ou vice-versa. Além disso, é possível encontrar produtos que informam conter, em uma porção de 2 cápsulas, a concentração de 400mg de EPA e 1000mg de DHA, ou o contrário. A seguir, estão os valores das concentrações de DHA e EPA em miligramas para uma cápsula de suplemento de cada marca, conforme apresentado na Tabela: 3.1

Tabela 3.1: Concentrações de EPA e DHA conforme informadas no rótulo da tabela nutricional das marcas utilizadas.

*Concentração não informada no rótulo.

Marcas	1 cápsula	
	Concentração (mg)	
	DHA	EPA
Doctor First	500	200
Biogens	200	500
Neo Química	120	180
Oficial Farma*	-	-

Fonte: elaborado pelo autor.

3.2 Preparação das Amostras

Cada técnica possui particularidades próprias, incluindo configurações experimentais específicas e princípios físicos distintos. Portanto, para a caracterização do ômega-3, foi necessário desenvolver um método específico para a preparação das amostras. Até onde se conhece na literatura da área, não existe um método bem estabelecido.

3.2.1 PIXE - Protocolo Experimental

As amostras devem ser secas e autossustentáveis para serem colocadas nas câmaras de reação das técnicas, que operam em vácuo. Para isso, ao lidar com materiais na forma líquida, foi adotado um tratamento térmico com o objetivo de evaporar a parte líquida e solidificar o óleo, garantindo que as amostras atendam a essas condições.

O óleo foi colocado em um recipiente específico de alumínio, a fim de evitar contaminação, e suspenso por uma haste para ser aquecido por um soprador térmico, conforme ilustrado na Figura 3.2.



Figura 3.2: Processo térmico de solidificação do óleo.

Fonte: elaborado pelo autor

A amostra foi deixada a uma distância de aproximadamente 10 cm do soprador por um período médio de 4 a 5 horas. Utilizando um termômetro infravermelho, a temperatura medida no centro do recipiente variou entre 180°C e 200°C.

Nos primeiros minutos de aquecimento, o óleo começa a fritar, emitindo um odor intenso de peixe e escurecendo. Após aproximadamente 1 hora de aquecimento, o óleo começa a solidificar na região das paredes do recipiente, enquanto no centro adquire uma consistência semelhante a gel. Observou-se que cada marca de ômega-3 solidificou em diferentes intervalos de tempo, variando em torno de 4 a 5 horas. É crucial encerrar o processo térmico assim que o óleo atinge um ponto específico, pois, caso contrário, o óleo pode queimar completamente. Isso comprometeria a integridade da amostra, dificultando sua prensagem e comprometendo sua capacidade de ser autossustentável. Portanto, é fundamental para este protocolo o monitoramento constante do processo térmico para retirar a amostra no momento adequado. Esse ponto é alcançado quando a amostra atinge uma consistência semelhante à de "caramelo cristalizado", como ilustrado na Figura 3.3



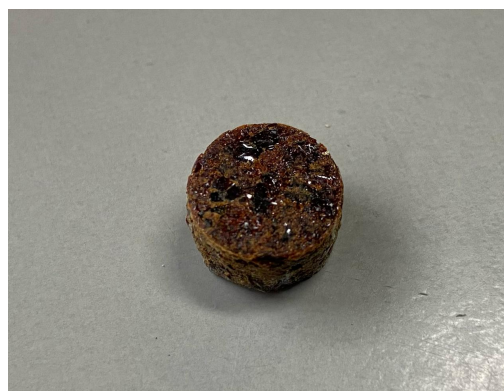
Figura 3.3: Amostra após 4-5 horas de tratamento térmico pronta para pastilhamento.

Fonte: elaborado pelo autor

Em seguida, a amostra é retirada do recipiente e colocada em uma cumbuca de porcelana para ser moída e posteriormente prensada em pastilhas compactas. Utilizou-se um pastilhador de alumínio com 13 mm de diâmetro para este processo (Figura 3.4a). A amostra pronta do suplemento ômega-3 pode ser vista na Figura 3.4b.



(a) Pastilhador



(b) Amostra após processo térmico e pastilhada.

Figura 3.4: Pastilhador utilizado para a prensagem e amostra após a pastilhagem

Fonte: elaborado pelo autor

Para o ômega-3 da Oficial Farma, que é vendido na forma de pó, a forma mais prática de preparação foi a prensagem direta do material em pastilhas, de maneira similar ao procedimento realizado com o óleo após o tratamento térmico. A amostra finalizada pode ser vista na Figura 3.5.



Figura 3.5: Amostra do suplemento Oficial Farma pastilhada.

Fonte: elaborado pelo autor

3.2.2 MeV-SIMS - Protocolo Experimental

Para o MeV-SIMS, a espessura do alvo é o fator mais crucial na preparação das amostras. A Equação (2.8) descrita no capítulo 2 referente à razão massa/carga (m/z) não leva em consideração a resistência do material analisado. Consequentemente, toda a diferença de potencial do pulso de extração é convertida em energia cinética para os íons secundários ejetados da amostra. Portanto, no caso de isolantes muito espessos, a eficiência do pulso de extração é significativamente reduzida, pois a tensão consumida pelo isolante diminui substancialmente a energia transferida aos íons secundários gerados no processo de sputtering, impossibilitando a medição por MeV-SIMS.

Considerando isto, é necessário que o alvo seja o mais fino possível. Para isso, protocolos anteriores para amostras com material sólido preparadas para essa técnica (SOUZA, 2023), mostram que a melhor metodologia é depositar a amostra sobre um substrato de silício.

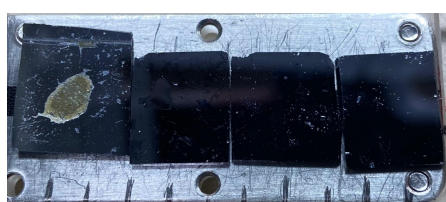
Para amostras em óleo, foi necessário testar diferentes regimes de deposição sobre o substrato de silício, a fim de determinar o melhor protocolo de preparação para esse tipo de amostra. Foram testados dois protocolos para preparação das amostras do suplemento ômega-3. A primeira metodologia consistiu em simplesmente gotejar o conteúdo no substrato, enquanto a segunda metodologia utilizou spin coating para a deposição, empregando diferentes regimes de rotação. Nos dois protocolos, as amostras foram deixadas para secar à temperatura ambiente por um período de três dias antes da medição. Para o suplemento de ômega-3 em pó, foi preparada uma solução contendo 6 mg de pó dissolvidos em 1 ml de álcool isopropílico, utilizada para deposição do material em pó no substrato.

Para os dois protocolos, foram preparadas duas amostras de cada suplemento ômega-3: uma na face polida e outra na face não polida do substrato de silício, a fim de determinar em qual superfície o óleo apresenta melhor aderência na deposição. A seguir, serão

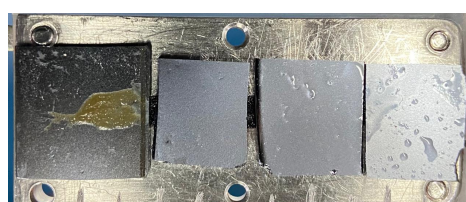
discutidos em detalhes como cada deposição foi realizada.

3.2.2.1 Protocolo 1: Drop Casting

O protocolo consistiu em gotejar diretamente o suplemento à base de óleo e a solução do suplemento em pó sobre o substrato de silício. A Figura 3.6 mostra as amostras prontas, onde na Figura 3.6a estão as amostras depositadas na face polida do substrato, e na Figura 3.6b estão as amostras depositadas na face não polida do substrato. Em todos os protocolos, o óleo e a solução do pó foram gotejados diretamente no substrato sem um controle rigoroso da quantidade aplicada, mas tomando cuidado para aplicar apenas uma gota no substrato.



(a) Protocolo 1 - Face Polida



(b) Protocolo 1 - Face não Polida

Figura 3.6: Amostras do Protocolo 1 ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.

Fonte: elaborado pelo autor

Apesar de a solução do suplemento em pó ter sido distribuída uniformemente sobre o substrato, com a evaporação do solvente, o material em pó se aglutinou predominantemente na região central do substrato. Observa-se também que a face não polida do substrato reteve uma quantidade maior do óleo em comparação com a face polida.

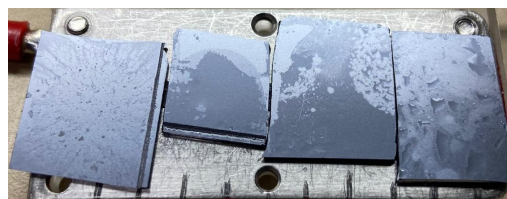
3.2.2.2 Protocolo 2: Spin Coating a 2500 rpm

A rotação foi ajustada para 2.500 rpm durante 30 segundos. Nos primeiros 15 segundos, a velocidade de rotação aumentou de 0 até 2.500 rpm, com uma aceleração de 166,666 rpm/s, sendo mantida constante em 2.500 rpm pelos 15 segundos restantes. A Figura 3.7 mostra as amostras prontas, onde na Figura 3.7a estão as amostras depositadas na face polida do substrato, e na Figura 3.7b estão as amostras depositadas na face não polida do substrato.

A Figura 3.7b mostra que a face não polida aparenta ter fixado uma maior quantidade de óleo durante a deposição. Para o suplemento em pó, nesse regime de rotação, a maior parte do material foi expelida para fora do substrato, restando uma pequena quantidade de maneira mais homogênea em comparação com o protocolo anterior.



(a) Protocolo 2 - Face Polida - 2.500 rpm



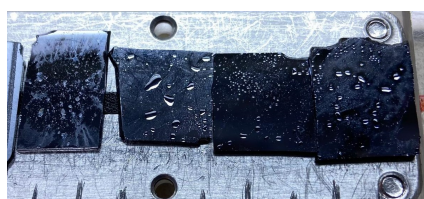
(b) Protocolo 2 - Face não Polida - 2.500 rpm

Figura 3.7: Amostras do Protocolo 2 com 2.500 rpm ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.

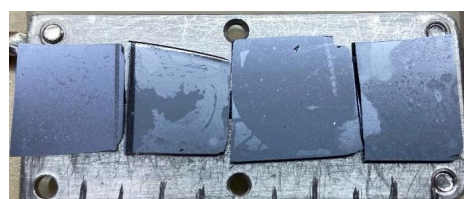
Fonte: elaborado pelo autor

3.2.2.3 Protocolo 2: Spin Coating a 5.000 rpm

Para essa variação do protocolo 2, a rotação foi ajustada para 5.000 rpm durante 30 segundos. Nos primeiros 15 segundos, a velocidade aumentou de 0 até 5.000 rpm, com uma aceleração de 333,333 rpm/s, sendo mantida constante em 5.000 rpm pelos 15 segundos restantes. A Figura 3.8 mostra as amostras prontas, onde na Figura 3.8a estão as amostras depositadas na face polida do substrato, e na Figura 3.8b estão as amostras depositadas na face não polida do substrato.



(a) Protocolo 2 - Face Polida - 5.000 rpm



(b) Protocolo 2 - Face não Polida - 5.000 rpm

Figura 3.8: Amostras do Protocolo 2 com 5.000 rpm ordenadas da esquerda para direita como Oficial Farma, Neo Química, Biogens e Doctor First.

Fonte: elaborado pelo autor

A Figura 3.8a mostra que a face polida do substrato apresenta gotículas de óleo, indicando uma maior quantidade de óleo depositada em comparação com os métodos citados acima. Já na face não polida, a fixação do óleo permaneceu semelhante aos métodos anteriores. Para o suplemento em pó, os resultados foram muito semelhantes aos obtidos com o regime de rotação de 2.500 rpm.

3.3 Medidas

3.3.1 Linha PIXE

A linha PIXE (Figura 3.9) contém uma pré-câmara onde insere-se o ladder¹ (3.10), e aplica-se vácuo na câmara até se atingir a pressão de 10^{-3} mbar. As amostras então são encaminhadas à câmara de reações principal, na qual as medidas são iniciadas tão logo atinge-se a pressão de 10^{-6} mbar. As medidas são realizadas com feixe de próton de 2 MeV de energia. O detector utilizado é do tipo Si(Li), localizado a 45° em relação ao feixe.

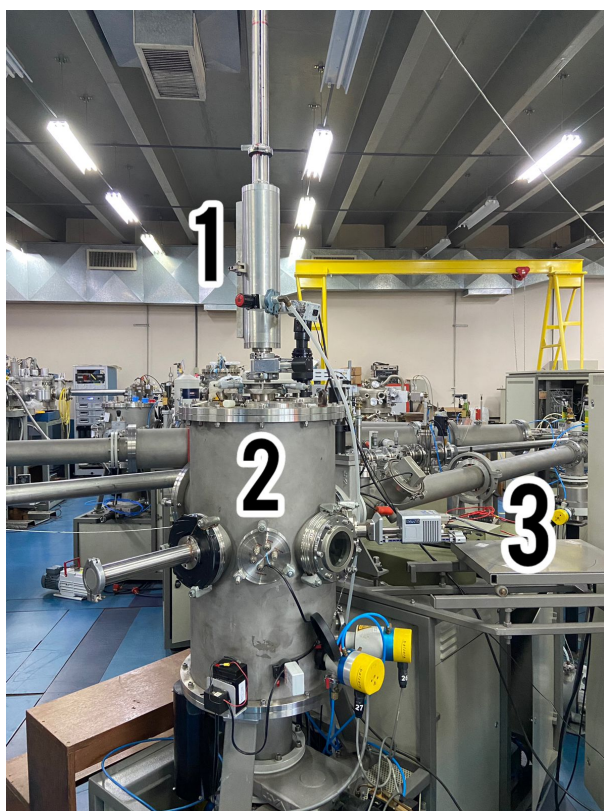


Figura 3.9: Experimento PIXE. 1) pré-câmara. 2) câmara de reações principal. 3) linha do feixe.

Fonte: elaborado pelo autor

¹Porta-Amostra utilizado no PIXE



Figura 3.10: Porta-Amostra da técnica PIXE

Fonte: elaborado pelo autor

Os raios-X característicos provenientes das amostras chegam ao detector e geram um sinal de corrente proporcional à sua energia. Todo detector possui um intervalo de tempo necessário para realizar o processamento do fóton em sinal elétrico. Nesse intervalo, o mesmo fica impossibilitado de detectar outros fótons. Esse intervalo é chamado de tempo morto. Durante o experimento é considerado como satisfatório uma medida que apresente tempo morto menor que 10% para que o resultado não fique prejudicado.

O sinal gerado é amplificado e direcionado a um analisador multicanal, que classifica o pulso elétrico em 1.024 canais. Com isso, é possível relacionar canal com energia de raios X, e com isso gerar um espectro de contagens em função da energia em keV. Dessa forma, os raios-X detectados são de 1 keV a 17 keV, o que permite identificar elementos do sódio até o urânio. As análises são realizadas utilizando o software GUPIXWIN (UNIVERSITY OF GUELPH, 2024), que possibilita obter resultados quantitativos sobre a concentração elementar das amostras.

3.3.2 Linha MeV-SIMS

Na linha de MeV-SIMS não há uma pré-câmara, como pode ser visto na Figura 3.11.

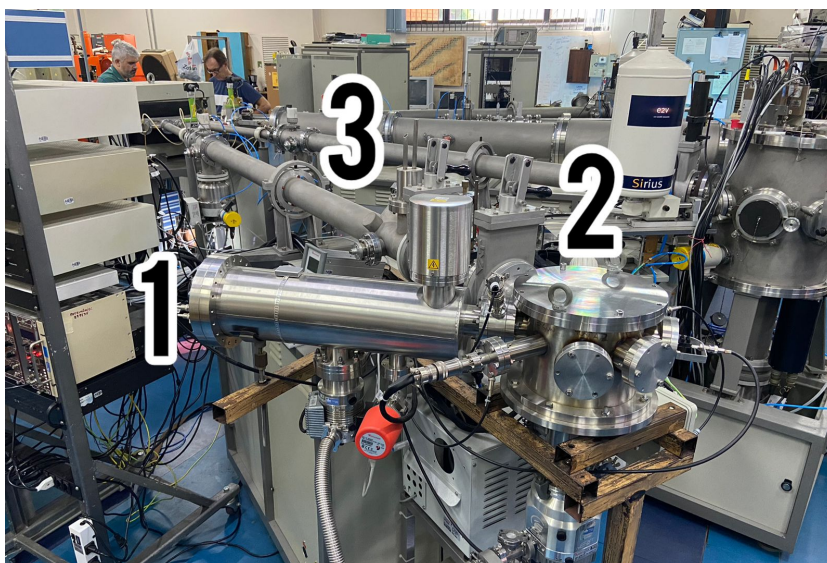


Figura 3.11: 1) espectrômetro TOF 2) câmara de reações. 3) linha do feixe.

Fonte: elaborado pelo autor

Portanto, toda vez que o porta amostra (Figura 3.12) é trocado, o vácuo precisa ser completamente refeito na câmara de reações, o que é um fator bastante limitante quanto à quantidade de medidas que podem ser feitas pela técnica. O sistema só é ativado e assim as medidas só podem ser iniciadas quando atinge-se um vácuo menor ou igual à $2 \cdot 10^{-6}$ mbar, devido a aplicação de uma tensão de 2 kV sobre o porta-amostra e o analisador de massa. Essa tensão fornece a energia para que os íons secundários ejetados do alvo cheguem até o analisador de massa. O feixe utilizado na técnica é de Cu^{4+} com 6 MeV de energia, mas se necessário a energia pode ser variada. O equipamento no laboratório está configurado para detectar partículas com massas de 1 a 951 Daltons (Da).

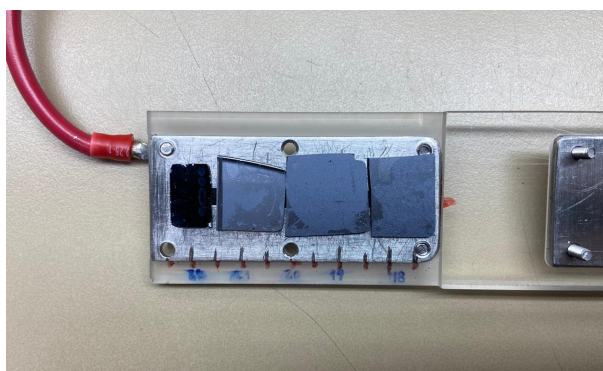


Figura 3.12: Porta-Amostras da técnica MeV-SIMS

Fonte: elaborado pelo autor

4 Análises e Resultados

4.1 PIXE

Uma amostra padrão de "buffalo liver" foi usada para calcular a reta de calibração para o espectro PIXE. Na Tabela 4.1 observam-se os dados utilizados na realização da calibração em energia.

Tabela 4.1: Informações sobre o canal e as energias dos raios X característicos de uma amostra padrão de "buffalo liver".

Elemento	Canal	Energia (keV)
Si	105.66	1.73
S	141.63	2.31
Ti	279.38	4.52
Zn	533.94	8.62

A Figura 4.1 apresenta a reta de calibração para as medidas PIXE dos suplementos ômega-3:

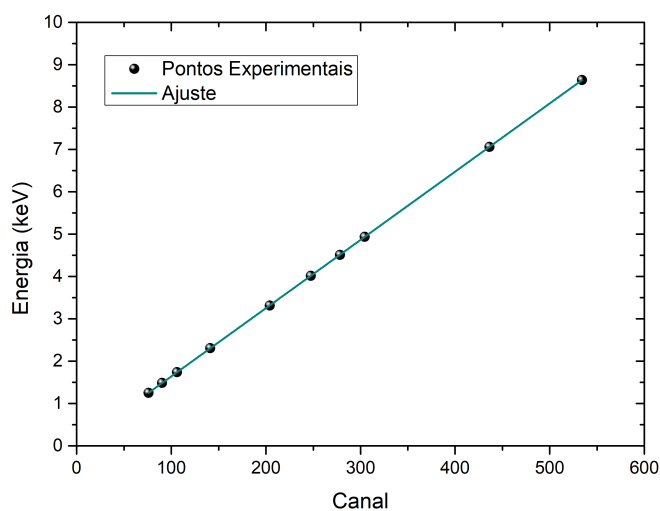


Figura 4.1: Reta de calibração, energia em função de canal para uma padrão de "buffalo liver".

Fonte: elaborado pelo autor

A matriz das amostras foi considerada composta por 79.19% de C e 20.81% de O (SOUZA, 2023). A análise de quantificação dos elementos químicos foi feita através do software GUPIX (GUPIX Development Team, 2024).

Inicialmente, foi realizada uma análise PIXE do suporte de inox utilizado no tratamento térmico do óleo para identificar os elementos presentes e detectar possíveis contaminações que poderiam afetar a amostra ao longo do processo de solidificação do óleo. Como mostrado na Figura 4.2, o recipiente de inox, como era de se esperar, apresenta principalmente elementos como Fe e Cr. Dado que esses elementos também podem ser encontrados nas medidas dos suplementos, é crucial considerar a possibilidade de contaminação proveniente do recipiente ao analisar suas concentrações elementares.

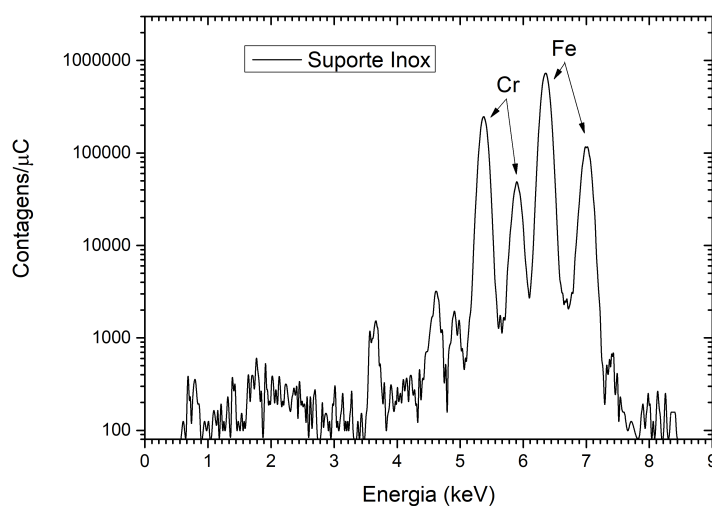


Figura 4.2: Espectro PIXE do recipiente inox utilizado no tratamento térmico.

Fonte: elaborado pelo autor

Os parâmetros experimentais envolvidos nas medidas PIXE encontram-se no Anexo A.

4.1.1 Doctor First

O primeiro suplemento a ser analisado foi o suplemento ômega-3 da marca Doctor First. A Figura 4.3 apresenta o espectro PIXE da amostra Doctor First:

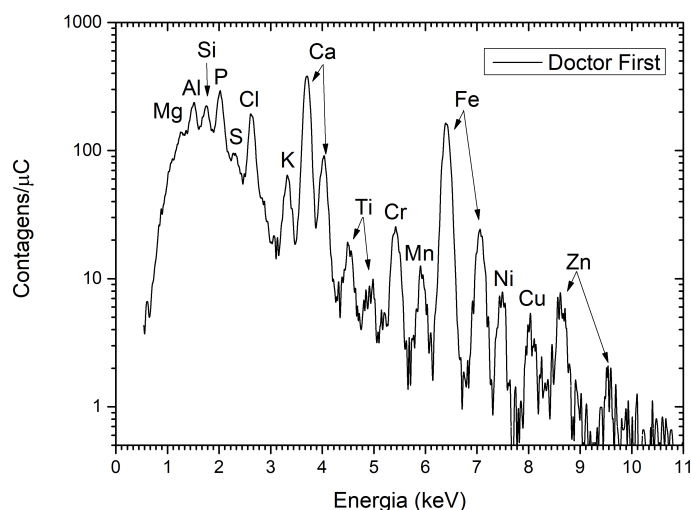


Figura 4.3: Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Doctor First normalizado pela carga.
 Fonte: elaborado pelo autor

A Figura 4.4 apresenta o limite de detecção de todos elementos detectados na amostra de suplemento Doctor First:

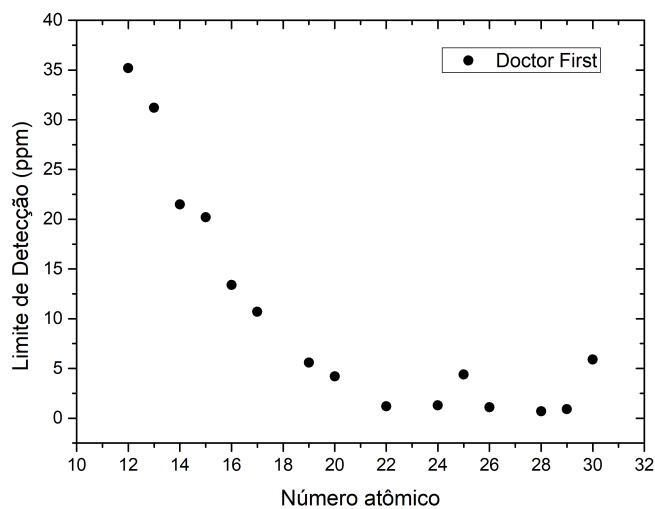


Figura 4.4: Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Doctor First.

Fonte: elaborado pelo autor

O comportamento do limite de detecção em função do número atômico ilustra a eficiência da técnica PIXE em detectar diferentes elementos. A Figura 4.4 revela que o limite de detecção tende a diminuir com o aumento do número atômico até aproximadamente o número atômico 23 (vanádio), depois do qual se estabiliza ou aumenta levemente.

Isso indica que, para elementos mais leves, é mais difícil alcançar limites de detecção baixos em comparação com elementos mais pesados. Para elementos com números atômicos entre 22 (titânio) e 28 (níquel), os limites de detecção são particularmente baixos, variando entre 5 e 10 ppm. Esses elementos são mais facilmente detectáveis com precisão elevada. Elementos com números atômicos menores que 14 (Alumínio, Magnésio e Sódio) apresentam limites de detecção mais altos, em torno de 20-35 ppm, o que sugere que a detecção desses elementos é mais desafiadora com as condições de análise usadas.

A Tabela 4.2 explicita as concentrações da amostra do suplemento Doctor First:

Tabela 4.2: Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Doctor First

Elemento	Concentração
Mg	86.9
Al	322.3
Si	220.2
P	317.8
S	63.2
Cl	336.7
K	88.4
Ca	553.1
Ti	9.6
Cr	11.1
Mn	4.4
Fe	132.3
Ni	8.1
Cu	5.9
Zn	10.2

Foram identificados e quantificados quatorze elementos químicos presentes no suplemento ômega-3 da marca Doctor First.

Os elementos que apresentaram maior concentração em ppm (partes por milhão) são Al, Si, P, Cl, Ca e Fe.

4.1.2 Biogens

A Figura 4.5 apresenta o espectro PIXE da amostra Biogens:

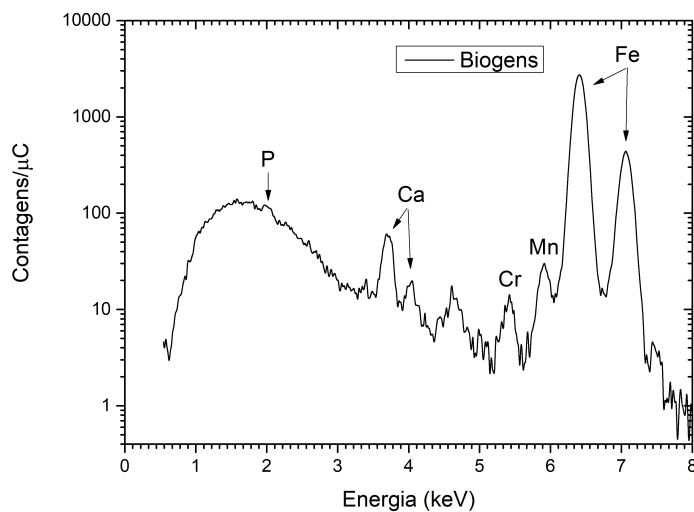


Figura 4.5: Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Biogens normalizado pela carga.

Fonte: elaborado pelo autor

A Figura 4.6 apresenta o limite de detecção de todos elementos detectados na amostra do suplemento Biogens:

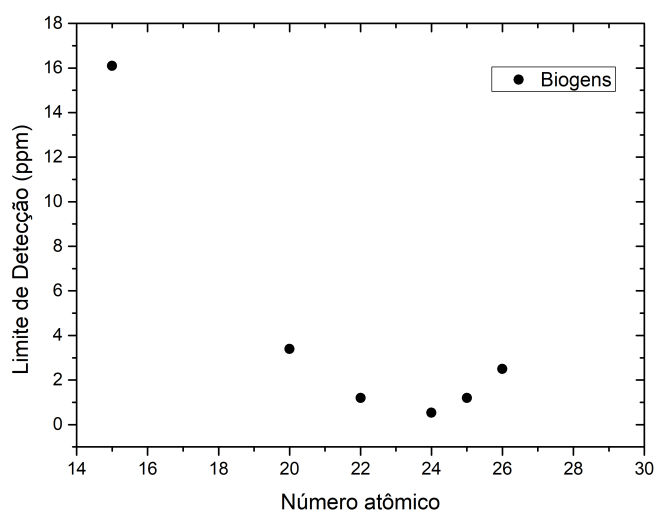


Figura 4.6: Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Biogens.

Fonte: elaborado pelo autor

A Tabela 4.3 explicita as concentrações da mostra do suplemento Biogens:

Tabela 4.3: Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Biogens

Elemento	Concentração
P	48.5
Ca	72.9
Mn	16.8
Ti	3.1
Cr	6.3
Fe	2216.3

Foram detectados e quantificados seis elementos químicos no suplemento ômega-3 da marca Biogens. Sendo eles P, Ca, Mn, Cr e Fe com maior concentração em ppm (partes por milhão).

4.1.3 Neo Química

A Figura 4.7 apresenta o espectro PIXE da amostra Neo Química:

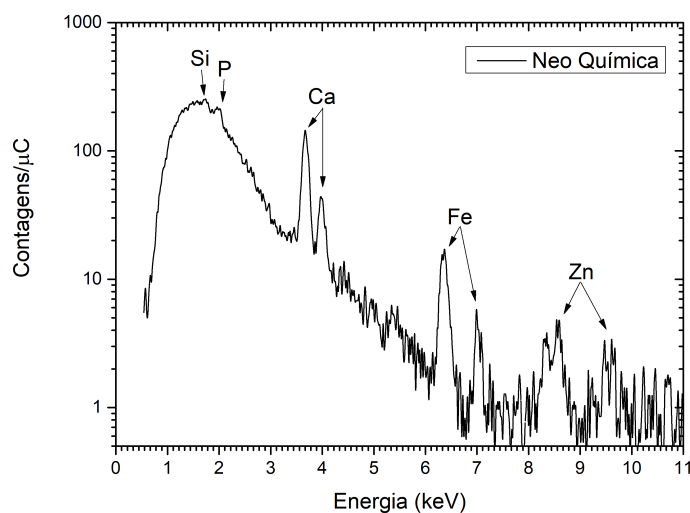


Figura 4.7: Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Neo Química normalizado pela carga.

Fonte: elaborado pelo autor

A Figura 4.8 apresenta o limite de detecção de todos elementos detectados na amostra do suplemento Neo Química:

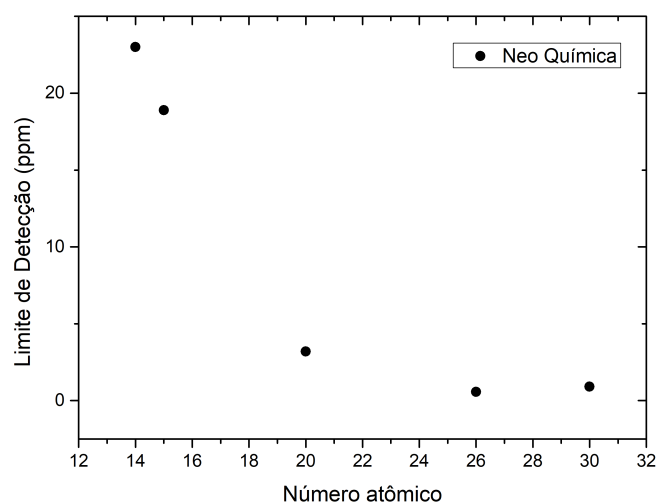


Figura 4.8: Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Neo Química.

Fonte: elaborado pelo autor

A Tabela 4.4 explicita as concentrações da mostra do suplemento Neo Química:

Tabela 4.4: Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Neo Química

Elemento	Concentração
Si	58.9
P	58.4
Ca	129.8
Fe	8.7
Cr	3.2

Para o suplemento ômega-3 da marca Neo Química foram detectados e quantificados cinco elementos químicos. Sendo eles Si, P, Fe, Cr e Ca com maior concentração em ppm (partes por milhão).

4.1.4 Oficial Farma

A Figura 4.9 apresenta o espectro PIXE da amostra Oficial Farma:

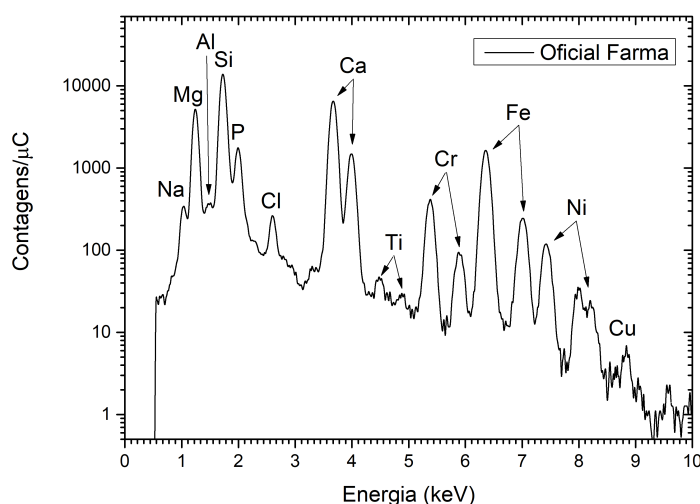


Figura 4.9: Espectro PIXE do suplemento ômega-3 Oficial Farma normalizado pela carga.
 Fonte: elaborado pelo autor

A Figura 4.10 apresenta o limite de detecção de todos elementos detectados na amostra de suplemento Oficial Farma:

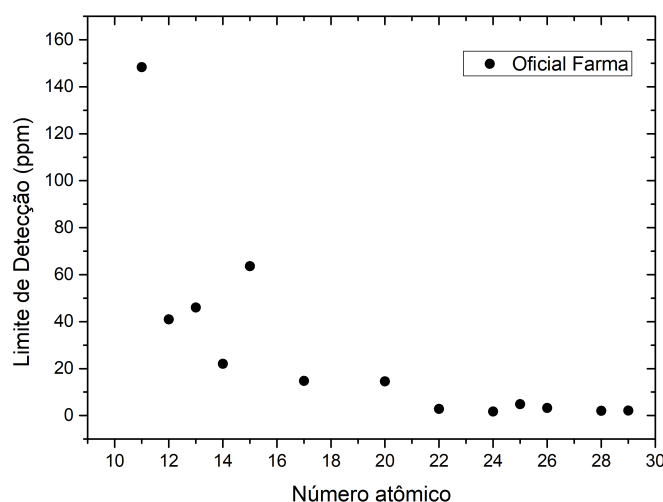


Figura 4.10: Limite de detecção dos elementos detectados no suplemento ômega-3 Doctor First.

Fonte: elaborado pelo autor

A Tabela 4.5 explicita as concentrações da amostra do suplemento Oficial Farma:

Em relação ao suplemento ômega-3 da marca Oficial Farma foram detectados e quantificados quinze elementos químicos. Sendo eles Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Fe, Cr, Mn, Ni e Cu. Com maiores concentrações em ppm (partes por milhão) os elementos Mg, Si e Ca.

Tabela 4.5: Concentração elementar em partes por milhão (ppm), da amostra de suplemento Oficial Farma

Elemento	Concentração
Na	3351.3
Mg	17847.0
Al	338.7
Si	29958.7
P	690.0
S	32.6
Cl	369.4
K	25.8
Ca	8534.8
Ti	17.9
Cr	243.1
Mn	22.0
Fe	1241.5
Ni	123.7
Cu	46.9

Para sintetizar os resultados obtidos com a técnica PIXE, a Tabela 4.6 apresenta as concentrações, em partes por milhão (ppm), dos quinze elementos químicos (Mg, Al, Si, P, Mn, Na, Cl, K, Ca, Ti, Cr, Fe, Ni, Cu e Zn) detectados nos quatro suplementos ômega-3 analisados.

Tabela 4.6: Concentração elementar em partes por milhão (ppm), dos suplementos ômega-3 analisados

Suplemento	Mg	Al	Si	P	Mn	Na	Cl	K	Ca	Ti	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn	S
Doctor First	86.9	332.3	220.2	317.8	4.4	-	336.7	88.4	553.1	9.6	-	-	8.1	5.9	10.2	63.2
Oficial Farma	17847.0	338.7	29958.7	690.0	22.0	3351.3	369.4	25.8	8534.8	17.9	243.1	1241.5	123.7	46.9	-	32.6
Biogens	-	-	-	48.5	16.8	-	-	-	72.9	3.1	-	-	-	-	-	-
Neo Química	-	-	58.9	58.4	-	-	-	-	129.8	-	-	-	-	-	-	-

Destaca-se que o único elemento compartilhado entre os quatro suplementos é o fósforo (P). Observa-se que os suplementos Biogens e Neo Química apresentam concentrações semelhantes de fósforo, enquanto o Oficial Farma possui a maior concentração entre todos os suplementos analisados, quase o dobro do valor encontrado no Doctor First.

Nesta tabela não aparecem os elementos Ferro e Cromo, pois como discutidos anteriormente, foram detectados grandes quantidades destes elementos provenientes do recipiente de aço inoxidável utilizado na preparação das amostras. Por consequência, comprometeram a quantificação destes elementos como sendo exclusivamente advindas do óleo.

4.2 MeV-SIMS

Como descrito no capítulo 2 as principais moléculas nos suplementos de ômega-3 são os ácidos graxos docosahexaenoico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) e ésteres etílicos de ácido docosahexaenóico (DHA-EE) e ésteres etílicos de ácido eicosapentaenóico (EPA-EE) cujas respectivas massas estão na Tabela 4.7 abaixo.

Tabela 4.7: Massa para os principais ácidos graxos ômega-3

Ômega-3	Massa (Da)
Ácido Docosahexaenoico (DHA)	328,488
Éster Etil de Ácido Docosahexaenoico (DHA-EE)	356,534
Ácido Eicosapentaenoico (EPA)	302,451
Éster Etil de Ácido Eicosapentaenoico (EPA-EE)	330,492

A produção de íons secundários ocorrem marjoritariamente por meio de fragmentações, sendo que as principais no caso de ácidos graxos (DHA, DHA-EE, EPA e EPA-EE) estão descritas na Tabela 4.8 (VISWANATHAN et al., 2017) (GRIFFITHS, 2003)(JORDAN; UPMACIS, 2013).

Tabela 4.8: Principais fragmentações (em Da) das moléculas de DHA/DHA-EE e EPA/EPA-EE protonadas

DHA	DHA-EE	EPA	EPA-EE	Fragmento	Descrição
≈ 329	≈ 357	≈ 303	≈ 331	$[M + H]^+$	Íon protonado
≈ 311	≈ 339	≈ 285	≈ 313	$[M + H - H_2O]^+$	Perda de uma molécula de água
≈ 285	≈ 313	≈ 259	≈ 287	$[M + H - CO_2]^+$	Perda de uma molécula de dióxido de carbono
≈ 315	≈ 343	≈ 289	≈ 317	$[M + H - CH_2]^+$	Perda uma molécula de um grupo metileno
				$[M + H + nO]^+$	Ganho de n oxigênios por oxidação

Inicialmente, realizou-se a medição das duas faces do substrato de silício para verificar a ausência de picos na região onde se esperam encontrar as moléculas de ômega-3. Esse procedimento foi essencial para assegurar que os picos observados no espectro de massa correspondam efetivamente aos ácidos graxos DHA e EPA, sem interferências provenientes do substrato. A Figura 4.11 apresenta o espectro de massa das duas faces do substrato de silício no intervalo de 200 Da a 400 Da.

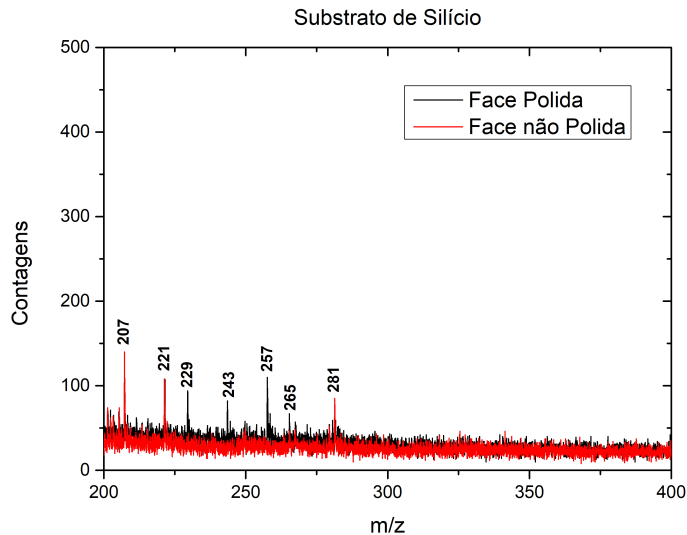


Figura 4.11: Espectro de massa da face polida e não polida substrato de silício

Fonte: elaborado pelo autor

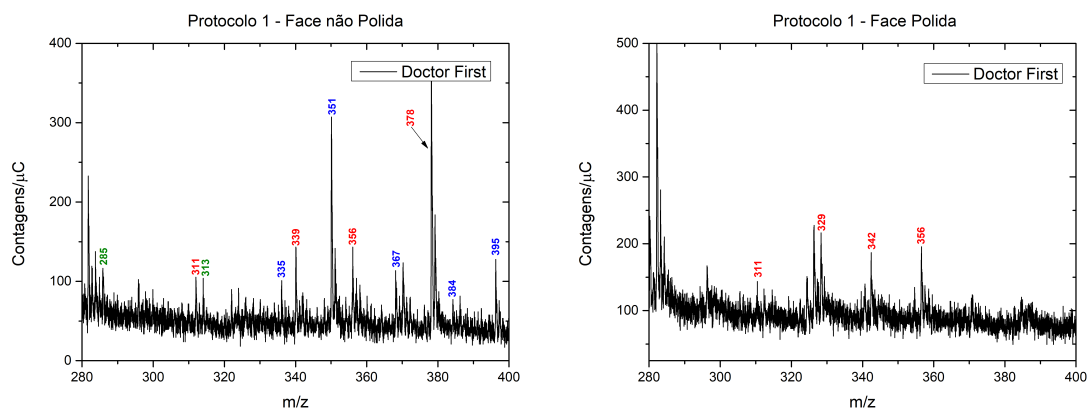
Observa-se a presença de picos nos valores de 207, 221, 229, 243, 257, 265 e 281 m/z. A partir de 300 m/z, não há registro de picos significativos. Dessa forma, qualquer pico que venha a ser identificado nessa região ao analisar as amostras de ômega-3 pode ser atribuído com segurança aos ácidos graxos, descartando a possibilidade de serem oriundos do substrato de silício.

Os parâmetros experimentais envolvidos nas medidas MeV-SIMS encontram-se no Anexo A.

4.2.1 Doctor First

4.2.1.1 Medidas Protocolo 1

A Figura 4.12 apresenta o espectro de massa da marca Doctor First de 280 Da a 400 Da para o protocolo1:



(a) Face não Polida

(b) Face Polida

Figura 4.12: Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 1
 Fonte: elaborado pelo autor

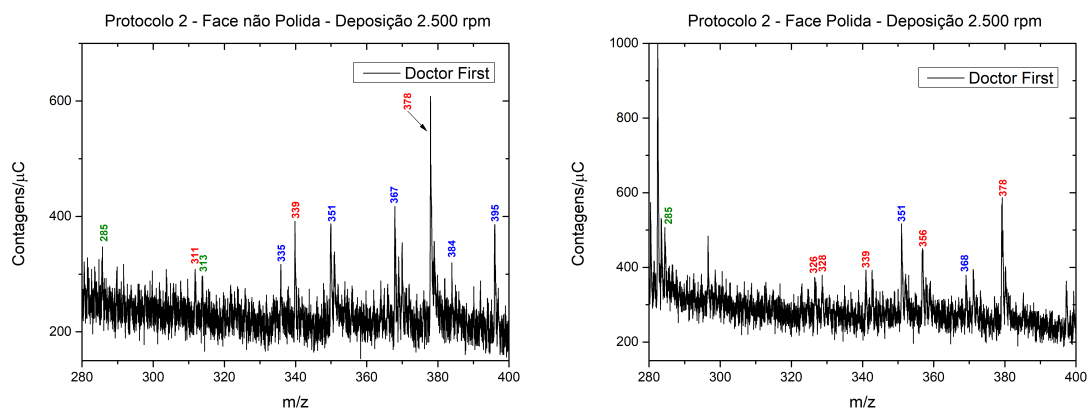
Em ambos os espectros destacam-se suas semelhanças por apresentarem fragmentações das moléculas de DHA (pico 311), DHA-EE (picos 339 e 378). A presença da molécula DHA (pico 328) é observada somente no espectro de face polida, enquanto a molécula de DHA-EE (pico 356) foi detectada em ambos os espectros. Também deve-se observar na face não polida que se destacam os picos intensos em 351 e 378 correspondentes às moléculas EPA e DHA oxidadas, o que não ocorre na face polida. O pico em 285 pode ser atribuído à perda de uma molécula de água do EPA ou à perda de dióxido de carbono do DHA. Da mesma forma, o pico em 313 pode indicar a ausência de uma molécula de água no EPA-EE ou a perda de dióxido de carbono no DHA-EE.

4.2.1.2 Medidas Protocolo 2 - 2.500 rpm

A Figura 4.13 apresenta o espectro de massa da marca Doctor First de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 2.500 rpm:

Observa-se que os espectros apresentam diferenças significativas na presença das moléculas de DHA/DHA-EE e EPA/EPA-EE. No espectro da face não polida, destacam-se as moléculas oxidadas de EPA (picos em 355, 350 e 367), EPA-EE (pico em 395) e DHA-EE, que aparece com bastante intensidade (pico em 377). As fragmentações de DHA/DHA-EE (picos em 285/284 e 339) são identificadas em ambos os espectros.

Adicionalmente, as moléculas intactas de DHA/DHA-EE são observadas exclusivamente no espectro da face polida, com picos em 328 e 356.



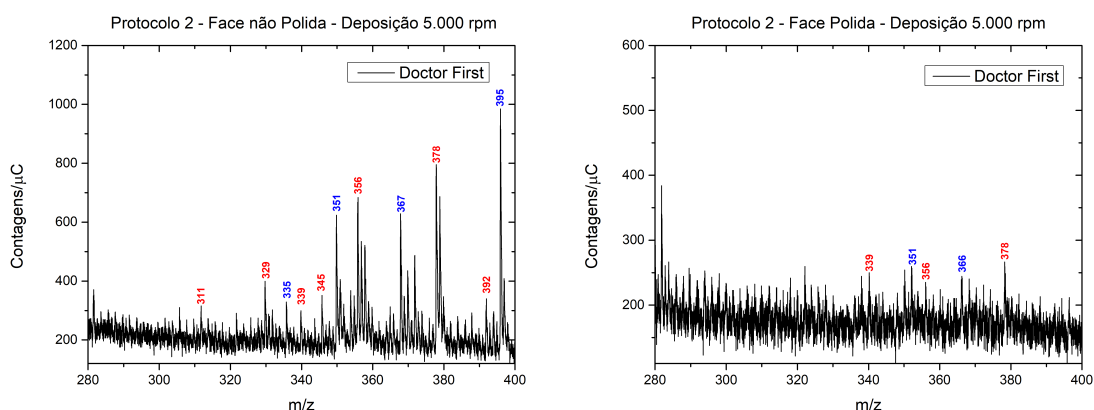
(a) Face não Polida

(b) Face Polida

Figura 4.13: Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 2 - 2.500 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

4.2.1.3 Medidas Protocolo 2 - 5.000 rpm

A Figura 4.14 apresenta o espectro de massa da marca Doctor First de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 5.000 rpm:



(a) Face não Polida

(b) Face Polida

Figura 4.14: Espectro de massa do suplemento Doctor First: Protocolo 2 - 5.000 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

Destaca-se a predominância de DHA/DHA-EE em ambas as medições. Os espectros compartilham a presença de moléculas de DHA-EE (pico em 356) e fragmentações de DHA (picos em 310 e 311). No espectro da face polida, observa-se a presença marcante de oxidações intensas de EPA (picos em 351 e 395) e DHA (pico 378). Por outro lado, apenas no espectro da face não polida, a molécula intacta de DHA (pico em 328) é notoriamente detectada.

4.2.2 Biogens

4.2.2.1 Medidas Protocolo 1

A Figura 4.15 apresenta o espectro de massa da marca Biogens de 280 Da a 400 Da para o protocolo 1:

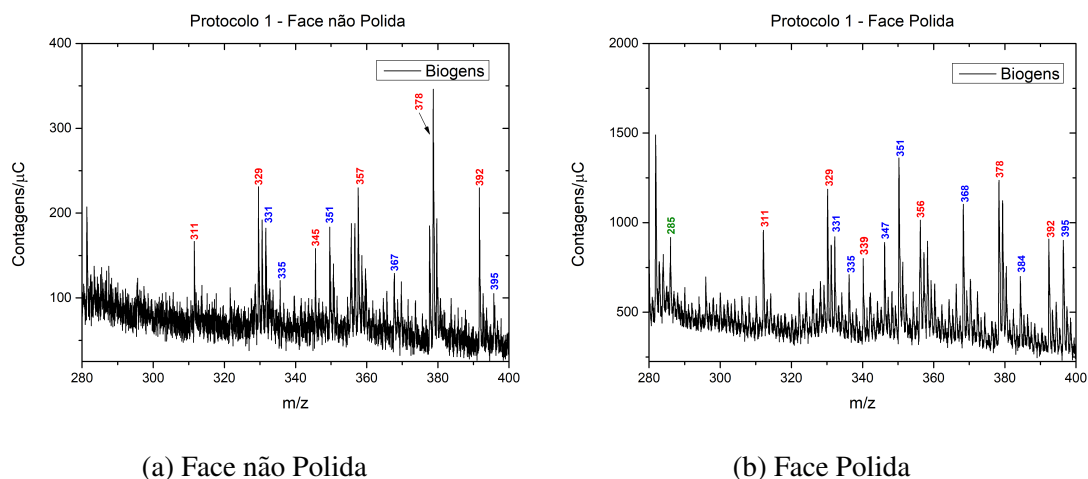


Figura 4.15: Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 1
Fonte: elaborado pelo autor

Os espectros são bastante semelhantes, com destaque para a presença das moléculas de DHA (pico em 329), DHA-EE (pico em 357) e EPA-EE (pico em 331), todas com intensidades relativamente significativas. Além disso, são observadas múltiplas oxidações de DHA (picos em 345, 378 e 392) e de EPA (picos em 335, 350 e 367, 384 além do pico em 395 correspondente ao EPA-EE).

4.2.2.2 Medidas Protocolo 2 - 2.500 rpm

A Figura 4.16 apresenta o espectro de massa da marca Biogens de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 2.500 rpm:

Diferentemente do protocolo 1, neste caso, há grandes diferenças entre os espectros. A face não polida apresenta intensa sinalização das moléculas de DHA (pico 329) e EPA-EE (pico em 331), juntamente com alguns picos de oxidação. Em contraste, na face polida, foi identificado apenas um sinal correspondente à oxidação do EPA (pico em 366).

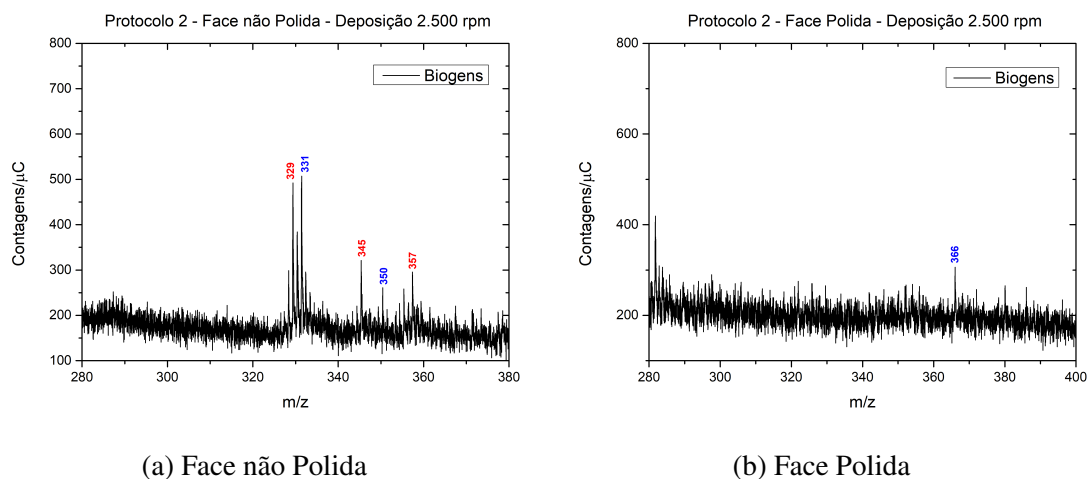


Figura 4.16: Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 2 - 2.500 rpm
 Fonte: elaborado pelo autor

4.2.2.3 Medidas Protocolo 2 - 5.000 rpm

A Figura 4.17 apresenta o espectro de massa da marca Biogens de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 5.000 rpm:

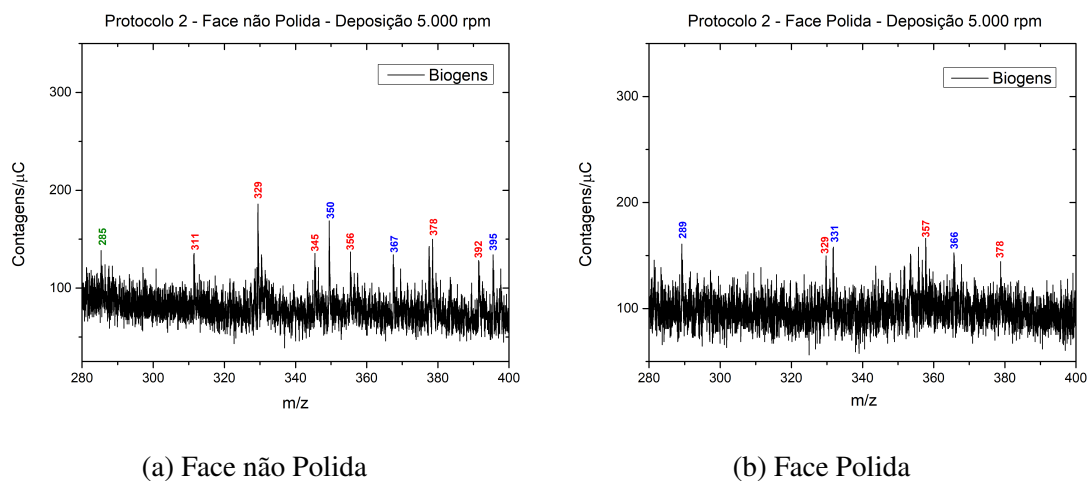


Figura 4.17: Espectro de massa do suplemento Biogens: Protocolo 2 - 5.000 rpm
 Fonte: elaborado pelo autor

No espectro da face não polida, destaca-se a molécula de DHA, com o pico em 329 apresentando a maior intensidade em comparação aos demais e sua fragmentação com a perda de uma molécula de água. Também são observadas oxidações nas moléculas de DHA (picos em 345, 378, 392) e EPA (picos em 350 e 367). Em contrapartida, na face polida, predominam os picos associados à molécula de EPA.

4.2.3 Neo Química

4.2.3.1 Medidas Protocolo 1

A Figura 4.18 apresenta o espectro de massa da marca Neo Química de 280 Da a 400 Da para o protocolo 1:

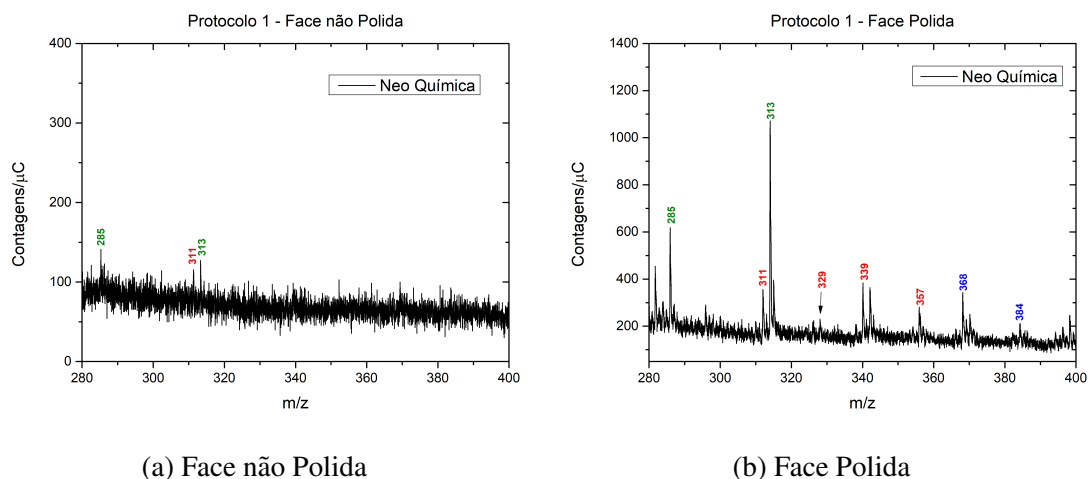


Figura 4.18: Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 1
Fonte: elaborado pelo autor

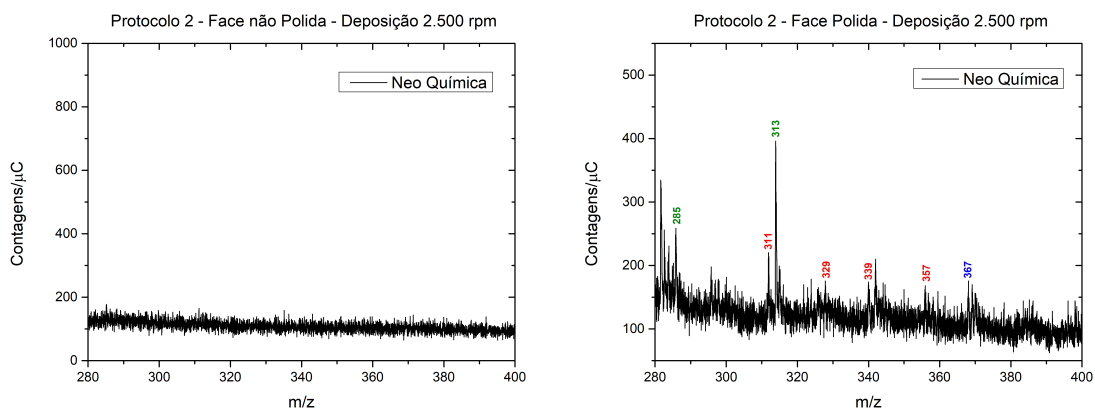
Nos espectros analisados, foram identificadas fragmentação da molécula DHA (pico 311) e os picos 285 e 313. Vale destacar que a face polida exibe uma intensidade significativamente maior desses fragmentos em comparação com a face não polida.

Além disso, apenas no espectro da face polida são identificadas as moléculas de DHA (pico em 329) e DHA-EE (pico em 357), bem como as oxidações da molécula EPA, com picos correspondentes em 368 e 384.

4.2.3.2 Medidas Protocolo 2 - 2.500 rpm

A Figura 4.19 apresenta o espectro de massa da marca Neo Química de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 2.500 rpm:

De maneira semelhante, o espectro da face polida apresenta um padrão idêntico ao discutido anteriormente, embora com intensidades ligeiramente menores. No entanto, no espectro da face não polida, nenhum pico foi detectado na faixa entre 200 Da e 400 Da, onde se esperaria a presença das moléculas de ômega-3.



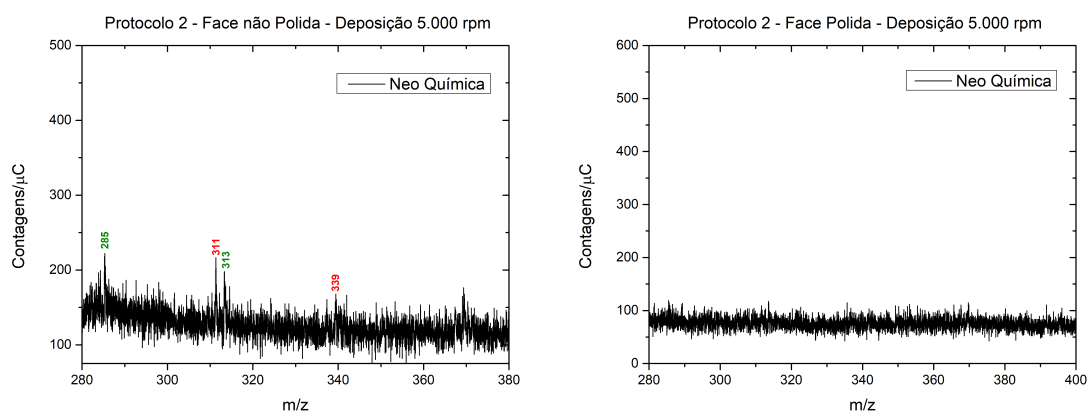
(a) Face não Polida

(b) Face Polida

Figura 4.19: Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 2 - 2.500 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

4.2.3.3 Medidas Protocolo 2 - 5.000 rpm

A Figura 4.20 apresenta o espectro de massa da marca Neo Química de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 5.000 rpm:



(a) Face não Polida

(b) Face Polida

Figura 4.20: Espectro de massa do suplemento Neo Química: Protocolo 2 - 5.000 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

Como observado, apenas o espectro da face não polida revela a identificação das fragmentações das moléculas de DHA (pico 311), DHA-EE (pico 339) e os picos 285 e 313. No espectro da face polida, nenhum pico foi detectado na faixa entre 200 Da e 400 Da, onde se esperaria encontrar as moléculas de ômega-3.

4.2.4 Oficial Farma

4.2.4.1 Medidas Protocolo 1

A Figura 4.23 apresenta o espectro de massa da marca Oficial Farma de 280 Da a 400 Da para o protocolo 1:

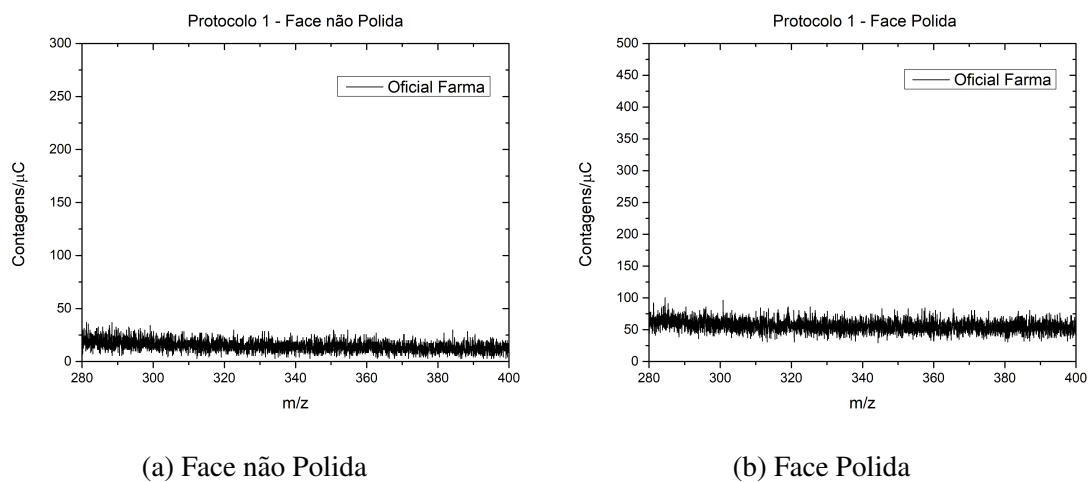


Figura 4.21: Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 1

Fonte: elaborado pelo autor

Observa-se que, tanto no protocolo 1 quanto nos protocolos subsequentes, não foram detectados picos na região entre 280 Da e 400 Da. Essa é a faixa em que, nos suplementos analisados anteriormente, foram identificados os picos correspondentes aos ácidos graxos DHA/DHA-EE e EPA/EPA-EE e suas fragmentações.

4.2.4.2 Medidas Protocolo 2 - 2.500 rpm

A Figura 4.23 apresenta o espectro de massa da marca Oficial Farma de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 2.500 rpm:

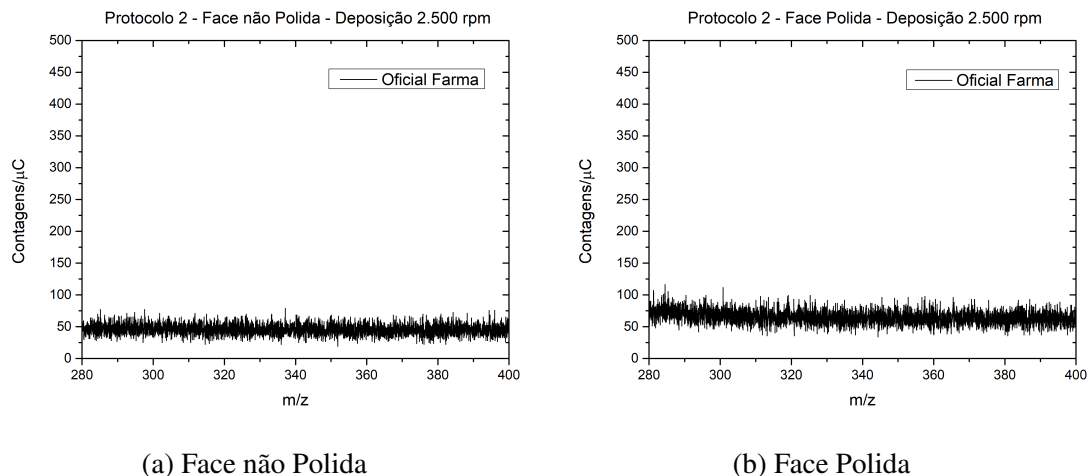


Figura 4.22: Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 2 - 2.500 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

4.2.4.3 Medidas Protocolo 2 - 5.000 rpm

A Figura 4.23 apresenta o espectro de massa da marca Oficial Farma de 280 Da a 400 Da para o protocolo 2 - 5.000 rpm:

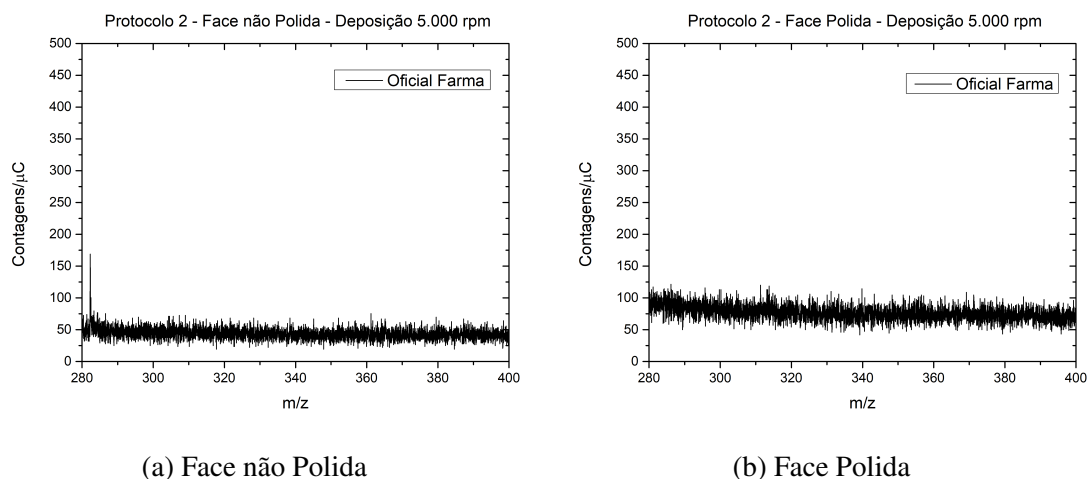


Figura 4.23: Espectro de massa do suplemento Oficial Farma: Protocolo 2 - 5.000 rpm
Fonte: elaborado pelo autor

5 Discussão

Como definido e enfatizado ao longo do trabalho, o objetivo era a análise de suplementos alimentares que contêm ácidos graxos ômega-3 utilizando técnicas de feixe de íons, em particular MeV-SIMS que não é disponível ou operacional em nenhum outro laboratório no Brasil no atual momento. Quando obtidas as alternativas para protocolos conforme o estabelecido no capítulo 3, teve-se então a análise de quatro suplementos alimentares ômega-3 das marcas Doctor First, Biogens, Neo Química e Oficial Farma. Os resultados de PIXE mostrados no capítulo 4 são discutidos em 5.1 abaixo e o mesmo ocorre para os de MeV-SIMS no item 5.2.

5.1 PIXE

Considerando que 1 ppm (partes por milhão) corresponde a 1 µg/g, e que as cápsulas das marcas Doctor First, Biogens, Neo Química e Oficial Farma possuem massas de 1,420 g, 1,448 g, 1,316 g e 0,829 g, respectivamente, foi possível estabelecer com boa precisão a quantidade (em miligramas) de cada elemento presente nas cápsulas dos quatro suplementos, que são apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Quantidade elementar em miligramas (mg), dos suplementos ômega-3 analisados

Suplemento	Mg	Al	Si	P	Mn	Na	Cl	K	Ca	Ti	Cr	Fe	Ni	Cu	Zn
Doctor First	0.123	0.472	0.313	0.451	0.006	-	0.478	0.126	0.785	0.001	-	-	0.012	0.01	0.015
Oficial Farma	14.795	0.280	24.836	0.572	0.0182	2.748	0.306	0.0214	7.075	0.0148	0.202	1.029	0.102	0.390	-
Biogens	-	-	-	0.070	0.024	-	-	-	-	0.005	-	-	-	-	-
Neo Química	-	-	0.078	0.077	-	-	-	-	0.171	-	-	-	-	-	-

Estabelecendo a razão entre os valores máximos e mínimos para cada um dos elementos, vemos que existem enormes variações, cuja ordens de grandeza entre elas estão na Tabela 5.2 abaixo.

Tabela 5.2: Razão entre os valores máximos e mínimos para cada elemento da Tabela 5.1

Elemento	Razão
Mg	140
Al	2
Si	312
P	8
Mn	4
Cl	2
K	5
Ca	41
Ti	15
Ni	9
Cu	39

Assim, o resultado mais fundamental e significativo do conjunto destas medidas PIXE é o seguinte.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na sua INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 28, DE 26 DE JULHO DE 2018 (publicado no DOU nº 144, de 27 de julho de 2018 a Portaria) preconiza:

”Art. 5º O Anexo III define a lista de limites mínimos de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas e probióticos que devem ser fornecidos pelos suplementos alimentares na recomendação diária de consumo e por grupo populacional indicado pelo fabricante.”

”Art. 6º O Anexo IV define a lista dos limites máximos de nutrientes, substâncias bioativas, enzimas e probióticos que não podem ser ultrapassados pelos suplementos alimentares na recomendação diária de consumo e por grupo populacional indicado pelo fabricante.”

Nesta instrução normativa para os elementos, Mg, P, Mn, Ca, Cu, Fe, Cr e Zn os valores máximos e mínimos indicados como recomendação diária de consumo encontram-se na Tabela 5.3.

Portanto os valores determinados pelas medidas de PIXE ficam bem distantes do que seriam os valores máximos a serem usados pela população.

Tabela 5.3: Quantidade máxima e mínima em miligramas (mg) de cada elemento recomendado para consumo diário

Elemento	Máximo	Minímo
Mg	350	63
P	2.983,89	105
Mn	1.66	0.35
Ca	1.534,67	180
Cu	8.975	0.135
Fe	34.31	2.7
Cr	0.25	0.005
Zn	2.59	1.65

5.2 MeV-SIMS

Entafizando novamente que como mostrado na análise dos espectros MeV-SIMS no capítulo 4 (4.2.1.1 - 4.2.4.4) não existem resultados conhecidos dos valores das concentrações (miligrama/grama) dos respectivos suplementos. Portanto, não foi possível estabelecer uma quantificação para averiguar o que consta nos respectivos rótulos.

Assim, a discussão dos resultados MeV-SIMS que deve ser feita é em termos de comparação da ocorrência dos ácidos graxos DHA/DHA-EE, EPA/EPA-EE e fragmentações. A Tabela 5.4 apresenta as massas identificadas para todos os suplementos analisados

Tabela 5.4: Nas colunas, veem-se as massas aproximadas correspondentes às fragmentações em Da. □ representa as fragmentações da molécula DHA/DHA-EE, △ indica fragmentações da molécula EPA/EPA-EE e ⊗ identifica as molécula que apresentem fragmentações de diferentes moléculas que possuem mesma razão m/z.

Marca	285	311	313	329	331	335	339	345	350	357	366	377	384	392	395
Doctor First	⊗	□	⊗	□	-	△	□	□	△	□	△	□	□	□	△
Biogens	⊗	□	⊗	□	△	△	□	□	△	□	△	□	△	□	△
Neo Química	⊗	□	⊗	□	-	-	□	-	-	□	-	-	-	-	-
Oficial Farma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Desta tabela observa-se que exceto no Oficial Farma: i) em nenhuma medida foi detectada a molécula de EPA; ii) tem-se que todos os suplementos analisados apresentam um pico 311 que corresponde à perda de uma molécula de água do DHA; iii) o mesmo para o pico 339 relativo ao DHA-EE; iv) o pico 313 presente em todas, pode corresponder a perda de uma molécula de água do EPA-EE, ou uma perda de um dióxido de carbono do DHA-EE; v) também o pico 285 pode corresponder a perda de uma molécula de água do EPA ou uma perda de um dióxido de carbono do DHA; vi) os suplementos Doctor First e Biogens apresentam as mesmas componentes, exceto o pico 331 (EPA-EE); vii) o Biogens e Doctor apresentam múltiplos picos de diferentes oxidações.

6 Conclusão

A caracterização elementar e molecular de suplementos alimentares ômega-3 feita neste trabalho teve a característica de um dual ineditismo. Por um lado, por ser, até onde temos conhecimento, a primeira vez que tal caracterização foi feita em suplementos alimentares comercializados na nossa realidade próxima. De outro, pela tentativa de uso da técnica de MeV-SIMS, uma facilidade experimental bem mais recente no contexto do LII, e que tem enorme potencialidade e especificidade relativamente a outras técnicas de espectroscopia moleculares que não àquelas associadas a feixe de íons.

No início do trabalho tinha-se a clareza do enorme desafio que era a possibilidade de obtenção de amostras a partir de “material essencialmente oleoso” asseguradamente com bem especificadas dimensões, espessura e autosustentabilidade para câmaras de medidas em pressões menores que 10^{-6} mbar. Ao final, se pode dizer que não foi conseguido um protocolo bem estabelecido que possa ser considerado preciso para ser um padrão. Mas futuros estudos, seja em suplementos ômega-3, seja em outro material oleoso, terão um razoável protocolo a ser referido.

Os resultados de PIXE que foram obtidos com muito boa precisão enquanto comparabilidade entre as quatro marcas nas respectivas composições elementares, estabelecem que os elementos Mg, P, Mn, Ca, Cu e Zn presentes em toda e qualquer amostra estão bem abaixo dos valores máximos preconizados para consumo diário. E, que definitivamente, não existem traços de metais pesados nocivos à saúde que poderiam ter como origem a fonte primária dos “ômega-3”, ou terem sido inadvertidamente incorporados em processos de fabricação e encapsulamento dos suplementos.

Por sua vez, os resultados de MeV-SIMS, não possibilitaram comparações mais sistemáticas quanto às ocorrências dos diversos ácidos graxos e dos fragmentos de DHA/DHA-EE, EPA/EPA-EE com 1 íon protonado ou com perda de: i) uma molécula de água ii) uma molécula de dióxido de carbono iii) uma molécula de um grupo metileno e iv) um ganho de oxigênio por oxidação, que são bem descritos na literatura.

A extensa quantidade e variabilidade de picos que simultaneamente temos nos espectros de MeV-SIMS não ocorrem nos resultados obtidos por outras espectroscopias. A identificação de quais fragmentações seriam correspondentes a cada um dos picos medidos, talvez não possa ser feita, dada a complexidade dos processos físicos envolvidos, mas na eventualidade de ter-se sistemáticas mais consistentes estes resultados seriam totalmente originais.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE (DISCLAIMER): O aluno e o orientador deste TCC, bem como os técnicos do Laboratório de Implantação Iônica declaram que: i) não são credenciados junto à ANVISA e, portanto, os resultados deste estudo acadêmico não podem ser usados para qualquer laudo ou referência clínica; e ii) não tem ou tiveram qualquer relação com as farmacêuticas que produzem os suplementos alimentares estudados neste trabalho.

Referências Bibliográficas

- BASSANI, G.; LIEDL, G.; WYDER, P. *Encyclopedia of Condensed Matter Physics: A-D*. Elsevier Academic Press, 2005. xvii, 106 p. p. (Encyclopedia of Condensed Matter Physics). ISBN 9780122276118. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=2OieQgAACAAJ>.
- CABALLERO, B.; FINGLAS, P.; TOLDRA, F. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier Science, 2015. ISBN 9780123849533. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=O-t9BAAAQBAJ>.
- CARLIER, H.; BERNARD, A.; CASELLI, C. Digestion and absorption of polyunsaturated fatty acids. *Reproduction, nutrition, development*, v. 31 5, p. 475–500, 1991. Disponível em: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:34006637>.
- DYERBERG, J. et al. Bioavailability of marine n-3 fatty acid formulations. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v. 83, n. 3, p. 137–141, 2010. ISSN 0952-3278. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0952327810001171>.
- FATTORE, E.; FANELLI, R. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, Taylor Francis, v. 64, n. 5, p. 648–659, 2013. PMID: 23406428. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.768213>.
- GRIEKEN, R. V.; MARKOWICZ, A. *Handbook of X-Ray Spectrometry*. CRC Press, 2001. (Practical Spectroscopy). ISBN 9780203908709. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=i_iDRTp75AsC.
- GRIFFITHS, W. J. Tandem mass spectrometry in the study of fatty acids, bile acids, and steroids. *Mass Spectrometry Reviews*, v. 22, n. 2, p. 81–152, 2003. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/mas.10046>.
- GROSS, J. *Mass Spectrometry: A Textbook*. Springer International Publishing, 2018. ISBN 9783319853857. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=YZLXugEACAAJ>.

GUARDIA, M. de la; GARRIGUES, S. *Handbook of Mineral Elements in Food*. Wiley, 2015. ISBN 9781118654361. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=ofLEBgAAQBAJ>).

GUIPIX Development Team. *GUIPIX Software Package*. 2024. Accessed: 2024-08-05. Disponível em: <https://www.physics.uoguelph.ca/gupix-software-download>).

HOFFMANN, E. de; CHARETTE, J.; STROOBANT, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Wiley, 1996. ISBN 9780471966975. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=6OXvAAAAMAAJ>).

JORDAN, K. D.; UPMACIS, R. K. Mass spectrometric analysis of oxidized eicosapentaenoic acid sodium salt. *Lipid Insights*, v. 6, p. 21–35, May 2013.

LAYÉ, S. et al. Anti-inflammatory effects of omega-3 fatty acids in the brain: Physiological mechanisms and relevance to pharmacology. *Pharmacological Reviews*, American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 70, n. 1, p. 12–38, 2018. ISSN 0031-6997. Disponível em: <https://pharmrev.aspetjournals.org/content/70/1/12>).

LORENZO, J. et al. *Food Lipids: Sources, Health Implications, and Future Trends*. Elsevier Science, 2022. ISBN 9780128233719. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=P-FfEAAAQBAJ>).

RUSTAN, A. C.; DREVON, C. A. Fatty acids: Structures and properties. In: _____. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley Sons, Ltd, 2005. ISBN 9780470015902. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1038/npg.els.0003894>).

SAAVEDRA, L. P. J. et al. Estado nutricional e consumo alimentar de Ácidos graxos eicosapentaenÓico e docosahexaenÓico associados À funÇÃO cognitiva em idosos. *Uningá Review*, v. 28, n. 2, Nov. 2016. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1869>).

SOM, T.; KANJILAL, D. *Nanofabrication by Ion-Beam Sputtering: Fundamentals and Applications*. Pan Stanford, 2012. ISBN 9789814303750. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=ztwVMHnIh3QC>).

SOUZA, C. T. de. *Microestruturação de Membrans de Poli(tereftalato deEtileno) por Microfeixe de Íons*. 153 f. Dissertação (Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais)) — Porto Alegre., Porto Alegre, 2013.

SOUZA, G. M. S. *Análise de fármacos para disfunção erétil com feixe de íon*. 125 f. Dissertação (Mestrado em Física) — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2023.

UNIVERSITY OF GUELPH. *University of Guelph. GUPIXWIN*. [S.l.], 2024. Disponível em: [Disponvelem:https://www.physics.uoguelph.ca/gupix-software-download](https://www.physics.uoguelph.ca/gupix-software-download).

VISWANATHAN, S. et al. A novel liquid chromatography/tandem mass spectrometry (lc–ms/ms) based bioanalytical method for quantification of ethyl esters of eicosapentaenoic acid (epa) and docosahexaenoic acid (dha) and its application in pharmacokinetic study. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 141, p. 250–261, 2017. ISSN 0731-7085. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0731708516308056>.

A Anexo A - Parâmetros Experimentais

A.1 Medidas PIXE

A tabela A.1 apresenta os parâmetros experimentais da medida PIXE do suplemento Doctor First:

Tabela A.1: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Doctor First

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo morto	Tempo
Proton	2MeV	3nA	3.02495 μC	2.99%	1000s

A tabela A.2 apresenta os parâmetros experimentais da medida do suplemento ômega-3 Biogens:

Tabela A.2: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Biogens

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo morto	Tempo
Proton	2MeV	3nA	3.0465 μC	2.22%	1000s

A tabela A.3 apresenta os parâmetros experimentais da medida do suplemento ômega-3 Neo Química:

Tabela A.3: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Neo Química

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo morto	Tempo
Proton	2MeV	3nA	2.35472 μC	2.35%	1000s

A tabela A.4 apresenta os parâmetros experimentais da medida do suplemento ômega-3 Oficial Farma:

Tabela A.4: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra pastilhada Oficial Farma

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo morto	Tempo
Proton	2MeV	2.5nA	2.36707 μC	8.85%	1000s

A.2 Medidas MeV-SIMS

A.2.1 Protocolo 1

Para o sistema de MeV-SIMS foram utilizados os parâmetros: Cycle time ($\mu sec = 100$); Resolution (nsec) = 2; Data range (μsec) - start = 1 e end = 80; TOF-MS logic Controller: X = 4.10 e Y = 5.00; TOF-MS Voltage Controller - ganho = 5.2; HV Supply Unit = 2kV

Tabela A.5: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.7130 μC	300s

A tabela A.6 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Doctor First depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.6: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.8085 μC	300s

A tabela A.7 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face não polida do substrato de silício:

Tabela A.7: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.7140 μC	300s

A tabela A.8 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.8: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7401\mu\text{C}$	300s

A tabela A.9 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.9: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7012\mu\text{C}$	300s

A tabela A.10 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.10: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7875\mu\text{C}$	300s

A tabela A.11 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.11: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7060\mu\text{C}$	300s

A tabela A.12 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.12: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 1

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7477\mu\text{C}$	300s

A.2.2 Protocolo 2 - 2.500 rpm

A tabela A.13 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Doctor First depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.13: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6973\mu\text{C}$	300s

A tabela A.14 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Doctor First depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.14: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7024\mu\text{C}$	300s

A tabela A.15 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.15: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6667\mu\text{C}$	300s

A tabela A.16 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.16: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6111\mu\text{C}$	300s

A tabela A.17 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.17: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.6809 μ C	300s

A tabela A.18 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositada na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.18: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.6723 μ C	300s

A tabela A.19 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.19: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.6746 μ C	300s

A tabela A.20 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.20: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 2.500 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu ⁴⁺	6MeV	5nA	0.6447 μ C	300s

A.2.3 Protocolo 2 - 5.000 rpm

A tabela A.21 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Doctor First depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.21: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6716\mu\text{C}$	300s

A tabela A.22 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Doctor First depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.22: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Doctor First na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7322\mu\text{C}$	300s

A tabela A.23 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.23: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6939\mu\text{C}$	300s

A tabela A.24 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Biogens depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.24: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Biogens na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7281\mu\text{C}$	300s

A tabela A.25 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.25: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.6979\mu\text{C}$	300s

A tabela A.26 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Neo Química depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.26: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Neo Química na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7070\mu\text{C}$	300s

A tabela A.27 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face não polida do substrato de Silício:

Tabela A.27: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face não polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7169\mu\text{C}$	300s

A tabela A.28 apresenta os parâmetros experimentais envolvidos na medida de MeV-SIMS do suplemento ômega-3 Oficial Farma depositado na face polida do substrato de Silício:

Tabela A.28: Parâmetros experimentais envolvidos na medida da amostra Oficial Farma na face polida do substrato de silício - Protocolo 2 - 5.000 rpm

Feixe	Energia	Corrente do feixe	Carga Acumulada	Tempo
Cu^{4+}	6MeV	5nA	$0.7173\mu\text{C}$	300s