

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Desenvolvimento de Modelos de Calibração Multivariada em
Espectroscopia de Infravermelho Próximo para Ácidos
Graxos em Amostras de Carne Bovina**

Jonas da Silva Sousa

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientadora: Ana Rita de Araujo Nogueira

*** bolsista CAPES**

**São Carlos - SP
2016**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S725d Sousa, Jonas da Silva
Desenvolvimento de modelos de calibração
multivariada em espectroscopia de infravermelho
próximo para ácidos graxos em amostras de carne
bovina / Jonas da Silva Sousa. -- São Carlos :
UFSCar, 2016.
134 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2016.

1. Carne bovina. 2. Quimiometria. 3. PLS. 4.
Infravermelho. I. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Jonas da Silva Sousa, realizada em 21/03/2016:

Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira
Embrapa

Prof. Dr. Celio Pasquini
UNICAMP

Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho
UFSCar

À minha família pela compreensão nas
minhas decisões. Minha mãe Maria de
Fátima, meu pai Raimundo e meus
irmãos Jeovânia e Josué.

*Grande Conquista é o resultado de
pequenas vitórias que passam
despercebidas*

Paulo Coelho

*E Jesus, olhando para eles, disse-lhes: Aos
homens é isso impossível, mas a Deus tudo
é possível. Mateus 19:26*

(Bíblia)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me ajudar nas decisões muitas vezes errôneas para mim.

À Profa. Dra. Ana Rita de Araujo Nogueira, pela orientação, convivência e confiar no meu amadurecimento profissional durante a realização deste trabalho.

Ao Dr. Gilberto Batista de Souza, pelas sugestões apresentadas, pelos conhecimentos transmitidos, por estar à disposição para esclarecer as dúvidas e pela amizade.

Ao Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste que na pessoa do Dr. Rymer Ramiz Tullio cedeu suas instalações (inclusive, estão de parabéns pela infraestrutura e ambiente saudável) para consolidação desse trabalho.

Ao Dr. Avelardo pela prontidão em me auxiliar com seus conhecimentos técnicos, por disponibilizar material necessário para as análises em infravermelho e pela boa conversa.

Ao técnico Víctor pela cooperação e paciência no início do trabalho.

Às amigas construídas na Embrapa e pelas dúvidas tiradas em conversas esclarecedoras. Cristina, Gilbertinho e Marcos Rogério.

Ao grupo GAIA pela amizade saudável e discussões enriquecedoras de modo geral.

À Embrapa Pecuária Sudeste pela cessão das amostras para análise e de suas dependências para efetivação desse trabalho.

À Mariana e Margarete da empresa BÜCHI que me auxiliaram sempre que precisei e pela amizade formada.

Ao CENA/USP na pessoa do Dr Márcio Bacchi pela análise de tamanho de partícula.

Aos demais professores que colaboraram na minha formação e contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Química pelos serviços prestados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior–CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado e na ajuda em atividades extracurriculares.

Aos meus amados pais, Raimundo e Fátima, meus irmãos Jeovânia e Josué que como família compreenderam minhas decisões desbravadoras.

Aos meus colegas do grupo GAIA na Embrapa pelos conselhos, descontração e pelos entretenimentos na cidade de São Carlos. Ao Carlos, Beatriz, Mayumi, Raquel, Sâmia, Natividade, Carolina, Alexandra, Aline, Cibeli e Elaine.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Química, que conquistei durante este período, Camilla Erberelli, Marcos Aurélio e Rafael pela conversa e disponibilidade de ajuda.

Ao meu pequeno grupo da igreja Madureira nas pessoas de Kaique, Fabiano, Leonardo, Alex, Fabrício, Jonh, Wellyson, Matheus e Gabriel pelo aprendizado, descontração e comunhão.

Aos colegas da república Auto Posto, Carlos Eduardo, Jozemir e Vinícius pelo ambiente agradável.

A todos aqueles cujos nomes não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGCR – Ácidos Graxos de Cadeia Ramificada
AGMI – Ácidos Graxos Monoinsaturados
AGPI – Ácidos Graxos Poli-insaturados
AGS – Ácidos Graxos Saturados
ALC – Ácido Linoleico Conjugado
AOAC – American Oil Chemistry Society
ASTM – American Society for Testing and Materials
CG/DIC – Cromatografia gasosa com detector de ionização de chama
CM – Centrado na Média
CV – Coeficiente de Variação
DHA – Docosahexaenoico
DP – Desvio Padrão
DPR – Desvio Padrão Relativo
EPA – Eicosapentaenoico
FT-NIRRS – *Fourier Transformer Near Infrared Reflectance Spectroscopy*
HDL – *High Denside Lipoprotein*
IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry
LDL – Low Denside Lipoprotein
MSC – Multiplicative Scatering Correction
NIPALS – *Nonlinear Iterative Partial Least Squares*
NIRS – *Near Infrared Spectroscopy*
P – *loading*
PC – *Principal Component*
PCA – *Principal Component Analysis*
PLSR – *Partial Least Square Regression*
PRESS – *Prediction Residual Error Sum Square*
RMSEC – *Root Mean Square Error Calibration*
RMSECV – *Root Mean Square Error of Cross Validation*
RMSEP – *Root Mean Square Error Prediction*
SEC – *Standard Error of Calibration*
SEP – *Standard Error of Validation*
SNV – *Standard Normal Variate*

T – Scores

Vis – Visível

VLs – Variáveis Latentes

X – Matriz de dados espectrais

Y – Matriz de dados de referência

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - REGIÕES ESPECTRAIS DO INFRAVERMELHO.....	34
TABELA 1.2 - REGIÕES ESPECTRAIS E SINAIS DOS RESPECTIVOS GRUPOS QUÍMICOS COMUMENTE VISTOS EM NIRS.	38
TABELA 1.3 - APLICAÇÕES DO NIR EM DIVERSAS MATRIZES.	47
TABELA 3.1 - NÚMERO DE ANIMAIS ABATIDOS POR ANO E SUAS SEQUÊNCIAS DE ABATE....	65
TABELA 3.2 - NOMENCLATURA OFICIAL E COMUM DAS DEZOITO PROPRIEDADES ANALISADAS.	67
TABELA 3.3 - TEMPOS DE LIOFILIZAÇÃO DAS ALÍQUOTAS DE CARNE BOVINA.	73
TABELA 3.4 - TRANSFORMAÇÕES APLICADAS AOS ESPECTROS DE MODELOS RESPECTIVOS.	75
TABELA 4.1 - PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DAS PROPRIEDADES EM ESTUDO.	77
TABELA 4.2 - EXEMPLO DE TRANSFORMAÇÕES UTILIZADAS PARA A CONSTRUÇÃO DO MODELO DE LIPÍDEOS TOTAIS COM SUAS RESPECTIVAS ESPECIFICAÇÕES E FUNÇÕES. ...	96
TABELA 4.3 - AMOSTRAS ANÔMALAS ELIMINADAS DOS MODELOS.	98
TABELA 4.4 - PARÂMETROS QUIMIOMÉTRICOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DOS MODELOS.	103
TABELA 4.5 - OBTENÇÃO DOS MELHORES MODELOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.....	106
TABELA 4.6 - COMPARAÇÃO DE MODELOS DE CALIBRAÇÃO EMPREGADOS REGIÃO LIPÍDICA E REGIÃO ADOTADA NO TRABALHO.....	107

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - EVOLUÇÃO DAS EXPORTAÇÕES BRASILEIRAS DE CARNE ENTRE 1995 E 2007 BILHÕES DE DÓLARES.	20
FIGURA 1.2 - EVOLUÇÃO NO FATURAMENTO DAS EXPORTAÇÕES ENTRE 2004 E 2015.	21
FONTE: IBGE, 2016	21
FIGURA 1.3 - GRÁFICO DE PORCENTAGEM DAS FAMÍLIAS DE ÁCIDOS GRAXOS MAIS ABUNDANTES NA CARNE BOVINA.	22
FIGURA 1.4 - GRÁFICO DE PORCENTAGEM DOS ÁCIDOS GRAXOS INDIVIDUAIS MAIS ABUNDANTES NA CARNE BOVINA.	23
FIGURA 1.5 - FÓRMULA ESTRUTURAL DE TRAÇOS E BOLAS DO (A) ÁCIDO HEXADECENÓICO E (B) ÁCIDO OCTADECENÓICO.	28
FIGURA 1.6 - ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS VACÊNICOS E ELAÍDICO.	29
FIGURA 1.7 - METABOLISMO DOS ÁCIDOS GRAXOS LINOLEICO E LINOLÊNICO.	31
FONTE: RUSTAN E DREVON, 2005	31
FIGURA 1.8 - PRIMEIRO ESPECTRO DE FARINHA DE TRIGO OBTIDO POR KARL NORRIS PARA VERIFICAÇÃO DE ÁGUA.	33
FONTE: BOSCO, 2010	33
FIGURA 1.9 - ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO INCLUINDO A REGIÃO DO INFRAVERMELHO. .	35
FONTE: SILVA, 2011.	35
FIGURA 1.10 - TIPOS DE VIBRAÇÕES. (+ INDICA MOVIMENTO PARA FORA DA PÁGINA; – INDICA MOVIMENTO PARA DENTRO DA PÁGINA).	36
FONTE: SKOOG ET AL., 2002 – MODIFICADA.	36
FIGURA 1.11 - GRÁFICOS DOS MODELOS (A) HARMÔNICO E (B) ANARMÔNICO.	37
FONTE: LIMA, 2013.	37
FIGURA 1.12 - MODOS DE MEDIDAS UTILIZADAS EM ESPECTROMETRIA NIR – (A) TRANSMITÂNCIA, (B) TRANSFLECTÂNCIA, (C) REFLECTÂNCIA DIFUSA, (D) INTERACTÂNCIA E (E) TRANSMITÂNCIA COM ESPALHAMENTO.	40
FONTE: PASQUINI, 2003.	40
FIGURA 1.13 - ESPECTROS NIR DE REFLECTÂNCIA DO TRIGO E DE SEUS COMPONENTES SEPARADOS.	43
FONTE: BOSCO, 2010.	43
FIGURA 1.14 - ESPECTRO DE CARNE REPRESENTADO AS REGIÕES DO SINAIS DE ÁGUA.	44
FONTE: PRIETO ET AL., 2009.	44
FIGURA 1.15 - ESPECTROS DE CARNE COM AS RESPECTIVAS REGIÕES DE LIPÍDEOS.	45
FONTE: PRIETO ET AL., 2009.	45
FIGURA 1.16 - QUADRO REPRESENTATIVO DE COMO SÃO APLICADOS OS PRÉ- TRATAMENTOS.	51
FONTE: FERREIRA, 2015.	51

FIGURA 1.17 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CONSTRUÇÃO DE UM MODELO DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.	55
FIGURA 3.1 - (A) MOINHO DE FACAS, (B) MOINHO CRIOGÊNICO E (C) AMOSTRA APÓS MOÍDA EM MOINHO CRIOGÊNICO.....	68
FIGURA 3.2 - ESPECTRÔMETRO DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO UTILIZADOS NAS ANÁLISES.	69
FIGURA 3.3 - (A) ISOPOR USADO NA TRANSFERÊNCIA DAS AMOSTRAS; (B) EMBALAGEM DE SACO PLÁSTICO; (D) ANÁLISE NO NIR; (C) AMOSTRAS DENTRO DE VIALS; (E) SERINGA DE PLÁSTICO; (F) PESO DE AÇO INOXIDÁVEL.....	71
FIGURA 3.4 - ESPECTROS NIR DE CARNE BOVINA.	72
FIGURA 3.5 - ESPECTROS NIR DE CARNE BOVINA.	72
FIGURA 3.6 - (A) MATERIAL UTILIZADO NA EXTRAÇÃO; (B) MATERIAL PROTEICO; (C) MATERIAL LIPÍDICO.....	74
FIGURA 4.1 - HISTOGRAMA DE ALGUMAS DAS PROPRIEDADES PARA AVALIAÇÃO DA DISPERSÃO DOS DADOS.	78
FIGURA 4.2 - GRÁFICO PARA AVALIAR A DISPERSÃO AS PROPRIEDADES ÁCIDO LINOLEICO E ÔMEGA 6.	79
FIGURA 4.3 - (A) PCA DAS ALÍQUOTAS MOÍDAS EM MOINHO CRIOGÊNICO, (B) PCA DAS ALÍQUOTAS MOÍDAS EM MOINHO CRIOGÊNICO E EM MOINHO DE FACAS.....	80
FIGURA 4.4 - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DE PARTÍCULA ADOTADO PARA A CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA.	82
FIGURA 4.5 - ESPECTRO DO CONJUNTO DE AMOSTRAS USADAS NA CALIBRAÇÃO.	83
FIGURA 4.6 - GRÁFICO DE SCORES DE TODO CONJUNTO DE DADOS ESPECTRAIS DAS AMOSTRAS DA CALIBRAÇÃO.....	85
FIGURA 4.7 - LOADINGS DA PC1 E PC2 REFERENTE A ORGANIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE CALIBRAÇÃO.	86
FIGURA 4.8 - (A) ESPECTROS DAS ALÍQUOTAS LIOFILIZADAS NOS TEMPOS DE 9, 24, 30 E 48H; (B) ESPECTROS DAS ALÍQUOTAS NOS TEMPOS DE 24, 30 E 48H DE LIOFILIZAÇÃO; (C) REGIÃO DE CONVERGÊNCIA DOS ESPECTROS AVALIADA COMO SENDO DE ÁGUA.	89
FIGURA 4.9 - GRÁFICOS DE COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA AS VÁRIAS TRANSFORMAÇÕES APLICADAS.....	91
FIGURA 4.10 - (A) ESPECTRO DO MATERIAL PROTEICO DE CARNE; (B) ESPECTRO DO EXTRATO DE LIPÍDEOS TOTAIS; (C) ESPECTRO DA MATRIZ ORIGINAL DE CARNE BOVINA PARA COMPARAÇÃO DAS REGIÕES PERTINENTES A CADA COMPONENTE QUÍMICO.	92
FIGURA 4.11 - ESPECTROS DAS AMOSTRAS DE CARNE BOVINA UTILIZADAS PARA A CALIBRAÇÃO APÓS A ELIMINAÇÃO DA REGIÃO COMPREENDIDA ENTRE 1000 A 1111 (RÚIDO) E DE 1939 A 2016 NM (ÁGUA).	94
FIGURA 4.12 - EXEMPLO DE RETA DE COMPARAÇÃO DOS VALORES REAIS E PREVISTOS DE CALIBRAÇÃO (AZUL) E VALIDAÇÃO (VERDE) GERADAS PELO SOFTWARE BÜCHI.	95
FIGURA 4.13 - GRÁFICO DA ESCOLHA DE VARIÁVEIS LATENTES COM BASE NOS VALORES DO PRESS.	96
FIGURA 4.14 - GRÁFICO DE ACOMPANHAMENTO DA AVALIAÇÃO DA CONSISTÊNCIA DE UM MODELO ESPECÍFICO.	97

FIGURA 4.15 - FORMAÇÃO DE CONGLOMERADO EM REGIÃO DE MENOR TEOR POR AMOSTRAS DE ANIMAIS ABATIDOS EM 2010 (EM VERMELHO).	99
FIGURA 4.16 - (A) ESCORES DOS DADOS DE REFERÊNCIA COM FORMAÇÃO DE DOIS AGRUPAMENTOS – EM VERMELHO, AMOSTRAS DO CONFINAMENTO E EM AZUL, AMOSTRAS DO PASTO; (B) LOADINGS INDICANDO AUMENTO DO TEOR DOS ÁCIDOS LINOLEICO, LINOLÊNICO E ÔMEGA 6 DA ESQUERDA PARA DIREITA.....	100
FIGURA 4.17 - ESCORES DOS ESPECTROS COM EXCLUSÃO DE REGIÕES DE RUÍDO E ÁGUA - NORMALIZADOS E APLICADOS PRIMEIRA DERIVADA.	101
FIGURA 4.18 - ESCORES DOS ESPECTROS DAS AMOSTRAS AxLx E IxRx PARA CONFIRMAÇÃO DE SUAS COMPATIBILIDADES – NORMALIZADOS E APLICADOS PRIMEIRA DERIVADA.....	104
FIGURA 4.19 - CURVA DE CALIBRAÇÃO DE LIPÍDEOS TOTAIS E AGPI CONFIRMANDO A INCOMPATIBILIDADE DAS AMOSTRAS IxRx NA VALIDAÇÃO DESSAS PROPRIEDADES.	105
FIGURA 4.20 - RETA DE COMPARAÇÃO DOS VALORES REAIS EM FUNÇÃO DOS PREDITOS PARA A PROPRIEDADE LIPÍDEOS TOTAIS.....	107
FIGURA 4.21 - GRÁFICOS DE COMPORTAMENTO DOS RESÍDUOS (A) HOMOSCEDÁSTICO DE LIPÍDEOS TOTAIS; (B) HETEROCEDÁSTICO DOS AGPI.....	108

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE MODELOS DE CALIBRAÇÃO MULTIVARIADA EM ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PRÓXIMO PARA ÁCIDOS GRAXOS EM AMOSTRAS DE CARNE BOVINA

A bovinocultura brasileira tem mostrado promissor destaque no mercado internacional quando comparada a outras commodities. Já se conhece o importante papel de ácidos graxos na complementaridade da alimentação humana. Por outro lado, estudos relacionam o consumo de carne bovina com o aumento de índice de doenças associadas com os altos teores do “mau” colesterol (LDL) no sangue. Em virtude dessas duas vertentes que abordam o tema carne (valor nutricional e a saúde humana), a determinação dos teores de ácidos graxos em carne é importante. Entre as metodologias para análise de lipídeos totais e perfil lipídico, se destacam a extração de gordura e a cromatografia, respectivamente. No presente projeto foi proposto o desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para a análise de lipídeos totais e perfil lipídico com o emprego de espectroscopia no infravermelho próximo em amostras de carne bovina cujos teores foram previamente determinados. Foram analisadas dezoito propriedades, entre elas: lipídeos totais e os ácidos graxos mirístico, pentadecílico, palmítico, margárico, esteárico, palmitoleico, oleico, elaídico, linoleico, α -linolênico e as famílias de ácidos graxos com cadeia ramificada, saturados, monoinsaturados (*cis*), linoleicos conjugados (*cis*, *trans*), ômega 3 e 6 e poli-insaturados. Utilizou-se 127 amostras de carne de bovinos entre as etapas de calibração e validação interna (2/3 para a calibração e 1/3 para validação a interna e 32 amostras para validação externa). Empregou-se o método PLSR para construção dos modelos multivariados. Os espectros de carne estenderam-se de 1111 a 1937 nm e de 2016 a 2500 nm, sendo removidas regiões referentes à água e a ruídos, julgados como interferentes no processo de calibração. Avaliou-se o desempenho dos modelos com base nos pré-tratamentos aplicados (alisamento, primeira derivada Savitzky-Golay, SNV), número de variáveis latentes, consistência, SEC, SEP e coeficientes de determinação ($R^2_{cal/val}$). Os modelos escolhidos como tendo melhor capacidade preditiva foram os de lipídeos totais, ácido mirístico, palmítico, margárico e ácidos graxos saturados, demonstrando que a NIRS possui alto potencial na quantificação dos constituintes lipídicos da carne bovina.

Palavras-chave: carne bovina; quimiometria; PLS; infravermelho.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF MULTIVARIATE CALIBRATION MODELS FOR NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY TO FATTY ACIDS IN BEEF SAMPLES

The Brazilian cattle have shown promise prominence in the international market compared to other commodities. It already knows the important role of fatty acids in the complimentary of human nutrition. On the other hand, studies have linked the consumption of beef with increasing rate of diseases associated with high levels of "bad" cholesterol (LDL) in the blood. Because of these two aspects on the topic meat (nutritional value and human health), it is seen necessary to determine the levels of trans fatty acids in meat. Among the methods for analysis of total lipids and lipid profile, stands out the extraction of fat and chromatography, respectively. In this project was proposed to develop multivariate calibration models for the analysis of total lipids and lipid profile with the use of near-infrared spectroscopy in beef samples which the levels were previously determined. Eighteen properties were analyzed, including: total lipids and myristic fatty acids, pentadecylic, palmitic, margaric, stearic, palmitoleic, oleic, elaidic, linoleic, α -linolenic and families of fatty acids with branched, saturated, monounsaturated (cis), conjugated linoleic (cis, trans), and omega 3 and 6 polyunsaturated. We used 127 bovine meat samples from the calibration steps and internal validation (2/3 to 1/3 calibration and validation for internal and 32 external validation samples. We used the PLSR method for the construction of multivariate models. Flesh spectra were extended from 1111 to 1937, and from 2016 to 2500 nm regions, and regions concerning water and noise judged as interfering in the calibration process were removed during the models construction. We evaluated the performance of the models based on the applied pre-treatments (smoothing, first derivative Savitzky-Golay, SNV), the number of latent variables, consistency, SEC, SEP and determination coefficients ($R^2_{cal/val}$). The models chosen as having better predictive capacity were those of total lipids, myristic acid, palmitic acid, margárico and saturated fatty acids, demonstrating that the NIRS has a high potential for the quantification of lipid constituents of the beef.

Keywords: beef, chemometrics, PLS, infrared.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	18
1.1 - Carne Bovina	18
1.1.1 - Aspectos econômicos	18
1.1.2 - Carne bovina, composição e saúde humana.....	21
1.2 - Ácidos graxos.....	26
1.2.1 - Estrutura química e nomenclatura	26
1.2.2 - Classificação dos ácidos graxos.....	27
1.2.3 - Contribuições dos ácidos graxos para os seres humanos.....	30
1.3 - Espectroscopia NIR.....	32
1.3.1 - Breve Histórico	32
1.3.2 - Fundamentação teórica da espectroscopia NIR	33
1.3.3 - Modos de medidas	39
1.3.4 - Vantagens e desvantagens	41
1.3.5 - Aplicações da técnica	42
1.4 - Análise multivariada	48
1.4.1 - Quimiometria	48
1.4.2 - Pré-tratamento dos dados	49
1.4.3 - Desenvolvimento de modelos de regressão	54
1.4.4 - Análise de componentes principais	56
1.4.5 - Regressão por mínimos quadrados parciais	57
2 - OBJETIVOS	63
2.1 - Objetivos Gerais.....	63
2.2 - Objetivos Específicos	63
3 - METODOLOGIA	64
3.1 - Escolha de amostras.....	64
3.2 - Análise de extração de lipídeos totais	65
3.3 - Análise cromatográfica.....	66
3.3.1 - Preparação de ésteres metílicos	66
3.3.2 - Etapa Cromatográfica.....	66
3.4 - Granulometria	67
3.5 - Análise em espectroscopia de infravermelho próximo	68

3.5.1 - Instrumentação e software	68
3.5.2 - Condicionamento das amostras antes da aquisição dos espectros	70
3.5.3 - Aquisição de espectros FT-NIRR	72
3.6 - Liofilização	72
3.7 - Extração de lipídeo total.....	73
3.8 - Construção dos modelos PLSR	74
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.1 - Valores de referência para lipídeos totais e perfil lipídico em carne bovina .	76
4.2 - Verificação inicial dos dados	77
4.3 - Granulometria	79
4.4 - Interpretação de espectros NIR	82
4.5 - Análise exploratória dos dados	84
4.6 - Seleção de variáveis	86
4.6.1 - Liofilização	86
4.6.2 - Coeficientes de regressão dos modelos	90
4.6.3 - Extração de gordura	92
4.7 - Desenvolvimento de modelos PLS	93
CONCLUSÕES	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110
APÊNDICE A.....	118
APÊNDICE B.....	125
APÊNDICE C	126
APÊNDICE D	127
APÊNDICE E.....	131
APÊNDICE F.....	132

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Carne Bovina

1.1.1 - Aspectos econômicos

A carne bovina foi fundamental no assentamento dos alicerces do Brasil colonial, tendo inicialmente participado como produto de comércio secundário aos artigos comercializados na época. Com o passar do tempo ocorreu o deslocamento da bovinocultura para a região Sul, em função das boas condições para criação dos animais, sendo que no século XVIII o abastecimento das regiões Sudeste e Nordeste ocorria a partir do Rio Grande do Sul. Três séculos depois outro ciclo foi iniciado, desta feita com a conquista do mercado internacional, quando o Brasil se tornou o maior exportador mundial de carne bovina.

No início do século XX até aproximadamente a I Primeira Guerra Mundial alocaram-se no território brasileiro os primeiros grandes frigoríficos estrangeiros. A partir de então houve um aumento da área reservada à pastagem para alimentação do gado. Entre 1940 e 1967 as pastagens sofreram um aumento de quase 35 milhões de hectares e o rebanho mais que dobrou, passando de 44,6 milhões para 90 milhões nesse mesmo período. A bovinocultura sempre teve facilidade de implantação, por ser uma atividade que não demandava muita mão de obra, custeio relativamente baixo e inicialmente poderia ser implantada em solos exauridos e de baixa fertilidade.

A expansão da pecuária era notória, encontrando ambiente em regiões como Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso.

Todos os aspectos direcionavam o Brasil para ser um grande produtor de carne bovina. Em documento do Departamento de Comércio dos Estados Unidos foi dada a seguinte informação:

“A capacidade de produção para o abate e processamento de carne bovina e suína está crescendo e sendo modernizada, de modo a preparar o Brasil para entrar no mercado mundial de

forma realmente grandiosa em 1977”¹.

O rebanho brasileiro ganhou maiores dimensões na década de 1980, com a inclusão da Região Amazônica, com o objetivo de tornar o Brasil, em pouco tempo, um grande exportador de carne.

Ao longo dos anos 90 o mercado mundial de carne bovina começou a despertar para os cuidados sanitários, envolvendo toda a cadeia produtiva. Verificase que na década de 1990 o mercado mundial de carne bovina passa por alguns contrastes, ou seja, a primeira metade da década foi marcada por um crescimento médio de 7,4% a.a., enquanto na segunda metade observa-se uma relativa constância com crescimento médio de apenas 0,4%.

A principal causa dessa diminuição foi justificada pela incidência da encefalopatia espongiforme bovina (EEB - mal da vaca louca) como narra ABREU (2006), além de constantes surtos de febre aftosa no restante do mundo. Esses acontecimentos impactaram a economia no Brasil, com maiores consequências quando no começo de 2001 o governo canadense proíbe a importação de carne brasileira alegando que estaria contaminada pela EEB (DIEHL, 2016).

Outros graves surtos são observados em todo o mundo com o surgimento de focos de febre aftosa no Reino Unido em 2001, e por ocorrências tais como a peste suína, que atingiu a Bélgica em 1998 e a gripe aviária em 2003, originária dos países asiáticos, atingindo os EUA e o norte europeu (ALMEIDA e MICHELS, 2012).

Segundo SOUZA (2008) é entre 2003 e 2005 com os casos de encefalopatia espongiforme bovina envolvendo os EUA que ocorre a diminuição da participação americana no mercado, enquanto a Argentina e a Inglaterra tinham problemas com febre aftosa. Nesse contexto que o comércio brasileiro se destaca, chegando ao que se conhece hoje. SOUZA (2008) fez um apanhado da evolução das exportações brasileiras de carne entre 1995 e 2007 e verificou que em apenas cinco anos (de 2000 a 2005) a participação brasileira tem um incremento, com a duplicação de suas exportações (Figura 1.1).

¹SCHLESINGER, S. O gado bovino no Brasil. Disponível em: <https://br.boell.org/sites/default/files/downloads/Texto_Gado_Boll_2009-4.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2016.

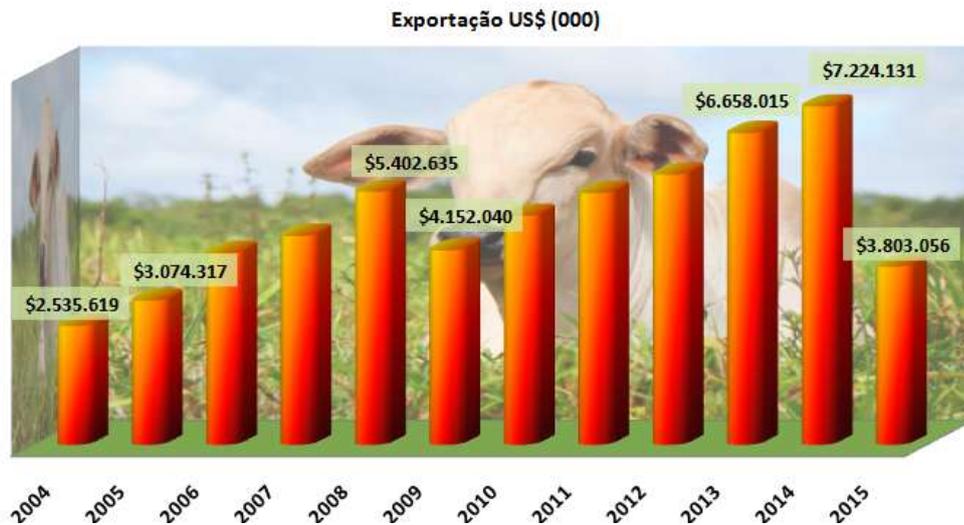


FIGURA 1.1 - Evolução das exportações brasileiras de carne entre 1995 e 2007 bilhões de dólares.

Fonte: SOUZA, 2008.

A década de 2000 foi marcada pela consolidação do Brasil como potência na produção e exportação de carne bovina, sendo que em 2004 o Brasil assume a liderança nas exportações. O país possui um quinto da carne comercializada internacionalmente, além das vendas atingirem mais de 180 países. Também é responsável pelo segundo maior rebanho comercial do mundo, com aproximadamente 200 milhões de cabeças de gado. O clima tropical e a extensão territorial do Brasil (8,5 milhões de km²) contribuem para esse resultado, uma vez que permitem a criação da maioria do gado em pastagens (MAPA, 2016).

Em termos de posição do ranking dos destinos da carne bovina brasileira, Rússia, Hong Kong, Irã, Egito e Venezuela se mostram como os principais compradores do produto brasileiro.

O ano de 2014 apresentou bom desempenho das exportações brasileiras de carne bovina, sendo favorecido pela reabertura do mercado chinês e pelo embargo russo às importações da carne da União Europeia, da Austrália e dos Estados Unidos (IBGE, 2016). Mesmo nestas condições, no momento, o Brasil se encontra em segundo lugar nas exportações cedendo lugar à Índia.

Num levantamento feito de 2004 de quando o Brasil chegou ao ranking de maior exportador, até 2015, observa-se um grande faturamento do comércio da carne bovina, inclusive evidenciando o bom faturamento em 2014 (Figura 1.2).

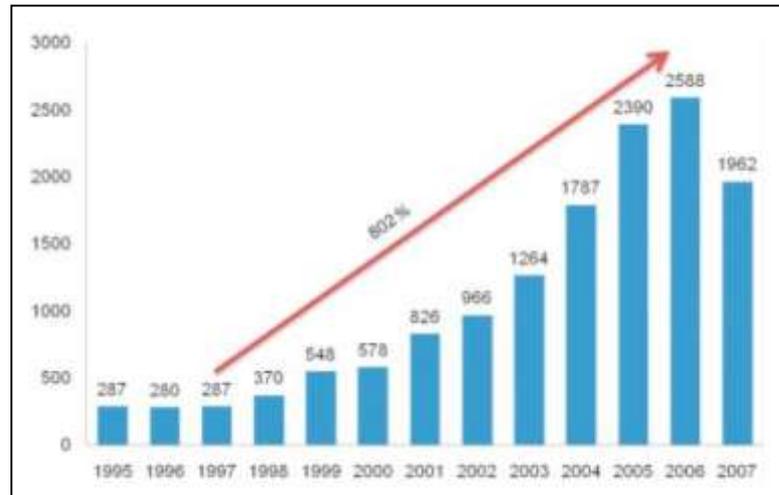


FIGURA 1.2 - Evolução no faturamento das exportações entre 2004 e 2015.

Fonte: IBGE, 2016

1.1.2 - Carne bovina, composição e saúde humana

O consumo de carne pelo homem é recomendado em função da disponibilidade de constituintes indispensáveis a sua saúde. Juntamente com os nutrientes dos demais grupos de alimentos, faz parte de uma dieta balanceada. A carne é definida como a musculatura dos animais usada como alimentos (LAWRIE, 2005). Esse conceito ainda pode adquirir maior extensão, pois, além da musculatura, órgãos como o fígado e os rins, o cérebro e outros tecidos comestíveis, podem ser englobados nessa categoria.

As carnes possuem composições variadas e complexas, sendo, em geral, constituídas por 60 a 80% de água e 15 a 25% de proteína, sendo o restante formado, principalmente, por gorduras, sais, pigmentos e vitaminas (BRAGAGNOLO, 2001).

A carne pode ser considerada como um alimento nobre para o homem, pois serve para a produção de energia, para a produção de novos tecidos orgânicos e para a regulação dos processos fisiológicos, como mostrado a seguir:

Proteínas: As proteínas desempenham um papel vital no nosso organismo, participando na formação não só de vários tecidos, como a pele e músculos. Especificamente, a proteína miofibrilar apresenta elevado valor biológico pela disponibilidade de aminoácidos essenciais e pela alta digestibilidade dos

mesmos. No processo de digestão 95% a 100% dos aminoácidos são captados pelo organismo humano, sendo que a carne tem todos os aminoácidos essenciais e em proporção equilibrada. O valor proteico varia conforme o corte do animal;

Lipídeos: O teor lipídico sofre grande variação na carne bovina a depender do sexo, raça, alimentação e corte. A gordura da carne, além do aspecto energético, é importante pelos ácidos graxos essenciais, colesterol e vitaminas lipossolúveis, sendo também indispensável para os aspectos organolépticos de sabor e uso culinário. A gordura da carne possui em torno de 99% de ésteres de glicerol com ácidos graxos; uma quantidade considerável de fosfolipídeos e de constituintes insaponificáveis como o colesterol. Somente três ou quatro ácidos graxos estão presentes em quantidades substanciais na gordura dos animais de corte – oleico, palmítico e esteárico (LAWRIE, 2005).

Os ácidos graxos podem ser classificados em saturados (ácidos graxos sem dupla ligação em suas cadeias) e insaturados (ácidos graxos com uma ou mais duplas ligações em suas cadeias), os quais podem ser divididos em monoinsaturados (com uma insaturação ou dupla ligação) e poli-insaturados (com duas ou mais insaturações, respectivamente). Destes, na carne bovina, a contribuição percentual é de 54,8% para os saturados, 41,6% para os monoinsaturados e 3,2% para os poli-insaturados (Figura 1.3).

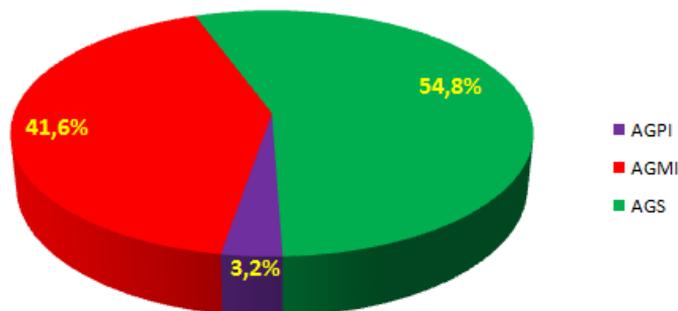


FIGURA 1.3 - Gráfico de porcentagem das famílias de ácidos graxos mais abundantes na carne bovina.

Entre os ácidos graxos individuais, o ácido mirístico, palmítico, esteárico, palmitoleico, oleico e linoleico são os mais abundantes na carne bovina cooperando com quase 90% do total (LOBATO e FREITAS, 2006) como representado pela Figura 1.4.

A carne bovina também contém os ácidos graxos essenciais conhecidos como $\omega 3$ e $\omega 6$, além do ácido linoleico conjugado (ALC), encontrado apenas em produtos de ruminantes, que tem se mostrado como anticarcinogênico, antiarterosclerose, antitrombótico, hipocolesterolêmico, imunoestimulatório, atuando no aumento de massa muscular, reduzindo a gordura corporal e prevenindo diabetes (LOBATO e FREITAS, 2006).

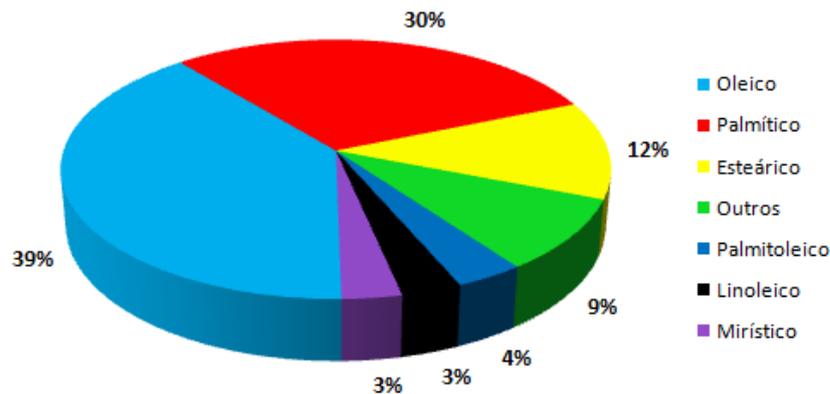


FIGURA 1.4 - Gráfico de porcentagem dos ácidos graxos individuais mais abundantes na carne bovina.

Vitaminas: A carne é constituída de todas as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e aquelas do complexo B (tiamina, riboflavina, nicotinamida, piridoxina, ácido pantotênico, ácido fólico, niacina, cobalamina e biotina). Os alimentos de origem animal são as únicas fontes de vitamina A biologicamente ativa. As vitaminas tem principal importância, pois atuam nas enzimas do organismo humano. As vitaminas do complexo B (B3, B6 e B12) tem apreciada função no crescimento e manutenção do corpo humano. Podemos detalhar outras funções.

a) B3, B6 e B12 contribuem:

- Para o metabolismo produtor de energia;
- Para o funcionamento do sistema nervoso;
- Para a função psicológica;
- Para a manutenção de mucosas normais;
- Para manutenção de uma pele normal;
- Para a redução do cansaço e da fadiga;

b) B6 contribui:

- Para a síntese da cisteína;
- Para o metabolismo das proteínas e do glicogênio;

- Para regulação da atividade hormonal;
- c) B12 contribui:
 - Para o processo de divisão celular;
- d) B6 e B12 contribuem:
 - Para o funcionamento do sistema imunológico;
 - Para a formação de glóbulos vermelhos;
 - Para o metabolismo da homocisteína.

Minerais: A carne bovina possui todos os minerais essenciais ao ser humano, destacando-se a presença de ferro (Fe), fósforo (P), sódio (Na), magnésio (Mg) e zinco (Zn). A carne fornece expressiva quantidade de ferro, inclusive uma forma particular, chamado de ferro hemínico, o qual de 40 a 60% é absorvido pelo metabolismo humano.

Água: Verifica-se que em animais mais jovens a proporção de água é maior, no entanto em músculos com maior quantidade de gordura esse teor diminui. A água possui função de transporte e serve de veículo para nutrientes tanto orgânicos quanto inorgânicos (EMBRAPA, 1999).

Segundo VALLE (2000), a partir do século XX em função das mudanças nos hábitos alimentares e no estilo de vida da população aumentaram os casos de incidência de doenças cardiovasculares causa de mortalidade nas sociedades desenvolvidas, devendo-se ao elevado consumo de gorduras, em especial as de origem animal por aumentarem os níveis de colesterol.

Mesmo oriunda de uma composição aparentemente saudável e valiosa, a carne bovina tem sofrido rejeição por parte dos consumidores e grupos de mídia que associam-na a um alimento “ruim” devido a seu “elevado teor” de gordura saturada.

Segundo VARELLA (2011), estudos desenvolvidos pelo bioquímico americano John Gofman na década de 1950 indicaram que a gordura do sangue de coelhos alimentados com colesterol era composta por duas frações. Estavam descobertos o HDL (Lipoproteína de Alta Densidade) e o LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade). Gofman descobriu ainda que essa fração LDL encontrava-se elevada nos coelhos que desenvolviam aterosclerose (placas), entretanto nos 10% de animais que não a formavam, mesmo com dieta rica em colesterol, a maior parte da gordura era transportada sob a forma de HDL. Havia então um colesterol “bom” (HDL) e outro “ruim” (LDL).

Numa maneira de verificar a autenticidade da descoberta foram realizados testes em seres humanos, quando em anos mais tarde o mesmo grupo separou as frações de colesterol contidas em dois grupos de homens. No primeiro, foram estudados indivíduos que haviam sofrido e se recuperado de ataques cardíacos. No segundo, indivíduos saudáveis. Os autores verificaram que os níveis de LDL eram bem mais altos nos homens “cardíacos” e os de HDL, nos normais. A descoberta do LDL como agente causador da aterosclerose aparentemente explicava porque algumas pessoas têm ataque cardíaco apesar de apresentar níveis normais de colesterol total.

Por fim, ainda em citação do mesmo autor, para aumentar a confusão sobre a gordura tida como ruim e boa, em 1952, o grupo do especialista em nutrição, L. Kinsey demonstrara que dietas compostas de vegetais e baixos teores de gordura animal reduziam o colesterol majoritariamente dos seres humanos. Posteriormente, um grupo chefiado por E. Ahrens, da Universidade de Rockefeller verificou que as gorduras vegetais reduziam o colesterol graças à insaturação de suas moléculas. Os animais aumentavam seus valores por terem moléculas saturadas.

No trabalho de VALLE (2000), sobre consumo de carne, são destacados alguns fatores que contribuem para o risco de ingestão de alimentos cuja composição contém gordura, como os “não-controláveis” e os “controláveis”. Os primeiros são a idade e o histórico familiar (genético) e no segundo é caracterizado pela inatividade física, fumo, obesidade, diabetes, pressão alta, altos níveis de colesterol total e LDL-colesterol e baixos níveis de HDL-colesterol. Observa-se, no entanto, que a ingestão de gorduras de origem animal não deve ser considerada isoladamente, pois a associação desses fatores pode ser prejudicial à saúde humana. Outro ponto importante é salientar que o consumo inadequado de gorduras de origem animal ou vegetal representa um fator de risco importante no desenvolvimento dessas doenças. Por isso, avaliações precipitadas e sem fundamento científico condenaram a carne bovina no cardápio.

1.2 - Ácidos graxos

1.2.1 - Estrutura química e nomenclatura

Os lipídeos da dieta originam-se de fontes animal, vegetal e marinha, dos quais podem ser incluídos os ácidos graxos. Na indústria, os ácidos graxos representam 30-35% do total da energia captada em muitos países industrializados (RUSTAN e DREVON, 2005). A maioria dos lipídeos constituem estruturalmente de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, chamados de triacilgliceróis, sendo conhecidos da mesma maneira os monoacilgliceróis e diacilgliceróis (BELL et al., 1997). Os ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos com cadeia hidrocarbônica alifática, hidrofóbica e possuem em geral número par de átomos de carbono que variam entre 2 a 36 unidades carbônicas (NELSON e COX, 2002; BELL et al., 1997), contudo existem relatos de ácidos graxos com até 80 unidades carbônica (LUNN e THEOBALD, 2006). Os ácidos graxos possuem adicionalmente à sua cadeia uma terminação hidrofílica conferindo-o uma natureza anfipática. Podem ser classificados em saturados, monoinsaturados (contém uma ligação dupla) e poli-insaturados (contém duas ou mais ligações duplas). Os ácidos graxos majoritariamente encontrados na natureza variam entre 12 e 24 átomos de carbono, sendo os mais abundantes aqueles constituídos com C₁₆ e C₁₈.

Dependendo do tamanho da cadeia carbônica, do número e da posição das duplas ligações (*cis* e *trans*), os lipídeos possuem diferentes propriedades físicas e químicas.

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry* - IUPAC) é a entidade responsável por padronizar a nomenclatura dos ácidos graxos. A entidade leva em consideração o número de átomos de carbono, a presença ou não de insaturação, além da posição da insaturação e do grupo funcional (IUPAC, 1979).

Uma simples maneira de representar o ácido graxo é pelo número de carbonos e pelo grau de insaturação, indicando o número de duplas ligações, se é zero (AGS) ou 1,2 e 3, no caso de ser respectivamente mono, di e tri-insaturados. Por exemplo, o ácido esteárico C₁₈:0, oleico C₁₈:1. Outra maneira mais simplificada

é suprimir a letra C, ou seja, 18:0, 18,1 (BOEKENOOGEN, 1960).

Convencionalmente, a nomenclatura química utilizada é a sistemática, cuja contagem das unidades carbônicas da cadeia inicia-se a partir do grupo carboxila terminal. Os átomos de posição 2 e 3, adjacentes ao grupo carboxila, são conhecidos de α e β , respectivamente, enquanto o último carbono é o ω - ou n-carbono. As duplas ligações são dispostas a partir do carbono mais próximo do grupo carboxila e é designada por Δ (letra grega - delta maiúscula) seguido de um número sobrescrito ao delta, a exemplo, Δ^9 , ou seja, a dupla se encontra entre os carbonos 9 e 10. Contudo, uma prática aceita é descrever a estrutura química das moléculas dos ácidos graxos iniciando pela numeração dos carbonos no grupo metil (ω - ou n-) (ROSE e CONNOLLY, 1999).

É conveniente elucidar o emprego dos termos ácidos graxos “saturados” e “insaturados” e entender na essência o que significa. Quando a literatura se refere à insaturação, tem-se a ideia de duplas e triplas ligações entre átomos de carbono, neste caso. No entanto o termo insaturação deve ser interpretado como não concentrado de algo. Daí o termo “insaturação” se torna adequado, pois se associa a não concentrado de átomos de hidrogênio, o que significa dizer que existem carbonos na molécula os quais atingem a configuração octeto, mas não pela utilização máxima de átomos de hidrogênio, e sim pela utilização de duplas e triplas ligações. As moléculas saturadas tem o mesmo sentido, sendo estas formadas de átomos de carbono concentrados de átomos de hidrogênio, ou seja, moléculas cujos átomos de carbono atingiram a configuração octeto pela inserção máxima de átomos de hidrogênio a um carbono específico.

1.2.2 - Classificação dos ácidos graxos

1.2.2.1 - Ácidos graxos saturados

Na natureza a maioria dos ácidos graxos se encontra na forma de cadeia de hidrocarbonetos lineares e sem insaturações ligada a um grupo carboxílico. Os ácidos graxos saturados são encontrados tanto em animais quanto

em vegetais, sendo maioria entre os animais. De acordo com O'KEEFE (2008) o ácido metanóico (fórmico) pode ser citado como pertencente aos ácidos graxos saturados. Assim como o ácido metanóico, os ácidos etanóico e propanóico também pertencem a essa classificação, no entanto não é comum essa classificação em função da definição de lipídios, que menciona ácidos graxos como moléculas não solúveis em água, sendo omitido, inclusive o ácido butanóico.

Entre os ácidos graxos saturados mais abundantes em carne podem ser citados os ácidos palmítico (hexadecanóico – C16:0) e esteárico (octadecanóico – C18:0), representados pela fórmula estrutural de traços e bolas (Figura 1.5).

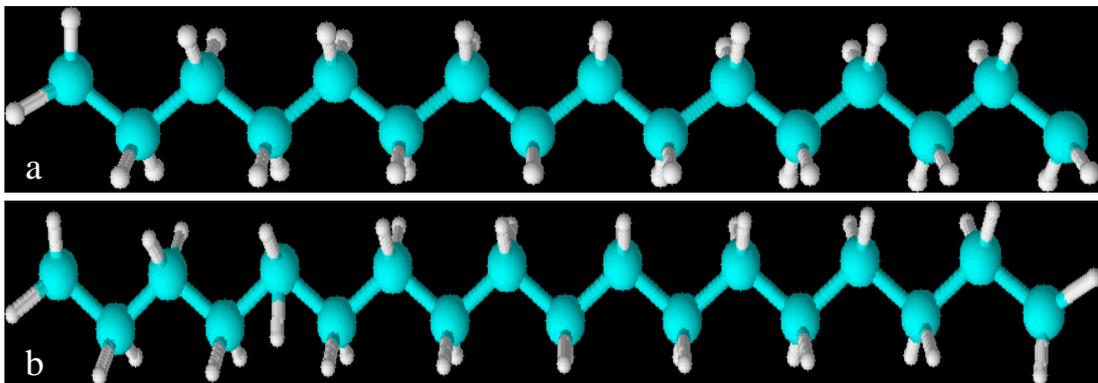


FIGURA 1.5 - Fórmula estrutural de traços e bolas do (a) Ácido Hexadecenóico e (b) Ácido Octadecenóico.

1.2.2.2- Ácidos graxos insaturados

Dos produtos de origem animal e vegetal, os ácidos graxos insaturados mais comuns tem sua cadeia variando de 16–22 átomos de carbono (RUSTAN e DREVON, 2005), podendo citar o ácido oleico (ácido *cis*-9-octadecenóico – C18:1 ω 9) como o mais abundante entre estes, embora mais de 100 tipos monoinsaturados tenham sido identificados na natureza (AKOH e MIN, 2008). A configuração de dupla ligação mais frequentemente encontrada na natureza é a configuração *cis*, já a configuração *trans* é obtida no processo industrial de hidrogenação catalítica em óleos e gorduras naturais e, também, no trato gastrointestinal de ruminantes (RUSTAN e DREVON, 2005). Exemplos de ácidos graxos com configurações *cis* e *trans* estão representados na Figura 1.6. A hidrogenação é usada industrialmente para melhorar a estabilidade oxidativa de

óleos (O'KEEFE, 2008). A molécula que possui dupla ligação de configuração *trans* é linear e mais estável termodinamicamente (RUSTAN e DREVN, 2005) se comparada à molécula com dupla ligação de configuração *cis*, pois a introdução de ligação dupla com configuração *cis* causa uma curvatura ou “torção” na estrutura do ácido graxo. Essa disposição molecular influencia, inclusive, na propriedade de ponto de fusão dos ácidos. O que já se constatou, por exemplo, é que a presença de ligações duplas tem relação direta com a diminuição de temperatura de fusão dos materiais que possuem esse tipo composição de ácidos graxos (PAMELA et al., 2009).

Os ácidos graxos poli-insaturados possuem duas ou mais ligações duplas em suas cadeias hidrocarbônicas. Estes ácidos são caracterizados pela cadeia normal alifática, mas diferem no comprimento, número e posição das duplas ligações. Os mais conhecidos dessa família tem ligações duplas de configuração *cis* as quais são separadas por um grupo metileno (–HC=CH–CH₂–HC=HC–) (GLICK, 1959).

Os ácidos linoleico (*cis* 9,12-octadecadienoico, ω6) e linolênico (*cis* 9,12,15-octadecatrienoico, ω3) são considerados ácidos graxos essenciais por não serem sintetizados pelo organismo humano. Estes podem ser encontrados em plantas, fungos e no fitoplâncton (LUNN e THEOBALD, 2006; RUSTAN e DREVN, 2005). O ácido linoleico é abundantemente encontrado, também, em óleos vegetais (de soja e milho). O teor desse ácido é significativamente maior na carne de suíno do que na carne bovina ou ovina. Já o ácido linolênico está presente nos tecidos de plantas frondosas (LAWRIE, 2005).

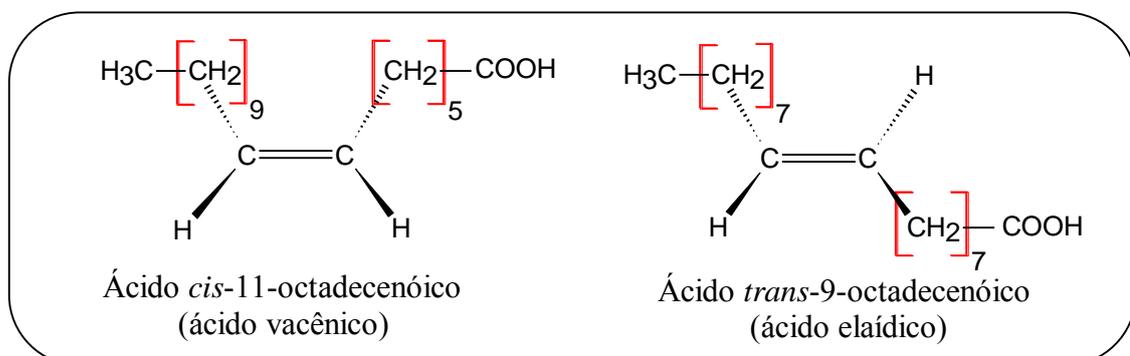


FIGURA 1.6 - Estrutura química dos ácidos vacênicos e eláidico.

1.2.3 - Contribuições dos ácidos graxos para os seres humanos

De maneira geral é vasta a contribuição dos ácidos graxos para o metabolismo dos organismos vivos, podendo destacar: energética – os lipídeos na forma de ácidos graxos se destacam pela capacidade de armazenamento energético (nos triglicerídeos), sendo responsáveis pela geração de energia no processo de oxidação celular; estrutural – os lipídeos são os principais constituintes da membrana celular e responsáveis por manter integridade celular, forma e flexibilidade, além de funcionarem como barreira impedindo a passagem de moléculas polares e íons; processos fisiológicos – os lipídeos estão envolvidos na produção de eicosanóides e respostas imunes; absorção de vitaminas – os lipídeos devido à sua hidrofobicidade ajudam no transporte e absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K); palatabilidade – os lipídeos tem relação com o sabor, odor, textura dos alimentos e na sensação de saciedade (GÓMEZ, 2003; LUNN e THEOBALD, 2006).

Os ácidos graxos essenciais linolênico e linoleico pertencem as famílias dos ácidos ômega 3 e 6, respectivamente, os quais são precursores dos ácidos graxos de cadeias longas como o 5,8,11,14,17- eicosapentaenoico (EPA) e o 4,7,10,13,16,19 - docosahexaenoico (DHA), importante na saúde humana (LUNN e THEOBALD, 2006). Suas obtenções empregam reações envolvendo as enzimas alongase e dessaturase, responsáveis pela adição de dois átomos de carbono e a adição de uma dupla ligação *cis*, respectivamente. A Figura 1.7 ilustra o metabolismo dos ácidos graxos α -linolênico e linoleico, resultando na produção dos ácidos EPA, DHA e araquidônico, nessa sequência (RUSTAN e DREVON, 2005). O ácido araquidônico e EPA são precursores de composto de chamados eicosanóides (prostaglandinas, troboxanas e leucotrienos) que tem funções fisiológicas e regulatórias importantes, a exemplo da coagulação sanguínea.

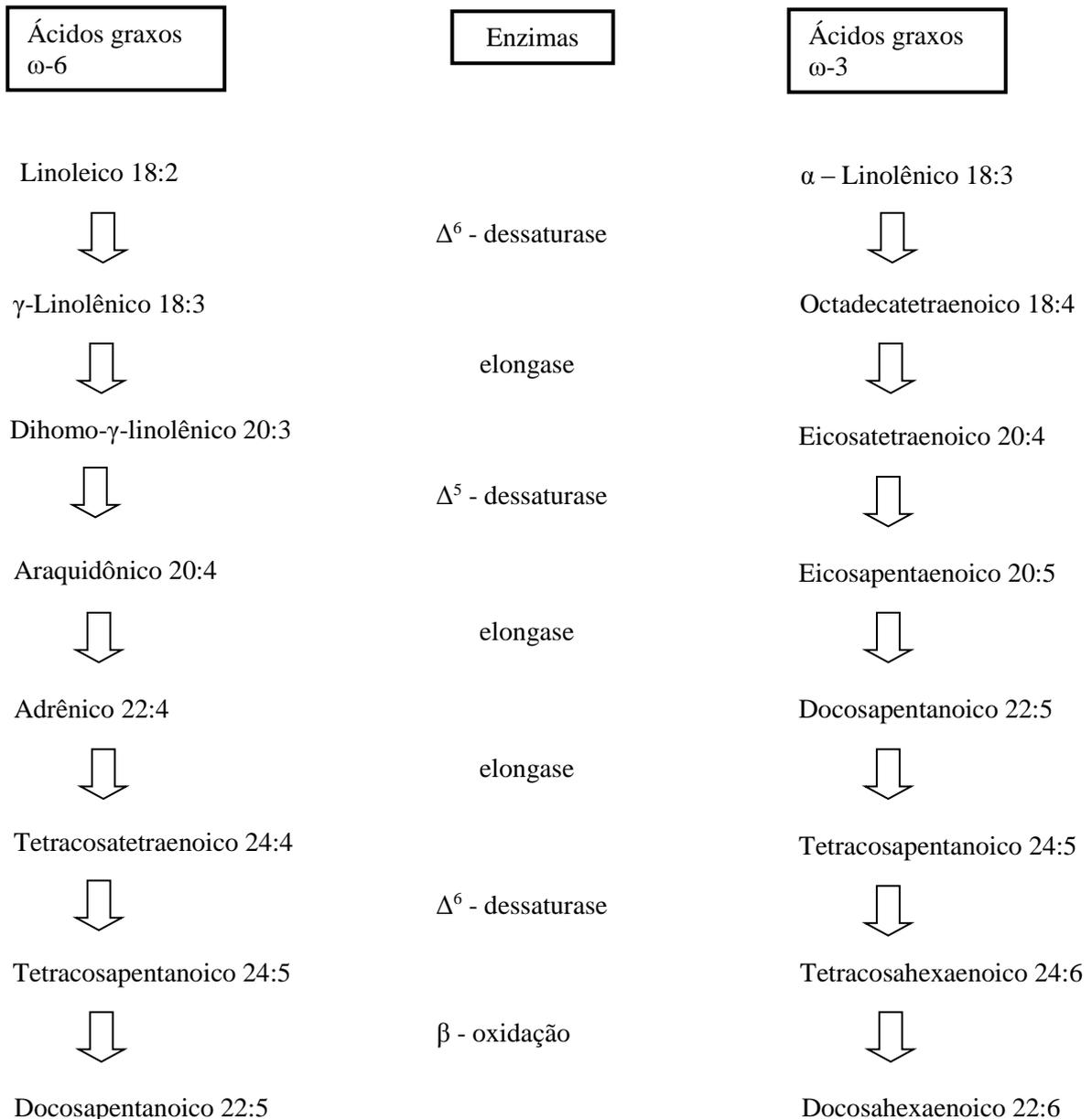


FIGURA 1.7 - Metabolismo dos Ácidos Graxos Linoleico e Linolênico.

Fonte: RUSTAN e DREVON, 2005

O consumo de ácidos graxos poli-insaturados ω -6, principalmente o linoleico, diminui o colesterol plasmático quando substitui gordura saturada. A deficiência de ácidos graxos essenciais é caracterizada por dermatite, perda de cabelo, anormalidades visuais e neurológicas e cicatrização deficiente (CHAMPE, 2009). Os ácidos graxos linoleico, linolênico e araquidônico são constituintes necessários as paredes celulares das mitocôndrias e de outros sítios metabólicos intensamente ativos e só podem ser adquiridos por meio da dieta (LAWRIE, 2005).

Em estudo realizado por AMMANN et al. (2013), os ácidos docosahexaenóico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) tem associação protetora

com os domínios específicos das funções cognitivas de mulheres na idade de 65 anos em diante.

Ao contrário dos ácidos poli-insaturados, os saturados tem sido alvo de muitas críticas. Segundo BRAGAGNOLO (2001) os ácidos graxos saturados são considerados hipercolesterolêmicos, sendo os mais preocupantes, nesse ponto de vista, o mirístico (14:0), láurico (12:0) e palmítico (16:0). Ainda segundo a autora, deve-se ter preocupação também com os ácidos graxos insaturados *trans* oriundo do processo de hidrogenação catalítica de óleos e gorduras (o teor de ácidos graxos *trans* é baixo na gordura de animais ruminantes), pois são considerados mais aterogênicos que os saturados (seu consumo aumenta o nível de LDL e diminui o nível de HDL).

1.3 - Espectroscopia NIR

1.3.1 - Breve Histórico

A descoberta da região relacionada ao infravermelho foi feita pelo astrônomo (descobridor do planeta Urano), compositor alemão e naturalizado inglês, William Hershel em 1800, o qual pesquisava que radiação do espectro visível tinha a capacidade de gerar aquecimento a partir dos raios solares. Hershel observou que fora da região do visível (difratada por um prisma), além da região do vermelho (daí por isso chamar de infravermelho, pois a região se localizava abaixo do vermelho – latim *infra*, abaixo de), havia aquecimento de uma superfície de contato da luz (DE MUÑIZ et al., 2012). Com a evolução da espectroscopia de infravermelho, sobretudo com aplicações no período compreendido pela Segunda Guerra Mundial, surge a personalidade de Karl Norris (1960) que viria alavancar a aplicação da NIRS em laboratórios de todo o mundo. O jovem engenheiro Karl Norris fazia parte do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América e desenvolveu pesquisas voltadas ao emprego da espectroscopia NIR na análise de alimentos, especificamente na avaliação do conteúdo de água em farinha de trigo (Figura 1.8) (BOSCO, 2010a).

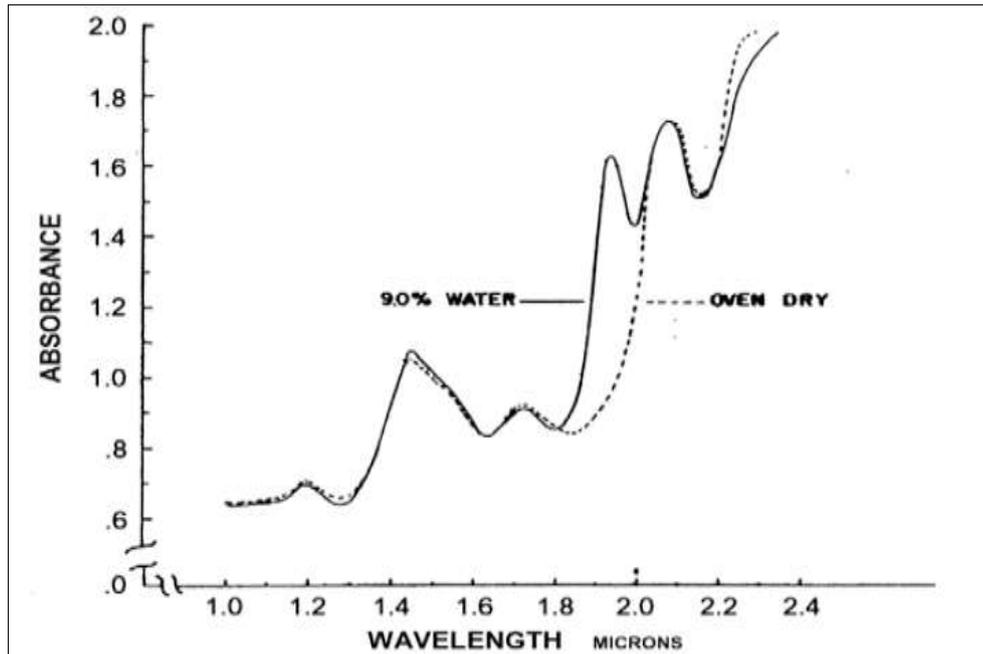


FIGURA 1.8 - Primeiro espectro de farinha de trigo obtido por Karl Norris para verificação de água.

Fonte: BOSCO, 2010

Segundo BOKOBZA (1998), já na década de 1980, era grande a procura por equipamentos de infravermelho próximo devido às melhorias instrumentais, que incluíram a possibilidade de tratamento dos dados e a utilização de acessórios de fibra óptica, os quais permitiam maior captação e transferência de informação.

1.3.2 - Fundamentação teórica da espectroscopia NIR

A espectroscopia de infravermelho próximo, assim como as várias técnicas que empregam radiação eletromagnética, trata da interação dessa radiação com a matéria em geral (sólida, líquida e gasosa). Entre as interações da radiação com a matéria, para fins quantitativos, as mais aplicáveis envolvem transições radioativas entre vários níveis energéticos das espécies químicas (átomos e moléculas) que diferem a depender do comprimento de onda. As possíveis interações da radiação com a matéria podem atingir nível translacional, rotacional, vibracional e eletrônico (dentro de uma faixa espectral), assim ilustrado pela

Equação 1.1.

$$E_{\text{total}} = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} + E_{\text{translacional}} \quad (1.1)$$

A região do infravermelho corresponde à região do espectro eletromagnético situada entre as regiões do visível (VIS) e micro-ondas a qual pode ser discriminada em radiação no infravermelho próximo (NIR, do inglês near infrared), médio e distante, sendo definida como a faixa de comprimentos de onda compreendida, aproximadamente, entre 780 a $1,0 \cdot 10^6$ nm ou de 12.800 cm^{-1} a 10 cm^{-1} (Tabela 1.1). A ilustração do espectro eletromagnético na Figura 1.9, permite observar a localização da região do infravermelho frente às outras regiões.

TABELA 1.1 - Regiões espectrais do infravermelho.

Região	Número de onda ($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Comprimento de onda (λ), nm	Frequência (ν), Hz
Próximo	12.800 a 4000	780 a 2.500	$3,8 \cdot 10^{14}$ a $1,2 \cdot 10^{14}$
Médio	4000 a 200	2.500 a 50.000	$1,2 \cdot 10^{14}$ a $6,0 \cdot 10^{12}$
Distante	200 a 10	50.000 a 1.000.000	$6,0 \cdot 10^{12}$ a $3,0 \cdot 10^{11}$

Fonte: SKOOG et al., 2002

A radiação infravermelha possibilita interação com a matéria por mecanismos vibracionais e rotacionais. Consiste restritivamente na absorção da radiação por espécies moleculares que tenham diferenças de energia pequenas entre vários estados vibracionais e rotacionais quantizados. Para absorver essa radiação uma molécula precisa sofrer uma variação rítmica no momento de dipolo como resultado desses movimentos. Não é observada nenhuma variação efetiva no momento de dipolo durante a vibração e rotação de uma molécula homonuclear, como O_2 , N_2 ou Cl_2 , não sendo possível nenhuma dessas substâncias absorver no infravermelho.

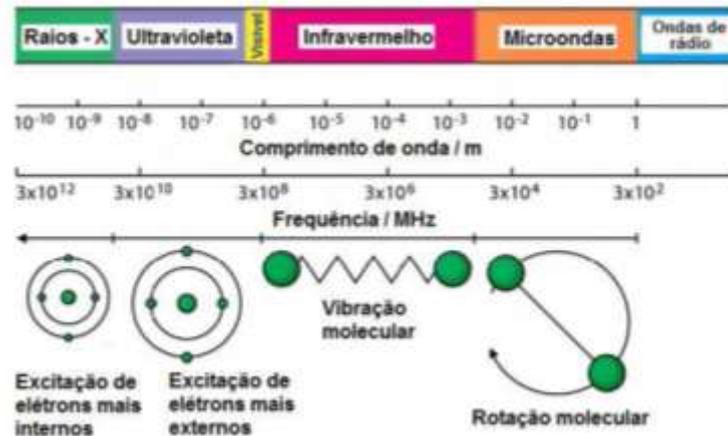


FIGURA 1.9 - Espectro eletromagnético incluindo a região do infravermelho.

Fonte: SILVA, 2011

Nessas circunstâncias o campo elétrico alternado da radiação consegue interagir com o campo elétrico gerado pela alternância de vibração de distribuição de carga da molécula e causar variações na amplitude em um de seus movimentos, ou seja, a molécula absorve essa radiação causando uma transição radioativa com conseqüente excitação da amplitude de onda e posterior relaxação à amplitude inicial.

As vibrações possíveis são categorizadas em estiramento ou alongamento (stretching) e deformação angular (bending). A vibração de estiramento consiste na variação contínua na distância interatômica axial ao eixo de ligação entre dois átomos, sendo subdivididas em estiramento simétrico e assimétrico. As vibrações de deformação angular consistem da variação angular entre duas ligações e são caracterizadas por quatro tipos: tesoura (do inglês, scissoring), balanço (rocking), sacudida (wagging) e torção (twisting). Os vários tipos de vibração estão ilustrados esquematicamente na Figura 1.10.

massas ligadas por uma mola. O modelo do oscilador harmônico pode ser descrito por uma função parabólica (Equação 1.3), como representado pela Figura 1.11.

$$E_p = \frac{1}{2}kx^2 \quad (1.3)$$

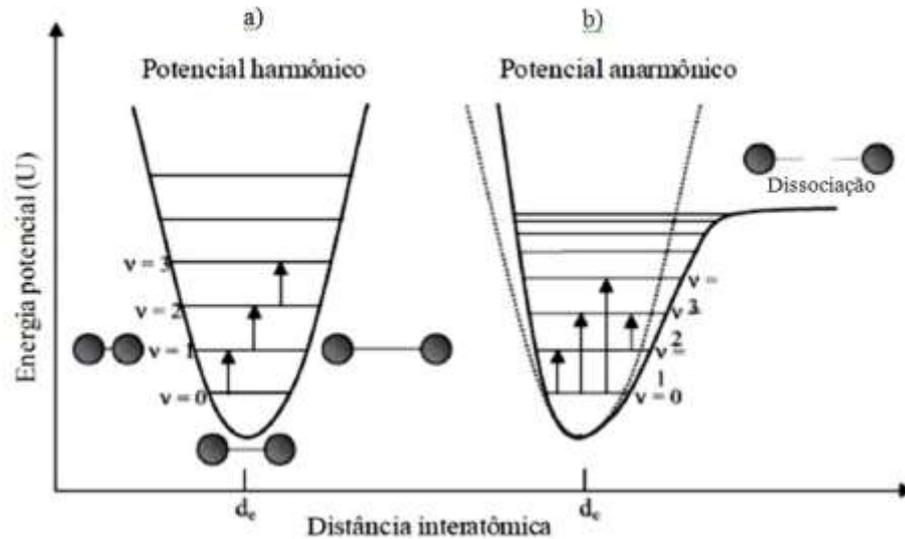


FIGURA 1.11 - Gráficos dos modelos (a) Harmônico e (b) Anarmônico.

Fonte: LIMA, 2013.

Não é possível utilizar as equações do modelo mecânico clássico para descrever o comportamento vibracional atômico, dessa forma, é necessário dar a essa abordagem clássica um tratamento quântico, o qual resulta em um modelo mecânico quântico descrito pela Equação 1.4 seguinte,

$$E_p = \left(\nu + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1.4)$$

onde h é a constante de Planck, k é a constante da força da ligação, μ é a massa reduzida e ν é o número quântico vibracional, que pode tomar valores somente positivos e inteiros, com inclusão do zero (SKOOG et al., 2002). A partir de algumas considerações do modelo mecânico quântico só serão permitidas transições entre níveis discretos e adjacentes de energia vibracional, variando de uma unidade de frequência – $\Delta\nu = \pm 1$ (regra de seleção).

Como ilustrado na Figura 1.11 (b), para as oscilações anarmônicas a

separação entre os níveis vibracionais já não é igualmente espaçada e diminui à medida que a energia potencial aumenta, dando origem a transições $\Delta v = \pm 2$ ou ± 3 responsáveis pelo aparecimento de linhas harmônicas não fundamentais, cuja intensidade de absorção é frequentemente pequena e os picos podem não ser observados (sobretons que aparecem no NIR).

A região de infravermelho próximo é formada por bandas de absorção correspondentes a sobretons (overtones) e combinações de vibrações fundamentais na forma de X-H, onde X pode ser substituído por carbono, nitrogênio e oxigênio. Outros tipos de vibração que estão presentes na NIRS referentes a vibrações de estiramento de ligações duplas de grupo carboxílico (C=O) e duplas ligações C=C, além de haletos metálicos (Tabela 1.2). As ligações que envolvem maiores anarmonicidades são aquelas provenientes de hidrogênio, devido este átomo ser leve (BOKOBZA, 1998).

TABELA 1.2 - Regiões espectrais e sinais dos respectivos grupos químicos comumente vistos em NIRS.

Grupo	(λ), nm	($\bar{\nu}$), cm^{-1}	Sinais
-CH ₃ (metil)	2275 – 2285	4400 – 4380	Combinação
-NH ₂ aminas primárias	1520 – 1540	6580 – 6490	1º Sobretom
H ₂ O	1930 – 1940	5280 – 5150	Combinação
C=O (cetonas)	1950	5130	2º Sobretom
-C=CH ₂ (alcanos –vinil)	860 – 870	11630 – 11490	3º Sobretom

Fonte: SIESLER et al., 2006.

De acordo com PAULA et al. (2013), a variação nos resultados decorrentes das diferenças na absorção de luz é devida à natureza das ligações moleculares, à polaridade e geometria das moléculas, às vibrações e ligações químicas, ao tamanho, peso e quantidade de átomos presentes em cada amostra.

As bandas de absorção NIR são tipicamente largas, sobrepostas e de 10 a 100 vezes mais fracas que suas bandas fundamentais na região do infravermelho médio (do inglês, *Medium Infrared* - MIR). Sua instrumentação permite obtenção de alta razão sinal/ ruído de 10000:1 segundo BÜNING-PFAUE (2003). A baixa absorvidade, no entanto, permite alta profundidade de penetração. Esse aspecto constitui uma vantagem analítica, pois permite análises diretas de fortes absorventes e nivela amostras com espalhamento, como os líquidos turvos ou sólidos nos modos de refletância ou transmitância sem necessidade de pré-

tratamento. A dependência do sinal analítico NIR em relação às propriedades químicas e físicas da amostra, resultante da absorção e do espalhamento, pode ser favoravelmente usada para realizar análises químicas e físicas em uma única medida (SIMÕES, 2008).

Uma particularidade da NIRS é devida ser uma técnica que apresenta sinais de sobretons e bandas de combinação, muitas vezes não exprimindo claramente a informação química desejada, pois o seu sinal, também, está associado às propriedades físicas da amostra (a exemplo de tamanho de partículas), diferente do que acontece no infravermelho médio, onde as bandas de absorção são diretamente interpretadas e associadas com os componentes químicos.

1.3.3 - Modos de medidas

São utilizados os seguintes os mecanismos de medida na região do infravermelho: absorvância, transmitância e reflectância, sendo que a reflectância tem apresentado muitas aplicações, especialmente para amostras sólidas que são de difícil manipulação, como filmes de polímeros e fibras, alimentos, etc. Adicionalmente, a utilização desse mecanismo permite elevados ganhos especialmente pela fácil preparação da amostra, podendo, inclusive, ser empregado para análise tanto quantitativa quanto qualitativa (SKOOG et al., 2002).

Segundo PASQUINI (2003), reflectância é uma das várias possibilidades de modos de medidas na região de infravermelho próximo, sendo conhecidas outras, como ilustrado na Figura 1.12.

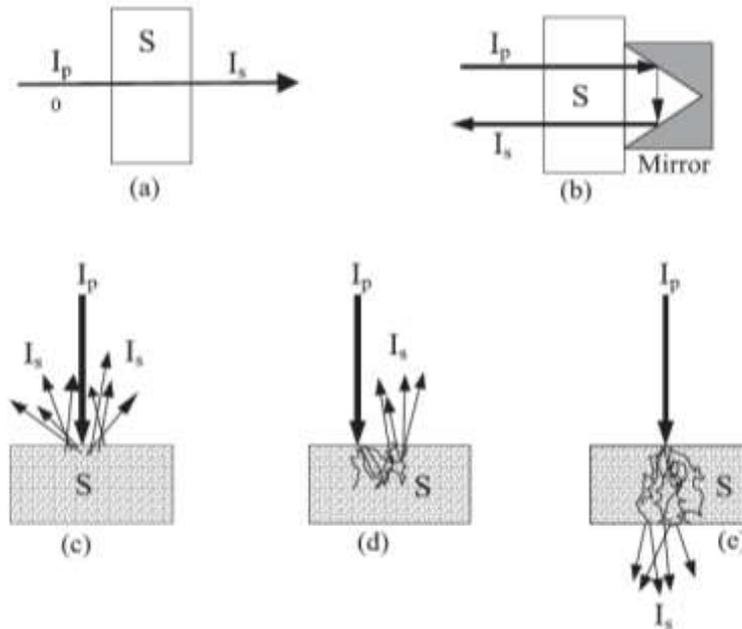


FIGURA 1.12 - Modos de medidas utilizadas em espectrometria NIR – (a) Transmitância, (b) Transflectância, (c) Reflectância difusa, (d) Interactância e (e) Transmitância com espalhamento.

Fonte: Pasquini, 2003.

O processo de reflexão pode ser dividido em quatro tipos: reflexão especular, reflexão difusa, reflexão interna e reflexão total atenuada. O processo de reflexão difusa é complexo, pois ocorre pela incidência da radiação na superfície de um material granular, com subsequente penetração na camada superficial das partículas excitando modos vibracionais das moléculas do analito seguido pelo espalhamento da radiação em todas as direções. Os espectros obtidos de reflectância contêm informação indireta de absorção, espalhamento e reflexão da luz original irradiada (MONTEIRO, 2011). Várias teorias empíricas foram propostas para a explicação do fenômeno, das quais a mais popular é a teoria adotada por Kubelka e Munk, que mostra que a intensidade relativa de reflectância de um material granular $f(R'_{\infty})$ é dada pela Equação 1.5.

$$f(R'_{\infty}) = \frac{(1 - R'_{\infty})^2}{2R'_{\infty}} \frac{k}{s} \quad (1.5)$$

onde R'_{∞} é a razão entre a intensidade refletida pela amostra e a de um padrão não-absorvente, como cloreto de potássio finamente moído (ou sulfato de bário, óxido de magnésio e teflon). A grandeza k é o coeficiente de absorção molar

do analito e s é o coeficiente de espalhamento (SKOOG et al., 2002).

1.3.4 - Vantagens e desvantagens

A espectroscopia NIR apresenta vantagens do ponto de vista analítico, entre elas:

- Capacidade de fornecer análises rápidas e precisas;
- Capacidade de fornecer resultados exatos, no entanto frequentemente limita-se a exatidão de valores do método de referência usados em comparação àqueles obtidos pelo espectro NIR;
- Possui instrumentação simples;
- Análises não destrutivas e não invasivas;
- Evita o uso de substâncias químicas tóxicas, corrosivas e de alto custo;
- Análise de amostras não homogêneas;
- Baixo custo de análise;
- Determinação multi-componentes simultânea;
- Emprega pouca quantidade de amostra em análise;
- Alta frequência analítica – cada registro espectral entre 15 e 40 segundos (PAULA et al., 2013);
- Requer pouca ou nenhuma preparação da amostra, diminuindo a presença de interferentes químicos;
- Permite penetração da radiação até alguns milímetros na amostra detectando maior variedade dos constituintes desta;
- Não depende de mão de obra qualificada;
- Adequado para uso em linha de produção e pode ser portátil para análises *on-line* e em campo (LIMA, 2013);
- O quartzo é transparente nessa radiação, possibilitando o uso de fibra ótica na captação de sinal;
- Pode ser usado para prospecção de sinais remotamente.

Por outro lado, possui desvantagens como:

- A depender da aplicação, a amostra necessita ser previamente preparada,

elevando os custos;

- Geralmente necessita de valores de referência e tem dependência dos métodos de referência;
- Baixa sensibilidade frente a constituintes minoritários (limite de detecção de 0,1%) (SKOOG et al., 2002);
- Limitante a baixa variabilidade dos dados;
- Necessita atualização do conjunto de calibração para determinação mais precisas e confiáveis;
- Devido à grande capacidade de absorção das vibrações de ligações da água, esta pode suprimir informações de interesse nos espectros de outros componentes.

1.3.5 - Aplicações da técnica

A técnica NIRS tem estabelecido seus alicerces com base em análises para a determinação quantitativa rotineira de espécies como água, proteínas, hidrocarbonetos de baixo peso molecular, carboidratos e gordura (Figura 1.13) em produtos das indústrias agrícolas, alimentícia, petrolífera e química.

Atualmente está presente em vasta área de aplicação devido o nível de desenvolvimento que a técnica atingiu, tendo notoriedade em áreas como: agrícola, alimentícia, médica, têxtil, de cosmético, de polímeros, de tintas, ambiental, petroquímica, farmacêutica e florestal (DE MUÑIZ et al., 2012). De acordo com BOSCO (2010) grande parte (em torno 75%) dos instrumentos utilizados está voltada à análise de alimentos, na agricultura e em ambientes industriais.

A aplicação da NIRS em diversos ramos da indústria pode ser atribuída principalmente à sua habilidade para processar amostras sólidas, necessitando apenas de secagem e moagem ou até mesmo nenhuma manipulação (ALOMAR et al., 1999), além da sua compatibilidade com sondas de fibra óptica, como transmissores de sinais, os quais permitem análises *in situ* e *on/in line*.

Um caso marcante no emprego da técnica é o exemplo do trigo no Canadá. O país liberava o trigo depois da análise de teor proteico (pelo método Kjeldahl) e para a liberação levava quase uma semana dificultando a logística do produto, além de ser um método caro. Estima-se que de 80 a 90% dos grãos

canadenses analisados para determinação de proteína por NIRS, resultou em uma economia de mais de US\$ 500.000 por ano no custo analítico (SKOOG et al., 2002; BOSCO, 2010).

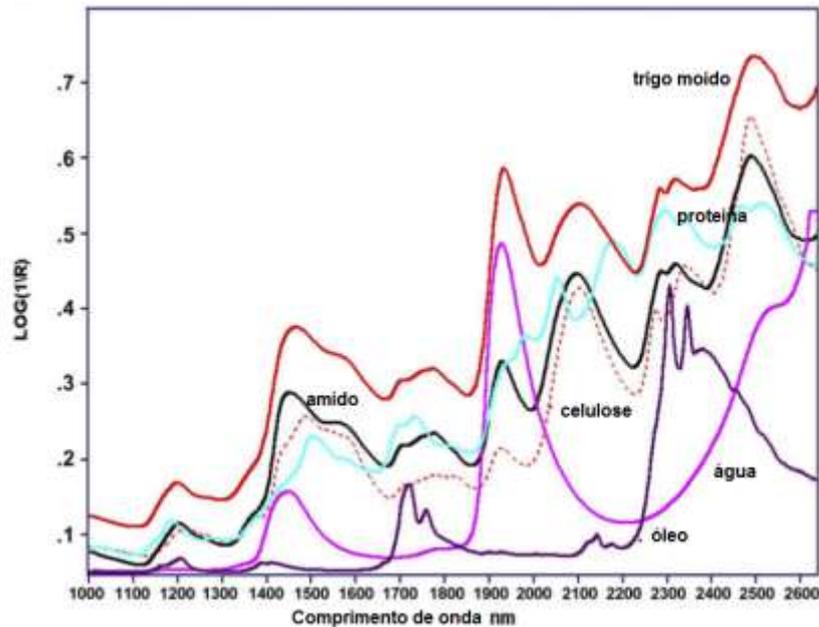


FIGURA 1.13 - Espectros NIR de reflectância do trigo e de seus componentes separados.

Fonte: BOSCO, 2010.

No trabalho de PASQUINI (2003), o autor descreve as aplicações que mais se destacaram no Brasil até aquele momento, considerando que assim como nos EUA (Estados Unidos da América), o Brasil inicia seus esforços, ainda prematuros, voltados para área da agricultura, sendo destacados trabalhos no campo da zootecnia, na análise da polpa do eucalipto e determinação de matéria orgânica e na determinação de conteúdo de nitrogênio em solo. Em sequência, também destacam-se pesquisas no ramo de polímeros, combustível, biomédica e análise clínica.

Em se tratando de produtos cárneos a qualidade pode ser mensurada e percebida por atributos sensoriais (cor, textura, sabor e cor), tecnológicos (pH e capacidade de retenção), nutricionais (composição química), sanitários (ausência de agentes contagiosos) e atributos éticos que envolvem sua produção (PAULA et al., 2013), entre esses, grande parte possuem evidências de aplicação da NIRS.

Nos últimos anos os parâmetros da carne que mais tiveram repercussão foram: coloração, força de cisalhamento, capacidade de retenção de água, perda por cocção e pH. A análise por NIRS de carne evoluiu a partir de 1980,

substituindo o método de preparação de amostra existente pelas primeiras análises em amostras intactas (PAULA et al., 2013).

Em revisão feita por PRIETO et al. (2009) fica evidente a sucessiva aplicação da espectroscopia NIR na determinação de umidade, gordura e proteína em carnes, inclusive existem metodologias aprovadas pela AOAC para os respectivos constituintes (PAULA et al., 2013).

Muitos trabalhos foram e estão sendo realizados na determinação de água em alimentos. Como na carne a água atinge em média uma proporção de 75% de toda matéria fresca, existe uma preocupação em aferi-la. A molécula de água tem bandas que absorvem especificamente em 1940 nm (combinação) e 1440 nm as quais têm sido bastante úteis no estudo dos estados da água em vários alimentos (BOSCO, 2010; BÜNING-PFAUE, 2003; SEGTMAN et al., 2001). A Figura 1.14 apresenta o espectro de carne com diferentes sinais de água e suas respectivas regiões de ligação O-H de água (PRIETO et al., 2009).

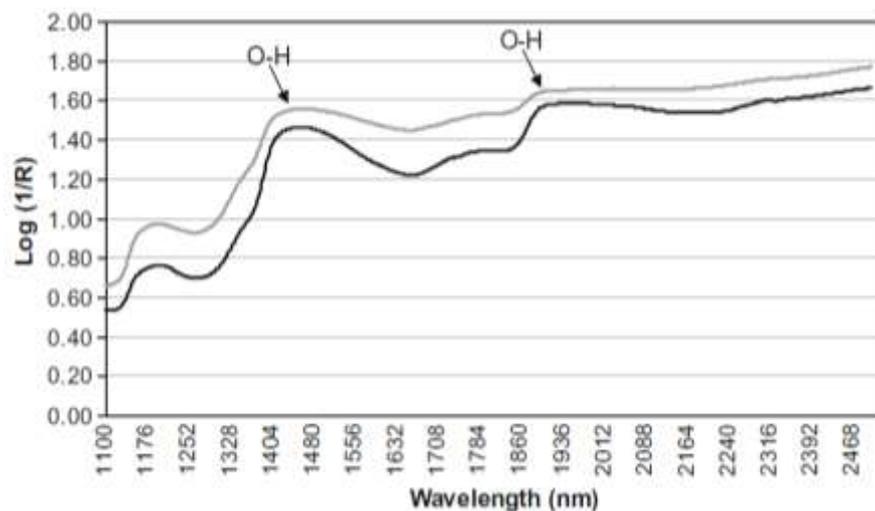


FIGURA 1.14 - Espectro de carne representado as regiões do sinais de água.

Fonte: PRIETO et al., 2009.

Na revisão de PRIETO et al. (2009) outras regiões caracterizam a matriz de carne como, e.g., absorção de ligações N-H em 1460 a 1570 nm e 2000 a 2180 nm pertinentes às macromoléculas de proteína e absorção de ligações C-H de ácidos graxos na estrutura de triacilgliceróis em 1100 a 1400 nm e 2200 a 2400 nm como ilustra a Figura 1.15.

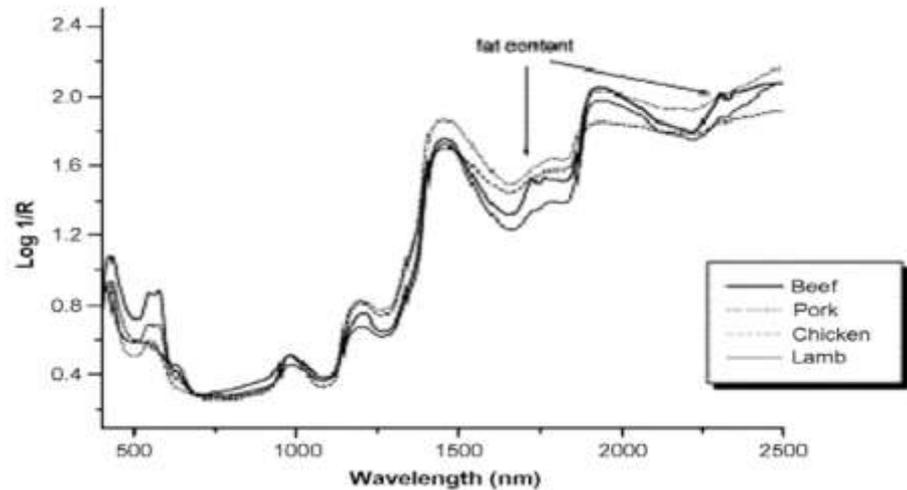


FIGURA 1.15 - Espectros de carne com as respectivas regiões de lipídeos.

Fonte: PRIETO et al., 2009.

A análise de algumas propriedades da carne já tem demonstrado o alto potencial da NIRS, sendo verificados resultados satisfatórios para a composição química dos constituintes dessa matriz (PREVOLNIK et al., 2004).

Nos recentes anos a espectroscopia NIR tem provado ser uma das técnicas mais avançadas, úteis e exatas para determinar atributos de qualidade de carne e de seus derivados industriais, tais como o teor de lipídeos totais e o perfil lipídico (PRIETO et al., 2009). Determiná-los tem se tornado uma preocupação tanto da indústria quanto dos consumidores. A quantidade de gordura da carne influencia algumas propriedades como a maciez e o sabor (CECCHINATO et al., 2012), já a análise do perfil lipídico está relacionada à necessidade da ingestão de alimento saudável (menores teores de ácidos graxos saturados e maiores teores de insaturados) na prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes e doenças coronarianas (SIERRA et al., 2008) e em aspectos relacionados à qualidade da carne, como maciez e tempo de prateleira. Alguns fatores como raça, idade, sexo, sistema de alimentação e até mesmo corte tem influência direta com os teores de gordura e perfil lipídico, daí a importância de determiná-los, pois podemos descobrir como estes fatores alteram a quantidade de gordura nos animais e quais ácidos graxos fazem parte da gordura.

Foram propostos modelos de regressão para lipídeos totais para várias matrizes de carne, sendo observado valores de coeficientes de determinação (R^2) variando de 0,35 a 0,99 (PRIETO et al., 2009).

PRIETO et al. (2010) encontraram diferenças na análise de lipídeos

totais, verificando baixo coeficiente de determinação de calibração (0,43) para modelo da raça *Angus* e maior valor (0,75) para a raça *Limousin*, demonstrando a contribuição da raça do animal para os modelos obtidos. No mesmo trabalho foram construídos modelos de ácidos graxos, no entanto os modelos tiveram baixa capacidade preditiva. Neste caso a obtenção dos espectros foi diretamente de um pedaço da carne.

Segundo PRIETO et al. (2013) o corte do boi é outro fator que causa alterações do perfil lipídico, havendo diferença nos modelos construídos com gordura perirenal da gordura subcutânea. Na gordura perirenal são encontrados teores de ácidos graxos mais elevados, inclusive, poli-insaturados, possibilitando maior variabilidade desses teores e conseqüentemente melhores previsões.

As publicações a respeito de carne de 2000 até o momento são voltadas para análise de carne de bovinos (CECCHINATO et al., 2015; MOUROT et al., 2015; PRIETO et al., 2013; SIERRA et al., 2008), ovinos (ANDRÉS et al., 2007; GUY et al., 2011; PRIETO et al., 2008a), suínos (BARLOCCO et al., 2006; GONZÁLEZ-MARTÍN et al., 2003; LIAO; FAN; CHENG, 2010; PÉREZ-MARÍN et al., 2010), aves (BARBIN et al., 2015), animais aquáticos (KARLSDOTTIR et al., 2014) e coelhos (PLA et al., 2007; ZOMEÑO; JUSTE; HERNÁNDEZ, 2012).

Em virtude de sua potencialidade, diversos tipos de alimentos vêm cada vez mais sendo analisados pela técnica NIRS, como apresentado na Tabela 1.3 (CEN e HE, 2007).

TABELA 1.3 - Aplicações do NIR em diversas matrizes.

Categoria	Produtos	Aplicação
Sementes	Arroz	Amido, proteína, água, cinzas, aminoácido e sabor.
	Trigo	Amido, proteína, água, cinzas e dureza e maciez, aminoácido e ferrugem.
	Cevada	Proteína, água, nitrogênio e aminoácido.
	Semente de girassol	Gordura, água e fibra.
	Soja	Proteína, água e gordura.
	Ervilha	Amido e proteína
Produtos diários	Queijo	Água, gordura, proteína, lactose, cinzas, matéria seca e pH.
	Leite	Água, gordura, proteína e lactose
	Qualhada	Água, gordura, proteína e lactose
	Leite em pó	Água, gordura e proteína.
Produtos Aquáticos e de armazenamento	Peixe	Estado da água em peixe
	Carne	Água, gordura, proteína, Sais e pH.
Bebidas	Vinho	Álcool, açúcar e lixiviação.
	Cerveja	Álcool.
	Suco	Frutose, Glicose e Sacarose.
	Chá	Cafeína e total de aminoácidos.

Fonte: CEN e HE, 2007.

A construção de modelos de calibração multivariada para lipídeos totais e perfil lipídico necessita de valores de referência obtidos nas técnicas convencionais e estabelecidas para dado fim.

Os métodos conhecidos de extração de lipídeos totais em carne encontrados na literatura são os de Folch (FOLCH e STANLEY, 1956), o de Bligh e Dyer (BLIGH e DYER, 1959), o de Soxhlet - AOAC 960.39, Gerber - AOAC 948.15, entre outros e suas modificações. Esses métodos, no entanto apresentam limitações. As limitações se estendem desde a baixa frequência analítica, perda de analito por etapa, uso de solventes e reagentes tóxicos, laboriosos, até extrações de constituintes específicos em cada método.

As técnicas empregadas para determinação do perfil lipídico em carne bovina tem sido a cromatografia gasosa acoplada a diferentes detectores (CECCHINATO et al., 2012; ZHOU et al., 2012), a cromatografia líquida (PRIETO et al., 2010) e o método colorimétrico (MULDER et al., 1983).

1.4 - Análise multivariada

1.4.1 - Quimiometria

Antes da implantação de ferramentas para interpretação dos dados químicos outras áreas da ciência como economia e psicologia já empregavam artifícios matemáticos e estatísticos para tratamento dos dados. A evolução da quimiometria se dá inicialmente pelo avanço tecnológico na área instrumental na metade da década de 1960 quando espectrômetros e cromatógrafos, por exemplo, aparecem no mercado como sendo fontes de grande quantidade e variedade de dados. Essa avalanche de informação ficava mais difícil de ser interpretada e aquém de ser empregada de maneira proveitosa na análise química. A busca por ferramentas matemáticas e estatísticas capazes de extrair de dados o máximo de informação útil foi a causa principal do surgimento e rápido desenvolvimento da quimiometria, além do aparecimento dos computadores capazes de analisar grande quantidade de dados.

A definição de quimiometria entendida segundo Svant Wold é a arte de extrair informações químicas relevantes de dados produzidos em experimentos químicos (WOLD, 1995). Entre outras definições, quimiometria pode ser descrita como o uso de métodos matemáticos e estatísticos para o tratamento, a interpretação e a previsão de dados químicos (FERREIRA, 2015).

A designação “quimiometria” foi utilizada pela primeira vez em 1971 pelo químico orgânico Svante Wold, sendo autor do primeiro trabalho que menciona o termo quimiometria publicado na revista sueca *Kemisk Tidskrift* em 1972. Conhecendo o trabalho de Wold, Bruce Kowalski, pesquisador americano, destaque dessa área, também se interessou pelo assunto publicando um trabalho em 1973.

Em memória a Kowalski é relevante citar seu pioneirismo na introdução da quimiometria no Brasil, quando este visita o país, especificamente o Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, para lecionar um curso de quimiometria a convite do professor Roy Bruns (FERREIRA, 2015).

A quimiometria pode ser dividida em diferentes aplicações como cita MAZUR (2012):

- a. Processamento de sinais analíticos;
- b. Planejamento e otimização de experimentos;
- c. Reconhecimento de padrões e classificação de dados;
- d. Calibração multivariada;
- e. Métodos de inteligência artificial.

Essa ciência pode ser considerada uma das áreas mais recentes da química analítica, e desde o seu surgimento até os dias atuais foram desenvolvidos muitos métodos que tem tornado possível o processamento e interpretação de dados que antes não poderiam ser analisados. Esses métodos têm estimulado cada vez mais a ampliar o uso de técnicas analíticas capazes de estimar várias propriedades. A quimiometria se encarrega de utilizar ferramentas que associadas a técnicas instrumentais produzem dados que serão utilizados para, por exemplo, o desenvolvimento de modelos empíricos responsáveis por estimar uma ou mais propriedades de ordens quantitativa e qualitativa.

Devido às dificuldades em interpretar os espectros NIR caracterizados por bandas sobrepostas (como apresentado anteriormente), foram desenvolvidas técnicas multivariadas para análise dos dados dos espectros, como análise de componentes principais (PCA) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR), as quais permitem a construção de modelos quantitativos e qualitativos, além de análise de reconhecimento de padrões (MAZUR, 2012).

1.4.2 - Pré-tratamento dos dados

Uma vez obtidos dados experimentais e organizados em forma de tabela, se necessário, esses devem ser tratados antes da análise quimiométrica.

Essa é uma etapa importante, pois decidirá quais tratamentos responderão melhor ao resultado pretendido. Por vários motivos são aplicados pré-tratamentos nos dados brutos, os quais em resumo tratam de reduzir variações indesejáveis que não foram removidas durante a aquisição dos dados e que podem influenciar nos resultados finais. A obtenção da informação útil é algo complexo devido a instrumentação analítica ser geradora de sinais de ruídos que por se comportarem aleatoriamente tornam-se difíceis de serem tratados, principalmente quando se trata de constituintes minoritários (LEUNG et al. 1998).

Segundo RIBEIRO (2012) o pré-tratamento elimina variações devido à interação complexa entre os componentes da amostra, dispersão da luz em amostras sólidas ou líquidas turvas, baixa reprodutibilidade das medições, distorções espectrais, como deslocamento da linha de base e comprimentos de ondas, efeitos da não linearidade do detector, ruído no detector e variação no espectro devido a variações de temperatura no ambiente.

SIESLER et al. (2006) comentaram que em geral o objetivo do pré-tratamento dos dados espectrais é o de reduzir, eliminar ou padronizar o impacto destas fontes de variação dos espectros, sem alterar a informação espectroscópica necessária para predição nos modelos multivariados.

De acordo FERREIRA (2015) qualquer tipo de tratamento pode ser aplicado segundo uma avaliação sensata e criteriosa, para não distorcer, comprometer ou até mesmo inutilizar os resultados da análise. Aproveitando a abordagem da autora, esta divide pré-tratamento em transformação e pré-processamento. De acordo com a ilustração seguinte, com os dados já organizados em forma de matriz, a transformação é um artifício matemático realizado na linha i da matriz e o pré-processamento é realizado na coluna j da mesma matriz (Figura 1.16).

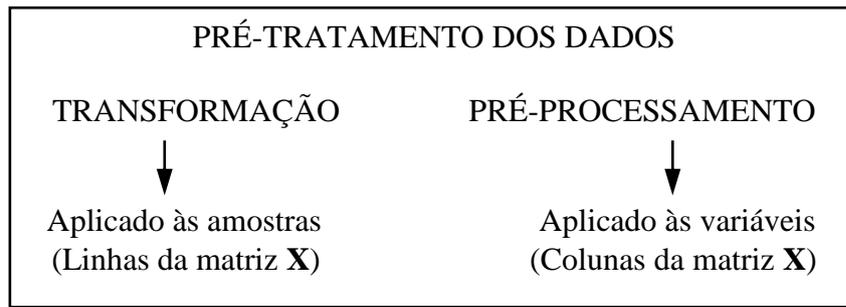


FIGURA 1.16 - Quadro representativo de como são aplicados os pré-tratamentos.

Fonte: FERREIRA, 2015.

Dentre os vários modos de pré-tratamento, pode-se citar: centralização na média, auto-escalamento (pré-processamento), alisamento, primeira e segunda derivadas, correção multiplicativa de espalhamento (do inglês, multiplicative scatter correction – MSC), variação de padrão normal (do inglês, Standard Normal Variate – SNV) e normalização (transformações).

a) Centralização na Média

O cálculo de centrar os dados na média consiste em obter a média de cada coluna da matriz de dados e em seguida subtrair dos valores de cada coluna o respectivo valor médio (Equação 1.6). Como resultado do pré-processamento há uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles, mantendo a estrutura dos dados intacta (FERREIRA, 2015). Segundo RIBEIRO (2012) esse cálculo previne que pontos mais distantes do centro tenham maior influência que os mais próximos, impedindo que a magnitude das variáveis afete os cálculos. PARREIRA (2003) comenta que o cálculo é convenientemente usado quando todas as variáveis forem medidas numa mesma unidade, possuindo uma mesma magnitude, como no caso da espectroscopia NIR.

$$x_{ij(cm)} = x_{ij} - \bar{x}_j \quad (1.6)$$

onde:

$x_{ij(cm)}$ = valor centrado na média para a variável j na amostra i ;

x_{ij} = valor da variável j na amostra i ;

\bar{x}_{ij} = valor médio das amostras na variável j .

b) Escalamento

Várias formas de escalamento são encontradas na literatura, no entanto iremos abordar dois dos mais comuns no tratamento de dados, a exemplo do auto-escalamento e do escalamento pela variância. Assim como centrar os dados na média, a primeira etapa do auto-escalamento consiste da subtração de valores seguido pela divisão por um fator de dispersão, ou seja, desvio padrão (Equação 1.7). No escalamento pela variância o esqueleto da equação apenas omite o valor médio, demonstrando não haver subtração pelo valor médio no numerador (Equação 1.8). Nos dois casos os valores são adimensionais. Os dois métodos são utilizados quando se pretende dar o mesmo peso as variáveis medidas (PARREIRA, 2003).

$$x_{ij(ae)} = \frac{(x_{ij} - \bar{x}_{ij})}{s_j} \quad (1.7)$$

$x_{ij(ae)}$ = valor auto-escalado para a variável j na amostra i ;

x_{ij} = valor da variável j na amostra i ;

\bar{x}_{ij} = valor médio das amostras na variável j ;

s_j = desvio padrão das amostras na variável j .

$$x_{ij(ev)} = \frac{x_{ij}}{s_j} \quad (1.8)$$

$x_{ij(ae)}$ = valor auto-escalado para a variável j na amostra i ;

c) Alisamento

As opções de alisamento (ou suavização) dos dados podem ser aplicadas por softwares ligados a instrumentos analíticos ou manualmente por um operador por meio de filtros. O objetivo do alisamento é reduzir a componente aleatória dos dados e consequentemente aumentar a razão sinal/ruído do sinal analítico, S/R (FERREIRA, 2015). No processo de alisamento inicialmente é escolhido o conjunto de dados, como por exemplo, o espectro, e em seguida um intervalo com um número ímpar de pontos (comprimentos de onda) onde é realizada a substituição do valor central existente pelo valor médio do alisamento. Em seguida ajusta-se o valor médio por uma função polinomial envolvendo mínimos quadrados (MAZUR, 2012).

d) Derivada

O método de derivar tem por objetivo corrigir problemas de linha de base (como deslocamento e desvio da linha de base), assim como eliminar o pronunciamento de ruído e melhorar a resolução de bandas sobrepostas (MAZUR, 2012; SIESLER, 2006). As técnicas espectroscópicas fazem uso tanto da primeira quanto da segunda derivada, sendo popularmente empregada a segunda derivada, que permite acentuar picos brandos e diminuir sinais destacados (SIESLER, 2006). Um grande problema gerado pela derivada é a inclusão de ruídos aos espectros e consequentemente diminuição da relação sinal/ruído, sendo frequentemente usado alisamento, para diminuir esse efeito (MAZUR, 2012). No intuito de combinar essas duas características, derivação e alisamento, foi proposto o filtro digital por Savitzky–Golay baseado em alisamento com aproximação polinomial por mínimos quadrados (LUO et al., 2005).

e) SNV – Standard Normal Variate

O método de variação de padrão normal centra cada espectro próximo no zero pelo cálculo de subtração do valor médio e divisão de cada valor de sinal pelo desvio padrão dos valores do espectro (SIESLER et al., 2006).

Assim como MSC - *Multiplicative Scatter Correction* (Correção de Espalhamento Multiplicativo), outro método de tratamento, SNV tem a função de minimizar os efeitos de espalhamento de luz e interferências causadas pelo tamanho de partículas, além de não poder ser usado para corrigir diferenças espectrais devido a variações térmicas (BURNS e CIURCZAK, 2007). Outros métodos de normalização são conhecidos e cumprem a mesma função do SNV, a exemplo da normalização pelo vetor norma, normalização pela área e normalização pelo pico mais alto (FERREIRA, 2015).

1.4.3 - Desenvolvimento de modelos de regressão

Num modelo desenvolvido utilizando espectros NIR, os espectros são obtidos de um conjunto de amostras ao tempo que paralelamente são analisadas essas amostras pelo método de referência, a fim de obter os valores de referência correspondentes aos parâmetros de interesse. Em resumo, o desenvolvimento do modelo envolve a relação entre duas matrizes ou blocos de informações de caráter químico, quando as propriedades que descrevem as mesmas apresentam alguma dependência (Figura 1.17).

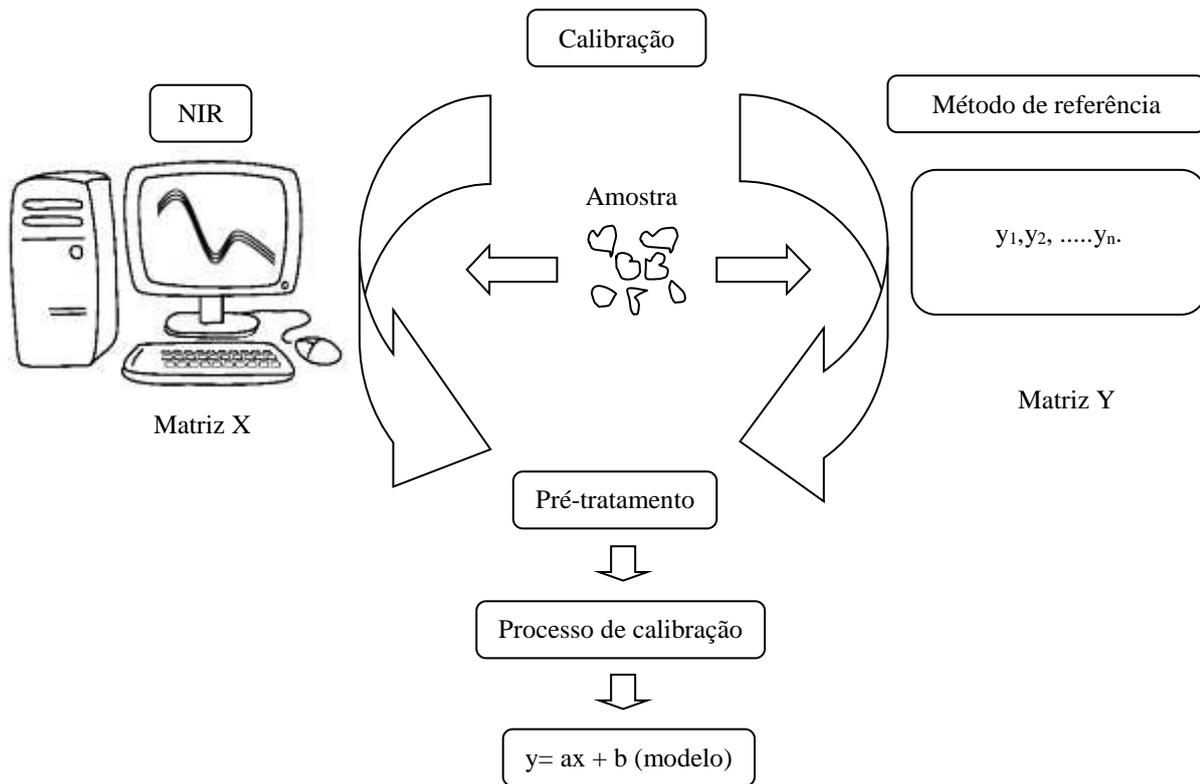


FIGURA 1.17 - Representação esquemática da construção de um modelo de calibração multivariada.

O processo de calibração tem por finalidade o desenvolvimento de um modelo de regressão pelo qual é feita uma relação entre x (espectro NIR) e y (valores de referência). Conforme FERREIRA et al. (1999) calibração é o procedimento para encontrar uma equação matemática que produza propriedades de interesse a partir dos resultados registrados pelo instrumento.

A calibração multivariada é denominada calibração inversa, pois é inversa a calibração normal ou univariada. Na calibração inversa a resposta instrumental corresponde a variável x , enquanto que o valor de referência (ou padrão) corresponde a variável y , sendo contrária à calibração univariada. O processo de calibração necessita de dois conjuntos de dados constituídos da variável independente x (ou preditora) e da variável dependente y . Os dados da variável x são organizados em tabela (também chamada de matriz **X**), na qual as linhas “ n ” são compostas pelo conjunto de espectros das amostras (moléculas ou objetos) utilizadas na calibração, enquanto as colunas “ p ” compõem os vários comprimentos de onda para monitoramento das espécies de interesse. Já os dados da variável y , também denominado de matriz **Y**, são ordenados de maneira que as linhas correspondem aos valores de teores de referência de uma série de amostras

(podem ser amostras de referência ou amostras das quais foram obtidos resultados de referência) e as colunas correspondem às propriedades ou constituintes químicos do material.

De maneira resumida a calibração se divide em duas etapas, sendo a primeira chamada de calibração onde se estabelece uma função matemática que relaciona x e y para um conjunto de amostras e, em segundo lugar, a validação externa que aperfeiçoa esta relação de modo a melhorar a descrição do analito de interesse. Depois do modelo pronto e testado para um conjunto característico de amostras, este já pode prever as propriedades de interesse em amostras desconhecidas.

A metodologia de calibração multivariada empregando NIRS tem respaldo na literatura pela ASTM (do inglês: *American Society for Testing and Materials*) E1655-05 que norteia as etapas a serem seguidas durante esse processo.

1.4.4 - Análise de componentes principais

A Análise de Componentes Principais (do inglês PCA – *Principal Components Analysis*) é um dos métodos de grande importância na quimiometria, sendo utilizado como base em vários outros métodos multivariados. A PCA consiste de um método matemático de tratamento dos dados que envolve cálculos de álgebra linear com o objetivo de visualizar e simplificar a estrutura muitas vezes complexa dos dados, modelagem dos dados, empregar seleção de variáveis, encontrar similaridades entre amostras (análise de reconhecimento de padrões supervisionado e não-supervisionados), detectar amostras anômalas e reduzir a dimensionalidade dos dados sem que haja perda da informação relevante (WOLD et al. 1987). Antes de aplicada a PCA os dados são organizados em forma de matriz. A matriz de dados original constitui em um espaço multidimensional e complexo que, ao ser decomposto, origina um espaço de dimensão reduzido pela translação para um novo conjunto de eixos e novas coordenadas representadas pelas componentes principais. Esses novos eixos ou componentes principais são combinações lineares das variáveis originais que aos serem decompostas geram o mesmo número de variáveis originais ou, por exemplo, comprimentos de onda. Na PCA a matriz de

dados original \mathbf{X} de dimensão $m \times p$ é decomposta em uma soma de matrizes as quais são produto de duas matrizes (ou vetores), a matriz \mathbf{T} de scores e a matriz transposta \mathbf{P}^t dos loadings, além da matriz de erro \mathbf{E} – correspondente a parte não modelada da matriz \mathbf{X} (Equações 1.9 e 1.10). Desta maneira, a primeira componente principal (PC1), é definida na direção de máxima variância (ou dispersão dos dados) de um conjunto de dados, enquanto que a segunda componente principal (PC2) consiste de uma descrição da máxima variância no espaço da primeira componente principal, e assim por diante. Ou seja, a variância total é explicada pelas primeiras componentes principais descritas em ordem decrescente. Cada componente principal é responsável por uma parcela de contribuição ou uma fração de variância dos dados e estão em um sistema de coordenadas ortogonais entre si, não existindo correlação entre elas.

$$\mathbf{X} = \mathbf{M}_1 + \mathbf{M}_2 + \mathbf{M}_3 + \dots + \mathbf{M}_n + \mathbf{E} \quad (1.9)$$

$$\mathbf{X} = \mathbf{T}_1\mathbf{P}_1^t + \mathbf{T}_2\mathbf{P}_2^t + \mathbf{T}_3\mathbf{P}_3^t + \dots + \mathbf{T}_n\mathbf{P}_n^t + \mathbf{E} \quad (1.10)$$

Nesse novo espaço os scores expressam as coordenadas das amostras nos novos eixos, enquanto que os loadings expressam o peso ou contribuição de cada variável original em cada componente principal (BERNADINO, 2011). Entre os métodos de obtenção de scores e loadings podemos citar a decomposição por valores singulares (SVD, do inglês *Singular Value Decomposition*) e o algoritmo NIPALS (do inglês, *Nonlinear Iterative Partial Least Squares*).

1.4.5 - Regressão por mínimos quadrados parciais

O método de Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLSR, do inglês *Partial Least Square Regression*) é o método de calibração multivariada mais popular na construção de modelos de calibração a partir de dados de primeira ordem (MAZUR, 2012). Segundo Ferreira (2015) o método PLS domina as aplicações de espectroscopia de infravermelho médio e próximo. A primeira aplicação do método PLS ocorreu por volta do final da década de 1960 e foi direcionada a econometria

por Herman Wold, sendo posteriormente reconhecido pela química em 1970 pelo grupo de Svant Wold, pai do então pioneiro Herman (GELADI e KOWALSKI, 1986).

De maneira similar ao PCA, o PLS decompõe as matrizes de dados \mathbf{X} (matriz dos espectros) e \mathbf{Y} (matriz das concentrações) simultaneamente de forma que cada CP do modelo busque a máxima covariância entre X e Y , passando a ser chamada de variável latente – VL. Duas variantes do PLS, PLS1 e PLS2 são encontradas para construção dos modelos de calibração. O PLS1 permite que as CPs estejam correlacionadas somente com valores de uma propriedade em estudo por vez, enquanto o PLS2 possibilita o uso de várias propriedades para fazer correlação com as CPs ao mesmo tempo (FERREIRA, 2015; MILLER, 2010).

Segundo FERREIRA (2015) no momento do desenvolvimento do modelo de regressão é obtido um parâmetro que avalia previamente sua capacidade preditiva. Nesse momento todas as amostras são empregadas para obtê-lo, denominado de Raiz Quadrática do Erro Médio Quadrático da Calibração – RMSEC (do inglês, *Root Mean Square Error Calibration*) definido na Equação 1.11. Também pode ser empregado SEC (Square Error Calibration) na avaliação do modelo de calibração, no entanto algumas considerações matemáticas devem ser tomadas (Equação 1.12). Só lembrando que da mesma maneira que é estimada a exatidão para a calibração de ordem zero, na calibração de primeira ordem utiliza-se dos erros para estimativa da exatidão.

$$RMSEC = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{y}_i - y_i)^2}{N-1}} \quad (1.11)$$

$$SEC = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{y}_i - y_i)^2}{N-A-1}} \quad (1.12)$$

No denominador do SEC utiliza-se menor grau de liberdade se comparado ao RMSEC, onde N é o número de amostras e A o número de fatores escolhidos. Se os dados foram centrados na média diminui-se mais um grau de liberdade do denominador.

Segundo MAZUR (2012) modelos que empregando o método PLS são tidos mais robustos por utilizarem um maior número de informações e possibilitarem maior exatidão nas previsões devido aos menores valores de resíduos, sendo

possíveis determinações mesmo na presença de interferentes. Em declaração, GELADI e KOWALSKI (1986) explicaram que os modelos criados com PLS são mais robustos, possibilitando a inserção de mais amostras sem grande alteração das características dos mesmos.

Outra vantagem na escolha do método PLS é que este emprega um menor número de variáveis latentes para confecção de modelos de calibração (CABRAL, 2011).

O método de regressão por mínimos quadrados parciais tem se difundido no estudo de carnes em geral, como no caso da avaliação das características e deterioração lipídica dos músculos de peixe congelados (KARLSDOTTIR et al., 2014), na determinação de ácidos graxos em gados alimentados com diferentes rações (PRIETO et al., 2014) e na determinação de ácidos graxos de diferentes raças bovinas (MOUROT et al., 2015).

Depois de construído o modelo de calibração multivariada, resta avaliar sua capacidade preditiva pelo processo de validação. De acordo com FERREIRA et al., (1999), validar trata de testar a viabilidade do modelo prevendo teores de amostras (não utilizadas na sua construção), para estabelecer se de fato este refletirá o comportamento do analito.

O processo de validação pode ser dividido em validação interna e externa. Na validação interna as mesmas amostras utilizadas para a calibração também participam da validação, enquanto na validação externa, as amostras utilizadas na validação não participaram da construção do modelo de regressão, no entanto precisam ter características semelhantes as da calibração.

Uma metodologia muito empregada na validação interna é a validação cruzada (*Cross Validation*), também denominada de leave one out (deixa uma fora). No processo de criação do modelo, desenvolve-se um modelo com todas as amostras exceto uma, sendo essa reservada como elemento de previsão. Esse processo é repetido até que todas as amostras tenham sido reservadas. Dessa forma avalia-se a robustez do modelo e, é nesse momento que, se estabelece a raiz quadrada do erro médio da validação cruzada – RMSECV (do inglês, *Root Mean Square Error of Cross Validation*) a qual é obtida comparando-se a concentração prevista com o valor de referência para cada amostra do conjunto de calibração (Equação 1.13). É por meio dessa técnica que se estabelece o número de variáveis latentes ideal para o modelo e quais amostras tem perfis atípicos às outras

(FERREIRA, 2015).

$$RMSECV = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{y}_i - y_i)^2}{N-1}} \quad (1.13)$$

A escolha do número de variáveis latentes ótimos é relevante, pois corre-se o risco de escolher-se um número excessivo de fatores conduzindo a um modelos superajustado ou escolher-se um número de fatores insuficiente levando a um modelo subajustado (FERREIRA, 2015). A escolha dessas VL é feita em vista da avaliação, também, de outros parâmetros como é o caso da soma quadrática do erro residual de predição *PRESS* (*Prediction Residual Error Sum Square*), assim como, da raiz da média quadrática, denominada de *RMSEP* (do inglês, *Root Mean Squares Error of Prediction*) como mostrado pelas equações seguintes (Equação 1.14 e 1.15).

$$PRESS = \sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i)^2 \quad (1.14)$$

$$RMSEP = \sqrt{\frac{PRESS}{N}} \quad (1.15)$$

Onde n é número de amostras do conjunto de teste.

A norma ASTM E1655-05 sugere um parâmetro pouco conhecido dentro da literatura quimiométrica que é o erro-padrão de previsão, *SEP*, definido na Equação 1.16.

$$SEP = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{y}_i - y_i - viés)^2}{N-1}} \quad (1.16)$$

Há uma relação que expressa melhor compreensão do que trata, por exemplo, o *RMSEP* em relação ao *SEP*, vista na expressão seguinte: $RMSEP^2 = SEP^2 + viés^2$. Na expressão o *RMSEP* recebe influências tanto do erro aleatório

(randômico ou indeterminado), quanto do erro sistemático (determinado ou tendencioso), respectivamente.

Em se tratando de validação externa a ASTM E1655-05 faz algumas considerações que devem ser tomadas no momento da escolha de amostras para esse fim:

- O conjunto de amostras deve fornecer exemplos de todos os constituintes químicos que estão presentes nas amostras de calibração;
- A faixa de concentração das amostras de validação deve ser compatível com a faixa das amostras de calibração;
- A faixa dos constituintes químicos do conjunto de validação deve ser uniformemente distribuída à faixa das amostras de calibração;
- Devem conter um número suficiente de amostras para avaliar estatisticamente os espectros e os valores referência;
- Quando se tratar de misturas complexas e a modelagem fornecer cinco ou menos VL, pode-se usar 20 amostras para a validação. No entanto, se $k > 5$ (k = variáveis latentes), usa-se, no mínimo, $4k$ (ASTM, 2000).

Como mencionado na Equação 1.17, outro parâmetro de estimativa da qualidade de um modelo é o viés ou tendência (do inglês bias) o qual está inserida a concepção de erro sistemático. A tendência ou não que possivelmente pode haver nos resultados pode ser ilustrada por meio do gráfico de resíduos *versus* concentração. Espera-se que para um modelo satisfatório os resíduos contemplem distribuição uniforme (variância constante) e aleatória, cuja média seja igual à zero. Como muitas variáveis estão relacionadas com as concentrações o valor do viés dificilmente será zero, no entanto tenderá a se aproximar. Segundo a Equação 1.17 os resultados de viés podem alcançar valores tanto positivos quanto negativos acerca dos valores médios de resíduos.

$$viés = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i) \quad (1.17)$$

Qualquer conjunto de dados pode apresentar amostras que tem comportamento discrepante das amostras restantes, sendo denominadas de anômalas. O desempenho dos modelos multivariados pode ser avaliado também pela identificação e exclusão, ou não, de anomalias no conjunto de calibração. A identificação de amostras com esse comportamento é importante, pois a inclusão de

informações discrepante pode culminar em falsas conclusões dos dados gerados pelos modelos. Várias equações e métodos são utilizados na prospecção desse tipo de dado (WALMSLEY, 2006). As amostras anômalas (ou *outlier*) podem ser identificadas pela utilização de dois parâmetros, *leverage* e resíduos de *Student*. O primeiro representa a influência de cada uma das amostras no modelo de regressão, apresentando um valor limite equivalente a $3 VL/n$ (onde VL representa o número de variáveis latentes e n o número de amostras) – a literatura relata valores possíveis de até $2 VL/n$ (FERREIRA, 2015). Enquanto que o segundo indica se a amostra está dentro da distribuição normal com um nível de confiança de 95%, admitindo-se como limite valores de $\pm 2,0$ (FERREIRA, 2015).

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivos Gerais

- Desenvolver modelos de calibração multivariada empregando método de regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS) e espectroscopia de infravermelho próximo para determinação de gordura em carne bovina.

2.2 - Objetivos Específicos

- Construir modelos de regressão multivariados na obtenção dos teores de lipídeo total e perfil de ácidos graxos individuais e em série da carne bovina.
- Verificar a possibilidade de aplicação da NIR como técnica alternativa às técnicas convencionais na quantificação dos mais variados ácidos graxos.

3 - METODOLOGIA

3.1 - Escolha de amostras

Em um primeiro momento um conjunto constituído de 159 amostras previamente analisadas pelo laboratório de carnes da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, provenientes de projeto de cruzamento visando a melhoria da carne bovina, foi empregado no procedimento de construção dos modelos multivariados.

As atividades desenvolvidas estão vinculadas ao projeto de “Estratégias de cruzamento e manejo na melhoria da eficiência de produção e qualidade da carne bovina no Brasil” em desenvolvimento pela Embrapa e ao INCTAA – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologias Analíticas Avançadas, coordenado pelo Prof. Celio Pasquini, IQ/UNICAMP.

De acordo com o projeto de estratégias de cruzamento, as amostras usadas neste trabalho têm origem em cruzamentos de animais-macho das raças *Angus* (AN) e *Limousin* (LI) com fêmeas provenientes de outros cruzamentos. As fêmeas constituem na combinação de diferentes grupos genéticos, sendo que a primeira fração combina 1/2 *Angus* e 1/2 *Nelore* para geração da vaca TA (designado de cruzamento TA) e a segunda combina uma fração de 1/2 *Simental* e 1/2 *Nelore* referente à geração da vaca TS (designado de cruzamento TS). Os acrônimos relacionados à raça e aos cruzamentos foram idealizados no laboratório de carne segundo levantamento da Embrapa. Dessas combinações originaram-se animais AxLx (designação genética onde A é proveniente de *Angus* e L de *Limousin*). As amostras de carcaça (500 g) foram coletadas do músculo *Longissimus*, especificamente entre a oitava (8ª) e a décima segunda (12ª) costela após 24 h do abate.

Todas as amostras foram cortadas em cubos e liofilizadas por período de 48h em liofilizador de bancada (modelo L101, Liobras). Em seguida foram moídas em moinho de facas portátil (modelo A11 basic, Ika) em meio de nitrogênio líquido e transferidas para embalagens de sacos de polipropileno, onde foram mantidas a vácuo e armazenadas em congelador a -18°C para posterior análise.

As amostras foram numeradas conforme sequência de abate de cada

animal, como consta em Tabela 3.1.

TABELA 3.1 - Número de animais abatidos por ano e suas sequências de abate.

Ano de abate	Quantidade de amostras
2010	28
2011	75
2012	56

3.2 - Análise de extração de lipídeos totais

- De acordo com a sequência de etapas, procedeu-se da seguinte maneira:
- Pesou-se 3 g de amostra em duplicata;
- Transferiu-se para Erlenmeyer de 125 mL;
- Adicionou-se, exatamente, 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada;
- Agitou-se em mesa agitadora por 30 minutos;
- Adicionou-se exatamente 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio 1,5 %;
- A solução foi vigorosamente agitada 2 min;
- Filtrou-se a camada inferior em papel de filtro quantitativo e a solução foi transferida para tubos tipo Falcon de 50 mL;
- Deixou-se as camadas se separarem naturalmente;
- Succionou-se a camada metanólica superior e descartou-se;
- Mediu-se, exatamente, 10 mL do filtrado e transferiu-se para bequer de 50 mL previamente tarado;
- O solvente foi evaporado em estufa de ar forçado, à 55 °C, esfriado em dessecador e pesado.

3.3 - Análise cromatográfica

3.3.1 - Preparação de ésteres metílicos

A gordura recuperada do processo de extração, descrito no item anterior, foi, então, metilada segundo método descrito por Kramer (1999, adaptado) utilizando solução de metóxido de sódio, sendo que 10 mg desta gordura foi transferida para tubo de ensaio com adição de 1 mL de tolueno PA, seguido de 2 mL de metóxido de sódio (0,5 mol/L) previamente aquecido em bloco aquecedor a 50 °C. Após agitação em vórtex o tubo com a mistura foi colocado em bloco aquecedor e mantido em 50 °C durante quinze minutos. Essa mistura foi novamente agitada em vórtex durante cinco minutos com adição imediata de 1 mL de água e 3 mL de hexano PA. Por fim, a nova mistura foi novamente agitada em vórtex durante cinco min, centrifugada e o volume sobrenadante (fase orgânica superior) foi transferido para frascos (de 4mL) contendo 100 mg sulfato de sódio. Em seguida transferiu-se a fase orgânica para frasco com adição de hexano para realização da análise por cromatografia gasosa.

3.3.2 - Etapa Cromatográfica

A metodologia estabelecida utilizou cromatógrafo a gás acoplado a detector de ionização por chama (CG/DID) para determinação de perfil lipídico (ácidos graxos) das amostras de carne bovina. Foram determinadas 41 propriedades entre ácidos graxos individuais e combinações dessas, no entanto 17 delas foram utilizadas para modelagem neste trabalho (Tabela 3.2). As determinações foram efetuadas no “Meat Lipide Laboratory”, Lacombe Research Center, Agriculture & Agri-Food, Canada.

TABELA 3.2 - Nomenclatura oficial e comum das dezoito propriedades analisadas.

Simbologia	Nomenclatura oficial	Nomenclatura Comum
Lipídeos Totais		
Ácidos Graxos Individuais		
C14:0	Tetradecanoico	Ácido Mirístico
C15:0	Pentadecanoico	Ácido Pentadecílico
C16:0	Hexadecanoico	Ácido Palmítico
C17:0	Heptadecanoico	Ácido Margárico
C18:0	Octadecanoico	Ácido Esteárico
c9-16:1	Ácido 9-hexadecenoico	Ácido Palmitoleico
c9-18:1	Ácido 9-octadecenoico	Ácido Oleico
t9-18:1	Ácido trans-9-octadecenoico	Ácido Elaidico
c18:2n-6	Ácido 9,12-octadecadienoico	Ácido Linoleico
c18:3n-3	Ácido 9,12, 15-octadecatienoico	Ácido (α -) Linolênico
Séries de Ácidos Graxos		
AGS		Ácidos Graxos Saturados
c-AGMI		Ácidos Graxos Monoinsaturados
AGCR		Ácidos Graxos com Cadeia Ramificada
c,t-ALC		Ácidos Linoleicos Conjugados
n-6		Ácidos Ômega 6
n-3		Ácidos Ômega 3
AGPI		Ácidos Graxos Poli-insaturados

3.4 - Granulometria

Como etapa no procedimento de conservação das amostras de carne bovina no Laboratório de Carnes da Embrapa Pecuária Sudeste, as amostras são inicialmente moídas antes de serem congeladas. Essa etapa é realizada por meio do moinho de facas o qual emprega nitrogênio líquido de maneira a não haver descaracterização das amostras. Para os estudos iniciais relacionados ao tempo de descongelamento previamente às análises por NIRS, a amostra de carne adquirida comercialmente foi submetida à moagem e aos estudos posteriores, descritos a seguir.

O procedimento de moagem foi dividido em duas partes: a primeira (a) pela moagem em moinho de facas IKA (Figura 3.1a) e a segunda (b) pela moagem em moinho criogênico - MA 775, Marconi (Figura 3.1a):

- a) Foi separada 1/2 porção de carne para moagem e dividida em cinco alíquotas

para obtenção de espectros em duplicata de cada;

- b) A outra 1/2 porção de carne foi dividida em cinco alíquotas, as quais foram moídas em tempos de 1, 2, 3, 4 e 20 min, respectivamente (Figura 3.1c). O equipamento foi submetido à frequência de movimento (ou batidas) em 20Hz.

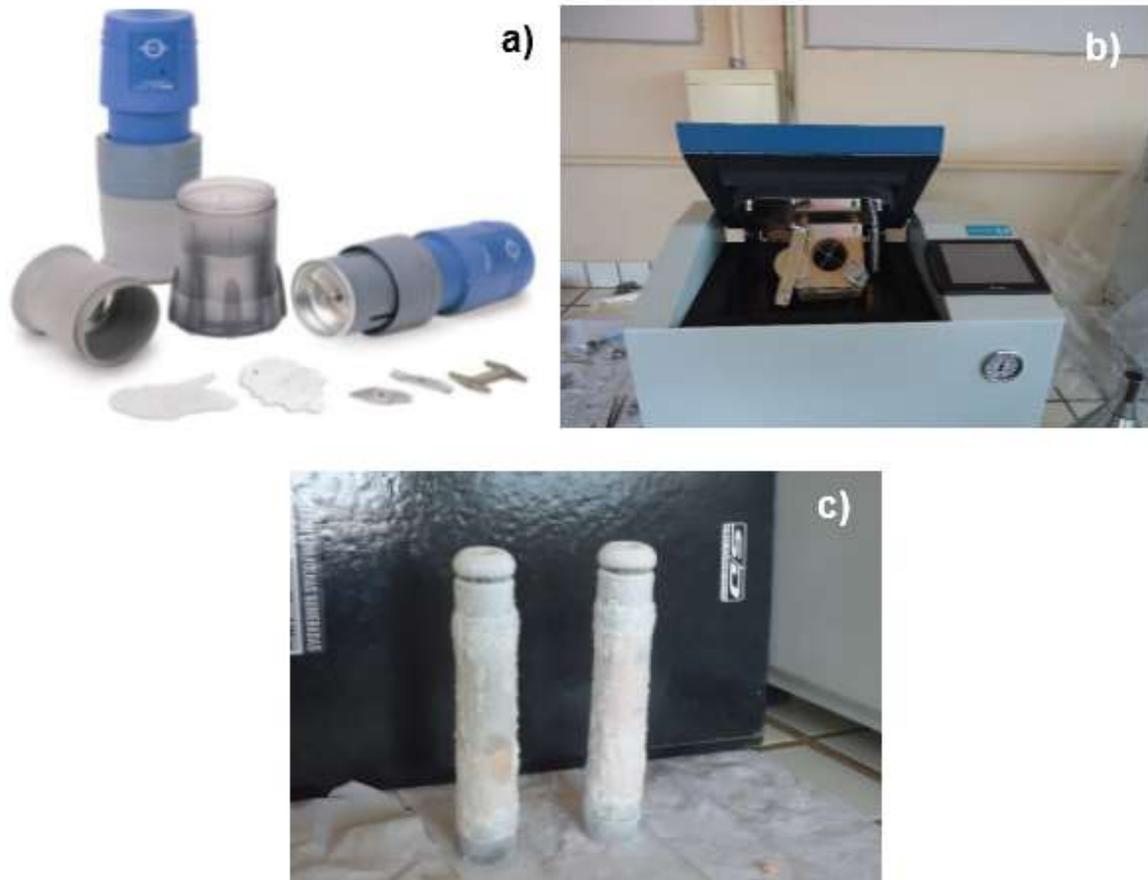


FIGURA 3.1 - (a) Moinho de facas, (b) moinho criogênico e (c) amostra após moída em moinho criogênico.

3.5 - Análise em espectroscopia de infravermelho próximo

3.5.1 - Instrumentação e software

Os espectros foram obtidos em espectrômetro de infravermelho próximo NIRFlex N-500 Solids BÜCHI (Uster, Suíça) com transformada de Fourier. Este permite

flexibilidade de acoplamento modular com acessório de placa de petri e pequenos frascos de vidro de formato cilíndrico, além de possuir interferômetro de polarização otimizado empregando prisma de alta refração de TeO_2 e detector de InGaAs estável em faixa pré-estabelecida de temperatura (recomendação de $25 \pm 5^\circ$, manual BÜCHI). O equipamento opera em modo de reflectância difusa (Figura 3.2



FIGURA 3.2 - Espectrômetro de Infravermelho Próximo utilizados nas análises.

É permitida operação com resolução espectral de 8 cm^{-1} , sendo que o número de varreduras pode ser modificado. No presente trabalho foram utilizadas 32 varreduras por espectro obtido, ou seja, o equipamento realiza a varredura da amostra 32 vezes e o espectro gerado representa a média dessas 32 varreduras. A região do infravermelho próximo empregada para obtenção dos espectros abrange faixa correspondente de 1000 a 2500 nm (ou 10000 a 4000 cm^{-1} , números de onda) contabilizando 1501 pontos do espectro. No entanto, para o desenvolvimento dos modelos de calibração foram eliminadas as regiões que apresentavam pouca informação ou informação desnecessária. O espectro é obtido como mostra a Equação 3.1 (MANUAL BÜCHI, 2007).

O equipamento emprega software NIRWare Software Suite para aquisição e tratamento dos dados.

$$\mathbf{Espectro} = \frac{\text{espectro da amostra} / \text{espectro da referencia interna}}{\text{espectro de referencia externa} / \text{espectro de referencia interna}} \quad (3.1)$$

3.5.2 - Condicionamento das amostras antes da aquisição dos espectros

As amostras foram transferidas em isopor (Figura 3.3a) dentro de embalagens de polipropileno (Figura 3.3b) e transportadas ao laboratório para a realização das medidas (Figura 3.3c). Após as análises as amostras eram novamente congeladas, buscando-se manter sua integridade e propriedades físico-químicas.

Tendo em vista o pequeno volume de amostras disponível, optou-se por utilizar frascos de vidro (Figura 3.3c) para a análise de amostras de carne bovina, sendo as amostras moídas transferidas a recipiente de análise por meio de uma seringa plástica (Figura 3.3e), visando eliminar perdas de amostra.

A amostra, já dentro do frasco de vidro foi comprimida por pesos de aço inoxidável com massas próximas, para uniformização do procedimento de compactação e prevenção de formação de sulcos onde passaria o feixe de luz (Figura 3.3f).

Entre as etapas de coleta de espectros a seringa, os pesos de aço e os frascos eram lavados em água corrente e detergente comercial com posterior enxágue em água destilada, seguido de secagem em estufa a 60 °C.

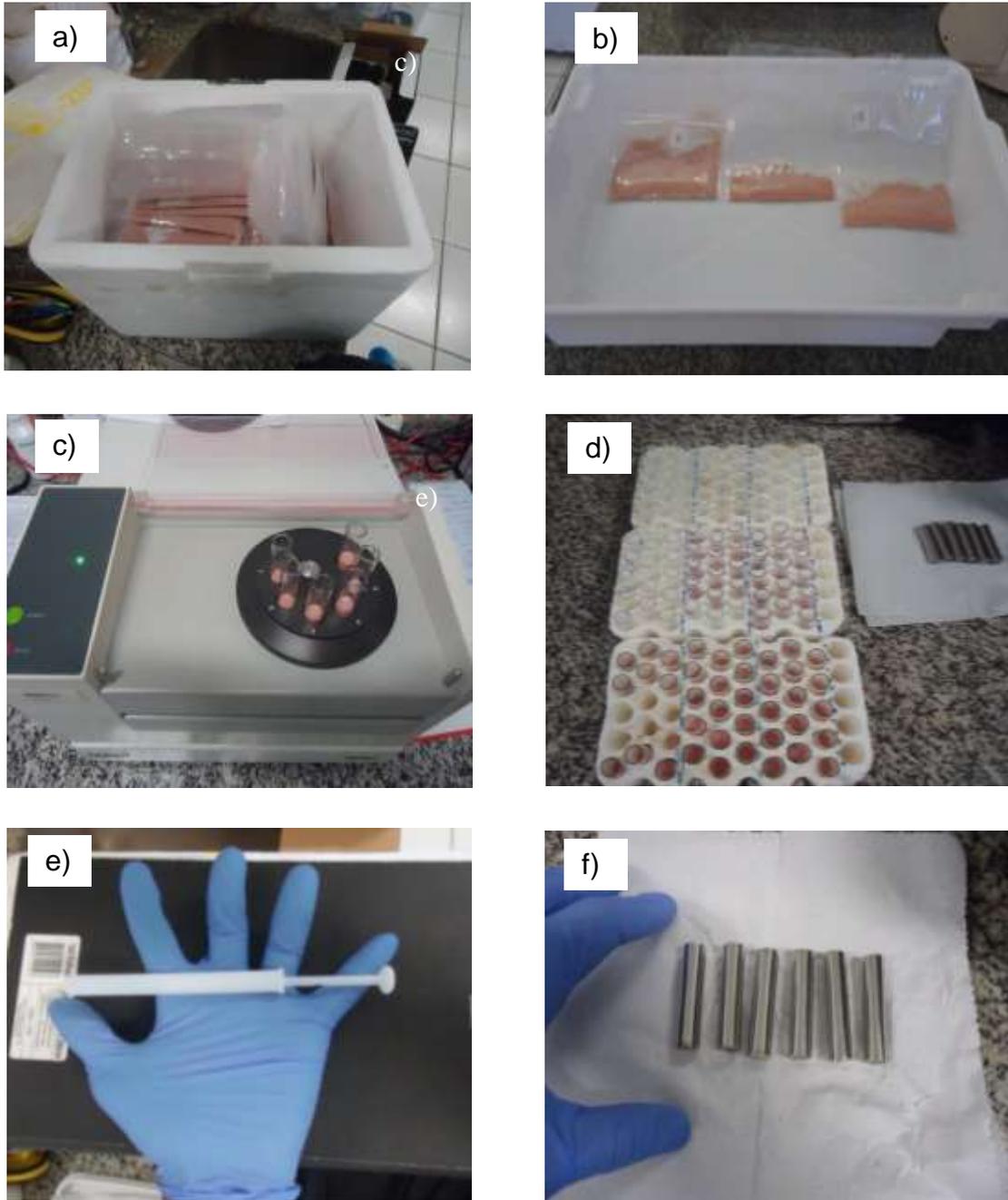


FIGURA 3.3 - (a) Isopor usado na transferência das amostras; (b) Embalagem de saco plástico; (d) Análise no NIR; (c) Amostras dentro de vials; (e) Seringa de plástico; (f) Peso de aço inoxidável.

Antes das análises as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por cerca de uma hora e meia.

3.5.3 - Aquisição de espectros FT-NIRR

As amostras foram misturadas e a coleta foi realizada a partir de três alíquotas coletadas aleatoriamente na embalagem. Foram registrados dois espectros de cada alíquota (com o objetivo de eliminar efeito de oscilações na medida), perfazendo seis espectros de cada amostra; para fim de construção dos modelos de calibração, calculou-se o espectro médio dessas seis replicatas (Figura 3.4).

A região do espectro eletromagnético empregada para confecção de todos os modelos de calibração multivariada estendeu-se de 1111 a 1937 e de 2016 a 2500 (4000 a 4960 e de 5160 a 9000 cm^{-1}). Os dados espectrais foram adquiridos em reflectância, sendo então convertidos para absorbância ($-\log R$) no momento da modelagem.

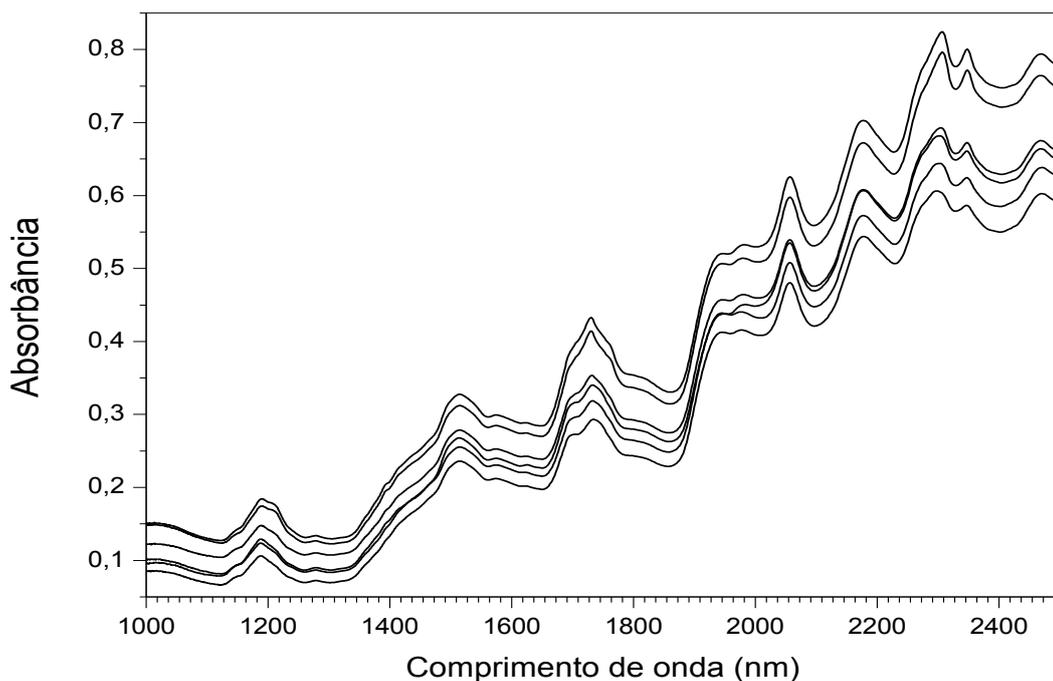


FIGURA 3.4 - Espectros NIR de carne bovina.

3.6 - Liofilização

A amostra de carne foi cortada em lâminas e posteriormente em cubos. Em seguida, placas de petri foram pesadas e taradas. Adicionou-se o material em

cada placa de modo a atingir 30 g, aproximadamente, ao final da pesagem. As amostras foram, então, identificadas de 1 a 4 e liofilizadas em tempos sequenciais e crescentes de 9, 24, 30 e 48 h de maneira a garantir apreciável diferença entre as desidratações. Passado o tempo, a amostra era pesada e em seguida analisada em espectrômetro NIR. Os dados do procedimento encontram-se na Tabela 3.3.

TABELA 3.3 - Tempos de liofilização das alíquotas de carne bovina.

Nº amostras	*Tempo	**m _{placa}	**m _{amostra + placa}	**m _{liofilizada}	% H ₂ O eliminada
1	9	8,20	38,21	22,99	23,4
2	24	7,79	37,79	15,80	47,3
3	30	8,54	38,60	16,45	45,3
4	48	8,49	38,59	14,24	52,6

* Tempo em horas (h); ** Massa em gramas (g);

3.7 - Extração de lipídeo total

O procedimento de análise de extração de lipídeo total foi o mesmo adotado pelo Laboratório de Carnes, como descrito no procedimento anterior 3.2. A análise se deu em duplicata, empregando amostras de 2010, 2011 e 2012, avaliando tanto material lipídico (filtrado) quanto retido em papel de filtro com subsequente obtenção de espectros NIR. A Figura 3.5a ilustra os acessórios empregados na extração de lipídeos totais, enquanto a Figura 3.5b apresenta o material proteico depois da extração. A Figura 3.5c é referente à gordura extraída da carne bovina.



FIGURA 3.6 - (a) Material utilizado na extração; (b) Material proteico; (c) Material lipídico.

3.8 - Construção dos modelos PLSR

Os modelos foram confeccionados tendo como base de cálculo o algoritmo NIPALS que opera em ambiente do software da BÜCHI, denominado NIRCAl 5.2. Este algoritmo calcula os autovetores um a um e a regressão empregando o método dos mínimos quadrados parciais PLS para construção das equações-modelos. O método utilizado foi o PLS 1. Das 127 amostras empregadas para a construção dos modelos de regressão 2/3 foram separadas para calibração e 1/3 para validação interna, além de 32 amostras para a validação externa segundo a norma ASTM E1655-05.

Antes da modelagem foi realizada uma análise exploratória dos dados para verificar a possibilidade de usar todo o conjunto de amostras para a calibração de cada propriedade ou criar modelos para cada agrupamento para propriedades isoladas.

No momento da modelagem o conjunto de dados espectrais foi submetido a transformação e por fim centrado na média, enquanto que o conjunto de dados de referência foi escalado pela variância. O adequado número de variáveis latentes foi definido pela avaliação do PRESS (*Prediction Residual Error Sum Square*) e do RMSEP (*Root Mean Square Error of Prediction*), parâmetros da calibração multivariada que se complementam.

A escolha de variáveis se deu em virtude do gráfico de coeficientes de regressão e verificação das regiões dos componentes químicos de interesse no NIR.

Na intenção de identificar quais transformações seriam mais adequadas para o pré-tratamento do conjunto de dados espectrais de carne bovina foram construídos modelos aplicando transformações individuais e suas combinações, inclusive sem transformação alguma como representado na Tabela 3.4.

TABELA 3.4 - Transformações aplicadas aos espectros de modelos respectivos.

Nº do modelo	Transformação
1	Sem tratamento
2	1ª Derivada*
3	SNV
4	1ª Derivada + SNV
5	Alisamento + 1ª Derivada + SNV

* Derivada Savitz-Golay

A escolha de amostras anômalas se deu pela avaliação do número do *leverage* e dos Resíduos de *Student*.

Os indicadores estatísticos utilizados para estimar a qualidade dos modelos foram: PRESS, RMSEC, RMSEP, SEP, BIAS e R².

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Valores de referência para lipídeos totais e perfil lipídico em carne bovina

Os teores das 159 amostras de gordura do músculo *Longissimus* de carne bovina foram determinados por método de extração e cromatografia gasosa para lipídeos totais e perfil lipídico, respectivamente, como representado no Apêndice A.

Os teores de lipídeos totais variaram entre 0,99 e 7,05 g/100g e tiveram um coeficiente de variação de 45,74%, indicando alta variabilidade entre as amostras.

Entre os ácidos graxos individuais eleitos para análise, o ácido elaídico apresentou menor valor médio de teor (de 7,91 mg/100 g), enquanto o ácido oleico apresentou maior valor médio de 0,86 g/100 g. Os coeficientes de variação dos teores de ácidos graxos individuais foram altos, sendo observados valores entre 32,84% a 68,08% correspondentes ao ácido linoleico e ácido palmitoleico, respectivamente (Tabela 4.1).

Foram agrupados alguns tipos de ácidos graxos. Cada grupo (ou série) apresenta o somatório dos valores de teores de ácidos graxos individuais, observando maior valor médio de teor de 1,25 g/100 g para o grupo de ácido graxo saturado (AGS) e menor valor médio de teor de 0,01 g/100 g para o grupo de ácidos linoleicos conjugados (ALC) nas configurações *cis* e *trans*. Foi observado menor valor de coeficiente de variação de 26,66% à série ômega 3 e de maior valor e CV de 68,5% à série dos ácidos linoleicos conjugados.

Os valores de teores encontrados neste trabalho estão de acordo com relatados no estudo de outros autores (MOUROT et al., 2015; PRIETO et al., 2010). No trabalho realizado por MOUROT et al. (2015), onde o autor utiliza quatro raças de boi (inclusive as raças empregadas nesse estudo), a faixa de teores dos componentes químicos foi próxima à encontrada nesse estudo, mostrando que os cruzamentos AxLx mostraram-se úteis tanto no preenchimento quanto no melhoramento dos limites mínimos e máximos. Nesse estudo, pôde se verificar

maiores valores de teor dos componentes químicos se comparada à mesma musculatura usada por (MOUROT et al., 2015).

A composição química da gordura da carne pode ser influenciada pelas características genéticas da raça do animal (PRIETO et al., 2010).

TABELA 4.1 - Parâmetros estatísticos das propriedades em estudo.

Nomenclatura	Mínimo	Máximo	Média	s	%CV
Lipídeos totais	0,99	7,05	2,59	1,19	45,74
Ácidos Graxos Individuais (g/100g MF)					
C14:0*	7,00	261,71	68,01	43,41	63,83
C15:0*	2,50	27,04	10,20	4,87	47,72
C16:0	0,21	1,99	0,68	0,36	51,86
C17:0*	6,89	61,63	22,71	11,46	50,47
C18:0	0,14	1,13	0,43	0,17	40,55
c9-16:1*	10,54	236,43	67,80	46,84	69,08
c9-18:1	0,20	2,49	0,86	0,50	57,91
t9-18:1*	1,68	28,61	7,91	4,35	55,03
C18:3n-3*	5,13	29,60	12,91	4,91	38,03
C18:2n-6*	66,28	306,59	150,98	49,58	32,84
Família de Ácidos Graxos (g/100g MF)					
AGS	0,39	3,39	1,25	0,58	46,28
AGMI	0,24	2,99	1,01	0,58	57,68
AGCR*	7,69	62,46	20,04	8,29	41,36
ALC*	2,60	45,94	10,44	7,18	68,83
n-3*	14,52	49,54	25,64	6,83	26,65
n-6*	84,69	352,97	187,47	55,25	29,47
AGPI*	99,22	387,09	213,12	59,85	28,08

*Teor (mg/100g de MF); MF, músculo fresco

4.2 - Verificação inicial dos dados

Para noção de orientação dos dados é relevante ter como etapa inicial a obtenção de parâmetros estatísticos como a média, a mediana, a moda, a amplitude, o desvio padrão (DP) e o desvio-padrão relativo (DPR). No entanto, muitas vezes o comportamento dos dados e suas exceções são difíceis de visualizar por conta do volume de apresentação dos mesmos, necessitando várias vezes passar pelo crivo visual. Daí surge a necessidade de se empregar diagramas para melhor compreensão de seus eventos por conta da vastidão e compressão de

informações que estes apresentam.

Para a avaliação da distribuição do teor das propriedades (teores de lipídeos totais e perfil lipídico) foram construídos histogramas. Percebe-se que os modelos de regressão podem sofrer influência dependendo da frequência de distribuição dos teores de cada ácido graxo, logo o gráfico de distribuição pode mostrar indícios de quanto os modelos serão afetados.

A frequência de distribuição ideal para o conjunto de dados trata-se daquela que apresenta formato de gaussiana, formada por um gráfico de distribuição monomodal, com formato de “sino” como são os casos dos dados de lipídeos totais e ácido oleico (Figura 4.1).

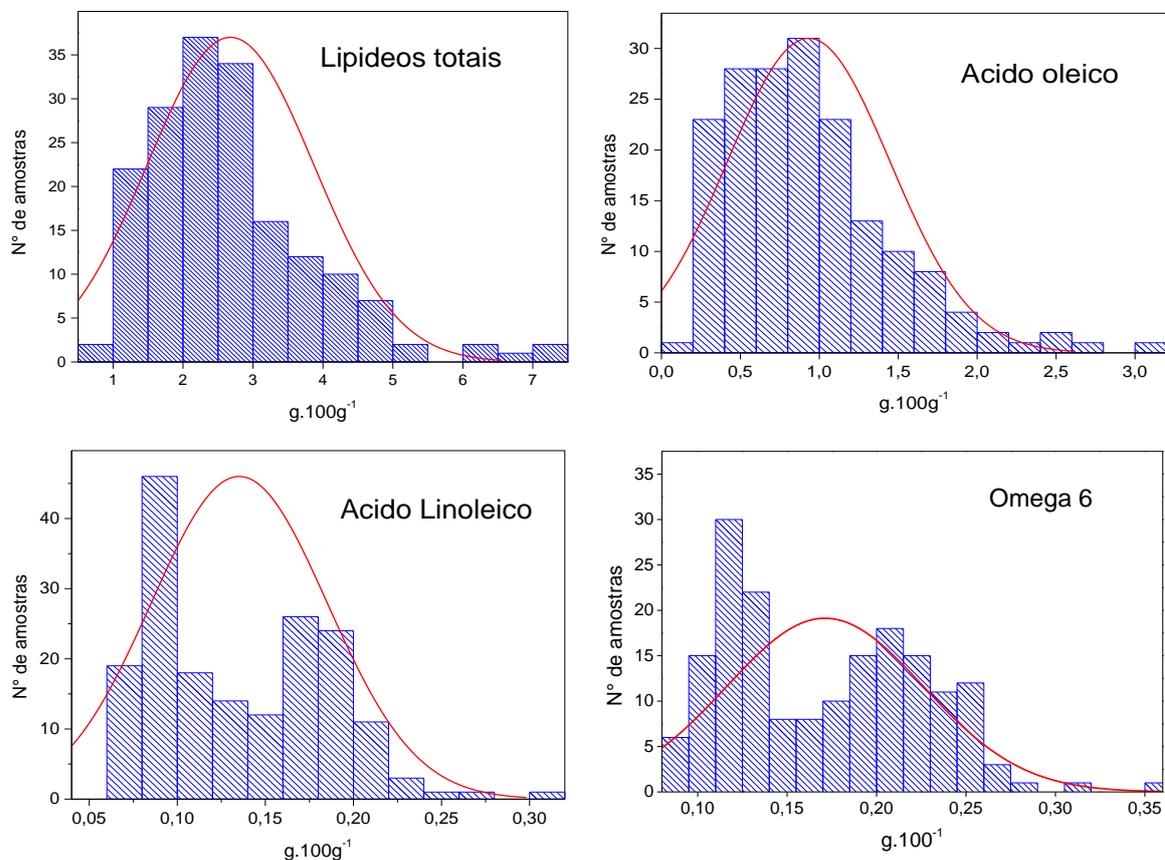


FIGURA 4.1 - Histograma de algumas das propriedades para avaliação da dispersão dos dados.

Na representação gráfica dos dados do ácido linoleico e do ômega 6 foi observado comportamento diferente. Nesses, os dados demonstram possuir dois tipos de distribuição dos teores, caracterizando uma distribuição bimodal.

Os gráficos de histograma apresentam outra facilidade que deve ser levada em consideração que é a capacidade de indicar amostras que apresentam

comportamento atípico. Verifica-se, em todos os histogramas, uma extensão da cauda causada pela existência de amostras que aparentemente se distanciam das outras. Esse aspecto deve ser anotado para consulta no momento da modelagem.

Outro aspecto importante é a correlação entre variáveis. Com o gráfico de dispersão é possível visualizar qual a relação existente entre as propriedades em estudo e qual impacto na construção de modelos de regressão. A Figura 4.2 revela uma relação diretamente proporcional entre a variável ácido linoleico e a variável ômega 6. Nesse gráfico também foi possível encontrar agrupamentos e aparente amostras anômalas.

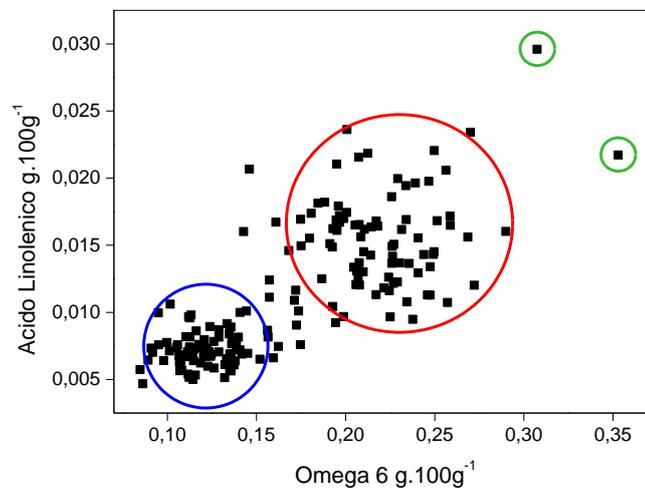


FIGURA 4.2 - Gráfico para avaliar a dispersão as propriedades ácido linoleico e ômega 6.

4.3 - Granulometria

A análise exploratória da granulometria da amostra do músculo *Longissimus* de carne bovina foi realizada para tentar verificar se haveria expressiva diferença na interação do feixe luminoso e a distribuição do tamanho de partículas quando essa fosse moída por moinho analítico ou por moinho criogênico, com o objetivo de avaliar a influência do tamanho de partículas no modelo de calibração. Deve ser salientado que as amostras utilizadas na construção dos modelos de calibração foram moídas em moinho de facas. Os resultados da análise exploratória dos espectros das amostras moídas estão representados na Figura 4.3.

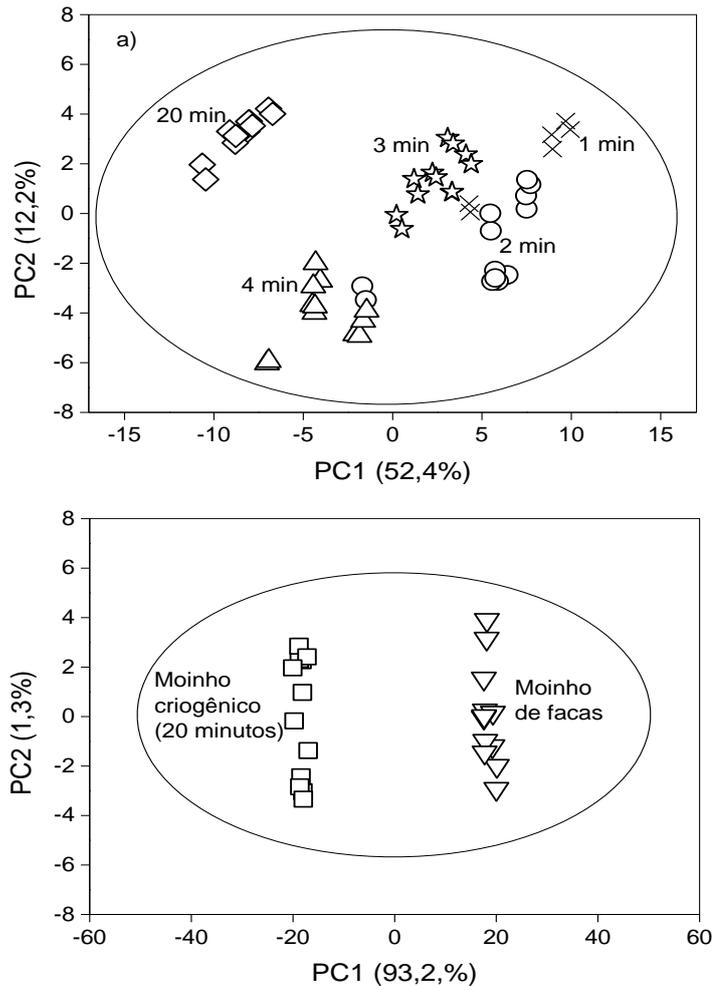


FIGURA 4.3 - (a) PCA das alíquotas moídas em moinho criogênico, (b) PCA das alíquotas moídas em moinho criogênico e em moinho de facas.

A porção de carne selecionada para ser moída em moinho criogênico foi dividida em cinco subporções, sendo que cada uma foi moída em tempos sequenciais e crescentes. Na Figura 4.3a é possível observar os *scores* da PCA aplicada para a amostra moída nos tempo de 1, 2, 3, 4 e 20 min e designados por legendas, para melhor visualização. Observa-se que a distribuição de tamanho referente aos três primeiros minutos de moagem estão mais próximas e melhor separadas no lado positivo (direito) da PC1, que explica 52,4% da variância dos dados, indicando maior semelhança no efeito físico de interação da luz com as partículas de carne, inclusive de maior tamanho. No lado de valores negativos da PC1 é verificado uma aproximação e o que parece uma tendência das distribuições referentes a 4 e 20 min de moagem. Aparentemente, quanto maior o tempo de moagem mais os dados se orientam para os valores negativos da PC1 (lado

negativo). Como a subporção de 20 min de moagem com comportamento diferente, optou-se por utiliza-la na comparação com o moinho de facas. (Figura 4.3b).

A Figura 4.3b ilustra a formação de segregações discriminadas pela PC1 que explica 93,2% da variância dos dados, as quais foram identificadas por legenda específica. A direita são as alíquotas que foram submetidas ao procedimento de moagem utilizado pelo Laboratório de Carnes da Embrapa (empregando moinho de facas), enquanto que a esquerda a porção da amostra de carne moída em moinho criogênico, durante 20 min. Observa-se que por mais que exista uma diferença acentuada entre tamanhos de partículas, como constatada na Figura 4.3b, verifica-se que o conjunto de dados está inserido na elipse ao nível de significância de 95%, i.e., não há diferença significativa de granulometria entre os dois conjuntos.

Por não haver diferença estatística aparente entre as distribuições de tamanho de partícula dos conjuntos de dados resolveu-se continuar por utilizar as amostras moídas conforme protocolo seguido pelo Laboratório de Carnes da Embrapa.

Depois de definida a maneira de moagem para a construção dos modelos de regressão de carne bovina, foi obtida a distribuição de tamanho de partículas. O gráfico de distribuição de tamanho de partículas apresenta comportamento normal e monomodal, indicando haver uma grande parte da amostra com distribuição de tamanho mais frequente e moda de aproximadamente 190 μm (micrômetros) como ilustrado pela Figura 4.4.

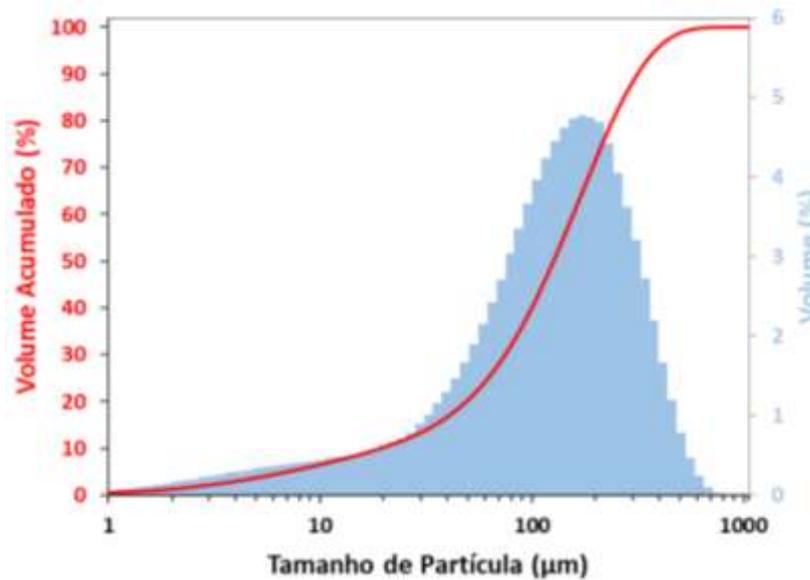


FIGURA 4.4 - Gráfico de distribuição de tamanho de partícula adotado para a calibração multivariada.

4.4 - Interpretação de espectros NIR

O espectro NIR, assim como aqueles que envolvem respostas de outras técnicas espectroscópicas, está associado às características relativas à interação da radiação com a matéria em geral. Essa interação permite desvendar que cada substância tem resposta intrinsecamente diferente das outras. Portanto pode-se inferir que cada substância guarda uma impressão digital (ou *fingerprint*) individual. É possível encontrar similaridades entre várias substâncias, i.e., existem entidades estruturais que se repetem nas inúmeras moléculas encontradas na natureza e artificialmente.

A Figura 4.5 seguinte ilustra o banco de dados espectrais de carne bovina usados como base no desenvolvimento de todos os modelos de calibração multivariada. A abscissa do espectro constitui os comprimentos de onda enquanto que na ordenada a absorvância ($-\log R$) referente a cada comprimento de onda. Cada região do espectro retrata os efeitos da interação da radiação eletromagnética com a vibração de ligações N-H, C-H, O-H, C-C, C-O, entre outras, além do sinergismo dessas ligações.

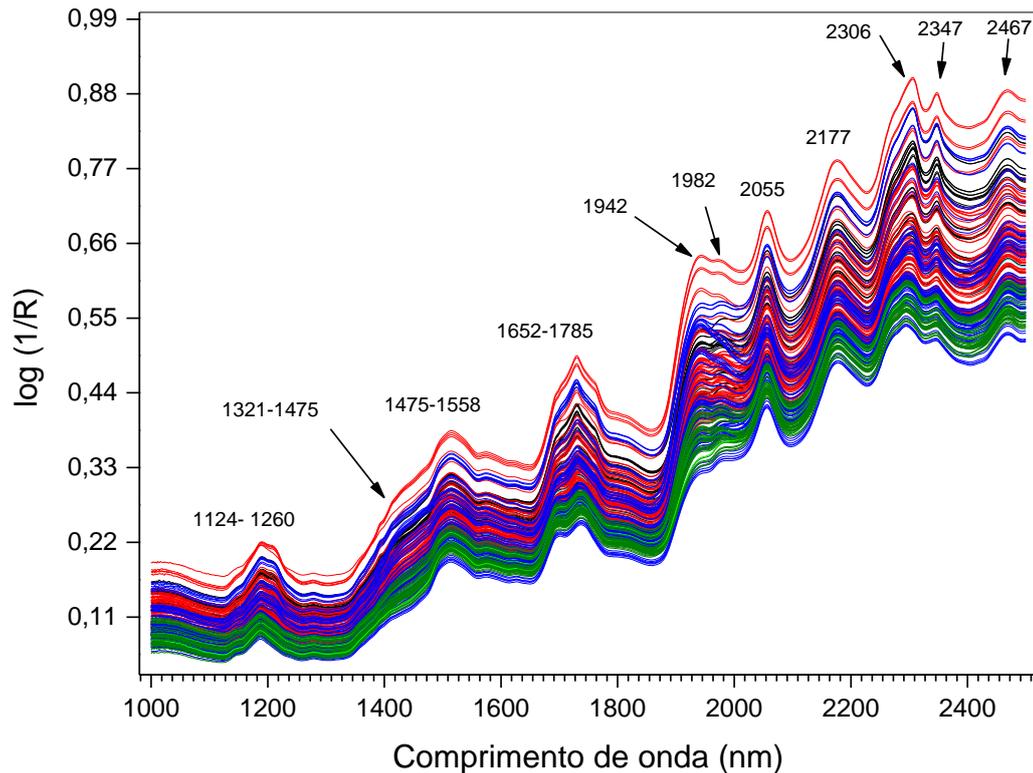


FIGURA 4.5 - Espectro do conjunto de amostras usadas na calibração.

O espectro de carne bovina constitui de bandas estreitas e largas em toda região de 1000 a 2500 nm. Como característica do espectro, encontramos bandas em 1124-1260, 1321-1475, 1475-1558, 1652-1785, 1942, 1982, 2055, 2177, 2306, 2347 e 2467 nm. De acordo com Prieto et al. (2012) as regiões em 1130-1250, 1350-1450, 1720-1760 e 2200-2400 nm condizem com ligações C-H ($-\text{CH}_3$). SIESLER et al. (2006) mencionam combinação de bandas de alongamento e movimento de torção entre 2275-2285 nm e segundo sobreton de alongamento simétrico e assimétrico entre 1150-1220 nm. Segundo GIVENS et al. (apud OSBORNE e FEARN, 1986²) há combinação de bandas em 1940 nm referente a alongamento de O-H (H_2O) em estudo realizado em alimentos como grão, pão e queijo. Os mesmos autores comentam a respeito das maiores bandas de absorção de gorduras e óleos referente às longas cadeias de $-\text{CH}_2$ dos ácidos graxos (segundo sobreton) em 1200 nm, de CH_2 com primeiro sobreton em 1734 e 1765 nm e combinação por estiramento em 2310 e 2345 nm. Segundo Bagchi (2016) há regiões em 1471-1530 nm tipicamente conhecidas como sinais de água

² OSBORNE, B.; FEARN, T. Near infrared spectroscopy in food analysis. Longman Scientific & Technical, New York, 1986.

correspondentes ao primeiro sobretom de estiramento O-H e N-H e flexão no plano de H-C/ N-H em 2050-2070.

4.5 - Análise exploratória dos dados

A análise exploratória ou análise de reconhecimento não supervisionado de padrões é um artifício, como o próprio nome menciona, que consiste na exploração dos dados sem fazer juízo de valores ou classificação desses dados previamente. Costumeiramente utilizada quando não se tem nenhuma informação do conjunto de dados de interesse, ou mesmo, na comparação de algumas informações dispostas em grandezas diferentes, ou seja, por exemplo, comparar eventos de dados espectrais com eventos de concentrações obtidos por outra metodologia. Essa análise é realizada utilizando a análise de componentes principais, empregada para agrupar amostras de acordo com suas similaridades e correlacionar as variações espectrais das diferentes amostras de carne bovina na região do infravermelho próximo. Na PCA tanto os *loadings* como os *scores* são alvo de avaliação da informação multivariada original.

O conjunto de dados espectrais das 127 amostras de carne bovina em sextuplicata com base na região de 1000 a 2500 nm foi submetido à análise exploratória como representado a seguir (Figura 4.6). Para melhor compreensão das observações no gráfico de PCs, os dados espectrais foram transformados por meio da 1ª derivada com suavização Savitz Golay de 9 pontos e polinômio de segundo grau, normalizados pela área total e, por fim, centrados na média.

A Figura 4.6 permite identificar a combinação de todas as amostras em um só conjunto, demonstrando não haver mais de uma segregação, possibilitando construir modelos de calibração multivariada com o conjunto completo de dados (as cores indicam as amostras de ano de abate de 2010, 2011 e 2012).

Na avaliação dos *scores* (*autovalores*), as duas primeiras componentes principais (PC) foram utilizadas para a análise dos dados e são suficientemente responsáveis por explicar grande parte (92,8%) da variância dos espectros. A primeira componente (PC1) retém 60,0%, enquanto a segunda componente (PC2) corresponde por 32,80%.

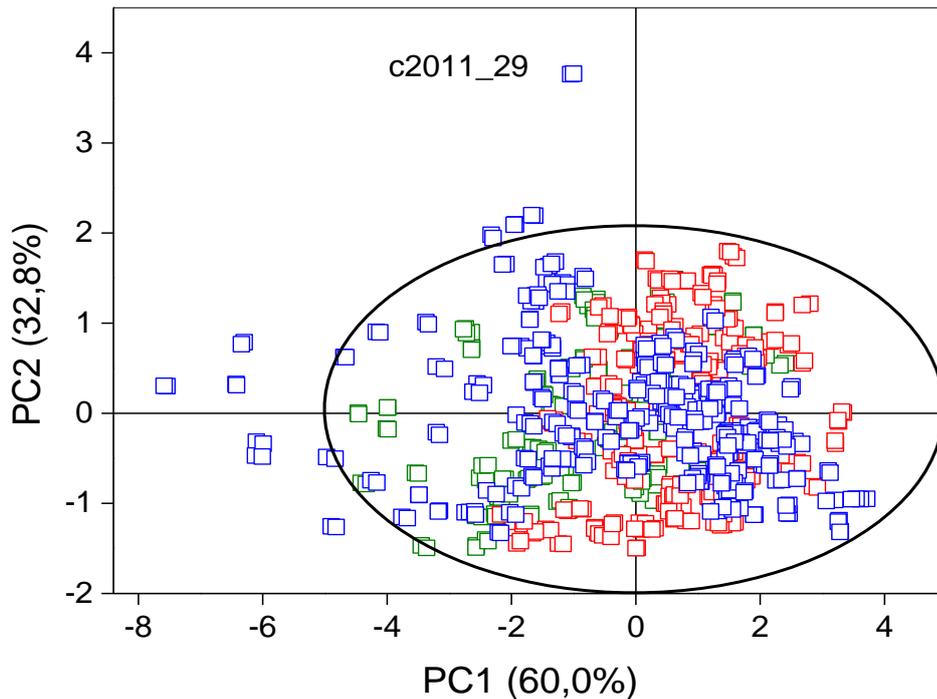


FIGURA 4.6 - Gráfico de scores de todo conjunto de dados espectrais das amostras da calibração.

Entre as várias maneiras de estimar amostras anômalas, já mencionadas anteriormente, o método PCA, também permite mostrar amostras que tem comportamento anômalo, como é o caso das replicatas da amostra c2011_29.

Por outro lado, para evidenciar as regiões espectrais de maior representatividade do NIRS responsáveis por apontar o arranjo de segregação dos dados espectrais das amostras de carne utilizou-se o gráfico de *loadings* com base nas PC1 e PC2. No estudo dos *loadings* (autovetores) deve-se atentar para as regiões do espectro cujos valores de *loadings* se distanciam do zero, i.e., regiões que estejam mais próximos de zero, menos contribuem para organização dos dados, do contrário, quanto mais distantes maior a capacidade de influenciarem (Figura 4.7). São observadas na PC1 regiões acima e abaixo de zero de grande representatividade, como por exemplo, a região por volta 1400 nm correspondente à água. Outra região importante se encontra por volta de 1510 nm e 1950 nm, referente à ligação O-H de H₂O. Em resumo, a PC1 consiste de intensa contribuição para sinais aparentemente de água. Já a PC2, demonstra sinais em região do espectro situados em 1183-1222, 1386-1396 e 2283-2413 nm, relacionados a ligações C-H (-CH₃). A região entre 1640 e 1793 está relacionada às ligações C-H de -CH₂. Considerando as observações, a segunda componente principal (PC2)

corresponde a sinais de ácidos graxos.

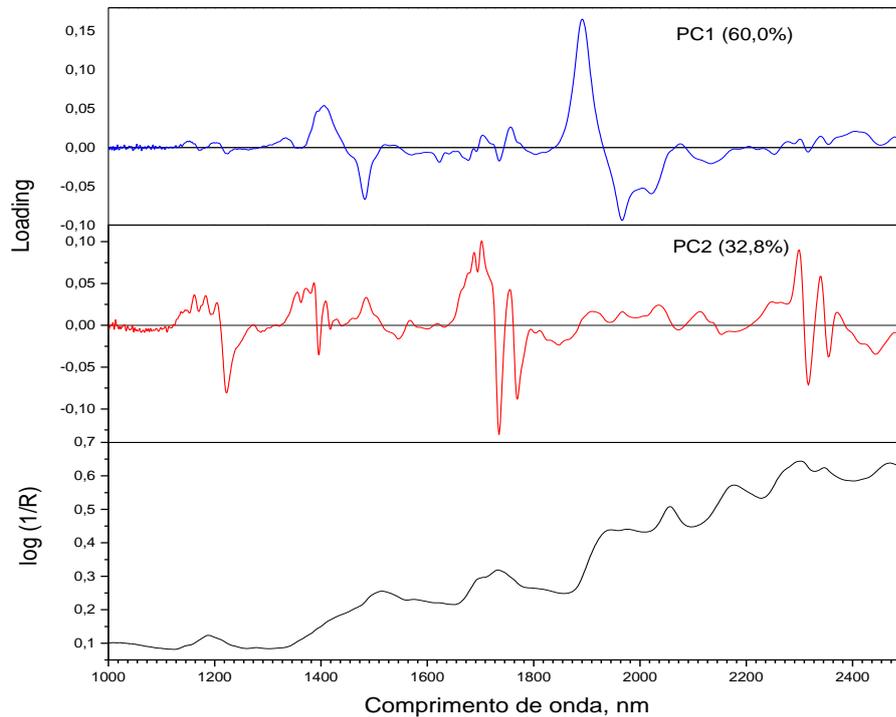


FIGURA 4.7 - Loadings da PC1 e PC2 referente a organização das amostras de calibração.

4.6 - Seleção de variáveis

4.6.1 - Liofilização

Vários métodos de seleção de variáveis são conhecidos na literatura, sendo um dos mais utilizados o algoritmo genérico. Nem sempre processos de seleção de variáveis necessitam de métodos sofisticados, sendo possível simples visualização dos dados para eliminação de variáveis indesejadas. FERREIRA (2015) descreve uma forma de seleção de variáveis pela simples verificação de variações do sinal analítico líquido entre espectros. Por definição, a seleção de variáveis consiste da escolha de variáveis que tem maior influência sobre o arranjo dos dados eliminando as de menor influência. A ideia foi reproduzida nesse estudo.

Uma maneira de visualizar variações do sinal líquido é encontrar a

região pertinente ao constituinte de interesse por intermédio da adição do constituinte na matriz de trabalho, ou eliminar o constituinte dessa matriz, gradativamente, monitorando quaisquer variações na aparência da resposta analítica.

A análise de umidade tem como base verificar possíveis alterações do sinal de água na amostra de carne depois de sucessivas etapas de desidratação. As ligações da água possuem forte absorção no infravermelho, gerando grandes bandas no NIRS. Essas bandas podem muitas vezes sobrepor informação importante ou mesmo serem confundidas e correlacionadas no processo de regressão.

Na metodologia abordada nesta tese utilizou-se amostra de carne cortada em forma cubos de espessuras semelhantes, com posteriores etapas sucessivas de desidratações. O pressuposto considerado é que dessa forma a água superficial (não foi levada em consideração a influência de água ligada quimicamente, pois o procedimento realizado pelo Laboratório de Carne da Embrapa não permite eliminação dessa categoria de água) seja eliminada de forma homogênea e mais rapidamente pelo aumento da área superficial.

A Figura 4.8a ilustra os espectros das alíquotas da amostra de carne bovina submetidas aos tempos de 9, 24, 30 e 48h de liofilização, destacando-se uma apreciável discrepância entre os espectros de 9h do restante. Neste espectro são identificadas três regiões de intensa absorção, as quais encontram-se em 1187, 1455 e 1933 nm, respectivamente.

Os espectros referentes a 24, 30 e 48h foram usados para a seleção de variáveis, pois eram os mais que se assemelhavam aos espectros de carne bovina adotados no estudo (Figura 4.8b). Nessa etapa verificou-se, no conjunto de espectros, quais regiões convergiram entre si, dessa maneira tínhamos indicação da possível região de água, pois teoricamente era o único componente químico entre todos que variava. Na Figura 4.8c é possível visualizar com mais clareza uma região aproximadamente entre 1947 e 1980 nm onde o evento de convergência indica presença de água.

PRIETO et al., 2009 relataram em seu trabalho regiões em 1450 nm e 1940 nm como sendo específicas de ligação O-H de água, enquanto que as regiões em 1737 e 2300 nm pertencentes a gordura.

Em comparação ao estudo de GUY (2011) os espectros de carne

fresca utilizadas no trabalho apresentaram as mesmas bandas de grande intensidade como apresentadas nos espectros de 9h de liofilização, demonstrando haver após 9h de liofilização grau de hidratação parecido com o de carne fresca, i.e., nesse estágio o processo de liofilização possibilitou pouca perda de umidade pela amostra.

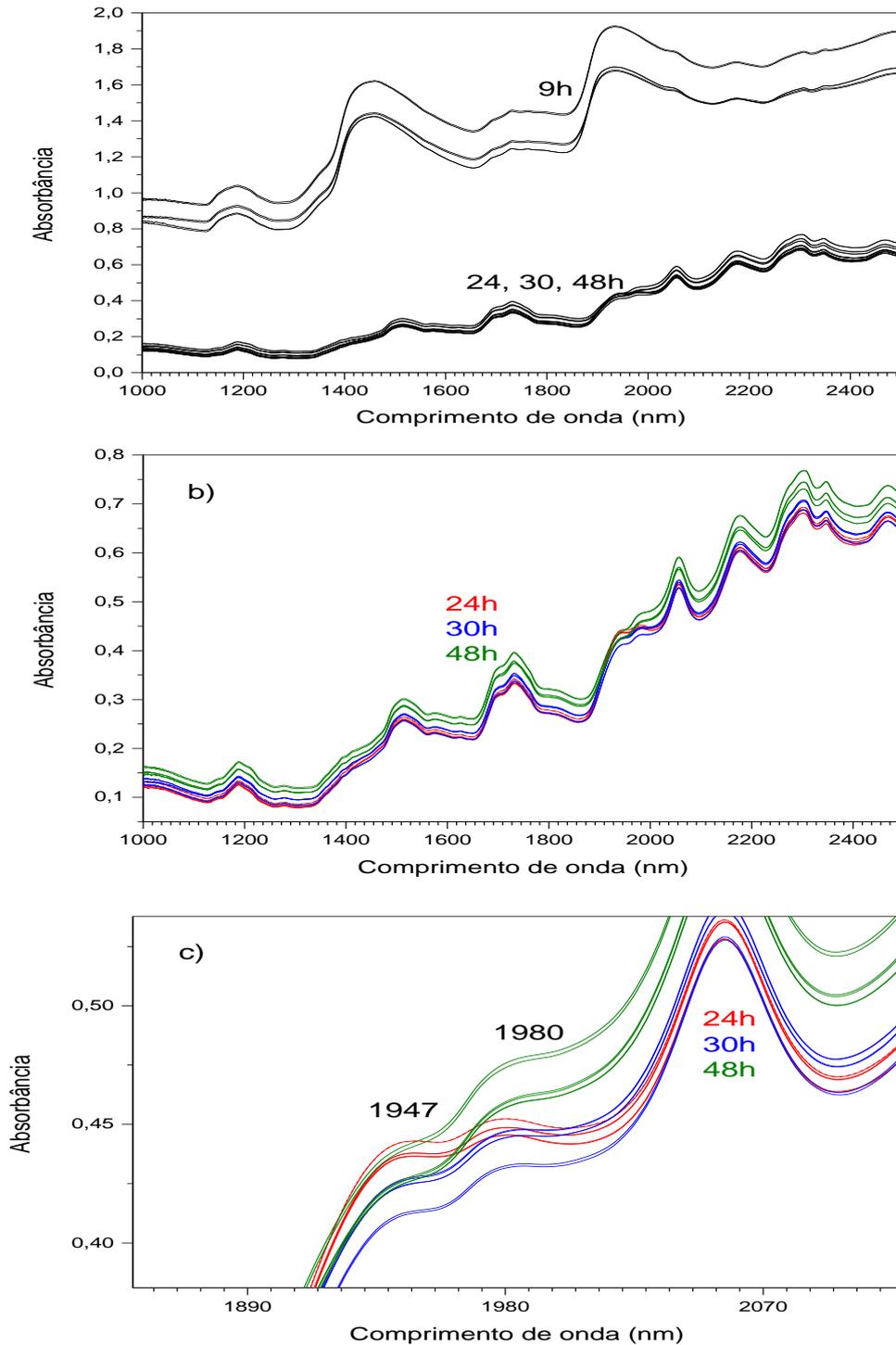


FIGURA 4.8 - (a) Espectros das alíquotas liofilizadas nos tempos de 9, 24, 30 e 48h; (b) Espectros das alíquotas nos tempos de 24, 30 e 48h de liofilização; (c) Região de convergência dos espectros avaliada como sendo de água.

ZHOU e colaboradores (2012) também empregaram a técnica de liofilização para suprimir a interferência por parte do sinal de água. Nele os autores obtiveram espectros semelhantes aos obtidos em 24, 30 e 48h de liofilização.

Várias pesquisas têm se voltado ao desenvolvimento de modelos

lineares com base na coleta de espectros em amostra de carne intacta momentos depois do abate do animal (CECCHINATO et al., 2015; HAWKINS et al., 2014; KARLSDOTTIR et al., 2014; PRIETO et al., 2010). A estratégia é bem vista, pois trata de suprimir etapas no tratamento de amostra. No entanto, algumas considerações devem tomadas, pois os espectros obtidos em amostras após abate são semelhantes aos obtidos com apenas 9h de liofilização. Aparentemente os sinais de água se sobrepõem aos sinais pertinentes ao perfil lipídico, impossibilitando resolução espectral e qualquer relação linear que os métodos de regressão possam fazer nessa região.

Por efeitos de sinergismo molecular, i.e., influências nas vizinhanças das moléculas é possível que flutuações nas imediações dos comprimentos de ondas firmados como sendo de água aconteçam e não seja surpresa poucas variações de orientação das bandas (SIESLER, 2006).

O Laboratório de Carne da Embrapa estabelece 48 h como sendo o tempo adequado para perda constante de água, no entanto percebe-se que em 24h grande parte da água já foi eliminada.

4.6.2 - Coeficientes de regressão dos modelos

Outra maneira de selecionar variáveis é pela avaliação dos coeficientes de regressão. A avaliação por parte dos coeficientes (vetores) é feita com base no distanciamento do sinal em relação ao marco zero dos valores de regressão, em outras palavras, quanto mais distante estiver o sinal do zero (positiva ou negativamente), mais representativo é este comprimento de onda para desempenho do modelo de regressão (RIBEIRO, 2012).

Na Figura 4.9 são apresentados os gráficos de coeficientes de regressão com os respectivos pré-tratamentos de dados empregados nesse estudo, além do espectro sem pré-tratamento para comparação das regiões envolvidas. A esquerda dos gráficos são observadas pequenas aparições de sinal instrumental transiente (sinal ruidoso) e espúrio de valores de regressão próximos do zero. Essa região prolonga-se numa faixa aproximadamente entre 1000 a 1111 nm e foi eliminada dos modelos de regressão de carne, pois poderia adicionar informação

indesejável e, até mesmo, redundante.

Vários autores tem eliminado essa região demonstrada ser ruidosa, no entanto nada é dito a respeito. Ao que parece visualmente é uma região que não consta informação desejável e por isso tem sido eliminada (CECCHINATO et al., 2012; PRIETO et al., 2008b; VILJOEN; HOFFMAN; BRAND, 2005).

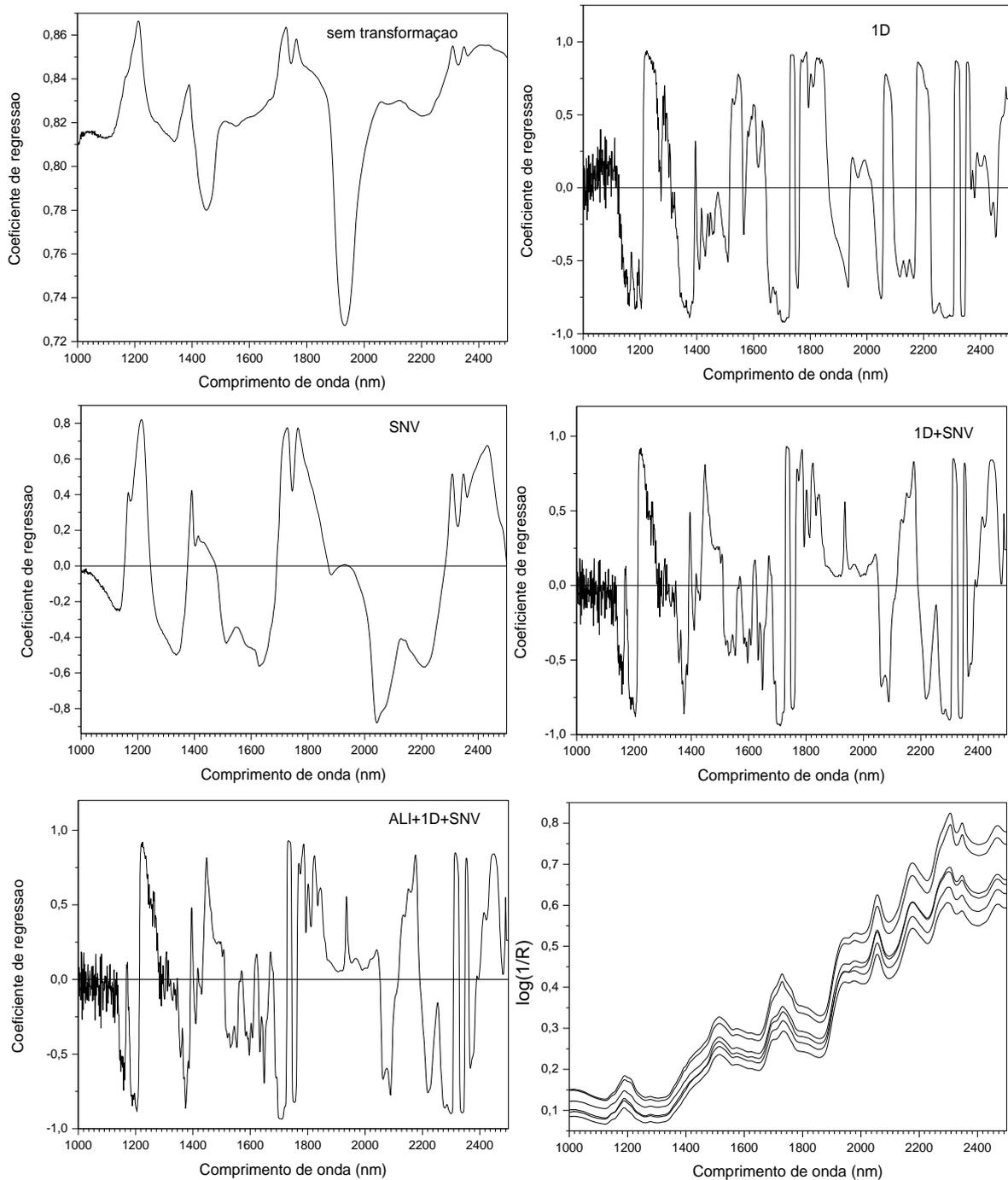


FIGURA 4.9 - Gráficos de coeficiente de regressão para as várias transformações aplicadas.

4.6.3 - Extração de gordura

A proposta de seleção de variáveis foi adotada segundo a separação de dois dos constituintes da amostra de carne, sendo aproveitadas tanto a fração lipídica quanto a fração proteica para análise. Diante disso, levantou-se o seguinte pressuposto: ao eliminar parte da gordura da matriz de carne bovina, o espectro seria representado diferentemente daquele da matriz, permitindo evidenciar quais regiões representariam as proteínas, e por alterações espectrais quais representariam a gordura eliminada.

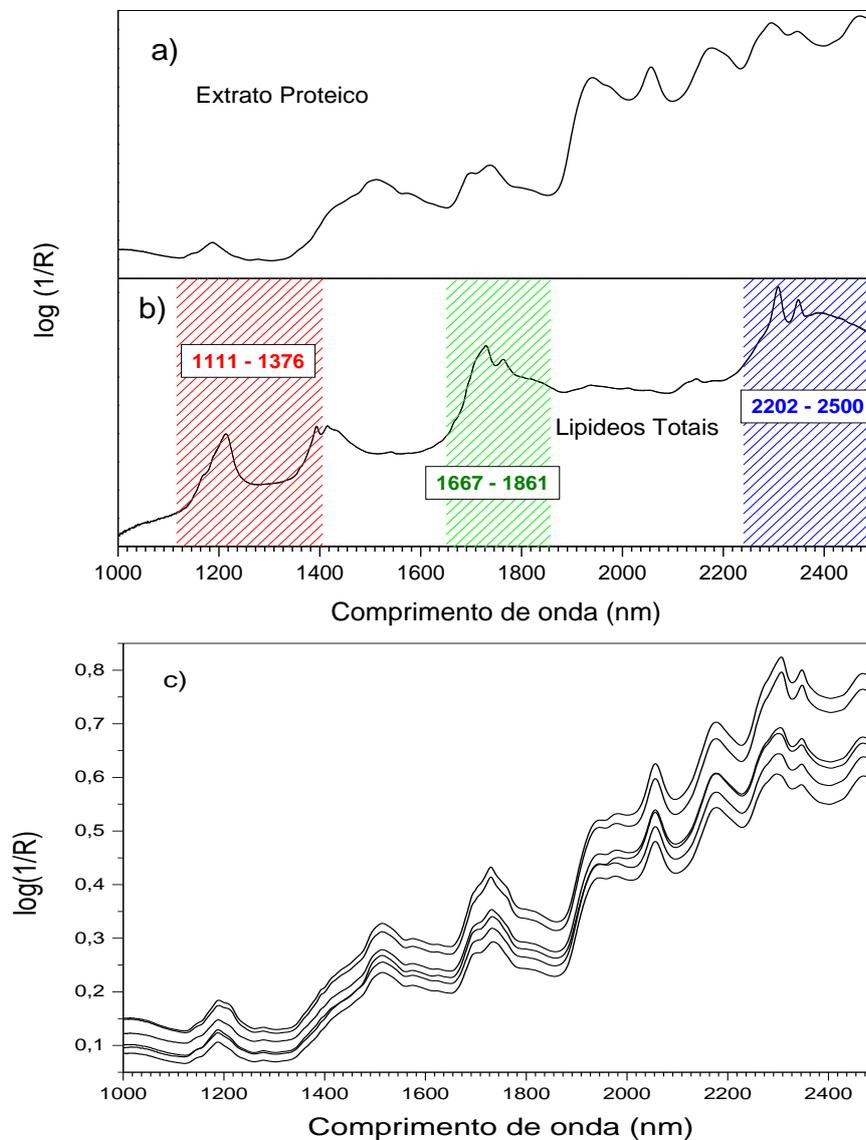


FIGURA 4.10 - (a) Espectro do material proteico de carne; (b) Espectro do extrato de lipídeos totais; (c) Espectro da matriz original de carne bovina para comparação das regiões pertinentes a cada componente químico.

Observando a Figura 4.10a, representada pelo espectro da fração proteica, verificou-se não ser possível apontar diferenças efetivas em comparação ao espectro de carne bovina (Figura 4.10c), desta feita comprovou-se ser incapaz usar dessa informação para a seleção de variáveis. Por outro lado, o espectro do extrato de lipídeos totais pôde elucidar muitas das informações patentes no espectro de carne bovina (Figura 4.10b). O espectro de gordura é marcado por regiões que parecem ser compatíveis com o espectro de carne, no entanto verificam-se algumas bandas que parecem sobrepostas no espectro de carne. Avaliando o espectro de carne e de extrato lipídico foi possível estabelecer três regiões como sendo de gordura para serem aplicadas na construção de modelo (BOSCO, 2010).

4.7 - Desenvolvimento de modelos PLS

Os espectros no infravermelho do conjunto de calibração das 18 propriedades, incluindo os 17 ácidos graxos e lipídeos totais são apresentados na Figura 4.11. Após a etapa de seleção de variáveis a faixa espectral escolhida para o desenvolvimento dos modelos de calibração se estendem de 1111 a 1937 nm e de 2016 a 2500 nm, excluídos os sinais de ruído e água. Para a construção dos modelos de regressão foram utilizadas 127 amostras de carne bovina de cruzamento AxLx, dessas 2/3 foram empregadas para a etapa de calibração, enquanto 1/3 foram utilizadas para a validação interna. Na validação externa foram utilizadas 32 amostras com características e composição semelhantes aquela do conjunto de calibração.

A carne bovina possui uma composição variada e reflete tal complexidade nas informações descritas pelo NIRS. Como as bandas no NIRS são combinações de bandas é difícil a compreensão e interpretação por simples avaliação visual. A atenção é então dobrada no desenvolvimento de modelos de regressão.

O desenvolvimento dos modelos lineares multivariados foi executado conforme o método de RPLS utilizando uma propriedade a cada elaboração. O PLS tem sido bastante utilizado na elaboração de modelos com matrizes complexas

possibilitando que nessa elaboração um menor número de variáveis latentes seja utilizado (conhecido por modelos parcimoniosos).

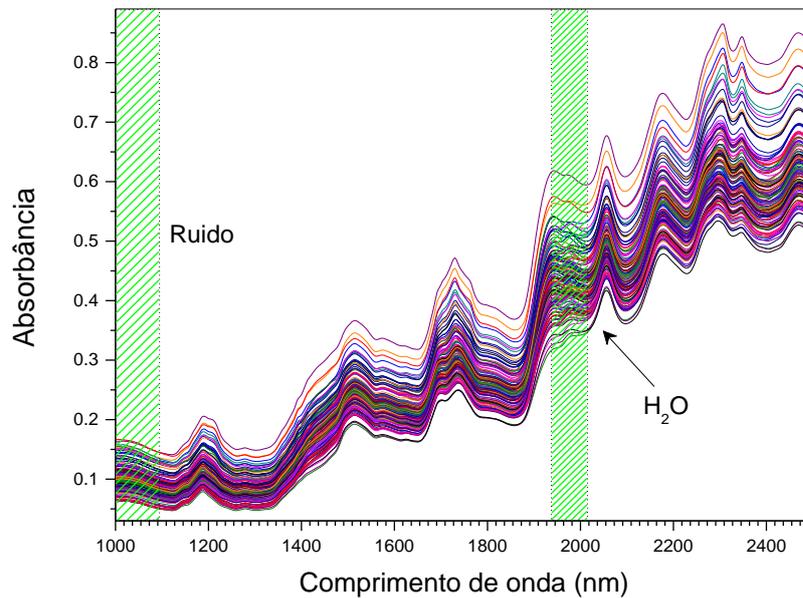


FIGURA 4.11 - Espectros das amostras de carne bovina utilizadas para a calibração após a eliminação da região compreendida entre 1000 a 1111 (ruído) e de 1939 a 2016 nm (água).

Em geral, no momento da calibração, depois de excluída uma amostra por indícios de anomalia, o conjunto de 126 espectros foram correlacionados com os respectivos teores das propriedades de interesse. A escolha das amostras para o conjunto de calibração e validação interna se deu aleatoriamente, alternado duas amostras para a calibração e uma para a validação. O ajuste das amostras às curvas de calibração e validação foi realizado de maneira manual, onde amostras que faziam parte da calibração (figura em forma de losango azul) poderiam ser trocadas para validação (figura em forma de quadrado verde) de modo a serem obtidos melhores ajustes nas duas curvas, como exemplificado na Figura 4.12. Esse método de validação é conhecido como customizado, pois o analista faz alterações a partir das informações que o software lhe fornece sem estabelecer um padrão de escolha.

O desenvolvimento das calibrações foi monitorado levando em consideração vários parâmetros como SEC, SEP, viés, número de variáveis latentes, coeficientes de determinação da calibração e validação, consistência, aplicação de pré-tratamentos distintos e eliminação de amostras atípicas.

No processo de calibração procurou-se estabelecer que as amostras do conjunto de validação viessem preencher de maneira mais homogênea possível 95% de toda a faixa da curva de trabalho, como preconizado na norma ASTM, para confirmação efetiva da capacidade preditiva dos modelos.

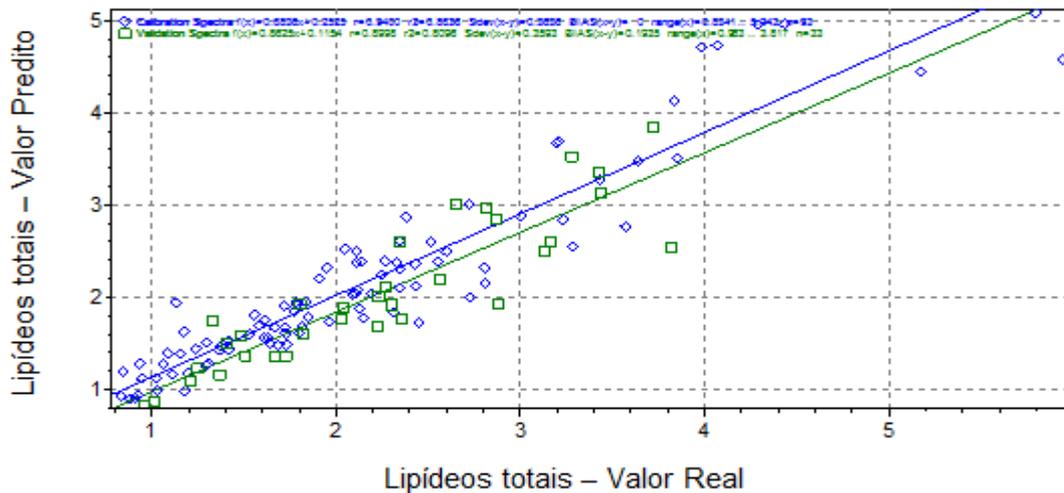


FIGURA 4.12 - Exemplo de reta de comparação dos valores reais e previstos de calibração (azul) e validação (verde) geradas pelo software BÜCHI.

Na intenção de minimizar efeitos aleatórios e sistemáticos foram empregados como transformações dos dados espectrais alisamento, primeira derivada e SNV. Foram construídos cinco modelos para cada propriedade, totalizando 90 modelos para as 18 propriedades de interesse. A Tabela 4.2 mostra a sequência de aplicação dos pré-tratamentos com suas especificações e funções, a exemplo da propriedade lipídeos totais, sendo válida a mesma sequência para as outras propriedades de interesse. No Apêndice B é possível visualizar os espectros modificados após cada transformação, além do espectro sem transformação das amostras de carne bovina.

TABELA 4.2 - Exemplo de transformações utilizadas para a construção do modelo de lipídeos totais com suas respectivas especificações e funções.

Propriedade	Nº de modelos	Transformações	Especificação	Função
Lipídeos totais	1 – sem transformação	Sem transformação	Espectro original	-
	2 – 1D	Alisamento	3 pontos	Aumentar S/R
	3 – SNV	1ª derivada Savitzky-Golay	Nove pontos e polinômio de 2º	Corrigir efeitos de linha de base
	4 – 1D + SNV			Remover interferência de
	5 – ALI + 1D + SNV	SNV	-	espalhamento de luz e de tamanho de partículas

1D – Primeira derivada

A Figura 4.13 apresenta a evolução dos valores de PRESS em função do número de variáveis latentes para uma propriedade específica.

Com base na Figura 4.13 percebeu-se que os menores valores de PRESS foram obtidos a partir de três variáveis latentes, no entanto de acordo com a seta vermelha foram escolhidas duas, pois não era percebida significativa diferença nos parâmetros na escolha de duas ou três VL.

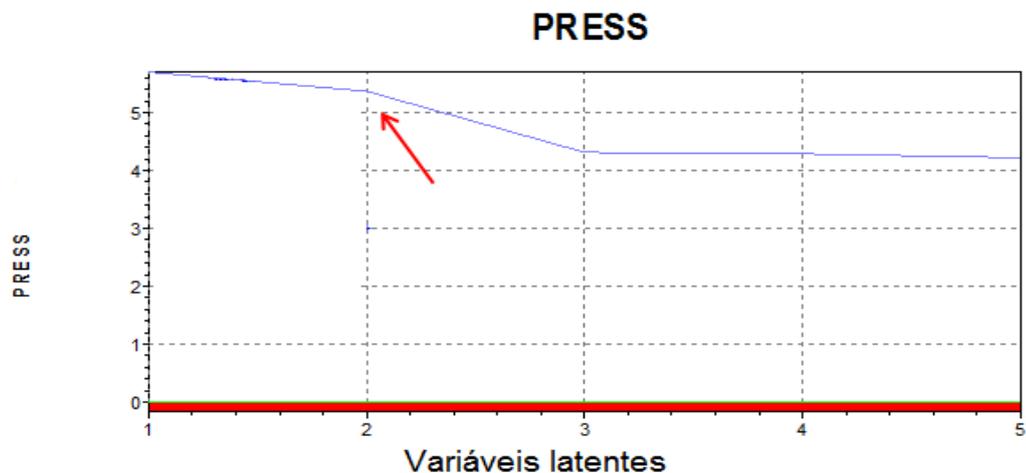


FIGURA 4.13 - Gráfico da escolha de variáveis latentes com base nos valores do PRESS.

A Figura 4.14 apresenta o layout da plataforma do software da Büchi representada pelo gráfico de consistência em função do número de variáveis latentes. Como exemplificado pela ordenada do gráfico, a consistência trata de um parâmetro que avalia a razão entre os erros de calibração e previsão (SEC/SEP). Observando a Figura 4.14, a situação tida como ótima é aquela em que os dois valores de SEC e SEP são os mais próximos entre si ou, em termos percentuais, quando a sua razão aproxima-se de 100%. Esse fenômeno é identificado pela linha reta de cor azul traçada na parte superior do gráfico abrangendo as duas VL escolhida para o modelo.

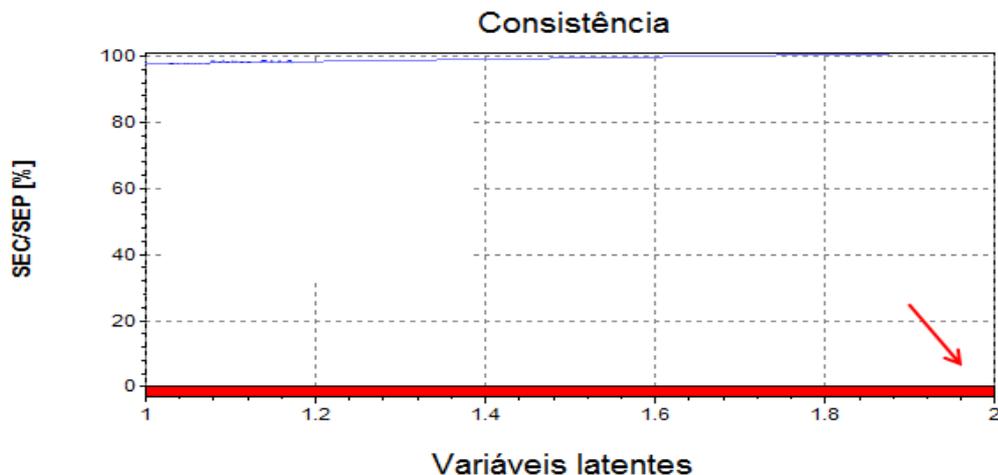


FIGURA 4.14 - Gráfico de acompanhamento da avaliação da consistência de um modelo específico.

Amostras anômalas (do inglês, outlier) são os indivíduos de um conjunto de dados que apresentam distinção do restante dos dados. De acordo com a norma ASTM existem dois tipos de amostras anômalas. Aquelas que apresentam altos ou baixos teores (conhecidas como anômalas de concentração) do componente de interesse e que, por isso, causam influência nas outras, a ponto de mudar totalmente suas dispersões. Inclusive podem influenciar intensamente nos valores dos coeficientes de regressão da equação. O outro tipo de amostras anômalas são aquelas que exprimem acentuada diferença entre os valores de referência e o predito.

A escolha de amostras anômalas se deu com base nos valores de leverage e nos valores dos resíduos de *Student*. A amostra para ser considerada anômala necessitava que o valor do leverage encontrado fosse superior ao valor crítico designado pela seguinte equação $3k/n$, ou, ainda, na avaliação dos resíduos de *Student*, fossem superiores a $\pm 2,0$, ou seja, fora do nível de significância de 95%.

Analisando a Tabela 4.3 tem-se noção de quantas amostras foram consideradas como anômalas e conseqüentemente eliminadas no momento de construção dos modelos de calibração para as 18 propriedades em estudo.

Com relação a Tabela 4.3, observou-se que para algumas propriedades o número de amostras anômalas (ou candidatas a amostras anômalas) foi bastante expressivo. No momento do desenvolvimento dos modelos de regressão verificou-se a formação de dois agrupamentos de amostras nos respectivos ácidos graxos, linoleico (c18:2n-6) e linolênico (c18:3n-3) e da família dos ácidos ômega 6.

A Figura 4.15 representa a reta de regressão da propriedade Ômega 6 antes de serem eliminadas as amostras anômalas. As figuras das retas das outras propriedades podem ser visualizadas no Apêndice C. As amostras eliminadas foram acentuadas de cor vermelho para melhor visualização.

TABELA 4.3 - Amostras anômalas eliminadas dos modelos.

Ácidos Graxos	Nº Amostras anômalas da calibração	Nº de amostra da calibração
Lipídeo total	-	93
C14:0	2	94
C15:0	2	91
C16:0	3	97
C17:0	4	101
C18:0	5	87
c9-16:1	3	94
c9-18:1	-	88
t9-18:1	2	80
c18:2n-6	32	66
c18:3n-3	28	75
AGS	3	88
c-AGMI	-	93
AGCR	6	85
c,t-ALC	6	91
n-6	26	76
n-3	2	87
AGPI	3	94

Na averiguação dos dados descobriu-se que as amostras em vermelho tratavam-se de animais abatidos no ano de 2010, enquanto o restante das outras amostras pertencia aos animais com abate nos períodos de 2011 e 2012.

Lembrando que a eliminação das amostras coloridas de vermelho deveu-se ao fato de possuírem menor número de amostras (já que no modelo de calibração multivariada o número de amostras é relevante) e menor distribuição destas na curva, enquanto que as amostras nas outras cores foram reservadas para a calibração das respectivas propriedades.

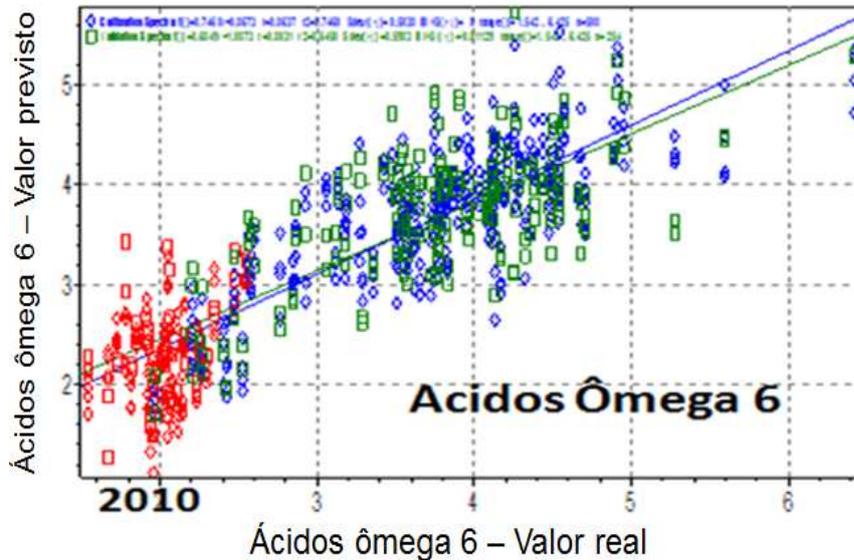


FIGURA 4.15 - Formação de conglomerado em região de menor teor por amostras de animais abatidos em 2010 (em vermelho).

Diante desta constatação, procurou-se avaliar se tal evento fazia parte, somente, de alguma característica da composição dos dados de referência ou se era consequência do método de regressão, já que na análise exploratória dos dados nada tinha sido observado de diferente. Diante disso, foi realizada uma análise de componentes principais com prévia classificação, empregando os teores dos ácidos graxos determinados, sendo indicado o tipo de alimentação que os animais receberam. Na classificação foram estabelecidos dois tipos de sistemas de alimentação (pasto e confinamento), os quais os animais tinham sido submetidos antes do abate.

Com base na PCA (scores) obtida com a classificação prévia dos dados foram identificados dois agrupamentos apontados como sendo dos animais provenientes dos dois sistemas de alimentação (Figura 4.16a). O conjunto de amostras designadas em vermelho é de animais que foram alimentados a pasto por um período e terminados em confinamento, enquanto que as amostras designadas em azul são de animais alimentados plenamente em pasto. De posse da informação

de procedência alimentar dos animais, verificou-se que nas amostras de confinamento (vermelhas) estavam incluídas a amostras dos animais abatidos em 2010.

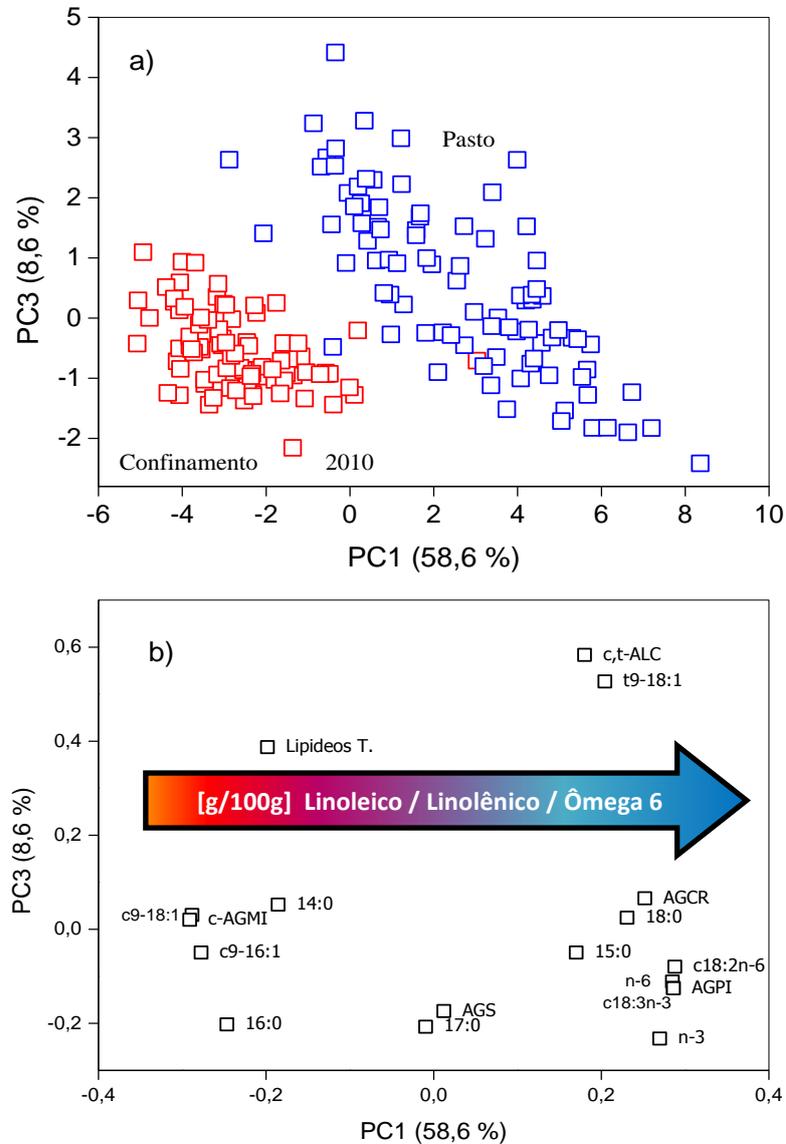


FIGURA 4.16 - (a) Escores dos dados de referência com formação de dois agrupamentos – em vermelho, amostras do confinamento e em azul, amostras do pasto; (b) Loadings indicando aumento do teor dos ácidos linoleico, linolênico e ômega 6 da esquerda para direita.

Em relação aos loadings dos mesmos dados foi possível observar a dispersão dos ácidos graxos (e famílias) dentro do espaço das duas primeiras componentes principais. Observando o gráfico dos loadings se torna claro a grande influência da primeira componente principal na separação de praticamente dois blocos de ácidos graxos. É visível a posição das propriedades ácido linoleico (c18:2n-6), linolênico (c18:3n-3) e ômega 6 (n-6) do lado direito, indicando que um

fator comum os levou a essa separação. De acordo com a seta dentro do gráfico pode-se inferir que o teor dessas propriedades especificamente cresce da esquerda para direita, indicando que seus teores são menores nas amostras de confinamento e maiores nas amostras de pasto (Figura 4.16b).

KALAČ (2011) menciona que animais alimentados a pasto possuem maiores teores de ácidos graxos poli-insaturados, incluindo ácido linolênico e CLA, se comparados aqueles alimentados por concentrados de rações.

Como já mostrado pelos escores da PCA realizada nos valores de referência, foram identificados dois agrupamentos indicando a separação das amostras por sistema de alimentação. No entanto, para confirmação dos resultados foi realizada análise de componentes principais para os espectros das amostras de carne sem as regiões de água e ruído. O gráfico de PCA dos espectros (Figura 4.17) ilustra alguma similaridade com a PCA dos dados referência.

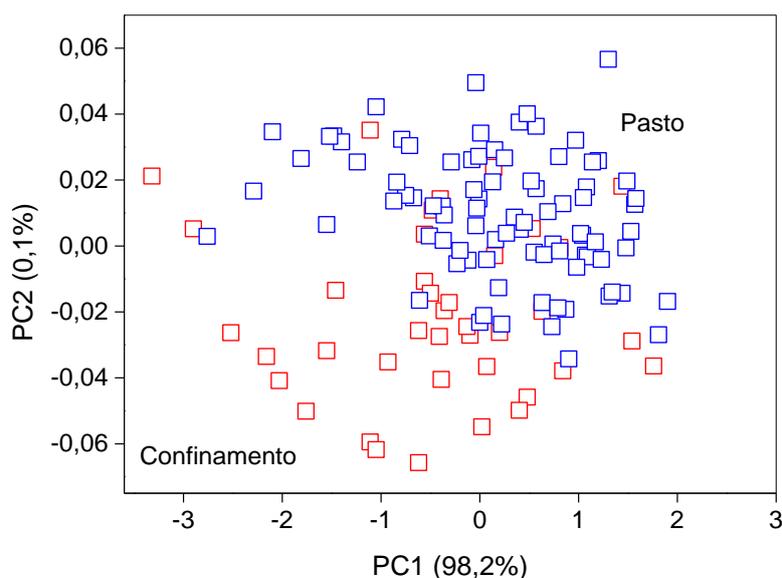


FIGURA 4.17 - Escores dos espectros com exclusão de regiões de ruído e água - normalizados e aplicados primeira derivada.

Dessa forma ratifica-se a formação dos dois agrupamentos nas retas de regressão dos modelos de ácido linoleico, linolênico e ácidos ômega 6.

Estabelecidas várias condições de melhoramento e otimização, foram desenvolvidos modelos para as dezoito propriedades em estudo, em cada propriedade foram desenvolvidos cinco modelos PLSR (cada modelo uma condição de transformação diferente) a fim de determinar aquele de melhor capacidade preditiva. Na confecção dos modelos os dados de referência foram escalados pela

variância e aos espectros foram aplicadas várias transformações (1ª derivada, SNV e alisamento), além de suas combinações e, finalmente, centrados na média.

A escolha do modelo de melhor capacidade preditiva foi associada a vários parâmetros quimiométricos, entre os quais, as transformações, a consistência, o valor de viés, o número de variáveis latentes, o valor de SEC e SEP e os valores dos coeficientes de determinação da calibração e da validação interna (Tabela 4.4). A tabela completa de todos os modelos com todos os parâmetros quimiométricos se encontra no Apêndice D.

Aos melhores modelos foram aplicadas transformações que influenciaram na melhor correlação entre o vetor **Y** e a matriz **X**, maior variância explicada e melhor garantia de previsão para cada propriedade.

Vários trabalhos têm empregado pré-tratamentos no desenvolvimento de modelos de calibração em carnes, sendo que os mais utilizados tem sido as derivadas (1ª e 2ª derivada, o MSC, Detrend e SNV, ou mesmo sem pré-tratamento (MOUROT et al., 2015; PRIETO et al., 2013; ZHOU et al., 2012). O número de variáveis latentes dos modelos descreve a variância pertinente às variáveis ou ao nível de dispersão dos dados em relação as propriedades em estudo. Verifica-se que os modelos, em geral, têm sido descritos por um pequeno número de VL, se comparados a outros estudos da literatura, indicando modelos mais econômicos. No entanto, essa quantidade pode estar relacionada à expressiva correlação entre as variáveis (ácidos graxos) e conseqüentemente alta correlação entre as variáveis espectrais (comprimentos de onda), indicando incapacidade do método de regressão de fazer a relação correta do sinal de referência com o sinal espectral correto.

A maioria dos valores de consistência apresentou-se próximo do ideal de 100% variando entre 92 e 104%. Os valores de consistência podem variar entre 80 e 110% (MANUAL BÜCHI, 2007). Foram considerados nessa etapa menores valores de viés, parâmetro relacionado com o erro sistemático do processo metodológico. Os valores de SEC e SEP foram baixos e oscilaram pouco entre si, indicando haver boa capacidade preditiva nos modelos. Quando avalia-se os coeficientes de determinação de calibração e validação, observa-se valores altos próximos da unidade e como é o caso de lipídeos totais, no entanto são verificados, também, valores baixos como é o caso do ácido linoleico.

TABELA 4.4 - Parâmetros quimiométricos utilizados na avaliação dos modelos.

Propriedades	Transf.	Teor (g/100g)		V.Ls	Consistência (%)	Viés	SEC (%)	SEP (%)	R ² cal	R ² val
		Mín	Máx							
Lipídeos totais	1D_SNV	0,99	7,05	2	101	0,231	0,434	0,429	0,884	0,810
Ácidos graxos individuais										
C14:0	ALI_1D_SNV	7,00*	261,71*	3	93	0,003	0,017	0,018	0,823	0,796
C15:0	ALI_1D_SNV	2,50*	27,04*	2	102	0,001	0,002	0,002	0,663	0,648
C16:0	ALI_1D_SNV	0,21	1,99	1	99	-0,049	0,09	0,096	0,891	0,818
C17:0	ALI_1D_SNV	6,89*	61,63*	2	104	0,001	0,004	0,004	0,872	0,786
C18:0	1D_SNV	0,14	1,13	3	98	0,032	0,131	0,131	0,750	0,737
c9-16:1	1D	10,54*	236,43*	1	96	-0,006	0,019	0,020	0,804	0,814
c9-18:1	1D_SNV	0,20	2,49	1	99	0,034	0,195	0,196	0,865	0,843
t9-18:1	1D_SNV	1,68*	28,61*	3	98	0,001	0,002	0,002	0,677	0,659
c18:2n-6	1D	5,13*	29,60*	3	102	0,002	0,030	0,030	0,345	0,332
c18:3n-3	1D_SNV	66,28*	306,59*	3	92	0,001	0,003	0,003	0,493	0,434
Família de ácidos graxos										
AGS	1D	0,39	3,39	2	98	-0,040	0,204	0,208	0,843	0,798
c-AGMI	1D_SNV	0,24	2,99	1	100	-0,077	0,216	0,217	0,881	0,834
AGCR	SNV	7,69*	62,46*	3	103	-0,001	0,004	0,004	0,620	0,572
c,t-ALC	SNV	2,60*	45,94*	1	99	0,001	0,004	0,004	0,341	0,337
n-6	1D_SNV	14,52*	49,54*	3	97	0,002	0,031	0,032	0,500	0,424
n-3	1D	84,69*	352,97*	3	103	-0,001	0,005	0,005	0,430	0,379
AGPI	1D_SNV	99,22*	387,09*	3	98	0,001	0,031	0,032	0,463	0,461

*Teor (mg/100g de MF); MF, músculo fresco

De posse dos modelos de regressão, o próximo passo foi a validação externa empregando amostras fora do conjunto de calibração. Para tanto foram reservadas 32 amostras designadas de AxLx para a validação externa. No entanto, diante do banco de amostras de carne de vários cruzamentos do Laboratório de Carnes, resolveu-se testar a capacidade dos modelos utilizando um número maior de amostras (169 amostras) designadas de IxRx (designação de animais provenientes do cruzamento de animais macho da raça Charolês e Red Ford, respectivamente) para essa etapa. Essa segunda escolha foi justificada por se entender que quanto maior o número de amostras, menores seriam os valores do erro de previsão. Como não se sabia muito acerca das novas amostras, inclusive se haveria alguma compatibilidade com as amostras AxLx, propôs-se realizar uma análise exploratória envolvendo espectros dos dois conjuntos de amostras. Para isso foram utilizadas 40 amostras IxRx seguindo o mesmo procedimento de aquisição de espectros das amostras da calibração AxLx.

A Figura 4.18 representa a PCA (scores) dos dois conjuntos de amostras na avaliação de compatibilidade. Verificou-se uma minuciosa separação entre os conjuntos, no entanto o teste não foi decisivo para incompatibilidade.

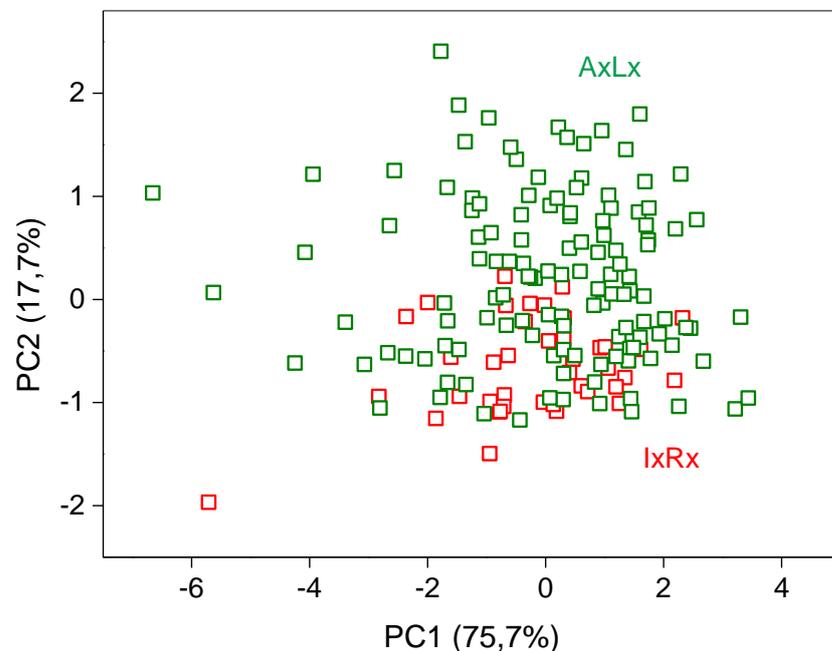


FIGURA 4.18 - Escores dos espectros das amostras AxLx e IxRx para confirmação de suas compatibilidades – normalizados e aplicados primeira derivada.

Resolveu-se, contudo, validar os modelos com o conjunto em questão e pode-se comprovar a real incompatibilidade do conjunto de amostras IxRx por

meio de curvas de comparação de modelos diferentes (Figura 4.19).

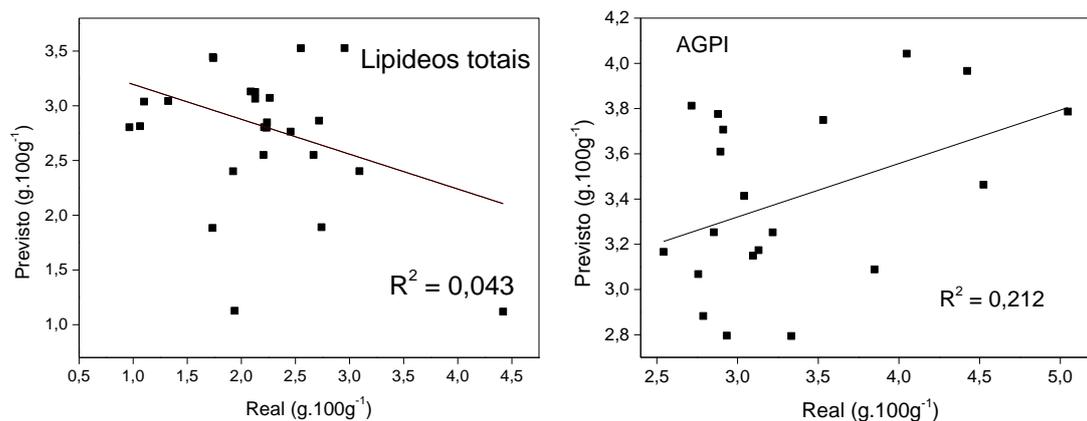


FIGURA 4.19 - Curva de calibração de lipídeos totais e AGPI confirmando a incompatibilidade das amostras IxRx na validação dessas propriedades.

Devido a impossibilidade de usar as amostras IxRx, optou-se por empregar as amostras AxLx.

Feita a validação externa com as amostras AxLx foi possível determinar quais os melhores modelos efetivamente, comparando os valores já conhecidos dos previstos para cada amostra.

A Tabela 4.5 apresenta os melhores modelos obtidos das 18 propriedades analisadas.

Para obtenção dos melhores modelos foram examinados os parâmetros estatísticos como coeficiente de determinação e teste de significância de comparação de médias pareado. Não necessariamente os melhores modelos obtiveram coeficientes de determinação altos, é o caso, por exemplo, do ácido mirístico que se destacou, mas é superado pelo ácido oleico, ou seja, o coeficiente de determinação é importante, mas não pode ser considerado isoladamente (Tabela 4.5).

TABELA 4.5 - Obtenção dos melhores modelos de calibração multivariada.

Propriedades	N° Val. ext.	R²	t calculado	P_{valor}
Lipídeos Totais	31	0,892	1,372	0,180
C14:0 (Mirístico)	31	0,741	0,206	0,838
C15:0 (Pentadecílico)	31	0,805	6,423	4,31E-07
C16:0 (Palmítico)	31	0,844	0,488	0,629
C17:0 (Margárico)	31	0,833	0,622	0,539
C18:0 (Esteárico)	28	0,869	11,197	1,91E-11
c9-16:1 (Palmitoleico)	31	0,824	2,417	2,20E-02
c9-18:1 (Oleico)	30	0,879	4,183	2,57E-04
t9-18:1 (Elaídico)	32	0,626	1,548	0,132
c18:2n-6 (Linoleico)	30	0,054	8,256	5,52E-09
c18:3n-3 ((α -)Linolênico)	29	0,039	6,675	3,65E-07
AGS	30	0,814	0,136	0,893
c-AGMI	28	0,911	3,604	1,25E-03
AGCR	29	0,678	5,392	9,52E-06
c,t-ALC	32	0,790	13,859	7,91E-15
n-6	23	0,038	5,473	1,98E-05
n-3	32	0,002	1,169	0,251
AGPI	22	0,299	5,775	9,87E-06

Na obtenção do modelo para ácido elaídico (t9-18:1) verifica-se que seus parâmetros se comportaram de maneira satisfatória, no entanto julga-se improcedente essa informação devida seus teores apresentarem níveis muito baixos, impossibilitando sua detecção precisa pela técnica NIR, tornando a correlação do método de regressão incapaz de ocorrer com os sinais corretos. Ou seja, provavelmente a regressão foi realizada com outro sinal espectral correlato que não o do ácido elaídico.

O Apêndice E apresenta a figura da relação entre a propriedade lipídeos totais com todas as outras. Observou-se uma correlação linear entre estas, justificando que por mais que algumas propriedades tenham baixos valores de referência seus modelos alcançam boa correlação. Dessa forma é possível que a regressão tenha sido feita sempre com o sinal espectral de lipídeos totais e não com o ácidos graxo específico.

Também baseado na Tabela 4.5 comparou-se por médias pareadas o resultados dos valores reais e previstos, verificando não haver diferença significativa ao nível de confiança de 95% para os melhores modelos.

Como exemplos dos modelos obtidos foram construídas retas de comparação (dados previsto *versus* dados reais) para entender o comportamento

dos dados. A Figura 4.20 representa a curva de comparação de lipídeos totais, evidenciando um valor de coeficiente de determinação de 0,892. As outras retas se encontram no Apêndice F.

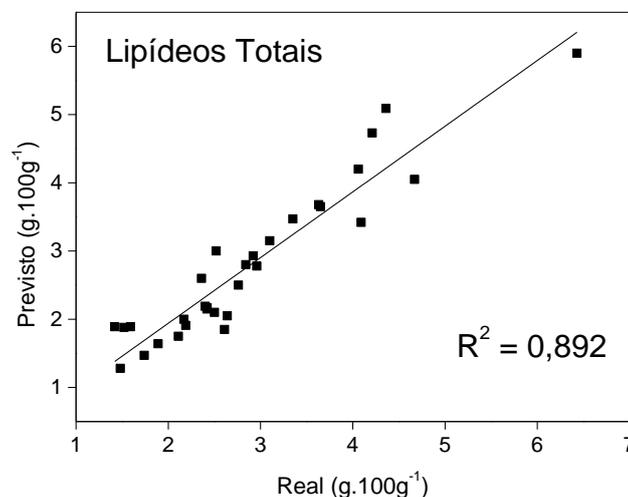


FIGURA 4.20 - Reta de comparação dos valores reais em função dos preditos para a propriedade lipídeos totais.

Modelos de calibração também foram construídos somente com a região lipídica adotada de acordo com o item 3.2. Então, foram comparados os coeficientes de determinação desses modelos com aqueles adotados nesse estudo e constatou-se não haver diferença entre eles, significando que o método PLS conseguiu realizar as devidas correlações dos dados de referência com as regiões pertinentes de gordura (Tabela 4.6).

TABELA 4.6 - Comparação de modelos de calibração empregados região lipídica e região adotada no trabalho.

Propriedades	R ² abs.	R ² região gordura
Lipídeos Totais	0,892	0,899
C14:0 (Mirístico)	0,741	0,721
C16:0 (Palmítico)	0,844	0,856

Para fim de conclusão dos modelos de calibração foram mostrados como se dispôs a dispersão dos resíduos de alguns modelos a título de exemplo, pois o mesmo foi verificado para todos os modelos a depender de suas características. Na Figura 4.21 são representados os gráficos de alguns modelos como, por exemplo, das propriedades lipídeos totais e ácidos graxos poli-

insaturados.

Ao examinar os gráficos de resíduos percebe-se que a dispersão referente a lipídeos totais não revela nem um tipo de tendência dos dados, confirmando se tratar uma de equação de primeiro grau, logo, uma relação linear entre os valores preditos e reais. Outra observação é quanto a homogeneidade dos resíduos, mostrando que os resíduos dos modelos de maior capacidade preditiva possuem comportamento homoscedástico (Figura 4.21a). O gráfico de resíduos da propriedade dos AGPI também não revelou nem um tipo de tendência, todavia os resíduos apresentaram-se grande dispersão e comportamento heteroscedástico (Figura 4.21b).

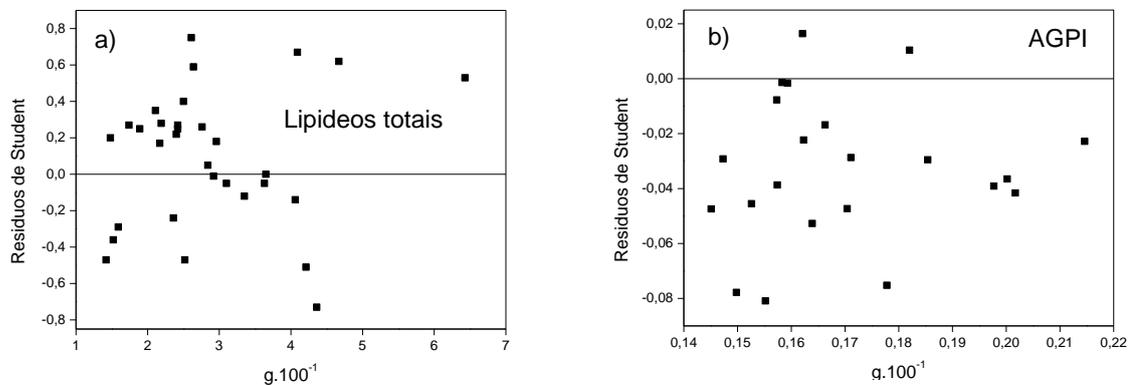


FIGURA 4.21 - Gráficos de comportamento dos resíduos (a) homoscedástico de lipídeos totais; (b) heterocedástico dos AGPI.

CONCLUSÕES

Os modelos para lipídeos totais, ácido mirístico, palmítico, pentadecílico e AGS apresentaram melhores capacidade de previsão segundo os respectivos valores de SEP – 0,43, 0,018, 0,096, 0,004 e 0,21, demonstrando a habilidade NIR para predizê-los em amostra de carne bovina.

Os baixos teores de grande parte dos ácidos graxos limitaram o desenvolvimento de modelos de calibração multivariada para todo o perfil lipídico de carne bovina por NIRS, já que a técnica não permite quantificar níveis muito baixos dos constituintes.

Alguns modelos desenvolvidos apenas considerando a região espectral referente à região lipídica apresentaram-se semelhantes em termos de coeficiente de determinação quando comparados aos modelos obtidos com o espectro completo, no qual apenas foram excluídas as regiões de água e ruído.

A técnica FT-NIRRS tem grande potencial na análise de lipídeos totais e perfil lipídico em carne bovina. No entanto a escolha do preparo de amostra antes da análise é crucial no potencial modelo de previsão, tendo em as regiões de sobreposição de sinais analíticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, A.; HERRERA, V. É.; TEIXEIRA, M. A. Mercado mundial de carne bovina: participação brasileira e barreiras às exportações. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural, 2006. Disponível em: <<http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/147948/2/570.pdf>>. Acesso em: 21 jan. 2016.
- ALMEIDA, A. K.; MICHELS, I. L. O Brasil e a economia-mundo: o caso da carne bovina. *Ens. FEE* 33, 207–230, 2012.
- ALOMAR, D.; MONTERO, R.; FUCHSLOCHER, R. Effect of freezing and grinding method on near-infrared reflectance (NIR) spectra variation and chemical composition of fresh silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78, 57–63, 1999.
- AMMANN, E. M.; POTTALA, J. V.; HARRIS, W. S.; ESPELAND, M. A.; WALLACE, R.; DENBURG, N. L.; ROBINSON, J. G. Omega-3 fatty acids and domain-specific cognitive aging: Secondary analyses of data from WHISCA. *Neurology* 81, 1484–1491, 2013.
- ANDRÉS, S.; MURRAY, I.; NAVAJAS, E. A.; FISHER, A. V.; LAMBE, N. R.; BÜNGER, L. Prediction of sensory characteristics of lamb meat samples by near infrared reflectance spectroscopy. *Meat Sci.* 76, 509–516, 2007.
- ASTM E1655-05. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis. In: ASTM International. 05, p. 29, 2012.
- BAGCHI, T. B.; SHARMA, S.; CHATTOPADHYAY, K. Development of near infrared reflectance spectroscopy to predict chemical composition with a wide range of variability in beef. *Meat Sci.* 191, 21–27, 2016.
- BARBIN, D. F., KAMINISHIKAWAHARA, C. M., SOARES, A. L., MIZUBUTI, I. Y., GRESPLAN, M., SHIMOKOMAKI, M., & HIROOKA, E. Y. Prediction of chicken quality attributes by near infrared spectroscopy. *Food Chem.* 168, 554–560, 2015.
- BARLOCCO, N., VADELL, A., BALLESTEROS, F., GALIETTA, G. & COZZOLINO, D. Predicting intramuscular fat, moisture and Warner-Bratzler shear force in pork muscle using near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Sci.* 82, 111–116, 2006.
- BELL, S. J., BRADLEY, D., FORSE, R. A. & BISTRAN, B. R. The new dietary fats in health and disease. *Journal of the American Dietetic Association* 97, 280–286, 1997.
- BERNADINO, N. D. Degradação de corantes e aglutinantes: Efeito da composição do microambiente. São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Química – USP, 2011. Dissertação de mestrado, 155 p.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911–917, 1959.

- BOEKENOOGEN, H. A.; LUNDBERG, W. O.; SWERN, D. Fatty acids. Theirs chemistry, properties, production and uses. Tradução: MARKLEY, K.S (Rio de Janeiro). 2 ed. New York-London, Interscience, 1960.
- BOKOBZA, L. Near infrared spectroscopy. 6, 3–17, 1998.
- BOSCO, G. L.; JAMES L. Waters Symposium 2009 on near-infrared spectroscopy. TrAC - Trends Anal. Chem. 29, 197–208, 2010.
- BRAGAGNOLO, N. Aspectos comparativos entre carnes segundo a composição de ácidos graxos e teor de colesterol. In: II Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína, 2001. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/anais01cv2_bragagnolo_pt.pdf>. Acesso em: 22.jan 2007.
- BÜNING-PFAUE, H. Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. Food Chem. 82, 107–115, 2003.
- BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. Handbook of Near Infrared Analysis. 3ª. ed. Parkway – USA: CRC Press, 2007.
- CABRAL, A. M. Construção de modelos multivariados para determinação de lipídeos totais e umidade em leite em pó comercial utilizando espectroscopia de infravermelho próximo. Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Química – UFRN, 2011. Dissertação de mestrado, 104 p.
- CECCHINATO, A.; DE MARCHI, M.; PENASA, M.; CASELLAS, J.; SCHIAVON, S.; BITTANTE, G. Genetic analysis of beef fatty acid composition predicted by near-infrared spectroscopy. J. Anim. Sci. 20, 429–438, 2015.
- CEN, H.; HE, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. Trends in Food Sci. & Tech. 18, p. 72–83, 2007.
- CHAMPE, P.C; HARVEY, R. A; FERRIER, D.R. Bioquímica Ilustrada. 4 ed. Porto Alegre. Artmed, 2009.
- DE MUÑIZ, G. I. B.; MAGALHÃES, W. L. E.; CARNEIRO, M. E.; VIANA, L. C. Fundamentos e Estado da Arte da Espectroscopia no Infravermelho Próximo no setor de base florestal. Ciência Florest. 22, 865–875, 2012.
- DIEHL, G. N. Prevenção da encefalopatia espongiforme bovina (EEB) no Brasil. Rio Grande do Sul: Informativo técnico, 2010. Disponível em: <<http://www.fugesp.org.Br/nutriesaude3-4htm>>. Acesso em: 21 jan. 2016.
- FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. Quim. Nova 22, 724–731, 1999.
- FERREIRA, M. M.C. QUMIOMETRIA – Conceitos, Métodos e Aplicações. 1 ed. Campinas. Unicamp, 2015.
- FOLCH, M. L. J.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Biol. Chem. 497–509, 1956.

GELADI, P.; KOWALSKI, B. R. Partial Least-Squares Regression: A tutorial. *Anal. Chim. Acta* 185, 1–17, 1986.

GIVENS, D. I.; DE BOEVER, J. L.; DEAVILLE, E. R. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. *Nutr. Res. Rev.* 10, 83–114, 1997.

GLICK, D. *Methods of Biochemical of Analysis*. 3 ed. vol. IV. New York. Interscience, 1959.

GÓMEZ, M. E. D. B. Modulação da composição de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 de ovos e tecidos de galinhas poedeiras, através da dieta. I. Estabilidade oxidativa. São Paulo, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos – USP, 2003. Tese de doutorado, 149 p.

GONZÁLEZ-MARTÍN, I.; GONZÁLEZ-PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J.; ALVAREZ-GARCÍA, N. Determination of fatty acids in the subcutaneous fat of Iberian breed swine by near infrared spectroscopy (NIRS) with a fibre-optic probe. *Meat Sci.* 65, 713–719, 2003.

GUY, F.; PRACHE, S.; THOMAS, A.; BAUCHART, D.; ANDUEZA, D. Prediction of lamb meat fatty acid composition using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chem.* 127, 1280–1286, 2011.

HAIR, J. F.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L.; BLACK, W. C. *Análise Multivarida dos Dados*. Tradução de Adonay Schlup Sant' Anna e Anselmo chaves neto. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 593 p.

HAWKINS, S. A.; ZHUANG, H.; SOHN, M.; WINDHAM, W. R. Effect of Varying Postmortem Deboning Time and Sampling Position on Visible and near Infrared Spectra of Broiler Breast Filets. 13, 272–278, 2014.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; NIEMAN, T. A. *Princípios de Análise Instrumental*. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. DQO-CGRE-008, 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2016.

Intituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. 4º trimestre de 2014. Disponível em: <www1.ibge.gov.br/.../abate-leite-couro-ovos_201404_publ_completa.pdf>. Acesso em: 21 jan. 2016.

IUPAC in Nomenclature of Organic Chemistry, Sections A, B, C, D, E, F, and H, London, Pergamon Press, 182, 1979.

KALAČ, P. The effects of feeding fresh forage and silage on some nutritional attributes of beef: an overview. *J. Agrobiol.* 28, 1–13, 2011.

KARLSDOTTIR, M. G., ARASON, S., KRISTINSSON, H. G. & SVEINSDOTTIR, K.

The application of near infrared spectroscopy to study lipid characteristics and deterioration of frozen lean fish muscles. *Food Chem.* 159, 420–427, 2014.

LAWRIE, R.A. *Ciência da Carne*. 6 ed. Porto Alegre. Artmed, 2005.

LEUNG, A. K.; CHAU, F.; GAO, J. A review on applications of wavelet transform techniques in chemical analysis: 1989–1997. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 43, 165–184, 1998.

LIAO, Y. T.; FAN, Y. X.; CHENG, F. On-line prediction of fresh pork quality using visible/near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Sci.* 86, 901–907, 2010.

LIMA, L. A. A. Estudo da potencialidade da espectroscopia de infravermelho próximo na análise de cabelo utilizando ferramentas quimiométricas para diferenciar fumantes de não fumantes. Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Química – UFRN, 2013. Dissertação de mestrado, 42 p.

LOBATO, J. F. P.; FREITAS, A. K. CARNE BOVINA: MITOS E VERDADES. Artigo publicado no livro – *Pecuária Competitiva – FEDERACITE*, 2006. Disponível em: <<http://angus.org.br/wp-content/uploads/2013/10/FEDERACITE-2006.pdf>> Acesso em: 22 jan. 2007.

LUNN, J.; THEOBALD, H. E. The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *Nutr. Bull.* 31, 178–224, 2006.

LUO, J.; YING, K.; HE, P.; BAI, J. Properties of Savitzky–Golay digital differentiators. *Digit. Signal Process.* 15, 122–136, 2005.

MANUAL BÜCHI - NIRCal. Version 5.2. 2007. 280p.

MAZUR, L. Aplicação de metodologia por NIR para determinação METILXANTINAS PRESENTES NA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*). Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – UFPR, 2012. Dissertação de mestrado, 80 p.

MAZUR, L. PRESENTES NA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*). Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – UFPR, 2012. Dissertação de mestrado, 80 p.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6 ed. England: Pearson, 2010.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Bovinos e bubalinos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acesso em: 21 jan. 2016.

MONTEIRO, A. R. D. Estudo de aspectos estatísticos da espectroscopia na região do infravermelho próximo. Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – UFRJ, 2011. Dissertação de mestrado, 161 p.

MOUROT, B. P.; GRUFFAT, D.; DURAND, D.; CHESNEAU, G.; MAIRESSE, G.; ANDUEZA, D. Breeds and muscle types modulate performance of near-infrared

reflectance spectroscopy to predict the fatty acid composition of bovine meat. *Meat Sci.* 99, 104–112, 2015.

MULDER, B. C.; SCHONTEN, J. A.; POPP-SNIJDERS, C. Determination of Free Fatty Acids: A Comparative Study of the Enzymatic Versus the Gas Chromatographie and the Colorimetric Method. 21, 823–827, 1983.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger – Princípios de Bioquímica*. Tradução: SIMÕES, A. A.; LODI, W. R. N. 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002, 977p.

O'KEEFE, S. F. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. 3 ed. New York-London: CRC Press, 2008.

OZAKI, Y.; MCCLURE, W. F.; CHRISTY, A. A. *Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology*. New Jersey: Wiley, 2006.

PARREIRA, T. F. Utilização de métodos quimiométricos em dados de natureza multivariada. Campinas, Programa de Pós-Graduação Química – UNICAMP, 2003. Dissertação de mestrado, 248 p.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. *J. Braz. Chem. Soc.* 14, 198–219, 2003.

PAULA, E. F. E. et al. Determinação da Qualidade da Carne com Uso da Espectroscopia de Reflectância. *Sci. Agrar. Parana.* 12, 301–307, 2013.

PÉREZ-MARÍN, D.; FEARN, T.; GUERRERO, J. E.; GARRIDO-VARO, A. Robustness in pig fat NIRS calibrations by orthogonal projection. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 100, 36–40, 2010.

PLA, M., HERNÁNDEZ, P., ARIÑO, B., RAMÍREZ, J. A.; DÍAZ, I. Prediction of fatty acid content in rabbit meat and discrimination between conventional and organic production systems by NIRS methodology. *Food Chem.* 100, 165–170, 2007.

PREVOLNIK, M.; ČANDEK-POTOKAR, M.; ŠKORJANC, D. Ability of NIR spectroscopy to predict meat chemical composition and quality - A review. *Czech J. Anim. Sci.* 49, 500–510, 2004.

PRIETO, N., ROEHE, R., LAVÍN, P., BATTEN, G. & ANDRÉS, S. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Sci.* 83, 175–186, 2009.

PRIETO, N.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F. J.; MANTECÓN, A. R.; LAVÍN, P. Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Sci.* 79, 692–699, 2008.

PRIETO, N.; ANDRÉS, S.; GIRÁLDEZ, F. J.; MANTECÓN, A. R.; LAVÍN, P. Discrimination of adult steers (oxen) and young cattle ground meat samples by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Meat Sci.* 79, 198–201 (2008).

PRIETO, N.; DUGAN, M. E. R.; LÓPEZ-CAMPOS, Ó.; AALHUS, J. L.; UTTARO, B. At line prediction of PUFA and biohydrogenation intermediates in perirenal and

subcutaneous fat from cattle fed sunflower or flaxseed by near infrared spectroscopy. *Meat Sci.* 94, 27–33, 2013.

PRIETO, N.; DUGAN, M. E. R.; LÓPEZ-CAMPOS, O.; MCALLISTER, T. A.; AALHUS, J. L.; UTTARO, B. Near infrared reflectance spectroscopy predicts the content of polyunsaturated fatty acids and biohydrogenation products in the subcutaneous fat of beef cows fed flaxseed. *Meat Sci.* 90, 43–51, 2012.

PRIETO, N.; LÓPEZ-CAMPOS, Ó.; AALHUS, J. L.; DUGAN, M. E. R.; JUÁREZ, M.; UTTARO, B. Use of near infrared spectroscopy for estimating meat chemical composition, quality traits and fatty acid content from cattle fed sunflower or flaxseed. *Meat Sci.* 98, 279–288, 2014.

PRIETO, N.; ROSS, D. W.; NAVAJAS, E. A.; RICHARDSON, R. I.; HYSLOP, J. J.; SIMM, G.; ROEHE, R. Online prediction of fatty acid profiles in crossbred Limousin and Aberdeen Angus beef cattle using near infrared reflectance spectroscopy. *Animal* 5, 155–165, 2010.

RIBEIRO, L. F. Uso de espectroscopia no infravermelho e análise multivariada para previsão de ácidos graxos em linhaça dourada e marrom. Paraná, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – UFPR, 2012. Dissertação de mestrado, 118 p.

ROSE, D. P.; CONNOLLY, J. M. Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents. *Pharmacol. Ther.* 83, 217–244, 1999.

RUSTAN, A. C.; DREVON, C. A. Fatty Acids: Structures and Properties. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2005. p. 1–7.

SEGTAN, V. H.; ŠAŠIĆ, Š.; ISAKSSON, T.; OZAKI, Y. Studies on the structure of water using two-dimensional near-infrared correlation spectroscopy and principal component analysis. *Anal. Chem.* 73, 3153–3161, 2001.

SIERRA, V.; ALDAI, N.; CASTRO, P.; OSORO, K.; COTO-MONTES, A.; OLIVÁN, M. Prediction of the fatty acid composition of beef by near infrared transmittance spectroscopy. *Meat Sci.* 78, 248–255, 2008.

SIESLER, H. W.; OZAKI, Y.; KAWATA, S.; HEISE, H. M. *Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications*. 3 Impressão. Weinheim: Wiley – VCH, 2002.

SILVA, J. P. “Síntese assistida por microondas de LiMn_2O_4 , caracterização e testes como catodo para dispositivos de armazenamento de energia”. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2011. Dissertação de mestrado, 81 p

SIMÕES, S.S. Desenvolvimento de métodos validados para a determinação de captopril usando espectrometria NIRS e calibração multivariada. João Pessoa, Programa de Pós-Graduação em Química – UFPB, 2008. Tese de Doutorado 83 p.

SOUZA, F. P. O mercado da Carne Bovina no Brasil. *Rev. Acad. Ciências Agrária*

Ambient. 6, 427–434, 2008.

VALLE, E.R. Mitos e realidades sobre o consumo de carne bovina. Embrapa Gado de Corte. Documentos, 2000. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/mitoserealidadecarnebovina_000fecoo46802wx5eo006u55taptz7jl.pdf>. Acesso em: 23 jan.2016.

VARELLA, D. Mitos e Verdades - Os prazeres da carne vermelha, 2011. Disponível em: <<http://drauziovarella.com.br/obesidade/os-prazeres-da-carne-vermelha/>>. Acesso em: 23 jan.2016.

VILJOEN, M.; HOFFMAN, L. C.; BRAND, T. S. Prediction of the chemical composition of freeze dried ostrich meat with near infrared reflectance spectroscopy. Meat Sci. 69, 255–261, 2005.

WALMSLEY, A. D. Practical Guide to Chemometric. 2 ed. Parkway. CRC Press, 2006.

WOLD, S. Chemometrics. What do we mean with it, and what do we want from it? Chemom. Intell. Lab. Syst. 30, 109–115, 1995.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. Chemom. Intell. Lab. Syst. 2, 37–52, 1987.

ZHOU, L. J.; WU, H.; LI, J. T.; WANG, Z. Y.; ZHANG, L. Y. Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. Meat Sci. 90, 658–664, 2012.

Zomeño, C.; Juste, V.; Hernández, P. Application of NIRS for predicting fatty acids in intramuscular fat of rabbit. Meat Sci. 91, 155–159, 2012.

APÊNDICE A

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
166	2010	2,687	0,083	0,011	0,797	0,024	0,329	0,095	1,057	0,005	0,084	0,007	1,269	1,246	0,015	0,006	0,114	0,020	0,134
170	2010	3,150	0,098	0,011	0,943	0,030	0,443	0,115	1,155	0,008	0,088	0,008	1,558	1,382	0,023	0,008	0,118	0,020	0,138
171	2010	4,721	0,145	0,017	1,201	0,047	0,651	0,161	2,070	0,009	0,079	0,007	2,106	2,394	0,033	0,011	0,112	0,018	0,131
172	2010	4,823	0,186	0,024	1,582	0,051	0,669	0,162	1,743	0,009	0,074	0,010	2,556	2,056	0,030	0,012	0,095	0,024	0,119
174	2010	2,431	0,068	0,010	0,713	0,024	0,392	0,068	0,901	0,005	0,074	0,007	1,234	1,040	0,017	0,005	0,092	0,016	0,108
176	2010	2,100	0,064	0,007	0,631	0,019	0,334	0,068	0,744	0,005	0,066	0,006	1,078	0,881	0,014	0,003	0,085	0,015	0,099
177	2010	3,791	0,116	0,015	1,140	0,033	0,499	0,142	1,503	0,006	0,082	0,008	1,839	1,779	0,025	0,009	0,100	0,017	0,117
178	2010	2,885	0,077	0,011	0,840	0,029	0,438	0,084	1,090	0,006	0,086	0,010	1,428	1,260	0,020	0,008	0,113	0,024	0,138
179	2010	1,814	0,039	0,005	0,489	0,013	0,242	0,064	0,702	0,004	0,097	0,006	0,807	0,831	0,011	0,003	0,126	0,016	0,142
180	2010	2,505	0,067	0,009	0,730	0,025	0,393	0,076	0,927	0,006	0,083	0,007	1,252	1,084	0,020	0,005	0,107	0,017	0,123
181	2010	4,414	0,176	0,019	1,410	0,047	0,742	0,149	1,468	0,009	0,086	0,007	2,440	1,756	0,034	0,007	0,105	0,018	0,123
222	2010	2,411	0,052	0,007	0,680	0,022	0,406	0,065	0,870	0,006	0,109	0,008	1,195	1,001	0,019	0,005	0,140	0,019	0,159
223	2010	5,260	0,134	0,022	1,508	0,055	0,700	0,193	2,195	0,011	0,084	0,008	2,465	2,562	0,032	0,013	0,110	0,022	0,133
224	2010	3,331	0,078	0,012	0,989	0,031	0,455	0,116	1,321	0,007	0,078	0,007	1,595	1,549	0,020	0,007	0,107	0,017	0,124
225	2010	4,316	0,176	0,016	1,328	0,034	0,499	0,214	1,649	0,009	0,079	0,008	2,090	2,026	0,025	0,012	0,106	0,019	0,125
226	2010	2,326	0,053	0,007	0,670	0,020	0,384	0,064	0,849	0,005	0,091	0,007	1,161	0,983	0,016	0,005	0,123	0,020	0,143
227	2010	2,501	0,051	0,008	0,687	0,024	0,380	0,080	0,987	0,005	0,091	0,006	1,174	1,144	0,015	0,004	0,123	0,019	0,141
228	2010	2,730	0,059	0,010	0,742	0,027	0,416	0,069	1,069	0,006	0,107	0,008	1,289	1,226	0,024	0,006	0,136	0,020	0,156
229	2010	3,611	0,103	0,012	1,012	0,030	0,522	0,133	1,429	0,007	0,099	0,008	1,712	1,686	0,021	0,007	0,129	0,021	0,150
231	2010	3,329	0,117	0,015	1,026	0,035	0,385	0,127	1,278	0,007	0,076	0,011	1,612	1,530	0,021	0,011	0,102	0,026	0,128

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
232	2010	3,560	0,088	0,013	1,046	0,034	0,461	0,110	1,475	0,008	0,083	0,009	1,672	1,700	0,016	0,006	0,116	0,023	0,139
233	2010	3,807	0,162	0,019	1,263	0,041	0,493	0,128	1,348	0,007	0,082	0,007	2,014	1,602	0,024	0,008	0,112	0,017	0,129
235	2010	4,064	0,147	0,013	1,252	0,033	0,487	0,154	1,618	0,008	0,077	0,006	1,962	1,930	0,018	0,006	0,098	0,016	0,114
238	2010	3,224	0,101	0,013	0,995	0,033	0,465	0,098	1,187	0,007	0,079	0,007	1,641	1,393	0,022	0,008	0,108	0,017	0,124
239	2010	4,569	0,167	0,022	1,435	0,053	0,607	0,164	1,723	0,007	0,089	0,010	2,323	2,050	0,026	0,008	0,112	0,020	0,131
240	2010	2,519	0,088	0,012	0,759	0,025	0,310	0,093	0,935	0,004	0,083	0,010	1,223	1,118	0,017	0,008	0,113	0,022	0,134
241	2010	5,085	0,128	0,019	1,346	0,051	0,679	0,189	2,227	0,009	0,095	0,006	2,263	2,599	0,030	0,012	0,119	0,016	0,135
315	2010	1,423	0,025	0,005	0,354	0,012	0,225	0,037	0,523	0,003	0,083	0,007	0,640	0,608	0,010	0,003	0,122	0,023	0,145
316	2010	1,593	0,041	0,006	0,468	0,015	0,243	0,046	0,543	0,003	0,078	0,006	0,793	0,644	0,011	0,003	0,107	0,017	0,124
2	2011	1,976	0,041	0,009	0,466	0,018	0,493	0,023	0,474	0,008	0,167	0,017	1,056	0,547	0,019	0,008	0,195	0,027	0,221
3	2011	2,495	0,069	0,019	0,628	0,027	0,586	0,037	0,634	0,010	0,156	0,018	1,372	0,736	0,029	0,010	0,188	0,030	0,219
4	2011	1,212	0,021	0,005	0,295	0,011	0,205	0,022	0,346	0,003	0,128	0,011	0,560	0,403	0,012	0,004	0,171	0,027	0,198
5	2011	2,136	0,058	0,013	0,550	0,021	0,454	0,039	0,556	0,007	0,164	0,021	1,133	0,654	0,024	0,009	0,195	0,035	0,230
6	2011	1,142	0,020	0,005	0,262	0,009	0,208	0,017	0,276	0,004	0,182	0,014	0,520	0,324	0,009	0,005	0,214	0,024	0,238
8	2011	1,915	0,046	0,009	0,474	0,019	0,316	0,045	0,590	0,007	0,166	0,016	0,896	0,696	0,020	0,011	0,193	0,026	0,219
11	2011	1,402	0,030	0,008	0,328	0,013	0,281	0,021	0,321	0,006	0,171	0,017	0,686	0,382	0,015	0,006	0,208	0,029	0,237
13	2011	2,001	0,053	0,014	0,511	0,021	0,396	0,043	0,572	0,007	0,114	0,016	1,033	0,677	0,024	0,007	0,143	0,029	0,172
14	2011	1,226	0,022	0,006	0,302	0,011	0,217	0,020	0,285	0,004	0,168	0,016	0,582	0,340	0,013	0,004	0,211	0,032	0,243
15	2011	1,619	0,033	0,008	0,397	0,015	0,319	0,024	0,401	0,006	0,171	0,016	0,799	0,472	0,016	0,006	0,209	0,030	0,238
16	2011	1,122	0,024	0,006	0,278	0,010	0,190	0,021	0,285	0,003	0,135	0,015	0,529	0,339	0,011	0,004	0,175	0,030	0,205
17	2011	1,080	0,017	0,006	0,250	0,009	0,187	0,014	0,243	0,003	0,181	0,014	0,490	0,289	0,011	0,004	0,226	0,027	0,253
18	2011	1,421	0,028	0,007	0,338	0,013	0,274	0,024	0,365	0,004	0,166	0,017	0,684	0,430	0,014	0,006	0,199	0,029	0,228
19	2011	1,628	0,034	0,009	0,385	0,016	0,334	0,023	0,436	0,005	0,144	0,017	0,821	0,508	0,016	0,007	0,181	0,031	0,211
20	2011	1,932	0,047	0,009	0,453	0,017	0,388	0,035	0,555	0,007	0,158	0,015	0,947	0,655	0,020	0,007	0,193	0,029	0,221

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
21	2011	2,041	0,044	0,010	0,469	0,018	0,373	0,045	0,611	0,008	0,172	0,017	0,951	0,718	0,022	0,012	0,205	0,031	0,237
22	2011	1,260	0,020	0,005	0,270	0,012	0,267	0,015	0,321	0,004	0,151	0,015	0,597	0,374	0,011	0,005	0,191	0,029	0,220
23	2011	1,046	0,017	0,005	0,229	0,009	0,192	0,011	0,212	0,003	0,188	0,020	0,474	0,257	0,010	0,003	0,229	0,036	0,265
24	2011	1,436	0,028	0,006	0,330	0,011	0,268	0,022	0,360	0,006	0,182	0,019	0,667	0,423	0,012	0,006	0,226	0,034	0,260
26	2011	1,101	0,023	0,004	0,254	0,009	0,213	0,016	0,271	0,003	0,134	0,015	0,523	0,325	0,009	0,004	0,168	0,029	0,197
27	2011	1,201	0,019	0,004	0,254	0,009	0,233	0,013	0,247	0,003	0,212	0,016	0,542	0,296	0,011	0,004	0,259	0,034	0,293
28	2011	1,624	0,030	0,007	0,401	0,015	0,327	0,030	0,451	0,005	0,138	0,017	0,809	0,533	0,015	0,007	0,161	0,028	0,189
29	2011	1,110	0,019	0,005	0,259	0,008	0,169	0,021	0,294	0,003	0,155	0,017	0,484	0,350	0,010	0,005	0,197	0,033	0,230
33	2011	4,078	0,108	0,019	1,065	0,039	0,756	0,073	1,290	0,018	0,198	0,022	2,039	1,488	0,032	0,019	0,250	0,037	0,287
34	2011	2,908	0,076	0,016	0,720	0,033	0,679	0,044	0,824	0,010	0,143	0,018	1,570	0,952	0,029	0,009	0,185	0,038	0,223
35	2011	3,236	0,079	0,012	0,739	0,030	0,504	0,078	1,118	0,013	0,198	0,020	1,414	1,313	0,032	0,024	0,247	0,034	0,281
37	2011	4,527	0,128	0,015	1,265	0,039	0,606	0,127	1,664	0,014	0,196	0,020	2,098	1,950	0,026	0,020	0,239	0,036	0,275
38	2011	3,834	0,108	0,014	0,956	0,030	0,540	0,110	1,374	0,014	0,171	0,022	1,702	1,648	0,029	0,025	0,212	0,042	0,254
42	2011	3,897	0,095	0,013	0,978	0,032	0,576	0,106	1,426	0,014	0,175	0,016	1,747	1,665	0,030	0,023	0,218	0,036	0,254
43	2011	2,740	0,075	0,014	0,712	0,025	0,566	0,048	0,745	0,010	0,153	0,016	1,438	0,891	0,024	0,014	0,195	0,033	0,228
45	2011	2,046	0,041	0,009	0,493	0,018	0,383	0,036	0,592	0,007	0,176	0,012	0,975	0,694	0,018	0,011	0,221	0,025	0,247
46	2011	7,049	0,262	0,027	1,990	0,059	0,968	0,236	2,486	0,020	0,222	0,023	3,386	2,990	0,052	0,039	0,270	0,045	0,315
47	2011	1,679	0,039	0,008	0,405	0,015	0,335	0,026	0,437	0,005	0,165	0,015	0,831	0,516	0,016	0,008	0,210	0,030	0,240
48	2011	3,041	0,058	0,008	0,678	0,024	0,470	0,082	1,168	0,010	0,178	0,013	1,280	1,362	0,026	0,017	0,224	0,030	0,254
49	2011	2,050	0,058	0,009	0,538	0,020	0,358	0,042	0,603	0,006	0,151	0,010	1,009	0,709	0,016	0,011	0,199	0,022	0,221
50	2011	2,511	0,084	0,009	0,700	0,022	0,375	0,081	0,784	0,006	0,151	0,018	1,224	0,959	0,019	0,009	0,196	0,033	0,229
51	2011	1,470	0,035	0,004	0,370	0,012	0,273	0,026	0,413	0,004	0,155	0,009	0,712	0,479	0,010	0,005	0,194	0,018	0,213
52	2011	4,068	0,093	0,016	1,058	0,036	0,739	0,090	1,372	0,017	0,164	0,024	1,999	1,585	0,034	0,019	0,201	0,041	0,242
53	2011	2,792	0,069	0,010	0,713	0,025	0,511	0,055	0,903	0,008	0,172	0,017	1,370	1,040	0,025	0,013	0,217	0,032	0,250

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
54	2011	2,692	0,061	0,009	0,652	0,020	0,413	0,075	0,908	0,009	0,194	0,015	1,193	1,080	0,022	0,014	0,250	0,030	0,280
56	2011	2,194	0,041	0,005	0,536	0,016	0,350	0,046	0,768	0,007	0,159	0,010	0,973	0,888	0,014	0,011	0,193	0,022	0,215
58	2011	2,044	0,054	0,008	0,532	0,016	0,341	0,042	0,569	0,006	0,183	0,014	0,983	0,683	0,016	0,008	0,236	0,030	0,265
59	2011	2,665	0,068	0,012	0,681	0,023	0,490	0,059	0,849	0,009	0,134	0,017	1,314	0,998	0,023	0,009	0,175	0,030	0,204
61	2011	2,053	0,058	0,010	0,544	0,019	0,374	0,052	0,599	0,007	0,122	0,012	1,037	0,720	0,017	0,007	0,157	0,023	0,181
366	2011	1,477	0,036	0,003	0,391	0,009	0,250	0,035	0,505	0,003	0,103	0,006	0,708	0,590	0,008	0,003	0,136	0,017	0,153
367	2011	2,844	0,065	0,006	0,720	0,020	0,426	0,094	1,202	0,007	0,083	0,006	1,266	1,403	0,016	0,006	0,108	0,017	0,125
368	2011	2,189	0,055	0,006	0,616	0,014	0,282	0,086	0,837	0,004	0,103	0,006	0,994	1,004	0,011	0,004	0,137	0,020	0,157
369	2011	2,638	0,063	0,009	0,748	0,025	0,412	0,076	0,991	0,006	0,098	0,009	1,275	1,165	0,008	0,004	0,129	0,021	0,150
370	2011	3,352	0,091	0,008	0,961	0,023	0,613	0,099	1,172	0,007	0,124	0,009	1,726	1,376	0,018	0,007	0,156	0,022	0,178
371	2011	2,606	0,048	0,006	0,677	0,019	0,403	0,075	0,985	0,005	0,137	0,012	1,187	1,150	0,019	0,004	0,187	0,028	0,215
372	2011	1,890	0,054	0,006	0,516	0,014	0,275	0,056	0,635	0,005	0,127	0,009	0,886	0,763	0,013	0,004	0,172	0,025	0,198
373	2011	2,498	0,068	0,006	0,733	0,020	0,421	0,071	0,881	0,006	0,086	0,007	1,273	1,037	0,015	0,004	0,119	0,018	0,137
374	2011	2,757	0,047	0,007	0,651	0,024	0,429	0,074	1,132	0,006	0,132	0,010	1,190	1,314	0,017	0,005	0,174	0,028	0,202
375	2011	2,108	0,041	0,005	0,564	0,017	0,351	0,057	0,797	0,005	0,093	0,008	1,002	0,919	0,012	0,005	0,126	0,021	0,147
377	2011	1,737	0,038	0,004	0,461	0,012	0,275	0,049	0,606	0,004	0,121	0,007	0,810	0,707	0,012	0,004	0,162	0,020	0,182
378	2011	2,165	0,056	0,006	0,635	0,014	0,320	0,067	0,736	0,004	0,123	0,008	1,055	0,870	0,011	0,005	0,175	0,026	0,200
381	2011	2,921	0,060	0,007	0,697	0,022	0,388	0,102	1,287	0,006	0,097	0,007	1,203	1,501	0,017	0,007	0,145	0,026	0,171
382	2011	2,962	0,083	0,008	0,804	0,023	0,422	0,106	1,181	0,005	0,094	0,009	1,371	1,382	0,017	0,007	0,136	0,027	0,162
383	2011	2,401	0,066	0,009	0,662	0,024	0,348	0,067	0,896	0,004	0,087	0,009	1,142	1,044	0,017	0,007	0,133	0,030	0,164
384	2011	3,647	0,075	0,010	0,960	0,035	0,627	0,081	1,480	0,007	0,104	0,007	1,742	1,667	0,022	0,008	0,159	0,026	0,185
385	2011	6,429	0,168	0,017	1,764	0,052	1,101	0,190	2,621	0,013	0,110	0,010	3,158	2,994	0,036	0,013	0,144	0,026	0,170
387	2011	4,090	0,126	0,013	1,181	0,037	0,601	0,131	1,601	0,008	0,099	0,008	1,992	1,873	0,021	0,007	0,135	0,023	0,157
388	2011	2,362	0,065	0,006	0,639	0,017	0,262	0,103	0,978	0,004	0,076	0,005	1,011	1,184	0,012	0,005	0,116	0,020	0,136

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
389	2011	2,421	0,050	0,007	0,646	0,019	0,395	0,060	0,939	0,005	0,096	0,008	1,145	1,068	0,015	0,006	0,136	0,026	0,162
390	2011	4,059	0,117	0,010	1,133	0,026	0,647	0,146	1,610	0,008	0,102	0,006	1,961	1,881	0,016	0,007	0,138	0,020	0,158
391	2011	4,671	0,135	0,011	1,328	0,036	0,665	0,147	1,921	0,010	0,095	0,009	2,216	2,221	0,024	0,008	0,135	0,024	0,159
392	2011	7,261	0,229	0,018	2,027	0,062	1,104	0,259	3,002	0,013	0,106	0,010	3,493	3,485	0,043	0,015	0,141	0,026	0,166
393	2011	2,417	0,057	0,006	0,667	0,017	0,339	0,086	0,950	0,005	0,087	0,006	1,109	1,115	0,013	0,004	0,132	0,023	0,155
394	2011	2,522	0,048	0,005	0,641	0,019	0,407	0,063	1,088	0,006	0,060	0,005	1,143	1,233	0,014	0,004	0,086	0,017	0,103
395	2011	1,520	0,048	0,005	0,446	0,012	0,184	0,056	0,553	0,002	0,064	0,006	0,715	0,668	0,011	0,004	0,089	0,015	0,104
396	2011	4,362	0,093	0,012	1,111	0,038	0,622	0,136	1,944	0,010	0,084	0,007	1,913	2,236	0,026	0,010	0,114	0,020	0,134
397	2011	3,634	0,103	0,013	1,005	0,037	0,528	0,109	1,484	0,009	0,083	0,005	1,714	1,726	0,019	0,007	0,114	0,014	0,129
398	2011	3,102	0,095	0,011	0,870	0,028	0,438	0,104	1,226	0,006	0,085	0,007	1,473	1,439	0,020	0,009	0,115	0,018	0,133
399	2011	4,214	0,134	0,015	1,269	0,043	0,634	0,129	1,616	0,008	0,085	0,008	2,129	1,871	0,023	0,009	0,113	0,019	0,131
1	2012	2,422	0,051	0,007	0,616	0,018	0,374	0,078	0,947	0,006	0,104	0,007	1,093	1,110	0,016	0,007	0,141	0,020	0,161
2	2012	1,911	0,054	0,008	0,487	0,018	0,332	0,057	0,623	0,006	0,125	0,008	0,924	0,746	0,015	0,006	0,156	0,019	0,176
3	2012	2,764	0,080	0,007	0,801	0,020	0,396	0,107	1,013	0,007	0,095	0,007	1,330	1,219	0,017	0,009	0,121	0,018	0,139
5	2012	2,984	0,074	0,007	0,818	0,022	0,406	0,115	1,200	0,006	0,090	0,007	1,359	1,419	0,019	0,007	0,125	0,020	0,145
6	2012	0,989	0,007	0,002	0,206	0,007	0,144	0,018	0,318	0,002	0,109	0,007	0,391	0,393	0,008	0,004	0,152	0,021	0,172
7	2012	3,025	0,070	0,008	0,778	0,027	0,494	0,097	1,180	0,008	0,102	0,007	1,413	1,382	0,024	0,007	0,133	0,019	0,152
8	2012	1,666	0,032	0,003	0,409	0,012	0,243	0,061	0,640	0,004	0,102	0,007	0,719	0,761	0,012	0,004	0,136	0,018	0,154
11	2012	1,983	0,050	0,006	0,512	0,017	0,366	0,062	0,667	0,004	0,109	0,008	0,976	0,795	0,015	0,004	0,139	0,016	0,155
13	2012	1,788	0,042	0,004	0,503	0,013	0,259	0,054	0,643	0,004	0,085	0,005	0,837	0,760	0,009	0,004	0,132	0,019	0,151
14	2012	2,823	0,088	0,008	0,810	0,019	0,342	0,120	1,096	0,006	0,088	0,007	1,296	1,320	0,019	0,006	0,124	0,020	0,144
16	2012	2,312	0,073	0,007	0,617	0,017	0,295	0,096	0,877	0,005	0,103	0,007	1,031	1,073	0,013	0,005	0,142	0,018	0,160
18	2012	3,338	0,114	0,012	0,918	0,028	0,408	0,150	1,327	0,007	0,091	0,008	1,513	1,616	0,021	0,009	0,121	0,019	0,140
20	2012	2,785	0,051	0,006	0,662	0,017	0,414	0,095	1,240	0,006	0,075	0,006	1,175	1,435	0,014	0,006	0,108	0,020	0,128

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

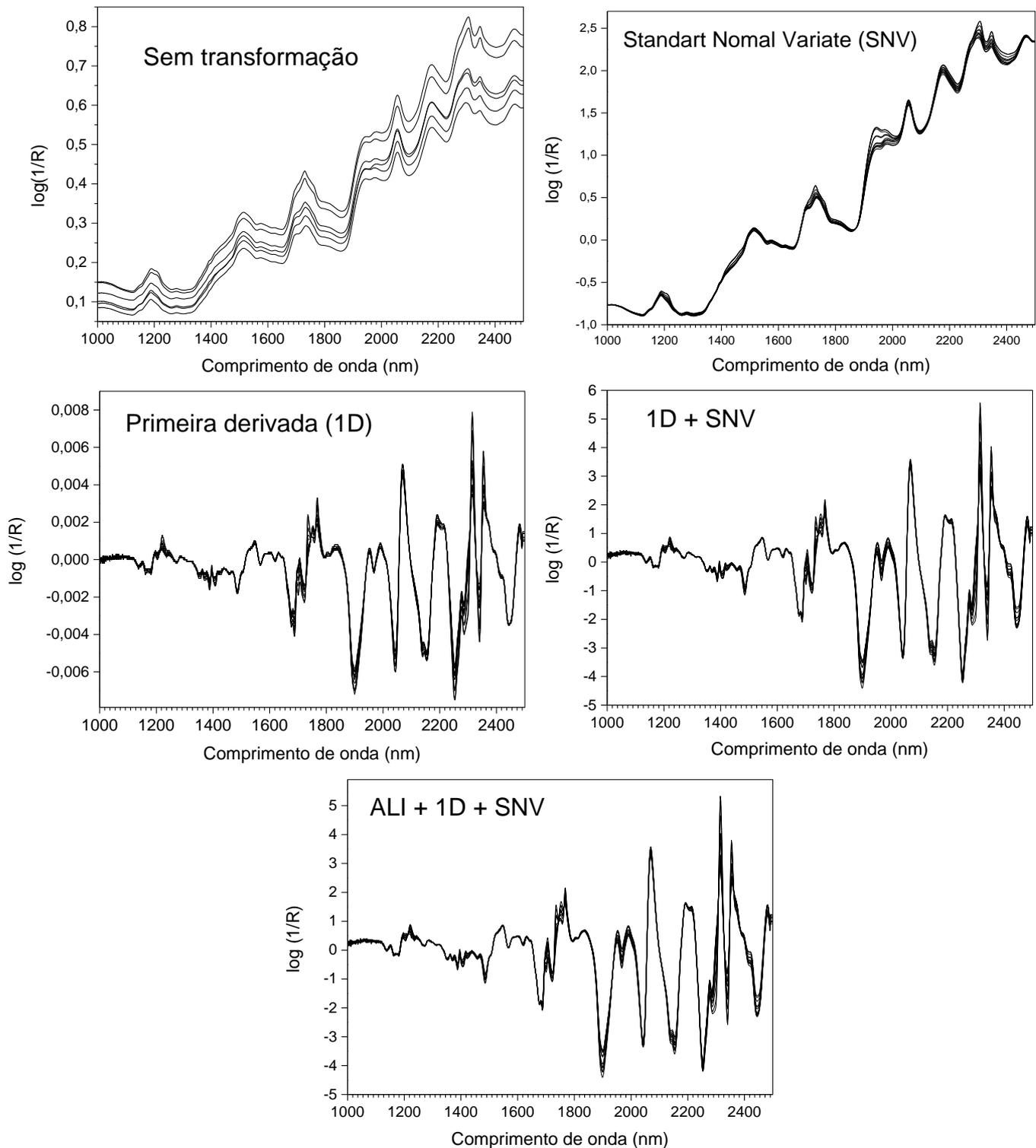
OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
23	2012	2,140	0,044	0,011	0,499	0,016	0,429	0,040	0,580	0,010	0,192	0,012	1,029	0,686	0,019	0,012	0,229	0,024	0,253
25	2012	2,156	0,049	0,011	0,505	0,019	0,491	0,029	0,517	0,011	0,196	0,015	1,109	0,613	0,022	0,011	0,226	0,024	0,251
27	2012	0,999	0,019	0,004	0,243	0,007	0,164	0,012	0,196	0,003	0,198	0,009	0,453	0,239	0,008	0,003	0,238	0,020	0,258
28	2012	2,122	0,036	0,009	0,454	0,021	0,494	0,024	0,552	0,008	0,220	0,017	1,045	0,639	0,022	0,009	0,251	0,025	0,277
29	2012	1,538	0,036	0,007	0,361	0,015	0,331	0,021	0,383	0,005	0,170	0,013	0,776	0,446	0,016	0,006	0,205	0,023	0,227
30	2012	1,757	0,037	0,009	0,406	0,017	0,426	0,022	0,401	0,006	0,182	0,016	0,922	0,471	0,017	0,008	0,214	0,026	0,240
31	2012	1,579	0,035	0,006	0,379	0,012	0,338	0,022	0,379	0,006	0,191	0,011	0,792	0,442	0,013	0,007	0,217	0,019	0,236
32	2012	1,368	0,026	0,005	0,326	0,010	0,265	0,021	0,348	0,005	0,162	0,012	0,653	0,405	0,012	0,006	0,206	0,022	0,228
33	2012	1,846	0,054	0,009	0,472	0,017	0,335	0,046	0,519	0,005	0,151	0,016	0,919	0,622	0,020	0,009	0,180	0,026	0,205
34	2012	1,342	0,024	0,006	0,292	0,012	0,272	0,019	0,344	0,004	0,177	0,013	0,627	0,402	0,013	0,007	0,207	0,021	0,228
35	2012	1,948	0,039	0,009	0,453	0,018	0,473	0,029	0,493	0,006	0,165	0,017	1,024	0,575	0,018	0,009	0,197	0,026	0,223
36	2012	1,393	0,027	0,006	0,334	0,010	0,281	0,020	0,320	0,006	0,191	0,010	0,677	0,377	0,011	0,006	0,225	0,017	0,242
37	2012	1,318	0,019	0,006	0,286	0,012	0,300	0,013	0,281	0,004	0,202	0,016	0,647	0,331	0,013	0,005	0,241	0,027	0,268
38	2012	1,482	0,034	0,006	0,339	0,012	0,248	0,028	0,375	0,005	0,222	0,011	0,661	0,452	0,014	0,007	0,257	0,021	0,278
39	2012	2,647	0,048	0,014	0,626	0,028	0,626	0,034	0,742	0,009	0,195	0,019	1,385	0,843	0,028	0,010	0,234	0,032	0,266
40	2012	1,287	0,025	0,006	0,308	0,011	0,239	0,021	0,301	0,005	0,174	0,014	0,612	0,357	0,013	0,006	0,208	0,026	0,234
42	2012	1,549	0,031	0,006	0,352	0,012	0,282	0,028	0,395	0,006	0,198	0,013	0,708	0,469	0,014	0,007	0,241	0,026	0,267
43	2012	1,684	0,029	0,005	0,401	0,014	0,386	0,019	0,402	0,006	0,208	0,014	0,858	0,462	0,014	0,005	0,244	0,025	0,269
45	2012	2,597	0,059	0,010	0,626	0,021	0,483	0,046	0,728	0,011	0,246	0,016	1,234	0,853	0,023	0,013	0,290	0,030	0,320
46	2012	1,876	0,041	0,009	0,445	0,016	0,427	0,024	0,424	0,008	0,189	0,012	0,969	0,502	0,018	0,009	0,227	0,023	0,250
50	2012	6,876	0,165	0,027	1,766	0,062	1,132	0,153	2,492	0,025	0,261	0,030	3,243	2,856	0,062	0,040	0,307	0,050	0,357
51	2012	4,234	0,086	0,015	1,023	0,037	0,745	0,094	1,588	0,013	0,162	0,022	1,960	1,809	0,034	0,018	0,207	0,041	0,249
52	2012	6,136	0,194	0,022	1,644	0,043	1,066	0,140	1,857	0,029	0,307	0,022	3,032	2,171	0,041	0,046	0,353	0,034	0,387
53	2012	2,786	0,077	0,011	0,726	0,025	0,443	0,078	0,855	0,010	0,207	0,013	1,319	1,024	0,022	0,017	0,247	0,027	0,275

TABELA 1 – Teores das 18 propriedades utilizadas nos modelos de calibração (g/100g de carne) (cont.).

OAb	Ano de abate	L.T.	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	c9-16:1	c9-18:1	t9-18:1	c18:2n-6	c18:3n-3	AGS	c-MUFA	AGCR	c,t-CLA	n-6	n-3	PUFA
54	2012	2,548	0,066	0,010	0,634	0,021	0,416	0,061	0,757	0,009	0,223	0,012	1,181	0,900	0,022	0,015	0,272	0,025	0,297
55	2012	2,643	0,068	0,008	0,692	0,019	0,397	0,070	0,889	0,011	0,166	0,013	1,215	1,044	0,020	0,013	0,206	0,025	0,231
56	2012	2,151	0,047	0,006	0,535	0,015	0,344	0,045	0,658	0,009	0,203	0,011	0,973	0,768	0,015	0,012	0,246	0,023	0,269
57	2012	2,880	0,085	0,011	0,733	0,023	0,446	0,084	0,890	0,013	0,211	0,014	1,330	1,075	0,021	0,017	0,249	0,024	0,273
58	2012	3,714	0,125	0,015	0,984	0,031	0,704	0,078	1,099	0,015	0,190	0,014	1,898	1,286	0,027	0,021	0,226	0,025	0,252
59	2012	3,408	0,076	0,012	0,853	0,028	0,525	0,081	1,191	0,017	0,171	0,017	1,536	1,391	0,027	0,022	0,201	0,029	0,230
60	2012	2,267	0,059	0,008	0,608	0,016	0,348	0,059	0,710	0,007	0,185	0,012	1,065	0,842	0,017	0,011	0,225	0,021	0,245
61	2012	3,757	0,086	0,014	0,983	0,031	0,719	0,076	1,196	0,015	0,184	0,016	1,876	1,373	0,027	0,017	0,231	0,034	0,265
62	2012	2,478	0,052	0,009	0,627	0,022	0,426	0,052	0,807	0,008	0,165	0,012	1,166	0,931	0,020	0,013	0,208	0,024	0,232
63	2012	2,535	0,067	0,007	0,638	0,018	0,452	0,055	0,753	0,010	0,188	0,011	1,212	0,881	0,019	0,016	0,234	0,023	0,258
64	2012	3,084	0,063	0,013	0,736	0,027	0,586	0,065	0,998	0,010	0,213	0,021	1,463	1,147	0,024	0,019	0,256	0,035	0,292
65	2012	1,534	0,027	0,005	0,330	0,010	0,223	0,037	0,447	0,006	0,203	0,011	0,617	0,535	0,013	0,013	0,247	0,023	0,271
66	2012	4,548	0,090	0,014	1,181	0,040	0,781	0,093	1,600	0,020	0,195	0,017	2,153	1,823	0,034	0,025	0,234	0,030	0,264
67	2012	2,781	0,079	0,012	0,720	0,024	0,518	0,062	0,821	0,009	0,177	0,015	1,391	0,961	0,023	0,015	0,227	0,027	0,254
68	2012	3,889	0,089	0,013	0,994	0,031	0,599	0,101	1,357	0,014	0,214	0,017	1,768	1,574	0,027	0,024	0,259	0,028	0,286
69	2012	3,422	0,108	0,015	0,934	0,027	0,530	0,090	1,035	0,015	0,219	0,016	1,655	1,232	0,027	0,021	0,269	0,030	0,298
70	2012	2,118	0,062	0,010	0,535	0,016	0,344	0,056	0,631	0,008	0,165	0,013	0,993	0,748	0,017	0,014	0,210	0,026	0,236
71	2012	2,780	0,083	0,010	0,754	0,021	0,519	0,064	0,874	0,009	0,134	0,012	1,418	1,018	0,021	0,013	0,172	0,022	0,194
74	2012	2,180	0,062	0,010	0,575	0,018	0,357	0,049	0,617	0,009	0,184	0,014	1,049	0,732	0,016	0,011	0,230	0,027	0,258

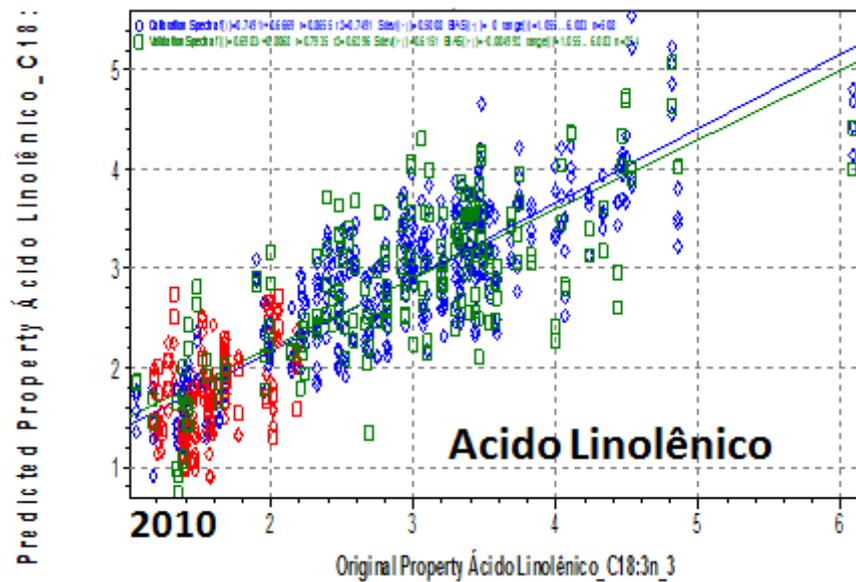
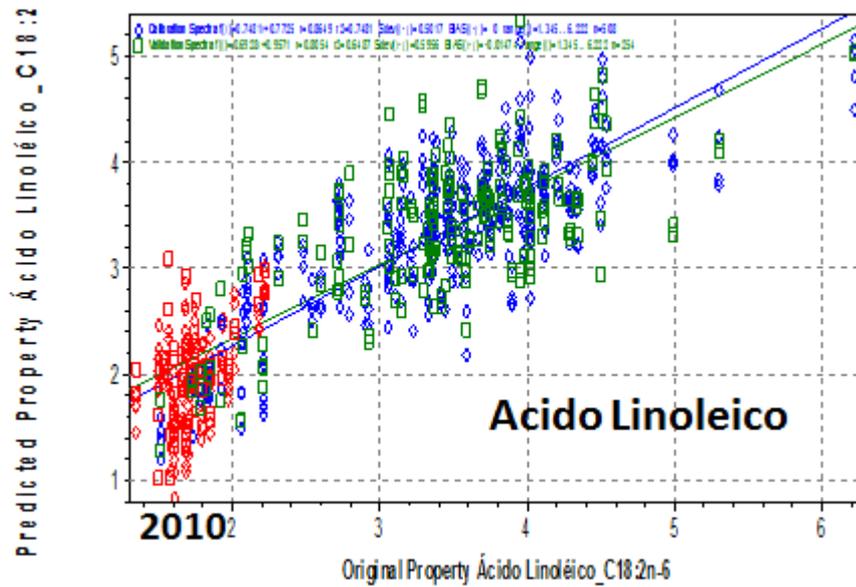
APÊNDICE B

Figuras dos espectros com e sem aplicação de transformações utilizados para obtenção dos modelos para cada propriedades em estudo.



APÊNDICE C

Retas de regressão dos ácidos linoleico e linolênico salientando em vermelho as amostras excluídas durante a construção dos modelos de regressão para as respectivas propriedades.



APÊNDICE D

TABELA 1 – Parâmetros quimiométricos utilizados na avaliação dos modelos.

Propriedades	Transf	N cal	N val	VLs	Consistência	Viés	SEC (%)	SEP (%)	R ² cal	R ² val
Lipídeos Totais	S.T.	89	33	2	98	0,003	0,526	0,537	0,733	0,716
	1D	94	32	2	102	0,142	0,437	0,429	0,882	0,802
	SNV	93	33	2	100	0,264	0,536	0,538	0,822	0,707
	1D_SNV	93	33	2	101	0,231	0,434	0,429	0,884	0,810
	ALI_1D_SNV	90	36	2	101	0,151	0,441	0,436	0,885	0,776
Ácidos Graxos Individuais										
C14:0	S.T.	94	25	3	93	0,003	0,017	0,018	0,803	0,739
	1D	95	26	2	92	0,004	0,016	0,017	0,825	0,790
	SNV	99	25	3	92	-0,005	0,018	0,019	0,806	0,726
	1D_SNV	94	30	3	92	0,003	0,016	0,018	0,826	0,796
	ALI_1D_SNV	94	30	3	93	0,003	0,017	0,018	0,823	0,796
C15:0	S.T.	87	34	3	101	0,001	0,003	0,003	0,632	0,632
	1D	96	29	2	102	0,002	0,002	0,002	0,725	0,716
	SNV	93	27	3	105	0,001	0,002	0,002	0,712	0,650
	1D_SNV	95	29	3	97	0,001	0,002	0,002	0,740	0,620
	ALI_1D_SNV	91	33	2	102	0,001	0,002	0,002	0,663	0,648
C16:0	S.T.	71	23	1	81	0,029	0,144	0,142	0,854	0,842
	1D	75	22	2	72	0,039	0,090	0,126	0,899	0,892
	SNV	71	26	2	80	0,048	0,119	0,150	0,829	0,829
	1D_SNV	75	19	1	99	-0,042	0,102	0,103	0,804	0,736
	ALI_1D_SNV	76	19	1	99	-0,049	0,095	0,096	0,891	0,818
C17:0	S.T.	97	25	2	88	0,0004	0,006	0,006	0,736	0,733
	1D	88	37	2	91	-0,0006	0,004	0,005	0,854	0,815
	SNV	90	35	2	82	-0,0007	0,005	0,006	0,754	0,736
	1D_SNV	92	33	1	93	-0,001	0,006	0,006	0,735	0,690
	ALI_1D_SNV	101	21	2	104	0,001	0,004	0,004	0,872	0,786

TABELA 1 – Parâmetros quimiométricos utilizados na avaliação dos modelos.

Propriedades	Transf	N cal	N val	VLs	Consistência	Viés	SEC (%)	SEP (%)	R ² cal	R ² val
C18:0	S.T.	91	31	2	108	-0,027	0,176	0,163	0,551	0,540
	1D	94	25	2	96	0,057	0,150	0,155	0,622	0,617
	SNV	91	30	3	96	0,030	0,141	0,146	0,688	0,688
	1D_SNV	87	34	3	98	0,032	0,128	0,131	0,750	0,737
	ALI_1D_SNV	87	33	3	100	0,041	0,147	0,146	0,677	0,651
c9-16:1	S.T.	93	31	1	100	-0,008	0,025	0,025	0,658	0,648
	1D	94	29	1	96	-0,006	0,019	0,020	0,804	0,814
	SNV	95	26	2	104	0,009	0,022	0,021	0,704	0,688
	1D_SNV	90	35	1	100	0,001	0,021	0,021	0,794	0,729
	ALI_1D_SNV	90	32	1	99	-0,004	0,020	0,020	0,775	0,786
c9-18:1	S.T.	88	36	2	92	0,047	0,235	0,254	0,750	0,738
	1D	91	33	1	99	0,019	0,195	0,198	0,850	0,752
	SNV	91	35	2	100	0,054	0,238	0,237	0,815	0,696
	1D_SNV	88	38	1	99	0,034	0,195	0,196	0,865	0,843
	ALI_1D_SNV	91	35	2	100	0,054	0,238	0,237	0,815	0,696
t9-18:1	S.T.	81	43	4	99	0,0004	0,002	0,002	0,601	0,520
	1D	79	45	2	100	0,0006	0,003	0,003	0,417	0,350
	SNV	93	30	3	101	0,0005	0,002	0,002	0,524	0,493
	1D_SNV	80	44	3	98	0,0008	0,002	0,002	0,677	0,659
	ALI_1D_SNV	81	43	3	98	0,0008	0,002	0,002	0,667	0,655
C18:2n-6	S.T.	69	27	5	101	0,006	0,031	0,031	0,295	0,295
	1D	66	28	3	102	0,002	0,030	0,030	0,345	0,332
	SNV	68	30	3	99	0,003	0,034	0,034	0,184	0,150
	1D_SNV	69	28	2	96	-0,001	0,035	0,036	0,094	0,085
	ALI_1D_SNV	68	29	2	98	-0,001	0,035	0,036	0,091	0,088
C18:3n-3	S.T.	68	29	5	101	0,0005	0,004	0,004	0,273	0,288
	1D	73	25	3	94	0,0002	0,003	0,003	0,437	0,376
	SNV	76	22	4	97	-0,0002	0,004	0,004	0,187	0,180
	1D_SNV	75	23	3	92	0,0007	0,003	0,003	0,493	0,434
	ALI_1D_SNV	72	26	3	94	0,0009	0,003	0,003	0,413	0,407

TABELA 1 – Parâmetros quimiométricos utilizados na avaliação dos modelos.

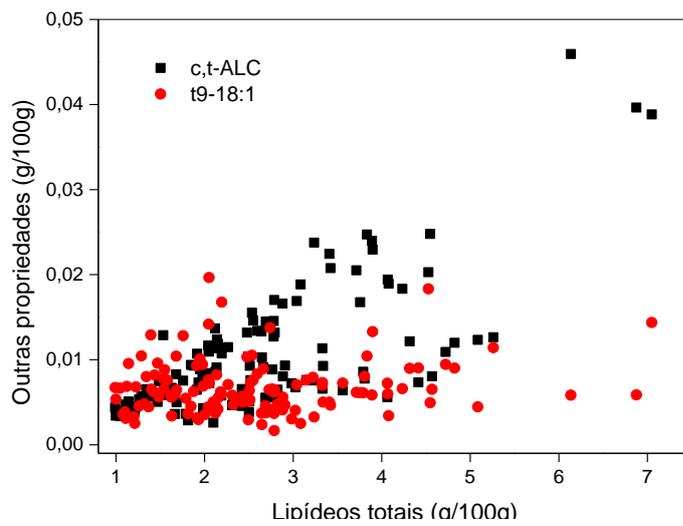
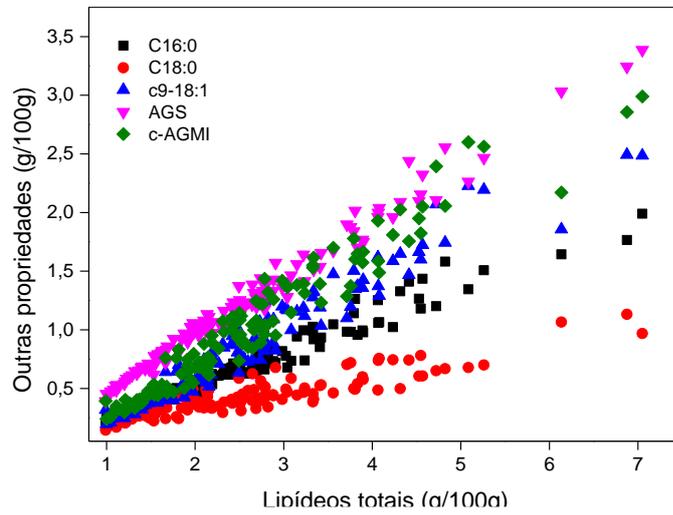
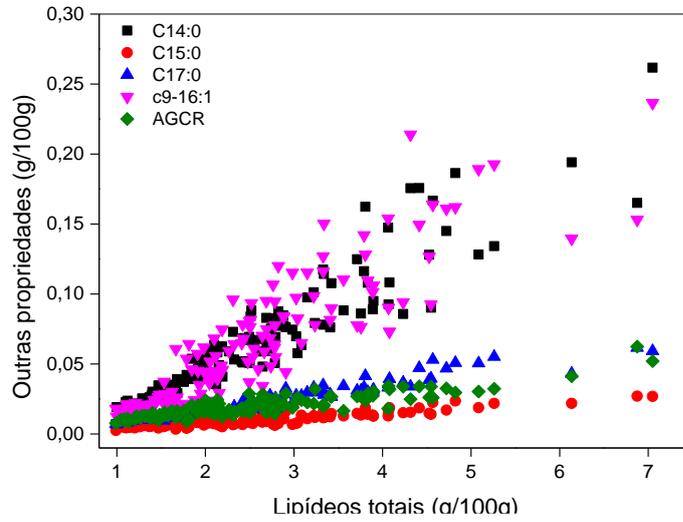
Propriedades	Transf	N cal	N val	VLs	Consistência	Viés	SEC (%)	SEP (%)	R ² cal	R ² val
Família de Ácidos Graxos										
AGS	S.T.	97	25	1	100	0,057	0,276	0,275	0,710	0,639
	1D	88	35	2	98	-0,040	0,204	0,208	0,843	0,798
	SNV	84	39	2	96	-0,009	0,260	0,271	0,727	0,710
	1D_SNV	89	34	2	98	-0,049	0,206	0,211	0,838	0,798
	ALI_1D_SNV	89	34	2	98	-0,048	0,207	0,211	0,838	0,798
c-AGMI	S.T.	96	30	2	100	-0,079	0,298	0,297	0,772	0,700
	1D	94	32	1	99	-0,082	0,216	0,218	0,880	0,837
	SNV	91	35	2	101	-0,101	0,270	0,266	0,817	0,741
	1D_SNV	93	33	1	100	-0,077	0,216	0,217	0,881	0,834
	ALI_1D_SNV	93	33	1	100	-0,076	0,216	0,217	0,881	0,834
AGCR	S.T.	89	34	3	93	0,001	0,004	0,004	0,546	0,541
	1D	91	29	2	101	-0,0009	0,004	0,004	0,538	0,525
	SNV	85	35	3	103	-0,0009	0,004	0,004	0,620	0,572
	1D_SNV	90	30	2	102	-0,0007	0,004	0,004	0,537	0,527
	ALI_1D_SNV	90	30	2	102	-0,0007	0,004	0,004	0,537	0,526
c,t-ALC	S.T.	83	38	3	100	0,0004	0,004	0,004	0,467	0,421
	1D	91	29	2	99	0,0003	0,004	0,004	0,327	0,284
	SNV	91	29	1	99	0,0006	0,004	0,004	0,341	0,337
	1D_SNV	92	28	2	100	0,0004	0,004	0,004	0,318	0,302
	ALI_1D_SNV	91	29	2	102	0,0004	0,004	0,004	0,310	0,298
n-6	S.T.	74	24	1	100	-0,002	0,040	0,040	0,146	0,128
	1D	74	25	1	99	0,005	0,041	0,041	0,111	0,080
	SNV	72	27	2	102	0,001	0,038	0,037	0,144	0,110
	1D_SNV	76	24	3	97	0,002	0,031	0,032	0,500	0,424
	ALI_1D_SNV	75	25	3	100	0,006	0,033	0,033	0,442	0,375

TABELA 1 – Parâmetros quimiométricos utilizados na avaliação dos modelos.

Propriedades	Transf	N cal	N val	VLs	Consistência	Viés	SEC (%)	SEP (%)	R ² cal	R ² val
n-3	S.T.	85	39	3	95	0,0005	0,005	0,006	0,271	0,131
	1D	87	37	3	103	-0,0005	0,005	0,005	0,430	0,379
	SNV	86	38	3	100	0,0002	0,005	0,005	0,242	0,137
	1D_SNV	87	37	3	101	-0,0004	0,005	0,005	0,447	0,369
	ALI_1D_SNV	87	37	3	102	-0,0004	0,005	0,005	0,426	0,360
AGPI	S.T.	68	28	2	99	0,005	0,040	0,041	0,117	0,116
	1D	73	25	2	102	0,004	0,040	0,039	0,136	0,119
	SNV	76	22	3	99	-0,005	0,038	0,039	0,184	0,152
	1D_SNV	76	22	3	98	0,001	0,031	0,032	0,463	0,461
	ALI_1D_SNV	74	24	3	96	-0,001	0,031	0,032	0,459	0,424

APÊNDICE E

Verificação da relação da propriedade lipídeos totais com todas as outras.



APÊNDICE F

Retas de comparação dos valores previstos e reais para os 18 modelos construídos.

