UNIVERSIDADEFEDERAL DE MINASGERAIS

FACULDADE DE FARMÁCIA

ONARA JANDAFET SAMPAIO MARTINS

APLICAÇÃO DE ESPECTROSCOPIA NO INFRA-VERMELHO MÉDIO PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EMPRODUTO A BASE DE FRANGO

Belo Horizonte

2015

ONARA JANDAFET SAMPAIO MARTINS

APLICAÇÃO DE ESPECTROSCOPIA NO INFRA-VERMELHO MÉDIO PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO EM PRODUTO A BASE DE FRANGO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em ciência dos Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Área de Concentração: Qualidade de Alimentos

Orientadora: Dra. Adriana Silva França-Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2015

Dedico

a minha dissertação a todos que de alguma forma me ajudaram a construí-la. Principalmente aos meus pais Jandira e Amonario os quais me deram a vida, sem a qual eu não estaria por aqui. E por ultimo, e o mais importante, a Deus por todos os ensinamentos da minha vida e por muitos ensinamentos de um futuro próximo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a instituição UFMG que propicia programas de pós- graduação para as pessoas interessadas em tal.

Agradeço a CAPES pelo auxilio financeiro durante todo o meu mestrado.

Agradeço pela oportunidade de fazer parte do programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos do Departamento de Farmácia (PPGCA).

Agradeço ao Departamento de Engenharia Mecânica, sem o qual eu não poderia executar as atividades propostas neste trabalho.

Agradeço a orientação da Dr. Adriana França e os ensinamentos.

Agradeço a Dra Scheilla Vitorino, e a Ronália e ao laboratório de Bromatologia do Departamento de Farmácia da UFMG, pelo auxilio na execução das analises de lipídeos. Ao Dr. Afonso Liguori pelo auxilio em planejar a execução de parte da analise centesimal executada neste trabalho.

Agradeço a companhia, convívio, auxilio e orientação dos pós-graduandos do laboratório de biocombustíveis do Departamento de Engenharia Mecânica Adalberto, Ana, Andréia, Daniela, Fernando, Jean, Nádia, Pablo, Sabrina, Tatiana, Verônica e Wadson. Agradeço ao Leandro Pereira, pós-graduando do departamento de Química, por todas as dicas e conhecimentos transmitidos.A Nádia Reis em especial por toda a sua disponibilidade para me ajudar no desenvolvimento da minha dissertação e por todo conhecimento, o qual ela compartilhou comigo. Vanessa Feldmann pela amizade e disponibilidade para manter longas conversas.

Agradeço ao apoio dos meus pais (Jandira e Amonario), dos meus irmãos (Amon, Ario, Amonario, Onar e Naira), dos meus cunhados(Paulo Renato e Daniele), dos meus queridos sobrinhos(Ana Cecília, Maria Eduarda, e Nícolas) e das minhas amigas(Ludmila e Clarinha). Os quais participaram de diferentes formas e que são de grande importância como um todo.

Agradeço a Karen and Sonny pelas longas conversas e aconselhamentos de grande valia.

Agradeço aos meus amigos de Viçosa (Universidade Federal de Viçosa) que mesmo distantes me ajudaram de coração aberto, em especial ao Robledinho e Wellignton.

Agradeço a Ibrac (Indústria Brasileira de Condimentos e Aditivos) pelo fornecimento dos condimentos para a produção do hambúrguer de frango.

Agradeço a Deus por mais uma vez ter me acompanhado na minha caminhada e me impulsionado para a conclusão de mais uma etapa da minha

vida. Eu termino essa fase com a certeza de que as próximas terão o apoio de Deus, como sempre foi em toda a minha vida. E mais uma vez só tenho a agradecer o aprendizado adquirido nesse período.

Under pressure (Queen,1982)

“Pressure, pushing down on me
Pressing down on you, no man ask for
Under pressure!
that's o.k.

It's the terror of knowing
What the world is about
Watching some good friends
Screaming 'Let me out'
Pray tomorrow - gets me higher
Pressure on people - people on streets
O.k.”

RESUMO

O hambúrguer de frango é um produto susceptível a fraude, seja na forma de adulteração (acréscimo de ingredientes não permitidos por legislação) ou não conformidade (acréscimo de ingredientes em limites superiores ao permitido por legislação). Tendo em vista o uso extensivo de espectroscopia no infravermelho médio na detecção de adulteração em alimentos e a inexistência de estudos de aplicação do mesmo em adulteração de hambúrguer de frango, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial da técnica de infravermelho médio para detecção e quantificação de fraude em hambúrguer de frango. Os adulterantes avaliados foram: moela, fígado e coração (frango de granja). A avaliação de não conformidade foi referente à adição de proteína texturizada de soja e pele de frango de granja. Foi realizada na primeira etapa do trabalho a analise centensimal para avaliar diferenças básicas de composição entre as amostras (frango de granja, frango caipira e soja). A avaliação da tendência à separação entre as amostras de frango de granja e as amostras de frango caipira e entre o hambúrguer de frango e os adulterantes, em referência aos espectros de infravermelho, foi baseada em análise de componentes principais (PCA, Principal Components Analysis). A perecebilidade do hambúrguer de frango também foi avaliada. A discriminação das amostras adulteradas ou não conformes foi baseada na técnica de análise discriminantecomcalibração multivariada pormínimos quadradosparciais (PLS-DA, Partial Least Squares Discriminant Analysis). A análise quantitativa foi baseada em regressão por mínimos quadrados (PLS, Partial Least Square Regression). Para o modelo de discriminação entre amostras adulteradas (com coração, moela e fígado) ou não, foram utilizadas 37 amostras, sendo que apenas uma amostra foi classificada de maneira incorreta. Para o modelo referente à discriminação de pele de frango de granja foram utilizadas 18 amostras de hambúrguer (15 não conformes e 3 são conformes), sendo todas as amostras classificadas corretamente. Para o modelo de discriminação referente à soja texturizada foram utilizadas 18 amostras de hambúrguer (15 não conformes e 3 são conformes), sendo que apenas uma foi classificada incorretamente. O modelo de quantificação de pele de frango em hambúrguer (em concentrações variando de 5 a 59%) apresentou RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration) e RMSEP (Root Mean Square Error Prediction) de 1.37202% e 3.06618%, respectivamente. O modelo de quantificação de soja (em concentrações variando de 4 a 53%) nas amostras apresentou RMSEC e RMSEP de 0.16254% e 1.05653%, respectivamente. O modelo genérico de quantificação de adulterantes (moela, fígado e coração de frango, puros ou em mistura, em concentrações variando de 2 a 47%), apresentou RMSEC e RMSEP de 0.16254% e 1.05653%, respectivamente. Os resultados obtidos confirmam o potencial da técnica para o desenvolvimento de uma metodologia de análise rápida e funcional para a detecção de amostras adulteradas e não conformes de hambúrguer de frango.

Palavras chave: frango- adulteração, miúdos, soja, pele de frango, Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

ABSTRACT

Chicken burgers are food products susceptible to fraud, either in the form of adulteration (adding ingredients that are not allowed by legislation) or non-conformity (adding ingredients above limits that are allowed by legislation). Given the extensive use of mid-infrared spectroscopy in food adulteration studies, and the non-existence of studies regarding the application of this technique to the analysis of chicken burgers, this study evaluated the potential of mid infrared spectroscopy for detection and quantification of fraud in chicken burgers. The evaluated adulterants were chicken gizzard, liver and heart. The non-conformity analysis was based on the addition of textured soy protein and chicken skin. Initially the proximate analysis of all samples was performed, in order to establish basic composition differences among the samples (free range chicken, broiler chicken, and textured soy protein). Discrimination between free range and broiler chicken samples, and between chicken and its adulterants, according to their infra-red spectra, was based on Principal Components Analysis (PCA). Perishability of the chicken burgers was also evaluated. Discrimination of adulterated or non-compliant samples was based on Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). Quantitative analysis was based on Partial Least Square Regression (PLS). The model for discrimination between samples that were adulterated (with chicken gizzard, or liver) or not was based on 37 samples, with all but one sample being incorrectly classified. The model for discrimination between samples that were non-compliant because of high levels of chicken skin was based on 18 samples (15 non-compliant) and provided 100% correct classification. The model for discrimination between samples that were non-compliant because of high levels of textured soy protein was based on 18 samples (15 non-compliant), and all but one sample were incorrectly classified. The model for quantification of chicken skin added to chicken burgers (in concentrations ranging from 5 to 59%) presented RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration) and RMSEP (Root Mean Square Error Prediction) values of 1.37202% e 3.06618%, respectively. The model for quantification of soy protein added to chicken burgers (in concentrations ranging from 4 to 53%) presented RMSEC and RMSEP values of 0.16254 % and 1.05653%, respectively. The generic model for quantification of adulteration of chicken burgers (gizzard, liver and heart, pure or mixed, in concentrations ranging from 4 to 47%) presented RMSEC and RMSEP values of 0.16254% and 1.05653%, respectively. The results herein obtained confirm the potential of mid-infrared spectroscopy for the development of a fast and reliable methodology for detection of adulteration or non-compliance in chicken burgers.

Keywords: chicken – adulteration, giblets, chicken skin, soy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura1- Representação de uma radiação eletromagnética com comprimento de onda λ e amplitude A..... 39
Figura 2- Estiramento de uma ligação química e a lei de Hooke (F=Kx) 41
Figura 3- Representação dos graus de liberdade translacionais (A), rotacionais(B) e vibracionais (C) da molécula de água..... 42
Figura 4 - Radiação passando de um meio mais denso (n_1) para um meio menos denso (n_2), mostrando os vários ângulos de incidência..... 44
Figura 5- Representação esquemática de uma reflexão total atenuada (RTA) em (A) uma célula com uma única reflexão e em (B) uma célula com reflexão interna múltipla..... 45
Figura 6- Espectros médios de peito de frango caipira e peito de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 76
Figura 7- Espectros médios de peito de frango caipira e peito de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 76
Figura 8- Espectros médios de moela de frango caipira e moela de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 78
Figura 9- Espectros médios de moela de frango caipira e moela frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 78
Figura 10- Espectros médios de fígado de frango caipira e fígado de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 80
Figura 11- Espectros médios de fígado de frango caipira e fígado de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 80
Figura12- Espectros médios de coração de frango caipira e coração de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 82
Figura13- Espectros médios de coração de frango caipira e coração frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 82
Figura14- Espectros médios de pele de frango caipira e pele de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 84
Figura15- Espectros médios de pele de frango caipira e pele de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 84
Figura16- Espectros médios de soja marca 1, soja marca 2 e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 86
Figura17- Espectros médios de soja marca 1, soja marca 2 e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}..... 86
Figura18- Espectros médios de hambúrguer padrão, fígado de frango de granja, 87

coração de frango de granja, moela de frango de granja, peito de frango de granja, pele de frango de granja e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.....
Figura19- Espectros médios de hambúrguer padrão, fígado de frango de granja, coração de frango de granja, moela de frango de granja, peito de frango de granja, pele de frango de granja e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 88
Figura20- Espectros médios de hambúrguer padrão, nos tempos T0 ao T16 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 90
Figura21- Espectros médios de hambúrguer padrão, nos tempos T0 ao T16 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 90
Figura22- Espectros médios de hambúrguer padrão, no tempo T0 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}..... 91
Figura 23- Scores de PC1 versus PC2 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média..... 93
Figura 24- Loading de PC1 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média..... 94
Figura 25- Loading de PC2 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média. 94
Figura 26- Scores de PC4 versus PC3 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada a Primeira..... 97
Figura 27- Loading de PC3 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada à primeira..... 98
Figura 28- Loading de PC4 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada à primeira..... 98
Figura 29- Scores de PC1 versus PC2 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e MSC..... 100
FIGURA 30- Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLSDA pele de frango, obtido dos espectros submetidos à MSC, centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 103
Figura 31- Gráfico de classificação das amostras conforme e não conforme de hambúrguer de frango em relação ao teor de pele, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 105
Figura 32- Coeficiente de regressão do modelo PLSDA pele, obtido dos dados de amostras conforme e não conforme submetidos à centralização na média e MSC, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 106
Figura 33-Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLSDA soja obtido dos espectros submetidos à MSC e a centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 108
Figura 34- Gráfico de classificação das amostras conforme e não conforme de hambúrguer de frango em relação ao teor de soja, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 110
Figura 35- Coeficiente de regressão do modelo PLSDA soja dos dados de hambúrguer conforme e não conforme, obtido dos dados submetidos a centralização na média e MSC, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 110
Figura 36- Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLSDA obtido dos espectros submetidos à MSC, 114

a centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.....
Figura 37- Gráfico de classificação das amostras adulteradas e não adulteradas de hambúrguer de frango, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 116
Figura 38- Coeficiente de regressão do modelo PLSDA adulterantes, obtido dos dados de hambúrguer adulterado e não adulterado, submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}..... 117
Figura 39-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS pele de frango, obtido dos dados submetidos ao cálculo do MSC seguido de centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 119
Figura 40- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS pele de frango, obtido dos dados submetidos ao MSC e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 120
Figura 41- Coeficiente de regressão do modelo PLS pele de frango obtido dos dados submetidos à MSC, e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 122
Figura 42-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS soja, obtido dos dados submetidos ao cálculo do MSC seguido de centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 124
Figura 43- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS soja, obtido dos dados submetidos ao MSC e à centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 125
Figura 44-Coeficiente de regressão do modelo PLS soja dos dados submetidos à MSC e centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 126
FIGURA 45-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS adulterantes, obtido dos dados submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC, e centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 129
Figura 46- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS de adulterantes, obtido dos dados submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 130
Figura 47– Gráfico do Levarage versus resíduo de Student dos dados de calibração, no intervalo de 4000-850 cm-1, submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC e centralização dos dados na média..... 131
Figura 48- Gráfico do Resíduo de Q versus Hotelling T2 dos dados de calibração e validação, no intervalo de 4000-850 cm-1, submetidos ao calculo da derivada a primeira, MSC e centralização dos dados na média**.....** 132
Figura 49- Coeficiente de regressão do modelo PLS adulterantes, obtido dos dados submetidos à Derivada a primeira, MSC e à centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}..... 133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Produção de frango no ano de 2013..... 21
Tabela 2- Maiores importadores de frango em 2013..... 22
Tabela 3- Estados exportadores de frango..... 22
Tabela 4- Regiões do espectro eletromagnético..... 40
Tabela 5- Formulação para o produto cárneo (hambúrguer)..... 56
Tabela 6- Análise de umidade, cinzas, proteína e lipídeo para frango (caipira e granja) (Valore expressos em porcentagem)..... 67
Tabela 7- Valores da literatura referentes à umidade, cinzas, proteína e lipídeo para frango. (Valore expressos em porcentagem)..... 68
Tabela 8- Análise de umidade, cinzas, proteína e lipídeo para soja (Valore expressos em porcentagem)..... 69
Tabela 9-Analise de cinzas, umidade, proteína e lipídeo para frango de granja (Valores expressos em porcentagem)..... 71
Tabela 10 - Hambúrguer padrão, (valores em porcentagem)..... 72
Tabelas 11- Características físico- químicas do hambúrguer, (MAPA, 2000)..... 72
Tabelas 12- Associação entre número de ondas e compostos..... 74
Tabela 13- Composição das amostras conformes e não conformes que compõem o modelo de pele de frango..... 102
Tabela14-Parâmetros de validação e calibração do PLS-DA pele..... 104
Tabela 15- Matriz de confusão para a classificação das amostras de hambúrguer conforme e de hambúrguer não conforme, referente à pele de frango..... 104
Tabela 16- Composição das amostras conformes e não conformes que compõem o modelo de soja..... 107
Tabela17- Valores de validação e calibração do PLS-DA para soja..... 109
Tabela 18- Matriz de confusão para a discriminação das amostras de hambúrguer conforme e não conforme, referente ao teor de soja..... 109
Tabela 19- Composição das amostras adulteradas (fígado ou moela ou coração ou mistura de 2 ou 3 adulterantes) e não adulteradas (hambúrguer em acordo com a legislação) que compõem o modelo de adulterantes..... 113
Tabela 20- Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS-DA para adulterantes 115
Tabela 21- Matriz de confusão para a discriminação das amostras de hambúrguer adulterados das amostras não adulteradas (hambúrguer puro)..... 115
Tabela 22- Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS-para pele de frango..... 120
Tabela 23- Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS pele (valores em porcentagem)..... 122
Tabela 24- Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS soja..... 125
Tabela 25- Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS soja (valores em porcentagem)..... 127
Tabela 26- Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS adulterantes..... 129

Tabela 27- Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS adulterantes..... 134

LISTA DE SIGLAS

ASAE:	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
ADL:	Análise Discriminante Linear
ATR ou RTA:	Reflectância total atenuada ou Attenuated Total Reflectance
ca:	Coração de frango de granja
ccp:	Coração de frango caipira
ERI:	Elemento de reflexão interna
fa:	Fígado de frango de granja
fcp:	Fígado de frango caipira
FTIR:	Espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier
HCA:	Análise de Agrupamentos Hierárquicos
HPLC:	Cromatografia liquida de alta eficiência
hT:	Hambúrguer de frango padrão
IAL:	Instituto Adolfo Lutz
Ibrac:	Indústria Brasileira de Condimentos e Aditivos
LDA:	Análise de discriminante Linear
MAPA:	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ma:	Moela de frango de granja
mcp:	Moela de frango caipira
MS:	Espectrometria de massa
PIQ:	Padrão de identidade e qualidade
PCA:	Analise de componentes Principais (Principal Component Analysis)
pc:	Peito de frango de granja
pcp:	Peito de frango caipira
plc:	Pele de frango de granja
plcp:	Pele de frango caipira
PLS:	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (Partial Least Square ou Mínimos Quadrados Parciais)
PLS-DA:	Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais- Análise Discriminante (Partial Least Squares - Discriminant Analysis ou DPLS)
sft:	Soja marca 3
sv:	Soja marca 2
sy:	Soja marca 1
UFMG:	Universidade Federal de Minas Gerais
UFV:	Universidade Federal de Viçosa
USP:	Universidade de São Paulo
Ubabef:	União Brasileira da Avicultura
RMSEC:	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração (Root Mean Square Error of Calibration)
RMSECV:	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada (Root Mean Square Error of Cross Validation)
RMSEP:	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação (Root Mean Square of Prediction)
CV:	Validação cruzada (Cross-validation)
VL:	Variáveis Latentes
MSC:	Correção Multiplicativa do Sinal (Multiplicative Signal Correction)

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO..... 17
2.REVISÃO BIBLIOGRAFICA..... 21
2.1.Frango..... 21
2.2.Mercado de Fast Food no Brasil e no Mundo 23
2.2.1. Definição, formulação e fluxograma de produção do hambúrguer..... 22
2.2.2.Propriedades tecnológicas dos componentes do Hambúrguer..... 25
2.2.2.1.Sal..... 25
2.2.2.2.Realçador e Especiarias..... 26
2.2.2.3 Estabilizante (Tripolifosfato de Sódio, Na5P3O10) 26
2.2.2.4. Antioxidante..... 27
2.2.2.5.Malto-dextrina..... 27
2.2.2.6. Aromas Naturais..... 28
2.2.2.7. Peito de frango..... 28
2.2.2.8. Soja..... 28
2.2.2.9. Pele de Frango..... 29
2.2.2.3 Água..... 29
2.3. Adulteração de produtos cárneos 29
2.3.1.Infravermelho..... 31
2.4. Análise centesimal 37
2.5. Espectroscopia no infravermelho..... 37
2.5.1 Espectro eletromagnético..... 38
2.5.2. Vibrações moleculares..... 40
2.5.3. Espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier 43
2.5.4. Reflectância total atenuada (ATR ou RTA)..... 44
2.6. Estatística Multivariada..... 45
2.6.1 Pré-processamento de dados..... 47
2.6.1.1. Centralização na Média (Mean Center)..... 47
2.6.1.2. Correção Multiplicativa do Sinal ou Multiplicative Signal Correction (MSC)..... 48
2.6.1.3. Derivada a primeira (Savitzky-Golay)..... 49
2.6.2. Processamento de Dados..... 49
2.6.2.1. Analise de componentes principais (PCA)..... 50
2.6.2.2. Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais..... 51
2.6.2.3. Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais-PLS..... 52
2.7. Detecção de outliers..... 53
3. MATERIAL E MÉTODOS..... 54
3.1. Obtenção e preparo da matéria-prima..... 54
3.1.1 Frango caipira..... 54
3.1.1.1 Processamento do Frango caipira 54
3.1.2. Frango de granja..... 54
3.1.2.1. Processamento do Frango de granja..... 55
3.1.3 Soja..... 55
3.1.3.1. Preparo da soja..... 55
3.2. Métodos..... 55
3.2.1. Desenvolvimento de formulação de hambúrguer de frango padrão..... 56
3.2.2. Desenvolvimento de formulação de hambúrgueres adulterados e não conformes..... 57

3.2.3. Análise por espectroscopia no Infravermelho..... 58
3.3. Analise bromatológica 59
3.3.1. Perda por dessecação (umidade)..... 59
3.3.2. Extrato etéreo 60
3.3.3. Proteína 60
3.3.4. Cinzas..... 61
3.4. Análise Estatística univariada dos resultados de bromatólogia..... 62
3.5. Analise por espectroscopia no infravermelho 62
3.6. Analise estatística multivariada dos resultados obtidos por espectroscopia..... 62
4. Resultados e Discussão..... 66
4.1 Análises bromatólogicas..... 66
4.2. Analise por espectroscopia no Infravermelho..... 73
4.2.1 Análise qualitativa das bandas..... 73
4.2.2. Atribuição das bandas 75
4.3. Análise quimiometrica..... 91
4.3.1. Análise dos componentes principais (PCA)..... 91
4.3.1.1. Tendência à separação entre as amostras de frango de granja e de frango caipira..... 92
4.3.1.2. Tendência a separação entre o hambúrguer padrão e os adulterantes 96
4.3.1.3. Avaliação da Perecibilidade do hambúrguer de frango..... 99
4.3.2. Análise discriminante (PLS-DA)..... 100
4.3.2.1 Modelo PLS-DA para pele de frango..... 101
4.3.2.2. Modelo PLS-DA para soja..... 112
4.3.2.3. Modelo PLS-DA para moela, fígado e coração de frango..... 112
4.3.3. Analise quantitativa por PLS..... 117
4.3.3.1 Modelo PLS para pele de frango 118
4.3.3.2. Modelo PLS para soja..... 123
4.3.3.3 Modelo PLS adulterantes (moela, fígado e coração de frango)..... 128
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES..... 135
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 136
ANEXO A-..... 144

1.INTRODUÇÃO

Na América durante a segunda metade do século XIX, foi trazido o hambúrguer pelos primeiros imigrantes alemães embarcados no porto de Hamburgo, dando origem ao primeiro nome do hambúrguer intitulado Hamburg Steak. Os primeiros a apreciarem o Hamburg Steak nos Estados Unidos da América foram os marinheiros que os consumiam durante o trabalho, e foi este país que popularizou o hambúrguer. Entretanto, o Hambúrguer foi criado durante os séculos XII e XIII, na Europa, enquanto ocorria a invasão dos mongóis. Em especifico, os tártaros, tribos nômades guerreiras que habitavam as estepes russas. Os tártaros foram responsáveis por inserir o costume de moer carnes duras e de má qualidade, tornando-as mais agradáveis à mastigação. Contudo, o que é fato é que foram os tártaros que trouxeram o hambúrguer até os ham-burgueses (imigrantes alemães embarcados no porto de Hamburgo). E estes adquiriram a fama de criadores (Super Interessante, 1988).

Quando o hambúrguer foi criado basicamente se utilizava como base a carne bovina. Contudo, hoje é possível encontrar hambúrguer produzido com carne de frango, peru, suína, peixes e dentre outras (Guerreiro, 2006). O hambúrguer de frango possui uma boa aceitação assim como o bovino e é um produto que pode ter um volume de produção alto já que o Brasil é o terceiro maior produtor avícola, sendo o frango o maior bem de produção (MAPA, 2013). Diante dessa diversidade de hambúrgueres, existe a legislação especifica para esses diferentes hambúrgueres, que garante o padrão de identidade e qualidade de cada um.

O Mapa (Ministerio de Agricultura e pecuária) e o Codex Alimentarios são os órgãos responsáveis por estabelecer os padrões de identidade e qualidade (PIQ) dos alimentos, os quais devem ser seguidos pelas indústrias. Contudo, a adulteração em produtos de origem animal é parte da realidade atual, como já relatado na literatura a detecção de carne de cavalo em lasanhas, hambúrgueres, canelones e almôndegas (Scherer, 2013; ASAE, 2013). Esse cenário fez com que algumas técnicas fossem desenvolvidas para identificação de adulteração em produtos cárneos, dentre elas podemos mencionar a identificação de cadeia de proteínas, peptídeos biomarcadores ou

sequência de DNA únicas em cada espécie animal (Oliveira, 2013). A identificação de proteínas (miosina, mioglobina e hemoglobina) pode ser feita por técnicas eletroforéticas (SDS-PAGE, CE), focalização isoelétrica (IF, 2DE) e cromatografia liquida de alta eficiência (HPLC). No entanto, todos esses métodos são custosos e requerem um tempo considerável para sua execução (Oliveira, 2013).

Estudos recentes têm demonstrado o potencial de métodos baseados em espectroscopia no infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR) para o estabelecimento de parâmetros de qualidade na análise de produtos alimentícios (Franca e Oliveira, 2011). As principais vantagens desta técnica, que tem incentivado sua utilização na análise de produtos alimentícios, são a rapidez da análise, além da adequação para a análise de amostras sólidas ou líquidas, sem em muitos casos, a necessidade de etapas de pré-tratamento (Barbosa, 2011).

Este método já foi utilizado em diversos estudos visando a identificação de fraudes e adulterações em produtos alimentícios. Como exemplos podem-se citar a adulteração em bolos por banha (Syahariza *et al.*, 2005); autenticação de cerveja e outras bebidas (Lachenmeier, 2007); adulteração de óleo de coco com oleína de palmiste e óleo de palma (Manaf *et al*, 2007; Rohman e Che Man, 2009); adulteração de azeite de oliva extra virgem (Lerma-Garcia *et al.,* 2010); adulteração de cafés torrados e moídos (Reis *et. al.*, 2013) e adulteração de manteiga com gordura de frango (Nurrulhidayah, 2013).

No caso específico de produtos cárneos, a técnica de FTIR foi utilizada para a diferenciação de filés de peixes (*Merlangius merlangus)* frescos e congelados (Karoui *et. al,* (2007); estudo da deterioração dos produtos derivados de carne moída sob a forma convencional de envase e embalagem ativas (Ammor *et al.*, 2009); avaliação qualitativa da deterioração de filetes de carnes (Argyri *et al.*, 2010); e avaliação qualitativa e quantitativa da deterioração de carne de porco moída (Papadopoulou *et. al.*, 2011). O trabalho de Meza-Márquez *et al.* (2010) demonstrou que FTIR é uma técnica viável para avaliação de adulteração de carne moída bovina com carne de cavalo, aparas de carne (gordura) e proteína de soja. Além de adulteração, a técnica demonstrou ser adequada para determinar simultaneamente composição da

carne moída (água proteína, gordura, cinzas e glicogênio) com limite de confiança de 99%.Rohman *et al*. (2011) objetivaram desenvolver uma técnica rápida e não destrutiva para a identificação e quantificação do adulterante carne de porco em almôndegas bovinas, por meio de FTIR. A partir da calibração por mínimos quadrados parciais (PLS) , os autores concluíram que o modelo construído com os espectros obtidos por reflectância total atenuada (ATR) pode ser usado para monitorar a adulteração em almôndega, e que o PLS pode ser utilizado para quantificar o nível de adulteração.

Tendo em vista o potencial do FTIR para avaliação de qualidade de produtos cárneos, já estabelecido na literatura, o presente trabalho pretende avaliar a técnica como método para detecção de adulteração e não conformidade em hambúrguer de frango, visto que não foram encontrados estudos de FTIR para este tipo de produto.

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar o potencial da técnica de FTIR no desenvolvimento de metodologia para detecção e quantificação de adulterantes em produtos a base de frango (hambúrguer de frango). Os adulterantes avaliados foram: coração, moela, e fígado de frango de granja. As não conformidades (teores acima do previsto pela legislação) foram avaliadas em relação à proteína de soja texturizada e pele de frango.

Os objetivos específicos do trabalho, que compõem as etapas principais para seu o desenvolvimento, foram:

1) Padronização da formulação do hambúrguer de frango, tomando como referência os parâmetros da formulação básica (Guerreiro, 2006).

2) Efetuação da caracterização do produto (análise bromatólogica) obtido após definição da formulação;

3) Desenvolvimento e otimização da metodologia de análise para hambúrguer de frango por FTIR- ATR (Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier – Reflectância Total Atenuada);

4) Utilização das técnicas de estatística multivariada (análise de componentes principais - PCA) para realizar uma analise exploratória entre frango de granja e frango caipira, entre adulterantes e hambúrguer

de frango, e entre os hambúrgueres padrão com diferentes tempos de estocagem (avaliação da perecibilidade do hambúrguer).

5) Desenvolvimento dos modelos classificatórios (PLS-DA) para amostras puras e adulteradas e amostras puras e não conformes.

6) Desenvolvimento de modelos preditivos (PLS) para efetuar a quantificação de adulterantes e componentes não conformes.

7) Verificação da eficiência da técnica e modelos por meio de análise de amostras intencionalmente adulteradas e não conformes.

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. Frango

O mercado avicultor no Brasil tem apresentado nas ultimas três décadas índice de crescimento. O principal bem de produção é o Frango, que conquistou os mercados mais exigentes. O Brasil se tornou o terceiro maior produtor mundial e o líder de exportação. Na atualidade a carne nacional chega a mais de 142 países (MAPA, 2013).

Na tabela 1, estão apresentados os dados referentes à produção de produtos a base de frango no ano de 2013.

Tabela 1- Produção de frango no ano de 2013

Produto de frango	Produção em toneladas no ano de 2013	Variação de produção (%) 2012-2013
Carne de frango	3,89 milhões	- 0,70
Corte de frango	2,07 milhões	-0,35
Frangos inteiros	1,48 milhões	+4,70
Carnes salgadas	178 mil	+0,90
Produtos industrializados	161mil	-10,8

(Rural Pecuária, 2014).

Na tabela 2, estão apresentados os dados referentes aos maiores exportadores de frango no ano de 2013.

Tabela 2- Maiores importadores de frango em 2013

Importador	Valor exportado no ano de 2013 (toneladas)	Variação de exportação (%) 2012-2013
Oriente Médio	1,45 milhões	+3,70
Ásia	1,11 milhões	-1,90
África	525 mil	-12,2
União Europeia	423 mil	-6,50
Países da América	281 mil	+29,8
Europa extra União Europeia	95 mil	-15,6
Oceania	2 mil	-16,2

(Rural Pecuária, 2014).

Na tabela 3, estão apresentados os dados referentes aos maiores estados exportadores de frango no ano de 2013.

Tabela 3- Estados exportadores de frango.

Estados exportadores	Exportação em 2013 (R$)
Paraná	1,14 milhão
Santa Catarina	937 mil
Rio Grande do Sul	711 mil
São Paulo	246 mil
Goiás	217 mil

(Rural Pecuária, 2014).

De acordo com Pecuária Rural (2014) a produção de frango em 2013 atingiu 12,308 milhões de toneladas, o que é um valor 2,6 % menor em relação ao mesmo período anterior. Considerando esse valor, o consumo médio por pessoa foi de 41,8 kg por habitante por ano. Em relação a matrizes de corte (produtora de pintinhos/frangos) houve uma queda de 0,9% no ano de 2013, obteve-se deste modo um total de 46,142 milhões de cabeça. Segundo a União Brasileira da Avicultura (Ubabef) a produção de frango para 2014 possui uma expectativa de crescimento de 3% a 4% na produção, com estimativa de 12,7

milhões de toneladas. Além disso, estima-se um avanço de mercado de 2% a 2,5% no volume embarcado (Rural Pecuária, 2014).

As pesquisas por varias décadas vêm selecionando os frangos de corte para que os mesmo obtenham um maior crescimento e aumento do peso corporal. Contudo, realizando esta seleção de espécies em pouco tempo não se terá mais respostas, pois há um limite para esse tipo de seleção chegando ao ponto de não se ter mais resultados. Contudo, parece não haver esse limite para os frangos broiler (espécie de frango domestico de penas brancas e pele amarelada, conhecido como frango de granja) o crescimento e o rendimento dos mesmos são contínuos. A grande vantagem do frango domesticado para os demais frangos (caipiras) é que o crescimento é preferencialmente de músculos e não de órgãos internos. A porcentagem de massa corpórea é alta, devido ao menor peso dos órgãos internos. Entretanto, isso promove uma grande desordem fisiológica (Deeb & Lamont, 2002). A região abdominal é uma das regiões principais de acumulo de gordura, é isso está diretamente relacionado com a gordura da carcaça (Michelan Filho, 1986 apud Gaya G. L., 2006).

A qualidade da carne de frango sofre variação em função de vários fatores como alimentação, linhagem, idade, sexo e o processamento de abate, desta forma influenciando na preferência do consumidor (Rodriguez, 2008). Mendes et. al. (2003) afirmam que os padrões de qualidade para a carne de peito de frango são pH, maciez, capacidade de retenção de água e características sensoriais. Além da genética e do sexo, a nutrição é um fator de rendimento e de qualidade para carne de peito de frango de corte, sendo o principal os ingredientes utilizados para a fabricação da ração e a quantidade de energia, proteína e aminoácidos utilizados na dieta do animal (Rodriguez, 2008).

2.2. Mercado de Fast Food no Brasil e no Mundo

De acordo com pesquisa realizada pela Mintel, foi previsto um crescimento de 47% das lojas de fast-food no Brasil. Gerando, estimativamente, 480 mil estabelecimentos de fast-food até o ano de 2018 com

faturamento de R$ 75 bilhões (IG, 2013). De acordo com a literatura, no mundo é registrado em média 47 milhões de atendimento a clientes por dia ou cerca de 17 bilhões por ano na rede de McDonald's *(Fast-Food: um estudo sobre globalização alimentar*, no mundo). Com obtenção de um faturamento de US$ 45 bilhões no ano de 2003 (IHU On-Line, 2010). Com base nas informações anteriores foi observado que o produto hambúrguer é um produto que está em acessão, demonstrando que a pesquisa cientifica voltada para esse produto tem uma importância não só cientifica como de mercado. Tendo em vista que as indústrias alimentícias produtoras de hambúrguer deverão atender a grande demanda desse setor. Dessa maneira, ocorrendo uma mobilização das indústrias em pró da produção de hambúrgueres. Haja visto, a relação comercial já estabelecida entre a JBS foods e o Mc'Donalds para fornecimento de hambúrguer bovino pela JBS (Canal Rural, 2015).

2.2.1. Definição, formulação e fluxograma de produção do hambúrguer

O hambúrguer de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e qualidade de Hambúrguer (anexo A) é o produto cárneo industrializado obtido da carne moída de animais do açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado. Em relação a formulação do hambúrguer de frango, a mesma é composta basicamente de carne de peito de frango, condimentos e conservantes, soja, pele de frango e água.

A seguir está apresentado o fluxograma de produção de uma formulação padrão de hambúrguer de frango:

Matéria prima (moída no processador e pesada)

↓

Mistura dos ingredientes (pesagens de condimentos)

↓

Re-estruturação (formas)

↓

Congelamento

↓

Estocagem

Para a formulação do hambúrguer sugerido nesse trabalho foram utilizados os componentes: condimentos e conservantes (Global p-hambúrguer / IBRAC); carne de peito de frango; soja; pele de frango e água. Cada componente adicionado à formulação possui uma função tecnológica para atingir um padrão de qualidade desejado. De acordo com o fabricante IBRAC o componente Global p-hambúrguer possui em sua formulação Sal: 67,5% + Malto-dextrina + Estabilizante (Tripolifosfato de Sódio + Antioxidante + Realçador (Glutamato Monossódico) + Especiarias + Aromas naturais.

O produto cárneo desenvolvido foi baseado na legislação do hambúrguer de frango. Entretanto, como o interesse foi realizar a analise no infravermelho optou-se por realizar um processamento mais fino da carne de frango utilizada, dessa maneira obteve-se uma maior homogeneidade da carne fazendo uso do liquidificado, ao invés do moedor convencional de carne. O interesse em obter uma maior homogeneidade da carne foi para avaliar a capacidade do infravermelho em diferenciar os adulterantes mesmo em um produto finamente processado e reduzir os efeitos físicos das partículas devido o tamanho (espalhamento multiplicativo).

2.2.2. Propriedades tecnológicas dos componentes do Hambúrguer

2.2.2.1 Sal

O sal não é considerado um aditivo químico, entretanto tem função tecnológica importantíssima. O sal reforça o sabor das demais especiarias, atua tanto na retirada de água como na redução do teor de água livre (Guerreiro, 2006). A presença de água livre dos alimentos favorece o crescimento de microrganismos (Jay, 2005). Além disso, o sal atua extraindo as proteínas solúveis da carne, o que as torna disponíveis como emulsificantes

(Guerreiro, 2006). Antigamente o sal era utilizado para preservação da carne. Hoje ele tem sido mais empregado como um componente para aprimorar o sabor dos produtos. Os ingredientes clássicos usados na cura são NaCl, nitrito ou nitrato, açúcar (sacarose ou glicose), sendo o NaCl o ingrediente mais importante (Jay, 2005).

2.2.2.2. Realçador e Especiarias

De acordo com a Portaria SVS/MS n°540 que trata dos aditivos, especiarias e realçadores são considerados aditivos (Anvisa, 1997). As especiarias e o realçador (glutamato monossódico) de forma geral são agentes coadjuvantes no efeito de cura, aprimorando o sabor e a cor (Jay, 2005).

2.2.2.3 Estabilizante (Tripolifosfato de Sódio, Na5P3O10)

De acordo com a Portaria SVS/MS n°540 realçadores de sabor e especiarias são aditivos químicos. Aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem intenção de nutrir com o objetivo de modificar características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenamento, transporte ou manipulação do alimento. Ao ser adicionado ao alimento pode ser que o aditivo ou seus derivados se tornem um componente do próprio alimento. De acordo com a Portaria SVS/MS n°540 que trata de aditivo, tripolifosfato de Sódio é considerados um aditivo (Aniva, 1997). O acido fosfórico e seus derivados são largamente utilizados na indústria de alimentos como agentes complexantes, antimicrobianos e estabilizantes de emulsão. Os fosfatos utilizados como complexantes incluem o tripolifosfato de Sódio, um dos quais são mais efetivos. Os fosfatos atuam formando complexos estáveis e solúveis com íons metálicos como ferro, cobre e níquel. Na indústria de carne o fosfato é utilizado para a retenção da cor e no controle de desenvolvimento de sabores estranhos (Araujo, 2008).

2.2.2.4. Antioxidante

As reações de oxidação de lipídeos são as mais comuns em alimentos. Essas reações são promovidas pelo oxigênio atmosférico e de forma menos frequente pelo ozônio, peroxido, metais e outros agentes oxidantes. Os lipídeos ocorrem em quase todos os tipos de alimentos, e a maioria deles (~90%) se encontram na forma de triacilgliceróis (Araujo, 2008).

Durante a oxidação de ácidos graxos insaturados os primeiros compostos formados são radicais livres e hidropéroxidos os quais são degradados e liberam novos radicais livres e promovem a continuidade do processo oxidativo do óleo e ou da gordura, além da ocorrência da formação de diferentes aldeídos voláteis (ranço) (Araujo, 2008).

Os antioxidantes são considerados aditivos alimentares de acordo com a Portaria SVS/MS n°540 (Anvisa, 1997). Eles atuam na inativação dos radicais livres (produzidos durante a oxidação, que promove a continuidade da reação), na complexação de íons metálicos ou reduzindo os hidroperóxidos para compostos que não serão capazes de formar radicais livres e produtos de decomposição rançosos (Araujo, 2008).

2.2.2.5.Malto-dextrina

A malto- dextrina é considerada um aditivo químico de acordo com a Portaria SVS/MS n°540 (Anvisa, 1997). As Dextrinas são compostos com estruturas químicas semelhantes ao amido, contudo com menor peso molecular. São obtidos com aquecimento do amido por períodos longos de tempo e temperaturas que podem ter variação de 80-220°C, em presença ou não de catalisador. A maltodextrina possui a propriedade de formar com a água géis ou soluções viscosas, tem função de agente espessante ou gelificante, estabilizantes de emulsão. As dextrinas possuem menor solubilidade em água, quando em solução aquosas produzem substâncias menos viscosas como produtos líquidos e pastas, quando comparada com o amido que lhe deu origem (Bobbio, 2003).

2.2.2.6. Aromas Naturais

De acordo com a Portaria SVS/MS n°540 (Avisa, 1997) aromas naturais são aditivos, os quais são definidos como substâncias ou mistura de substancias com propriedades aromáticas e ou sápidas (agradáveis ao paladar), com a capacidade de conferir ou acentuar o aroma e sabor dos alimentos.

2.2.2.7. Peito de frango

O peito de frango é fonte de proteína, e possui alto valor nutricional (Araujo, 2008). As proteínas são polímeros de alto peso molecular (acima 10000) que são formados por cadeias de aminoácido, sendo unidos por ligações peptídicas (Bobbio, 2003). As proteínas consideradas mais importantes são a proveniente do músculo, composta pela miosina e actina. Para uma pessoa adulta, aproximadamente 40% de seu peso consiste em musculo, que é constituído por aproximadamente 20% de proteína (Bobbio, 2003).

A miosina é uma globulina (são praticamente insolúveis em água, mas solúveis em soluções de sais neutros) de estrutura altamente simétrica. Esta é constituída por aminoácidos de grupos livres carregados positivamente e negativamente (Bobbio, 2003).

A actina é outra proteína do musculo que pode existir de duas formas, a G-actina proteína globular de peso molecular 60.000, e que ao adicionar sais neutros pode sofrer polimerização dando origem a F-actina, uma proteína fibrosa (segunda forma da actina) (Bobbio, 2003).

2.2.2.8. Soja

A proteína de soja texturizada é um subproduto dos grãos de soja, os quais foram submetidos a processo de trituramento, cozimento e secagem. A soja responsável por dar uma estrutura mais fibrosa e definida ao hambúrguer (Guerreiro, 2006).

2.2.2.9. Pele de Frango

A pele de frango tem alta concentração de lipídeo (tabela 1), sendo uma fonte de gordura na produção do hambúrguer de frango. Gorduras são utilizados com a finalidade de dar um paladar adequado ao produto (Guerreiro, 2006).

2.2.3 Água

A molécula de água é composta por dois átomos de hidrogênio e um átomo de oxigênio. O átomo de oxigênio por ser altamente eletronegativo atrai fortemente os elétrons associados ao hidrogênio. Isso acarreta carga parcialmente negativa para o oxigênio e parcialmente positiva para o hidrogênio. Acarretando formação de pontes de hidrogênio entre as moléculas de água. Além da água também formar pontes de hidrogênio entre as moléculas polares, como ácidos orgânicos, bases, proteínas e carboidratos. A interação desses constituintes e moléculas da água determina solubilidade, volatilidade e reatividade química de vários ingredientes do alimento (Araujo, 2008).

2.3. Adulteração de produtos cárneos

Os padrões de identidade e qualidade (PIQ) para alimentos são estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Codex Alimentarius, devendo ser seguidos e respeitados pelas empresas envolvidas com alimentos direta ou indiretamente. A qualidade dos produtos comercializados vem sendo questionada pelos consumidores, levando os órgãos de vigilância a ter maior rigor em relação à fraude e a qualidade especifica de cada produto. Recentemente têm ocorrido diversos escândalos relativos à fraude em produtos alimentícios, como leite e carnes, dentre outros (Scherer, 2013; ASAE, 2013). Tais incidentes têm colocado em questionamento os métodos de identificação de fraudes em produtos

alimentícios, sendo que já há algum tempo, questionada a real especificidade dos métodos de detecção de fraudes em produtos de origem alimentar (Oliveira, 2013). Foi divulgado pela mídia recentemente a detecção de carne de cavalo em lasanhas, hambúrgueres, canelones e almôndegas pela ASAE (Autoridade de Segurança Alimentar e Econômica, Portugal), levando à instauração de processos criminais a cinco empresas portuguesas (ASAE, 2013).

A instrução normativa n°20, de 31 de julho de 2000, (MAPA, 2000) normatiza os produtos de origem animal com o objetivo de garantir condições de igualdade entre os produtores e assegurar a transparência em relação à produção, processamento e comercialização. No artigo 1 da normativa n° 20 aprovam-se os regulamentos técnicos de identidade e qualidade para diferentes produtos cárneos como almôndega, apresuntado, fiambre, hambúrguer, kibe, presunto cozido e presunto.

Quando a carne sofre algum tratamento térmico as proteínas são alteradas dificultando a obtenção de resultados, devido à alteração da estrutura da proteína. Os peptídeos biomarcados são pequenas partes da proteína e são resistentes ao calor, e podem ser identificados por espectrometria de massa (MS), sendo mais sensível que as técnicas anteriormente citadas. Assim, se faz a recomendação de analise pelo DNA de cada espécie, sendo a mais recomendada a genotipagem (Oliveira, 2013). Entretanto, todos esses métodos são custosos e requerem um tempo considerável para sua execução. Como alternativa às analises de detecção de adulteração em produtos cárneos, acima mencionadas, se foi proposto à utilização do infravermelho médio para identificação e quantificação de adulterantes, no caso, em hambúrguer de frango. Os métodos baseados no FTIR são rápidos, confiáveis, simples de realizar e não requerem pré-tratamento da amostra. Esta técnica pode ser empregada na manipulação de alimentos (sólidos, líquidos e pastosos), com análise não destrutiva e tempo médio de análise reduzido.

2.3.1. Infravermelho

Al-Jowder *et. al*. (1999) utilizaram o infravermelho médio (FTIR-acessório ATR) para identificar adulteração na carne bovina por fígado e rim bovino e diferenciar 3 diferentes cortes de carne bovina (peito, pescoço, e Chã), foram preparadas amostras homogêneas variando de 10% a 90% m/m de fígado ou rim em um dos três cortes escolhidos de forma aleatória. Obtendo assim 82 misturas e 103 amostras puras (19 amostras de carne de peito, 21 amostras de carne de pescoço, 20 amostras de carne de chã, 21 amostra de rim e 22 amostra de fígado). Além disso, foi avaliado o efeito do congelamento e descongelamento sobre as amostras de carne, utilizando a PCA (*Principal Componentes Analysis*). No trabalho se fez uso do *Partial Least Square (PLS)/Canonical Variate Analysis (CVA) modeling* com dois objetivos discriminar os adulterantes da carne bovina e para discriminar os 3 tipos de corte bovino. E para quantificação dos adulterantes (fígado e rim) nas amostras adulteradas foi utilizado o PLS. Para as análises os fatores de maior importância na discriminação e quantificação das amostras, em relação à composição das amostras, foram: carboidrato, proteína, lipídeo e umidade. Foi efetiva a diferenciação entre adulterantes e a carne bovina. Contudo entre os 3 cortes bovinos não foi efetiva a separação. Em relação ao efeito da carne estar fresca ou congelada/descongelada não tem grande influência na análise.

Karoui *et. al. (*2007) utilizaram infravermelho médio (acessório ATR) para diferenciação de filés de peixes (*Merlangius merlangus)* frescos e congelados, sendo que os peixes frescos possuem maior valor agregado que os congelados. Dessa maneira, pode ocorrer adulteração. Foram utilizadas 24 amostras (12 amostras de peixe fresco e 12 amostras de peixe congelado). Para avaliar a discriminação entre as amostras foi utilizada a PCA, sendo feito cortes nos espectros de 3000-2800 cm^{-1}, 1700-1500 cm^{-1} e 1500-900 cm^{-1}. Para classificar as amostras em frescas ou não foi utilizado o FDA (*factorial discriminat analysis*) aplicado aos primeiros 5 PCs. Para a faixa de 1500-900 cm^{-1}, 75% das amostras de calibração e validação foram corretamente classificadas. Para a banda de 3000-2800 cm^{-1}, 100% e 87,5%, respectivamente, calibração e validação foram corretamente classificadas.

Para a faixa de 1700-1500 cm^{-1}, 75% e 37,5%, respectivamente calibração e validação, foram corretamente classificadas. Com as bandas de 3000-2800 cm^{-1} e 1500-900 cm^{-1} foi possível discriminar peixes frescos de congelados, mostrando a potencialidade do infravermelho. Entretanto, foram utilizadas poucas amostras tornando o modelo pouco robusto, sendo sugerido acrescentar mais amostras e de diferentes espécies de peixes ao modelo.

Ammor *et al.*(2009) fizeram uso do MID-FTIR(acessório ATR) para estudar a deterioração dos produtos derivados de carne moída sob a forma convencional de envase em embalagem ativas. Foi utilizado o experimento fatorial (3x4), a carne foi picada e armazena em 3 condições distintas(aeróbio, atmosfera modificada sem óleo essencial de orégano e atmosfera modificada com óleo essencial de orégano (embalagem ativa), essas amostras foram divididas em grupos e acondicionadas para 4 temperaturas de 0, 5, 10 e 15 °C até a deterioração. Foram utilizadas 186 amostras. Foram coletados 62 espectros de amostras em condição aeróbica, 62 de amostras em atmosfera modificas , 62 espectros de amostra com embalagem ativa e 2 espectros a 0 horas. Foi utilizado o PCA para verificar a tendência de separação das amostras, e foi obtida um boa tendência a separação entre as amostras. Para classificar as amostra foi utilizado o FDA (*factorial discriminat analysis*) aplicado aos primeiros 5 PCs , sendo que foi feito uma analise por FDA para classificar em fresca, semi-fresca e deteriorada as amostras obtendo 100% de classificação correta e para a validação cruzada 76.3%. A segunda análise por FDA foi feita para classificar as amostras de acordo com embalagem utilizada (ar, atmosfera modificada e embalagem ativa) 100% de classificação correta e para validação cruzada 92,5%. Foi utilizado o PLS para quantificar o total de células viáveis e o pH, e foram obtidos bons modelos de acordo com o R^2 e o RMSE (*root mean square erro*). O estudo mostrou a potencialidade do IFRA para as análises.

Argyri *et al.* (2010) utilizaram o MID-FTIR (acessório ATR) e a rede neural MLP (*multilayer perceptron neural network*) para realizar analise qualitativa da deterioração de filetes de carnes Bovina. As amostras fora avaliada em 0, 5, 10, 15 e 20°C por até 350 horas, e os espectros foram coletados diariamente. A partir da rede neural as amostras foram classificada em 3 classes fresca, semi-fresca e deteriorada. A partir da rede neural obteve-

se 22 de 24 amostras frescas classificadas corretamente (91,7%), 32 de 34 amostras deterioradas (94,1%), e 13 das 16 amostras semi-fresca (81,2%). Nenhuma amostra fresca foi classificada equivocadamente como amostras deterioradas e vice-versa. Os resultados demostraram boa correlação entre o numero de células viáveis na superfície das amostras com seu respectivo espectro de infravermelho, dessa maneira obteve-se uma classificação satisfatória das amostras.

Meza-Márquez *et al.* (2010) utilizaram o MID-FTIR(acessório ATR) para identificar e quantificar a adulteração das amostras de carne moída bovina, os adulterante usados foram: carne de cavalo, aparas de carne (gordura) e proteína de soja. Além de quantificar os teores de proteína, lipídeo, umidade, cinza, e glicogênio para as aparas, carne de carvalho e soja texturizada. As amostras analisadas no ATR foram: carne bovina magra, carne de cavalo, proteína texturizada, aparas de carne (gordura), e amostras adulteradas. Para cada grupo foram utilizadas 15 amostras, totalizando 60 amostras. Para quantificar cada um dos adulterantes na amostra, a %cinza, a %umidade, a %proteína, a %lipídeo, e % glicogênio (na carne de porco, nas aparas e na soja) foi utilizado o PLS, com o qual se obteve bons resultados para todos os parâmetros analisados. Os modelos PLS foram avaliados por meio dos parâmetros RMSEP, RMSEC e R^2. Para a classificação das amostras foi utilizado o SIMCA, o qual obteve 100% de acerto na classificação das amostras. O trabalho demonstrou que o FTIR é uma técnica viável para identificar e quantificar a adulteração de carne moída bovina com carne de cavalo, aparas de carne (gordura) e proteína de soja. Além disso, a técnica demonstrou ser adequada para determinar simultaneamente a composição da carne de cavalo, das aparas e da soja (água, proteína, gordura, cinzas e glicogênio) com limite de confiança de 99%.

Papadopoulou *et. al.* (2011) utilizaram o MID-FTIR para avaliar qualitativamente e quantitativamente a deterioração de carne de porco moída. Foram utilizadas 66 amostras para o conjunto calibração e 67 amostras para o conjunto validação (entre amostras fresca, semi-fresca e deterioradas). Foi aplicado o PLS-DA para classificar as amostras, foi obtido para o conjunto de calibração: 93% das amostras frescas foram classificadas corretamente, para as amostras semi-frescas 86.7% e para as amostras deterioradas 100%. Para

o conjunto validação: 86.7% das amostras frescas foram classificadas corretamente, para as amostras semi-frescas 87.5% e para as amostras deterioradas 88.9%. Para o PLS foi quantificado o número de células viáveis nas amostras (*Pseudomonas spp., B. Thermosphacta, e Lactic acid bactéria*), foi obtido 3 modelo de PLS para cada microrganismo. Os modelos PLS foram avaliados com base nos parâmetros RMSEC, RMSEP, R^2, bias e A_f (fator de acurácia). O trabalho concluiu que com o uso do FTIR foi obtido resultados favoráveis ao uso do mesmo como ferramenta para o monitoramento da qualidade da carne de porco, quantitativamente e qualitativamente.

De Marchi *et. al.*(2011) utilizaram o NIR para avaliar os parâmetros de qualidade da carcaça: pH, cor (L, a, b), perda de água pelo congelamento, perda de água por cozimento e força de cisalhamento (*shear force*) para amostras de carcaças de frango de granja. Os espectros foram coletados após 48 horas do posmortem. Como método de quantificação dos parâmetros de qualidade de carcaça de frango foi utilizado o PLS. Foram avaliados dois pré-processamento o MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) com derivada a primeira (*Savitzyk-Golay*) e o MSC com derivada a segunda (*Savitzyk-Golay*). E para avaliação desses se fez uso dos parâmetros (RMSECV, Rcv^2 e RPD (relação entre desvio padrão e o erro de validação cruzada)). A partir dos resultados obtidos foi indicada a potencialidade do NIR para avaliação da qualidade de carcaça de frango.

Samuel *et. al.* (2011) utilizaram o visível-NIRS para avaliar a capacidade de retenção de água (WHC), pH e cor (L) do peito de frango de granja (carne pálida, macia e exudativa, considerada de baixa qualidade). Os parâmetros foram medidos após 24 horas posmortem, 85 filetes de peito de frango foram avaliados. Foram utilizados dois pré-processamento o MSC (*Multiplicative Scatter Correction*) com derivada a primeira (*Savitzyk-Golay),* o MSC com derivada a segunda (*Savitzyk-Golay*), e centralização na média. E como método de validação cruzada foi utilizado o *leave-one-out*. Foi aplicado como processamento o PLS, analise quantitativa, e foi retirado os outliers, avaliados por *Leverage* versus Resíduo de *Student* com limite de +2 e -2, com 99% de confiança. O modelo PLS foi avaliado pelo RMSECV, RMSEC e R^2. A partir dos resultados obtidos foi indicada acurácia insuficiente para quantificar os 3 parâmetros. Contudo, o NIRS-visível utilizado para discriminação das amostras

obteve resultados positivos com acurácia acima de 90%. Dessa maneira, os resultados mostraram que o NIRS-visível tem potencial para classificar os filetes de peito de frango em grupos de alta ou baixa qualidade.

Riovato *et. al.* (2011) utilizaram o Infravermelho próximo (NIR) para predizer o perfil de ácidos graxos totais em peito de frango moído e quantificar. Utilizou 105 galinhas para a análise, as quais foram alimentadas e abatidas da mesma maneira. Como processamento foi utilizado o M-PLS (modified parial least square) para quantificar os teores de ácido graxo. Foi testado o SNV +D (*stantard normal variate and dedrending*) e o MSC para verificar qual pré-processamento iria gerar o melhor modelo. E para avaliação desses se fez uso dos parâmetros (RMSEC, RMSEP, RMSECV, Rc^2, Rcv^2 e RPD (relação entre desvio padrão e o erro de validação cruzada)). E os resultados de concentração foram previstos em porcentagem e em concentração absoluta, sendo que o segundo forneceu melhores resultados. O NIR foi efetivo na quantificação de ácido oleico, linoleico, palmítico e esteárico. Contudo, não foi efetivo para quantificar ácidos graxos poli-insaturados, pois a quantidade deste é muito pequena em peito de frango. O melhor pré-processamento foi o SNV+D que propiciou o modelo com melhores valore de predição.

Rohman *et al*. (2011) objetivaram desenvolver uma técnica rápida e não destrutiva para a identificação e quantificação do adulterante carne de porco em almôndegas bovinas, por meio de MID-FTIR. As amostras adulteradas foram preparadas com a adição de 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 e 25.0% de carne de porco na almondega bovina. Foi também preparada amostras com 100% de carne bovina e 100% de carne de porco, sendo que os espectros das amostras puras foram avaliados para verificar as diferenças entre os respectivos espectros. A partir dessa analise de ligações químicas foi possível diferenciar as amostras por meio das regiões de "*fingerprint*", associada a lipídeos. Foram feito cortes nessa região de diferenciação das amostras (1200-1000 cm^{-1}) e foi utilizado o processamento mínimos quadrados parciais (PLS), análise quantitativa. Foi possível obter uma boa curva de predição de lipídeo nas amostras. O modelo PLS foi avaliado pelos parâmetros: RMSEC, RMSEP, R^2. Os autores concluíram que o modelo construído com os espectros obtidos por reflectância total atenuada (ATR) pode ser usado para monitorar a adulteração

em almôndega, e que o PLS pode ser utilizado para quantificar o nível de adulteração.

Zamora-Rojas *et. al*. (2012) fizeram uso do infravermelho próximo (NIRS) para realizar um controle de qualidade da carne de porco, sendo utilizadas 235 amostras (30 para calibração e 205 para validação). Por meio do M-PLS (*modified parial least square*) foi quantificado o teor de umidade, lipídeo e proteína nas amostras em estudo. E foram testados 3 diferentes algoritmos de normalização (SDW, *spectral diferences by wavelength algorithm; DS, stardard deviation algorithm* e PDS, *piecewise direct standardization algorithm)*, com intenção de verificar qual desse 3 pré-processamento iria gerar o melhor modelo, sendo que foi utilizado para todos o pré-processamento SNV +D (*stantard normal variate and dedrending*). Para avaliação desses se fez uso dos parâmetros (RMSEC, RMSEP, RMSECV, Rcv^2, RPD (relação entre desvio padrão e o erro de validação cruzada)). O melhor pré-processamento foi obtido com o SDW. Obteve-se assim uma boa predição para os teores de umidade, lipídeo e proteína na carne de porco.

Alexandrakis, Downey e Scannel (2012) fizeram uso do NIR e FTIR (acessório ATR) para a detecção de deterioração de carne de peito de frango. Foram utilizadas 65 amostras e foram avaliadas durante 14 dias, sendo coletados os dados nos dias 0, 4, 8 e 14 dias. Como pré-processamento forma testado o MSC e o SNV, sendo o segundo mais favorável ao modelo. Foi realizada analises qualitativas como forma de identificação de deterioração, foi aplicada como método exploratório a PCA e como método de classificação a PLS2-DA, tendo como fator de maior influência na discriminação e classificação das amostras a detecção de proteólise por meio do NIR e FTIR. Os resultados obtidos favoreceram o uso do NIR e FTIR para verificação da qualidade de peito de frango.

Rahmania*et. al* (2014) utilizaram FTIR (espectroscopia no infravermelho médio) para quantificar adulterantes de almondegas de carne bovina com carne de rato, pois a diferença de preço entre as carnes é considerável na Indonésia. Como método exploratório foi usado a PCA e como método de quantificação o PLS. Para o PCA foi utilizado 3 amostras de carne de almondega de carne de rato (2 comerciais e um com 100% carne de rato) e 3 amostras de carne de almondega de carne bovina (2 comerciais e um com

100% carne bovina), obteve-se total discriminação entre as amostras com a PCA. Para o modelo PLS como amostras de calibração foram utilizadas as misturas de 0, 10, 20, 35, 50, 65, 80, e 100% (carne de rato em carne bovina). E para o grupo de validação utilizou-se amostras que não se sabia as proporções, mas que foram produzidas em laboratório, e foi extraído o lipídeo dessas amostras por metodologia em Soxhlet (a base de dados do modelo foi construída a partir do teor de lipídeo das amostras). O modelo da PLS foi avaliado com base nos parâmetros RMSEC, RMSEP e R^2. O trabalho foi bem sucedido em quantificar e discriminar as amostras.

2.4. Análise centesimal

A determinação da composição centesimal dos alimentos tem por objetivo quantificar os teores de umidade, cinza, proteínas, carboidratos, fibras, lipídeos, vitaminas e minerais. Na indústria de alimentos existem outros parâmetros de análise como atividade de água, cor e textura. (Park e Antonio, 2006).

As informações de uma tabela de composição de alimentos são importantes para alcançar a segurança alimentar e nutricional. A composição de alimentos são pilares básicos em se tratando de educação nutricional, o controle da qualidade dos alimentos e a avaliação da ingestão de nutrientes de indivíduos ou população (Taco, 2011).

2.5. Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho é aplicada em varias áreas, como estudo de polímeros, identificação de compostos inorgânicos e orgânicos, analise de misturas complexas como gasolina e poluentes atmosféricos, controle de qualidade de vários produtos, semicondutores, transporte de moléculas bioativas em tecidos vivos, e mecanismo de catálise entre outros (Barbosa, 2011).

O infravermelho está relacionado à energia correspondente a região do espectro eletromagnético que varia da faixa de numero de ondas de 14290 a 200 cm^{-1}. O infravermelho médio corresponde à faixa de 4000 a 400 cm^{-1} (Barbosa, 2011).

A radiação infravermelha foi confirmada por Sir Willian Hershel em 1800. Hershel fez uso de um prisma de vidro e um termômetro para realizar a medição do aquecimento provocado pela luz dentro e fora da região do espectro visível. No final do século XIX os estudos relativos a infravermelho ressurgem. Abney e Festing (1882) obtiveram o espectro de mais de 50 compostos e W.H. Julius realizou o estudou dos espectros de 20 compostos orgânicos. Ao iniciar o século XX mais de 100 compostos possuíam espectros (Barbosa, 2011).

Os equipamentos utilizados na obtenção dos espectros eram fabricados pelos próprios pesquisados. Contudo, hoje há sofisticados equipamentos os quais permite uma análise de apenas alguns minutos (Barbosa, 2011).

2.5.1 Espectro eletromagnético

Isaac Newton, em 1666, realizou um experimento clássico de separação da luz branca. Fez-se a projeção da luz branca sobre um prisma e ocorreu a decomposição da mesma, que visualmente origina um arco-íris. Esse arco-íris corresponde a uma pequena fração do espectro eletromagnético (Barbosa, 2011).

A natureza do espectro eletromagnético é descrito por duas teorias que sem complementam, que são a teoria de onda e a teoria corpuscular. A radiação eletromagnética é composta por um campo elétrico e um campo magnético, que são perpendiculares entre si (figura 1). A velocidade de propagação da radiação eletromagnética no vácuo é igual ao valor constante de $2{,}997925 \times 10^{8}$ m s^{-1}, conhecida como velocidade da luz (Barbosa, 2011).

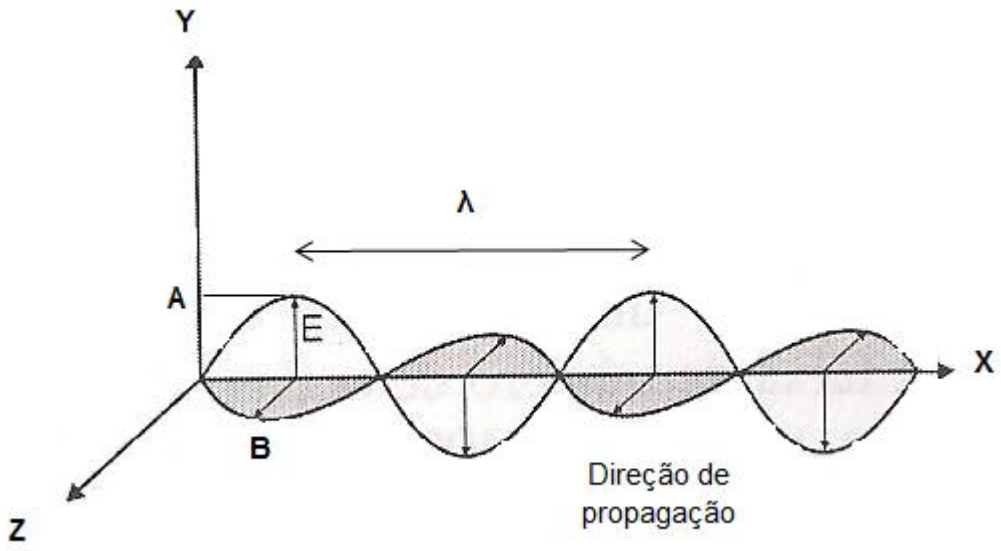

Figura1- Representação de uma radiação eletromagnética com comprimento de onda λ e amplitude A

Quando se fala em propagação de onda eletromagnético deve ser levado em consideração o meio no qual a onda se propaga. A mudança de meio de propagação da onda pode causar um fenômeno conhecido como refração. O índice de refração, em meio homogêneo é n, a velocidade da radiação é c/n. O índice de refração se define como a razão entre a velocidade de uma radiação eletromagnética no vácuo e a sua velocidade de propagação no meio. Portanto, $c=n\lambda\nu$, λ é o comprimento de onde, ν é sua frequência (Barbosa, 2011).

No vácuo:

$\nu = c/\lambda$ *Equação I*

Frequência é uma medida do numero de ciclos ou numero de ondas que passa em cada segundo por um ponto em observação.

No estudo de espectroscopia costuma-se definir a variável ν' que é o número de onda, proporcional à frequência, e também à energia, e dada pela equação II.

$\nu' = 1/\lambda$ *Equação II*

A teoria corpuscular, ou teoria quântica, define que a radiação eletromagnética são pacotes de energia, denominada fótons ou quanta. A

equação III define a energia associa a radiação eletromagnética (E), baseada em teorias de Bohr, Planck e Einstein.

$E = h\nu$, sendo h= constante de Planck ($6{,}6262 \times 10^{-34}$ J.s) *Equação III*

Combinando as equações I com IV, obtemos:

$E = h\, c/\lambda$ *Equação IV*

Dessa maneira, obtemos a definição da energia associada a um fóton da radiação de um determinado comprimento de onda (Barbosa, 2011).

Tabela 4- Regiões do espectro eletromagnético

Nome da região	**Limites aproximados de λ**	
	Metros	**Unidade usual**
Raio X	10^{-12} - 10^{-8}	10^{-2} – 10^{2} Å
Ultravioleta afastado	10^{-8} - 10^{-7}	10 – 200 nm
Ultravioleta próximo	2×10^{-7} - 2×10^{-7}	200 – 400nm
Visível	4×10^{-7} - $7{,}8 \times 10^{-7}$	400 – 780nm
Infravermelho próximo	$7{,}8 \times 10^{-6}$ - $2{,}5 \times 10^{-6}$	0,78 – 2,5µm ou 14.290 – 4000 cm-1
Infravermelho médio	$2{,}5 \times 10^{-6}$ - 5×10^{-5}	2,5 – 50µm ou 4000-200 cm^{-1}
Infravermelho distante	5×10^{-5} – 10^{-3}	50 – 1000µm
Microondas	10^{-3} – 1	0,1 a 100 cm
Ondas de rádio	1 – 10^{-3}	1 – 1000m

/

2.5.2. Vibrações moleculares

A radiação infravermelha provoca na molécula modificações no seu modo vibracional e rotacional. A radiação infravermelha com número de onda entre 1000 e 100 cm^{-1}, ao ser absorvida por um composto é transformada em energia vibracional e aquela com número de ondas menor que 100 cm^{-1} são transformados em energia rotacional. O espectro na região de 4000 a 400 cm^{-1}, dita como região mais importante para caracterização de compostos orgânicos, se apresenta como bandas de absorção e não linhas, porque para mudança de nível vibracional está associada a uma serie de transições rotacionais (Barbosa, 2011).

Levando em consideração o modelo clássico para moléculas onde se tem esferas (átomos) e unidos por uma mola (ligação química) vale para esse modelo a lei de Hooke (F=kx) (equação V). Esta lei estabelece que se uma mola tiver um estiramento de determinada quantidade x, existe uma força de restauração de mesma intensidade e sentido contrário e dois rotacionais

(nenhuma energia é observada ao longo do eixo da ligação A-B). Os átomos também podem se mover em relação uns aos outros, aumentando ou diminuindo o comprimento da ligação. Nesse caso, ocorre a compressão ou o estiramento da ligação, denominado de forma genérica de vibração ou estiramento (figura 2). Essa vibração corresponde a um grau vibracional da molécula (Barbosa, 2011).

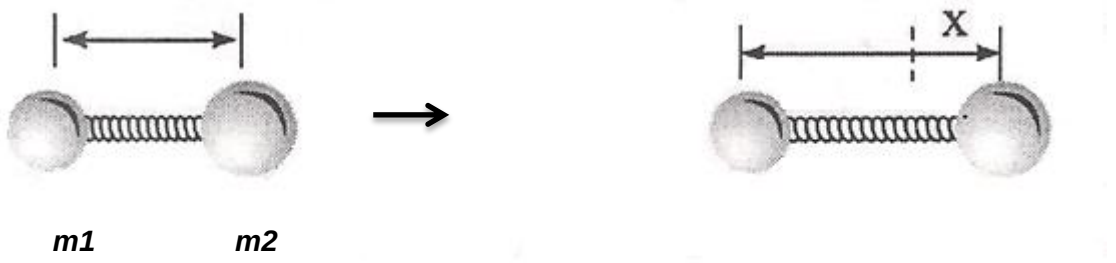

Figura 2-Estiramento de uma ligação química e a lei de Hooke (F=Kx)

A equação derivada da lei de Hooke (V) estabelece a relação entre as massas dos dois átomos, a constante de força da ligação e a frequência de oscilação (Barbosa, 2011).

$$V' = (1 / 2\sqrt{c})\{f / [(m1\ m2) / (m1 + m2)]\}1/2 \quad \textit{Equação (VI)}$$

V' = número de ondas (cm^{-1});

c= velocidade da luz ($cm\ s^{-1}$);

f=constante da força de ligação ($dina\ cm^{-1}$); e

m_1 e m_2 =massa dos átomos (g)

Como o processo de absorção de energia de um nível para outro é quantizado, ocorre em um determinado comprimento de onda, e é dada pela equação E= hv (III) (Barbosa, 2011).

A equação (VI) pode ser usada para calcular o valor aproximado do número de onda (ou a frequência) de absorção de uma ligação. Contudo, pode

ocorrer diferença entre os valores empíricos e teóricos devido à ressonância, eletronegatividade e hibridação (Barbosa, 2011).

De modo geral, quando consideramos átomos iguais, às ligações triplas absorvem mais energia que as duplas, e estas são mais energéticas que as ligações simples. Essa diferença ocorre devido a maior constante de força da ligação tríplice em relação à ligação dupla e desta em relação à ligação simples (Barbosa, 2011).

Como exemplo, na figura 3, podemos vê a molécula H_2O, que possui 3 graus de liberdade translacionais e 3 graus liberdades rotacionais (o número de grau de liberdade de moléculas poliatômica é dado por 3N, N é o numero de átomos). Para obter o grau de liberdade vibracional faz-se uso da seguinte relação: 3N - (n° de graus de liberdade translacionais + n° graus de liberdade rotacionais). Obtém-se 3x3-6 = 3, logo a molécula de H_2O tem 3 graus de liberdade vibracional (Barbosa, 2011).

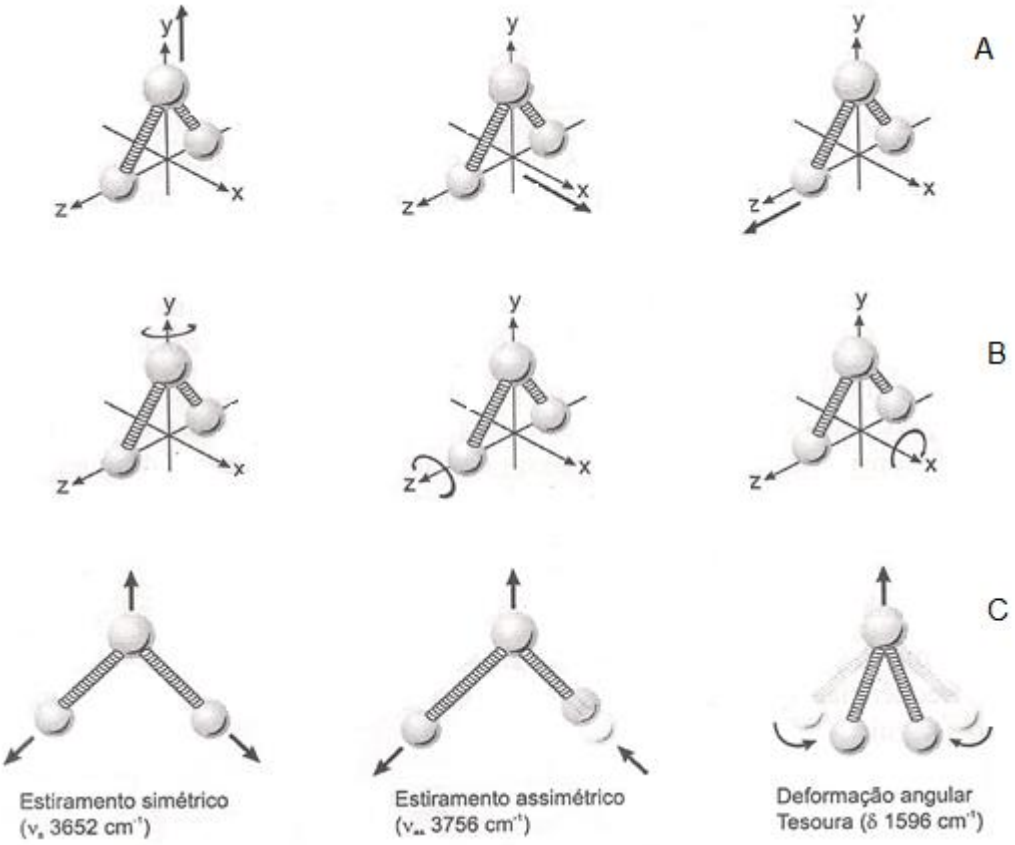

Figura 3- Representação dos graus de liberdade translacionais (A), rotacionais(B) e vibracionais (C) da molécula de água.

2.5.3. Espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier

Para a obtenção de um espectro se faz uso do espectrofotômetro no infravermelho. Um modelo de equipamento mais antiquado era denominado espectrofotômetro de dispersão, era formado por três partes, basicamente: uma fonte continua de radiação infravermelha, monocromador para a dispersão da radiação e um detector sensível à radiação infravermelha. Esse equipamento foi substituído pelo espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) devido as suas limitações. Contudo, ambos os equipamentos fornecem o mesmo espectro e se faz a mesma interpretação desses espectros (Barbosa, 2011).

O FTIR possui maior sensibilidade ou maior sinal/ruído. Diferente dos instrumentos de dispersão o FTIR trabalha com todos os comprimentos de onda durante a obtenção do espectro. A magnitude do sinal/ruído é dada por $VF= (v_1 – v_2 /\Delta v)^{1/2}$, sendo v_1 e v_2 os limites da região de irradiação e Δv a radiação. A magnitude do sinal/ruído é chamada de vantagem de Fellget, ou chamada de vantagem multiplex. Observando a equação, observa-se que a vantagem de Fellget cresce com o aumento da resolução e com a ampliação da faixa de varredura. A vantagem de Fellget somente ocorre com detectores termossensíveis como o detector de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) (Barbosa, 2011).

Como o infravermelho possui entrada de luz circular ao invés de fenda, como os equipamentos dispersivos, permite a entrada de maior quantidade de energia (vantagem de Jacquinot). Para espectros na região do infravermelho médio (4000 - 400 cm^{-1}) as vantagens de Jacquinot e Fellget são, respectivamente 20 e 40 (Barbosa, 2011).

Como vantagens gerais da analise por infravermelho pode citar: realização da analise em 5 minutos, utilizar uma quantidade muito pequena de amostra, além de ser uma analise não destrutiva (Franca, 2011). Utilizando quantidades menores de amostra há a possibilidade de obter espectros com melhor resolução, sendo a resolução influenciada também pela obtenção de vários espectros e a soma deles. Por se realizar várias varreduras da amostra,

ocorre a redução da relação do sinal/ruído o que melhora o espectro. Além disso, o equipamento que faz uso da transformada de Fourier confere precisão nas medidas do número de ondas (Barbosa, 2011).

2.5.4. Reflectância total atenuada (ATR ou RTA)

A reflectância total ocorre quando a onda eletromagnética passa de um meio com índice de refração n_1 para um segundo meio com índice de refração n_2. Contudo, a segunda condição para ocorrer a reflectância total é que a onda ao passar do meio 1 para o meio 2 tenha o seu raio formando um ângulo de 90° com a normal (ângulo critico) e o índice de refração n_2 seja maior que o índice de refração n_1, como podemos observa na figura 4 (Barbosa, 2011).

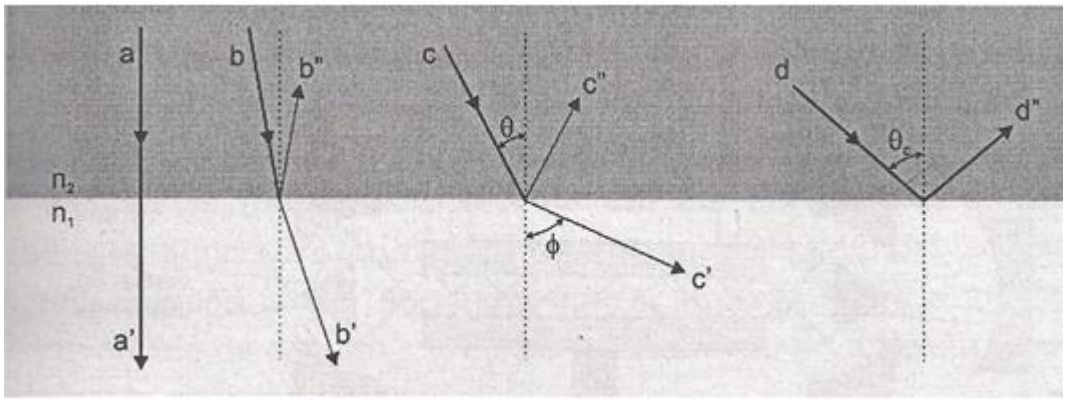

Figura 4- Radiação passando de um meio mais denso (n_1) para um meio menos denso (n_2), mostrando os vários ângulos de incidência.

Esse fenômeno físico é descrito pela lei de Snell: n_1 senθ =n_2 senϕ, ocorrendo reflexão total o ângulo critico é dado por θ_c =sen$^{-1}n_2/n_1$.

A técnica reflectância total atenuada (RTA), também conhecida pela sigla em inglês ATR (Attenuated Total Reflectance), é baseada no fato de que embora ocorra a reflectância total na interface dos dois meios o raio incidente quando toca o meio menos denso penetra neste (figura 5). Essa radiação ganha o nome de onda evanescente e pode ser parcialmente absorvida, colocando-se uma amostra em contato com o meio mais denso. O meio mais

denso é o prisma ou o elemento de reflexão interna (ERI). Os ERI mais utilizados são Ge, ZnSe, TI_2BrI(KSR-5) e CdTe (Barbosa, 2011).

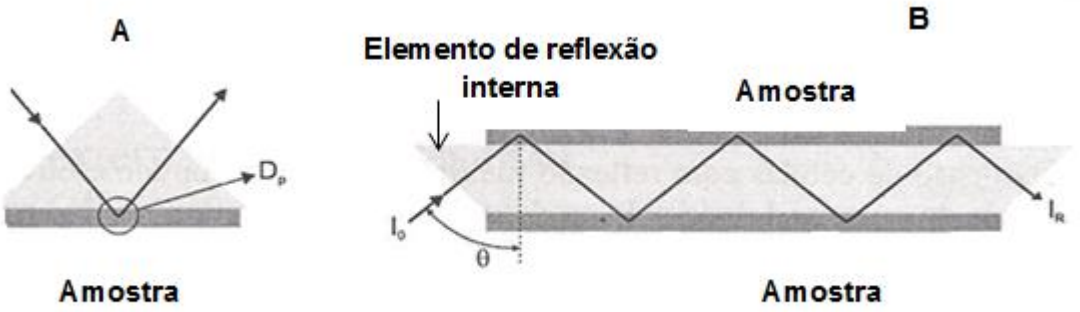

Figura 5- Representação esquemática de uma reflexão total atenuada (RTA) em (A) uma célula com uma única reflexão e em (B) uma célula com reflexão interna múltipla.

2.6. Estatística Multivariada

A Estatística Multivariada é baseada em um conjunto de métodos estatísticos em situações em que se mede simultaneamente varias variáveis para cada elemento amostral. Quanto maior for o número de variáveis mais complexa é a análise por estatística univariada, tornando a estatística multivariada mais interessante, quando se quer avaliar varias variáveis de uma mesma amostra. O avanço da tecnologia também permitiu a análise multivariada atingir diferentes campos, hoje há vários softwares estatísticos que prestam ao uso da estatística multivariada (Mingoti, 2007).

A estatística multivariada se divide em dois grupos. O primeiro grupo consiste na análise exploratória de sintetização ou simplificação da estrutura da variabilidade dos dados, na qual inclui a análise de componentes principais, análise de agrupamento, analise discriminante dentre outros. O segundo grupo refere-se à técnica de inferência estatística que são os métodos de estimação de parâmetros, teste de hipóteses, análise de variância, de covariância e de regressão multivariada (Mingoti, 2007).

A técnica de PCA tem por objetivo explicar a estrutura de variância e covariância de um vetor aleatório (vetor composto de p-variáveis aleatórias), realizando a construção de combinações lineares das variáveis originais. Quando se tem p variáveis envolvidas tem-se o objetivo de obter um valor inferior a p de componentes principais, sendo esse valor de componentes principais definidos de acordo com a variância explicada pelo componente (Mingoti, 2007).

O método de calibração multivariada mais usada em Química é o PLS. A calibração multivariada utiliza-se de muitas variáveis para quantificar propriedades que são de interesse. Contudo, tem por objetivo substituir a separação física pela separação quimiométrica do sinal analítico das amostras em analise. Deste modo, se faz a determinação simultânea direta, que consiste na determinação de varias propriedades a partir dos mesmos dados independentes (espectros). As amostras em estudo são representadas por matrizes de dados (Brereton, 2002).

Quando as amostras são conhecidas utiliza-se o método de reconhecimento de padrões supervisionados podendo utilizar os métodos de classificação supervisionada PLS-DA. Para o desenvolvimento e avaliação de um modelo de classificação supervisionada são exigidos dois conjuntos de dados. O primeiro conjunto de dados é composto das amostras representativas para a construção do modelo. O segundo conjunto é o de validação que são novas amostras que serão usadas para testar o modelo, que são as classes das amostras conhecidas ou totalmente desconhecidas. Além disso, o aspecto mais importante é que o conjunto de calibração e validação deve ser constituído de grupos de amostras diferentes. E as amostras de calibração devem estar distribuídas ao longo de todo o espaço amostral (Barkers e Rayens, 2003; Bereton, 2000).

O PLS-DA (Partial Least Squares - Discriminant Analysis ou DPLS) é uma variante do PLS, o mais conhecido modelo de calibração multivariada. No entanto, o modelo PLS-DA explica menos variação que o PLS quantitativo, pois o ajuste exato das variáveis dependentes (Y) não é exigido. O PLS modela simultaneamente as variáveis independentes (X) e as variáveis dependentes(Y). Deste modo, o PLS-DA tem como maior objetivo na descrição dos dados e a atribuição das classes (Barkers e Rayens, 2003; Bereton, 2000).

2.6.1 Pré-processamento de dados

As manipulações realizadas antes da construção dos modelos quimiometricos são consideradas como pré-processamento de dados (BEEBE et al., 1998). O pré-processamento tem a função de corrigir alterações causadas por temperatura e umidade, tipo de equipamento, manipulador, posição das amostras durante a leitura no equipamento e análises realizada em dias diferentes. Essas diferenças podem causar distinções entre os espectros de diferentes grupos amostrais dando uma resposta com algum equívoco, retardando a distinção dos espectros que são de diferentes grupos amostrais (KEMSLEY, 1995). Dessa maneira, para o sucesso das análises multivariadas é de fundamental importância o pré-processamento, porque elimina informação que não é relevante quimicamente e faz com que a matriz de dados seja mais bem condicionada para a realização da análise, possibilitando a análise exploratória do conjunto de dados de maneira eficiente (Rinnan et al., 2009).

2.6.1.1. Centralização na Média (Mean Center)

É sugerido utilizar o pré-processamento centrar na média para variáveis continuas (espectros). A aplicação da centralização na média é utilizada para eliminar variações sistemáticas dos dados que não se relacionam com as características das amostras (Otto, 2007). Centralizar dos dados na média é calcular a intensidade para cada comprimento de onda e subtrair cada uma das intensidades do valor médio. Desse modo, cada variável passa a ter média zero, move-se as coordenadas para o centro dos dados, facilitando a percepção das diferenças nas intensidades relativas das variáveis. Descrita abaixo em equação (Souza e Poppi, 2012).

X_{ij} (centrado na média) = X_{ij} (original) – X_{ij} (média) *Equação (VI)*

2.6.1.2. Correção Multiplicativa do Sinal ou Multiplicative Signal Correction (MSC)

O pré-processamento correção do espalhamento multiplicativo (MSC) é um método de transformação, ele realiza uma compensação dos efeitos multiplicativos e/ou aditivos nos dados espectrais. Dessa maneira, ele remove efeitos físicos nos espectros como tamanho da partícula, rugosidade e opacidade. Esses efeitos físicos não acrescentam informações químicas sobre as amostras e introduzem variações espectrais (deslocamento da linha de base). Quando se aplica o MSC assume-se que cada espectro é determinado pelas suas características químicas das amostras que lhe deram origem e as características físicas indesejadas (descrita anteriormente) (Souza e Poppi, 2012) (VRIJE, 2015).

Principio do funcionamento do MSC:

X_{ik} (transformado) = [X_{ik} (original) – a_i] / b_i *Equação (VII)*

Sendo que:

X_{ik} (transformado) e X_{ik} (original) são os valores de absorbância antes e depois da correção realizada pelo MSC (número de onda, cm^{-1}); a_i e b_i são constantes estimadas a partir de uma regressão em mínimos quadrados de espectro individual X_{ik} contra um espectro médio do conjunto de calibração em todos os comprimentos de onda ou em um subconjunto, segue a equação abaixo: (Souza e Poppi, 2012) (Vrije, 2015).

X_{ik}(original)= a_i + b_i X_{ik}(transformado)+ e_{ik} *Equação (VIII)*

O pré-processamento MSC é muito usado para corrigir o efeito multiplicativo, em que se faz uma regressão de cada espectro baseando-se em um espectro de referencia, o espectro médio do conjunto de calibração. No caso da calibração ocorrem dois efeitos quando aplicado o MSC: simplificação do modelo por redução de componentes e melhoramento da linearidade (Horonato*et al.,* 2007).

2.6.1.3. Primeira derivada (*Savitzky-Golay*)

O pré-processamento derivada a primeira é muito utilizado com o intuito de corrigir diferenças de linha de base em espectros provenientes do infravermelho médio e infravermelho próximo (De Lira, 2010). A derivada a primeira atua removendo deslocamentos constantes de linha de base, e possibilita visualizar de forma mais clara os picos originais (Pontes, 2009). Contudo, se faz necessária a utilização do filtro de suavização devido a redução da relação sinal/ruído, em espectros.

O filtro de suavização utilizado é o *Savitzky-Golay*que reduz de forma matemática os ruídos aleatórios de alta frequência objetivando o aumento da relação sinal ruído.

2.6.2. Processamento de Dados

O método PCA (análise de componentes principais) é aplicado como uma analise qualitativa exploratória, sendo enquadrado como uma análise não supervisionada. O método PLS-DA assim como a PCA é uma analise qualitativa, contudo é supervisionada, sendo um método de classificação (cada amostra vai pertencer a uma classe ou não). Já o método PLS é usado para quantificar uma substância de interesse (Brereton, 2007).

Para métodos supervisionados é preciso ter alguma informação inicial que descreve a identidade das amostras para a formação das classes. Dessa maneira, o modelo é desenvolvido baseando-se nas informações contidas nas amostras e conhecidas. Entretanto, nos modelos não supervisionados não é necessário fornecer informações iniciais sobre a natureza das amostras, sendo que a tendência à separação de classes acontece sem informações iniciais. O objetivo desse modelo é identificar agrupamentos naturais entre as amostras em estudo (Brereton, 2007).

2.6.2.1. Analise de componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) proporciona a redução da dimensionalidade dos dados usando à representação do conjunto de dados em um novo sistema de eixos, que são nomeados por componentes principais (PC), o que permite visualizar a natureza multiplicativa dos dados em poucas dimensões. O espaço original que contém as amostra é formado por n dimensões, sendo n o número de variáveis. A PCA promove a redução das dimensões das amostras, que passam a serem pontos localizados em um espaço de poucas dimensões, que é definido pelas PCs. De maneira matemática, a PCA é descrita por uma matriz X que é decomposta em um produto de duas matrizes, nomeadas por escores (T) e pesos (P), mais uma matriz de erros (E), como demonstrado na equação abaixo (Wold, 1987):

$$\mathrm{X} = \mathrm{TP}^{\mathrm{T}} + \mathrm{E} \qquad \textit{Equação (IX)}$$

Os escores são a representação das coordenadas das amostras no sistema de eixos formados pelos componentes principais. Os pesos são cada componente principal, sendo o peso constituído pela combinação linear das variáveis originais e os coeficientes da combinação. Matematicamente os pesos são cosseno dos ângulos entre as variáveis originais e os componentes principais (PC), demonstrado o quando cada variável contribui para uma determinada PC. A PC1 é um vetor traçado no sentido de maior variação do conjunto de dados; a PC2 é traçada ortogonalmente a primeira que objetiva descrever a maior porcentagem de variação que não foi explicada na PC1, dessa maneira em diante. Os pesos permitem compreender quais variáveis que mais contribuem para os agrupamentos observados no gráfico dos escores. Utilizando a analise dos escores e dos pesos é possível observar quais são as variáveis que são responsáveis pelas diferenças observadas entre as amostras. A escolha do número de componentes principais a ser usada na PCA é feita com base na porcentagem da variância explicada pelos PCs. (WOLD, 1987).

2.6.2.2. Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais

Na PLS-DA se utiliza os dados dos espectros para formar a matriz X e as características descritas (como pertencer ou não a uma classe) para construir a matriz Y, sendo que a classificação das amostras é feita por zeros ou uns (Otto, 2007).

A PLS-DA é uma variante do PLS, modelo mais utilizado de calibração multivariada. Para cada classe, o modelo é ajustado de acordo com a Equação abaixo:

$$\hat{Y} = T.q \qquad \textit{Equação (X)}$$

Sendo que:

T contém os escores PLS dos dados originais; q é um vetor de comprimento igual ao número de Variáveis Latentes e $\hat{Y}$ contêm a previsão/atribuição da classe.

O resultado do PLS-DA são obtidos pela regressão PLS, a partir do vetor original Y, o qual contém as *dummy variables* (variáveis fictícias). Para esse vetor atribui-se o valor 1 a um objeto quando ele pertence à classe e 0 quando não pertence. Um valor limite *(threshold)* é estabelecido para orientar as atribuições, de maneira que o valor limite vai limitar o arredondamento (normalmente utiliza-se o *threshold* 0,5) para 1 ou 0. O valor limite também pode ser calculado com base na estatística bayesiana (Barkers e Rayens, 2003; Bereton, 2000).

No método PLS modela-se simultaneamente os dados das variáveis independentes (X) e dependentes(Y). Desta maneira, o PLS-DA se compromete a manter a descrição dos dados e atribuições das classes, o que pode ser uma vantagem sobre os outros métodos classificatórios (Barkers e Rayens, 2003; Bereton, 2000).

2.6.2.3. Regressão dos Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

O método PLS atua na construção do modelo retirando informações do conjunto de dados da matriz espectral (X) e relacionando-as com as informações retiradas da matriz referência (Y). Realizando combinações lineares dos dados da matriz X com o conjunto de dados de referencia da matriz Y, se obtém o número de variáveis latentes que são necessárias para tornar possível a correlação entre os espectros e as concentrações (Vasconcelos, 2011).

Um aspecto que gera dúvida no método PLS é a escolha do número de variáveis latentes (VL) a serem incluídas no modelo em estudo foram adicionadas muitas variáveis latentes, o modelo se torna muito complexo, superestimando os resultados. Entretanto, se utilizar-se um número muito reduzido de variáveis latentes pode elevar a quantidade de ruídos e erros no modelo (Ferrarine, 2004).

Para esse trabalho foi escolhido o número de variáveis latentes (VL) com base no Menor Valor da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação Cruzada, RMSECV (*Root Mean Square Error of Cross Validation*), que foi obtido por meio da validação cruzada por *leave one out.*

A qualidade do modelo foi analisada a partir dos valores da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração, RMSEC (*Root Mean Square Error of Calibration*) e da Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Validação, RMSEP (*Root Mean Square Error of Prediction*). Em relação a esses parâmetros, quanto menor os valores, melhor será a capacidade de predição do modelo (Vasconcelos, 2011). Além destes parâmetros, também se faz uso dos coeficientes de correlação de calibração (Rc) e validação (Rv), entre os valores de referência e os valores previstos pelo modelo também foram usados para avaliar a capacidade de predição dos modelos gerados. Segue abaixo as equações XI e XII que descrevem matematicamente RMSEC e RMSEP, respectivamente.

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I_c}(y_i - \hat{y}_i)^2}{v}}$$ *Equação (XI)*

Sendo que: v é o número de amostras de calibração; e y_i e $\hat{y}_i$ são aos valores de referência e os previstos pelo modelo na calibração, respectivamente (Valderrama *et al.,* 2007).

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{I_v}(y_i - \hat{y}_i)^2}{I_v}}$$ *Equação (XII)*

Sendo que: v é o número de amostras de validação; e y_i e $\hat{y}_i$ são os valores de referência e aos previstos pelo modelo na validação, respectivamente (Valderrama *et al.,* 2007).

2.7. Detecção de outliers

Os *outliers* são amostras do conjunto de dados que têm um comportamento discrepante em relação às demais. A sua presença pode estar relacionada com erros instrumentais ou operacionais, ou até mesmo a presença de amostras pertencentes a outra população. No desenvolvimento dos modelos de calibração multivariada é crucial a detecção de *outliers*, sendo essa detecção realizada de maneiras diversas. Têm-se três maneiras que são mais comuns como a avaliação de valores extremos do *levarege*, altos valores de resíduos em X (dados espectrais) e em Y (concentração que será predita) (Valderrama et al., 2007; Silva et al. 2012).

Leverage é a distancia da amostra ao cento dos dados, esse valor demonstra a influência da amostra no modelo PLS. As amostras com altos *leverages*, acima do limite estabelecido, são consideradas *outliers.* A amostra considerada *outlier* por possui alto valor de resíduos em X, é encontrada realizando uma comparação do desvio padrão total (s(e)) dos dados não modelados, com o desvio padrão de cada amostra ($s(e_i)$). No caso da amostra apresentar ($s(e_i)$) > 2,5 (s(e)), esta amostra será removida do modelo. As amostras *outlier* com alto valor de resíduo em Y são reconhecidas comparando o valor de RMSEC com os erros de previsão. No caso da amostra possuir um

valor 3 vezes maior que o valor de RMSEC, essa é excluída do modelo (Silva et al. 2012).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção e preparo da matéria-prima

3.1.1 Frango caipira

Os frangos caipiras utilizados para a pesquisa foram obtidos no mercado central de Belo Horizonte, ainda vivos. O abate dos animais teve como base o fluxograma de produção, descrito em Gomide et. al.(2006), com algumas modificações.

3.1.1.1 Processamento do Frango caipira

As etapas do processamento do frango caipira foram: sangria, escaldagem, depenagem, evisceração, lavagem, resfriamento, embalagem e estocagem.

As partes do frango (fígado, moela, peito, pele, e coração) foram embaladas em plástico individualmente e congeladas a -18C° (de acordo com procedimento de embalagem e estocagem). O processamento após congelamento foi individual em liquidificador doméstico, com o intuito de obter massas homogêneas, sendo que o processamento de cada amostra foi realizado no dia das análises (centesimal e FTIR-ATR) para evitar ao máximo a aceleração da degradação do produto, e de forma individual foram feitas as análises centesimais e no infravermelho.

3.1.2. Frango de granja

Os frangos de granja e seus miúdos foram obtidos em supermercado local, prontos para o consumo, recebendo apenas processamento individual

em liquidificador, necessário para a homogeneização. Ossos provenientes do peito do frango foram descartados e a pele do frango foi reservada. As massas homogêneas (peito, fígado, coração, moela e pele) foram utilizadas para as análises centesimais, análises no FTIR-ATR e fabricação do hambúrguer de frango.

3.1.2.1. Processamento do Frango de granja

O peito, o fígado, o coração, a pele, e a moela do frango foram preparados para que nos dias de execução das analises fossem processados em liquidificador. O fígado, coração e moela foram comprados resfriados e congelados a -18°C. Do peito de frango foram retirados os ossos, e estes foram descartados e a pele foi reservada para ser utilizada na formulação assim como a carne do peito. Após o preparo do peito de frango, do fígado, do coração, da pele, e da moela do frango foram congelados, em embalagens individuais de plástico. No dia da análise foram processados em liquidificador doméstico de maneira individual, para preservar ao máximo a matéria prima (evitando a aceleração do processo de degradação). As partes do frango foram processadas até a obtenção de uma pasta homogênea, no momento das análises.

3.1.3 Soja

Três diferentes marcas de proteína de soja texturizada foram obtidas em mercado local de Belo Horizonte. As amostras foram encaminhadas para as análises físico-químicas. Entretanto, para a produção do hambúrguer de frango foi escolhida aleatoriamente uma das marcas de soja, tanto para a formulação básica como para os ensaios de conformidade.

3.1.3.1. Preparo da soja

As amostras de sojas encaminhadas para as análises centesimais foram utilizadas sem nenhum preparo. Para a produção do hambúrguer de frango a

soja utilizada foi reidratada na proporção de 1:1 (gramas de soja : gramas de água destilada).

3.2. Métodos

3.2.1. Desenvolvimento de formulação de hambúrguer de frango padrão

Foi desenvolvida a formulação para hambúrguer de frango, descrita abaixo com base na formulação descrita por Guerreiro (2006) para hambúrguer de frango. Entretanto, foram realizadas algumas modificações na formulação original.

Tabela 5- Formulação para o produto cárneo (hambúrguer)

Matéria-prima	Porcentagem
Carne de frango (peito)	69
Água destilada	18
PTS (proteína de soja texturizada) granulada (base seca)	4
Pele de frango	5
Tempero global para hambúrguer Ibrac (Indústria Brasileira de Condimentos e Aditivos).	4

A formulação padrão proposta segue a Instrução normativa n°20 de 31 de julho de 2000 DOU 20/11/2001 que dispõem sobre os padrões de identidade e qualidade do hambúrguer (MAPA, 2000) (Anexo A).

A carne foi processada em um liquidificador domestico e misturada manualmente aos demais ingredientes. A proteína de soja foi reidratada antes de ser misturada aos demais componentes.

3.2.2. Desenvolvimento de formulação de hambúrgueres adulterados e não conformes

Foram avaliados neste trabalho hambúrgueres não conformes e adulterados. O termo não conforme é utilizado para componentes da formulação do hambúrguer que pode ser utilizado, mas encontra-se fora das quantidades permitidas. O termo adulteração é relativo a presença de determinado componente não permitido na formulação do hambúrguer de frango, de acordo com a legislação (Anexo A). Os hambúrgueres não conformes avaliados foram os que continham teores acima do permitido para soja e acima do estabelecido, no trabalho, para pele. De acordo com a legislação o teor permitido é de no máximo 4% (MAPA, 2000) e para pele foi estabelecido não conforme acima de 5%. Os hambúrgueres adulterados avaliados continham concentrações de coração, moela ou fígado ou a mistura desses miúdos.

As amostras pele, coração, moela, e fígado, separadamente, foram processados no liquidificador doméstico após ser limpo e seco de forma cuidadosa depois de cada processamento. A proteína de soja texturizada (PST) foi reidratada na proporção de 1:1 (gramas de soja: gramas de água). A pele de frango foi processada em liquidificador domestico, separadamente.

Para produzir os hambúrgueres adulterados, cada adulterante (coração, moela, fígado e mistura de dois ou mais adulterantes) foi adicionado à formulação (foram produzidas 37 formulações distintas) e misturados manualmente para obter um produto bem homogeneizado. As porcentagens de adulteração acrescidas foram crescentes e variaram de 2% a 47%, com a redução da porcentagem de peito de frango no hambúrguer.

Para produzir os hambúrgueres fora da conformidade para soja, foi realizada a reidratação da PST e acrescida ao hambúrguer no teor de 4% a 53%, com a redução da porcentagem do peito de frango no hambúrguer. A soja foi misturada manualmente ao restante dos componentes do hambúrguer padrão até total homogeneização.

Para produzir os hambúrgueres fora da conformidade para pele, foi processada a pele e acrescida ao hambúrguer no teor de 5% a 59%, com a redução da porcentagem do peito de frango. A pele foi misturada manualmente

ao restante dos componentes do hambúrguer padrão até total homogeneização.

3.2.3. Análise por espectroscopia no Infravermelho

As análises por espectroscopia no infravermelho foram realizadas no equipamento IRAffinity^{-1} (Shimadzu, Japão), com um detector DLATGS (Deuterated Triglycine Sulfate Doped with L-Alanine), que abrange a faixa de 4000-400 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}, 20 scans e apodização Happ-Genzel utilizada antes da transformação de Fourier. As análises foram realizadas em atmosfera seca e à temperatura de 20 ± 0,5ºC. As leituras foram efetuadas em quintuplicata, em modo de reflectância total atenuada (ATR) utilizando os acessórios ATR-8200HA e o ATR-MIRACLE(ZnSe), com célula de ZnSe.

As medições das amostras de frango de granja (peito, coração pele, fígado, moela); de frango caipira (peito, coração, pele, fígado e moela); de soja e de hambúrguer padrão foram analisados por Reflectância Total Atenuada (ATR) no acessório de ATR (MIRACLE, ZnSe). Esse acessório comporta aproximadamente 32 mg de amostra. Os espectros obtidos foram utilizados na PCA, analise exploratória não supervisionada. Em sua totalidade foram analisadas 12 amostras (peito, moela, fígado, coração e pele de frango de granja; peito, moela, fígado, coração e pele de frango caipira; hambúrguer padrão e soja), e foram feitas 5 leituras de cada amostra, totalizado 60 espectros. As leituras foram efetuadas na faixa de 4000-700 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}, 20 scans e apodização Happ-Genzel

As medições dos hambúrgueres adulterados e fora do padrão da legislação vigente foram analisadas por Reflectância Total Atenuada (ATR) no acessório de ATR (ATR 8200MA), que comporta aproximadamente 2,0 gramas de amostra. Tendo em vista a utilização de amostras, com teores de fraude variados optou-se por utilizar um acessório que permitisse trabalhar com maiores massas para obter-se uma quantidade mais representatividade das amostras. Os espectros obtidos com o acessório ATR 8200MA foram utilizados para o método PLS-DA e PLS. Em sua totalidade foram analisadas 73 amostras, foram feitas 5 leituras de cada amostra, totalizado 365 espectros.

Essas 73 amostras pertencem a modelos distintos (foram usadas 18 amostras, não conforme para o teor de pele de frango, para o modelo quantitativo e qualitativo de pele de frango; foram usadas 18 amostras, não conformes para o teor de soja, no modelo quantitativo e qualitativo de soja; e foram usadas 37 amostras, adulteradas com coração ou moela ou fígado ou mistura de 2 ou 3 miúdos, para o modelo quantitativo e qualitativo de adulterantes). As leituras foram efetuadas na faixa de 4000-700 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1}, 20 scans e apodização Happ-Genzel.

Antes de realizar cada leitura, foi feito a aquisição de um espectro de referência ("Background"), que foi obtido com o acessório de ATR vazio, dessa maneira sendo levado em consideração apenas o efeito da atmosfera durante a análise. Após obter o espectro de referência foi disposta a amostra no acessório e submetida à prensagem (prensa própria do acessório), em seguida foi realizada a leitura. Esse procedimento foi repetido para todas as amostras em estudo.

3.3. Análise bromatológica

Para a caracterização das amostras em estudo foram utilizadas as metodologias do Instituto Adolfo Lutz para determinar o teor de umidade e cinzas (IAL, 2008). Para quantificação do teor de proteínas e lipídeos foram utilizadas as metodologias do Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA, 2000).

3.3.1. Perda por dessecação (umidade)

As amostras foram aquecidas em estufa a 105°C. Foram pesados 3 g da amostra em cápsulas de porcelana, previamente taradas e secas. Após 5 horas continuas de secagem as amostras eram retiradas de 1 em 1 hora , resfriada em dessecador e pesadas. O procedimento foi repetido até que as amostras atingissem peso constante. O teor de umidade foi avaliado com base na diferença de peso inicial e final da amostra. A análise foi realizada em triplicata. O teor de umidade foi obtido pela expressão:

$$U\left(\%\frac{m}{m}\right) = \frac{100\,.N}{P} \quad \textit{Equação (XIII)}$$

N = gramas de umidade (perda de massa em g)
P = gramas da amostra

3.3.2. Extrato etéreo

Uma porção de 5 g de cada amostra foi seca em estufa a 105° C. O extrato etéreo foi obtido por extração em Soxhlet modificado por Randall, com éter etílico por 40 minutos de extração direta e gotejamento de 20 minutos. Após procedimento de extração o resíduo extraído foi levado à estufa a 105°C, e foi mantido por cerca de 1 hora e depois resfriado em dessecador em temperatura ambiente. Foi efetuada a pesagem da amostra e o procedimento de aquecimento/resfriamento foi repetido até que se alcançasse um peso constante da amostra.

$$EE\left(\%\frac{m}{m}\right) = \frac{100\,.N}{P} \quad \textit{Equação (XIV)}$$

N = gramas de lipídios
P = gramas da amostra

3.3.3. Proteína

A quantificação de proteína foi determinada pelo método de Micro Kjeldahl, o qual se baseia na determinação de nitrogênio total. Foi promovida a digestão total de 0,5 g da amostra com ácido sulfúrico, obtendo uma solução azul-esverdeada sem pontos pretos. Foi realizada a neutralização com NaOH 50% (em excesso) da amostra digerida. Em seguida, foi realizada a destilação, com o aquecimento na qual ocorre a liberação de amônia que foi recolhida com acido bórico 4% v/v, com formação do borato de amônia. Foi realizada a titulação do borato de amônio com ácido clorídrico 0,1N. A quantificação do

teor de nitrogênio foi realizada pelo volume de ácido clorídrico gasto na titulação e pelo peso da amostra.

$$\%\ nitrogênio\ total = \frac{V.N.f.0{,}014.100}{P}$$ *Equação (XV)*

$$\%protídeos = nitrogênio\ total\ .F$$ *Equação (XVI)*

V= mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N
N= normalidade teórica da solução de acido clorídrico 0,1 N
f= fator de correção da solução de acido clorídrico 0,1 N
p= massa da amostra em gramas
F= fator de correção da relação nitrogênio/proteína, de acordo com o produto

3.3.4. Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por método gravimétrico que tem como base a perda de massa da amostra por incineração, o resíduo obtido é denominado cinzas ou resíduo mineral. Previamente foi realizada a secagem de cápsulas de porcelana por 1 hora a 105 °C e resfriadas em dessecador e seus pesos foram aferidos. Foram pesados 3 gramas da amostra e desidratadas por 8 horas a 105°C em estufa, em seguida foram resfriadas em dessecador e pesadas. Já desidratadas as amostras foram levadas para a incineração. As amostras foram incineradas em escala de temperatura de 100°C, 200°C, 300°C, 400°C e 550°C e permaneceram na mufla a 550°C até a obtenção de cinzas brancas ou ligeiramente acinzentadas com peso constante, então foram resfriadas em dessecador. Com base no peso da amostra e no peso das cinzas foi realizado o calculo de % de cinzas. As analises foram realizadas em triplicata. O teor de cinzas foi obtido pela expressão:

$$Cinzas\ \left(\%\frac{m}{m}\right) = \frac{100.N}{P} \quad \textit{Equação(XVII)}$$

N = g de cinzas

P = g da amostra

3.4. Análise Estatística univariada dos resultados de bromatologia

O estudo dos resultados das analises físico-químicas para as amostras de soja foram realizados pelo quadro ANOVA e o teste de tukey, com intervalo de confiança de 95%. Para as amostras de frango caipira e granja foram aplicados o teste F seguido do Teste t, com intervalo de confiança de 95%. O teste de tukey se baseia na comparação da diferença entre as médias obtidas em cada grupo amostral. O teste T se baseia na comparação entre duas médias.

3.5. Análise por espectroscopia no infravermelho

Os espectros médios de absorbância foram submetidos à correção atmosférica e corte na região de 3200-850 cm^{-1}. Os espectros médios do hambúrguer e adulterantes foram inicialmente analisados de forma qualitativa, relacionando picos e bandas com possíveis constituintes das amostras. Os mesmos foram posteriormente submetidos à pré-tratamentos matemáticos, tais como centralização de média, correção de efeito multiplicativo (MSC), e derivadas 1ª, visando diminuir o efeito de ruído e otimizar a separação entre as classes de amostras pelos métodos estatísticos.

3.6. Análise estatística multivariada dos resultados obtidos por espectroscopia

Foram aplicados as amostra, como pré-processamentos de acordo com a necessidade: centralização dos dados na média, correção do efeito multiplicativo do sinal (MSC) e derivada à primeira. Entretanto, para todos os

processamentos (PCA, PLS e PLS-DA) foi aplicando o pré-processamento centralização na média e correção atmosférica. No caso do PLS e PLS-DA também foi aplicada para a variável y a centralização na média.

Para o processamento dos dados gerados pelas amostras fígado, coração, moela, peito, soja e hambúrguer padrão (amostras analisadas puras e individualmente) foram utilizados a PCA que é uma análise qualitativa exploratória, não supervisionada.

Para as amostras dos hambúrgueres adulterados com fígado, coração e moela. E para os hambúrgueres com excesso de componentes (pele e soja) foi utilizado o processamento PLS-DA (analise qualitativa) e o PLS (analise quantitativa), que são métodos supervisionados. O PLS-DA foi utilizado para classificar como adulterado ou não o hambúrguer, ou hambúrguer conforme e não conforme (para pele e soja). O processamento PLS foi utilizado para criar um modelo quantitativo que informa a quantidade de adulteração no hambúrguer ou a quantidade em excesso de componentes (pele e soja) no hambúrguer.

Para a PCA, as amostras (coração, soja, fígado, moela, peito, pele, e hambúrguer padrão) foram analisadas individualmente no acessório ATR-MIRACLE, ZnSe, sendo que para cada amostra fez-se 5 leituras de uma mesma amostra, gerando dessa forma 5 espectros de uma mesma amostra. Ao total foram gerados 145 espectros para as analises de PCA, assim distribuído 60 espectros para verificação a tendência à separação do frango de granja e do frango caipira; 20 espectros para análise exploratória entre hambúrguer padrão e adulterante (coração, moela e fígado) e 65 espectros do hambúrguer padrão gerados para o estudo de perecibilidade nos tempos T0, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, e T13. O tempo T0 corresponde ao hambúrguer no momento exato de fabricação. As demais amostras correspondem a acréscimos de 15 dias em relação à amostra anterior. Totalizando 195 dias de congelamento para a amostra T13.

A análise de PLS-DA foi aplicada para três grupos distintos de amostras, todas obtidas no acessório ATR 8200MA. O primeiro grupo foi composto por amostras com teor de soja permitido pela legislação e amostra com teor de soja acima do permitido pela legislação. Esse modelo foi composto por 18 amostras, sendo 3 que seguem os padrões da legislação e 15 que não

seguem. Foram efetuadas no acessório 5 leituras de cada amostra, gerando 90 espectros no total. Contudo, foi utilizada a média dessas 5 leituras, gerando um espectro médio de cada amostra. Dessa maneira, foram obtido18 espectros médios para o modelo PLS-DA soja com 18 amostras.

O segundo grupo possui o mesmo número de amostras não conforme e conforme que o primeiro, o procedimento para obtenção dos espectros foi o mesmo gerando o mesmo número de espectros para o modelo PLS-DA pele de frango. Para esse estudo foi considerada a pele de frango como não conformidade, pois não existe uma informação especifica sobre seu uso na legislação para hambúrguer.

O terceiro modelo foi composto por 37 amostras no total. As amostras adulteradas foram adicionadas por fígado ou coração ou moela ou a mistura de 2 ou 3 adulterantes. Sendo que 34 amostras foram adulteradas e 3 não foram adulteradas. O modelo PLS-DA visou classificar as amostras como adulteradas ou não. Foram efetuadas 5 leituras de cada amostra, gerando 185 espectros no total. Contudo, foi utilizada a média dessas 5 leituras, gerando um espectro médio de cada amostra. Dessa maneira, foram obtidos 37 espectros médios que compõem o modelo PLS-DA adulterante, com 37 amostras.

Na PLS-DA os dados foram divididos em dois conjuntos: treinamento, usados para construir o modelo; e teste, usados para valida-lo. As amostras do grupo calibração não estão no grupo de validação. Foi feita essa seleção de maneira que a amostra de maior e menor concentração necessariamente pertencesse ao conjunto calibração e entre as amostras de valores intermediárias foram selecionadas algumas para compor o conjunto calibração e outras para compor o conjunto validação. Além disso, teve-se o cuidado de manter 2/3 dos dados para treinamento e 1/3 dos dados para o conjunto teste. O mesmo foi feito para a PLS.

As amostras em estudo foram separadas em três grupos e cada grupo representa um modelo do PLS. Essa separação foi realizada porque a legislação vigente não define uso da pele (resíduo), mas na definição de hambúrguer diz que é permitido o uso de tecido adiposo e define o uso de gordura animal ou vegetal de até 23%. Para a soja existe a limitação do uso no hambúrguer, na quantidade máxima de 4%. Para a pele foi estabelecido o limite máximo 5%, pois foi priorizada uma formulação de hambúrguer de alta

qualidade e benéfico para saúde do consumidor. Para coração, moela e fígado a legislação não prevê a adição no hambúrguer, sendo visto como adulterantes.

O primeiro grupo se trata de amostras com diferentes teores de pele de frango que foram quantificadas pelo modelo PLS pele. O objetivo foi obter o teor de pele em cada amostra, tanto das amostras conforme (teor de pele permitido, de acordo com o estabelecido para esse trabalho), quanto das amostras não conformes (teor de pele não permitido, de acordo com o estabelecido para esse trabalho), as amostras utilizadas para a construção do modelo foram as mesmas descritas para o PLS-DA.

O segundo grupo se trata de amostras com diferentes teores de soja que foram quantificadas pelo modelo PLS soja. O modelo de PLS soja teve como objetivo quantificar cada amostra pertencente ao grupo das amostras com diferentes teores de soja, amostras conforme (teor de soja permitido pela legislação) e amostras não conforme (teor de soja não permitido pela legislação), as amostras utilizadas para a construção desse modelo foram as mesmas descritas para o PLS-DA.

Já o terceiro modelo para PLS foi construído para quantificar os diferentes graus de adulteração das amostras, que podem conter coração ou moela ou fígado ou mistura de 2 ou 3 miúdos. Contudo, para esse modelo foi utilizado um total de 29 amostras (29 espectros médios) retiradas do grupo de amostras do PLS-DA adulterante.

Para avaliação da qualidade dos modelos PLS gerados, a análise foi feita em duas etapas. A primeira etapa foi realizada testando diferentes pré-processamentos dos dados. Na segunda etapa já definido o melhor pré-processamento, foram feitos testes em relação à faixa espectral, (espectro sem cortes, e com corte na faixa de 4000-850 cm^{-1}), e foi utilizado o melhor para potencializar a qualidade do modelo com base na análise de variáveis latentes (VL) e dos parâmetros descritos anteriormente (RMESEC, RMSEP, Rc^2 e Rv^2).

Em seguida foi analisada a necessidade de retirar amostras anômalas do modelo com base nos gráficos de *Leverage* versus *Resíduo de Student e* T^2 *de Hotteling versus resíduo Q*. Sendo que a realização de remoção de *outlier* foi feita, após definição do melhor modelo para o grupo de amostras em estudo.

Para execução desses pré-processamentos de dados foram utilizados os softwares MATLAB versão 7.13 (The MathWorks, Natick, Massachusetts, EUA) e PLS Toolbox (Eigenvector Technologies, Manson, Washington).

4. Resultados e Discussão

4.1 Análises bromatólogicas

As análises centesimais (cinza, proteína, lipídeo, e umidade) foram realizadas para as partes dos frangos (caipira e granja), para as sojas texturizadas, e para o hambúrguer padrão. Estes resultados estão apresentados nas Tabelas 6, 8, 9 e 10.

Na tabela 6, a seguir, foram expostos os resultados obtidos pela analise de umidade, cinza, proteína e lipídeo para as amostras de peito de frango de granja e peito de frango caipira; moela de frango de granja e moela de frango caipira; fígado de frango de granja e fígado de frango caipira, coração de frango de granja e coração de frango caipira; e pele de frango de granja e pele de frango caipira. Os resultados estatísticos foram obtidos pelo teste F seguido do teste T.

Tabela6-Análise de umidade, cinzas, proteína e lipídeo para frango (caipira e granja) (Valore expressos em porcentagem).

Amostra	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídeo
Peito/granja	73,20±0,30[a]	0,97±0,02[a]	18,00±0,17[a]	1,32±0,01[a]
Peito/caipira	72,09±0,34[a]	1,06±0,05[a]	21,36±0,42[b]	0,33±0,02[b]
Moela/granja	82,86±0,26[a]	0,63± 0,07[a]	11,31±0,42[a]	0,90±0,05[a]
Moela/caipira	79,27±1,15[b]	0,87±0,01[b]	14,19±0,12[b]	1,83±0,02[b]
Fígado/granja	76,90±0,21[a]	1,09±0,02[a]	12,14±0,70[a]	1,69±0,23[a]
Fígado/caipira	77,65±0,53[a]	0,99±0,02[a]	12,45±0,18[a]	1,28±0,14[a]
Coração/granja	72,08±1,50[a]	0,72±0,01[a]	9,27±0,30[a]	14,6±0,31[a]
Coração/caipira	75,86±0,66[a]	0,89±0,02[b]	13,4±1,38[b]	5,39±0,69[b]
Pele/granja	40,99±0,69[a]	0,37± 0,02[a]	17,06±1,10[a]	40,14±2,72[a]
Pele/caipira	62,36±0,18[b]	0,45± 0,01[b]	16,25±0,86[b]	20,7±0,92[b]

*Valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra na mesma coluna, para amostras de frango, não diferem significativamente de acordo com o teste F seguido de teste T ($p<0,05$).

Com a análise estatística, tabela 6, observou-se que em relação ao teor de umidade não há diferença estatística entre as amostras de acordo com a origem (granja e caipira), exceto entre a pele de frango de granja e pele de frango caipira, e também há diferença estatística entre a moela do frango caipira e a moela do frango de granja em relação ao teor de umidade.

Em relação ao teor de cinzas há diferença estatística entre as amostras de moela, entre as amostras de coração e entre amostras de pele, devido a origem das amostras (granja/caipira). Entre as amostras fígado e entre as amostras de peito não houve diferença estatística de acordo com a origem.

Em relação ao teor de proteína e lipídeo há diferença estatística entre as amostras de origens distintas, exceto para fígado de frango de granja e fígado

de frango caipira que não há diferença estatística em relação ao teor de proteína e lipídeo.

Na tabela 7, a seguir, são apresentados os dados encontrados na literatura para as amostras em estudo (coração, moela, fígado, pele e peito). A literatura não especifica a origem (caipira ou granja) das amostras. No entanto, ocorrem variações nos valores porque os frangos mesmo tendo uma mesma origem têm variações em relação à alimentação e outros fatores (Ordonez, 2005).

Tabela 7- Valores da literatura referentes à umidade, cinzas, proteína e lipídeo para frango. (Valore expressos em porcentagem).

Amostra	Referencia	Cinza	Umidade	Proteína	Lipídeo
Peito	Torres (2000)	1,10	73,81	20,8	1,84
Peito	IBGE (1999)	-	-	22,2	3,3
Moela	Torres (2000)	-	79,5±0,20	-	-
Moela	Pereira (2002)	0,66±0,04	-	20,19±3,03	0,56±0,07
Fígado	Torres (2000)	1,21	73,81	15,05	4,77
Fígado	Pereira (2002)	1,29±0,02	75,38±0,04	14,49±0,16	2,09± 0,15
Fígado	IBGE (1999)	1,1	76,5	19,9	3,8
Coração	Pereira (2002)	0,65±0,08	70,49±0,82	10,38±2,10	16,98 0,19
Coração	IBGE (1999)	1,1	76,5	17,8	4,4
Pele	IBGE (1999)	0,5%	66,3	16,1	17,1

Na tabela 8 são expostos os resultados das analises lipídeo, proteína, umidade e cinza para amostras de sojas e os resultados das analises estatísticas, obtidas pelo teste de Tukey.

Tabela 8- Análise de umidade, cinzas, proteína e lipídeo para soja (Valore expressos em porcentagem).

Amostra	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídeo
Soja marca 1	6,47±0,08[a]	6,74±0,04[c]	45,99±0,13[a]	0,39±0,04[a]
Soja marca 2	6,37±0,03[a]	6,35±0,01[b]	46,68±0,39[a]	0,34±0,01[a]
Soja marca 3	4,12±0,07[b]	7,10±0,07[a]	49,21±1,59[a]	0,28±0,01[a]

*Valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra na mesma coluna, para um determinado tipo de amostra, não diferem significativamente de acordo com o teste de Tuckey ($p<0,05$).

Não foram encontrados dados na literatura referentes ao teor de umidade para soja texturizada. A analise estatística dos teores de umidade das amostras de soja analisadas identificaram que as amostras de soja marca 3 e soja marca 1 são estatisticamente iguais. Enquanto a soja marca 2 possui teor de umidade estatisticamente diferente da soja marca 3 e soja marca 1.

Em relação a soja texturizada não foi encontrado na literatura referente ao teor de lipídeo para esse produto. Contudo, a soja texturizada é subproduto da extração de óleo de soja, nessa circunstância espera-se um valor muito baixo para o teor de lipídeo (Araújo, 2008). Observa-se que o teor de lipídeo encontrado para as marcas 1, 2 e 3 de fato foram muito baixos, os teores respectivamente são 0,39%, 0,34% e 0,28%. Foi observado que estatisticamente as amostras de marca 1, marca 2 e marca 3 são iguais entre elas.

Para a marca 1 de soja obteve-se o teor de proteína de 45,99% , para a soja de marca 2 obteve-se o valor de 46,68% e para a soja de marca 3 foi obtido o teor de 49,21%. De acordo com Araújo (2008), para farinha de soja desengordurada que é um produto anterior a soja texturizada esperava-se um valor de aproximadamente 50% de proteína, sendo um valor próximo ao encontrado para as três marcas de soja texturizada. No entanto, não foi encontrado valores na literatura para o teor de proteína para soja texturizada. Observa-se que as amostras de soja foram estatisticamente iguais em relação ao teor de proteína. Não foram encontrados na literatura dados relativos a teor de cinzas em soja texturizada. De acordo com as analises estatísticas, as

amostras das sojas avaliadas possuíram média de teor de cinzas estatisticamente diferentes entre elas.

Existem fatores intrínsecos diversos que influenciam na composição da carne de determina espécie, como variações de raça, idade e sexo. Como exemplo, animais que sofrem menor seleção genética possuem maior teor de gordura. Em relação aos fatores intrínsecos, o que mais interferem na composição da carne é a alimentação (Ordóñez, 2005). Assim como, para a soja texturizada para qual ocorre variação em relação à composição centesimal devido às condições de cultivo da arvore que deu origem ao grão, e também existe a variação em relação ao processamento (Araújo, 2008). De acordo com a literatura, concluímos que podem ocorrer diferenças nas composições centesimais mesmo quando se trata da mesma espécie e raça, porque existem vários fatores que alteram a composição.

Na tabela 9 são apresentados os dados referentes à composição centesimal das amostras de frango de granja. Objetivou-se realizar uma comparação estatística entre os teores (proteína, lipídeo umidade e cinza) de cada amostra em estudo, para conhecer melhor essas amostras provenientes de frango de granja.

Tabela 9-Analise de cinzas, umidade, proteína e lipídeo para frango de granja (Valores expressos em porcentagem).

Amostra	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídeo
Peito	73,20±0,30[a]	0,97±0,02[ab]	18,00±0,17[a]	1,32±0,01[a]
Moela	82,86± 0,26[b]	0,63±0,07[ab]	11,31±0,42[c]	0,90±0,05[a]
Fígado	76,90±0,21[c]	1,09±0,02[a]	12,14±0,70[d]	1,69±0,23[a]
Coração	72,08±1,50[d]	0,72±0,01[ab]	9,27±0,30[e]	14,6±0,31[b]
Pele	40,99±0,69[e]	0,37± 0,02[b]	17,06±1,10[a]	40,14±2,72[c]

***valores médios ± desvio padrão. Valores seguidos da mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente de acordo com o teste de Tukey ($p<0,05$).

Considerando a umidade, observou-se que as médias do teor de umidade para o peito, moela, fígado, coração e pele de frango de granja foram estatisticamente diferentes entre si. Em relação ao teor de cinzas, para a pele, o coração, a moela e o peito as médias foram estatisticamente iguais. Para o teor de cinzas o fígado, o coração, a moela e o peito as médias foram estatisticamente iguais. Dessa maneira, para o teor de cinzas do fígado e da pele as suas médias foram estatisticamente diferentes. Tratando-se do teor de proteína observou-se que as medias da moela, do fígado e do coração foram estatisticamente diferentes entre si. As medias das amostras peito e pele foram estatisticamente iguais. Considerando o teor de lipídeo observou-se que o peito, a moela e o fígado possuíram médias de teor de lipídeo estatisticamente iguais. Entretanto, as amostras de coração e pele foram estatisticamente diferentes ente si e relação ao conjunto de amostras.

Na tabela 10, a seguir, estão expostos os dados de composição centesimal (proteína, lipídeo, cinza e umidade), que foram obtidos para o hambúrguer de frango. Com os dados dessa analise, objetivou-se realizar um comparativo com as características físico-químicas sugeridas conforme apresentado na legislação (MAPA, 2000), (tabela 11).

Tabela10-Hambúrguer padrão (valores em porcentagem).

Umidade	29,8 ± 1,26
Cinza	3,89 ± 0,06
Proteína	41,9± 0,43
Lipídeo	0,21± 0,00

*valores médios ± desvio padrão

A tabela 11, a seguir, estão os teores de gordura, proteína, carboidrato (total) e teor de cálcio para hambúrguer de acordo com o Mapa (2000).

Tabelas 11- Características físico- químicas do hambúrguer, (MAPA, 2000).

Gordura (máx.)	23%
Proteína (min.)	15%
Carboidratos totais	3%
Teor de cálcio (máx. base seca); hambúrguer cru	0,1%

Na tabela 10, foi definida a composição centesimal do hambúrguer padrão desenvolvido. O regulamento técnico de identidade e qualidade do hambúrguer (MAPA, 2000) não definiu o teor de cinzas e a umidade do hambúrguer de frango (tabela 11), e não foi encontrado na literatura a umidade e o teor de cinza médio para hambúrguer de frango com adição de soja.

Foi observado que o teor de gordura do hambúrguer padrão, o qual foi formulado, foi muito inferior ao estabelecido pelo MAPA. Já que se obteve 0,21% de gordura para o hambúrguer padrão de frango e o MAPA sugeriu um valor máximo de 23%, dessa maneira o resultado está de acordo com a legislação.

Obteve-se para o teor de proteína no hambúrguer padrão produzido 41,95%, sendo um valor maior que o valor mínimo sugerido pelo MAPA (2000), o qual corresponde a 15%.

O hambúrguer produzido para este estudo se utilizou de componentes nobres não visando redução de custos, e se teve a intenção de produzir um produto dentro das ideologias de produtos que fazem bem a saúde. Quando se comparou o hambúrguer em estudo com o hambúrguer comercial (adquirido no supermercado) o teor de lipídeo, proteína e o tempo de validade foram

discrepantes. Para o hambúrguer de frango comercial obteve-se 17,5% de lipídeo, 15% de proteína e durabilidade de 4 meses. Contudo, para o hambúrguer em estudo obteve-se 0,21% de lipídeo, 41,95% de proteína e pelo menos 6,5 meses de durabilidade. Segundo, Gaya (2006), a rancificação dos lipídeos é a maior responsável pela perecibilidade de produtos cárneos processados, dessa maneira o hambúrguer produzido para o estudo é benéfico para a saúde do consumidor e possui uma durabilidade maior devido ao seu baixo teor de lipídeo.

4.2. Analise por espectroscopia no Infravermelho

4.2.1 Análise qualitativa das bandas

Como sugerido por Barbosa (2011), quando existe o conhecimento do composto que se deseja analisar e apenas se quer a confirmação de sua identidade, se faz a interpretação do espectro que é baseada na observação de algumas bandas do espectro que são características e que confirmariam a presença de específicos grupos funcionais e ausência de outros.

Barbosa (2011) aconselha usar como base de estudos os trabalhos publicados e analisar banda por banda observando a posição e as intensidades relativas delas. No caso, das bandas de absorção do material base e do material em estudo serem iguais, isso significa que se trata do mesmo composto. Não se faz necessário identificar todo o espectro em estudo, mas sim identificar a ausência e a presença de determinados grupos funcionais. Faz-se uso de tabelas ou quadros de correlação, os quais apresentam valores de absorbância para diversos tipos de ligações. Desta maneira é possível fazer a identificação dos grupos funcionais.

Foi realizada uma compilação dos valores de absorbância para determinadas ligações, de acordo com o interesse deste estudo, descrito na tabela 12, e utilizado como referência em todos os estudos de bandas neste trabalho.

Tabelas 12- Associação entre número de ondas e compostos

Número de onda (cm^{-1})	Ligações	Referência
3700-3300	Associado com OH proveniente da H2O	Barbosa (2011)
3033, 2984, 2941, e 2909	Estiramento de CH de moléculas de lipídeos ésteres	Barbosa (2011)
1465	Sobreposição de CH2 e CH3 de lipídeos (ésteres)	Barbosa (2011)
Em torno de 1740	Estiramento C=O, corresponde à amidaI	Meza-Marquez (2010) Al-Jowder (1997)
Em torno de 1650	Estiramento de C=O, correspondente à amidaI	Meza-Marquez (2010)
1500	Flexão da ligação N=H e estiramento de CH relativos a amida II	Meza-Marquez (2010)
Em torno de 1650	Proteína	Al-Jowder (1997)
Em torno de 1396	Estiramento da ligação COO^- associado com ácido graxos e cadeias laterais de amino	Meza-Marquez (2010)
1200-950	Estiramento C-O-C, associado a glicogênio (carboidratos)	Meza-Marquez (2010)

4.2.2. Atribuição das bandas

Na figura 6 e 7, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras peito de frango de granja e peito de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 7 é uma ampliação da Figura 6 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas ao número de ondas (cm^{-1}), que são responsáveis por caracterizar cada amostra. De acordo com O. Al-Jowder (1997), os picos mais importantes para caracterização da carne animal são a proteína e o lipídeo. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho à análise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, concluindo que para a carne as regiões mais importantes são proteína, lipídeo e umidade.

A região de 3700-3000 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 2912 cm^{-1} foi associado ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos, ésteres. A região de 1750-1720 cm^{-1} **(3)** foi identificada como o estiramento C=O associado a ácido graxo (lipídeo). A região **(4)** de 1680-1570 cm^{-1} foi associada com o estiramento C=O associado à amida I. A região **(5)** de 1680-1475 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado à amida II. O pico de 1390 cm^{-1} **(6)** foi vinculado ao estiramento COO^- associado com ácido graxo e cadeia lateral amino (tabela11). Observou-se que o contorno do espectro do peito de frango de granja foi semelhante ao contorno do espectro do peito de frango caipira, entretanto os picos foram de alturas distintas, os picos do peito de frango caipira foram maiores quando comparado ao peito de frango de granja. Observou-se que os picos de absorbância relativos às ligações químicas foram maiores para o peito caipira quando comparado com peito de granja, isso ocorre porque se trata de amostras distintas.

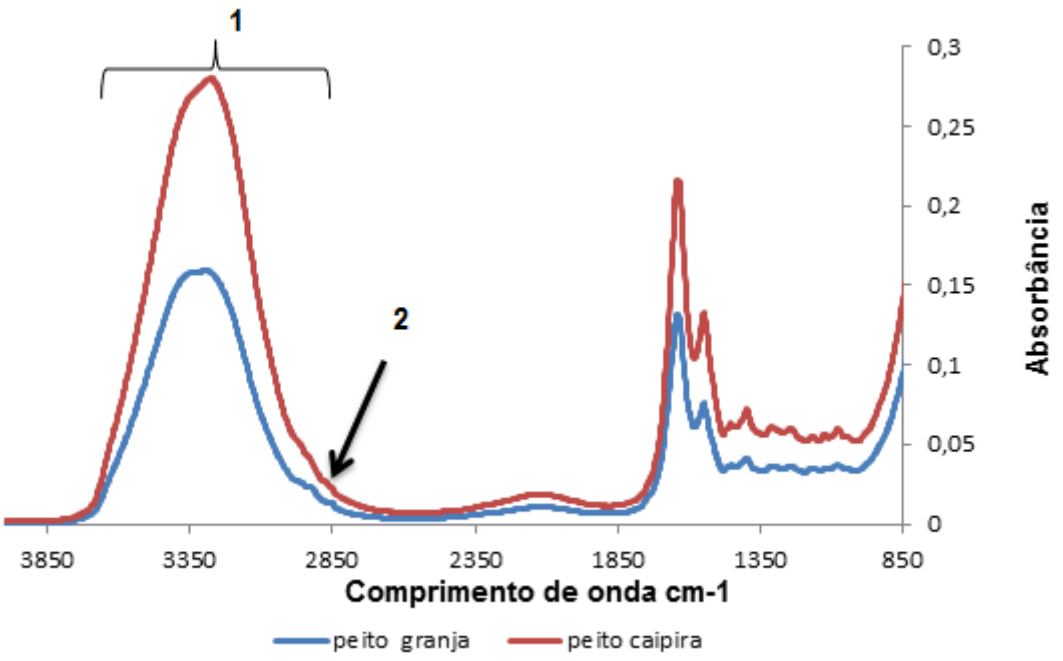

Figura 6-Espectros médios de peito de frango caipira e peito de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

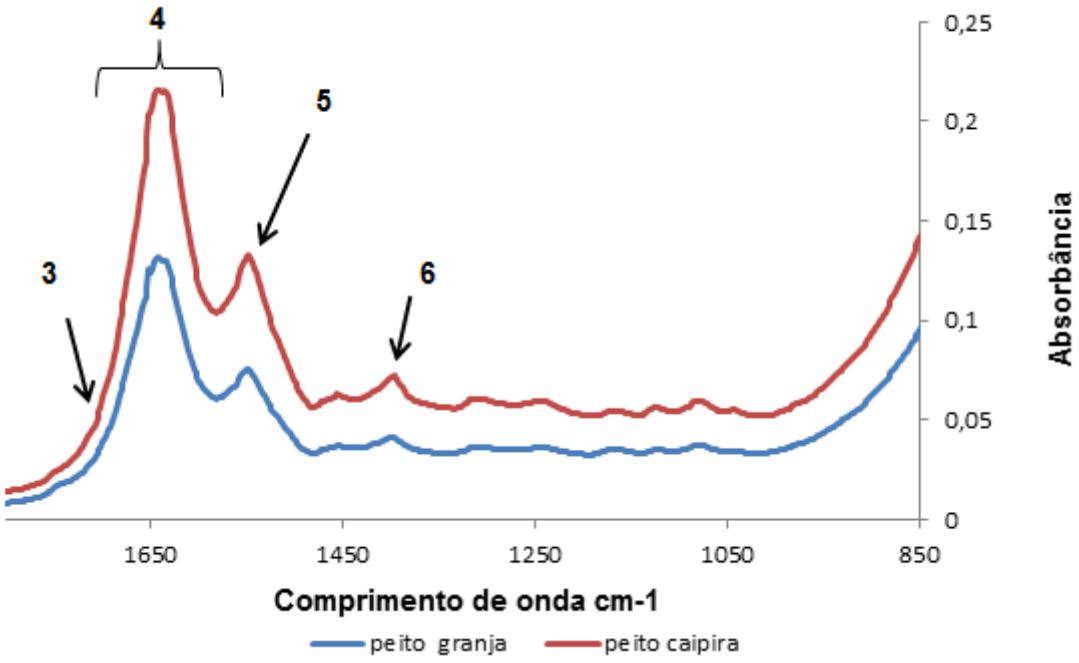

Figura 7-Espectros médios de peito de frango caipira e peito de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 8 e 9, apresentada a seguir, estão apresentados os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras moela frango de granja e moela de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 9 é uma ampliação da Figura 8 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar cada amostra. De acordo com O. Al-Jowder (1997), os picos mais importantes para caracterização da carne animal são a proteína e o lipídeo. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho a analise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, concluído que para a carne as regiões mais importantes são proteína, lipídeo e umidade. Apesar de a moela ser um miúdo utilizou-se das mesmas referencias usadas para carne.

A região de 3700-3000 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 3014 a 2762 cm^{-1} foi associada à ligação CH e ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres). A região de 1757-1700 cm^{-1} **(3)** foi identificada como o estiramento C=O que foi associado a ácido graxo (lipídeo). A região **(4)** de 1707-1570 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O associado à amida I. A região **(5)** de 1571-1471 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado a amida II. O pico de 1446 cm^{-1} **(6)** foi associado a sobreposição de CH_2 e CH_3 de lipídeos (ésteres). A banda de 1392 cm^{-1} **(7)** foi vinculada ao estiramento COO^- associado com ácido graxo e cadeia lateral amino (tabela11). Observou-se pela figura que o espectro relativo à moela de frango caipira diferenciou-se da moela de frango de granja pela maior altura dos picos de absorbância do espectro, apesar do contorno dos espectros terem sido semelhantes, isso ocorre porque se trata de amostras distintas.

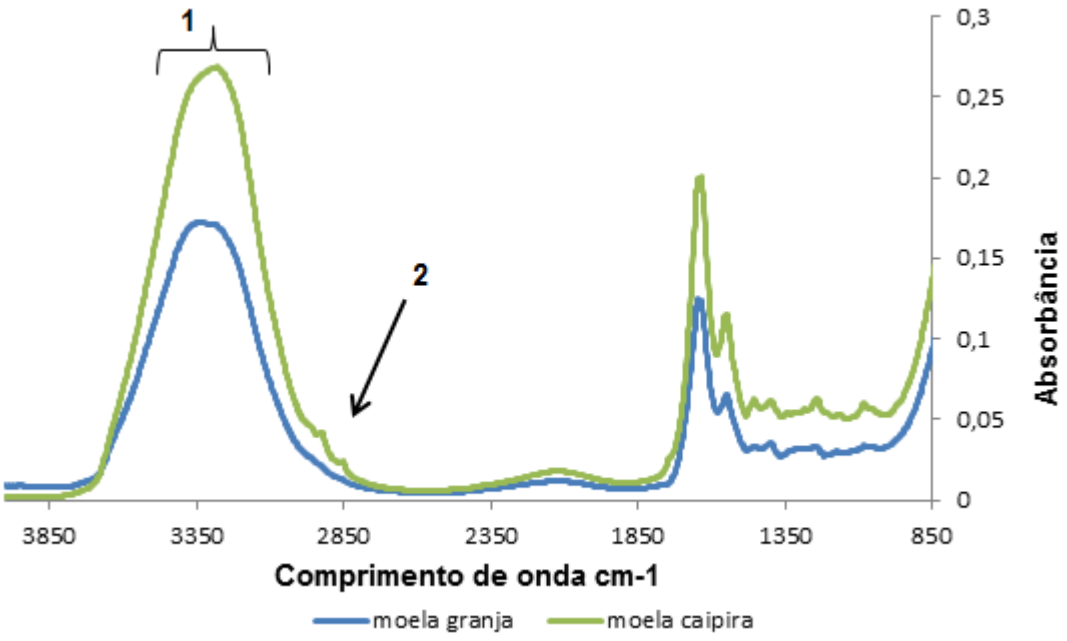

Figura 8-Espectros médios de moela de frango caipira e moela de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

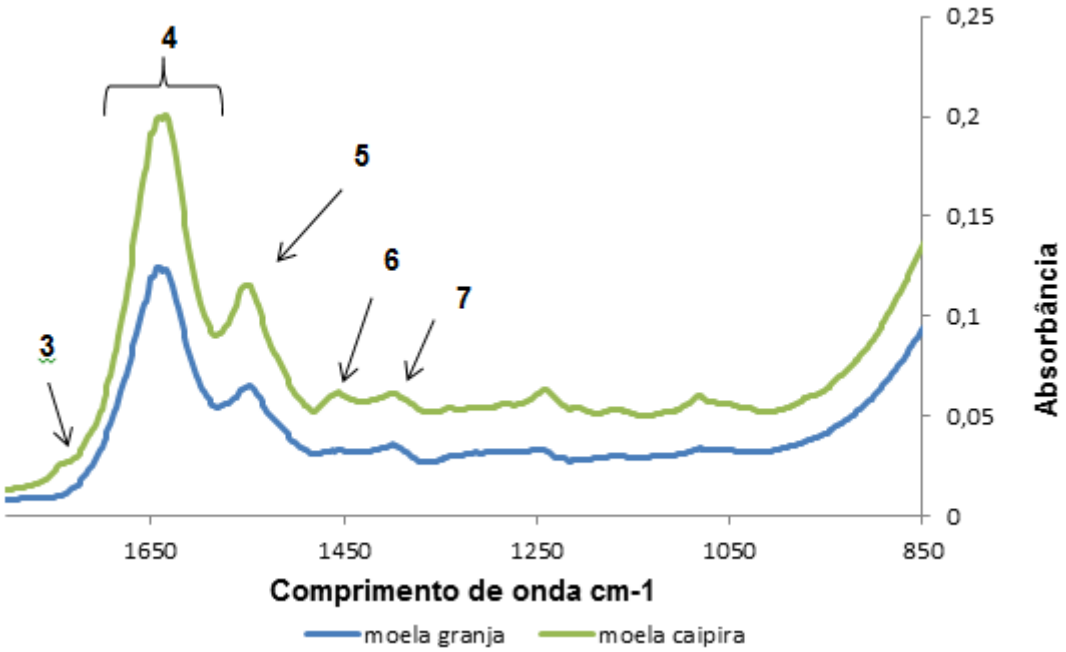

Figura 9-Espectros médios de moela de frango caipira e moela frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 10 e 11, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras fígado de frango de granja e fígado de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 11 é uma ampliação da Figura 10 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar cada amostra. De acordo com O. Al-Jowder (1997), os picos mais importantes para caracterização da carne animal são a proteína e o lipídeo. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho a analise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, concluído que para a carne as regiões mais importantes são proteína, lipídeo e umidade.

A região de 3700-3000 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 2983-2808 cm^{-1} foi associada a ligação CH e estiramento de ligação CH de moléculas de lipídeos (ésteres). A região de 1759-1712 cm^{-1} **(3)** foi identificada como o estiramento C=O que foi associado a ácido graxo (lipídeo). A região **(4)** de 1700-1575 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O que corresponde à amida I. A região **(5)** de 1564-1471 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado a amida II. O pico de 1500 cm^{-1}a flexão da ligação N=H e estiramento de C-H relativos à amida II. O pico de 1450 cm^{-1} **(6)** foi associado à sobreposição de CH_2 e CH_3 de lipídeos (ésteres). O pico de 1384 cm^{-1} **(7)** foi associado ao estiramento COO^- associado com ácido graxo e cadeia lateral amino. A região de 1263-939 cm^{-1} **(8)** foi vinculada ao estiramento C-O-C associado a glicogênio (tabela11). Contudo, observou-se que ocorreu diferença em relação à altura (absorbância) dos picos do espectro de fígado de frango caipira e os picos do espectro de fígado de frango de granja, apesar dos formatos dos espectros serem semelhantes, isso ocorre porque se trata de amostras distintas.

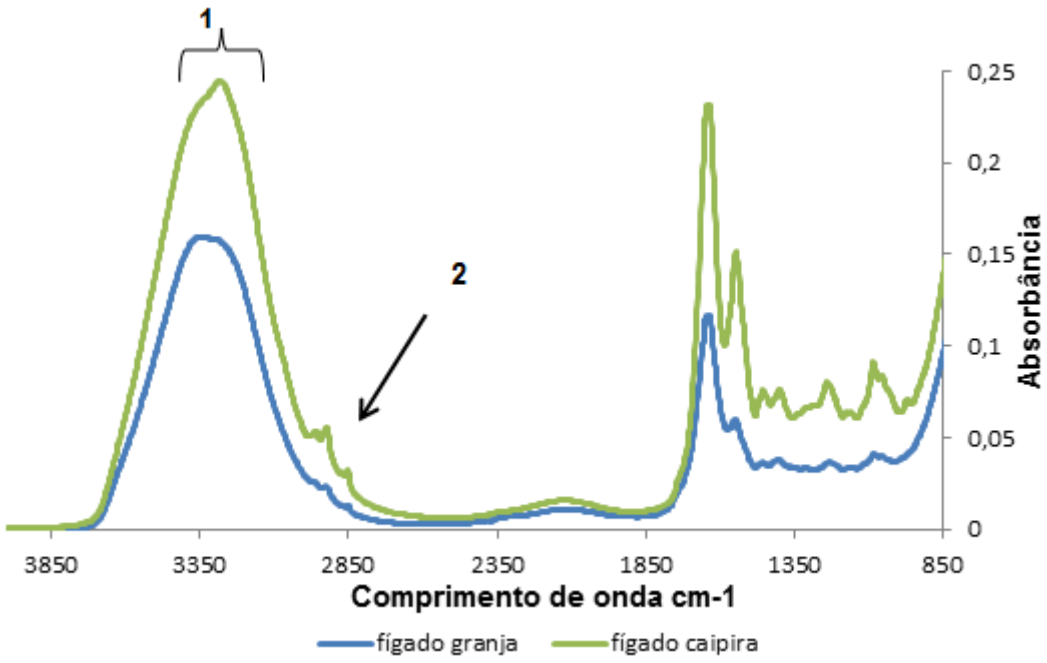

Figura 10-Espectros médios de fígado de frango caipira e fígado de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

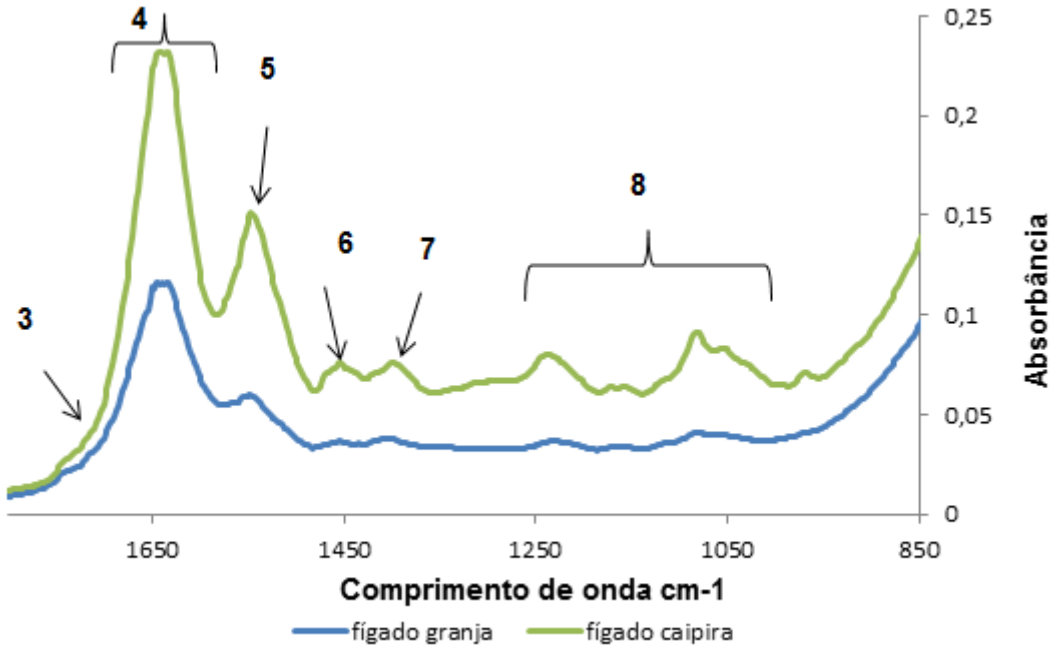

Figura 11-Espectros médios de fígado de frango caipira e fígado de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 12 e 13, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras coração de frango de granja e coração de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 13 é uma ampliação da Figura 12 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar cada amostra. De acordo com O. Al-Jowder (1997), os picos mais importantes para caracterização da carne animal são a proteína e o lipídeo. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho a analise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, concluído que para a carne as regiões mais importantes são proteína, lipídeo e umidade. Apesar de o coração ser um miúdo utilizou-se das mesmas referencias usadas para carne.

A região de 3670-2980 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 2985-2804 cm^{-1} foi associada ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres). A região de 1770-1703 cm^{-1} **(3)** foi identificada como o estiramento C=O que foi associado a ácido graxo (lipídeo). A região **(4)** de 1691-1566 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O associado à amida I. A região **(5)** de 1566-1473 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado a amida II. A banda de 1411-1355 cm^{-1} **(6)** foi vinculada ao estiramento COO^- que foi associado com ácido graxo e cadeia lateral amino (tabela11). Observou-se que o espectro relativo a coração de frango caipira apresentou maior altura (absorbância) que os picos do espectro relativo a frango de granja, contudo os contornos dos espectros obtidos foram semelhantes, isso ocorre porque se trata de amostras distintas.

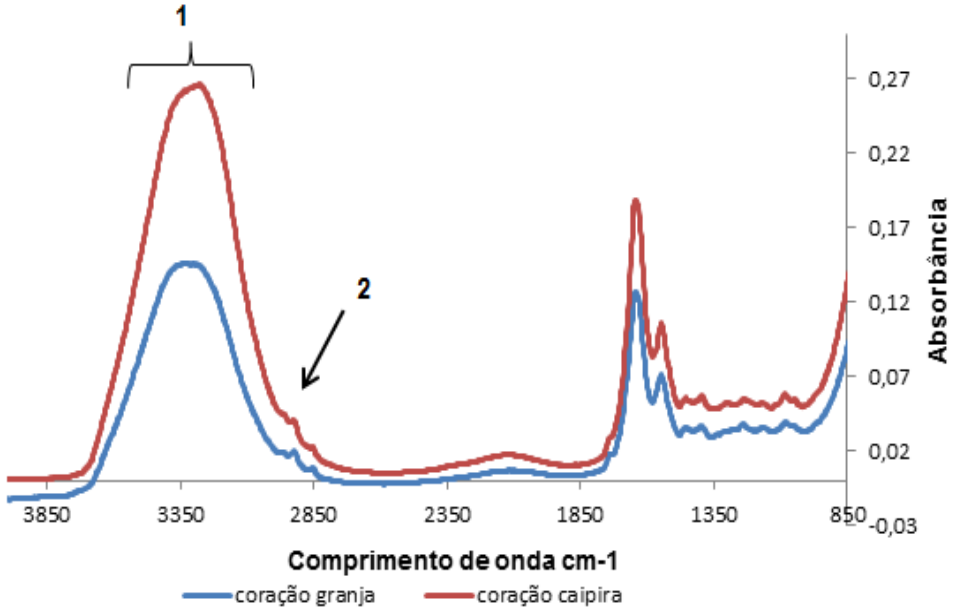

Figura12-Espectros médios de coração de frango caipira e coração de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

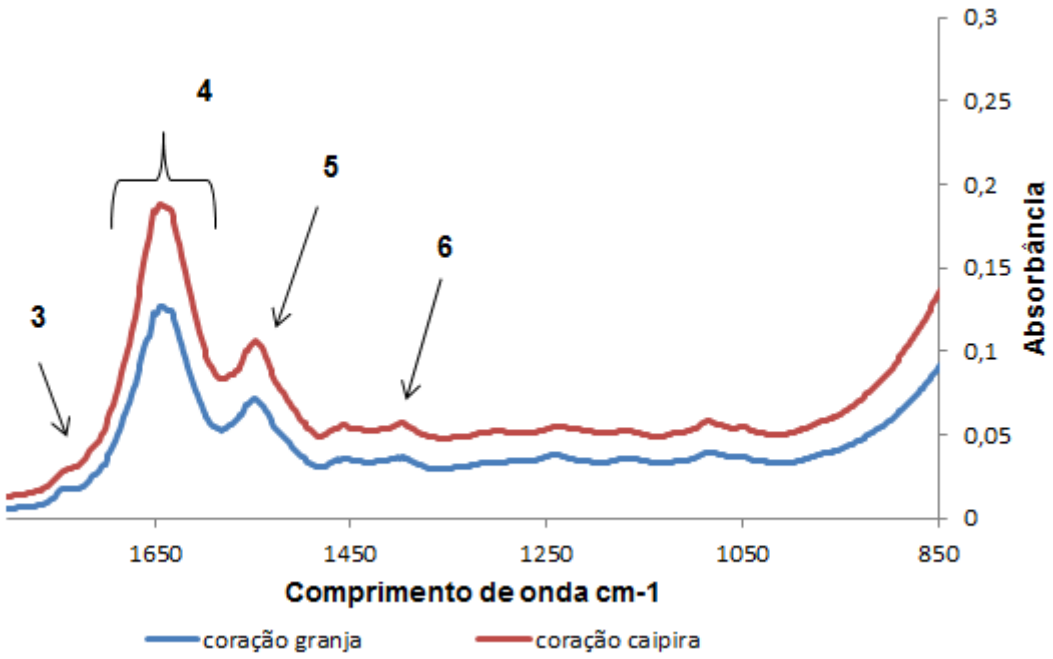

Figura13-Espectros médios de coração de frango caipira e coração frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 14 e 15, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras pele de frango de granja e pele de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 15 é uma ampliação da Figura 14 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar cada amostra. De acordo com O. Al-Jowder (1997), os picos mais importantes para caracterização da carne animal são a proteína e o lipídeo. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho a analise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, concluído que para a carne as regiões mais importantes são proteína, lipídeo e umidade. Apesar de a pele de frango ser um órgão, utilizou-se das mesmas referencias utilizadas para carne.

A região de 3700-2954 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 2983-2767 cm^{-1} foi associada ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres). A região de 1759-1701 cm^{-1} **(3)** foi identificada como o estiramento C=O que foi associado a ácido graxo (lipídeo). A região **(4)** de 1687-1573 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O associado à amida I. A região **(5)** de 1573-1475 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado a amida II.O pico de 1454 cm^{-1} **(6)** foi associado à sobreposição de CH_2 e CH_3 de lipídeos (ésteres). A região de 1269-972 cm^{-1} **(7)** foi vinculada ao estiramento C-O-C associado a carboidrato. Contudo, observou-se que a intensidade do espectro relativo à pele de frango caipira apresentou maior absorbância em relação pele do frango de granja, pois teve maior altura. Além disso, observou-se que os formatos dos espectros foram semelhantes, entretanto ocorreram picos mais acentuados de lipídeo na região de **(3), (2) e (6)** que não ocorreram de maneira tão acentuada para as outras amostras. Além disso, observou-se também um pico muito acentuado na região **(7)** relativo a carboidrato que não ocorreu da mesma maneira nas outras partes do frango, excetuando o fígado que é responsável por reservas de glicogênio (carboidrato) do organismo (tabela11).

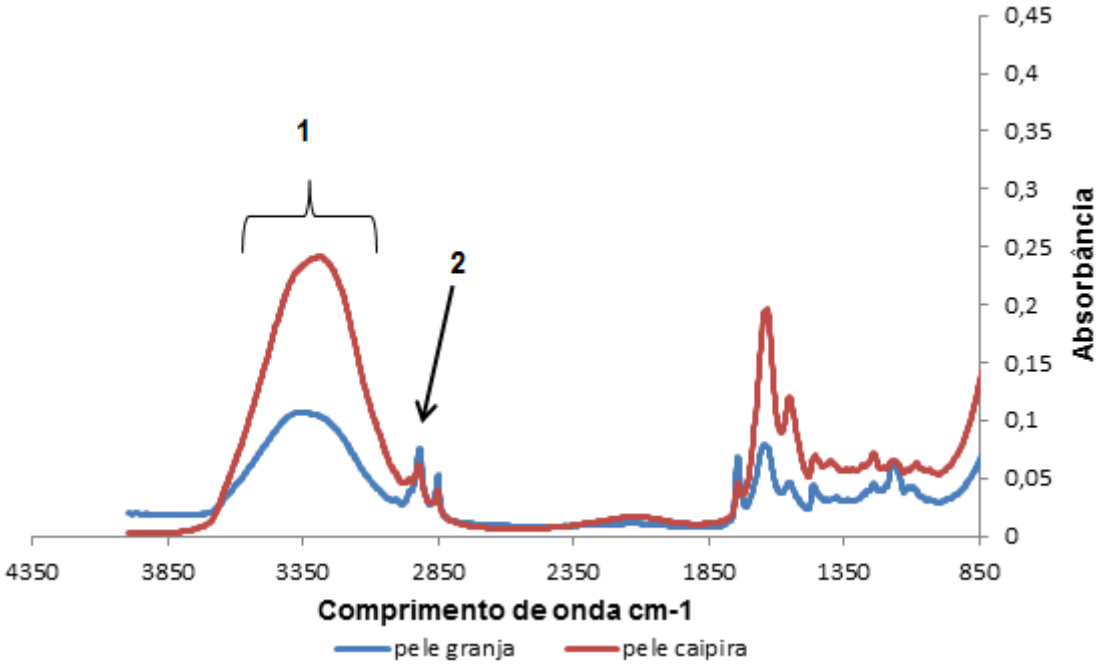

Figura14-Espectros médios de pele de frango caipira e pele de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

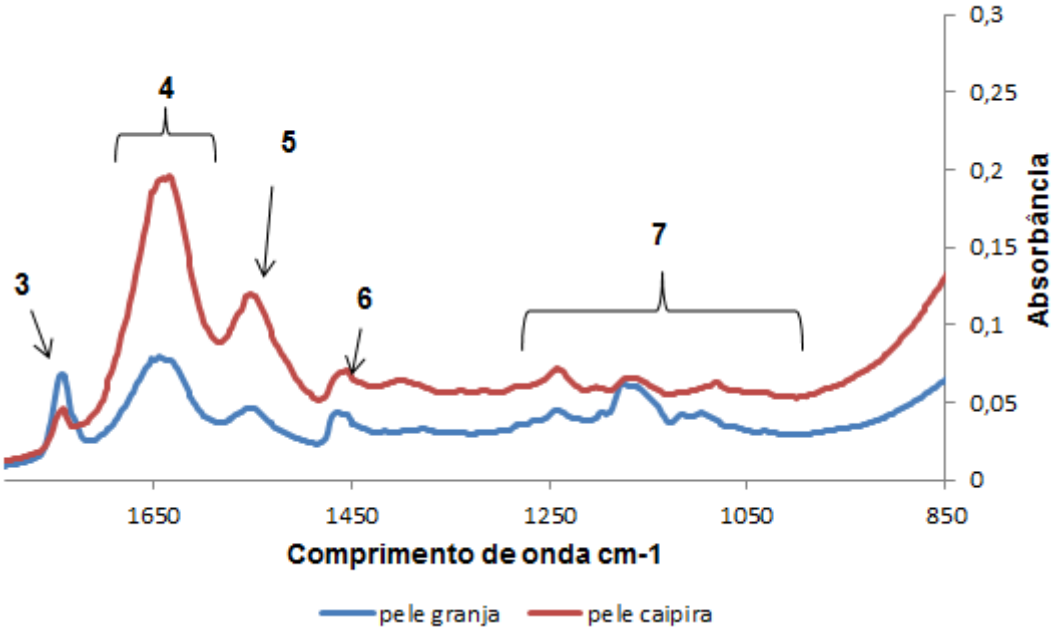

Figura15-Espectros médios de pele de frango caipira e pele de frango de granja, não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 16 e 17, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras sojas, sem nenhum pré-processamento. A figura 17 é uma ampliação da Figura 16 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar cada amostra. Meza-Marquez (2010) associou o espectro do infravermelho a analise centesimal para caracterizar regiões importantes do espectro, para a soja texturizada a proteína, a umidade e o carboidrato possuem valores maiores, portanto mais significativos na caracterização da soja texturizada.

A região de 3670-2964 cm^{-1} **(1)** foi atribuída ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** de 1691-1568 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O associada à amida I. A região **(3)** de 1568-1462 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado à amida II. A banda de 1415-1355 cm^{-1} **(4)** foi vinculada ao estiramento COO^- associado com acido graxo e cadeia lateral amino. A região de 1265-937 cm^{-1} **(5)** foi vinculada ao estiramento C-O-C associado a carboidrato (tabela11).

Observou-se que os espectros possuem formatos semelhantes, o que era esperado porque se trata da mesma matéria prima, mas de diferentes procedências, por isso possuem diferentes absorbâncias. Além disso, observou-se que os espectros relativos às sojas marca 3 e 1 ficaram exatamente sobrepostos, enquanto o espectro relativo a marca 2 apresentou altura inferior aos espectros das sojas de marca 3 e 1. O fato dos espectros terem ficado sobrepostos indicou uma semelhança muito grande o que gera a duvida se as amostras eram de origens diferentes, apesar das marcas serem diferentes. O espectro relativo a soja de marca 2 apresentou menor absorbância que os da soja de marca 3 e 1.

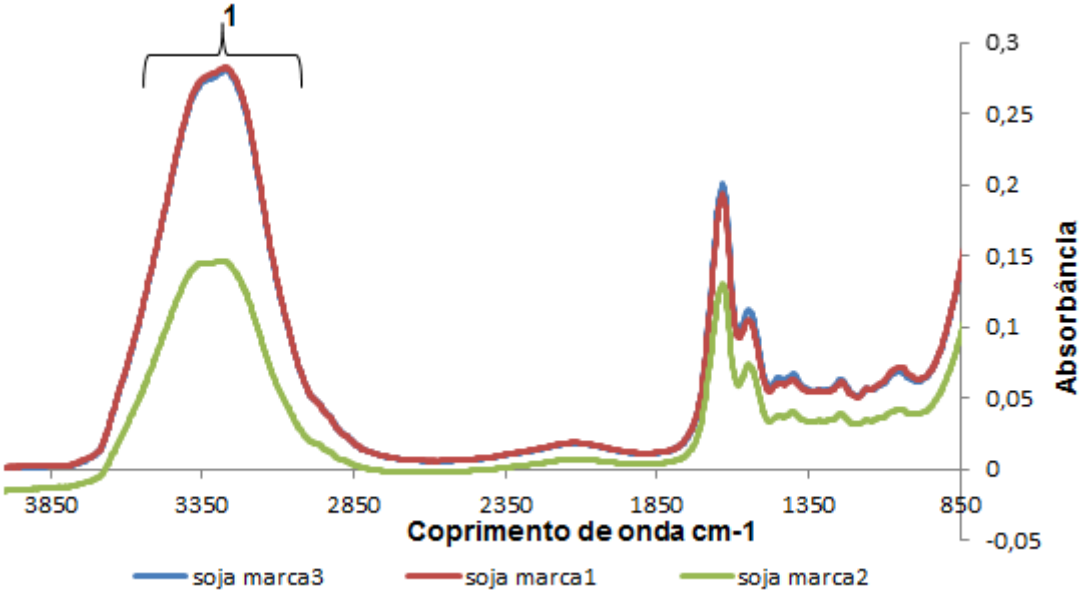

Figura16-Espectros médios de soja marca 1, soja marca 2 e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

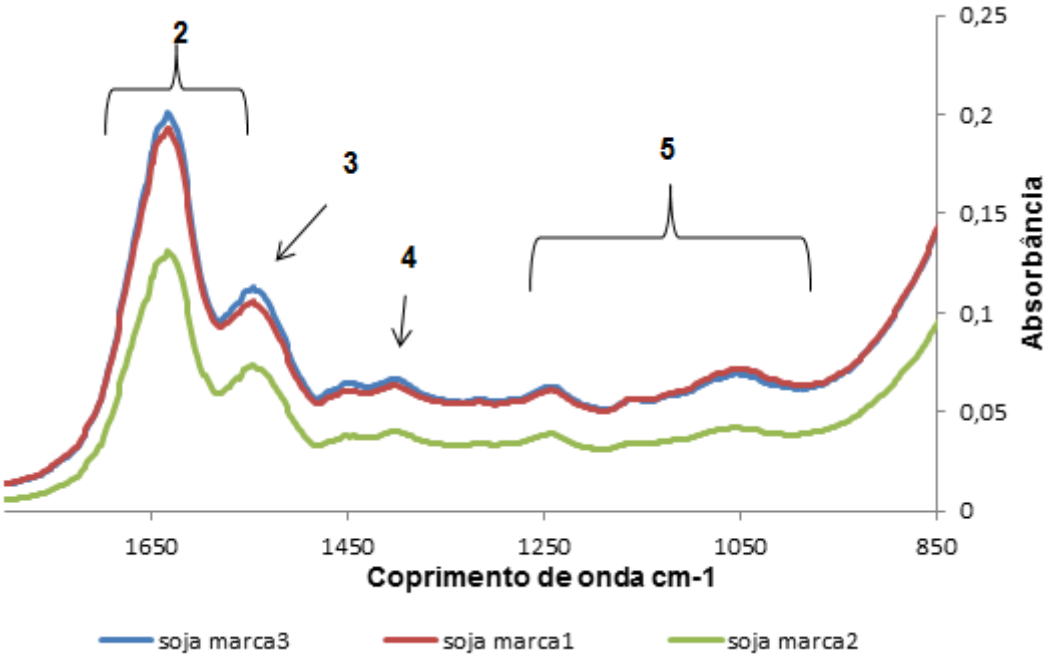

Figura17-Espectros médios de soja marca 1, soja marca 2 e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 1800 a 850 cm^{-1}.

Na figura 18 e 19, apresentada a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras fígado frango de granja e fígado de frango caipira, sem nenhum pré-processamento. A figura 19 é uma ampliação da Figura 18 no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. Teve-se como objetivo visualizar as diferenças nos contornos de cada espectro correspondente a cada amostra em estudo.

Foi observado pela figura 18 e 19 que os contornos dos espectros das amostras em estudo são semelhantes, mas que as absorbâncias de cada um dos espectros são diferentes. A partir dessas figuras foi possível observar as diferenças de maneira mais clara e evidente.

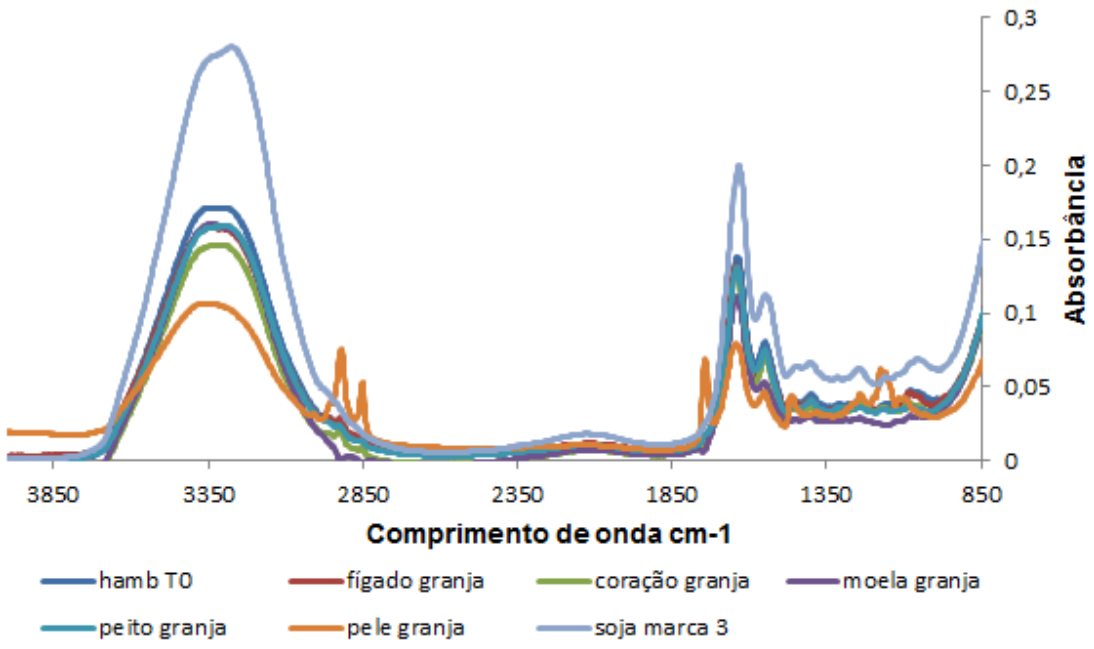

Figura18-Espectros médios de hambúrguer padrão, fígado de frango de granja, coração de frango de granja, moela de frango de granja, peito de frango de granja, pele de frango de granja e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

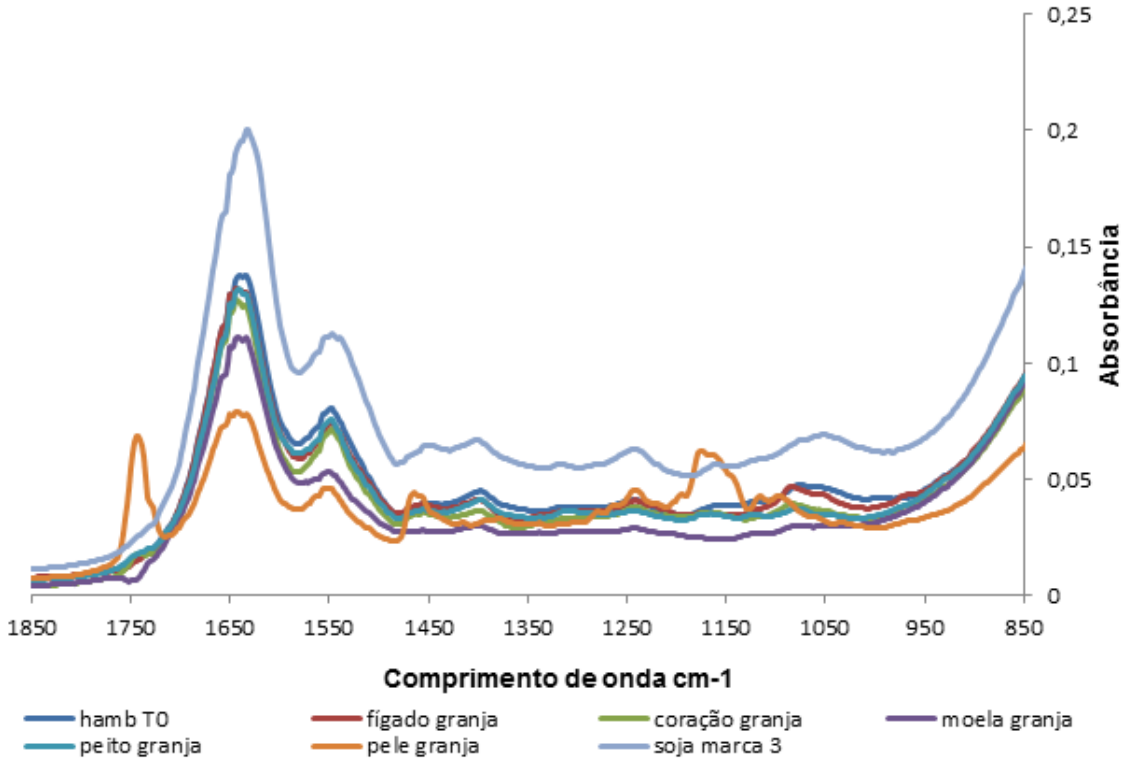

Figura19-Espectros médios de hambúrguer padrão, fígado de frango de granja, coração de frango de granja, moela de frango de granja, peito de frango de granja, pele de frango de granja e soja marca 3 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

Na figura 20, 21 e 22, apresentadas a seguir, estão descritos os espectros médios (média de 5 leituras) relativos as amostras de hambúrguer padrão no transcorrer do tempo, sem nenhum pré-processamento. A figura 21 é ampliação da figura 20, no intervalo de 1800- 850 cm^{-1}. E a figura 22 é um espectro contido na figura 21, selecionado para melhorar a visualização. Teve-se como objetivo detalhar as ligações químicas associadas aos comprimentos de ondas (cm^{-1}) que são responsáveis por caracterizar as amostras de hambúrguer de frango. O intervalo de tempo de leitura entre as amostras de hambúrguer de frango foram de 15 dias, totalizando 13 amostras e 6,5 meses.

A região de 3722-3000 cm^{-1} **(1)** foi associada ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra. A região **(2)** 2954-2808 cm^{-1} foi associada ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres). De acordo com Barbosa (2011), os picos de 2984, 2941 e 2909 cm^{-1} correspondem ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres), sendo que a pequena

diferença entre o valor obtido e a literatura ocorreu devido ao próprio equipamento. A região **(3)** de 1716-1570 cm^{-1} foi associada ao estiramento C=O associado à amida I. A região **(4)** de 1570-1471 cm^{-1} foi vinculada a flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado a amida II. A banda de 1409-1355 cm^{-1}**(5)** foi vinculada ao estiramento COO^- associado com acido graxo e cadeia lateral amino. A região de 1269-939 cm^{-1} **(6)** foi vinculada ao estiramento C-O-C associado a carboidratos (glicogênio e outros) (tabela11). Observou-se pelos espectros da figura 20 que esses tiveram alguma alteração no transcorrer das medições. Ocorreu um pequeno aumento na absorbância com o transcorrer do tempo. As medições foram feitas de 15 em 15 dias, totalizando 6,5 meses, com a intensão de avaliar a perecibilidade do hambúrguer. De acordo com as orientações do uso do conservante especifico para hambúrguer, o mesmo garante a conservação por um determinado prazo variável.

A oxidação dos lipídeos é um mecanismo primário para qualidade, e é determinante para a deterioração de alimentos, principalmente de produtos cárneos. As mudanças na qualidade do produto pode se manifestar por mudança no flavor, textura e valor nutritivo e a possibilidade de produção de componentes que podem ser tóxicos (Gaya, 1996). Para o hambúrguer padrão utilizado nesse estudo foi esperado um tempo longo de conservação devido ao baixo teor de lipídeo do mesmo.

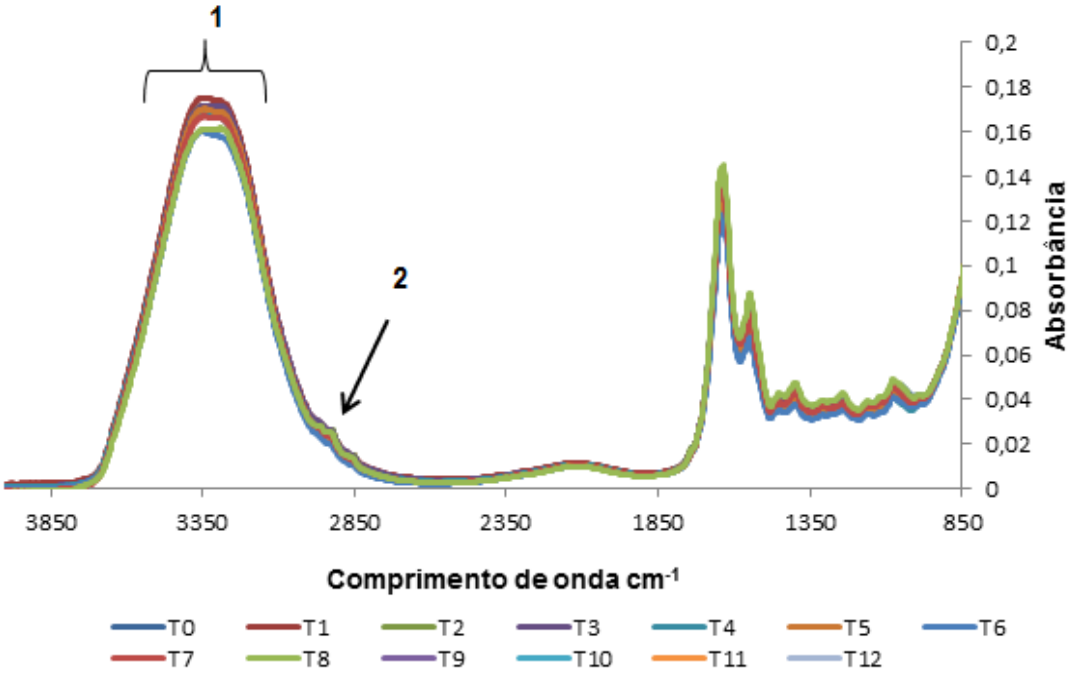

Figura20-Espectros médios de hambúrguer padrão, nos tempos T0 ao T12 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

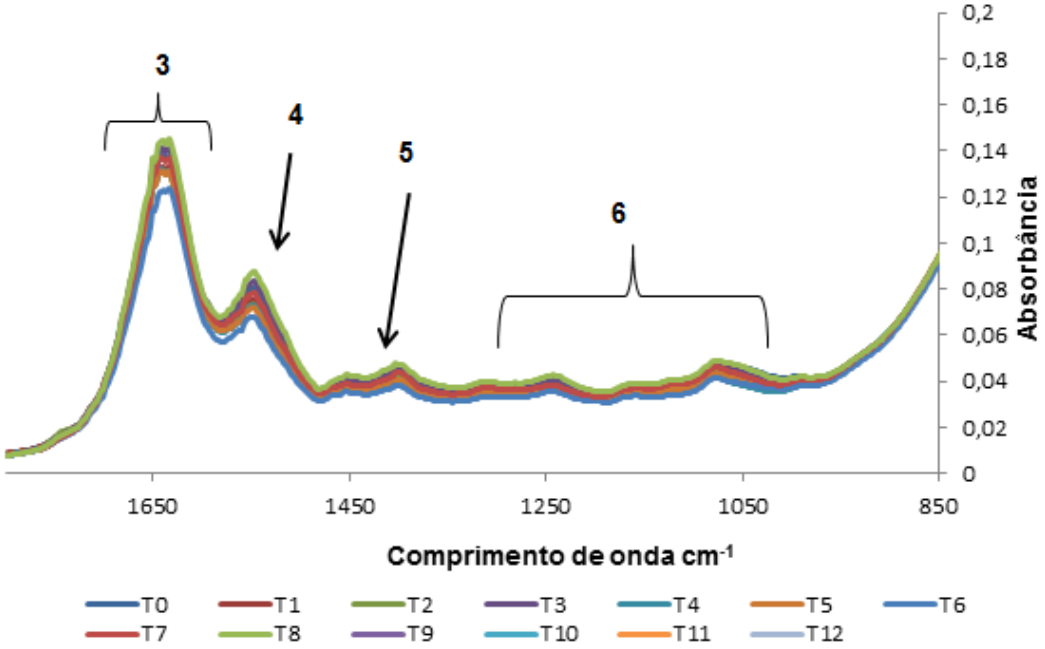

Figura21-Espectros médios de hambúrguer padrão, nos tempos T0 ao T12 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

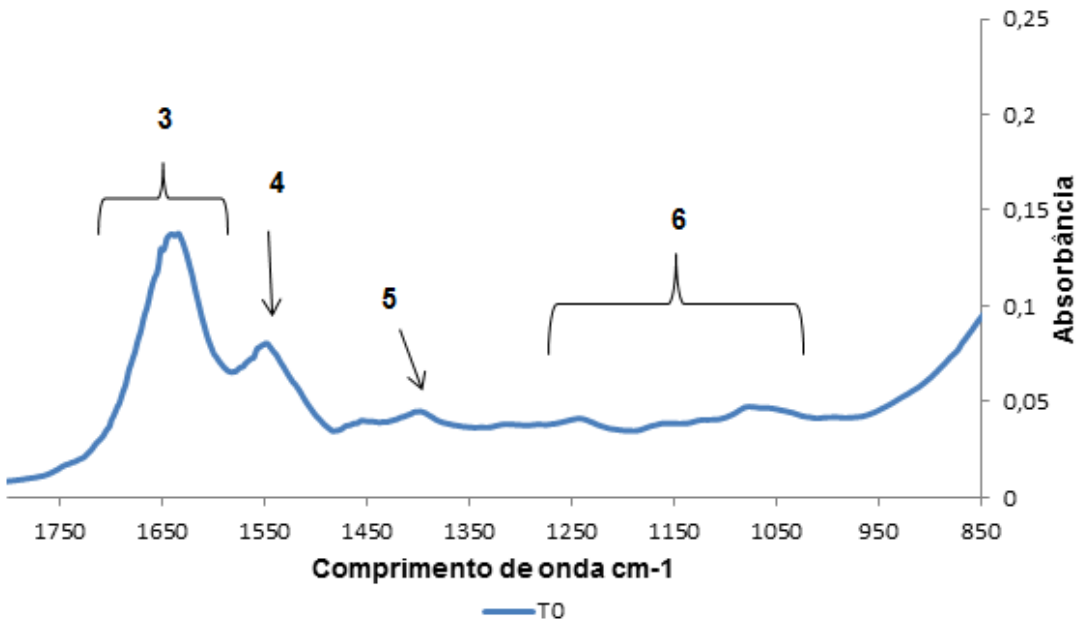

Figura22-Espectros médios de hambúrguer padrão, no tempo T0 não submetido a nenhum pré-processamento de dados, no intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}.

4.3. Análise quimiometrica

4.3.1. Análise dos componentes principais (PCA)

Como análise exploratória principal foi usada a PCA, analise esta que foi utilizada com os seguintes objetivos verificar a tendência à separação de frango de granja de frango caipira (diferenciar as amostra conforme a origem granja ou caipira); avaliar a ocorrência de tendência a separação do hambúrguer de frango dos demais adulterantes (fígado, moela e coração); e por último avaliar o comportamento das amostras de hambúrguer padrão submetidas a diferentes tempos de estocagem (verificar a perecibilidade do hambúrguer).

4.3.1.1. Tendência à separação entre as amostras de frango de granja e de frango caipira

O modelo da PCA da figura 23, apresentada a seguir, gerado a partir dos dados submetidos aos pré-processamento centralização na média, foi construído com dois componentes principais (PC1 e PC2) que descrevem juntos 97,85% da variância entre as amostras. Os espectros utilizados nesse modelo foram submetidos à corte para retirar as regiões com informações sistemáticas, em que as pequenas variações presentes são do equipamento e não relativa à amostra, sendo analisada apenas a região de 4000-850 cm^{-1}.O objetivo dessa PCA foi verificar se existe tendência a separação entre as amostras frango de granja e frango caipira.

Na figura 23, a seguir, está apresentado o gráfico com escores de PC1 versus scores de PC2. Por meio da análise desta, foi possível identificar que PC1 teve tendência à separação das amostras de frango de granja (PC1 negativo) das amostras de frango caipira (PC1 positivo), sendo que PC1 explicou 95,18% da variância entre as amostras. Já PC2 teve tendência a separar as amostras pele de granja, pele caipira e fígado caipira (PC2 positivo) das demais amostras (PC2 negativo), sendo que PC2 explicou 2,67% da variância entre as amostras.

A figura 24 está correlacionando os *Loadings* com cada variável. Por meio da análise desta foi possível identificar quais as regiões que contribuem positivamente para a tendência a separação por PC1 entre as amostras (tendência à separação das amostras pela origem, granja e caipira) foram: **(1)** 3365- 2932 cm^{-1}e **(2)** 1728-1431 cm^{-1}. A banda de 3365- 2932 cm^{-1} marcada pela região **(1)** foi atribuída a vibrações de OH, correspondente a água. O pico de 1630 cm^{-1} **(I)** que faz parte da banda **(2)** 1728-1431 cm^{-1} foi associado ao estiramento C=O associado à amida I. O pico 1541 cm^{-1} **(II)** que também faz parte da banda **(2)**, foi associado à flexão da ligação N-H e estiramento da ligação C-N associado à amida II (tabela11).

De acordo com o *Loading* de PC2, figura 25, os picos 2916 cm^{-1}**(I)** e 2851 cm^{-1} **(II)** fazem parte da região **(1)** associada a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); o pico de 1742 cm^{-1} **(2)** é associado ao estiramento da ligação C=O associado a acido graxo (lipídeo); o pico de 1624

cm^{-1} **(3)** foi associado ao estiramento de C=O associado à amida I; o pico de 1535 cm^{-1} **(4)** foi associado à flexão da ligação N=H e estiramento de C-H relativos à amida II; o pico de 1454 cm^{-1} **(5)** foi associado à sobreposição de CH_2 e CH_3 de lipídeos (ésteres); a região que contém os picos de 1234 cm^{-1}, 1157 cm^{-1} e 1078 cm^{-1} **(6)** está associada a estiramento C-O-C, associado a carboidratos (tabela11).

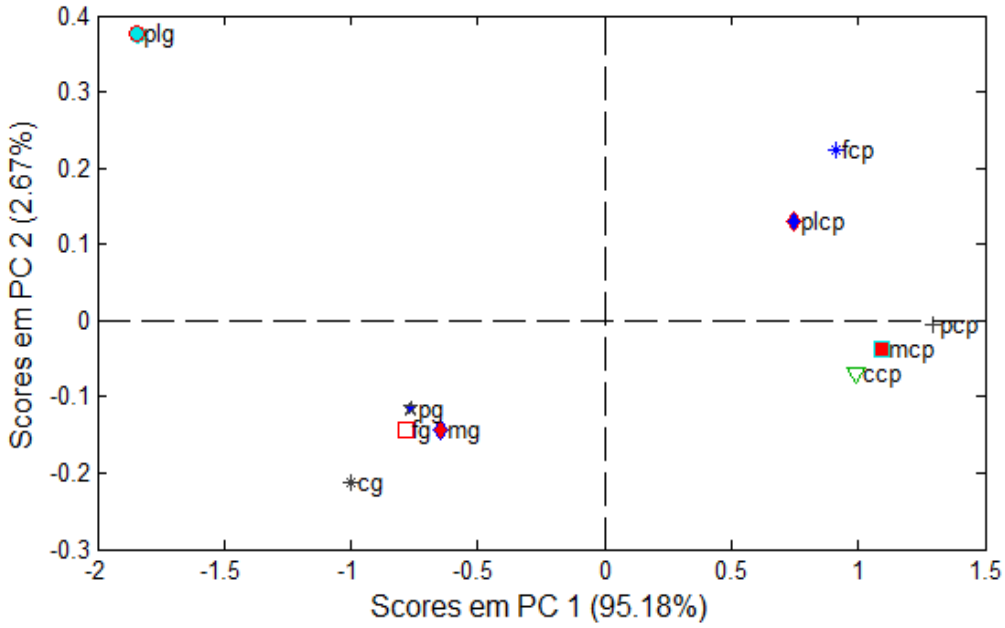

Figura 23-*Scores* de PC1 versus PC2 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média.

Legenda: ▽ Coração de frango caipira (ccp), ✳ Fígado de frango caipira (fcp), ■ Moela frango caipira (mcp), + Peito frango caipira (pcp), ♦ Pele frango caipira (plcp), ✳ Coração de frango de granja (cg), □ Fígado de frango de granja (fg), ♦ Moela de frango de granja (mg), ★ Peito de frango de granja (pg), ● Pele de frango de granja (plg).

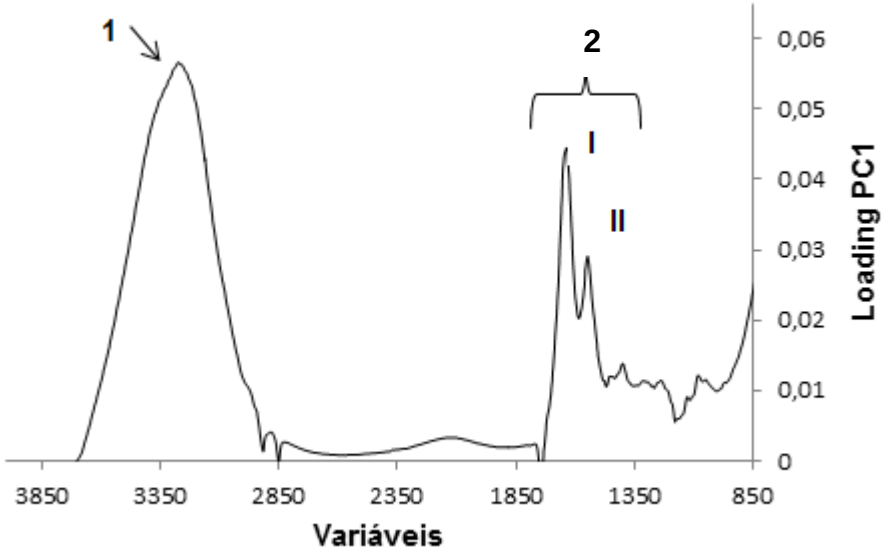

Figura 24- *Loading* de PC1 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média.

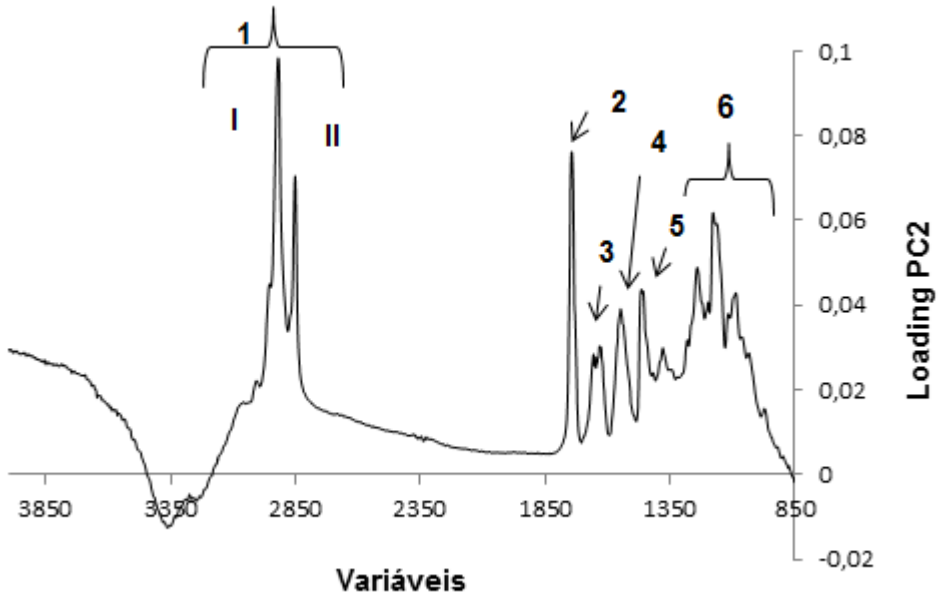

Figura 25- *Loading* de PC2 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média.

A PCA foi capaz de demonstrar claramente à tendência a separação das amostras de frango de granja das amostras de frango caipira. E ao se aplicar a

estatística univariada foi observado que há diferença estatística das partes do frango devido à origem granja ou caipira (levando em consideração os teores de umidade, cinza, proteína e lipídeo) obteve-se a maior parte dos resultados coerentes, mas alguns resultados foram diferentes em relação à multivariada.

Para o peito de frango avaliado pela estatística univariada, em relação a umidade; cinza; proteína e lipídeo, ocorreu diferença estatística entre peito de granja e peito caipira para o teor de proteína e lipídeo (tabela 6). Esse resultado foi relativamente coerente porque o *Loading* de PC1 indica que a influência da proteína e da umidade foi maior na separação por PC1 das amostras em dois grupos granja e caipiras (que foram separados por origem).

Em relação à moela de frango avaliada pela estatística univariada, as amostras moela de frango caipira e moela de frango de granja foram estatisticamente diferentes para umidade; cinza; lipídeo e proteína (tabela 6). Esse resultado foi coerente com a tendência a separação determinada por PC1, que de acordo com o *Loading* de PC1 teve maior influência, para a tendência a separação por PC1, o teor de proteína e umidade.

Para o fígado de frango avaliado pela estatística univariada, as amostras fígado de frango caipira e fígado de frango de granja se mostraram estatisticamente iguais em relação a umidade, cinza, proteína e lipídeo (tabela 6), sendo um resultado conflitante com o que foi encontrado na estatística multivariada, que diferenciou pelo PC1 fígado de frango de granja de fígado de frango caipira, sendo que essa diferenciação por PC1 teve maior influencia pelo teor de proteína e umidade, de acordo com *Loading* de PC1.

Em relação ao coração de frango avaliado pela estatística univariada, o coração de frango de granja e o coração de frango caipira apresentou diferença estatística em relação proteína; lipídeo e cinzas, e não apresentou diferença estatística em relação a umidade (tabela 6), sendo este resultado foi parcialmente coerente com o obtido na estatística multivariada, na qual separa as amostras coração de frango de granja de coração de frango caipira pelo PC1, sendo que o *Loading* de PC1 mostrou que a diferenciação tem maior influência da umidade e da proteína.

Para a pele de frango avaliada pela estatística univariada, a pele de frango de granja e a pele de frango caipira foram estatisticamente diferentes em relação à umidade; proteína, cinza e lipídeo (tabela 6). Esse resultado foi

coerente com o obtido na estatística multivariada, na qual teve como resultado a separação das amostras de frango de granja das amostras de frango caipira por meio de PC1, sendo que o *Loading* de PC1 indicou que as maiores influências para essa separação foram da umidade e da proteína.

4.3.1.2. Tendência a separação entre o hambúrguer padrão e os adulterantes

O modelo da PCA da figura 26 foi gerado a partir dos dados submetidos aos pré-processamento cálculo da derivada primeira, MSC e centralização na média, foi construído com PC4 e PC3, componentes principais que descreveram juntos 15,58% da variância entre as amostras. Os espectros utilizados nesse modelo foram submetidos à corte para retirar as regiões com informações sistemáticas, em que as pequenas variações presentes são do equipamento e não relativa à amostra, sendo analisada apenas a região de 4000-850 cm^{-1}. O objetivo dessa análise de PCA foi verificar se ocorre a tendência a separação do hambúrguer em relação aos adulterantes.

Na figura 26, a seguir, está apresentado o gráfico com scores de PC4 versus scores de PC3. Por meio da análise desta, foi possível identificar que PC4 teve tendência a separação das amostras fígado e coração (PC4 positivo) das amostras hambúrguer de frango e moela (PC4 negativo), sendo que PC4 explicou 5,54% da variância entre as amostras. Já PC3 teve a tendência a separar as amostras fígado e hambúrguer de frango (PC3 negativo) das amostras coração e moela (PC3 positivo), sendo que PC3 explicou 10,01% da variância entre as amostras. É importante observar que o hambúrguer de frango ficou isolado em um quadrante o que demonstra à tendência a separação entre o hambúrguer e os adulterantes. O gráfico da figura 27 correlacionou os scores de PC3 com seus *Loadings*, a partir desse foi possível identificar que as regiões que mais contribuem para a tendência a separação por PC3 entre as amostras foram o pico 1634 cm^{-1} **(1)**,sendo esse pico associado ao estiramento de C=O associado à amida I. Analisando o gráfico da figura 28, *Loadings* para cada variável, foi possível identificar que os picos que mais contribuem para a tendência a separação por PC4 entre as amostras foram: 1699 cm^{-1} **(1)**, 1638 cm^{-1} **(2),** 1188 cm^{-1} **(3),** 1730 cm^{-1} **(4),** 1633 cm^{-1}**(5)** e

1236 cm^{-1} **(6)**. O pico em 1699 cm^{-1} **(1)** e o pico 1730 cm^{-1} **(4)** fazem parte da região associada ao estiramento da ligação C=O associado a ácido graxo (lipídeo); o pico de 1638 cm^{-1} **(2)** e o pico de 1633 cm^{-1} **(5)** fazem parte da região associada ao estiramento de C=O associado à amida I; o pico de 1188 cm^{-1} **(3)** e o pico de 1236 cm^{-1} **(6)** fazem parte de uma mesma região associada a estiramento C-O-C, associado a carboidratos (tabela11).

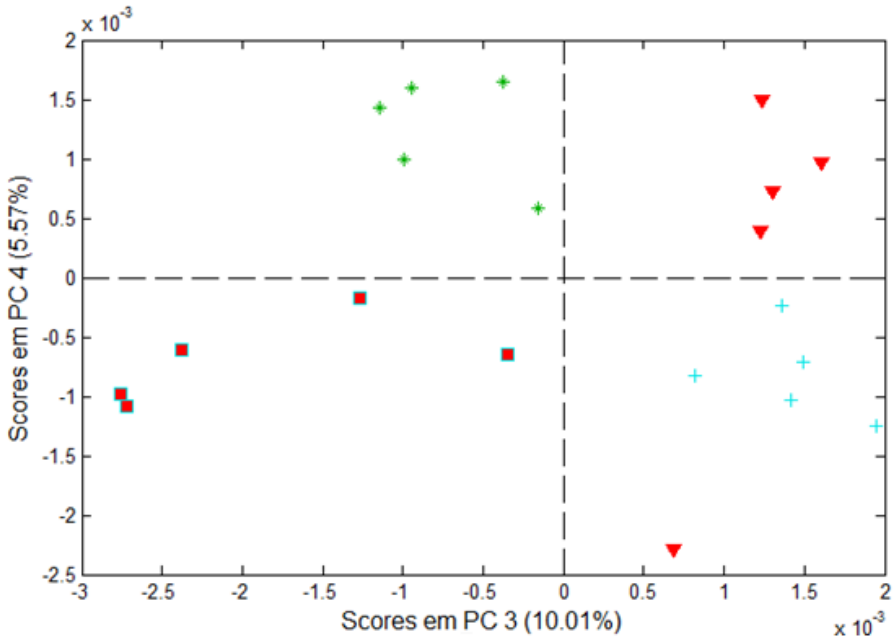

Figura 26-*Scores* de PC4 versus PC3 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada a Primeira.

Legenda : ■ Hamburguer padrão de frango, ✚ fígado de frango de granja, ▼ coração de frango de granja, + moela de frango de granja.

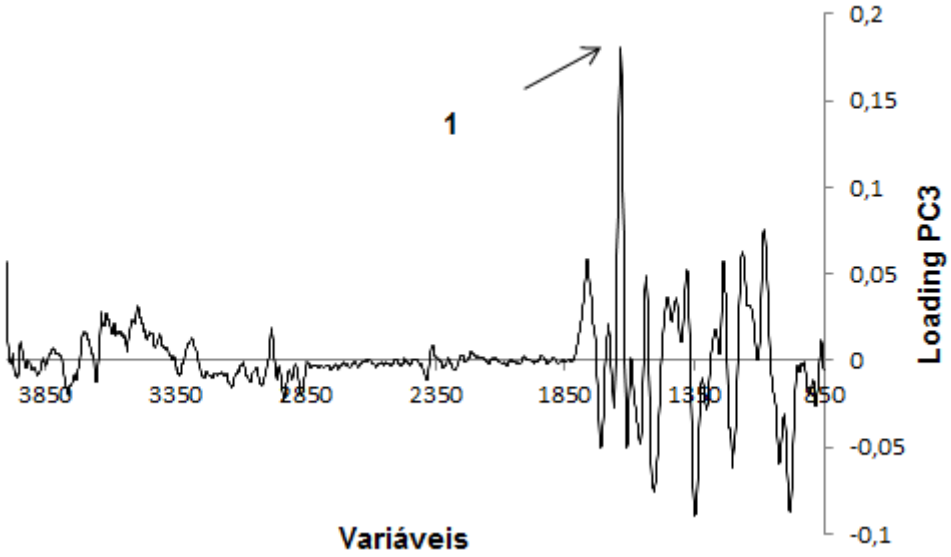

Figura 27- *Loading* de PC3 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada à primeira.

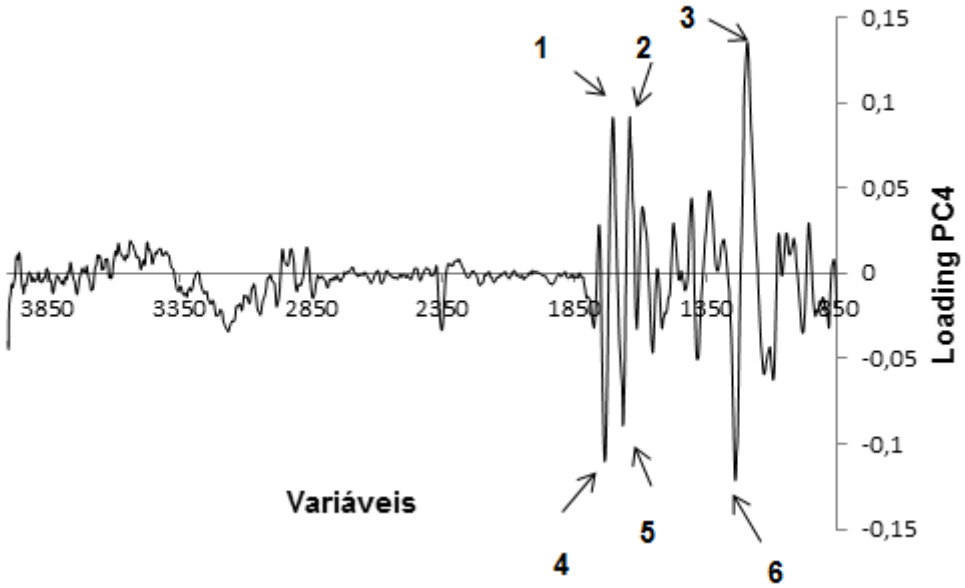

Figura 28- *Loading* de PC4 do modelo PCA gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e Derivada à primeira.

Com base nas analises de PCA (análise não supervisionada) das figuras 26,27 e 28 foi possível observar que as amostras foram passíveis de tendência à separação. Dessa maneira, foram realizadas as análises PLS-DA e PLS

para construção dos modelos de hambúrgueres adulterados por coração, moela e fígado.

4.3.1.3. Avaliação da Perecibilidade do hambúrguer de frango

O modelo da PCA da figura 29 foi gerado a partir dos dados submetidos aos pré-processamentos MSC e centralização na média, este foi construído com duas componentes principais que descrevem juntos 93,06% da variância entre as amostras. Os espectros utilizados nesse modelo foram submetidos à corte para retirar as regiões com informações sistemáticas, em que as pequenas variações presentes são do equipamento e não relativa à amostra, sendo analisada apenas a região de 4000-850 cm^{-1}. O objetivo dessa análise de PCA foi verificar se ocorreriam alterações na qualidade do hambúrguer em relação ao tempo. A formulação de hambúrguer padrão foi separada em 13 embalagens, sendo que de 15 em 15 dias uma amostra era descongelada e analisada no infravermelho, e a primeira análise ocorreu no momento da produção do hambúrguer padrão, e a última análise foi feita apos 195 dias de congelamento.

A partir da PCA, (figura 29) observamos que não ocorreu uma tendência a separação coerente das amostras, isso indica que o hambúrguer não sofreu modificações significativas no transcorrer do tempo para que as amostras fossem separadas em grupos. Isso provavelmente ocorre porque na composição do hambúrguer contém o tempero global (IBRAC), o qual conserva as características do produto, além, do baixo teor de lipídeo das amostras que favorece a conservação do produto (Tabela 10). Para observar a degradação do hambúrguer talvez fosse necessário realizar um acompanhamento maior do que 6,5 meses, que foi o tempo de observação das amostras. De acordo com Gaya (2006), a rancificação dos lipídeos é a maior responsável pela perecibilidade de produtos cárneos processados. Dessa maneira, observou-se que não ocorreu uma deterioração suficiente para promover uma tendência a separação das amostras na PCA.

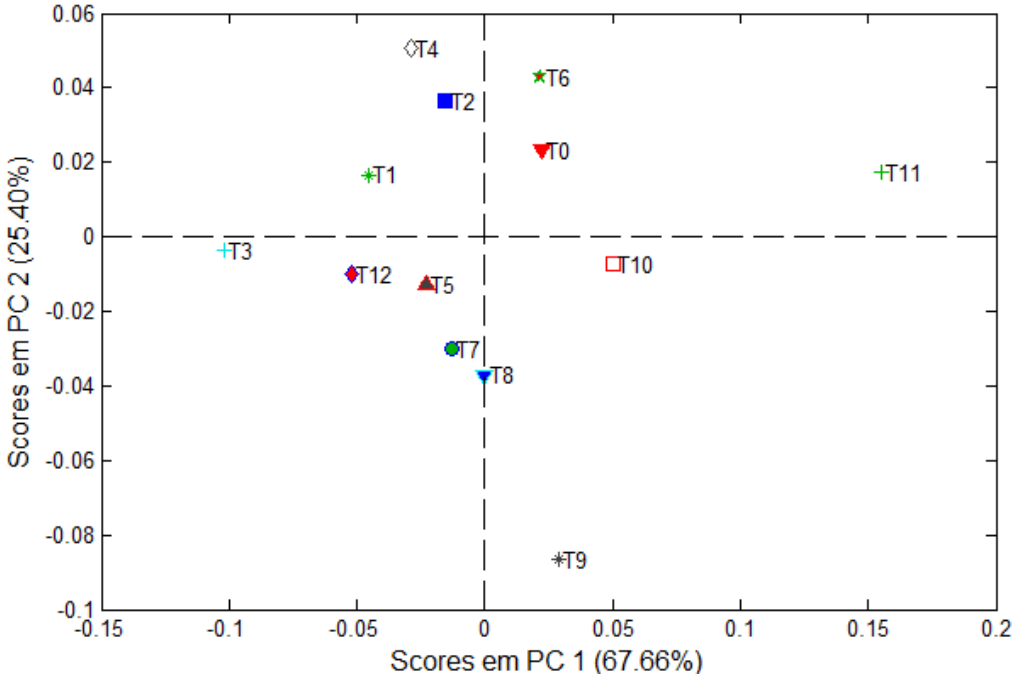

Figura 29-*Scores* de PC1 versus PC2 do modelo PCA, gerado a partir dos dados submetidos à centralização na média e MSC.

Legenda: ▼ T0 (0 dias), ✳ T1 (15dias), ■ T2 (30 dias), + T3(45 dias), ◊ T4 (60 dias), ▲ T5 (75 dias), ★ T6 (90 dias), ● T7(105 dias), ▼ T8 (120 dias), ✳ T9 (135 dias), □ T10 (150 dias), + T11(175 dias) e ♦ T12 (190 dias)

4.3.2. Análise discriminante (PLS-DA).

As amostras em estudo foram separadas em três grupos e cada grupo representa um modelo do PLS-DA, a seguir. Essa separação foi realizada porque a legislação vigente permite acrescentar a soja ao hambúrguer, na quantidade máxima de 4%, e para a pele (resíduo) foi definido que o teor máximo permitido para esse trabalho seria 5 %, pois a legislação não prevê a utilização de forma clara de pele. E a legislação não prevê a adição de coração, moela e fígado ao hambúrguer. O primeiro grupo se trata de amostras com diferentes teores de pele de frango que foram classificadas pelo modelo PLS-DA em amostras conforme (teor de pele permitido para esse trabalho) e não conforme (teor de pele não permitido para esse trabalho). Esse grupo gerou o modelo de pele de frango. O segundo modelo de PLS-DA teve como objetivo classificar o grupo das amostras com diferentes teores de soja,

em conforme (teor de soja permitido pela legislação) e não conforme (teor de soja acima do permitido pela legislação). Já o terceiro modelo, se propôs classificar as amostras como adulteradas (presença de coração, moela, fígado ou mistura de 2 ou 3 adulterantes) ou não adulteradas (hambúrguer dentro dos padrões da legislação).

Em relação ao custo a adição de pele ao hambúrguer é interessante, pois este é um resíduo quando se utiliza o peito do frango para a fabricação de hambúrguer de frango ou para outras finalidades. Já a soja também é interessante a sua utilização como substituto do peito de frango, porque possui um custo mais baixo, em torno de R$ 4,00 reais o quilograma, enquanto 1 kg de peito de frango está em torno de R$10,00. Em relação à adulteração por moela, coração e fígado também é economicamente interessante quando se pensa no custo de venda de um hambúrguer de frango, sendo a unidade de 90 g vendida em média por R$ 1,59 (aproximadamente R$18,00 kg). Comparativamente, o preço médio do coração é de R$ 11,00; do fígado é de R$ 3,00 kg e da moela é de R$ 8,00 Kg.

4.3.2.1 Modelo PLS-DA para pele de frango

Para cada formulação que compõe o modelo de pele de frango foi determinado uma porcentagem crescente de pele de frango em substituição a uma porcentagem decrescente de peito de frango. Como não há na legislação uma definição clara de permissão do uso da pele de frango, mas na definição de hambúrguer (ANEXO A) consta a possibilidade do uso de tecido adiposo, foi determinado que o teor acima de 5% seria uma amostra não conforme. De acordo com a legislação que prevê um mínimo de 15% de proteína para o hambúrguer foram elaboradas as formulações mantendo aproximadamente esse teor de proteína para todas as amostras. As formulações foram feitas para que 1 grama fosse equivalente a aproximadamente 1%. Segue a tabela 13 com a descrição das amostras que compõem o modelo. A mesma contém os valores em porcentagem e os valores gravimétricos reais em gramas. A formulação padrão contem 69% de peito, 5% de pele, 4% de conservantes e condimentos, 4% de soja e 18% de água. Para a hidratação da soja foi utilizada

quantidade de água proporcional à quantidade de soja acrescida à amostra (um grama de água para um grama de soja).

$$X\%Peito + Y\%soja + W\%pele + K\%água + Z\%conservante\ e\ comdimentos = 100\% = 100gramas, sendo\ constante\ Y, K\ e\ Z.$$ *Equação (XVIII)*

De acordo com o REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE HAMBURGUER, o mesmo deve conter no máximo 23% de gordura, no mínimo 15% de proteína, sendo que o máximo permitido para a soja é de 4%. (Anexo A).

Tabela 13-Composição das amostras conformes e não conformes que compõem o modelo de pele de frango

Formulação	Peito (%)	Peito(g)	Pele (%)	Pele(g)
1	69	69,0376	5	5,0960
2	65	65,0239	9	9,0356
3	60	60,0559	14	14,0281
4	58	58,0292	16	16,0664
5	55	55,0235	19	19,0650
6	53	53,0856	21	21,0402
7	50	50,0440	24	24,0448
8	45	45,0225	29	29,0276
9	43	43,0262	31	31,0718
10	40	40,0458	34	34,0229
11	35	35,0194	39	39,0543
12	33	33,0436	41	41,0555
13	30	30,0130	44	44,0372
14	25	25,0274	49	49,0053
15	23	23,0150	51	51,0064
16	15	15,0053	59	59,0219
17	69	69,0264	5	5,0025
18	69	69,0386	5	5,0363

A partir dos espectros obtidos pela analise das formulações descritas na Tabela 13, foi possível construir o modelo PLS-DA para a pele de frango, o

qual se propôs classificar como conforme e não conforme, as amostras de calibração e validação. Para o treinamento foram escolhidas 12 formulações de maneira aleatória. E para teste foram escolhidas 6 formulações de maneira aleatória. As amostras conformes são 1,17 e 18 (teor de pele de acordo com o definido pela legislação). As demais amostras são não conformes (teor de pele de frango acima do permitido pela legislação) (Tabela 13). Foram utilizados como pré-processamento para os dados o MSC e centralização na média. Para a validação cruzada foi utilizado o *leave one out.* Foram utilizadas 4 VL para o modelo da PLS-DA pele. Este número de VL foi escolhido com base no menor valor do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, ilustrado no gráfico da Figura 30.

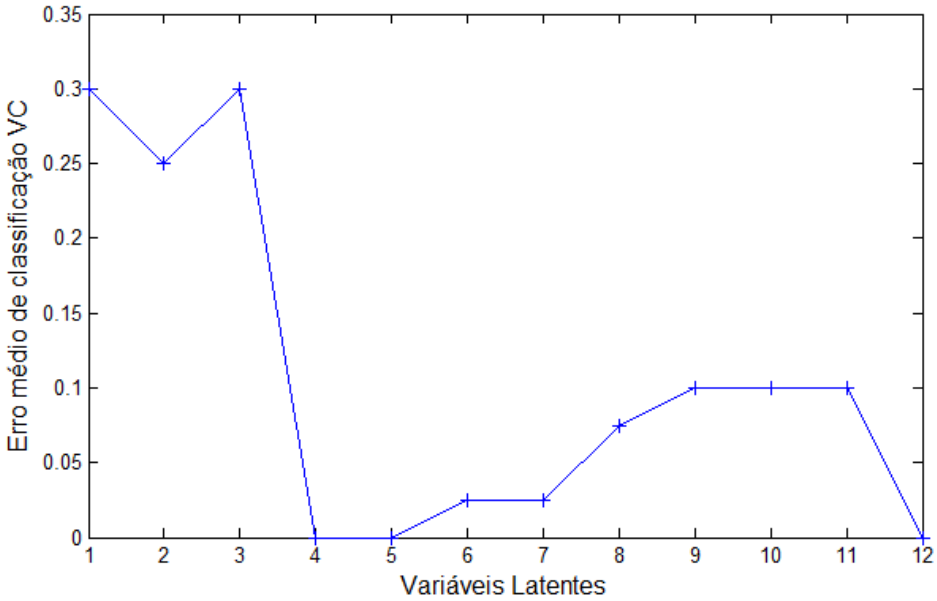

FIGURA 30-Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLS-DA pele de frango, obtido dos espectros submetidos à MSC, centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Este modelo com 4 VL explicou 99,11% da variância acumulada em X e 99,82% em Y. O conjunto de calibração apresentou sensibilidade de 90% (porcentagem de verdadeiro positivo) e especificidade (porcentagem de verdadeiro negativo) de 100%. Já o conjunto de validação apresentou os

valores de sensibilidade e especificidade de 100%, respectivamente, como descrito na tabela 14, a seguir.

Tabela 14-Parâmetros de validação e calibração do PLS-DA pele

	Treinamento	Teste
Sensibilidade (Cal)	0,90	-
Especificidade (Cal)	1,00	-
Sensibilidade (Val)	-	1,00
Especificidade (Val)	-	1,00
Erro de classificação (Cal)	0	0
Erro de classificação (CV)	0	0
Erro de classificação (Val)	-	0

A matriz de confusão com os resultados do modelo PLS-DA estão apresentados na Tabela 15, abaixo, nesta as linhas representam os dados previstos e as colunas dos dados reais.

Tabela 15- Matriz de confusão para a classificação das amostras de hambúrguer conforme e de hambúrguer não conforme, referente à pele de frango.

		Dados Reais			
		Conjunto Treinamento		**Conjunto Teste**	
Dados Previstos	**Classe**	**Não conforme**	**Conforme**	**Não Conforme**	**Conforme**
	Não conforme	10	0	5	0
	Conforme	0	2	0	1

Outra maneira de visualização da classificação das amostras em conforme e não conforme foi por meio do gráfico com os *scores* das amostras, apresentado na Figura 31. Por meio da análise visual deste foi possível identificar o *threshold* (linha tracejada em vermelho), que delimita as duas classes (conforme e não conforme). O valor do *threshold* foi calculado com base na estatística bayesiana, este cálculo foi realizado pelo *software PLStoolbox.*

No gráfico da Figura 31 está a classificação das amostras: acima do valor do *threshold* as amostras foram classificadas como não conformes e abaixo como amostras conformes.

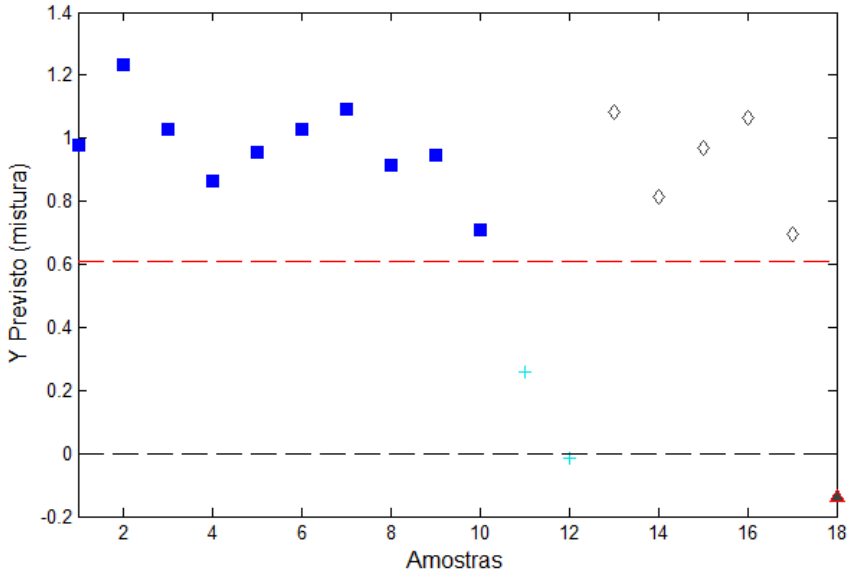

Figura 31- Gráfico de classificação das amostras conforme e não conforme de hambúrguer de frango em relação ao teor de pele, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}.

Legenda: + Padrão de hambúrguer de frango de calibração validação, ▲ Padrão de hambúrguer de frango de calibração, ◊ Amostras adulteradas de validação, ■ Amostras adulteradas de calibração.

O coeficiente de regressão do modelo gerado está apresentado em forma de gráfico pela Figura 32. Por meio da análise desta, foi possível identificar as regiões do espectro que mais contribuíram para a discriminação entre os grupos amostrais. Estas regiões são caracterizadas por apresentarem altos valores em módulo do coeficiente de regressão.

Desta maneira, como assinalado na Figura 32, os intervalos espectrais que mais contribuíram para discriminação dos hambúrgueres foram: 3674 cm^{-1} e 3445 cm^{-1}**(1)** característicos do estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra, 2918 cm^{-1} **(2)** associado a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres), 1736 cm^{-1} **(3)** associado a estiramento da ligação C=O associado a ácido graxo (lipídeo), 1653 cm^{-1} **(4)** associado ao estiramento de C=O associado à amida I**,** 1364 cm^{-1} **(5)** associado ao estiramento da ligação COO^{-} associado ao ácido graxo e cadeias

laterais de amino**,** e 1213 cm^{-1} **(6)** associado a estiramento C-O-C, relacionado a carboidratos (tabela11).

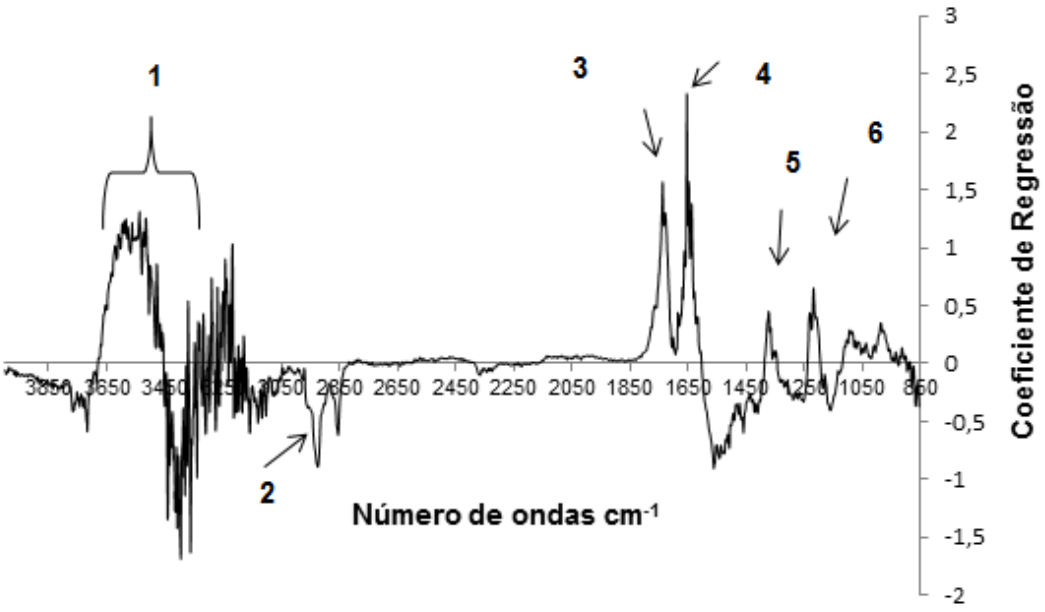

Figura 32- Coeficiente de regressão do modelo PLS-DA pele, obtido dos dados de amostras conforme e não conforme submetidos à centralização na média e MSC, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}.

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para classificar as amostras como conforme e não conforme, em relação à pele de frango.

4.3.2.2. Modelo PLS-DA para soja

Para a construção do modelo PLS-DA de soja o procedimento foi o mesmo realizado para pele de frango. Segue uma equação para melhor entendimento.

$$X\%Peito + Y\%soja + W\%pele + K\%água + Z\%conservante\ e\ condimentos = 100\% = 100gramas;\ sendo\ constante\ W, K\ e\ Z$$ *Equação(XIX)*

Tabela 16-Composição das amostras conformes e não conformes que compõem o modelo de soja

Formulação	Peito (%)	Peito(g)	Soja (%)	Soja (g)
1	69	69,0264	4	4,0242
2	65	65,0326	8	8,0183
3	60	60,0312	13	13,0436
4	58	58,0574	15	15,0184
5	55	55,0866	18	18,0110
6	53	53,0385	20	20,0362
7	50	50,0062	23	23,0494
8	45	45,0737	28	28,0215
9	43	43,0573	30	30,0225
10	40	40,0068	33	33,0085
11	35	35,0300	38	38,0069
12	33	33,0507	40	40,0280
13	30	30,0350	43	43,0459
14	25	25,0119	48	48,0380
15	23	23,0003	50	50,0218
16	20	20,0853	53	53,0377
17	69	69,0264	5	5,0025
18	69	69,0386	5	5,0363

A partir dos espectros obtidos pela analise das formulações descritas na Tabela 16, foi possível construir o modelo PLS-DA para soja, o qual se propôs classificar como conforme e não conforme, as amostras de calibração e validação. O Termo conforme e não conforme, comumente usado, significa que as amostras estão em conformidade com a legislação vigente (possui quantidade especificada em legislação) ou não. Para calibração foram escolhidas as 12 amostras, de maneira aleatória. E para validação foram escolhidas 6 amostras de maneira aleatória. As amostras conformes são 1,17 e 18 (teor de soja de acordo com o definido pela legislação). As demais amostras

são não conformes (teor de soja acima do permitido pela legislação) (Tabela 16). Foi utilizado como pré-processamento para os dados o MSC e a centralização dos dados na média. Para a validação cruzada foi utilizado o leave one out. Foram utilizadas 4 VL para o modelo da PLS-DA soja. Este número de VL foi escolhido com base no menor valor do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, ilustrado no gráfico da Figura 33.

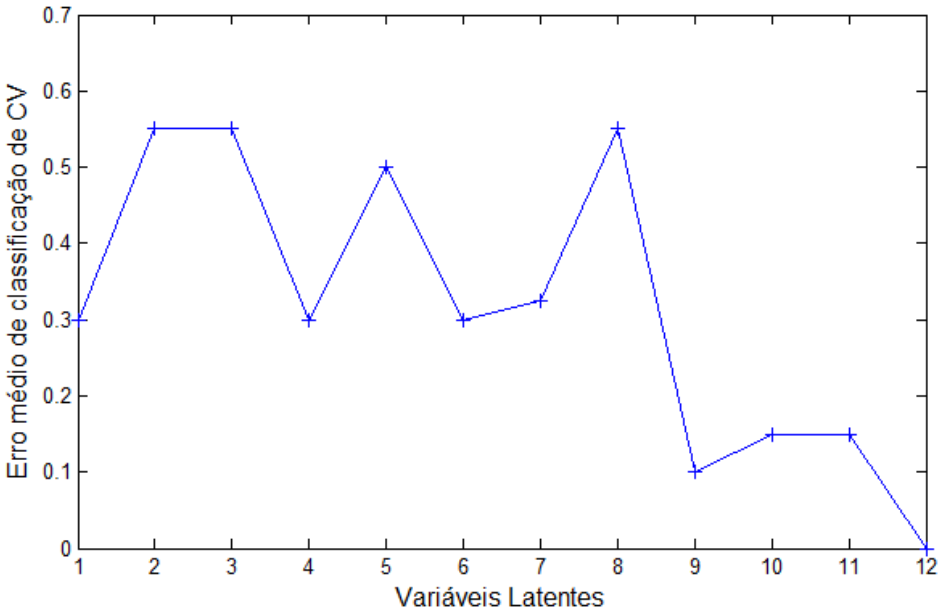

Figura 33-Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLS-DA soja obtido dos espectros submetidos à MSC e a centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Este modelo com 4 VL explicou 99,61% da variância acumulada em X e 99,93% em Y. O conjunto de calibração apresentou sensibilidade 90% (porcentagem de verdadeiro positivo) e especificidade (porcentagem de verdadeiro negativo) de 90%. Já o conjunto de validação apresentou os valores de sensibilidade e especificidade de 100%, como descrito na tabela 17.

Tabela17-Valores de validação e calibração do PLS-DA para soja

	Treinamento	Teste
Sensibilidade (Cal)	0,90	-
Especificicidade (Cal)	1,00	-
Sensibilidade (Val)	-	1,00
Especificicidade (Val)	-	1,00
Erro de classificação (Cal)	0,05	-
Erro de classificação (CV)	0,30	0,30
Erro de classificação (Val)	-	0

A matriz de confusão com os resultados do modelo PLS-DA soja estão apresentados na Tabela 18, abaixo, nesta as linhas representam os dados previstos e as colunas dos dados reais.

Tabela 18- Matriz de confusão para a discriminação das amostras de hambúrguer conforme e não conforme, referente ao teor de soja.

		Dados Reais			
		Conjunto Treinamento		**Conjunto Teste**	
Dados Previstos	**Classe**	**Não Conforme**	**Conforme**	**Não Conforme**	**Conforme**
	Não Conforme	10	0	5	0
	Conforme	0	2	0	1

Outra maneira de visualização da classificação das amostras em conforme e não conforme foi por meio do gráfico com os scores das amostras, apresentado na Figura 34. Por meio da análise visual deste foi possível identificar o *threshold* (linha tracejada em vermelho), que delimita as duas classes (conforme e não conforme). O valor do *threshold* foi calculado com base na estatística bayesiana, este cálculo foi realizado pelo *software PLStoolbox*.

No gráfico da Figura 34 estão as amostras e suas classificações, acima do valor do *threshold* as amostras foram classificadas como não conforme e abaixo como amostras conforme.

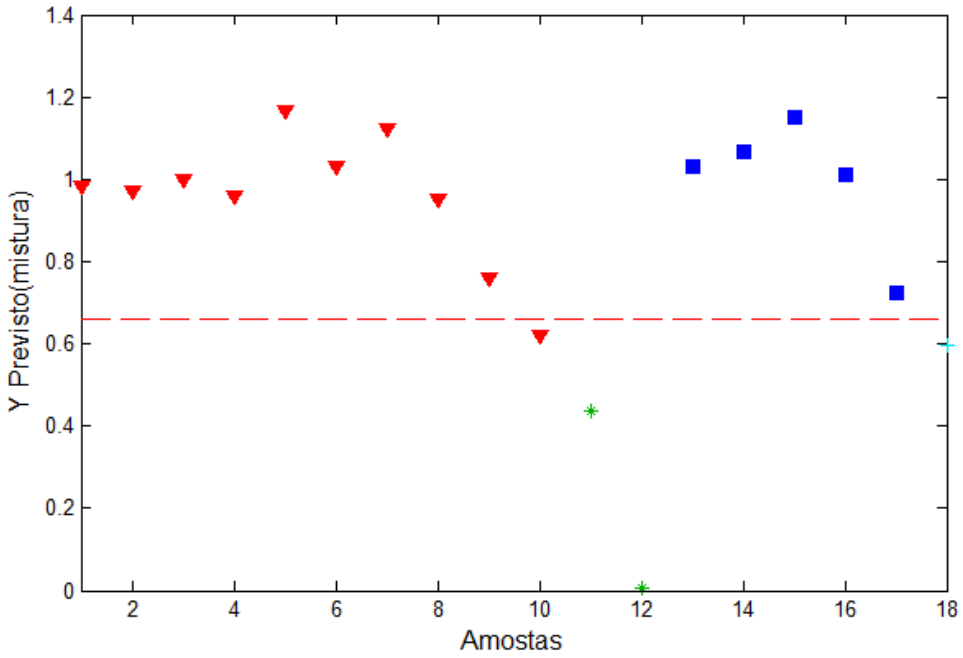

Figura 34- Gráfico de classificação das amostras conforme e não conforme de hambúrguer de frango em relação ao teor de soja, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}**.**

Legenda: ▼ Amostras de calibração, ■ Amostras de validação, ✳ Hambúrguer padrão de calibração, + Hambúrguer padrão de validação.

Na figura 35 está apresentado o gráfico com o coeficiente de regressão do modelo PLS-DA soja, obtido a partir dos dados submetidos ao pré-processamento MSC e centralização na média. E como método de validação cruzada foi utilizado o *leave one out*, sendo considerado o intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}. Por meio dessa foi possível identificar as regiões do espectro que influenciaram no processo de classificação das amostras. Estas regiões são caracterizadas a partir de picos e bandas intensos, com elevados valores em modulo para os coeficientes de regressão. Dessa maneira, os intervalos espectrais de maior influência na predição das concentrações de soja das amostras foram: 3395 cm^{-1} **(1)** associada ao estiramento da ligação OH, associada à presenta de água na amostra; 3323 cm^{-1} **(2)** associado a vibração da molécula de corresponde ao CH; 1634 cm^{-1} **(3)** associado ao estiramento de C=O associado à amida I; 1539 cm^{-1} **(4)** associado a flexão da ligação N=H e estiramento de C-H relativos à amida II; 1047 cm^{-1} **(5)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos; 3105 cm^{-1} **(6)** associado a aminoácidos; 2914

cm^{-1} associado a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); e 1736 cm^{-1} **(7)** associado a estiramento da ligação C=O associado a ácido graxo (lipídeo) (tabela11).

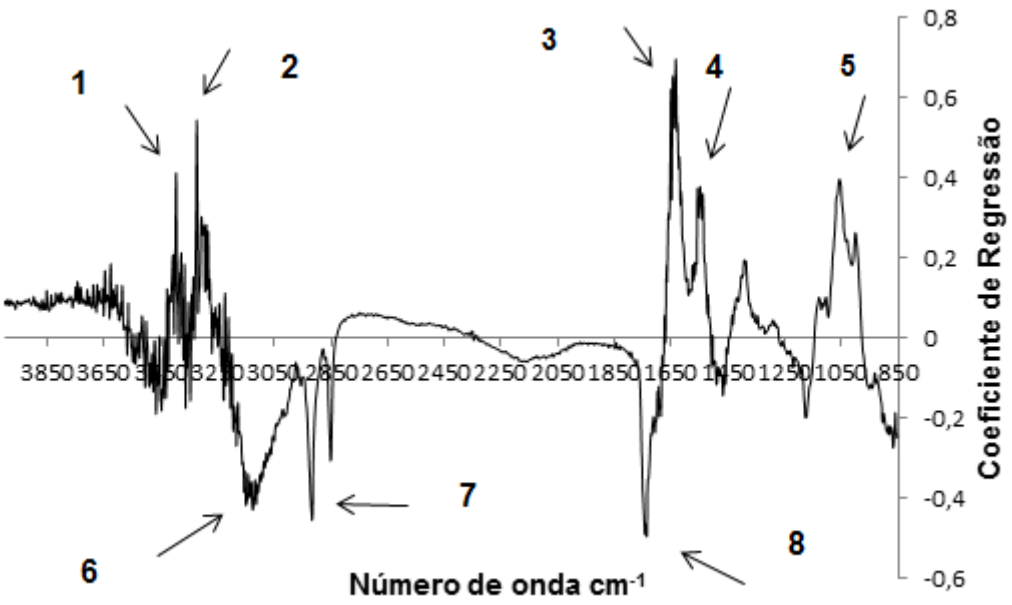

Figura 35- Coeficiente de regressão do modelo PLS-DA soja dos dados de hambúrguer conforme e não conforme, obtido dos dados submetidos a centralização na média e MSC, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}.

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para classificar as amostras como conforme e não conforme em relação ao teor de soja.

4.3.2.3. Modelo PLS-DA para moela, fígado e coração de frango

Para a construção do modelo PLS-DA de adulterantes o procedimento foi o mesmo realizado para pele de frango e soja. Segue uma equação para melhor entendimento.

$$X\%Peito + Y\%soja + W\%pele + K\%água + Z\%conservante\ e\ condimentos + A\%adulterantes\ (moela, fígado\ e\ coração) = 100\% = 100\ gramas;\ sendo\ constante\ W, K, Z\ e\ Y$$ *Equação (XX).*

Tabela 19-Composição das amostras adulteradas (fígado ou moela ou coração ou mistura de 2 ou 3 adulterantes) e não adulteradas (hambúrguer em acordo com a legislação) que compõem o modelo de adulterantes

For-mula-ção	Peito (%)	Peito (g)	Moela (%)	Moela (g)	Fígado (%)	Fígado (g)	Coração (g)	Coração (%)
1	3	3,0177	22	22,0252	22	22,0295	22	22,0293
2	9	9,0317	20	20,0034	20	20,0315	20	20,0278
3	15	15,0223	18	18,0255	18	18,0312	18	18,0150
4	21	21,0100	16	16,0310	16	16,0344	16	16,0244
5	22	22,0440	0	0	0	0	47	47,0129
6	24	24,0369	45	45,0259	0	0	0	0
7	25	25,0014	22	22,0248	0	0	22	22,0376
8	26	26,0052	0	0	43	43,0483	0	0
9	27	27,0393	14	14,0198	14	14,0081	14	14,0063
10	29	29,0098	20	20,0417	20	20,0164	0	0
11	31	31,0248	0	0	19	19,0429	19	19,0036
12	32	32,0424	0	0	0	0	37	37,0055
13	33	33,0143	12	12,0462	12	12,0137	12	12,0078
14	34	34,0208	35	35,0270	0	0	0	0
15	35	35,0470	17	17,0483	0	0	17	17,0484
16	36	36,0150	0	0	33	33,0212	0	0
17	39	39,0401	10	10,0168	10	10,0348	10	10,0085
18	41	41,0023	14	14,0009	14	14,0045	0	0
19	42	42,0398	0	0	0	0	27	27,0476
20	44	44,0368	25	25,0236	0	0	0	0
21	45	45,0463	8	8,0090	8	8,0479	8	8,0476
22	46	46,0220	0	0	23	23,0119	0	0
23	47	47,0083	0	0	11	11,0461	11	11,0200
24	51	51,0370	6	6,0069	6	6,0257	6	6,0034
25	52	52,0168	0	0	0	0	17	17,0055
26	54	54,3590	15	15,0097	0	0	0	0
27	55	55,0300	7	7,0025	0	0	7	7,0383
28	56	56,0668	0	0	13	13,0349	0	0
29	57	57,0377	4	4,0405	4	4,0255	4	4,0465
30	59	59,0399	5	5,0020	5	5,0106	0	0
31	62	62,0309	0	0	0	0	7	7,0063
32	63	63,0445	2	2,0081	2	2,0029	2	2,0188
33	64	64,0446	5	5,0201	0	0	0	0
34	66	66,0250	0	0	3	3,0097	0	0
35*	69	69,0386	0	0	0	0	0	0
36*	69	69,0376	0	0	0	0	0	0
37*	69	69,0264	0	0	0	0	0	0

*Amostras não adulteradas.

A partir dos espectros obtidos pela analise das formulações descritas na Tabela 18, foi possível construir o modelo PLS-DA adulterante (coração, moela e fígado), o qual se propôs para classificar em adulterada e não adulterada as amostras de calibração e validação. Para calibração foram escolhidas 24 amostras de maneira aleatória. E para validação foram escolhidas 13 amostras. Foi utilizado como pré-processamento para os dados o MSC e a centralização na média. E como método de validação cruzada foi utilizado o *leave one out*. Foram utilizadas 3 VL para o modelo PLS-DA adulterante. Este número de VL foi escolhido com base no menor valor do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, ilustrado no gráfico da Figura 36.

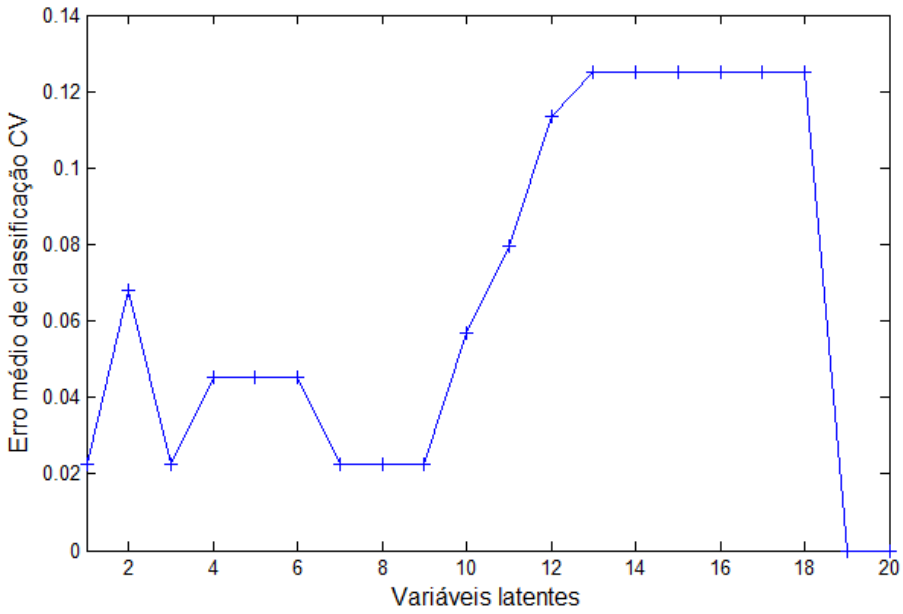

Figura 36-Número de variáveis latentes em função do Erro Médio de Classificação de Validação Cruzada, do modelo PLS-DA obtido dos espectros submetidos à MSC, a centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Este modelo com 3 VL explicou 85,08% da variância acumulada em X e 52,51% em Y. O conjunto de calibração apresentou sensibilidade 95,5% (porcentagem de verdadeiro positivo) e especificidade (porcentagem de verdadeiro negativo) de 100%. Já o conjunto de validação apresentou os valores de sensibilidade e especificidade de 100% e 95,5%, respectivamente, como descrito na tabela 20.

Tabela 20-Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS-DA para adulterantes

	Treinamento	**Teste**
Sensibilidade (Cal)	0,95	-
Especificicidade (Cal)	1,00	0,95
Sensibilidade (Val)	-	1,00
Especificicidade (Val)	-	1,00
Erro de Classificação (Cal)	0,02	-
Erro de Classificação(CV)	0,02	0,02
Erro de Cassificação(Val)	-	0

A matriz de confusão com os resultados do modelo PLS-DA adulterante estão apresentados na Tabela 21, a seguir, nesta as linhas representam os dados previstos e as colunas dos dados reais.

Tabela 21- Matriz de confusão para a discriminação das amostras de hambúrguer adulterados das amostras não adulteradas (hambúrguer puro).

		Dados Reais			
		Conjunto Treinamento		**Conjunto Teste**	
Dados Previstos	**Classe**	**Hambúrguer Adulterado**	**Hambúrguer**	**Hambúrguer Adulterado**	**Hambúrguer**
	Hambúrguer Adulterado	21	0	12	0
	Hambúrguer	1	2	0	1

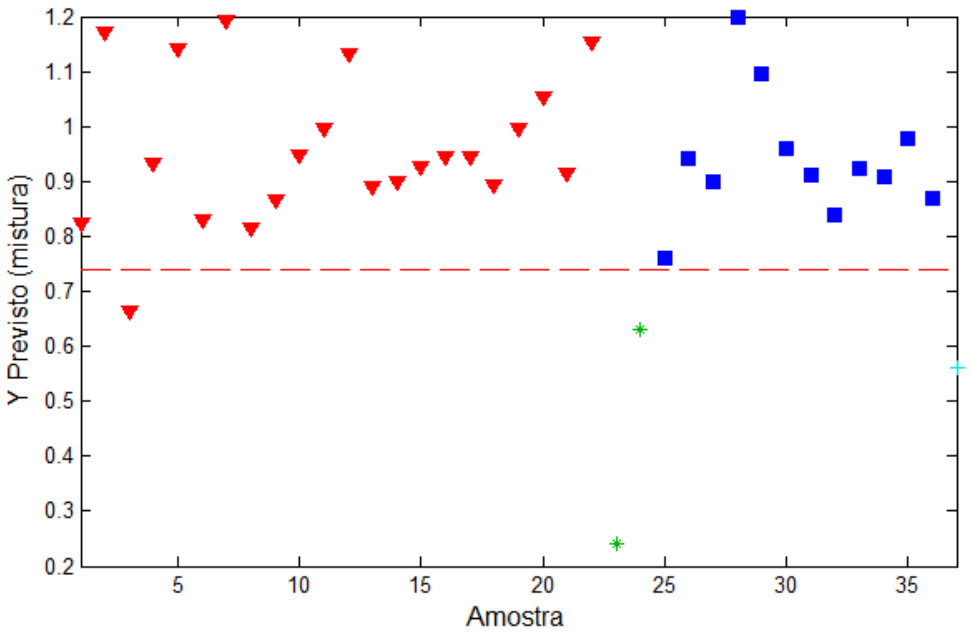

Figura 37-Gráfico de classificação das amostras adulteradas e não adulteradas de hambúrguer de frango, dos dados submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}.

Legenda: ▼ Amostras de calibração, ■ Amostras de validação, ✳ Hambúrguer padrão de calibração, + Hambúrguer padrão de validação

Na figura 38 está apresentado o gráfico com o coeficiente de regressão do modelo PLS-DA adulterante, obtido a partir dos dados submetidos ao pré-processamento MSC e centralização na média. E como método de validação cruzada *leave one out*, sendo considerado o intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}. Por meio dessa foi possível identificar as regiões do espectro que influenciaram no processo de classificação das amostras. Estas regiões são caracterizadas a partir de picos e bandas intensos, com elevado valores em modulo para os coeficientes de regressão. Dessa maneira, os intervalos espectrais de maior influência na classificação das concentrações de soja das amostras foram: 3372 cm^{-1} **(1)** associado ao estiramento da ligação O-H, associada à presenta de água na amostra; 2918 cm^{-1} **(2)** associado a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); 2851 cm^{-1} **(3)** associado a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); e 1078 cm^{-1} **(4)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos (tabela11).

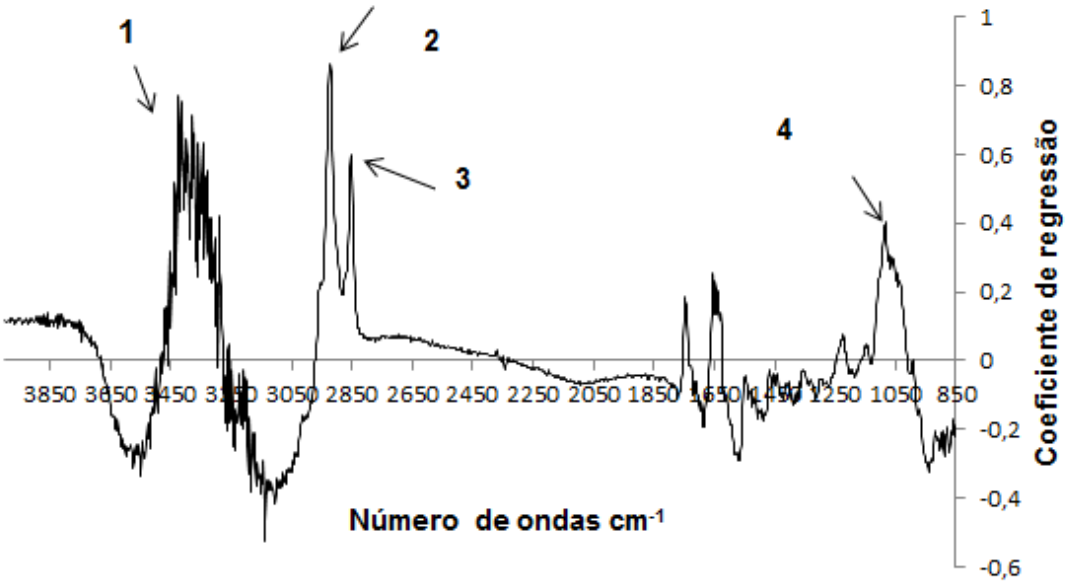

Figura 38- Coeficiente de regressão do modelo PLS-DA adulterantes, obtido dos dados de hambúrguer adulterado e não adulterado, submetidos à MSC e à centralização na média, na faixa de 4000 a 850 cm^{-1}.

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para classificar as amostras como adulteradas e não adulteradas, para as amostras testadas.

4.3.3. Analise quantitativa por PLS

As amostras em estudo foram separadas em três grupos e cada grupo representa um modelo PLS. Essa separação foi realizada porque a legislação vigente permite acrescentar a soja ao hambúrguer, na quantidade máxima de 4%. Em relação a pele de frango como não há na legislação uma definição clara de permissão do uso, mas na definição de hambúrguer (ANEXO A) consta a possibilidade do uso de tecido adiposo, foi determinado que o teor acima de 5% seria uma amostra não conforme para pele de frango. Em relação à adição de coração, moela e fígado ao hambúrguer a legislação não prevê o uso, visto como adulterantes.

O primeiro grupo se trata de amostras com diferentes teores de pele de frango que foram quantificadas pelo modelo PLS pele. O objetivo foi obter o

teor de pele em cada amostra, tanto das amostras conforme (teor de pele abaixo de 5%), quanto das amostras não conformes (teor de pele acima de 5%), as amostras utilizadas para a construção do modelo foram descritas na tabela 13. Esse grupo gerou o modelo PLS de pele de frango, sendo que a porcentagem de não conformidade varia de 5% a 59%.

O segundo grupo se trata de amostras com diferentes teores de soja que foram quantificadas pelo modelo PLS soja. O modelo de PLS soja teve como objetivo quantificar cada amostra pertencente ao grupo das amostras com diferentes teores de soja, amostras conforme (teor de soja permitido pela legislação) e amostras não conforme (teor de soja não permitido pela legislação), as amostras utilizadas para a construção do modelo foram descritas na tabela 16. Esse grupo gerou o modelo PLS soja, sendo que a porcentagem de não conformidade varia de 4% a 53%.

Já o terceiro modelo PLS foi construído para quantificar os diferentes graus de adulteração das amostras, que podem conter coração ou moela ou fígado ou mistura de 2 ou 3 adulterantes. No entanto, para esse modelo foi utilizado um total de 29 amostras, descritas anteriormente na tabela 19.

As amostras retiradas da tabela 9 para compor o *dataset* de calibração foram 18; e as amostras retiradas da tabela 9 para compor o *dataset* de validação foram 11, sendo que, a porcentagem de adulteração varia de 3% a 47%.

4.3.3.1 Modelo PLS para pele de frango

Neste modelo PLS pele foi aplicado como pré-processamento o MSC e a centralização dos dados na média para Xc (*dataset* da calibração) e Xv (*dataset* da validação). Para Yc (*dataset* da calibração) e Yv (*dataset* da validação) foi aplicado apenas centralização na média, sendo que, X corresponde aos dados espectrais e y corresponde à concentração de adulterantes. E para validação cruzada foi utilizado o *leave-one out*. O modelo PLS pele, foi obtido utilizando a faixa espectral de 4000 a 850 cm^{-1}. Para a construção desse modelo foram utilizadas as amostras da tabela 13, já dito anteriormente. Dessa maneira, as 18 amostras empregadas no modelo

apresentaram concentrações variando de 5% a 59%. Do total de amostras foram empregadas 12 amostras para o conjunto de calibração e 6 amostras para o conjunto de validação, a escolha do conjunto calibração e validação foram feitas aleatoriamente.

O objetivo principal desse modelo foi quantificar as amostras conforme e não conforme. Foi selecionado o melhor modelo dentre os testados durante as analise para ser inserido neste trabalho. O melhor modelo foi selecionado com base nos principais parâmetros (RMSEC, RMESV, R^2c e R^2v). O número de variáveis latentes é definido pelo menor valor de RMSECV, como ilustrado na figura 39. O número de variáveis latentes a ser usado é aquele que se tem o menor erro de previsão para RMSECV, sem se ter um grande aumento da complexidade do modelo (Ferrarine, 2004). Desse modo, foi observado que para 3VL obtinha-se um modelo de PLS pele com um menor valor para o RMSECV. Foi utilizando 3 variáveis latentes o modelo explicou 98,85% da variância acumulada em X e explicou 96,98% da variância acumulada em Y.

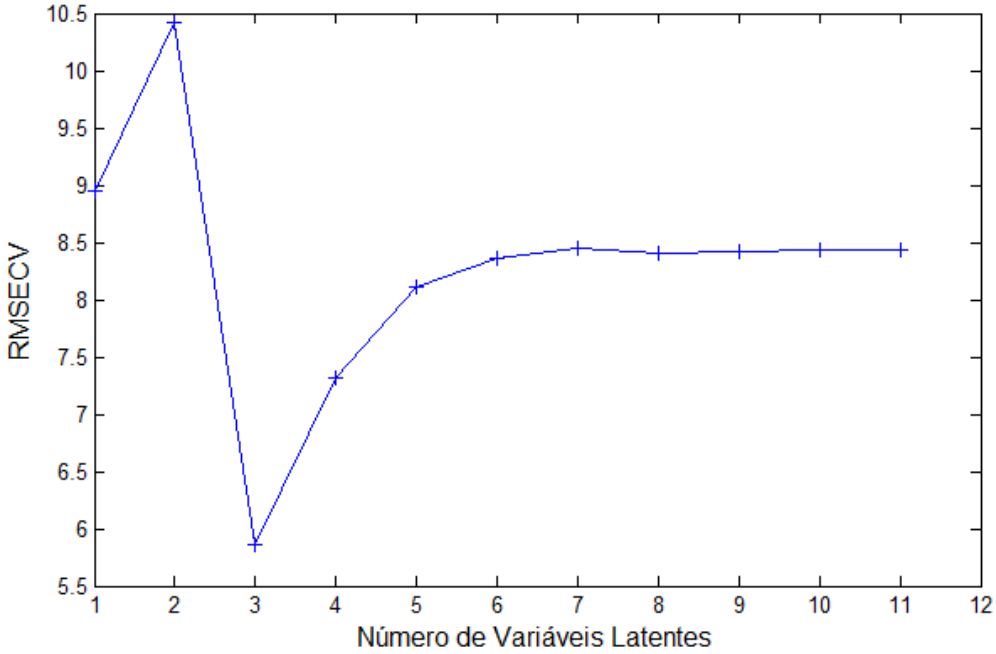

Figura 39-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS pele de frango, obtido dos dados submetidos ao cálculo do MSC seguido de centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

A tabela 22, abaixo, está descrevendo os valores dos parâmetros anteriormente citados para o modelo de pele de frango.

Tabela 22-Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS-para pele de frango

Erros	Treinamento	Teste
RMSEC	3,04	-
RMSECV	5,86	5,86
RMSEP	-	2,30
Rc^2	0,91	-
Rv^2	-	0,98

O gráfico da figura 40 ilustra a correção entre os valores das concentrações experimentais (valores obtidos por pesagem em balança analítica) e as concentrações previstas (valores previstos pelo o modelo PLS pele). Como já foi dito, este modelo PLS pele apresentou coeficiente de calibração (Rc^2) 0.994 e coeficiente de validação (Rv^2) de 0.963.

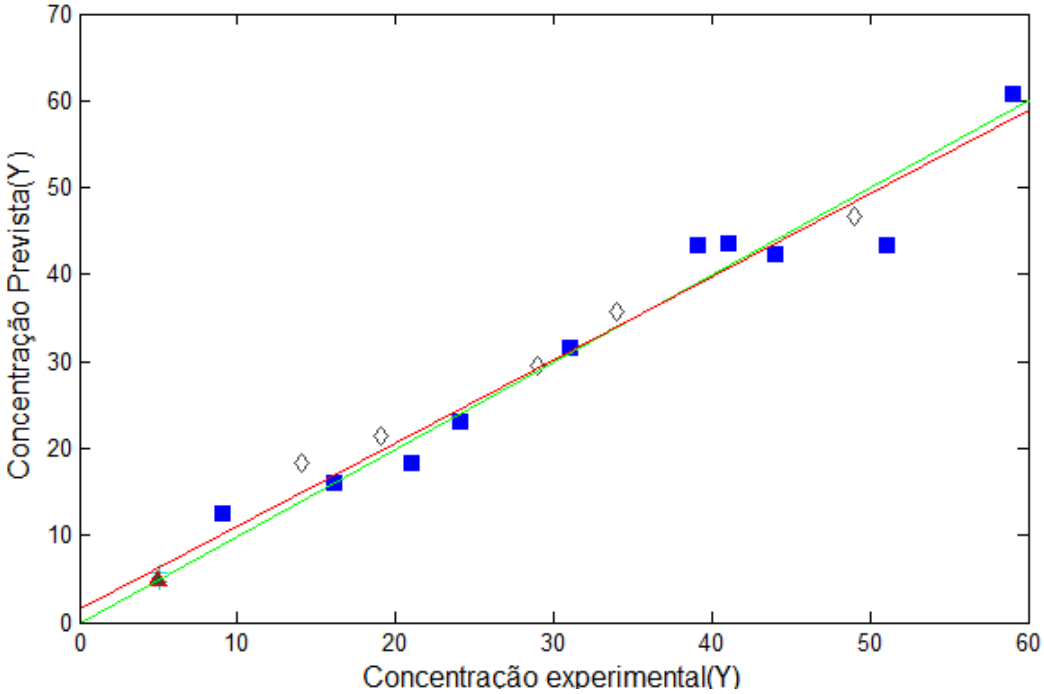

Figura 40- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS pele de frango, obtido dos dados submetidos ao MSC e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Legenda: ■ Amostrasde calibração, ◊ Amostras de validação, + Hambúrguer padrão de calibração, ▲ Hambúrguer padrão de validação.

Analisando o gráfico da figura 40, foi possível observar que o modelo PLS pele apresentou uma boa correlação entre os dados experimentais e os dados previstos. A partir do modelo PLS pele com 4VL, foi gerado os gráficos *Leverage* versus resíduo de student e o gráfico T^2 de *hotteling* versus resíduo Q, com intenção de identificar *outliers*. Contudo, o modelo PLS pele não apresentou *outliers*.

Na figura 41 está apresentado o gráfico com o coeficiente de regressão do modelo PLS pele. Por meio dessa foi possível identificar as regiões do espectro que influência no processo de predição das amostras. Estas regiões são caracterizadas a partir de picos e bandas intensos, com elevado valores em modulo para os coeficientes de regressão. Dessa maneira, os intervalos espectrais de maior influência na predição das concentrações de pele das amostras foram: 3196 cm^{-1} **(1)** associado ao estiramento da ligação O-H, associada à presenta de água na amostra; 1734 cm^{-1} **(2)** associado ao estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); 1140 cm^{-1} – 991 cm^{-1} **(3)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos; 1630 cm^{-1} **(4)** associado ao estiramento de C=O associado à amida I; e 1545 cm^{-1} **(5)** associado à flexão da ligação N=H e estiramento de C-H relativos à amida II (tabela11).

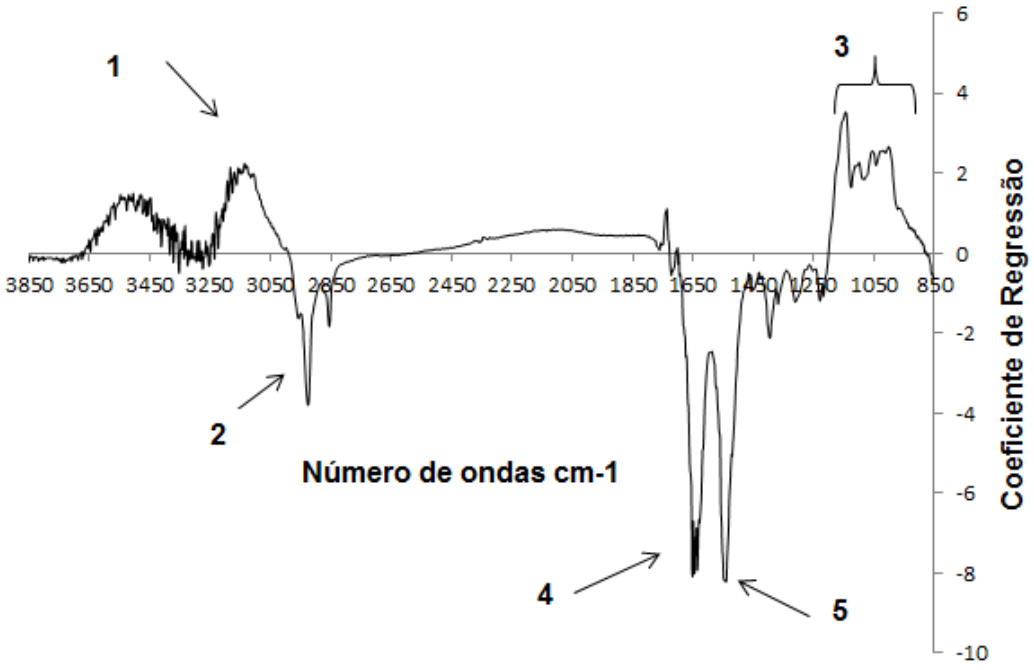

Figura 41-Coeficiente de regressão do modelo PLS pele de frango obtido dos dados submetidos à MSC, e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Na tabela 23, anexo B, estão os valores experimentais, os valores previstos e os erros relacionados para cada amostra de calibração e validação que constituem o modelo PLS pele. Obtendo um faixa de erro relativo para calibração variando de 39,5539% a – 14,8208%, para a validação de 30,6194 % a -4,7150%.

Tabela23-Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS pele (valores em porcentagem).

	Valores Experimentais	Valores Preditos	Erro
Calibração	59,0220	60,8296	3,0625
	51,0060	43,4465	-14,8208
	44,0370	42,3074	-3,9276
	41,0560	43,6475	6,3121
	39,0540	43,4090	11,1514
	31,0720	31,5408	1,5087
	24,0450	23,0151	-4,2834
	21,0400	18,4279	-12,4148
	16,0660	16,0877	0,1351
	9,0360	12,6101	39,5539
	5,0960	4,6106	-9,5251
	5,0363	5,6342	11,8709
Validação	49,0053	46,6947	-4,7150
	34,0229	35,6618	4,8171
	29,0276	29,5790	1,8995
	19,0650	21,3439	11,9536
	14,0281	18,3234	30,6194
	5,0025	4,9101	-1,8469

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para identificar uma porcentagem de amostras não conforme de valores maiores que 5% e menores ou iguais a 59%. Obtendo esse resultado com baixos níveis de pré-processamento dos dados utilizados no modelo.

4.3.3.2. Modelo PLS para soja

O modelo PLS soja, foi obtido utilizando a faixa espectral de 4000 a 850 cm^{-1}. Para a construção desse modelo foram utilizadas as amostras da tabela 10, já dito anteriormente. Dessa maneira, as 18 amostras empregadas no modelo com concentrações variando de 4% a 53%. Do total de amostras foram empregadas 12 amostras para o conjunto de calibração (tabela 16) e 6 amostras (tabela 16) para o conjunto de validação, sendo as escolhas aleatórias.

O objetivo principal desse modelo foi quantificar as amostras conformes e não conformes. Foi selecionado o melhor modelo dentre os testados durante as analise para ser inserido neste trabalho. O melhor modelo foi selecionado com base nos principais parâmetros (RMSEC, RMESV, R^2c e R^2v). O número de variáveis latentes foi definido como 5, foi observado que a variação do valor de RMSECV foi pequena após 5 VL, apresentando-se praticamente constante , como ilustrado na figura 39. Com 5 variáveis latente o modelo explicou 99,76% da variância acumulada em X e explicou 99,99% da variância acumulada em Y.

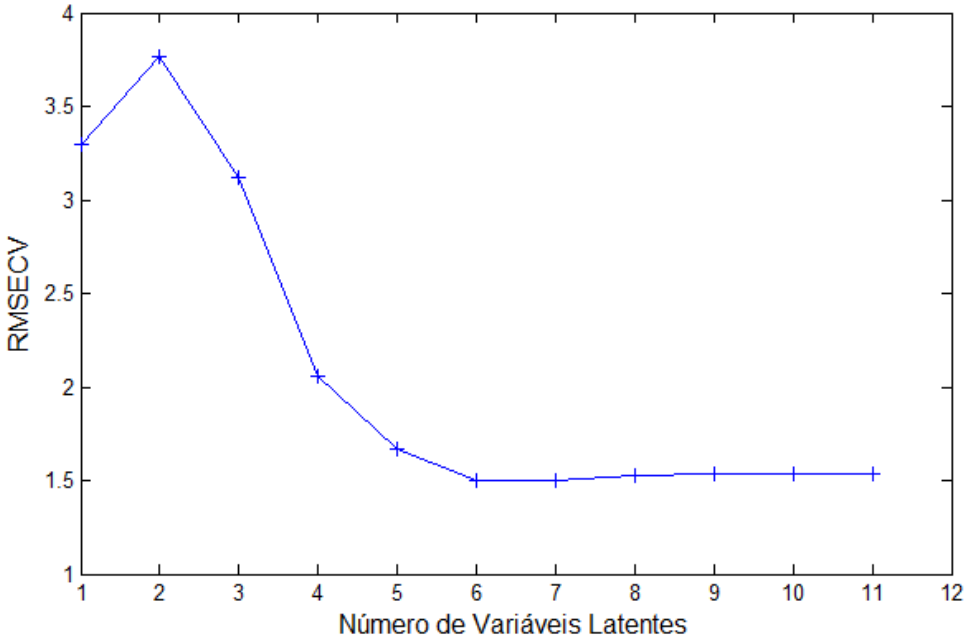

Figura 42-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS soja, obtido dos dados submetidos ao cálculo do MSC seguido de centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

A tabela 24, abaixo, está descrevendo os valores dos parâmetros anteriormente citados para o modelo de soja.

Tabela 24-Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS soja

Erros	Treinamento	Teste
RMSEC	0,16	-
RMSECV	1,67	1,67
RMSEP	-	1,06
Rc^2	-	0,99
Rv^2	1,00	-

O gráfico da figura 43 ilustra a reta formada pelos valores das concentrações experimentais (valores obtidos por pesagem em balança analítica) e as concentrações previstas (valores previstos pelo modelo PLS soja). Como já foi dito, este modelo PLS soja apresentou coeficiente de calibração (Rc^2) de 1,000 e coeficiente de validação (Rv^2) de 0,996.

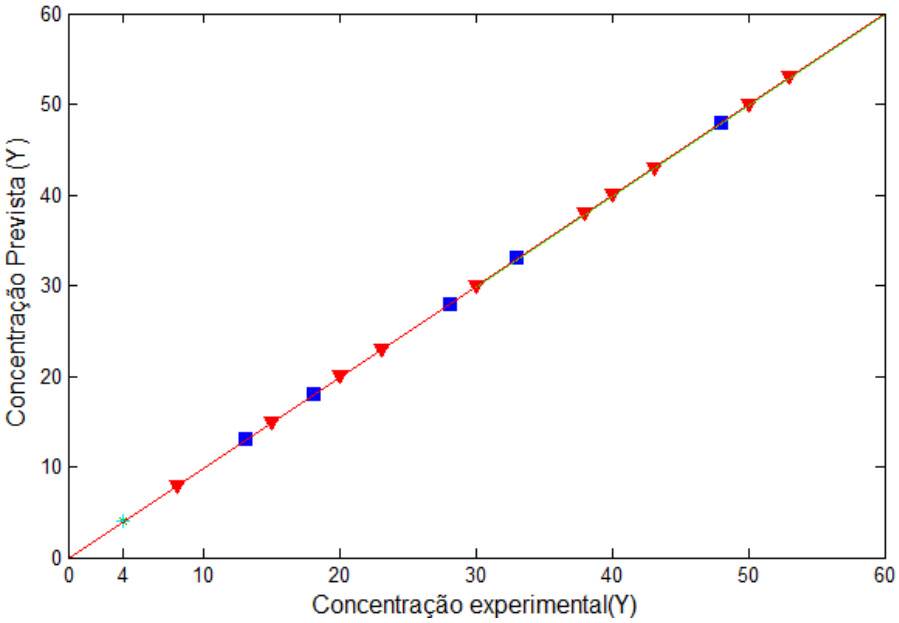

Figura 43- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS soja, obtido dos dados submetidos ao MSC e à centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Legenda: ▼ Amostras de calibração, ■ Amostras de validação, ✳ Hambúrguer padrão de calibração, + Hambúrguer padrão de validação.

Analisando o gráfico da figura 43, foi possível observar que o modelo PLS soja apresentou uma boa correlação entre os dados experimentais e os dados previstos. A partir do modelo PLS soja com 5VL, foi gerado os gráficos *Leverage* versus resíduo de *student* e o gráfico T^2 de *hotteling* versus resíduo

Q, com intenção de identificar *outliers*. Contudo, o modelo PLS soja não apresentou *outliers*.

Na figura 44 está apresentado o gráfico com o coeficiente de regressão do modelo PLS soja, obtidos a partir dos dados submetidos ao pré-processamento MSC e centralização na média. E como método de validação cruzada *leave one out*, sendo considerado o intervalo de 4000 a 850 cm^{-1}. Por meio dessa foi possível identificar as regiões do espectro que influência no processo de predição das amostras. Estas regiões são caracterizadas a partir de picos e bandas intensos, com elevado valores em modulo para os coeficientes de regressão. Dessa maneira, os intervalos espectrais de maior influência na predição das concentrações de soja das amostras foram: 1366 cm^{-1} **(1)** associado ao estiramento da ligação COO^- associado com acido graxo e cadeias laterais de amino; 1051 cm^{-1} **(2)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos; 2914 cm^{-1} **(3)** associado a bandas de estiramento de CH de moléculas de lipídeos (ésteres); e 1171 cm^{-1} **(4)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos (tabela11).

.

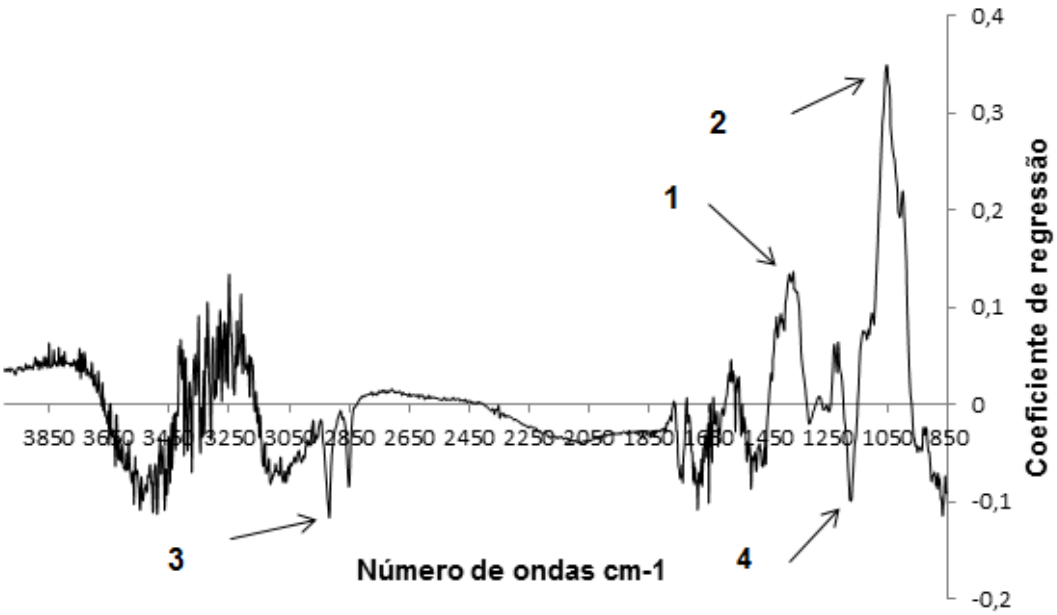

Figura 44-Coeficiente de regressão do modelo PLS soja dos dados submetidos à MSC e centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Na tabela 25, estão os valores experimentais, os valores previstos e os erros relacionados para cada amostra de calibração e validação que constituem o modelo PLS soja. Obtendo uma faixa de erro relativo para calibração variando de 4,7678% a – 2,1973%, para validação de 13,7717 % a– 2,1331.

Tabela 25-Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS soja (valores em porcentagem).

	Valores Experimentais	**Valores Previstos**	**Erro**
Calibração	53,0377	52,8971	-0,2651
	50,0218	50,0210	-0,0016
	43,0459	42,8882	-0,3663
	40,0280	40,3196	0,7285
	38,0069	38,1886	0,4781
	30,0225	30,0738	0,1709
	23,0494	22,9891	-0,2617
	20,0362	20,0002	-0,1794
	15,0184	14,6884	-2,1973
	8,0183	8,0452	0,3359
	4,0242	4,2161	4,7678
	4,0159	3,9978	-0,4500
Validação	48,0308	47,5319	-1,0387
	33,0085	32,3044	-2,1331
	28,0215	29,6672	5,8731
	18,0110	18,1354	0,6906
	13,0436	14,8399	13,7717
	4,0794	4,0330	-1,1385

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para identificar uma porcentagem de amostras não conforme de valores maiores que 4% e menores ou iguais a 53%. Obtendo esse resultado com baixos níveis de pré-processamento dos dados utilizados no modelo.

4.3.3.3 Modelo PLS adulterantes (moela, fígado e coração de frango)

Neste modelo PLS adulterantes foram aplicados como pré-processamento a derivada à primeira, MSC e a centralização dos dados na média para Xc (*dataset* da calibração) e Xv (*dataset* da validação). Para Yc (*dataset* da calibração) e Yv (*dataset* da validação) foi aplicado apenas centralização na média, sendo que, X corresponde aos dados espectrais e y corresponde à concentração de adulterantes. E para validação cruzada foi utilizado o *leave-one out*. O modelo PLS adulterantes foi obtido utilizando a faixa espectral de 4000 a 850 cm^{-1}. Para a construção desse modelo foram utilizadas as amostras da tabela 19, já dito anteriormente. Dessa maneira, as 29 amostras empregadas no modelo possuem concentrações de 2% a 47%. Do total de amostras foram empregadas 18 amostras para o conjunto de calibração (tabela 19) e 11 amostras (tabela 19) para o conjunto de validação, sendo que a escolha do conjunto calibração e validação foram feitas aleatoriamente.

O objetivo principal desse modelo foi quantificar as amostras adulteradas (coração, moela, fígado, ou mistura de 2 ou 3 adulterantes). Foi selecionado o melhor modelo dentre os testados durante as analise para ser inserido neste trabalho. O melhor modelo foi selecionado com base nos principais parâmetros (RMSEC, RMESV, R^2c e R^2v). O número de variáveis latentes a ser usado é aquele que no qual se tem o menor erro de previsão para RMSECV, sem ter um grande aumento da complexidade do modelo (Ferrarine, 2004). O número de variáveis latentes foi definido como 5, foi observado que a variação do valor de RMSECV foi pequena após 5VL, apresentando-se praticamente constante , como ilustrado na figura 45. Com 5 variável latente foi explicado 85,70% da variância acumulada em X e explicado 99,67% da variância acumulada em Y.

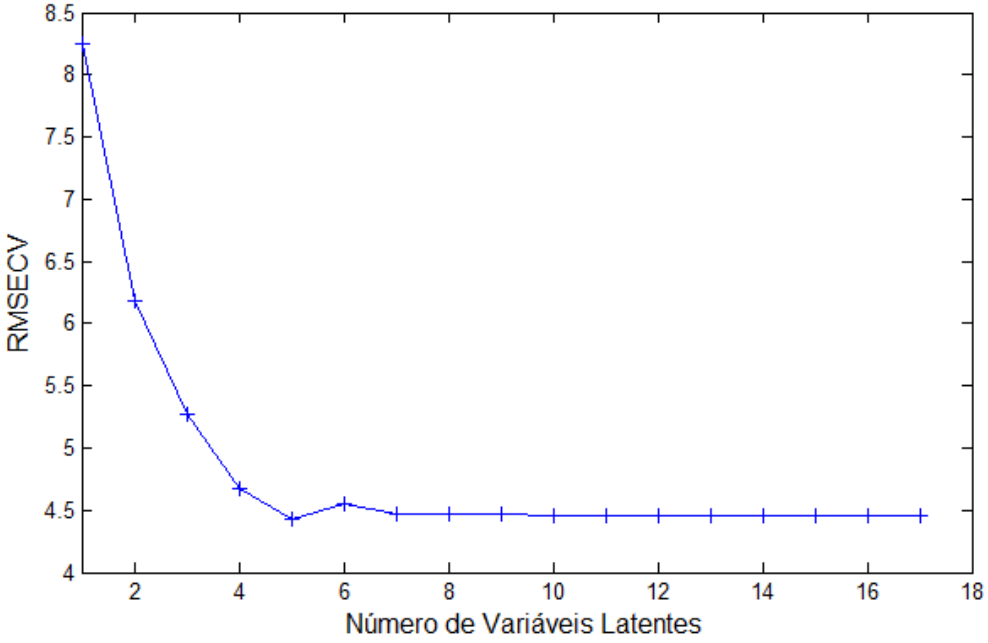

FIGURA 45-Número de variáveis latentes em função do RMSECV, do modelo PLS adulterantes, obtido dos dados submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC, e centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

São apresentados na tabela 26 os valores dos parâmetros anteriormente citados para o modelo PLS adulterante.

Tabela 26-Parâmetros de calibração e validação do Modelo PLS adulterantes

	Treinamento	**Teste**
RMSEC	0,78	-
RMSECV	4,42	4,42
RMSEP	-	3,45
R^2	0,99	-
R^2	-	0,94

O gráfico da figura 46 ilustra a correção entre os valores das concentrações experimentais (valores obtidos por pesagem em balança analítica) e as concentrações previstas (valores previstos pelo modelo PLS adulterante). Como já foi dito, este modelo PLS adulterantes apresentou coeficiente de calibração 0,997 (Rc^2) de e coeficiente de validação de 0,936 (Rv^2).

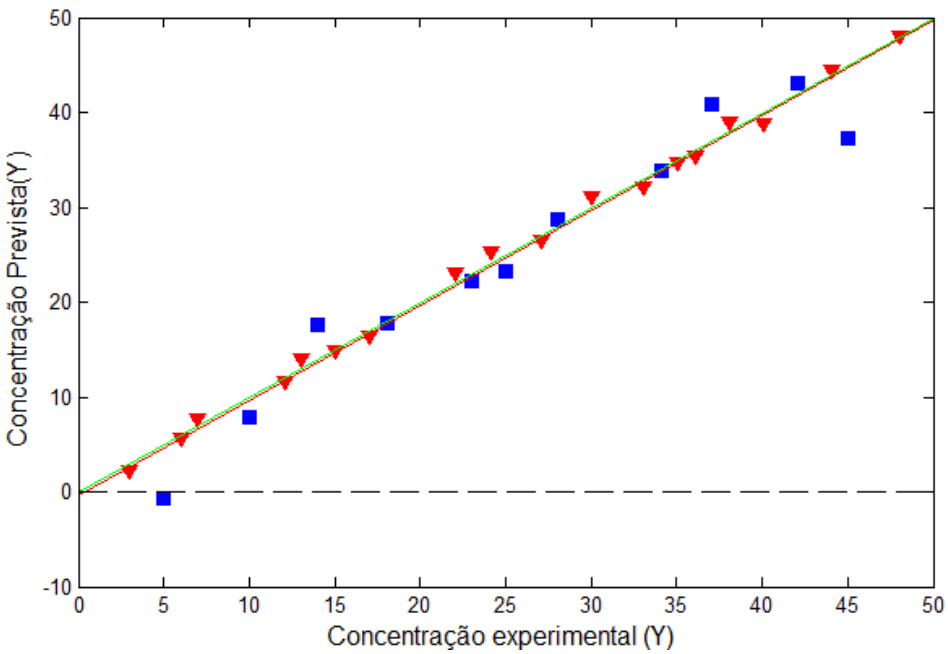

Figura 46- Valores experimentais versus valores previstos pelo modelo PLS de adulterantes, obtido dos dados submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC e à centralização na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Legenda: ■ amostras de validação, ▼ amostras de calibração.

Analisando o gráfico da figura 46, foi possível observar que o modelo PLS adulterantes apresentou uma boa correlação entre os dados experimentais e os dados previstos. A partir do modelo PLS adulterantes com 5VL, foram gerados os gráficos *Leverage* versus resíduo de *Student* e o gráfico T^2 de *Hotteling* versus Resíduo Q, com intenção de identificar *outliers*, considerando que o indicado é executar até 3 rodadas de retirada de amostras anômalas (Valderrama et. al., 2007).

No gráfico da figura 47, não há presença de outliers porque não existe nenhuma amostra que tenham elevados valores do leverage e do resíduo de *Student*, simultaneamente. Neste gráfico foram plotados apenas as amostras que foram usadas para conjunto de calibração. São consideradas amostras anômalas quando estas apresentam valores de resíduos de *Student* maior que 3 ou -3 (Wisw et al.,2006), que não ocorre para esse modelo.

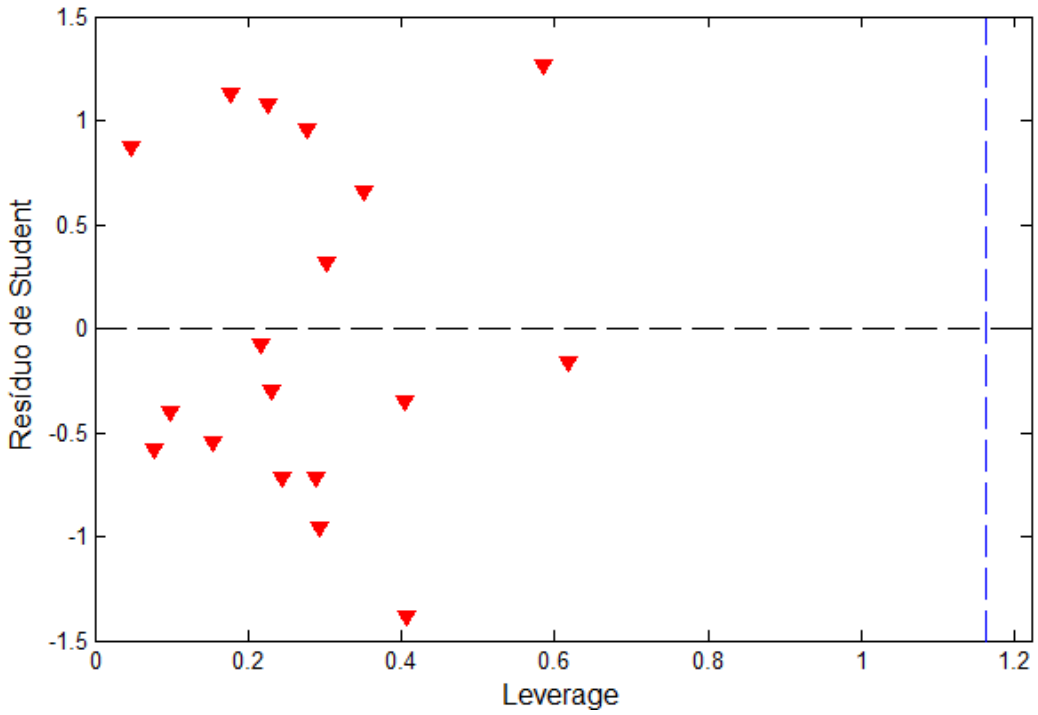

Figura 47– Gráfico do *Levarage* versus resíduo de *Student* dos dados de calibração, no intervalo de 4000-850 cm-1, submetidos ao cálculo da derivada a primeira, MSC e centralização dos dados na média.

Legenda: ▼ amostras de calibração

O gráfico da figura 48 que mostra os valores de T^2 de *Hotteling* versus Resíduos Q, também foi usado para identificação de *outliers*, neste foram plotados o grupo de amostras de validação e o grupo de amostras de calibração. Sendo que os *outliers* foram caracterizados por alto valor de T^2 de *Hotteling* e de Resíduo de Q. Realizando a analise do gráfico da figura 48 foi observado que não há presença de nenhum *outlier,* pois nenhuma das amostras se encontra após os limites das linhas em azul tracejadas.

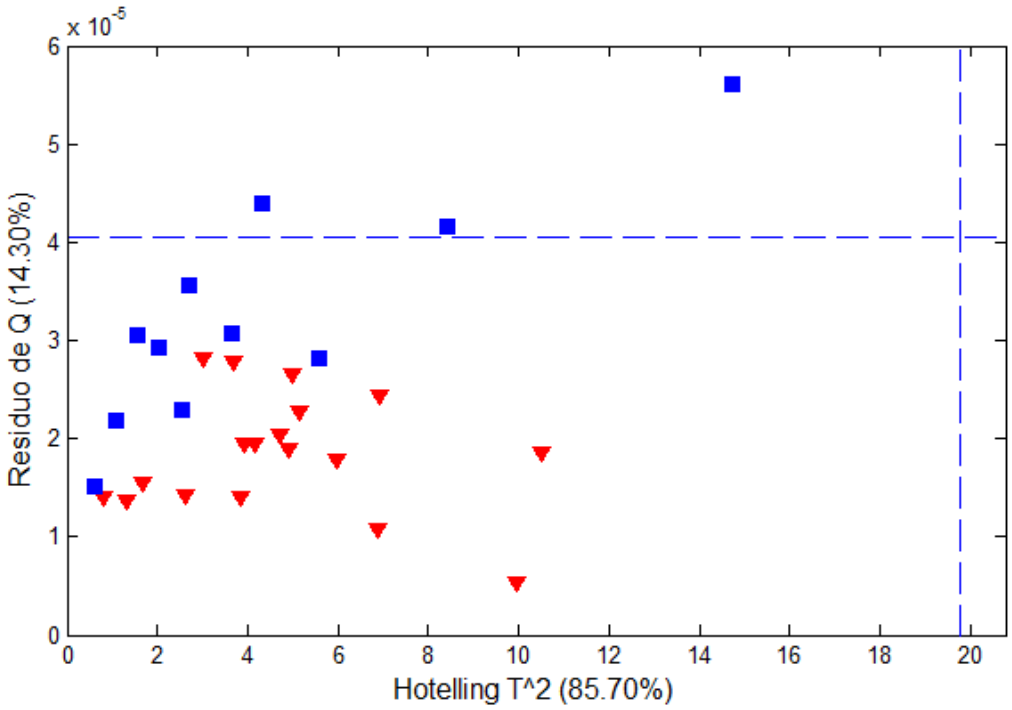

Figura 48- Gráfico do Resíduo de Q versus Hotelling T2 dos dados de calibração e validação, no intervalo de 4000-850 cm-1, submetidos ao calculo da derivada a primeira, MSC e centralização dos dados na média**.**

Legenda: ■ amostras de validação, ▼ amostras de calibração.

Na figura 49 está apresentado o gráfico com o coeficiente de regressão do modelo PLS adulterantes obtidos a partir dos dados submetido ao pré-processamento derivada à primeira, MSC e centralização na média. E como método de validação cruzada *leave one out,* sendo considerado o intervalo de 4000 a 850 cm^{-1} e sem retirada *outlier*. Por meio dessa figura foi possível identificar as regiões do espectro que exercem influência no processo de predição das amostras. Estas regiões são caracterizadas a partir de picos e bandas intensos, com elevado valores em modulo para os coeficientes de regressão. Dessa maneira, os intervalos espectrais de maior influência na predição das concentrações das adulterações foram: 3337 cm^{-1} **(1)** estiramento da ligação O-H, associada à presenta de água na amostra; 3291 cm^{-1} **(2)** associado a aminoácidos; 1641 cm^{-1} **(3)** associado a estiramento de C=O associado à amida I; 1595 cm^{-1} **(4)** associado a amina primária ou secundaria; 1404 cm^{-1} **(5)** associado a ligação COO^- que é associado com acido graxo e

cadeias laterais de amino.; 1319 cm^{-1} **(6)** associado a; 1204 cm^{-1}-900 cm^{-1} **(7)** associado ao estiramento C-O-C, associado a carboidratos; 3267 cm^{-1} **(8)** associado a aminoácidos; 3213 cm^{-1} **(9)** associado a aminoácidos ; 1732 cm^{-1} **(10)** associado ao estiramento da ligação C=O associado a acido graxo (lipídeo); 1501 cm^{-1} **(11)** associado a flexão da ligação N=H e estiramento de C-H relativos à amida II; e 1381 cm^{-1} **(12)** associado a vibração de CH_3 de lipídeo (éster) (tabela11).

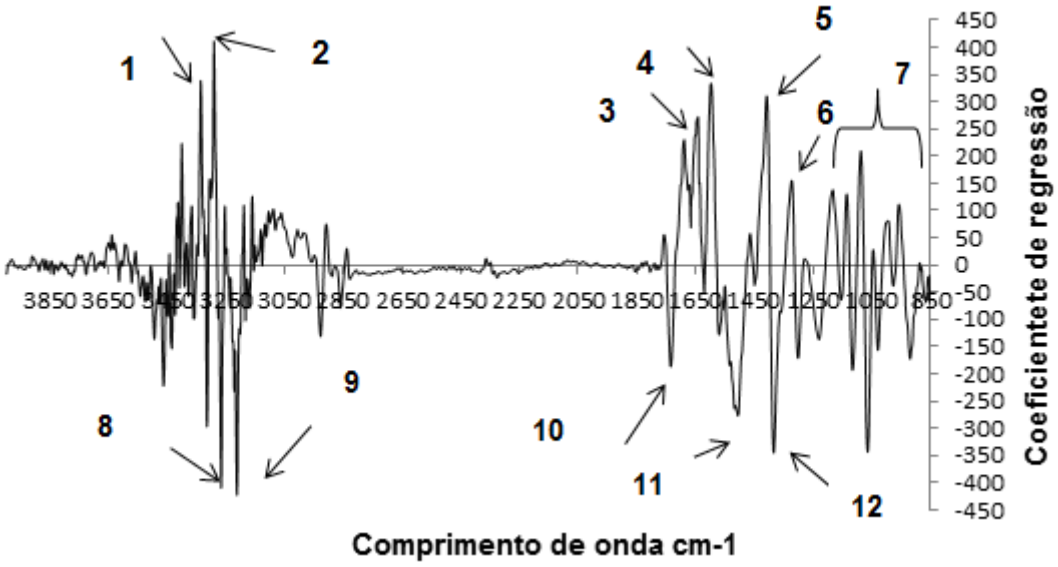

Figura 49-Coeficiente de regressão do modelo PLS adulterantes, obtido dos dados submetidos à Derivada a primeira, MSC e à centralização dos dados na média, no intervalo de 4000-850 cm^{-1}.

Na tabela 27, podem ser observados os valores experimentais, os valores previstos e os erros relacionados para cada amostra de calibração e validação que constituem o modelo PLS adulterantes. Obtendo uma faixa de erro relativo para calibração variando de 4,5110% a – 21,0801%, e para validação de 22,7306 % a -97,2572%.

Tabela 27-Valore experimentais correlacionados com valores previstos e seus respectivos erros, para calibração e validação, do modelo PLS adulterantes.

	Valores Experimentais	Valores Previstos	Erro
Treinamento	48.0898	47.9271	-0.3383
	44.0624	44.4724	0.9305
	40.0581	38.8501	-3.0155
	38.0465	38.9130	2.2775
	36.0686	35.3653	-1.9498
	35.0270	34.7126	-0.8975
	33.0212	32.2308	-2.3937
	30.0601	31.0799	3.3926
	27.0476	26.4632	-2.1607
	24.1045	25.1257	4.2366
	22.0661	23.0615	4.5110
	17.0055	16.3898	-3.6205
	15.0097	15.0360	0.1751
	13.0349	13.9767	7.2252
	12.1125	11.7013	-3.3948
	7.0063	7.6137	8.6690
	6.0298	5.5659	-7.6932
	3.0097	2.3753	-21.0801
Teste	42.0342	43.0116	2.3253
	37.0055	40.5857	9.6748
	34.0967	34.0720	-0.0725
	28.0054	28.5968	2.1117
	25.0236	23.1023	-7.6781
	23.0119	22.2760	-3.1978
	18.0360	17.6322	-2.2391
	14.0408	17.2324	22.7306
	10.0126	7.9163	-20.9364
	5.0201	0.1377	-97.2572

Diante de todos os dados expostos anteriormente, é possível afirmar que está metodologia foi efetiva para identificar uma porcentagem de adulteração de 2% até 32%. Obtendo esse resultado com baixos níveis de pré-processamento dos dados utilizados no modelo.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Sumarizando, foi possível utilizar o infravermelho médio como ferramenta para identificação de adulterantes e não conformidades. Os resultados obtidos confirmam o potencial da técnica para o desenvolvimento de uma metodologia de análise rápida e funcional para a detecção de amostras adulteradas e não conforme de hambúrguer de frango, sendo uma metodologia de análise rápida e funcional para a detecção.

Em trabalhos futuros sugere-se o aperfeiçoamento do modelo. Introduzindo amostras de hambúrgueres provenientes de indústrias de alimentos para testar a validade do modelo qualitativo (PLS-DA) e quantitativo (PLS) para amostras externas e totalmente desconhecidas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDRAKIS, D.; AMALIA, D. G.; SCANNELL, G. M., Rapid Non-destructive Detection of Spoilage of Intact Chicken Breast Muscle Using Near-infrared and Fourier Transform Mind-infrared Spectroscopy and Multivariate Statistics, **Food Bioprocess Technology**,5 p. 338-347, 2012.

AL-JOWDER, O.; DEFERNEZ, M.; KEMSLEY, E. K.; WILSON, R. H., Mid-Infrared Spectroscopy and Chemometrics for the Authentication of Meat Producsts, **Jornal Agriculture Food Chemistry**, 47, p. 3210-3218, 1999.

APSAN GROUP, **Tendências do varejo brasileiro do food service em 2015 e 2016**, postado 30 de janeiro de 2015. Disponível em: http://apsangroup.com/tendencias-do-varejo-brasileiro-do-food-service-em-2015-e-2016/, acesso 21/2/2015.

ARGYRIA, A. A.; *et al.*Rapid qualitative and quantitative detection of beef fillets spoilage based on Fourier transform infrared spectroscopy data and artificial neural networks, **Sensors and Actuators,**B 145, p. 146–154, 2010.

ARAÚJO, J. M. A.; **Química de Alimentos Teoria e Prática**, 4. ed. Viçosa: editora UFV, 2008, p.1-596.

ASAE, Asae detecta carne de cavalo em lasanhas, hambúrgueres, canelones e almôndegas,**Jornal de noticias**, Portugal, 26 de fevereiro de 2013. Disponível em:<**http://www.jn.pt/PaginaInicial/Sociedade/Saude/Interior.aspx?content_id=3075873**>, acesso 15/08/2013.

AMMOR, M.S.; ARGYRI, A.; NYCHAS, G.-J.E. Rapid monitoring of the spoilage of minced beef stored under conventionally and active packaging conditions using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics, **Meat Science**,81, p. 507– 514, 2009.

ANVISA,**Portaria nº 540**, de 27 de outubro de 1997.http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ffab898045a945eb9ba89fa9166895f7/Portaria+n%C2%BA+1004%2C+de+11+de+dezembro+de+1998.pdf?MOD=AJPERES

ANVISA, **Portaria nº 540**, de 27 de outubro de 1997. Dissponivel em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA_540_1997.pdf?MOD=AJPERES> acesso em 28/02/2015.

BARKER M., RAYENS W., **PartialLeast Squares for Discrimination**, *J. Chemometrics*, 17, 166-173, 2003.

BARBOSA, L. C. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**, 1. ed. Viçosa: editora UFV, 2011, p. 1-189.

BRERETON R.G., **Introduction to Multivariate Calibration in Analytical Chemistry**, *Analyst*, 125, 2125-2154, 2000.

BRERETON, R. G. **ChemometricsData Analysis for the Laboratory and Chemical Plant,** 1 ed.United Kingdom: editora wiley, p. 1-489., 2002.

BRERETON, R. G.; **Chemometrics for Pattern Recognition**, John Wiley & Sons: Chichester, 2007

BITTENCOUR, **Quais mercados são tendências em 2015 no Franchising?** - Enviado em 01 Dezembro 2014 por Exame.com editado por Conteúdo, Disponível em: http://www.bittencourtconsultoria.com.br/noticias/quais-mercados-sao-tendencias-em-2015-no-franchising-.html, acesso em 20/02/2015.

BOTELHO, B. G.; Mendes, B. A. P.; Sena, M. M.Development and Analytical Validation of Robust Near-Infrared Multivariate Calibration Models for the Quality Inspection Control of Mozzarella Cheese. **Food Analytical Methods**, 6, p. 881-891, 2013.

BOBBIO, O. F; BOBBIO A. P. **Introdução a Química de Alimentos**, 3 ed. Livraria e editora: Valela, p238., 2003.

CANAL RURAL. JBS: **Produção do hambúrguer mais famoso do mundo,** Conteúdo enviado 18/02/2015 por Canal Rural.Disponível em: http://www.canalrural.com.br/videos/giro-do-boi-jbs/jbs-producao-hamburguer-mais-famoso-mundo-52592>, acesso 01/03/2015.

DE MARCHI, M.; PENASA, M; BATTAGIN, M.; ZANETTI, E.; PULINI, C.; CASSANDRO, M., Feasibility of the direct application of near-infrared reflectance spectroscopy on intact chicken breasts to predict meat color and physical traits, **Poultry Science**, 90, 1594-1599, 2011.

DE LIRA, L. F. B.; ALBUQUERQUE, M. S.; PACHECO, J. G. A.; FONSECA, T. M.; CAVALCANTI, E. H. S.; STRAGEVITCH, L.; PIMENTEL, M. F. Infrared spectroscopy and multivariate calibration to monitor stability quality parameters of biodiesel. **Microchemical Jornal**. 96: 126, 2010.

DEEB, N.; LAMONT S. J. Genetic Architecture of Growth and Body Composition in Unique Chicken Population. **The Jornal of Heredity**, 93(2), 2002.

FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S., Potential Uses of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). In: **Food Processing and Engineering** In: F. Columbus (Ed.) Advances in Food Engineering, Nova Publishers, New York, 2011, p.1-47.

FERRARINE, H. **Determinação de teores nutricionais do milho por espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada**. Curitiba: Universidade Federal do Paraná. 2004. 107p. (Dissertação, Mestrado em Química).

GOMIDE, L. A. M. et. al. **Tecnologiade Abate Tipificação de Carcaças**, 1° ed. viçosa: editora UFV, 2006, p. 1-370.

GRAY, J. I., GOMAA, E. A., BUCKLEY, D.J., Oxidative Quality and Shelf Life of Meats. **Meat Science**, 1996, V, 43S1, p.111-23, 1996.

GAYA, L. G*, et al*. Heritability and Genetic Correlation Estimates for Performance and Carcass and Body Composition Traits in a Male Broiler Line. **Genetic / Poultry Science**, 85: 837–843, 2006.

GUERREIRO, L., **Dossiê Técnico de Produção de Hambúrguer** . REDETEC - Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, p.25, 2006. Disponivel em<http://respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MjU> acesso em 28/2/2015.

HONORATO, F. A.; BARROS NETO, B.; MARTINS, M. N.; GALVÃO, R. K. H.; PIMENTEL, M. F. Transferência de calibração em métodos multivariados. **Química Nova.**30: 1301, 2007.

IAL, Instituto Adolfo Lutz, laboratório de saúde publica, Procedimentos e Determinações Gerais **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos** - 4ª Edição 1ª Edição Digital 29/10/2008 p.83-160. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=0&func=startdown&id=5>, acesso 28/08/2013.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Estudo Nacional de Despesa Familiar/ Tabela de Composição de Alimentos**, 5° ed., Rio de Janeiro, 1999, p. 1-137.

IG economia, **Redes de fast-food vão faturar R$ 75 bilhões em 2018**, Por Brasil Econômico - Erica Ribeiro | 18/11/2013, Disponível em <**http://economia.ig.com.br/empresas/2013-11-18/redes-de-fast-food-vao-faturar-r-75-bilhoes-em-2018.html**> acesso 20/02/2015

IHU On-Line. **Fast food: espaço símbolo da supermodernidade,** entrevistacom José Ângelo Wenceslau Góes. Ano de 2010. Disponível em :http://amaivos.uol.com.br/amaivos09/noticia/noticia.asp?cod_noticia=6402&cod_canal=33> acesso em 20/02/2015.

JAY, M. J. **Microbiologia de Alimentos**, 6°Ed . Editora Artmed, 2005.

KAROUI, R.; *et al.* Mid-infrared spectroscopy as a new tool the evaluation of fish freshness, **International Journal of Food Science and Technology**, 42, p. 57–64, 2007.

KEMSLEY, E. K.; RUAULT, S.; WILSON, R. H. Discrimination between Coffea arabica and Coffea canephora variant Robusta beans using infrared spectroscopy**. Food Chemistry,** v. 54, p. 321-326, 1995.

LACHENMEIER, D. W. Rapid quality control of spirit drinks and beer using multivariate data analysis of Fourier transform infrared spectra, **Food Chemistry** 101, p. 825–832, 2007.

LERMA-GARCIA, M.J.; *et al.* Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy, **Food Chemistry**, 118, p. 78-83, 2010.

MAPA, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa n°20, de 31 de julho de 2000.**Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/carnes_hamburger.htm>, acesso 14/08/2013.

MAPA, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Metodologias Analíticas Oficiais Físico-Química para controle de carnes, produtos cárneos e seus ingredientes, sal e salmoura**, 2000.

MAPA, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Aves**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/aves>, acesso 14/09/2014.

MANAF, M.A.; *et al.* Analysis of adulteration of virgin coconut oil by palm kernel olein using Fourier transform infrared spectroscopy, **Journal of Food Lipids**, 14, p. 111–121, 2007.

MANTILLA, S.P.S. **Abate e Desossa Industrial de Bovino, Suíno e Aves : tecnologia, equipamentos e instalações.**Disponível em: <http://pt.slideshare.net/Samiravet/abate-e-desossa-industrial-senai>, acesso 28/03/2015. ,2009.

MENDES, A. A.; MOREIRA, J; GARCIA, R. G. **Qualidade da Carne de Peito de Frango de Corte. Revista Nacional de Qualidade de Carne**, v.28, n317, 2003.

MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T.; OSORIO-REVILLA, G. Application of mid-infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef, **Meat Science** 86, p. 511–519, 2010.

MINGOTI, A. S.; **Análise de dados através de estatística multivariada; Uma abordagem aplicada**, Belo Horizonte, Editora: UFMG, 2007, p. 295.

Nurrulhidayah, A. F.;*et al.*Analysis of chicken fat as adulterant in butter using fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. **Investiigaciión, Grasas y aceites**, 64 (4), p. 349-355, 2013.

Oliveira, E. M. M; *et. al.* Carne de boi ou de cavalo: como é possível identificar esta fraude? **, Embrapa Agroindústria de alimentos**, Rio de Janeiro-RJ, 2013. Disponível em: <http://www.ctaa.embrapa.br/index.php?id=335>, acesso 26/08/2013.

ORDÓÑEZ, J. A.; et. al. **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de Origem Animal.** V. 2, 1 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005, p. 1- 279.

OTTO, M. **Chemometrics, Statistics and Computer Aplication in Analytical Chemistry**. V. second. Completelely Revised and Enlarged Edition ed. Wiley-vch, 2007, p. 1- 328.

PAPADOPOULOU, O.; *et al.*Contribution of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy data on the quantitative determination of minced pork meat spoilage, **Food Research International** 44, p. 3264–3271, 2011.

PEREIRA, N. R.; *et. al*. Cholesterol and fatty acids profile of Brazillian commercial chicken giblets, **Archivos Latinoamericanos de Nutrición** ,52(2), p. 203-206, 2002.

PONTES, M. J. C.; CORTEZ, J.; GALVÃO, R. K. H.; PASQUINI, C.; COELHO, R. M.; CHIBA, M. K.; ABREU, M. F.; MADARI, B. E. Classification of Brazilian soils by using LIBS and variable selection in the wavelet domain, **Analytica Chimica Acta**. 642: 12, 2009.

RAHMANIA, H.; SUDJADI; ROHMAN, A.; The employment od FTIR spectroscopy in combination with chemometrics for analysis of rat meat in meatball formulation, **Meat Science**, 100 p. 301-305, 2015.

Rinnan, A.; van den Berg, F.; Engelsen, S. B.; **Trends AnalysisChemometrics** 2009, 28, 1201

RODRIQUEZ, K. F. et al.Qualidade da carne de peito de frangos de corte recebendo rações com diferentes relações lisina digestível: proteína bruta**. Revista Brasileira de Zootecnia,**vol.37 n° 6, Viçosa, June, 2008.

ROHMAN, A.; CHE MAN, Y.B. Monitoring of virgin coconut oil (VCO) adulteration with palm oil using Fourier transform infrared spectroscopy, **Journal of Food Lipids**, 16, p. 618–628, 2009.

ROHMAN, A.; *et. al.* Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, **Meat Science** 88, p. 91–95, 2011.

REIS, N.; FRANCA, A. S.; OLIVEIRA, L. S. Quantitative evaluation of multiple adulterants in roasted coffee by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS) and chemometrics, **Talanta** 115, p. 563–568, 2013.

RIOVANTO, R.; DE MARCHI, M.; CASSANDRO, M.; PENASA M.; .Use of near infrared transmittance spectroscopy to predict fatty acid composition of chicken meat, **Food Chemistry** 134, p-2459-2464, 2012.

RURAL PECUARIA, **Ubabef projeta alta para produção e exportação de carne de frango em 2014.**Disponível em: <http://pecuaria.ruralbr.com.br/noticia/2014/01/ubabef-projeta-alta-para-producao-e-exportacao-de-carne-de-frango-em-2014-4391589.html> acesso em: 14/09/2014.

SAMUEL, D.; PARK, B.; SOHH, M.; WICKER, L., Visible –near-infrared spectroscopy to predict water-holding capacity in normal and pale broiler breast meat, **Poultry Science**, 90, p. 914-921, 2011.

SCHERER, T. Ministério Publico (MP) planeja nova operação contra fraude no leite em 15 dias noRio Grande do Sul, **Portal G1,** Rio Grande do sul, 23 de maio de 2013, Disponível em:<http://g1.globo.com/rs/rio-grande-do-sul/campo-e-lavoura/noticia/2013/06/mp-planeja-nova-operacao-contra-fraude-no-leite-em-15-dias-nors.html> acesso 26/08/2013.

SYAHARIZA, Z. A.; *et al.*Detection of lard adulteration in cake formulation by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, **Food Chemistry** 92, p. 365–371, 2005.

SILVA, M. A. M FERREIRA, M. H.; JEZ W.B. BRAGA, J. W. B.; SENA, M. M.Development and analytical validation of a multivariate calibration method for determination of amoxicillin in suspension formulations by near infrared spectroscopy. **Talanta**. v.89, p.342-351, 2012.

PARK, K. J. ANTONIO, C. G.,Análises de Materiais Biológicos. Disponível em: http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf 2006

SOUZA, M. A. e POPPI, R. J. Experimento Didático de Quimiometria para Análise Explorátoria de Óleos Vegetais Comestiveis por Espectroscopia no Infravermelho Médio e Análise de Componentes Principais: Um Tutorial, parte 1. **Química Nova**, V.35, N° 1, 223-229, 2012.

SUPER INTESSANTE, O Hambúrguer, Super 007, abril 1988, Disponível em: http://super.abril.com.br/superarquivo/?edn=007Ed&yr=1988a&mt=abrilm&ys=1988y> acesso 13/02/2015.

TORRES, E. A. F. S. et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 20(2), p. 145-150, 2000.

USP, UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, **Food Fraud Database** s.d. Disponível em: http://www.foodfraud.org/; acesso 26/08/2013.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI P.; **Chemometrics Intelligence Laboratory System 2** , 37 ,1987

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Variable selection, outlier detection, and figures of merit estimation in a partial Least-squares regression multivariate calibration model. A case study for the determination of quality parameters in the alcohol industry by near-infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.55, p. 8331-8338, 2007.

VASCONCELOS, F. V. C. **Uso da região espectral de sobretons para determinação do teor de biodiesel e classificação de misturas diesel/biodiesel adulteradas com óleo vegetal.** João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2011. 93p. (Dissertação, Mestrado em Química).

VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL, **Department of Analytical Chemistry and Pharmaceutical Technology** Disponivel em: http://www.vub.ac.be/fabi/publiek/index.html, acesso em 19/02/2015.

ZAMORA-ROJAS, E. ; PÉREZ-MARÍN, D. ; DE PEDRO-SANZ, E. ; GUERRERO-GINEL, F. E. ; GARRIDO-VARO, A. ; Handheld NIRS analysis for routine meat quality control :Database transfer from at-line instruments, **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems,** 114, p.30-35, 2012.

ANEXO A-

- REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE HAMBURGUER.

1.ALCANCE

1.1.OBJETIVO

Fixar a identidade e as características mínimas de qualidade que deverá obedecer o produto cárneo denominado Hambúrguer.

1.2.ÂMBITO DE APLICAÇÃO

O presente regulamento refere-se ao produto Hambúrguer, destinado ao comércio nacional ou internacional.

2. DESCRIÇÃO

2.1. DEFINIÇÃO

Entende-se por Hambúrguer (Hambúrger) o produto cárneo industrializado obtido da carne moída dos animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado.

2.2. CLASSIFICAÇÃO

Trata-se de um produto cru, semi-frito, cozido, frito, congelado ou resfriado.

2.3. DESIGNAÇÃO (Denominação de Venda)

O produto será designado de Hambúrguer ou Hamburger, seguido do nome da espécie animal, acrescido ou não de recheio, seguido das expressões que couberem.

Exemplos: Hambúrguer de Carne Bovina ou Hambúrguer de Bovino, Hambúrguer de Carne Suína ou Hambúrguer de Suíno, Hambúrguer de Carne de Peru ou Hambúrguer de Peru, Hambúrguer de Carne de Frango ou Hambúrguer de Frango, Hambúrguer de Carne Bovina com Queijo ou Hamburguer de Bovino com Queijo, Outros.

3.Referências

-ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Norma ABNT-Plano de amostragem e procedimento na inspeção por atributos-03.011, NBR 5426, jan/1985.

-AOC. Associação of Official Analytical Chemists. Official meyhods of analysis: of the AOAC Internacional., 42.1.03, 1995.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n° 368, de 04/09/97. Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Praticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de Alimentos. Brasília: Ministério de Agricultura e do Abastecimento, 1997.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Métodos Analíticos Físico-químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes- Sal e Salmoura- SDA. Instrução Normativa n°20, de 21/07/99, publicada no Diário da União, de 09/09/99. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n° 42, de 20/12/99. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos. Portaria n°371, de 04/09/97. Brasília: Ministério de Agricultura e do Abastecimento, 1997.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Decreto n°63.526, de 04/11/68. Brasília: Ministério da Agricultura, 1968.

-BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Produtos de Origem Animal. Decreto n° 30.691, de 29/03/52. Brasília: Ministério da Agricultura, 1952.

-BRASIL. Ministério da Indústria, do Comercio e do Turismo. Portaria INMETRO n°88, de 24/05/96. Brasília: INMETRO, 1996.

-BRASIL. Ministério da Justiça. Código de Produção e Defesa do Consumidor. Lei n° 8.078, de 11/09/90. Brasília: Ministério da Justiça, Departamento de Produção e Defesa do Consumidor, 1997.

-BRASIL. Ministério da Saúde. Princípios Gerais para Estabelecimentos de Critérios e Padrões Microbiológicos para Alimentos. Portaria n°451, de 19/09/97, publicada do Diário Oficial da União, de 02/07/98. Brasília: Ministério da Saúde, 1998.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Regulamento Técnico de Atribuição de Função de Aditivos, e seus limites Máximos de Uso para a Categoria 8- Carne e Produtos Cárneos. Portaria n° 1002/1004, de 11/12/98. Brasília: Ministério da Saúde, 1998.

-EUROPEAN COMMUNITIES. European Parliament and Council Directive n°95/2/EC, of 20 february 1995. Official Journal of the European Communities, N°L61/1, 18/03/95.

-FAO/OMS.Organizacion de Las Naciones Unidas para La Agricultura y la Alimentacion. Organizacion Mundial de la Salud. Codex Alimentarius. Carne y Productos Carnicos. 2°. Ed, v.10, Roma, 1994.

-ICMSF. Internacional Commission on Microbiological Specifications fo Foods. Compendium of methods for microbiological Specifications fo Fooods. Compendium of methods for microbiological examination of foods. ICMSF, 1992.

-ICMSF. International Commission on Microbiological Specification for Foods. Microorganisms in foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. University of Toronto Press, 1986.

-MERCOSUL. Mercado Comum do Sul. Resolução 91/94. BRASIL. Ministerio do Industria , do Comercio e do Turismo. Portaria INMETRO n°74, de 25/05/95. Brasilia: INMETRO, 1995.

- MERCOSUL. Mercado Comum do Sul. Resolução do Grupo Mercado Comum (GMC) 36/93. Mercosul, 1993.

4.COMPOSIÇÃO E REQUISITOS

4.1. COMPOSIÇÃO

4.1.1. Ingredientes Obrigatórios

Carne de diferentes espécies de animais de açougue.

4.1.2. Ingredientes Opcionais

Gordura animal

Gordura vegetal

Água

Sal

Proteínas de origem animal e/ou vegetal

Leite em pó

Açúcares

Malto dextrina

Aditivos intencionais

Condimentos, aromas e especiarias.

Vegetais

Queijos

Outros recheios

Nota: somente no hambúrguer cozido, será permitido a adição de carne mecanicamente separada, no limite máximo de 30%. Será permitida a adição de até 4,0 % (max.) de proteína não cárnica na forma agregada.

4.2. REQUISITOS

4.2.1. Características Sensoriais

São estabelecidos de acordo com o processo de obtenção.

4.2.1.1 Textura: Característica

4.2.1.2. Cor: Característica

4.2.1.3. Sabor: Característico

4.2.1.4. Odor: Característico

4.2.2. Características Físico-Químicas

- Gordura (máx.) - 23%

-Proteína (mín.) - 15%

-Carboidratos totais - 3 %

-Teor de cálcio (máx. base seca)- 0,1% em hambúrguer cru 0,45% em hambúrguer cozido

4.2.3. Acondicionamento

O hambúrguer deverá ser embalado com materiais adequados para as condições de armazenamento e que lhe confiram uma proteção apropriada.

5. ADITIVOS E COADJUVANTES DE TECNOLOGIA/ELABORAÇÃO

De acordo com a legislação Vigente

6. CONTAMINANTES

Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não deverão estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos no regulamento vigente.

7. HIGIENE

7.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

7.1.1. As práticas de higiene para a elaboração do produto estarão de acordo com o estabelecido no "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para os Produtos Cárneos Elaborados" {(Ref. CAC/RCP 13 -1976 (rev. 1, 1985)} do "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para a Carne Fresca" {(CAC/RCP 11 -1976 (rev. 1,1993)}, do "Código Internacional Recomendado de Práticas - P'rincípios Gerais de Higiene dos Alimentos" {(Ref.: CAC/RCP 1 - 1969 (rev. 2 - 1985)} - Ref. Codex Alimentarius, vol. 10, 1994.

Portaria nº 368, de 04/09/97 - Regulamento Técnico sobre as Condições HigiênicoSanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos- Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.

7.1.2. Toda a carne usada para elaboração de Hambúrguer deverá ter sido submetida aos processos de inspeção prescritos no RIISPOA-“ Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal”, Decreto n°30.691, de 29/03/1952

7.2. CRITÉRIOS MACROSCÓPICOS/MICROSCÓPICOS

O produto não deverá conter materiais estranhos ao processo de industrialização.

7.3. CRITÉRIOS MICROBIOLÓGICOS

Aplica-se a legislação vigente.

8. PESOS E MEDIDAS

Aplica-se o regulamento vigente

9. ROTULAGEM

Aplica-se o regulamento vigente (Portaria n0 371, de 04/09/97 - Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil)

10. MÉTODOS DE ANÁLISES

Instrução Normativa n º 20, de 21 de Julho de 1999, publicada no Diário Oficial da União, de 09/09/99 - Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura SDA - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.

11. AMOSTRAGEM

Seguem-se os procedimentos recomendados na norma vigente