

INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM

Escola Superior Agrária de Santarém



**Espectroscopia NIR no Controlo de Qualidade de
Matérias-Primas e Alimentos Compostos para
Animais: Desenvolvimento de Modelos de Previsão**

Dissertação

Mestrado em Tecnologia Alimentar

Joana Rodrigues Ferreira Pimpão

Orientação:

Doutora Maria Gabriela Basto de Lima

Engenheira Isabel Maria Serra Antão

outubro, 2025

Agradecimentos

A conclusão desta dissertação marca o fim de uma etapa muito importante na minha vida académica, e não teria sido possível sem o apoio e presença de várias pessoas, a quem quero expressar a minha sincera gratidão.

À minha família, pelo amor incondicional, pela força constante e por estarem sempre ao meu lado. Obrigada por acreditarem em mim, mesmo nos momentos mais difíceis.

À empresa TNA, onde realizei o meu estágio, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional. Um agradecimento especial ao Engenheiro João Barreto, pela generosidade e confiança ao abrir-me as portas para realizar o meu estágio de mestrado, e por todo o apoio prestado ao longo deste percurso.

À Engenheira Isabel, diretora do laboratório, pela orientação, disponibilidade e partilha de conhecimentos, que contribuíram imensamente para o desenvolvimento deste trabalho.

À Engenheira Rosália e às técnicas do laboratório, pelo acolhimento, ajuda diária e espírito de equipa que tornaram esta experiência ainda mais enriquecedora.

À Professora Doutora Gabriela Lima, orientadora de estágio, pela orientação ao longo de todo o trabalho, pela paciência, acompanhamento e por todo o apoio prestado durante esta jornada.

À Professora Doutora Paula Ruivo, mesmo não sendo minha orientadora de estágio, esteve sempre disponível para ajudar, dar sugestões e contribuir de forma positiva em vários momentos, o que agradeço profundamente.

A todos os que, de alguma forma, fizeram parte deste caminho, o meu muito obrigada.

Acrónimos/Siglas

ADP: Adenosina difosfato

AMP cíclico: Adenosina monofosfato cíclico

ATP: Adenosina trifosfato

IACA: Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais

ISO (*International Organization for Standardization*): Organização Internacional de Normalização

NIR (*Near Infrared Reflectance*): Espectroscopia de Infravermelho Próximo

NIRS (*Near Infrared Reflectance Spectroscopy*): Espectroscopia de Refletância Infravermelho Próximo

NP: Norma Portuguesa

PCR: Regressão de Componentes Principais

PLS: Regressão por Mínimos Quadrados Parciais

RPD (*Ratio of Prediction to Deviation*): Desvio de Previsão Relativa

RSQ (R^2): Quadrado do Coeficiente de Correlação Múltipla

SD: Desvio Padrão

SEC: Erro Padrão de Calibração

SECV: Erro Padrão de Validação Cruzada

SEP: Erro Padrão de Previsão

1-VR: 1-Coeficiente de variância residual

Resumo

A produção de alimentos compostos para animais exige um controlo rigoroso da sua composição nutricional. Os métodos laboratoriais convencionais, embora precisos, são morosos e dispendiosos. A Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) apresenta-se como uma alternativa rápida, não destrutiva e eficiente na obtenção de dados nutricionais. Neste trabalho pretendeu-se desenvolver e validar modelos matemáticos robustos para a previsão de parâmetros nutricionais em matérias-primas e alimentos compostos para animais. A utilização dos programas de *software FOSS Calibrator* e *WinISI* permitiu uma calibração precisa e a eliminação de ruídos espectrais. Os resultados evidenciaram que o NIR é uma solução eficaz para o controlo de qualidade na indústria de alimentação animal, permitindo ajustes rápidos na produção e garantindo o cumprimento das normas de segurança alimentar. Nesta dissertação foi sublinhada a importância da integração de tecnologias avançadas para otimizar a monitorização da qualidade e a tomada de decisões na produção industrial.

Palavras-chave: Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR), Modelos matemáticos, Calibração espectral, Análises não destrutivas, Tecnologias avançadas.

Near-Infrared Spectroscopy (NIR) in Quality Control of Raw Materials and Compound Feeds for Animals: Development of Predictive Models

Abstract

The production of compound animal feed requires strict control of its nutritional composition. Conventional laboratory methods, although precise, are time-consuming and costly. Near-Infrared Spectroscopy (NIR) offers a fast, non-destructive, and efficient alternative for obtaining nutritional data. This dissertation develops and validates robust mathematical models for predicting nutritional parameters in raw materials and animal feed. The use of FOSS Calibrator and WinISI enabled accurate calibration and noise reduction in spectral data. The results demonstrate that NIR is an effective solution for quality control in the animal feed industry, allowing quick production adjustments and ensuring compliance with food safety standards. This dissertation highlights the importance of integrating advanced technologies to improve quality monitoring and decision-making in industrial production.

Keywords: *Near-Infrared Spectroscopy (NIR), Mathematical models, Spectral calibration, Non-destructive analysis, Advanced technologies.*

Índice

1. Introdução	24
2. Caracterização da Empresa	27
2.1. Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA).....	28
2.2. Comissão Técnica de Normalização (CT37)	30
2.3. Protocolo de Cooperação QUALIACA - IACA e DGAV.....	31
3. A importância da alimentação na produção animal	32
3.1. Princípios da Formulação da Ração Animal	32
4. Classificação dos alimentos	38
4.1. Composição Química dos alimentos para animais	43
4.1.1. Humidade (Matéria Seca)	43
4.1.2. Proteína Bruta	43
4.1.3. Matéria Gorda Bruta.....	44
4.1.4. Fibra Bruta.....	45
4.1.5. Cinza Total	45
4.1.6. Cálcio	46
4.1.7. Fósforo	46
5. Métodos de Referência	47
5.1. Alimentos para animais – Determinação do teor de humidade (NP 875:1994) ..	47
5.2. Determinação do teor de azoto total, por combustão, segundo o método de Dumas e Cálculo do teor de Proteína Bruta (NP EN ISO 16634-1:2009).....	47
5.3. Determinação do teor de gordura (NP ISO 6492:2014). Método A (170 – sem hidrólise) e Método B (180 – com hidrólise)	48
5.4. Determinação da Cinza Bruta (NP ISO 5984:2014)	49
5.5. Determinação do teor de Cálcio: Método Volumétrico, processo corrente (NP-1786:1985)	49
5.6. Determinação de Fósforo (NP 874:2000)	49
5.7. Determinação do teor de Amido – Método Polarimétrico (NP ISO 6493:2020) .	50
5.8. Determinação do teor de Cloretos solúveis na água: Método Titulométrico (NP ISO 6495-1:2018).....	51
5.9. Proteína Solúvel em KOH na matéria-prima Bagaço de Soja	51
6. Validação dos métodos clássicos com materiais de referência	53

7. Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR)	54
7.1. Princípios da Espectroscopia	54
7.2. Tipos de Espectroscopia	56
7.2.1. Espectroscopia Vibracional	57
7.3. Radiação do Infravermelho Próximo (NIR).....	60
7.3.1. Localização Espectral	62
7.4. Princípios de Funcionamento da Espectroscopia NIR	62
7.5. Modos de interação da radiação com a amostra	64
7.6. Zonas Características de Absorção	65
7.7. Instrumentação	68
7.7.1. Tipos de Instrumentos	68
7.8. Aplicação da Espectroscopia NIR na Nutrição Animal	70
7.9. Vantagens da Espectroscopia por Infravermelho Próximo (NIR)	71
7.10. Desvantagens da Espectroscopia por Infravermelho Próximo (NIR)	72
8. Quimiometria	73
8.1. Pré-tratamento dos dados espectrais.....	73
8.1.1. Transformação dos dados.....	75
8.1.2. Pré-Processamento dos dados.....	84
8.2. Análise Exploratória dos dados	87
8.2.1. Análise de Componentes Principais – PCA	87
8.2.2. Análise de Agrupamentos por Métodos Hierárquicos – HCA.....	89
8.3. Modelos de Regressão Multivariada (Calibração).....	90
8.3.1. Regressão Linear Múltipla (MLR)	92
8.3.2. Regressão em Componentes Principais (PCR)	93
8.3.3. Mínimos Quadrados Parciais (PLS).....	94
9. Metodologia.....	96
9.1. Amostras	96
9.2. Equipamento	96
9.3. Desenvolvimento dos modelos de Calibração	97
10. Análise e Discussão dos Resultados	99

10.1. Interpretação dos Espectros e Tratamento Matemático com o programa software WinISI	99
10.2. Introdução dos dados analíticos laboratoriais no <i>software</i>	100
10.2.1. Ovinos e Caprinos.....	100
10.2.2. DDG de Milho.....	101
10.2.3. Glúten de Milho	101
10.2.4. Farinha de Carne	102
10.3. Visualização dos espectros sem tratamento matemático	102
10.3.1. Ovinos e Caprinos.....	103
10.3.2. DDG de Milho.....	103
10.3.3. Glúten de Milho	104
10.3.4. Farinha de Carne	104
10.4. Espectro médio.....	105
10.4.1. Ovinos e Caprinos.....	105
10.4.2. DDG de milho	105
10.4.3. Glúten de milho.....	106
10.4.4. Farinha de Carne	107
10.5. Desvio padrão espectral.....	107
10.5.1. Ovinos e Caprinos.....	107
10.5.2. DDG de milho	108
10.5.3. Glúten de milho.....	109
10.5.4. Farinha de Carne	109
10.6. Indicadores estatísticos de desempenho dos modelos de previsão	110
10.6.1. Ovinos e Caprinos.....	111
10.6.2. DDG de milho	113
10.6.3. Glúten de milho.....	115
10.6.4. Farinha de carne.....	115
10.7. Espectros com tratamento matemático (1-4-4-1).....	117

10.7.1. Ovinos e Caprinos.....	117
10.7.2. DDG de milho	118
10.7.3. Glúten de milho.....	118
10.7.4. Farinha de Carne	119
10.8. Avaliação gráfica e estatística dos modelos no <i>software Foss Calibrator</i>	120
10.8.1. Ovinos e Caprinos.....	122
10.8.2. DDG de Milho.....	132
10.8.3. Glúten de Milho	140
10.8.4. Farinha de Carne	147
11. Validação dos modelos de previsão	158
11.1. Ovinos e Caprinos	159
11.2. DDG de milho	160
12. Considerações finais.....	162
13. Referências Bibliográficas	164
ANEXO I	170
I.1. Fluxogramas dos Métodos de Referência para cada Parâmetro Nutricional:.....	171
I.1.1. Humidade (NP 875)	171
I.1.2. Determinação do teor de azoto total, por combustão, segundo o método de Dumas e Cálculo do teor de Proteína Bruta (NP EN ISO 16634-1 2009)	172
I.1.3. Determinação do teor de gordura (NP ISO 6492 2014) Método A (170 – sem hidrólise) e Método B (180 – com hidrólise)	173
I.1.4. Determinação da Cinza Bruta (NP ISO 5984).....	174
I.1.5. Determinação do teor de Cálcio: Método Volumétrico, processo corrente (NP-1786 1985).....	175
Determinação de Fósforo (NP 874 2000)	175
I.1.6. Determinação de Fósforo (NP 874 2000)	176
I.1.7. Determinação do teor de Amido – Método Polarimétrico (NP ISO 6493 2020)	177

I.1.8. Determinação do teor de Cloretos solúveis na água: Método Titulométrico (NP ISO 6495-1 2018).....	178
---	-----

Lista de figuras

FIGURA 1 CRONOGRAMA DA EVOLUÇÃO DA TNA AO LONGO DOS ANOS DESDE A SUA CRIAÇÃO ATÉ AO PRESENTE (FONTE: WWW.TNA.PT).....	27
FIGURA 2 PRODUÇÃO DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA ANIMAIS EM 2022 E 2023, EXPRESSA EM MIL TONELADAS, PELAS EMPRESAS ASSOCIADAS DA IACA. (FONTE: WWW.IACA.PT).....	28
FIGURA 3 CONSUMO DE MATÉRIAS-PRIMAS PARA ANIMAIS EM 2022 E 2023, EXPRESSA EM MIL TONELADAS, PELAS EMPRESAS ASSOCIADAS DA IACA. (FONTE: WWW.IACA.PT).....	29
FIGURA 4 ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS PRINCIPAIS COMPONENTES DOS ALIMENTOS. ADAPTADO DE (GERAL DE ALIMENTAÇÃO E VETERINÁRIA, 2014).	33
FIGURA 5 ESQUEMA REPRESENTATIVO DOS DIFERENTES TIPOS DE ENERGIA PRESENTES NO ALIMENTO E DAS RESPECTIVAS PERDAS DURANTE OS PROCESSOS DIGESTIVO E METABÓLICO NOS ANIMAIS, INFLUENCIADO PELA COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E PELA ESPÉCIE ANIMAL. FONTE: ADAPTADO DE AGROCERES MULTIMIX. NUTRIÇÃO ANIMAL: BOVINOS, SUÍNOS E AVES. (2019)	38
FIGURA 6 ESQUEMA DE ESPECTROSCOPIA. A LUZ TRANSMITIDA É A LUZ QUE ATRAVESSA A AMOSTRA (É ANALISADA SEGUNDO A DIREÇÃO DA LUZ INCIDENTE) E É PARCIALMENTE ABSORVIDA PELA AMOSTRA. A LUZ DIFUNDIDA RESULTA DO ESPALHAMENTO DA LUZ INCIDENTE POR COLISÃO COM A AMOSTRA E É NORMALMENTE ANALISADA NUMA DIREÇÃO PERPENDICULAR À DA LUZ INCIDENTE, PARA EVITAR CONTAMINAÇÃO COM A LUZ TRANSMITIDA. A LUZ EMITIDA É A LUZ COM ORIGEM NA PRÓPRIA AMOSTRA, EM RESULTADO DE UM PROCESSO FÍSICO DESENCADEADO PELA LUZ INCIDENTE (RIBEIRO CLARO, 2017).	54
FIGURA 7 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS TRANSIÇÕES ENTRE NÍVEIS OBSERVADAS POR ESPECTROSCOPIA: ABSORÇÃO (A), EMISSÃO (B) E DIFUSÃO INELÁSTICA (C). O NÍVEL FUNDAMENTAL É O NÍVEL DE MENOR ENERGIA DE UM SISTEMA. OS NÍVEIS COM ENERGIA SUPERIOR DESIGNAM-SE POR NÍVEIS EXCITADOS (RIBEIRO CLARO, 2017).....	55
FIGURA 8 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UM ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO VISÍVEL: A LUZ INCIDENTE NA AMOSTRA TEM UM ESPECTRO CONTÍNUO (TODAS AS ENERGIAS), ENQUANTO O ESPECTRO DA LUZ TRANSMITIDA IDENTIFICA QUAIS AS ENERGIAS QUE FORAM ABSORVIDAS PELA AMOSTRA (RISCAS NEGRAS). O ESPECTRO DO REGISTO A) CORRESPONDE A UM REGISTO EM DETETOR DE CHAPA FOTOGRÁFICA, ENQUANTO O REGISTO B) É O REGISTO CONVENCIONAL DE “INTENSIDADE DE LUZ ABSORVIDA” EM FUNÇÃO DA ENERGIA (RIBEIRO CLARO, 2017).....	56

FIGURA 9 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS MODELOS DE POTENCIAL HARMÓNICO (A) E POTENCIAL ANARMÓNICO (B) PARA A ENERGIA POTENCIAL DE UMA MOLÉCULA DIATÓMICA. O MODELO HARMÓNICO CONSIDERA NÍVEIS DE ENERGIA IGUALMENTE ESPAÇADOS, ENQUANTO O MODELO ANARMÓNICO PERMITE A EXISTÊNCIA DE SOBRETONS E DISSOCIAÇÃO MOLECULAR (PASQUINI, 2003).	58
FIGURA 10 DESCOBERTA DA RADIAÇÃO NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO POR WILLIAM HERSCHEL EM 1800.	60
FIGURA 11 LOCALIZAÇÃO DA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) NO ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO (SANTOS-RIVERA,S.D.).	62
FIGURA 12 VIBRAÇÕES MOLECULARES ENTRE DOIS ÁTOMOS EM RELAÇÃO A UM ÁTOMO CENTRAL (ADAPTADO DE: JANSÀ, 2011).	63
FIGURA 13 REPRESENTAÇÃO DOS PRINCIPAIS MODOS DE MEDIÇÃO NA ESPECTROSCOPIA NIR. (A)- TRANSMITÂNCIA; (B)- TRANSFLECTÂNCIA; (C)- REFLETÂNCIA DIFUSA; (D)- INTERATIVIDADE, (E)- TRANSMITÂNCIA COM MEIO DISPERSIVO (PASQUINI, 2003).	65
FIGURA 14 LOCALIZAÇÃO APROXIMADA DAS OCORRÊNCIAS ESPECTRAIS DEVIDO À ABSORÇÃO DA RADIAÇÃO NIR POR GRUPOS FUNCIONAIS C–H, O–H E N–H (PASQUINI, 2018).	66
FIGURA 15 PRINCIPAIS REGIÕES DE SOBRETONS E BANDAS DE COMBINAÇÃO NO ESPECTRO NIR (700-2500 NM), COM OS GRUPOS FUNCIONAIS MAIS REPRESENTATIVOS. (ADAPTADO DE METROHM, 2013).	67
FIGURA 16 ESQUEMA DE UM MONOCROMADOR BASEADO NUM FILTRO ACÚSTICO-ÓTICO SINTONIZÁVEL. A- RADIAÇÃO POLICROMÁTICA INCIDENTE, B E B'- FEIXES MONOCROMÁTICOS (MESMO COMPRIMENTO DE ONDA); C- RADIAÇÃO POLICROMÁTICA REMANESCENTE; D- ABSORVEDOR ACÚSTICO; E- TRANSDUTOR PIEZOELÉTRICO; F- GERADOR DE SINAL DE RADIOFREQUÊNCIA; G- AMPLIFICADOR DE RADIOFREQUÊNCIA (PASQUINI, 2003).	69
FIGURA 17 REPRESENTAÇÃO DE UM SISTEMA ÓTICO DISPERSIVO BASEADO NUMA GRELHA CÔNCAVA E NUMA MATRIZ DE SENSORES UTILIZADO EM ESPECTROFOTÓMETROS MODERNOS SEM PARTES MÓVEIS. A- FEIXE POLICROMÁTICO INCIDENTE; B- GRELHA CÔNCAVA; C- RADIAÇÃO DISPERSA E D- MATRIZ DE SENSORES (PASQUINI, 2003).	69
FIGURA 18 SISTEMA INTERFEROMÉTRICO "WISHBONE" UTILIZADO EM ESPECTROFOTÓMETROS NIR MODERNOS BASEADOS NA TRANSFORMADA DE FOURIER. A- FONTE DO FEIXE; B- ESPELHOS CÚBICOS DE CANTO; C- ÂNCORA E D- CONFIGURAÇÃO "WISHBONE" (PASQUINI, 2003).	70
FIGURA 19 QUADRO INDICATIVO DOS PRÉ-TRATAMENTOS DOS DADOS (CASTRO FERREIRA, 2015).	74

FIGURA 20 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO DECRÉSCIMO NA INTENSIDADE DE LUZ INCIDENTE, I_0 , AO ATRAVESSAR UMA CELA DE CAMINHO ÓTICO IGUAL A L . A LUZ DEIXA A AMOSTRA COM INTENSIDADE I MENOR QUE I_0 PORQUE PARTE FOI ABSORVIDA PELA AMOSTRA (CASTRO FERREIRA, 2015).....	80
FIGURA 21 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA REFLEXÃO DIFUSA. REFLEXÃO DA LUZ INCIDENTE NUMA AMOSTRA PERFEITAMENTE LISA (LINHA CONTÍNUA) E O ESPALHAMENTO DA LUZ REFLETIDA DE UMA AMOSTRA RUGOSA (LINHAS TRACEJADAS) (CASTRO FERREIRA, 2015).	82
FIGURA 22 REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA). À ESQUERDA (A) , OS DADOS ORIGINAIS COM ELEVADA DIMENSIONALIDADE (X) SÃO PROJETADOS NUM NOVO SISTEMA DE EIXOS, MANTENDO A INFORMAÇÃO RELEVANTE. À DIREITA (B) , ILUSTRA-SE A TRANSFORMAÇÃO DOS DADOS NOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PC), COM REDUÇÃO DE DIMENSIONALIDADE E MAIOR FACILIDADE PARA CONSTRUÇÃO DE MODELOS DE PREVISÃO, A PARTIR DE VARIÁVEIS LATENTES (T) (SOLETO, 2020).....	88
FIGURA 23 REPRESENTAÇÃO TRIDIMENSIONAL DOS DADOS ORIGINAIS (C) COM BASE NAS VARIÁVEIS X_1 , X_2 E X_3 , E REORGANIZAÇÃO DOS MESMOS DADOS SEGUNDO OS COMPONENTES PRINCIPAIS (D), EVIDENCIANDO OS EIXOS PC_1 E PC_2 GERADOS PELA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA), CONFORME DESCRITO POR SOLETO (2020).	89
FIGURA 24 EQUIPAMENTO NIRS TM DS3 FOSS UTILIZADO PARA A AQUISIÇÃO DOS ESPETROS NIR DAS DIFERENTES AMOSTRAS ANALISADAS.	97
FIGURA 25 ESPECTROS NIR SEM TRATAMENTO MATEMÁTICO OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS NO SOFTWARE WINISI.	103
FIGURA 26 ESPECTROS NIR SEM TRATAMENTO MATEMÁTICO OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO NO SOFTWARE WINISI.	103
FIGURA 27 ESPECTROS NIR SEM TRATAMENTO MATEMÁTICO OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO NO SOFTWARE WINISI.....	104
FIGURA 28 ESPECTROS NIR SEM TRATAMENTO MATEMÁTICO OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE NO SOFTWARE WINISI.....	104
FIGURA 29 REPRESENTAÇÃO DO ESPECTRO MÉDIO (LINHA AMARELA) DAS AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS, SOBREPOSTO AOS ESPECTROS INDIVIDUAIS (A CINZENTO).	105
FIGURA 30 REPRESENTAÇÃO DO ESPECTRO MÉDIO (LINHA AMARELA) DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO PARA OVINOS E CAPRINOS, SOBREPOSTO AOS ESPECTROS INDIVIDUAIS (A CINZENTO).	106

FIGURA 31 REPRESENTAÇÃO DO ESPECTRO MÉDIO (LINHA AMARELA) DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS GLÚTEN DE MILHO PARA OVINOS E CAPRINOS, SOBREPOSTO AOS ESPECTROS INDIVIDUAIS (A CINZENTO).	106
FIGURA 32 REPRESENTAÇÃO DO ESPECTRO MÉDIO (LINHA AMARELA) DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE PARA OVINOS E CAPRINOS, SOBREPOSTO AOS ESPECTROS INDIVIDUAIS (A CINZENTO).	107
FIGURA 33 REPRESENTAÇÃO DO DESVIO-PADRÃO DOS ESPECTROS (LINHA AMARELA) DAS AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS.....	108
FIGURA 34 REPRESENTAÇÃO DO DESVIO-PADRÃO (LINHA PARADA) DOS ESPECTROS NIR DAS AMOSTRAS DA MATÉRIA-PRIMA DDG DE MILHO.....	108
FIGURA 35 REPRESENTAÇÃO DO DESVIO-PADRÃO (LINHA AMARELA) DOS ESPECTROS NIR DAS AMOSTRAS DA MATÉRIA-PRIMA GLÚTEN DE MILHO.	109
FIGURA 36 REPRESENTAÇÃO DO DESVIO PADRÃO (LINHA AMARELA) DOS ESPECTROS NIR DAS AMOSTRAS DA MATÉRIA-PRIMA FARINHA DE CARNE.....	109
FIGURA 37 ESPECTROS NIR DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS APÓS APLICAÇÃO DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1).	117
FIGURA 38 ESPECTROS NIR DE MATÉRIAS-PRIMAS DDG DE MILHO APÓS APLICAÇÃO DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1).....	118
FIGURA 39 ESPECTROS NIR DE MATÉRIAS-PRIMAS GLÚTEN DE MILHO APÓS APLICAÇÃO DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1).....	119
FIGURA 40 ESPECTROS NIR DE MATÉRIAS-PRIMAS FARINHA DE CARNE APÓS APLICAÇÃO DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1).....	120
FIGURA 41 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) REPRESENTAÇÃO DO GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	122
FIGURA 42 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA HUMIDADE PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	123
FIGURA 43 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA GORDURA BRUTA PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	125

FIGURA 44 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA FIBRA BRUTA PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRTOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	126
FIGURA 45 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA CINZA PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	128
FIGURA 46 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DO FÓSFORO PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	129
FIGURA 47 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DO CÁLCIO PARA OVINOS E CAPRINOS COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	131
FIGURA 48 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	132
FIGURA 49 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA HUMIDADE PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	134
FIGURA 50 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA GORDURA BRUTA PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	135
FIGURA 51 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA FIBRA BRUTA PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	136
FIGURA 52 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA CINZA PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	137
FIGURA 53 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DO AMIDO PARA DDG DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	139

FIGURA 54 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA PARA GLÚTEN DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	140
FIGURA 55 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA HUMIDADE PARA GLÚTEN DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	141
FIGURA 56 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA GORDURA BRUTA PARA GLÚTEN DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	143
FIGURA 57 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA CINZA PARA GLÚTEN DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	144
FIGURA 58 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DE AMIDO PARA GLÚTEN DE MILHO COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	145
FIGURA 59 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA PROTEÍNA BRUTA PARA FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	147
FIGURA 60 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA HUMIDADE PARA FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	148
FIGURA 61 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA GORDURA BRUTA PARA A FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	150
FIGURA 62 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DA CINZA PARA A FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.	151
FIGURA 63 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DO FÓSFORO PARA A FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. (A) GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; (B) DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; (C) GRÁFICO “H GLOBAL”.....	153

FIGURA 64 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DO CÁLCIO PARA A FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. **(A)** GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; **(B)** DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; **(C)** GRÁFICO “H GLOBAL”..... 154

FIGURA 65 AVALIAÇÃO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO DE CLORETOS PARA A FARINHA DE CARNE COM O SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. **(A)** GRÁFICO DE DISPERSÃO “MEDIDO VS. PREVISTO”; **(B)** DISTRIBUIÇÃO DOS RESÍDUOS; **(C)** GRÁFICO “H GLOBAL”..... 156

Lista de tabelas

TABELA 1 COMPRIMENTOS DE ONDA ASSOCIADOS AOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE ALIMENTOS E ÀS RESPETIVAS LIGAÇÕES QUÍMICAS OBSERVADAS NA REGIÃO NIR (ADAPTADO DE RISCO, 2016).	68
TABELA 2 VALORES ESTATÍSTICOS DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DAS AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS A PARTIR DA ANÁLISE NO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	100
TABELA 3 VALORES ESTATÍSTICOS DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS A PARTIR DA ANÁLISE NO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	101
TABELA 4 VALORES ESTATÍSTICOS DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS A PARTIR DA ANÁLISE NO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	101
TABELA 5 VALORES ESTATÍSTICOS DOS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS DAS AMOSTRAS DE MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS A PARTIR DA ANÁLISE NO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	102
TABELA 6 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N). FONTE: DADOS OBTIDOS ATRAVÉS DO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	112
TABELA 7 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-16-16-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N). FONTE: DADOS OBTIDOS ATRAVÉS DO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	113
TABELA 8 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE MATÉRIA-PRIMA DDG DE MILHO. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N).	114
TABELA 9 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-16-16-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE MATÉRIA-PRIMA DDG DE MILHO. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N). FONTE: DADOS OBTIDOS ATRAVÉS DO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.	114

TABELA 10 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE MATÉRIA-PRIMA GLÚTEN DE MILHO. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N). FONTE: DADOS OBTIDOS ATRAVÉS DO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.....	115
TABELA 11 PARÂMETROS ESTATÍSTICOS DO TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) APLICADO ÀS AMOSTRAS DE MATÉRIA-PRIMA FARINHA DE CARNE. APRESENTAM-SE OS VALORES MÉDIOS, DESVIOS-PADRÃO, VALORES MÍNIMO E MÁXIMO, E OS INDICADORES DE DESEMPENHO DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO E VALIDAÇÃO (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD E N). FONTE: DADOS OBTIDOS ATRAVÉS DO PROGRAMA SOFTWARE WINISI.....	116
TABELA 12 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A PROTEÍNA BRUTA EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.....	123
TABELA 13 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A HUMIDADE EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	124
TABELA 14 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A GORDURA BRUTA EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	125
TABELA 15 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A FIBRA BRUTA EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	127
TABELA 16 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A CINZA EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO	

SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 128

TABELA 17 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA FÓSFORO EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 130

TABELA 18 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA CÁLCIO EM ALIMENTOS COMPOSTOS DESTINADOS A OVINOS E CAPRINOS, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 131

TABELA 19 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA PROTEÍNA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 133

TABELA 20 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA HUMIDADE EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 134

TABELA 21 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA GORDURA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 136

TABELA 22 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA FIBRA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. 137

TABELA 23 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA CINZA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	138
TABELA 24 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA O AMIDO EM MATÉRIAS-PRIMAS DE DDG DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	139
TABELA 25 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A PROTEÍNA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	141
TABELA 26 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A HUMIDADE EM MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	142
TABELA 27 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A GORDURA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	143
TABELA 28 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A CINZA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	145
TABELA 29 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA O AMIDO EM MATÉRIAS-PRIMAS DE GLÚTEN DE MILHO, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.	146
TABELA 30 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A PROTEÍNA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS	

<p>CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. </p>	148
<p>TABELA 31 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A HUMIDADE EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. </p>	149
<p>TABELA 32 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A GORDURA BRUTA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. </p>	151
<p>TABELA 33 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA A CINZA EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.</p>	152
<p>TABELA 34 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA O FÓSFORO EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.</p>	154
<p>TABELA 35 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA O CÁLCIO EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL.</p>	155
<p>TABELA 36 RESULTADOS ESTATÍSTICOS DE CALIBRAÇÃO PARA OS CLORETOS EM MATÉRIAS-PRIMAS DE FARINHA DE CARNE, OBTIDOS COM O TRATAMENTO MATEMÁTICO (1-4-4-1) NO SOFTWARE FOSS CALIBRATOR. APRESENTAM-SE OS VALORES DAS AMOSTRAS, RMSEP, INCLINAÇÃO/ INTERCEÇÃO, BIAS E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO (R^2) PARA OS CONJUNTOS DE CALIBRAÇÃO, VALIDAÇÃO E TOTAL. </p>	157
<p>TABELA 37 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS DE AMOSTRAS DESTINADAS A OVINOS E CAPRINOS ANALISADAS POR NIR (MODELO 1-4-4-1) COM OS VALORES DETERMINADOS POR MÉTODOS DE</p>	

REFERÊNCIA PARA OS CONSTITUINTES: HUMIDADE, PROTEÍNA, CINZA, CÁLCIO, FÓSFORO, GORDURA E FIBRA	159
TABELA 38 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS PELO NIR (MODELO 1-16-16-1) E OS RESULTADOS POR MÉTODOS DE REFERÊNCIA PARA OS CONSTITUINTES NUTRICIONAIS EM AMOSTRAS DE OVINOS E CAPRINOS.....	160
TABELA 39 COMPARAÇÃO DOS VALORES OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE DDG DE MILHO ANALISADAS POR NIR (MODELO 1-4-4-1), MÉTODOS DE REFERÊNCIA E VALORES FORNECIDOS PELA ASFAC.....	161
TABELA 40 COMPARAÇÃO DOS VALORES OBTIDOS PARA AMOSTRAS DE DDG DE MILHO ANALISADAS POR NIR (MODELO 1-16-16-1), MÉTODOS DE REFERÊNCIA E VALORES FORNECIDOS PELA ASFAC.	161

1. Introdução

A presente dissertação tem como objetivo principal o desenvolvimento de equações de calibração multivariadas para a previsão da composição química de diferentes matérias-primas e alimentos compostos para animais, recorrendo à Espectroscopia no Infravermelho Próximo (*NIR - Near Infrared Reflectance Spectroscopy*). O NIR surge como uma ferramenta analítica promissora neste contexto, permitindo efetuar a caracterização química de matérias-primas e alimentos compostos de forma rápida, não destrutiva e com custos operacionais reduzidos.

Esta metodologia fundamenta-se na absorção de luz infravermelha por compostos orgânicos, que apresentam características de absorção específicas, causando vibrações nas ligações de hidrogénio induzidas pela absorção. Essas reações permitem que os componentes sejam quantificados por meio de equações de calibração. Na região do infravermelho, com comprimento de onda (λ) entre 750 nm e 2 500 nm, ligações químicas como **-OH**, **-NH** e **-CH** vibram fortemente. Estes grupos são componentes típicos de alimentos (água, proteína, lípidos e hidratos de carbono). Os métodos baseados em espectroscopia têm sido popularizados, especialmente por possibilitarem a análise simultânea de vários constituintes, por se constituírem como uma técnica não destrutiva (permitindo a reutilização da amostra), por possuírem rapidez de processamento das informações e do fornecimento de resultados quantitativos, por não consumirem reagentes químicos nocivos ao meio ambiente e por serem menos morosos e de custo relativamente baixo (Ferreira Simeone et al., 2018).

A refletância no infravermelho próximo é um método espectroscópico que surgiu como alternativa aos métodos de referência para a determinação de diferentes propriedades ou constituintes de matrizes de interesse agrícola. Porém, metodologias que utilizam a espectroscopia NIR têm-se mostrado altamente eficientes na substituição de métodos de análise laboratorial em diversos setores, como em análises de alimentos, produtos farmacêuticos e agrícolas, entre outros, viabilizando a avaliação de um grande número de parâmetros, num largo espectro de amostras (Pasquini, 2003). Mas, para que a técnica seja aplicada com boa exatidão e precisão, para cada parâmetro de interesse é necessário realizar a construção de um modelo de calibração multivariada associando os dados espectroscópicos NIR aos resultados analíticos realizados pelos métodos de

referência. E, para a realização dos ajustes no modelo de calibração, são necessários procedimentos matemáticos e quimiométricos apropriados ao modelo multivariado escolhido para o conjunto de amostras analisadas, conjunto este que contemple a maior amplitude/variabilidade nos teores para cada um dos constituintes da amostra a ser avaliada (Salette Tibola et al., 2018).

Neste trabalho, procedeu-se ao desenvolvimento de equações de calibração para a previsão de constituintes nutricionais com base em espectros NIR, aplicados a diferentes categorias de matérias-primas e alimentos compostos, nomeadamente: “*Distillers Dried Grains*” (DDG) de milho, glúten de milho, farinha de carne e alimentos compostos para ovinos e caprinos. A seleção destas matrizes foi realizada com base na sua relevância tecnológica e prática na indústria de alimentação animal.

A inclusão do DDG de milho neste estudo deve-se ao crescente interesse deste subproduto como ingrediente alternativo na formulação de alimentos compostos para ruminantes. Esta relevância intensificou-se a partir do início do segundo trimestre de 2022, em consequência das perturbações no mercado global de cereais provocadas por fatores geopolíticos, nomeadamente pela guerra na Ucrânia, que afetou significativamente a disponibilidade e os preços do milho e do trigo. Face à escassez e instabilidade do fornecimento destas matérias-primas convencionais, o DDG passou a ser valorizado pela indústria de alimentação animal como fonte viável de proteína e energia, permitindo parcialmente substituir os cereais tradicionais. Neste contexto, tornou-se pertinente o desenvolvimento de equações de calibração NIR robustas para este subproduto, de forma a garantir a sua caracterização rápida, precisa e economicamente eficiente.

No que respeita ao glúten de milho, a sua inclusão prende-se com a utilização regular desta matéria-prima por parte de clientes industriais específicos, destacando-se o seu papel como fonte de proteína vegetal em alimentos compostos. A construção de modelos de previsão adequados permitirá responder às necessidades analíticas destes utilizadores, aumentando a eficiência do controlo de qualidade.

A farinha de carne, por sua vez, representa uma matriz nutricionalmente densa, mas bastante variável, devido à sua origem mista e alterações constantes na sua

composição. Esta complexidade justifica a necessidade de integrar novas amostras nas equações já existentes, ajustando continuamente os modelos por forma a garantir resultados fiáveis e representativos.

Por fim, no caso dos alimentos compostos para ovinos e caprinos, embora já existissem calibração prévias, foi considerado essencial atualizá-las com novos dados espectrais e analíticos, de modo a aumentar a robustez dos modelos e assegurar a sua fiabilidade num contexto produtivo real.

A construção das equações de calibração foi realizada recorrendo ao método de regressão por mínimos quadrados parciais modificados (mPLS), uma vez que este se encontra integrado e otimizado nos *softwares* WinISI e Foss Calibrator. O mPLS constitui uma evolução do método PLS tradicional, permitindo a realização automática de correções nos espectros, ponderação de *outliers* e otimização da variância explicada em cada fator latente.

Esta abordagem é especialmente adequada para matrizes complexas, como alimentos compostos e subprodutos agroindustriais, pois melhora a robustez dos modelos e reduz a influência de ruído espectral, variações físicas (granulometria, humidade) e interferências químicas. Assim, a escolha deste método decorre não só da sua disponibilidade nos programas utilizados, mas também da sua reconhecida eficácia na calibração de modelos NIR aplicados à alimentação animal.

2. Caracterização da Empresa

A empresa Tecnologia e Nutrição Animal, S.A. (TNA), foi fundada em 1991 para atender às crescentes exigências da Indústria de Alimentos Compostos para Animais, a qual enfrentava a necessidade de modernização para cumprir normas comunitárias rigorosas e acompanhar as mudanças do mercado. O objetivo foi satisfazer consumidores cada vez mais informados e exigentes quanto à Segurança Alimentar. Na figura 1 é apresentado o cronograma da evolução da TNA ao longo dos anos desde a sua criação até ao presente.

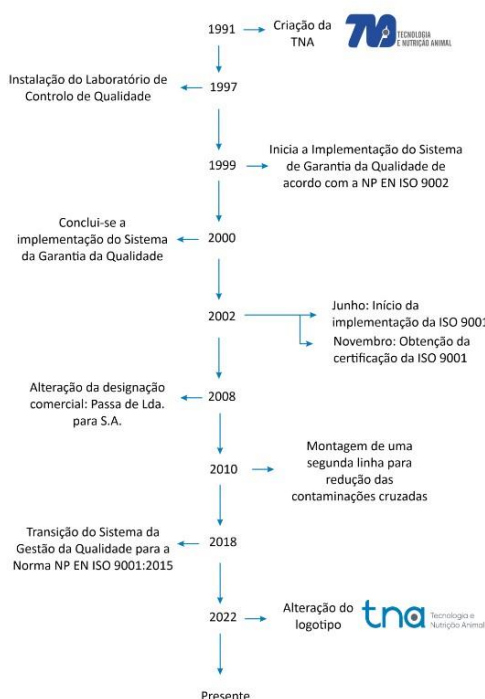


Figura 1 Cronograma da evolução da TNA desde a sua criação até à atualidade. Fonte: TNA – Tecnologia e Nutrição Animal, S.A (s.d.). *Cronograma institucional*. Disponível em: <https://www.tna.pt>

A TNA atua no setor de pré-misturas e aditivos, um segmento essencial para a produção de alimentos compostos, e segue as regulamentações e padrões promovidos pela Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA). A IACA representa o setor nacional, garantindo a aplicação das melhores práticas e o alinhamento com normas europeias, como as certificações ISO, que promovem a segurança e a sustentabilidade (IACA, s.d.-e).

Além disso, a TNA aplica metodologias baseadas nas orientações da Comissão Técnica de Normalização (CT37), assegurando conformidade técnica, comparabilidade

analítica e eficiência nos seus processos de fabrico e controlo de qualidade. Essa atuação reflete o compromisso da empresa em oferecer soluções inovadoras e confiáveis ao mercado (IACA, s.d.-b).

2.1. Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA)

A IACA representa 65 empresas associadas, que operam no setor de produção de alimentos compostos para animais. Estas empresas são responsáveis por cerca de 3,5 milhões de toneladas de produção anual e juntas movimentam aproximadamente 1.000 milhões de euros. A associação, fundada em 1975, tem desempenhado um papel crucial no desenvolvimento do setor, promovendo práticas de inovação, segurança alimentar e sustentabilidade. Além disso, a IACA representa os interesses dos seus associados a nível nacional e internacional, colaborando com diversas entidades para o crescimento contínuo da indústria (IACA, s.d.-c).

Em 2023, a IACA registou um ligeiro incremento de 0,5% na produção total, atingindo um volume de, aproximadamente, 3,5 milhões de toneladas, ilustrado na figura 2. Este crescimento foi impulsionado principalmente por um aumento de 2,95% na produção de alimentos compostos para bovinos, refletindo a importância crescente deste segmento (IACA, s.d.-c).

Produção de Alimentos Compostos para Animais
(Empresas Associadas na IACA)

1 000 Toneladas

	2022	2023	Var. %
Aves	1 441	1 447	0,42
Bovinos	814	838	2,95
Suínos	791	775	-2,02
Outros	418	421	0,72
TOTAL	3 464	3 481	0,49

Figura 2 Produção de alimentos compostos para animais em 2022 e 2023, expressa em mil toneladas, pelas empresas associadas da IACA. Fonte: IACA – Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais. (s.d.-c). [Produção de alimentos Compostos para animais]. <https://www.iaca.pt>

Apesar desse crescimento, a estrutura da produção manteve uma configuração semelhante à observada no ano anterior. O mercado avícola continuou a liderar, representando 41,6% do total da produção. A produção de alimentos para bovinos apresentou um aumento de participação, alcançando 24%, enquanto a de alimentos para suínos registou uma ligeira queda, fixando-se em 22,3%. Por fim, a produção destinada a outros animais permaneceu estável, com uma quota de 12,09% (IACA, s.d.-c).

Relativamente ao consumo de matérias-primas dos associados da IACA, os cereais dominaram em 2023, representando 59,9% do total, um aumento de 8,8% em relação a 2022, com mais de 2 milhões de toneladas consumidas, ilustrado na figura 3. Por outro lado, as sementes e bagaços, de oleaginosas caíram 3,15%, ficando com uma representação de 23,8%. Os produtos substitutos de cereais (PSC) registaram a maior queda, com uma redução de 36,36%, representando apenas 2,4%. As matérias-primas diversas também diminuíram 14%, com uma participação de 13,7%. A preferência pelos cereais aumentou, possivelmente devido à queda nos preços e questões de disponibilidade e nutrição (IACA, s.d.-a).

Consumo de Matérias-Primas
(Empresas Associadas na IACA)

1 000 Toneladas

	2022	2023	Var. %
Cereais	1 917	2 087	8,87
Oleaginosas	857	830	-3,15
PSC	132	84	-36,36
Diversos	558	480	-13,98
TOTAL	3 464	3 481	0,49

Figura 3 Consumo de matérias-primas para animais em 2022 e 2023, expressa em mil toneladas, pelas empresas associadas da IACA. Fonte: IACA – Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais. (s.d.-a). [Consumo de matérias-primas para animais]. <https://www.iaca.pt>

2.2. Comissão Técnica de Normalização (CT37)

A Normalização resultou da necessidade de se dar resposta a problemas de natureza técnica, nomeadamente no que diz respeito à transparência do mercado, assegurando um determinado grau de qualidade do serviço ou produto em questão, assim como da segurança e respeito pelo ambiente. Um dos aspetos primordiais da normalização prende-se com aspetos comerciais, visto que ao reduzir assimetrias de informação entre a procura e a oferta e o acesso a novos mercados, as trocas comerciais são facilitadas, podendo significar uma garantia de qualidade e prevenção de barreiras comerciais (IACA, s.d.-b).

As empresas nacionais têm aderido cada vez mais à certificação dos seus produtos e metodologias de fabrico, como forma de reforçar a sua credibilidade perante terceiros. Esta certificação é possível apenas recorrendo às normas Internacionais ou Nacionais existentes para o efeito, tal como a NP EN ISO 9001 e a NP EN ISO 22000. A normalização assume ainda um papel determinante a nível analítico principalmente em situações de disputa entre produtores e clientes ou fornecedores e, entre produtores e as autoridades competentes. Só é possível garantir resultados analíticos comparáveis através de metodologias e laboratórios acreditados (IACA, s.d.-b).

A atividade normativa, em Portugal, é da responsabilidade do Instituto Português da Qualidade (IPQ), o qual tem a capacidade de qualificar e reconhecer Organismos de Normalização Sectorial (ONS) para exercer atividades de Normalização num dado domínio, no âmbito do Sistema Português da Qualidade. As Comissões Técnicas de Normalização (CT) são órgãos técnicos que visam a elaboração de documentos e a emissão de pareceres normativos, sendo constituídas por elementos de entidades interessadas nas matérias em causa, nos quais os seus membros participam em regime de voluntariado.

A CT 37 é a Comissão Técnica de normalização para a área da alimentação animal tendo sido constituída em 1972. Cada Comissão Técnica é gerida por um Organismo de Normalização Setorial (ONS). A CT 37 está afeta à IACA, visto que esta associação é a representante nacional dos industriais de alimentos compostos para animais (IACA, s.d.-b).

2.3. Protocolo de Cooperação QUALIACA - IACA e DGAV

Em 2015, a Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA) e a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) assinaram o Protocolo de Cooperação QUALIACA, com o objetivo de reforçar a segurança alimentar na produção de alimentos compostos para animais. Este projeto visa monitorizar e controlar as matérias-primas, especialmente aquelas importadas de países terceiros, garantindo a conformidade com os padrões de qualidade exigidos. O controlo é realizado através de amostragem e inspeções rigorosas nos principais portos de entrada, garantindo a segurança ao longo de toda a cadeia de produção (IACA, s.d.-d).

Esta cooperação destaca o compromisso da IACA e dos seus associados com a segurança alimentar e a melhoria contínua da qualidade dos produtos fornecidos ao mercado (IACA, s.d.-d).

A inclusão do Protocolo QUALIACA neste trabalho justifica-se pelo facto de as matrizes estudadas, DDG de milho, glúten de milho, farinha de carne e alimentos compostos para ovinos e caprinos serem matérias-primas e produtos que integram o fabrico de alimentos para animais e, por isso, estão diretamente sujeitos aos requisitos de controlo de qualidade e segurança previstos neste protocolo.

O QUALIACA estabelece procedimentos para garantir a conformidade das matérias-primas utilizadas na alimentação animal, nomeadamente no que respeita à sua composição nutricional, origem, contaminações microbiológicas e presença de substâncias indesejáveis. Assim, a caracterização química e nutricional destas matrizes através da espectroscopia NIR, tal como desenvolvida neste estudo, contribui para os objetivos do protocolo, permitindo uma monitorização rápida e fíável dos ingredientes utilizados pela indústria de alimentos compostos para animais.

Desta forma, este trabalho enquadra-se no âmbito do QUALIACA, uma vez que fornece ferramentas analíticas (modelos NIR calibrados) que podem ser utilizadas para reforçar o controlo da qualidade das matérias-primas e assegurar a conformidade com a legislação e com as exigências do setor alimentar animal.

3. A importância da alimentação na produção animal

A nutrição animal, no contexto da produção pecuária, é a ciência responsável pela formulação de dietas para animais que produzem alimentos (como carne, leite e ovos) ou de matérias não alimentares (como a lã e o couro).

Nos animais de produção, como bovinos, suínos e aves, a nutrição desempenha um papel essencial na obtenção de produtos alimentares de qualidade, enquanto permite reduzir os custos de produção e minimizar as perdas de nutrientes não digeridos (Multimix, 2019).

Portanto, a compreensão dos conceitos básicos de nutrição animal é essencial para a formulação de rações que permitam (Multimix, 2019):

- **Aumentar a eficiência da produção animal**, contribuindo para a redução dos custos com a alimentação e melhorando o desempenho produtivo;
- **Proteger o ambiente**, através da redução da produção de dejetos ricos em nutrientes não digeridos (como o fósforo e o nitrogénio), minimizando desperdícios e diminuindo a emissão de gases com efeito de estufa. Tal pode ser alcançado por meio de estratégias nutricionais que promovam, por exemplo, o controlo da fermentação de ruminantes.
- **Preservar o valor nutricional dos alimentos de origem animal** e promover o bem-estar dos animais. Quando se trata de nutrição é importante conhecer a fisiologia do trato gastrointestinal e estabelecer alguns conceitos importantes.

3.1. Princípios da Formulação da Ração Animal

A dieta dos animais de criação, em particular, consiste em plantas e produtos vegetais, embora alguns alimentos de origem animal, como a farinha de peixe e o leite, sejam utilizados em quantidades limitadas. Os animais dependem das plantas para a sua existência e, conseqüentemente, um estudo da nutrição animal deve necessariamente começar com a própria planta. As plantas são capazes de sintetizar materiais complexos a partir de substâncias simples como o dióxido de carbono, a água e os elementos inorgânicos do solo. A energia da luz solar é captada e utilizada nestes processos de síntese através da fotossíntese. A maior parte da energia, no entanto, é armazenada

como energia química dentro da própria planta e é esta energia que é utilizada pelo animal para a manutenção da vida e síntese dos seus próprios tecidos corporais. As plantas e os animais contêm tipos semelhantes de substâncias químicas, e nós podemos agrupá-las em classes de acordo com a sua constituição, propriedades e função (McDonald et al., 2010).

Os principais componentes dos alimentos, representados na figura 4, são:

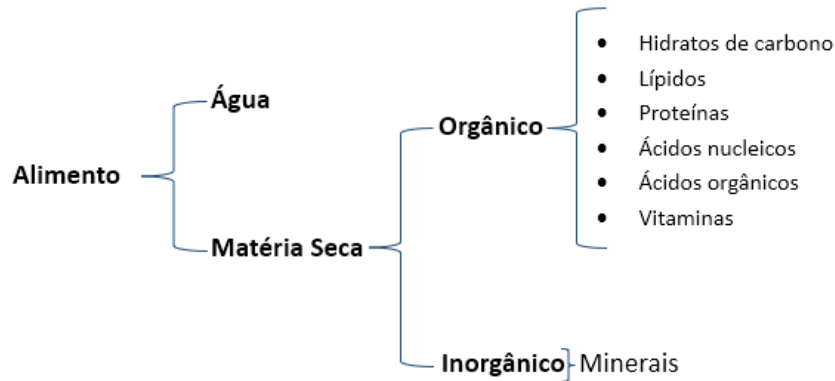


Figura 4 Esquema representativo dos principais componentes dos alimentos. Adaptado de (McDonald et al., 2010).

ÁGUA

A água é o alimento mais importante para os animais. A água é essencial para a vida. Entre outras funções, a água constitui-se como elemento essencial para manter a pressão intracelular, facilitar os processos digestivos, transportar nutrientes e eliminar toxinas através da urina, bem como permitir a regulação térmica dos animais. A quantidade de água que os animais necessitam é determinada por muitos fatores, nomeadamente o estado de crescimento, de gestação, de lactação, da atividade, da dieta alimentar e dos níveis de ingestão, bem como pela temperatura ambiente (Direção Geral de Alimentação E Veterinária, 2014).

O teor de água do corpo do animal varia com a idade. O animal recém-nascido contém 750-800 g/kg de água, mas este teor desce para cerca de 500 g/kg no animal adulto. É vital para a vida do organismo que o conteúdo de água do corpo seja mantido, um animal morrerá mais rapidamente se for privado de água do que se for privado de alimentos. A água funciona no corpo como um solvente no qual os nutrientes são

transportados pelo corpo e no qual os produtos residuais são excretados. Muitas das reações químicas provocadas pelas enzimas ocorrem em solução e envolvem hidrólise.

Devido ao elevado calor mássico da água, podem ocorrer grandes alterações na produção de calor no animal com muito pouca alteração da temperatura corporal. A água tem também um elevado calor latente de evaporação e a sua evaporação dos pulmões e da pele confere-lhe um papel adicional na regulação da temperatura corporal (McDonald et al., 2010).

O animal obtém a sua água através de três fontes:

- água potável;
- água presente nos alimentos;
- água metabólica, formada durante o metabolismo pela oxidação de nutrientes orgânicos contendo hidrogénio.

MATÉRIA SECA

A matéria seca dos alimentos é convenientemente dividida em material orgânico e inorgânico, embora nos organismos vivos não exista uma distinção tão nítida. Muitos compostos orgânicos contêm elementos minerais como componentes estruturais. As proteínas, por exemplo, contêm enxofre, e muitos lípidos e hidratos de carbono contêm fósforo (McDonald et al., 2010).

As sementes oleaginosas, como o amendoim, são excecionais por conterem grandes quantidades de proteínas e lípidos. Em contrapartida, o teor de hidratos de carbono do corpo animal é muito baixo. Uma das principais razões para a diferença entre plantas e animais é que, enquanto as paredes das células das plantas são constituídas por hidratos de carbono, principalmente celulose, as paredes das células animais são constituídas quase exclusivamente por lípidos e proteínas. Além disso, as plantas armazenam energia em grande parte sob a forma de hidratos de carbono, como o amido, ao passo que a principal reserva de energia de um animal é sob a forma de lípidos (McDonald et al., 2010).

O teor de lípidos do corpo do animal é variável e está relacionado com a idade, contendo o animal mais velho uma proporção muito maior do que o animal jovem. O

teor de lípidos das plantas vivas é relativamente baixo, sendo o da erva de pastagem, por exemplo, de 40-50 g/kg de matéria seca.

Tanto nas plantas como nos animais, as proteínas são os principais compostos que contêm azoto. Nas plantas, em que a maior parte das proteínas está presente sob a forma de enzimas, a concentração é elevada na planta jovem em crescimento e diminui à medida que a planta amadurece. Nos animais, o músculo, a pele, o pelo, as penas, a lã e as unhas são constituídos principalmente por proteínas. Tal como as proteínas, os ácidos nucleicos também são compostos que contêm azoto e desempenham um papel fundamental na síntese de proteínas em todos os organismos vivos. Além disso, transportam a informação genética da célula viva (McDonald et al., 2010).

Os ácidos orgânicos que ocorrem nas plantas e nos animais incluem os ácidos cítrico, málico, fumárico, succínico e pirúvico. Embora estes estejam normalmente presentes em pequenas quantidades, desempenham, no entanto, um papel importante como intermediários no metabolismo geral da célula. Outros ácidos orgânicos ocorrem como produtos de fermentação no rúmen, ou na silagem, e incluem os ácidos acético, propiónico, butírico e láctico. As vitaminas estão presentes nas plantas e nos animais em quantidades mínimas, e muitas delas são importantes como componentes dos sistemas enzimáticos. Uma diferença importante entre as plantas e os animais é que, enquanto as primeiras podem sintetizar todas as vitaminas de que necessitam para o metabolismo, os animais não podem, ou têm uma capacidade de síntese muito limitada, e dependem de um fornecimento externo (McDonald et al., 2010).

A matéria inorgânica contém todos os elementos presentes nas plantas e nos animais que são o carbono, o hidrogénio, o oxigénio e o azoto. O cálcio e o fósforo são os principais componentes inorgânicos dos animais, enquanto o potássio e o silício são os principais elementos inorgânicos das plantas (McDonald et al., 2010).

ENERGIA

A energia é o principal fator limitante do desempenho animal, sendo o primeiro aspecto a ser considerado na formulação de dietas para animais. Embora não seja considerada um nutriente, a energia provém de moléculas orgânicas, cujos nutrientes (hidratos de carbono, lípidos e proteínas) são metabolizados pelos animais para gerar energia (Multimix, 2019).

Contudo, nem toda a energia contida nos nutrientes é aproveitada pelos animais. Alguns componentes da ração podem ser apenas parcialmente digeridos, ou mesmo não digeridos e, mesmo os nutrientes absorvidos, não são utilizados com 100% de eficiência.

Biologicamente, a energia pode ser dividida em energia bruta (EB), energia digestível (ED), energia metabolizável (EM) e por fim energia líquida (EL) (Marcos, 2020). A figura 5 ilustra os diferentes tipos de energia do alimento.

- **ENERGIA BRUTA**

É definida pelo calor produzido através da queima completa de uma unidade de massa de alimento a qual produz oxigênio, que por sua vez gera água e dióxido de carbono sob condições padrões de temperatura e pressão (Marcos, 2020).

- **ENERGIA DIGESTÍVEL**

Durante o processo de digestão do alimento ocorre a primeira perda de energia, parte desta fração energética é perdida nas fezes. Subtraindo-se a energia bruta (EB) das fezes obtém-se a energia digestível aparente. O termo aparente explica que as fezes não são apenas resultado de material não digerido do alimento, mas também pode conter substâncias que eram parte do animal, como por exemplo, descamações de células da parede intestinal. A energia digestível reflete a digestibilidade da dieta e é facilmente determinada, porém não considera perdas importantes relacionadas à digestão e metabolismo dos alimentos, dessa forma superestima os valores dos alimentos fibrosos (feno, palha) em relação aos alimentos altamente digeríveis (grãos e farelos).

A ingestão de energia digestível é calculada a partir da multiplicação da energia bruta do alimento pelo coeficiente de digestibilidade do alimento. O coeficiente de

digestibilidade aparente é calculado como quantidade de energia bruta no alimento subtraído pela quantidade de energia bruta eliminada nas fezes (Marcos, 2020).

- **ENERGIA METABOLIZÁVEL**

Nem toda a energia digestível está disponível para o animal. Durante o processo de metabolismo, ocorre perda energética na urina e nos gases formados durante o processo de fermentação (metano e CO₂). A perda urinária inclui os compostos que passaram pelo processo de absorção, mas não foram utilizados, produtos finais de origem endógena e produtos finais de processos metabólicos. O valor da diferença entre a energia digestível aparente e a perda de energia nos gases e urina é chamada de energia metabolizável ou energia disponível às células do tecido animal. A energia metabolizável é geralmente expressa como energia metabolizável kcal/ g de alimento seco e a definição é estritamente em termos de quantidades mensuráveis, medição de metano envolvendo o uso de uma câmara de respiração. O valor calorífico da matéria seca da grama, ou matéria orgânica da grama, está sujeito a variações relativamente pequenas. Esta energia é utilizada pelo animal para a manutenção corporal e para processos como crescimento, produção de leite e carne, entre outros (Marcos, 2020).

- **ENERGIA LÍQUIDA**

É a forma de energia mais indicada para expressar a utilização pelo animal, pois tratasse da fonte que está realmente disponível para utilização pelo animal. No cálculo da energia líquida é considerada a produção de calor durante os processos como digestão, fermentação e metabolismo. Esta perda somada à energia perdida com atividade física específica ligada ao consumo do alimento é o que dá origem ao chamado incremento calórico, que está relacionado ao alimento e não está disponível para a utilização pelo animal.

Portanto, a energia líquida é o resultado da diferença entre a energia metabolizável e o incremento calórico (Marcos, 2020).

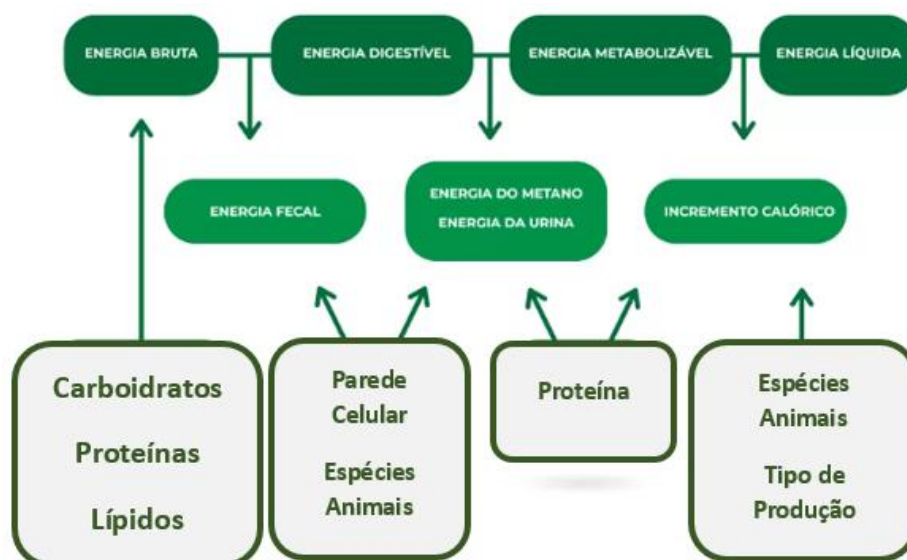


Figura 5 Esquema representativo dos diferentes tipos de energia presentes no alimento e das respectivas perdas durante os processos digestivo e metabólico nos animais, influenciado pela composição nutricional e pela espécie animal. Fonte: Adaptado de Multimix, 2019.

4. Classificação dos alimentos

A alimentação animal é um dos pilares fundamentais para garantir a saúde, o bem-estar e a produtividade dos animais, especialmente em sistemas de produção pecuária. Os alimentos utilizados podem variar significativamente, dependendo da espécie, do sistema de produção (extensivo ou intensivo), das condições climáticas e da disponibilidade de ingredientes. De uma forma geral, os alimentos são classificados, sobretudo, em volumosos, concentrados energéticos, concentrados proteicos, vitaminas e minerais, e aditivos (Tonissi et al., 2013).

Os principais tipos de alimentos utilizados na nutrição animal são:

Volumosos: Alimentos ricos em fibra, geralmente a base da dieta de ruminantes (bovinos, caprinos, ovinos). Têm baixo valor energético, mas são essenciais para o bom funcionamento do rúmen (Tonissi et al., 2013):

- Pastagens: azevém.
- Forragens Conservadas: silagens (milho, sorgo, capim) e fenos (leguminosas, gramíneas).

- Resíduos Agrícolas: restos de colheitas como palha de milho, arroz ou trigo.

Concentrados Energéticos: alimentos ricos em hidratos de carbono e lípidos, fornecem energia necessária para o crescimento, produção de leite, carne ou ovos (Tonissi et al., 2013):

- Cereais: milho, sorgo, trigo, aveia e cevada.
- Subprodutos de oleaginosas: farelos de soja e algodão.
- Tubérculos e raízes: mandioca e batata-doce.
- Melaço de cana-de-açúcar: utilizado para suplementar energia, especialmente em ruminantes.

Concentrados Proteicos: alimentos ricos em proteínas, fundamentais para o crescimento e reprodução dos animais (Tonissi et al., 2013):

- Farelo de soja: principal fonte de proteína vegetal em todo o mundo.
- Farelo de amendoim: outra fonte de proteína vegetal bastante utilizada.
- Farelo de algodão: rico em proteína, com algumas restrições devido ao gossipol, substância tóxica presente em teores elevados.
- Farinha de peixe: excelente fonte de proteína animal, rica em aminoácidos essenciais.
- Farinha de carne e osso: usada principalmente em rações para suínos e aves.
- Levedura de Cerveja: rica em proteínas e vitaminas do complexo B.

Minerais: compostos de minerais usados na alimentação animal: fosfato bicálcico (CaHPO_4), calcário, sal comum (NaCl), sulfato de cobre (CuSO_4), sulfato de zinco (ZnSO_4), óxido de magnésio (MgO), entre outros.

Vitaminas: alimentos compostos constituídos por vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis.

Aditivos: são substâncias adicionadas intencionalmente a dietas, que não possuem valores nutritivos, que não são utilizados como ingredientes, mas que melhoram em características finais dos produtos destinados à alimentação animal.

Os aditivos são classificados como tecnológicos, sensoriais, nutricionais e zootécnicos:

- Aditivos tecnológicos: adicionado à alimentação animal com fins tecnológicos, ou seja, adsorventes, antioxidantes, aglutinantes, emulsionantes, inoculantes e estabilizantes;
- Aditivos sensoriais: substâncias adicionadas para melhorar ou modificar as propriedades organolépticas ou características visuais dos produtos finais (aromatizantes, corantes e palatibilizantes);
- Aditivos nutricionais: substâncias utilizadas para conservar ou melhorar as propriedades nutricionais (vitaminas e aminoácidos);
- Aditivos zootécnicos: para proporcionar melhor desempenho animal (probióticos, prebióticos, ionóforos, ácidos orgânicos e enzimas) (Tonissi et al., 2023).

Considerando a classificação dos alimentos apresentada anteriormente, as matrizes utilizadas neste trabalho enquadram-se em diferentes grupos nutricionais. O glúten de milho e o DDG de milho são classificados como concentrados proteicos de origem vegetal, obtidos como subprodutos dos processos industriais de moagem húmida e destilação, respetivamente. A farinha de carne, por sua vez, é um concentrado proteico de origem animal, proveniente do processamento de tecidos musculares e ósseos. Já os alimentos compostos para ovinos e caprinos consistem em misturas equilibradas de concentrados energéticos e proteicos, formuladas de acordo com o objetivo produtivo e a fase fisiológica dos animais.

De forma geral, é importante salientar que a composição nutricional destas matrizes apresenta elevada variabilidade, dependendo da origem das matérias-primas, do processo industrial e do destino zootécnico do produto. Assim, os valores apresentados de seguida correspondem a médias de referência descritas na literatura, nomeadamente por McDonald et al. (2010).

GLÚTEN DE MILHO

O glúten de milho é um subproduto resultante do processo de moagem húmida do milho para a produção de amido e glucose. Segundo McDonald et al. (2010), existem dois principais derivados: o glúten de milho (*gluten meal*), com teor proteico elevado, variando entre 600 e 700 g/kg de matéria seca, e o farelo de glúten de milho (*maize gluten feed*), com cerca de 200 a 250 g/kg de proteína bruta e energia metabolizável de aproximadamente 12,5 MJ/kg de matéria seca para ruminantes.

Estes subprodutos são ricos em proteínas de boa qualidade e pigmentos carotenoides, sendo amplamente utilizados em dietas de aves e ruminantes (McDonald et al., 2010).

DDG DE MILHO (*DISTILLER'S DRIED GRAINS*)

O DDG de milho é um subproduto do processo de destilação de grãos de milho para a produção de etanol. De acordo com McDonald et al. (2011), este produto apresenta, em média 890 g/kg de matéria seca, 340 g/kg de proteína bruta, 13,5 MJ/kg de energia metabolizável para ruminantes, 89 g/kg de fibra bruta, 69–110 g/kg de extrato etéreo e 52 g/kg de cinzas. O teor de lisina é de, aproximadamente, 7,8 g/kg, com degradabilidade proteica próxima de 0,70, indicando que 70% da proteína é degradada no rúmen. O DDG é considerado uma fonte relevante de proteína e energia, especialmente para ruminantes, embora apresente elevada variabilidade na sua composição, em função do processo industrial e da origem do grão.

FARINHA DE CARNE

A farinha de carne é um concentrado proteico de origem animal, obtido a partir do processamento de tecidos musculares e ósseos. Apresenta um elevado teor de proteína bruta (500–600 g/kg de matéria seca), sendo particularmente rica em lisina, mas pobre em metionina e triptofano.

Segundo McDonald et al. (2010), trata-se de uma fonte proteica de boa qualidade biológica (BV \approx 0,67), amplamente utilizada em alimentos compostos para suínos e aves, podendo ser incluída até 150 kg por tonelada de ração. Contudo, a sua utilização em

dietas de ruminantes encontra-se proibida na União Europeia, devido ao risco de encefalopatia espongiforme bovina.

Devido ao seu teor de gordura, a farinha de carne requer condições adequadas de armazenamento, de modo a evitar a rancificação lipídica e a perda de vitaminas lipossolúveis (McDonald et al., 2010).

ALIMENTOS COMPOSTOS PARA OVINOS E CAPRINOS

Os alimentos compostos utilizados na alimentação de ovinos e caprinos são formulações equilibradas que combinam diversas matérias-primas vegetais e subprodutos agroindustriais, como cereais (milho, cevada, trigo, aveia), farelos proteicos (soja, colza, girassol), subprodutos do milho (glúten de milho, DDG), farinhas de oleaginosas e suplementos minerais e vitamínicos (McDonald et al., 2010).

Segundo McDonald et al. (2010), a composição nutricional destes alimentos varia amplamente conforme o objetivo produtivo, a idade e a fase fisiológica dos animais. No entanto, de forma geral, os alimentos compostos destinados a pequenos ruminantes apresentam valores médios na seguinte faixa:

- Matéria seca: 870–900 g/kg
- Proteína bruta: 140–200 g/kg
- Fibra bruta: 80–150 g/kg
- Extrato etéreo (gordura): 25–60 g/kg
- Cinzas totais: 50–80 g/kg
- Energia metabolizável: 9–12 MJ/kg de matéria seca

Esta ampla variação deve-se à finalidade específica de cada tipo de alimento composto.

Em linhas gerais:

- As rações de crescimento ou recria apresentam teores proteicos mais elevados (180–200 g/kg) para favorecer o desenvolvimento muscular e ósseo;
- As rações de manutenção têm menor densidade energética e proteica (\approx 140 g/kg de Proteína Bruta);

- As rações para lactação ou alta produção de leite são mais ricas em energia (até 12 MJ/kg de matéria seca) e gordura, otimizando a síntese de leite e reduzindo perdas corporais.

Assim, é importante salientar que, à semelhança dos subprodutos agroindustriais, os alimentos compostos para ovinos e caprinos não apresentam composição fixa, uma vez que a formulação depende do tipo de produção, da disponibilidade de ingredientes e do custo das matérias-primas. Por este motivo, os valores aqui apresentados devem ser interpretados como valores médios de referência e não como especificações absolutas (McDonald et al., 2010).

4.1. Composição Química dos alimentos para animais

4.1.1. Humidade (Matéria Seca)

A perda de massa de uma amostra durante o processo de secagem é determinada em condições específicas, as quais variam de acordo com a natureza da amostra. A avaliação da Matéria Seca (MS) é uma prática comum em análises nutricionais, sendo particularmente relevante para alimentos de origem vegetal, que, exibem, frequentemente, variações significativas no teor de água. Ter conhecimento da quantidade de água presente é fundamental para permitir comparações apropriadas entre diferentes tipos de alimentos (Silva & Queiroz, 2005).

4.1.2. Proteína Bruta

As proteínas são moléculas orgânicas complexas de elevado peso molecular. À semelhança dos hidratos de carbono e dos lípidos, as proteínas contêm carbono, hidrogénio e oxigénio, mas distinguem-se por incluir também nitrogénio e, geralmente, enxofre. Estas macromoléculas desempenham um papel vital na vida dos animais, constituindo os principais elementos estruturais dos tecidos, estando presentes em todas as células. Para além da sua função estrutural, as proteínas desempenham várias outras funções cruciais para o funcionamento dos animais, tais como atividades bioquímicas, imunológicas, de transporte e reguladoras. Quando necessário, também podem ser utilizadas como fonte de energia. As necessidades proteicas dos animais variam ao longo das diferentes fases da vida, sendo mais elevadas durante os períodos

de crescimento, gestação e lactação. Portanto, garantir uma ingestão adequada de proteínas é crucial para a saúde e o desenvolvimento adequado dos animais. Também é importante destacar que a maior parte do nitrogénio presente nos alimentos está sob a forma de proteínas. Por essa razão, é prática comum e quase universal expressar as necessidades de nitrogénio dos animais e o teor de nitrogénio nos alimentos em termos de proteicos.

4.1.3. Matéria Gorda Bruta

Os lípidos são componentes presentes nos tecidos vegetais, a exemplo dos óleos vegetais, e nos tecidos animais, como na carne, ovos e leite. Sob o ponto de vista físico, os lípidos são insolúveis em água e solventes polares porque são substâncias hidrófobas e, por isso, são solúveis em solventes orgânicos, como o hexano, o éter e o clorofórmio (Silva & Queiroz, 2005).

A extração da gordura pode ser realizada utilizando éter de petróleo, com ou sem hidrólise prévia, dependendo da amostra em questão. Sem a etapa de hidrólise, o éter de petróleo é misturado com a amostra contendo gordura, e depois essa mistura é destilada para separar o éter de petróleo e o extrato seco, que é pesado posteriormente.

Esta técnica é aplicada frequentemente a amostras de origem vegetal, com algumas exceções. Quando é necessária a hidrólise, a amostra é submetida a um processo em que é tratada com ácido clorídrico aquecido, depois arrefecida, filtrada e o resíduo resultante é lavado e seco. Em seguida, a gordura é extraída do resíduo hidrolisado utilizando éter de petróleo, o solvente é destilado e, por fim, o extrato seco é pesado. A hidrólise ácida tende a produzir resultados mais precisos em termos de quantificação da gordura, especialmente em amostras de alimentos sujeitas a tratamento térmico ou de origem animal. Esta técnica de extração de gordura com hidrólise é aplicável a uma ampla gama de amostras, incluindo aquelas de origem animal, bem como amostras vegetais como glúten, leveduras, proteínas de batata e soja, além de produtos alimentares que tenham sido submetidos a processos como extrusão, descamação e aquecimento e alimentos compostos em que pelo menos 20% da gordura presente seja proveniente dos produtos mencionados anteriormente (Silva & Queiroz, 2005).

4.1.4. Fibra Bruta

A fibra é definida como a fração predominante das paredes celulares das plantas, sendo constituída essencialmente por celulose, hemicelulose, lenhina e pectinas. Estes componentes não são passíveis de digestão nos mamíferos, mas nos ruminantes são submetidos a fermentação pelos microrganismos presentes no rúmen.

Na década de 60, Peter Van Soest propôs melhorias nos métodos de análise da fibra, dividindo a fração de fibra em fibra solúvel num detergente neutro (FND) e fibra solúvel em detergente ácido (FAD). A FND contém componentes insolúveis em detergente neutro, como hemicelulose, lenhina e celulose, além de cutina e proteínas ligadas à fibra. Pode ser ainda mais fracionada por meio de extração com detergente ácido, que solubiliza a hemicelulose e as proteínas ligadas à fibra, resultando no FAD. Portanto, a FND é a soma do FAD e da hemicelulose. A determinação da fração em detergente ácido é particularmente útil para forragens, já que está correlacionada com a digestibilidade do alimento. Além disso, existe um terceiro fracionamento que dissolve a celulose em ácido sulfúrico, deixando apenas a lenhina como constituinte. Resulta lenhina insolúvel em detergente ácido (ADL). Para animais ruminantes, a lenhina é indigestível, mas as hemiceluloses e celulosas são fermentadas pelos microrganismos no rúmen. A amostra, possivelmente previamente desengordurada, é digerida com ácido sulfúrico a alta temperatura, depois é lavada e filtrada. Em seguida, é imediatamente digerida com hidróxido de potássio a elevada temperatura, lavada novamente e filtrada. O resíduo seco resultante é então incinerado. A perda de peso resultante da incineração do resíduo seco corresponde à massa da fibra bruta (Silva & Queiroz, 2005).

4.1.5. Cinza Total

A cinza total, constituída principalmente por sílica, é o resíduo resultante da incineração completa de todos os nutrientes orgânicos presentes nos alimentos, é determinada gravimetricamente a partir da pesagem da decomposição de matéria orgânica por incineração. No entanto, é importante salientar que esta cinza pode conter minerais originados de compostos orgânicos, como enxofre e fósforo provenientes das proteínas. Durante o processo de incineração a temperaturas elevadas, pode ocorrer a perda de compostos voláteis (Silva & Queiroz, 2005).

4.1.6. Cálcio

O cálcio juntamente com o fósforo, são minerais de muita importância para os animais. Esses dois elementos representam cerca de três quartos das substâncias minerais do organismo animal e mais de 90% dos seus esqueletos, além disso, contribuem com mais da metade dos minerais presentes no leite. O cálcio juntamente com o magnésio é responsável pela formação do tecido ósseo (ossificação), manutenção dos ossos e dentes. Para além disso, o cálcio apresenta a função de cofator enzimático, coagulador, contrator muscular, regulador dos batimentos cardíacos, transmissor de impulsos nervosos, contribuidor para a secreção de hormonas, ativador e estabilizador de enzimas, interagindo com a vitamina D. Na produção de ovos, o cálcio e o fósforo, são utilizados no desenvolvimento das aves, contribuindo também na produção da casca de ovo. As aves com défice em cálcio e fósforo apresentam redução do desempenho, resultando no enfraquecimento do bico e de ossos frágeis. E em excesso podem dificultar a absorção de outros minerais. Esses dois elementos ainda são considerados reguladores da ingestão de alimentos (Cosmo & Galeriani, 2020).

4.1.7. Fósforo

O fósforo, segundo mineral mais abundante no organismo dos animais, exerce um papel fundamental na formação e mineralização da matriz orgânica óssea, bem como, na manutenção dos ossos. Cerca de 80 a 85% de fósforo presente no organismo do animal encontra-se nos ossos e dentes. O fósforo encontra-se em todas as células do corpo e os 15 a 20% restantes encontram-se nos fluídos e tecidos moles do corpo, como componente dos ácidos ribonucleicos e desoxirribonucleicos, essenciais para o crescimento e diferenciação celular. Participa na composição dos fosfolipídios, necessários para a manutenção da estrutura e integridade da parede celular e como integrantes da mielina que embainha os nervos. Já na forma de fosfato, o fósforo atua na manutenção da pressão osmótica e do equilíbrio ácido-base do organismo (Mendonça, 2018).

5. Métodos de Referência

A calibração NIR depende de uma correlação precisa entre os dados espectrais e as análises químicas realizadas por métodos analíticos clássicos. Esses métodos normatizados, além de assegurarem a confiabilidade dos resultados, são essenciais para a construção de modelos de previsão robustos, fundamentais para a avaliação nutricional de alimentos para animais.

No laboratório da TNA, os métodos analíticos seguem, na sua essência, as normas reconhecidas internacionalmente, como as normas ISO, NP EN ISO e NP. No entanto, para atender às necessidades específicas de eficiência e precisão da indústria são realizadas adaptações nos protocolos de análise, ajustando parâmetros operacionais para otimizar o tempo de análise, sem comprometer a qualidade dos resultados.

A realização destas determinações não foi o objetivo central deste trabalho, por isso, são apresentados no **Anexo I**, os fluxogramas de forma detalhada dos procedimentos adotados, a título de referência.

5.1. Alimentos para animais – Determinação do teor de umidade (NP 875:1994)

A determinação do teor de umidade é uma análise fundamental na avaliação da composição nutricional de alimentos para animais. Este parâmetro permite estimar a quantidade de matéria seca presente, sendo essencial para expressar os restantes nutrientes em base comparável.

O método descrito na norma NP 875 baseia-se na secagem da amostra a uma temperatura controlada de (105 ± 2) °C, até atingir peso constante. Durante este processo, toda a água presente na amostra é evaporada, permitindo determinar a fração de umidade por diferença de massa.

5.2. Determinação do teor de azoto total, por combustão, segundo o método de Dumas e Cálculo do teor de Proteína Bruta (NP EN ISO 16634-1:2009)

A determinação do teor de azoto total é essencial para o cálculo do conteúdo de proteína bruta nos alimentos para animais, uma vez que a proteína é o principal

componente estrutural e funcional do organismo animal. O método de Dumas, descrito na norma, é um procedimento rápido, seguro e eficiente para esta análise, substituindo métodos mais antigos como o de Kjeldahl. Este método baseia-se na combustão completa da amostra a altas temperaturas na presença de oxigênio (O₂), convertendo o azoto orgânico em azoto molecular gasoso (N₂). Após remoção dos gases interferentes, o azoto é quantificado por meio de um detetor térmico de condutividade. A quantidade de azoto medido é multiplicada por 6,25 (fator de conversão) para a determinação do teor de proteína bruta.

O método de Dumas apresenta diversas vantagens em relação ao método de Kjeldahl, tradicionalmente utilizado para a determinação do teor de azoto. De acordo com Mihaljev et al. (2015), o método de Dumas é igualmente preciso, mas consideravelmente mais rápido, permitindo a determinação do azoto orgânico em cinco minutos por amostra, enquanto o método de Kjeldahl pode requerer várias horas. Além disso, o método de Dumas não utiliza reagentes químicos perigosos, como o ácido sulfúrico e o hidróxido de sódio, reduzindo os riscos de manipulação e o impacto ambiental. Outra vantagem é a possibilidade de automatização do processo, permitindo maior rendimento analítico e reprodutibilidade dos resultados. Estas características tornam o método de Dumas particularmente atrativo para análises laboratoriais de rotina e aplicações industriais (Mihaljev et al., 2015).

5.3. Determinação do teor de gordura (NP ISO 6492:2014). Método A (170 – sem hidrólise) e Método B (180 – com hidrólise)

Este método é aplicável na determinação de gordura bruta em matéria-prima ou alimentos compostos para animais.

O **método A** é aplicado a matérias-primas e produto acabado nos quais os lípidos são facilmente extraíveis sem necessidade de hidrólise prévia.

O **método B** é utilizado quando é necessário quebrar ligações químicas, como em produtos com proteínas complexadas ou alimentos termicamente processados, onde parte da gordura se encontra ligada à matriz da amostra. Gorduras, óleos, pigmentos e outras substâncias lipídicas solúveis contidas numa amostra seca serão dissolvidos através da extração de éter, o qual é, então, evaporado desta solução lipídica. O resíduo

resultante é pesado, sendo denominado de extrato etéreo ou gordura bruta. O éter usado no processo é aquecido até se tornar volátil e, ao condensar-se circula sobre a amostra em análise, arrastando toda a fração lipídica e demais substâncias solúveis em éter. A gordura extraída é calculada por diferença de pesagem.

5.4. Determinação da Cinza Bruta (NP ISO 5984:2014)

A determinação da cinza bruta é uma análise fundamental na avaliação da composição mineral total de alimentos para animais. Esta análise mede o conteúdo de matéria inorgânica presente, ou seja, o resíduo não combustível resultante da incineração completa da amostra, e é expressa como percentagem da massa total.

5.5. Determinação do teor de Cálcio: Método Volumétrico, processo corrente (NP-1786:1985)

A determinação do teor de cálcio é uma análise essencial na avaliação da qualidade nutricional de alimentos destinados à alimentação animal, uma vez que o cálcio é um dos minerais mais importantes para o crescimento, desenvolvimento ósseo e metabolismo celular. Este método baseia-se na calcinação da amostra, seguida da dissolução do resíduo mineral (cinza) em ácido e posterior precipitação do cálcio na forma de oxalato de cálcio. Através deste procedimento, é possível quantificar com exatidão o teor de cálcio presente na amostra.

A utilização de reagentes específicos, como o ácido nítrico e o oxalato de amônio, é fundamental para garantir a precipitação completa do cálcio e eliminar interferências de outros elementos minerais. A etapa de “banho-maria” contribui para a formação e aglomeração adequada do precipitado, enquanto a incineração final assegura a eliminação de resíduos orgânicos e a obtenção de resultados precisos.

5.6. Determinação de Fósforo (NP 874:2000)

O fósforo, em conjunto com o cálcio, é essencial para a formação e manutenção do tecido ósseo, bem como para funções metabólicas e enzimáticas fundamentais. O método descrito na norma NP 874:2000 baseia-se na incineração da amostra, seguida da solubilização do resíduo inorgânico em meio ácido. Após preparação da amostra, o fósforo é quantificado por via colorimétrica através da formação de um complexo com o

reagente Vanadomolibdílico, cuja intensidade de coloração é proporcional à concentração de fósforo presente.

A leitura é efetuada por espectrofotometria a 430 nm, utilizando uma reta de calibração com padrões conhecidos. Este método distingue-se pela sua sensibilidade, reprodutibilidade e aplicabilidade a diferentes tipos de amostras, desde matérias-primas até alimentos compostos, sendo especialmente útil para o controlo da formulação nutricional.

5.7. Determinação do teor de Amido – Método Polarimétrico (NP ISO 6493:2020)

A determinação do teor de amido é essencial para avaliar o valor energético de alimentos compostos para animais, sobretudo em dietas destinadas a espécies monogástricas. O método descrito na norma NP ISO 6493:2020 baseia-se num método ótico, polarimetria, ou seja, na medição da rotação específica de uma solução obtida após extração e tratamento químico da amostra, sendo a intensidade desta rotação proporcional ao teor de amido.

O processo inicia-se com a preparação paralela da amostra e do branco. Para a amostra, pesa-se 2,5 g para um balão volumétrico de 100 mL, ao qual se adicionam 50 mL de HCl 0,31 M. Os balões são colocados em banho-maria a ferver, agitando durante 3 minutos, permanecendo depois mais 15 minutos no banho, de modo a assegurar a completa hidrólise e solubilização do amido. Segue-se o arrefecimento das soluções em água com placas de gelo. De seguida, adicionam-se 5 mL de solução de hexacianoferrato (II) de potássio e 5 mL de solução de acetato de zinco, com agitação durante 15 minutos cada, para precipitação de proteínas e outros interferentes. Após este tempo, o balão é completado até ao traço com água destilada, homogeneizado e filtrado. No caso do branco, pesa-se 5 g de amostra e adicionam-se 80 mL de etanol a 40 %. A mistura é agitada vigorosamente e deixada a repousar durante 1 hora à temperatura ambiente, agitando-se ocasionalmente. Posteriormente, 50 mL do filtrado são transferidos para um balão de 100 mL, adicionando-se 2,0 mL de HCl 25 %. Repete-se o processo de aquecimento durante 15 minutos, arrefecimento, adição dos reagentes precipitantes, diluição ao volume com água destilada, homogeneização e filtração. Por fim, a rotação

específica das soluções é determinada num polarímetro, permitindo calcular o teor de amido com base na rotação ótica observada.

5.8. Determinação do teor de Cloretos solúveis na água: Método Titulométrico (NP ISO 6495-1:2018)

A determinação de cloretos solúveis é uma análise relevante no controlo de qualidade de matérias-primas e alimentos compostos para animais, uma vez que os iões cloreto, geralmente provenientes do cloreto de sódio, influenciam o equilíbrio eletrolítico, a palatabilidade e o metabolismo dos animais.

O método descrito na norma NP ISO 6495-1:2018 baseia-se numa titulação volumétrica por retrocesso (método Volhard). Inicialmente, os iões cloreto presentes na amostra reagem com um volume conhecido e excessivo de uma solução padrão de nitrato de prata, formando cloreto de prata insolúvel. O excesso de nitrato de prata remanescente na solução é então titulado com tiocianato de amónio.

A titulação por retrocesso permite uma maior precisão, especialmente em soluções com baixa concentração de cloretos ou em meios onde a formação do precipitado possa interferir com a visualização direta do ponto final. O volume de nitrato de prata consumido na reação com os cloretos é determinado por diferença, assegurando uma quantificação exata.

5.9. Proteína Solúvel em KOH na matéria-prima Bagaço de Soja

A solubilidade em hidróxido de potássio (KOH) é muito utilizada como um dos principais indicadores da qualidade proteica de matérias-primas como o bagaço de soja, uma fonte importante de proteína na nutrição animal. Vários estudos destacam a relevância deste ensaio na avaliação da disponibilidade de aminoácidos e da digestibilidade da proteína, especialmente em bagaços de soja submetidos a diferentes tratamentos térmicos.

A soja é bastante utilizada tanto na alimentação humana como animal. O grão de soja é uma fonte relevante de óleo (17-25%) e de proteína (35-45%), contendo ainda quantidades apreciáveis de vitaminas B1 e B2, embora seja naturalmente pobre em vitamina C. A percentagem de proteína bruta no bagaço de soja pode variar entre 41 e

50% (base de matéria seca), dependendo do teor de casca e do tipo de processamento a que foi submetida (Caprita et al., 2010).

Embora o perfil de aminoácidos seja um fator determinante da qualidade nutricional da proteína, a digestibilidade desempenha um papel igualmente importante. A digestibilidade refere-se à percentagem de proteína absorvida após a ingestão e encontra-se fortemente relacionada com a estrutura primária, secundária e terciária da proteína, que influencia a sua suscetibilidade à ação das enzimas digestivas (Caprita et al., 2010).

Os bagaços de soja podem conter fatores antinutricionais (FAN), como os inibidores de tripsina e lectinas. Estes compostos são sensíveis ao calor, podendo ser inativados por processos de aquecimento adequados. Um aquecimento ligeiro (até 90°C) pode melhorar a digestibilidade, enquanto o sobreaquecimento pode comprometer o valor nutritivo, devido à degradação de aminoácidos essenciais, como a lisina, por via da reação de Maillard (Caprita et al., 2010).

Neste contexto, é essencial dispor de métodos laboratoriais que permitam distinguir bagaços de soja bem processados daqueles sub ou sobreprocessados. O teste de solubilidade proteica em KOH, segundo o método descrito por *Araba e Dale* (1990), é amplamente utilizado para este fim. Este método baseia-se na incubação da amostra com uma solução diluída de KOH a 0,2%, durante 20 minutos à temperatura ambiente. Após centrifugação, o sobrenadante é analisado para determinar o teor de proteína solúvel. A solubilidade é expressa como percentagem da proteína solúvel extraída em relação à proteína total da amostra original. Valores muito baixos de solubilidade (<65%) indicam tratamento térmico pouco eficiente, enquanto valores muito elevados (>85%) podem refletir sobreaquecimento. Assim, o teste permite depreender a adequação do tratamento térmico do bagaço de soja, sendo uma ferramenta valiosa para controlo da qualidade (Caprita et al., 2010).

6. Validação dos métodos clássicos com materiais de referência

Na TNA, a validação dos métodos clássicos de análise é realizada utilizando amostras de referência certificadas fornecidas pelo sistema *Food Analysis Performance Assessment Scheme* (FAPAS).

O FAPAS é um organismo de avaliação de desempenho amplamente reconhecido, que oferece amostras padronizadas e certificadas para análises químicas em alimentos e alimentos compostos. O uso destas amostras permite garantir a precisão, reprodutibilidade e confiabilidade dos métodos de análise implementados pela TNA.

Para garantir a exatidão dos resultados, o laboratório utiliza diferentes amostras de referência FAPAS específicas para cada tipo de ração analisada, como:

- **T10190QC – *Pet dog food (dry)***: amostra de ração seca para cães, utilizada para a validação de métodos de análise em alimentos destinados a animais de companhia.
- **T10191QC – *Poultry ration (alimentos compostos para aves)***: amostra de ração para aves, usada na validação dos métodos aplicados à análise de rações para frangos e outras aves.
- **T10181QC – *Dairy ration (alimento composto lácteo)***: amostra de ração destinada a vacas leiteiras, utilizada na validação de análises nutricionais específicas para ruminantes, particularmente na dieta de bovinos leiteiros.
- **T10182QC – *Pig ration (alimento composto para suínos)***: amostra de ração para suínos, utilizada na validação dos métodos aplicados à análise de rações suínas.

A utilização destas amostras de referência certificadas é essencial para garantir a confiabilidade e a qualidade dos resultados analíticos, assegurando que os métodos aplicados pela TNA estejam em conformidade com os padrões internacionais. Isso contribui para a precisão das análises nutricionais e para a melhoria contínua dos serviços oferecidos pela empresa aos seus clientes.

7. Espectroscopia de Infravermelho Próximo (NIR)

7.1. Princípios da Espectroscopia

A espectroscopia é uma técnica experimental que se baseia na utilização da luz para estudar a composição, a estrutura e as propriedades da matéria. A raiz da palavra, do latim *spectrum* (imagem, aparição), remete para algo como “observação da imagem oculta”. Embora historicamente tenha origem na observação da luz visível dispersa por um prisma, o conceito atual abrange qualquer descrição da interação radiação-matéria em função da energia da radiação (Claro, 2017).

A amostra é irradiada com o feixe de luz incidente e a análise é feita à luz transmitida, emitida ou difundida pela amostra (figura 6). O resultado obtido é um registo que compara a composição da luz incidente na amostra com a luz transmitida, emitida ou difundida, e é denominado “espectro” da amostra. O registo de um espectro é efetuado através de equipamentos experimentais denominados espectrómetro, espectrofotómetro e espectrógrafo (Claro, 2017).

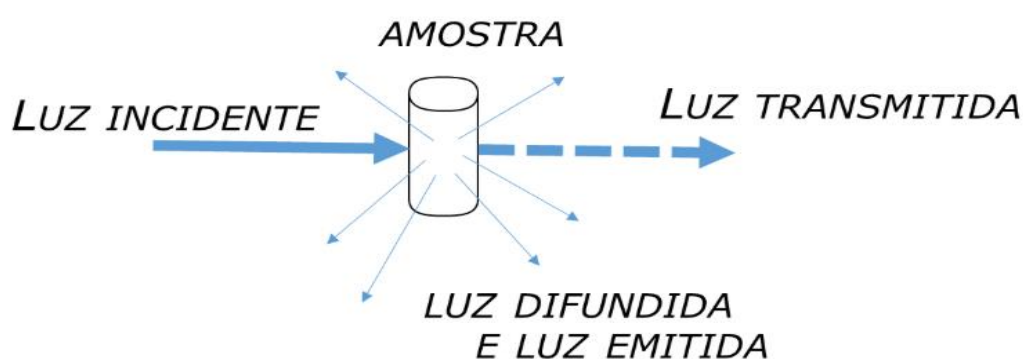


Figura 6 Esquema de espectroscopia. A luz transmitida é a luz que atravessa a amostra (é analisada segundo a direção da luz incidente) e é parcialmente absorvida pela amostra. A luz difundida resulta do espalhamento da luz incidente por colisão com a amostra e é normalmente analisada numa direção perpendicular à da luz incidente, para evitar contaminação com a luz transmitida. A luz emitida é a luz com origem na própria amostra, em resultado de um processo físico desencadeado pela luz incidente (Claro, 2017).

Para entender o fenómeno de interação radiação-matéria que está na base da espectroscopia, são necessários dois conceitos, relacionados com as propriedades da luz e com a natureza quântica da matéria:

- A luz, ou radiação eletromagnética, tem energia diferente consoante a sua frequência (ou consoante o seu comprimento de onda, que varia inversamente à frequência). Por exemplo, na região do visível, a energia da radiação aumenta ao longo das cores do arco-íris, do vermelho até ao violeta. A radiação infravermelha tem menor energia que o vermelho, e a luz ultravioleta tem energia superior ao violeta (energia suficiente para danificar a pele, daí a necessidade de protetores solares para ultravioleta) (Claro, 2017).
- Os sistemas atómico-moleculares que constituem a matéria apresentam estados de energia discretos, como se fossem os degraus de uma escada: cada degrau é um nível de energia e é possível subir/descer de nível recebendo/libertando a energia correspondente à altura do degrau, mas não é possível estar a meio caminho, entre degraus. Se os níveis de energia fossem contínuos, a analogia seria com uma rampa, na qual é possível parar em qualquer local. Dependendo da natureza e composição da amostra, os “degraus” apresentam diferentes alturas, ou seja, sistemas atómico-moleculares diferentes apresentam níveis de energia com separações diferentes. E conhecer a separação entre os níveis de energia permite compreender a estrutura e as propriedades de uma dada amostra (Claro, 2017).

Assim, a espectroscopia utiliza a luz para medir a diferença de energia entre os níveis energéticos de um sistema. Isto pode ser feito de três formas (figura 7): por absorção de radiação com a energia exata entre níveis **(a)**, por emissão de radiação com essa mesma energia **(b)**, ou por difusão inelástica **(c)**, neste caso, a diferença entre níveis é medida pela diferença de energia entre a luz incidente e a luz difundida (Claro, 2017).

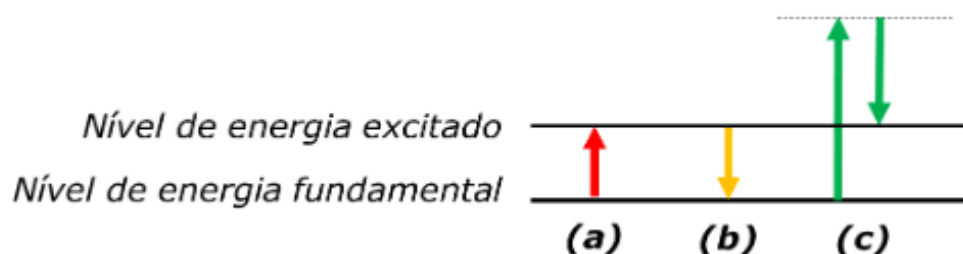


Figura 7 Representação esquemática das transições entre níveis observadas por espectroscopia: absorção (a), emissão (b) e difusão inelástica (c). O nível fundamental é o nível de menor energia de um sistema. Os níveis com energia superior designam-se por níveis excitados (Claro, 2017).

A figura 8 ilustra esquematicamente um espectro de absorção, na sua representação original e na representação gráfica mais comum.

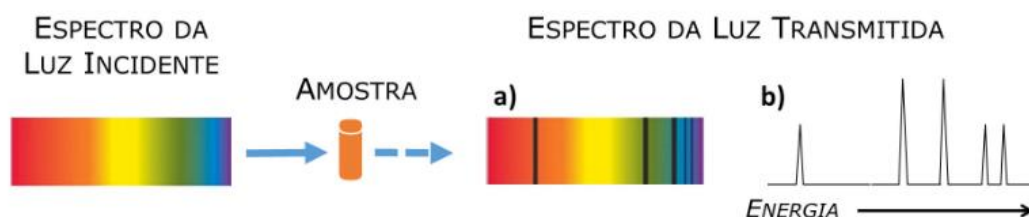


Figura 8 Representação esquemática de um espectro de absorção no visível: a luz incidente na amostra tem um espectro contínuo (todas as energias), enquanto o espectro da luz transmitida identifica quais as energias que foram absorvidas pela amostra (riscas negras). O espectro do registo **a)** corresponde a um registo em detetor de chapa fotográfica, enquanto o registo **b)** é o registo convencional de “intensidade de luz absorvida” em função da energia (Claro, 2017).

7.2. Tipos de Espectroscopia

Os diferentes métodos de registo da interação radiação-matéria são classificados como sub-técnicas da espectroscopia de acordo com a natureza da interação, o tipo da transição observada (rotacional, vibracional ou eletrónica) e a energia da radiação utilizada (Claro, 2017).

- **Espectroscopia rotacional:** é uma espectroscopia de absorção de radiação, que observa transições entre níveis rotacionais de moléculas em estado gasoso. A separação energética entre estes níveis é muito pequena, pelo que a radiação utilizada é de baixa energia, na região das micro-ondas. Por este motivo, utiliza-se a designação espectroscopia de micro-ondas como sinónimo (Claro, 2017).
- **Espectroscopia vibracional:** observa transições entre níveis vibracionais de qualquer tipo de associação de átomos: desde que exista uma energia de coesão entre átomos, eles vibram em torno das suas posições de equilíbrio. A energia associada a estas transições cai na região do infravermelho, por esse motivo, é também denominada espectroscopia de absorção no infravermelho, ou simplesmente espectroscopia de infravermelho (Claro, 2017).

- **Espectroscopia eletrônica:** regista as diferenças de energia que acompanham as transições eletrônicas, utilizando radiação de energia mais elevada, da região do visível e ultravioleta (UV). Quando se regista em modo de absorção, é também designada por espectroscopia de UV-Vis. No caso da espectroscopia eletrônica, é também comum registar a radiação emitida quando os eletrões transitam de níveis de maior energia para níveis de menor energia. Nessa situação, poderemos observar a espectroscopia de emissão, a espectroscopia de fluorescência ou luminescência (Claro, 2017).

7.2.1. Espectroscopia Vibracional

A maioria das moléculas encontra-se nos seus níveis vibracionais fundamentais à temperatura ambiente. Os átomos ou grupos de átomos que participam em ligações químicas começam a vibrar, deslocam-se uns em relação uns aos outros, quando as amostras são irradiadas por luz na região do infravermelho próximo. Essas vibrações ocorrem a frequências específicas que dependem da força da ligação e das massas dos átomos envolvidos (Pasquini, 2003). A energia necessária para provocar essas vibrações pode ser calculada pela equação 1:

$$\text{Equação 1} \quad E_p = hv = \frac{hc}{\lambda} \quad \begin{array}{l} \mathbf{h} \text{ (constante de Planck)} \\ \mathbf{c} \text{ (velocidade da luz)} \end{array}$$

A energia do fóton é inversamente proporcional ao comprimento de onda da radiação. Portanto, radiações com menores comprimentos de onda (como o NIR) possuem maior energia, o que é suficiente para excitar vibrações moleculares sem quebrar ligações químicas, característica importante para a análise não destrutiva de amostras.

Para compreender a origem das bandas de absorção observadas na espectroscopia NIR, é comum utilizar modelos vibracionais que representem o comportamento das moléculas excitadas pela radiação. O modelo harmónico clássico representa uma ligação química como duas massas (átomos) ligadas por uma mola, onde a energia potencial (V), em função do deslocamento dos átomos é determinada pela equação 2 (Pasquini, 2003):

Equação 2

$$V = \frac{1}{2} kx^2$$

A figura 9 ilustra a diferença entre os dois modelos, evidenciando como o comportamento real das moléculas é melhor representado pelo modelo anarmónico, sendo essencial para a interpretação dos espectros NIR.

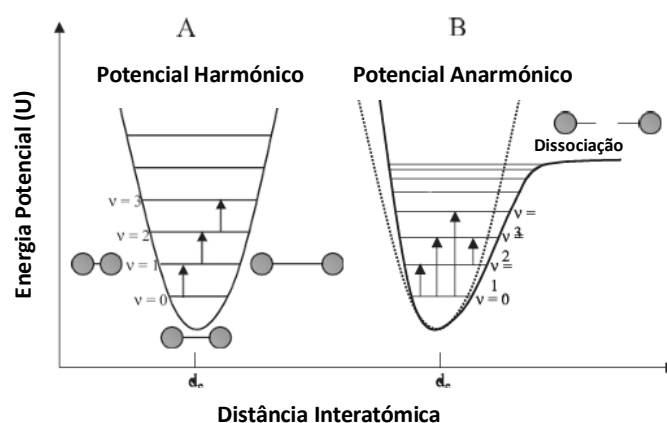


Figura 9 Representação esquemática dos modelos de potencial harmónico (A) e Potencial Anarmónico (B) para a energia potencial de uma molécula diatómica. O modelo harmónico considera níveis de energia igualmente espaçados, enquanto o modelo anarmónico permite a existência de sobretons e dissociação molecular (Pasquini, 2003).

A figura 9(A) mostra o comportamento da energia potencial em função da deslocação do átomo em relação à posição de equilíbrio (energia mínima). Esta primeira abordagem é útil para compreender o conceito de energia vibracional. No entanto, falha quando se considera um sistema microscópico como as moléculas. A falha resulta do facto dos sistemas moleculares não poderem assumir o perfil de energia contínuo previsto pelo modelo clássico de "bolas na mola". O sistema molecular só pode ter alguns níveis discretos de energia (E_v) definidos pela mecânica quântica através da equação 3:

Equação 3

$$E_v = \left(v + \frac{1}{2} \right) h\nu$$

Embora o modelo harmónico possa ajudar a compreender a espectroscopia vibracional, produz algumas restrições para a espectroscopia NIR, porque não permite transições em que Δv é superior a 1. Transições com $\Delta v = 2$ ou superior são proibidas pelo modelo harmónico/quântico e, desta forma, a maioria dos fenómenos observados na região do NIR, as bandas de sobretons, não deveriam existir. Além disso, as vibrações no modelo harmónico são independentes e as suas combinações não existiriam sob as restrições impostas pelo modelo. No entanto, tanto os sobretons como as bandas combinadas existem.

A figura 9(B) mostra um modelo mecânico mais realista para uma molécula diatómica. A molécula continua a ser representada por duas esferas ligadas por uma mola. No entanto, o modelo considera alguns comportamentos não ideais do oscilador, que explicam a repulsão entre as nuvens eletrónicas quando os núcleos atómicos se aproximam (a energia potencial aumenta mais rapidamente do que no modelo harmónico) e um comportamento variável da força de ligação quando os átomos se afastam. De facto, numa molécula real, um deslocamento excessivo ("reforço da mola") dos núcleos atómicos provocará a rutura da ligação molecular, com a consequente dissociação dos átomos.

Uma função que se aproxima do comportamento anarmónico de uma molécula diatómica é a função Morse, que descreve a energia potencial da molécula utilizando a equação 4 (Pasquini, 2003):

Equação 4
$$V = D_e [1 - e^{-a(r-r_e)}]^2$$

a é uma constante para uma dada molécula
 D_e é a energia de dissociação espectral
 r_e é a distância de equilíbrio entre os átomos
 r é a distância entre os átomos em qualquer instante.

Aplicando a mecânica quântica à equação de Morse, os níveis vibracionais são descritos pela equação 5 (Pasquini, 2003):

Equação 5
$$E = hv \left(v + \frac{1}{2} \right) - X_m hv \left(v + \frac{1}{2} \right)^2$$

O modelo anarmónico/quântico também impõe algumas restrições aos possíveis estados energéticos das moléculas. No entanto, prevê a ocorrência de transições com

$\Delta u = \pm 2$ ou superior e a existência de bandas de combinação entre vibrações. Estes dois tipos de bandas são as bandas de absorção mais comuns na região espectral do NIR. Prevê também que a separação entre dois níveis de energia adjacentes diminui com u , o número quântico vibracional. De acordo com os pressupostos do modelo anarmônico, as vibrações já não são independentes umas das outras e podem interagir entre si (Pasquini, 2003).

7.3. Radiação do Infravermelho Próximo (NIR)

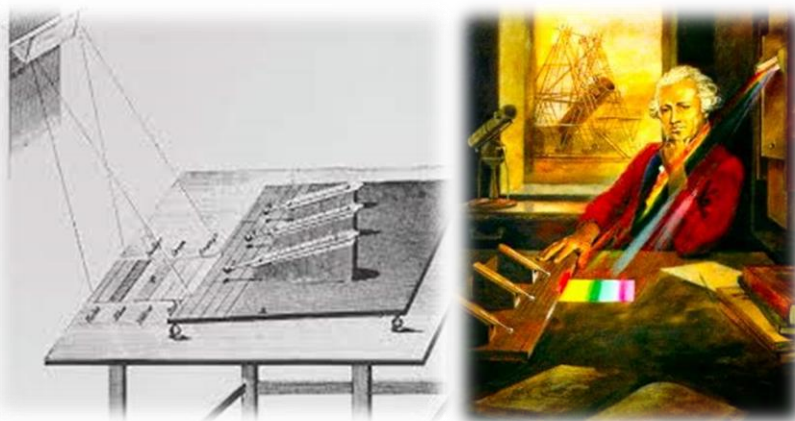


Figura 10 Descoberta da radiação no Infravermelho próximo por William Herschel em 1800.

A radiação eletromagnética correspondente à região do infravermelho próximo (NIR) foi identificada em 1800 por William Herschel, tornando-se a primeira gama do espectro eletromagnético invisível para a visão humana a ser descoberta (Pasquini, 2003). Na figura 10 é apresentado William Herschel e o experimento que levou à descoberta dessa radiação.

Contudo, só quase um século e meio depois é que foram desenvolvidas aplicações analíticas para esta gama de radiação. Um dos principais fatores que justificam este atraso prende-se com a baixa seletividade dos espectros de absorção obtidos na região NIR. Estes eram frequentemente descritos pelos espectroscopistas da época como complexos e de difícil interpretação, devido à sobreposição intensa de bandas (Pasquini, 2003). Este desinteresse inicial pela região NIR atrasou igualmente o desenvolvimento de equipamentos dedicados a determinações analíticas. Até à década de 1960, não existiam espectrofotômetros comerciais com capacidade de obtenção de

espectros com qualidade suficiente para aplicações na região NIR. Além disso, os métodos quantitativos clássicos exigiam uma elevada seletividade dos dados, o que restringia a utilidade analítica da informação obtida através da espectroscopia NIR (Pasquini, 2003).

Na década de 1980, Karl Norris (enquanto trabalhava no Laboratório de Pesquisa de Instrumentação do USDA, Beltsville, EUA) foi pioneiro no uso da espectroscopia NIR para avaliações de qualidade de produtos agrícolas. Desde então, o seu uso expandiu das indústrias agro alimentares e agrícola para as indústrias química, de polímeros e de petróleo; indústria farmacêutica; ciências biomédicas e análise ambiental (Wikipedia, 2020).

Os trabalhos pioneiros desenvolvidos por Karl Norris mostraram que a espectroscopia NIR necessitava de ferramentas matemáticas para contornar o problema da falta de seletividade da informação analítica contida nos espectros NIR. No trabalho pioneiro de Karl Norris após ter sido estabelecida a correlação do conteúdo de água com a diferença de absorvância entre dois comprimentos de onda, com a finalidade de corrigir efeitos de espalhamento da radiação, que acompanha as medidas de sólidos, este aspeto da tecnologia NIR motivou, durante a década de 1980, a introdução das técnicas quimiométricas de tratamento multivariado de dados, que foram desenvolvidas a partir de 1975. A técnica de regressão por quadrados mínimos parciais, uma das mais empregadas pelos métodos analíticos baseados em espectroscopia NIR, foi introduzida na espectroscopia NIR em 1984, por Harold Martens, durante a 2ª Conferência Internacional em Refletância Difusa, realizada no Wilson College, Chambersburg, PA, Estados Unidos. Portanto, desde meados da década de 1970, a tecnologia NIR passou a ser rapidamente desenvolvida tendo como suporte os fundamentos da espectroscopia vibracional, a instrumentação espectrofotométrica NIR e a quimiometria (Pasquini, 2018).

7.3.1. Localização Espectral

Na figura 11 é possível observar a região espectroscópica NIR no espectro eletromagnético, entre outras regiões espectrais com diferentes níveis de energia. Entre as diversas formas de interação da radiação com a matéria, a absorção pelos constituintes da amostra é de particular interesse para a espectroscopia analítica, uma vez que esse fenômeno origina os espectros de absorção que contêm dados analíticos qualitativos e quantitativos da amostra (Tibola et al., 2018).

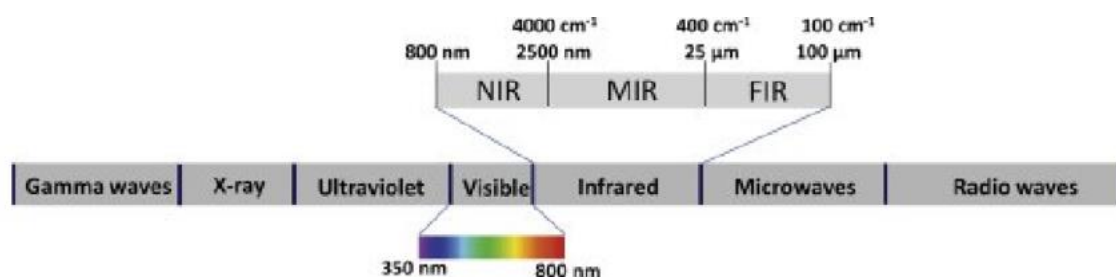


Figura 11 Localização da região do infravermelho próximo (NIR) no espectro eletromagnético (Santos-Rivera,s.d.).

Na região do infravermelho, com comprimento de onda (λ) entre 750 e 2 500 nm, radicais como **-OH**, **-NH** e **-CH** vibram fortemente. Como estes grupos são componentes típicos da presença de água, proteína, lípidos e hidratos de carbono, o método NIR é particularmente adequado para análises destes constituintes (Tibola et al., 2018).

Os métodos baseados em espectroscopia têm sido popularizados, especialmente por possibilitarem a análise simultânea de vários parâmetros, por serem uma técnica não destrutiva (permitindo a reutilização da amostra), por possuírem rapidez de processamento das informações e de fornecimento de resultados quantitativos, por não consumirem reagentes químicos nocivos ao meio ambiente e por serem menos trabalhosos e de custo relativamente baixo, quando comparados aos métodos tradicionais (Tibola et al., 2018).

7.4. Princípios de Funcionamento da Espectroscopia NIR

A espectroscopia de refletância no infravermelho próximo (NIR) é uma técnica analítica utilizada para determinar a composição química de alimentos para animais. O princípio desta técnica baseia-se na absorção seletiva da radiação NIR por grupos funcionais específicos (ex.: **C-H**, **O-H**, **N-H**), presentes em compostos orgânicos. Esta

absorção ocorre devido às vibrações moleculares induzidas pela radiação eletromagnética numa faixa de comprimento de onda entre 750 a 2500 nm, imediatamente após o espectro visível (Pasquini, 2018).

Quando a amostra é irradiada com radiação NIR, as ligações químicas em moléculas orgânicas específicas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono e água, sofrem vibrações características. Estas vibrações podem ser de estiramento ou de flexão, como representado na figura 12, que exemplifica os principais modos vibracionais observados em espectroscopia no infravermelho próximo (Jansà, 2011). A energia absorvida pela amostra corresponde à energia necessária para excitar essas vibrações moleculares, enquanto a radiação não absorvida é refletida para o detetor (Pasquini, 2018).

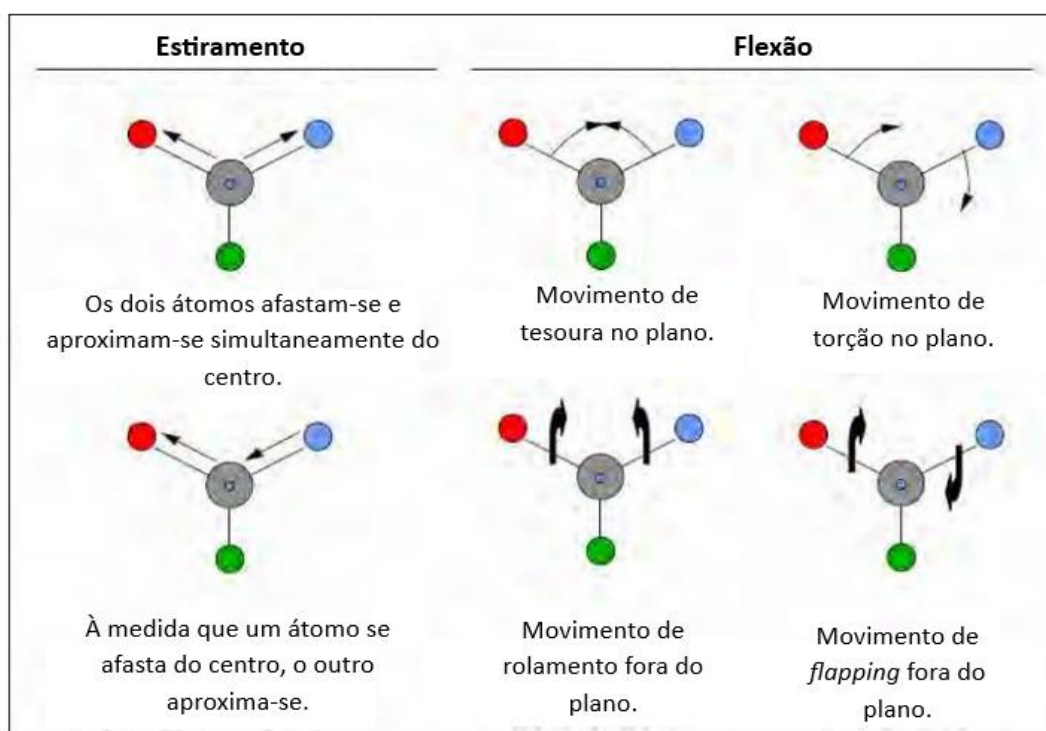


Figura 12 Vibrações moleculares entre dois átomos em relação a um átomo central (Adaptado de: Jansà, 2011).

Nos espectros NIR, são observadas bandas de absorção resultantes de *sobretons* e combinações de modos vibracionais. Entre os fenômenos que contribuem para estas bandas destacam-se a ressonância de *Fermi* e o acoplamento de modos. A intensidade da absorção depende da variação do momento de dipolo durante a vibração, sendo as ligações **O-H** especialmente relevantes devido à sua forte atividade NIR (Pasquini, 2018).

As moléculas presentes em alimentos compostos absorvem a energia da radiação NIR em função das suas ligações moleculares e grupos funcionais. A luz incidente é parcialmente refletida para o detetor, enquanto a fração absorvida corresponde à energia necessária para excitar as vibrações moleculares (Pasquini, 2018).

7.5. Modos de interação da radiação com a amostra

A espectrometria NIR começou como uma técnica única quando Karl Norris propôs que a medição espectral poderia ser obtida através da análise do conteúdo informativo da parte da radiação refletida difusamente por amostras sólidas, em vez do sinal mais fraco da transmitância. Atualmente, a reflexão difusa é uma das várias possibilidades de utilização da região espectral do NIR (Pasquini, 2003).

Na figura 13 estão representados os principais modos de medição aplicados na espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), diferenciando-se quanto à geometria ótica e à natureza da interação da radiação com a amostra.

Seguem-se as descrições concisas de cada configuração:

(a) Transmitância – método tradicional, adequado a amostras líquidas ou transparentes, utilizando células com caminhos óticos definidos (vidro ou quartzo).

(b) Transflectância – uma variação da transmitância em que o feixe é refletido de volta através da amostra, duplicando o percurso ótico.

(c) Refletância difusa – ideal para amostras sólidas. A radiação é dispersa e refletida, sendo necessário um tratamento matemático como a equação de Kubelka-Munk ou, mais frequentemente, pela função logarítmica (equação 6):

$$\text{Equação 6} \quad f(C) = \text{Log} \frac{1}{R}$$

(d) Interatividade – proporciona maior interação com a amostra, captando mais informação dos seus constituintes internos.

(e) Transmitância com meio dispersivo – utilizada quando a luz difusa é um problema, permite uma melhor caracterização de amostras densas através da minimização da dispersão interna.

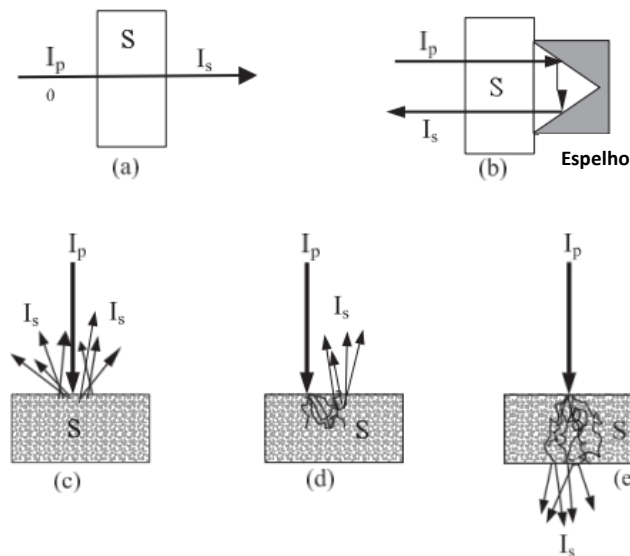


Figura 13 Representação dos principais modos de medição na Espectroscopia NIR. **(a)**- Transmitância; **(b)**- Transflectância; **(c)**- Refletância difusa; **(d)**- Interatividade, **(e)**- Transmitância com meio dispersivo (Pasquini, 2003).

7.6. Zonas Características de Absorção

A absorção da radiação no infravermelho próximo (NIR) ocorre quando a energia de um fóton coincide exatamente com a diferença de energia entre dois níveis vibracionais de uma molécula, incluindo também *sobretons* ou combinações de vibrações. Esta correspondência energética permite a excitação de um nível vibracional mais elevado, originando uma resposta seletiva da molécula à radiação incidente (Pasquini, 2018).

No entanto, a correspondência energética por si só não é suficiente. Para que uma vibração seja ativa no NIR, é necessário que exista uma mudança no momento de dipolo da molécula durante a vibração. Esta mudança só ocorre se os átomos da molécula se deslocarem de forma assimétrica em relação ao seu centro de massa, o que permite a interação com o campo elétrico da radiação eletromagnética.

A intensidade de uma banda de absorção no NIR está diretamente relacionada com a magnitude da variação do momento de dipolo e com o grau de anarmonicidade da vibração. Em especial, ligações envolvendo átomos de hidrogénio, como **O-H**, **C-H**, **N-H** e **S-H** tendem a gerar bandas intensas devido à sua elevada anarmonicidade e energia

vibracional, com transições fundamentais na região dos 3000–4000 nm. Assim, *sobretons* e bandas combinadas dessas ligações aparecem frequentemente na região energética correspondente ao NIR (750–2500 nm), apesar de apresentarem intensidades mais fracas, cerca de 10 a 1000 vezes menores do que as bandas fundamentais (Pasquini, 2018).

A região espectral do NIR é, portanto, dominada por essas bandas de *sobretons* e combinações vibracionais. A complexidade deste espectro deve-se, em parte, à ressonância entre modos vibracionais, nomeadamente a ressonância de *Fermi* e a ressonância de *Darling-Dennison*. Esta última pode ocorrer quando dois modos vibracionais têm energias muito próximas, permitindo interações que resultam em novas bandas de absorção. A principal implicação prática destes efeitos é a possibilidade de observar duas bandas em vez de uma, numa região entre 1600 e 2500 nm, conhecida como região de combinação, o que fornece uma informação útil na análise não destrutiva de amostras por espectroscopia NIR.

Na figura 14 é possível observar a localização aproximada das absorções atribuídas a três grupos funcionais comumente encontrados em amostras determinadas por meio de espectroscopia NIR: **C–H**, **O–H** e **N–H** (Pasquini, 2018).

2.500	C – H	Combinação de vibrações
2.200	O – H N – H	Combinação de vibrações
1.800	C – H	Primeiro sobreton
1.600	N – H O – H	Primeiro sobreton
1.420	C – H	Sobreton de combinações
1.300	C – H	Segundo sobreton
1.100	N – H C – H	Terceiro sobreton
900		
800		

Figura 14 Localização aproximada das ocorrências espectrais devido à absorção da radiação NIR por grupos funcionais C–H, O–H e N–H (Pasquini, 2018).

Complementando a figura 14, a figura 15 apresenta uma representação mais abrangente das regiões espectrais características dos *sobretoms* de terceira, segunda e primeira ordem, bem como das bandas de combinação, com destaque para os principais grupos funcionais relevantes em amostras orgânicas. Esta informação permite compreender de forma visual a localização das absorções NIR associadas às vibrações moleculares de ligações -C-H, -O-H, -N-H, -S-H, entre outras, em diferentes tipos de compostos.

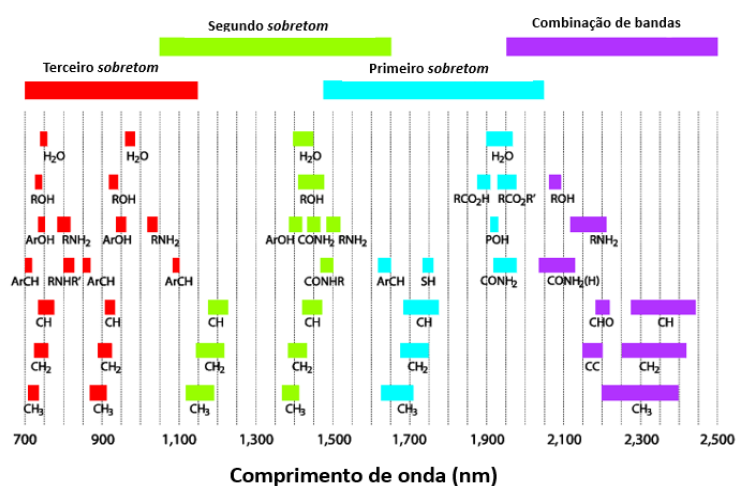


Figura 15 Principais regiões de sobretons e bandas de combinação no espectro NIR (700-2500 nm), com os grupos funcionais mais representativos. (Adaptado de Metrohm, 2013).

A tabela 1 complementa a informação do gráfico da figura 15, reunindo os comprimentos de onda característicos das principais bandas de absorção atribuídas a grupos funcionais específicos. Estes dados, reforçam o papel da espectroscopia NIR na identificação de constituintes como água, proteínas, lípidos e hidratos de carbono.

Tabela 1 Comprimentos de onda associados aos principais constituintes químicos de alimentos e às respectivas ligações químicas observadas na região NIR (Adaptado de Risco, 2016).

Comprimento de onda (nm)	Constituinte	Ligação Química
1152	CH ₃	C-H
1170	HC=CH	C-H
1200	Lípidos, CH ₂	C-H
1400	Água, amido, sacarose	O-H
1730	Lípidos, celulose	C-H
1940	Água	O-H
1980	Proteínas	N-H
2080	Amido, sacarose	O-H
2180	Proteínas, compostos C	C=O, N-H
2320-2350	Lípidos, celulose	C-H

7.7. Instrumentação

A instrumentação utilizada na espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é variada e pode ser constituída por componentes óticos semelhantes aos dos instrumentos UV-VIS, o que permite a construção de equipamentos com menor custo e maior robustez. Os materiais utilizados são geralmente resistentes à humidade e ao ambiente, como os detetores de silício (Si), sulfeto de chumbo (PbS) e arseneto de índio-gálio (InGaAs), sendo este último escolhido pela sua capacidade de deteção elevada e resposta rápida (Pasquini, 2003).

7.7.1. Tipos de Instrumentos

Os instrumentos NIR podem ser classificados de acordo com o princípio de funcionamento (Pasquini, 2003):

- **Baseados em filtros:** Utilizam filtros óticos ou LED's para selecionar o comprimento de onda. São simples, portáteis e com baixo custo, ideais para aplicações de campo.
- **Baseados em AOTF (filtros acusto-óticos sintonizáveis):** Permitem rápido varrimento espectral e seleção precisa do comprimento de onda através de um cristal birrefringente, como o TeO₂. São adequados para sistemas compactos e móveis. Na figura 16 é possível observar o esquema de um monocromador baseado num filtro acústico-ótico sintonizável.

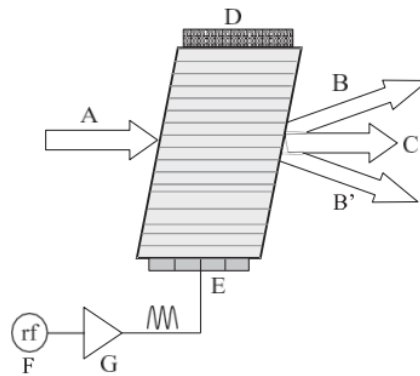


Figura 16 Esquema de um monocromador baseado num filtro acústico-ótico sintonizável. **A**- Radiação policromática incidente, **B e B'**- Feixes monocromáticos (mesmo comprimento de onda); **C**- Radiação policromática remanescente; **D**- Absorvedor acústico; **E**- Transdutor piezoelétrico; **F**- Gerador de sinal de radiofrequência; **G**- Amplificador de radiofrequência (Pasquini, 2003).

- **Baseados em ótica dispersiva:** Utilizam redes de difração para separar os comprimentos de onda. Têm boa resolução, mas com menor portabilidade. A figura 17 mostra a representação de um sistema ótico dispersivo.

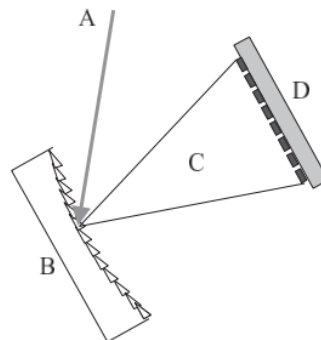


Figura 17 Representação de um sistema ótico dispersivo baseado numa grelha côncava e numa matriz de sensores utilizado em espectrofotômetros modernos sem partes móveis. **A**- Feixe policromático incidente; **B**- Grelha côncava; **C**- Radiação dispersa e **D**- Matriz de sensores (Pasquini, 2003).

- **Baseados na transformada de Fourier:** Usam interferômetros para obter espectros com alta resolução e reprodutibilidade. São mais caros, mas muito precisos. Na figura 18 apresenta-se o esquema de um sistema interferométrico "wishbone" utilizado em espectrofotômetros NIR modernos baseados na transformada de Fourier.

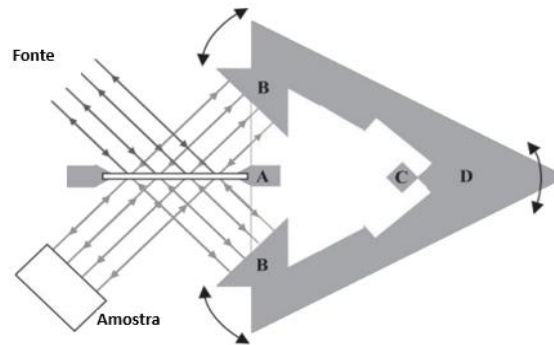


Figura 18 Sistema interferométrico "wishbone" utilizado em espectrofotômetros NIR modernos baseados na transformada de Fourier. **A-** Fonte do feixe; **B-** Espelhos cúbicos de canto; **C-** Âncora e **D-** Configuração "wishbone" (Pasquini, 2003).

7.8. Aplicação da Espectroscopia NIR na Nutrição Animal

A avaliação exata da composição nutricional dos alimentos normalmente disponíveis é muito importante por várias razões. O aspecto mais importante em qualquer sistema de produção animal é a qualidade dos alimentos que os animais recebem diariamente para satisfazer as suas necessidades nutricionais. A alimentação representa, por si só, (60-70) % dos custos de produção na produção animal. Por este motivo, é óbvio que é necessário dispor de uma técnica analítica rápida e mais exata que possa fornecer informações relacionadas com a composição química dos alimentos para animais (Reddy et al., 2023). A espectroscopia NIR é uma dessas técnicas mais recentes, com muitas vantagens adicionais, como rapidez, natureza não destrutiva e precisa, com preparação mínima da amostra. A utilização mais generalizada da NIR tem sido a determinação de proteínas, humidade, amido, lípidos e cinzas em ingredientes de alimentos para animais. A técnica NIR foi aceite como método oficial da "Association of Official Analytical Collaboration" (AOAC) para a proteína bruta, Fibra em detergente ácido (FAD) e para a humidade. Também tem sido utilizado para determinar o amido e os polissacáridos não amiláceos, a gordura e o óleo, a energia metabolizável, a contaminação por sementes de insetos ou ervas daninhas em grãos para alimentação animal e para a análise de forragens secas. Pode ser utilizado para identificar alimentos para animais e efetuar controlos de autenticidade. Além disso, as proteínas danificadas pelo calor, a contaminação por fungos e a adulteração podem ser detetadas com *software* moderno de reconhecimento de padrões. O objetivo final é formular dietas

para otimizar a produtividade animal, a relação custo-eficácia e os menores efeitos ambientais (Reddy et al., 2023).

7.9. Vantagens da Espectroscopia por Infravermelho Próximo (NIR)

É uma técnica muito utilizada na nutrição animal para determinar a composição dos alimentos para animais e das matérias-primas (Reddy et al., 2023). As suas vantagens são:

- **Ferramenta analítica não destrutiva:** as amostras que são analisadas não são alteradas ou danificadas, uma vez que o NIR é uma tecnologia não destrutiva;
- **Rapidez e eficiência:** o NIR fornece resultados rápidos, o que permite uma rápida tomada de decisões em estudos de nutrição animal;
- **Redução da utilização de produtos químicos:** o NIR não requer a utilização de quaisquer produtos químicos ou reagentes perigosos, o que ajuda a reduzir os resíduos químicos e o seu impacto no ambiente;
- **Método económico:** a utilização do NIR pode reduzir os custos associados aos reagentes, à mão de obra e à eliminação de amostras, quando comparada com outros métodos analíticos tradicionais;
- **Grande capacidade de processamento de amostras:** pode ser analisado por NIR um número relativamente elevado de amostras, num curto espaço de tempo, fomentando a sua adequação para estudos de nutrição animal em grande escala e para o controlo de qualidade na produção de alimentos para animais;
- **Análise de múltiplos componentes:** o NIR permite analisar vários componentes dos alimentos para animais, como a proteína, a humidade, a fibra, a gordura e os minerais. Esta análise abrangente proporciona uma visão holística do conteúdo nutricional;
- **Monitorização dos nutrientes:** permite a monitorização em tempo real da composição química dos alimentos para animais e das forragens, o que permite ajustar as dietas dos animais para satisfazer necessidades nutricionais específicas;

- **Facilidade de investigação:** tem um enorme potencial de utilização em estudos de nutrição animal, para avaliar o valor nutricional de vários ingredientes de alimentos para animais e avaliar o impacto das alterações alimentares na saúde e produtividade dos animais;
- **Sem/diminuição de erros humanos:** as probabilidades de erro humano diminuem consideravelmente e produzem resultados mais exatos (Reddy et al., 2023).

7.10. Desvantagens da Espectroscopia por Infravermelho Próximo (NIR)

Embora ofereça várias vantagens, como a rapidez e a relação custo-eficácia, também tem algumas desvantagens (Reddy et al., 2023).

- **Precisão limitada para determinados nutrientes:** A análise NIR é altamente precisa para alguns nutrientes, como a proteína e o teor de humidade, mas pode ser menos precisa para outros, como os minerais e certos aminoácidos. As variações na composição da amostra, o tamanho das partículas e a presença de compostos interferentes podem afetar a precisão.
- **Requisitos de calibração e manutenção:** Os instrumentos NIR requerem calibração e manutenção frequentes para garantir resultados exatos. As alterações no desempenho do instrumento ou nos métodos de referência podem exigir atualizações regulares dos modelos de calibração.
- **Aplicação limitada a novos ingredientes:** A análise NIR depende de bases de dados de referência, e a exatidão da análise pode ser comprometida quando se analisam novos ingredientes ou novas formulações de alimentos para animais, uma vez que podem faltar dados de referência.
- **Homogeneidade da amostra:** A análise NIR pressupõe que a amostra é homogénea. As variações no tamanho ou na distribuição das partículas numa amostra podem conduzir a erros na análise dos nutrientes.
- **Deteção limitada de contaminantes:** A análise NIR pode não ser adequada para detetar certos contaminantes ou toxinas nos alimentos para animais, uma vez que se centra principalmente na composição dos nutrientes.

Embora a análise NIR seja uma ferramenta valiosa na nutrição animal, é importante estar ciente destas limitações e considerar métodos complementares quando necessário para garantir resultados precisos e fiáveis na formulação de alimentos para animais e no controlo de qualidade (Reddy et al., 2023).

8. Quimiometria

A quimiometria trata da aplicação de métodos estatísticos multivariados em química e pode ser definida como a disciplina química que usa métodos matemáticos e estatísticos para planear ou seleccionar condições ótimas de medidas e experimentos e extrair o máximo de informações de dados químicos. Uma definição mais atual, recomendada pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), apresenta a quimiometria como a ciência que relaciona medidas feitas em um sistema químico ou processo com o estado do sistema através da aplicação de métodos matemáticos ou estatísticos. A quimiometria, como disciplina e linha de pesquisa, foi formalizada no começo dos anos 1970, a partir da colaboração entre os seus pioneiros, o químico sueco Svante Wold e o matemático e químico analítico estadunidense, Bruce Kowalski, os quais fundaram a Sociedade Internacional de Quimiometria, em 1974 (Sena & Almeida, 2018).

Os métodos quimiométricos podem ser divididos em diferentes tipos de acordo com os seus objetivos, tais como o planeamento e a otimização de experiências, análise exploratória dos dados, classificação supervisionada, calibração multivariada e resolução de curvas (Sena & Almeida, 2018).

8.1. Pré-tratamento dos dados espectrais

O objetivo do pré-tratamento é reduzir as variações indesejáveis que não foram removidas durante a aquisição dos dados e que não serão eliminadas naturalmente durante a análise, mas que podem influenciar os resultados. No entanto, qualquer tipo de tratamento deve ser feito com cuidado e criteriosamente, para não distorcer, comprometer ou até mesmo inutilizar os resultados da análise (Ferreira, 2015).

Há dois tipos de pré-tratamento:

- **Transformações aplicadas às amostras** (linhas da matriz X), que visam normalizar ou ajustar a forma dos espectros em função das características físicas das amostras;
- **Pré-Processamentos aplicados às variáveis** (colunas da matriz X), que têm por objetivo reduzir redundâncias, ruídos e outras fontes de erro sistemático nos dados espectrais.

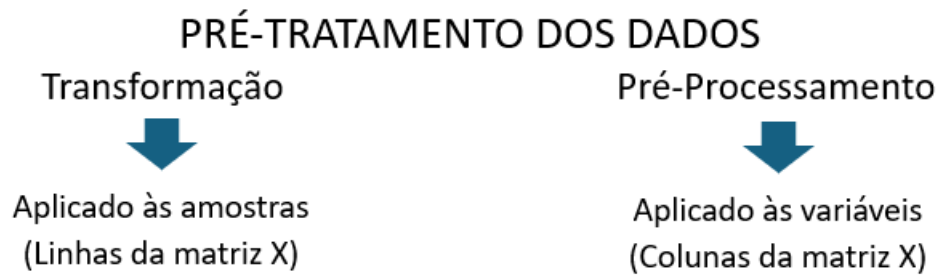


Figura 19 Adaptação do quadro indicativo do pré-tratamento dos dados de Ferreira (2015).

As fontes mais comuns de variação indesejável em espectros NIR incluem ruído, espalhamentos e desvios de linha de base. Os espectros NIR apresentam sempre um certo nível de ruído aleatório, dependente da amostra, das condições de medição e do espectrofotômetro. Os métodos de alisamento (“*smoothing*”) são utilizados com frequência para reduzir este ruído e aumentar a razão sinal/ruído dos espectros, assumindo-se que o ruído ocorre em alta frequência relativamente ao sinal de interesse (Sena & Almeida, 2018).

Os desvios de linha de base são outro problema recorrente, podendo ser lineares, causados por sinais de fundo (*offset*), ou não-lineares, relacionados com compensações inadequadas ou efeitos multiplicativos. Estes desvios podem ser corrigidos com métodos simples de compensação ou com técnicas mais específicas, como o uso de derivadas, que melhoram a resolução de sinais analíticos. A primeira derivada elimina desvios aditivos, enquanto a segunda derivada corrige também efeitos multiplicativos (Sena & Almeida, 2018).

Outra fonte significativa de variação é o espalhamento de luz, influenciado pela homogeneidade do tamanho das partículas ou pela densidade das amostras. Métodos como a Correção de Espalhamento Multiplicativo (*MSC*, *Multiplicative Scatter*

Correction) e a Variante Normal-Padrão (*SNV, Standard Normal Variate*) são largamente utilizados para mitigar estes efeitos. O MSC corrige o espalhamento através de uma regressão com base num espectro de referência, geralmente o espectro médio do conjunto de calibração, corrigindo interceções e inclinações. O SNV, por sua vez, normaliza os espectros linha a linha, subtraindo a média e dividindo pelo desvio padrão, sendo mais robusto à presença de amostras atípicas (*outliers*) do que o MSC (Sena & Almeida, 2018).

O tratamento adequado destas fontes de variação contribui de forma decisiva para a melhoria da robustez, interpretação e desempenho de previsão dos modelos quimiométricos desenvolvidos a partir de dados espectrais NIR (Sena & Almeida, 2018).

8.1.1. Transformação dos dados

8.1.1.1. Técnicas de alisamento

O alisamento, que pode ser feito pelo próprio instrumento com o auxílio de métodos matemáticos durante a recolha dos dados ou pelo analista antes da análise dos dados, é também conhecido na literatura como alisamento feito com o uso de filtros digitais. Ele tem grande aplicação nas áreas de espectroscopia e cromatografia, para a redução da componente aleatória dos dados e o consequente aumento da razão sinal/ruído (S/R) do sinal analítico. Além disso, o alisamento pode ser usado para destacar pequenos picos que estão mascarados numa linha de base em que o ruído é alto e também como um método de compressão dos dados. As técnicas de alisamento mais comuns consideram um pequeno segmento ou uma “janela” do espectro, que se desloca percorrendo-o integralmente. O processo inicia-se definindo uma faixa com um número ímpar de comprimentos de onda adjacentes (uma janela ou um segmento) em que as intensidades para todos eles são usadas para determinar uma única resposta, que será atribuída ao centro da janela. A seguir, a janela move-se e o processo é repetido, percorrendo, assim, todo o espectro. Com o aumento da janela, maior será a quantidade de ruído filtrado (Ferreira, 2015).

Deve-se ter sempre em consideração que, com todas as vantagens, o alisamento deve ser feito com bastante cuidado, para evitar um super-alisamento, que pode distorcer ou eliminar características importantes do espectro (Ferreira, 2015).

Resumidamente, espectros NIR terão sempre algum nível de ruído aleatório, o qual dependerá da amostra, das condições de medida e do detetor do espectrofotómetro. Os métodos de alisamento (*smoothing*) são usados para reduzir matematicamente o ruído, aumentando a razão sinal/ruído dos espectros. Assume-se que os ruídos têm alta frequência em relação ao sinal de interesse. O método mais usado para esse fim é o alisamento *Savitzky-Golay* (Sena & Almeida, 2018).

Alisamento pelo método da média

Este tipo de alisamento é indicado para os casos em que se deseja aumentar a razão S/R, acompanhada de uma compressão dos dados, pois ocorre uma redução no número de variáveis (J) de cada amostra. Como já mencionado, o processo envolve a seleção e o deslocamento de uma janela móvel ao longo de todo o espectro. Uma janela de tamanho $(2m + 1)$ contém $(2m + 1)$ variáveis designadas por $-m, -m+1, \dots, -1, 0, 1, \dots, m - 1, m$ e cujo centro se localiza no zero. A resposta alisada, x_{alis} , e que será atribuída ao centro da janela, é uma simples média aritmética das respostas das $(2m + 1)$ variáveis da respetiva janela (Ferreira, 2015).

Equação 7 Cálculo da variável suavizada x_{alis} através da média aritmética dos pontos numa janela de tamanho $2m+1$. Adaptado de Ferreira (2015).

$$x_{\text{alis}} = \sum_{k=-m}^{+m} C_K X_K = \frac{1}{(2m + 1)} \sum_{k=-m}^{+m} X_K$$

Coefficiente de ponderação c_k associado ao método da média móvel. Adaptado de Ferreira (2015).

$$C_K = \frac{1}{(2m + 1)}$$

O processo é repetido para a janela seguinte, que contém as variáveis que vão de $(2m + 2)$ até $(4m + 2)$, e assim por diante, até que todo o espectro tenha sido alisado. Como resultado, além do alisamento, houve um decréscimo no número de variáveis que era originalmente J e foi reduzido para o número inteiro mais próximo de $(J / (2m + 1))$ (Ferreira, 2015).

Alisamento pelo método da média móvel

O alisamento feito pela média móvel funciona da mesma maneira que o alisamento pela média, com uma janela móvel percorrendo todo o espectro e o valor central da janela sendo substituído pela resposta média como indicado na equação 7.

A diferença neste caso é que a janela se desloca de uma em uma variável, percorrendo todo o espectro. A cada deslocamento, só a intensidade à esquerda é excluída e uma nova é incluída à direita.

A grande diferença deste método comparado ao anterior é que neste caso o espectro alisado contém basicamente o mesmo número de variáveis que o original não houve compressão dos dados). Esta metodologia não permite o alisamento do início e do final do espectro, uma vez que as respostas alisadas são alocadas no centro das janelas (Ferreira, 2015).

Alisamento pelo método de Savitzky-Golay

A diferença entre o alisamento pela média móvel e o de *Savitzky-Golay* é que, ao invés de calcular uma média simples entre os pontos da janela, usa-se uma média ponderada, em que os pesos são obtidos por um ajuste polinomial. Tem de se ajustar um polinómio de grau n às respostas da primeira janela, que contém $(2m+1)$ pontos, indicados como $k = -m - m + 1, \dots, -1, 0, 1, \dots, m - 1, m$, onde $k = 0$ representa o seu centro. A escolha do número de variáveis dessa janela é crucial. Um número muito pequeno de variáveis pode não filtrar o ruído de maneira satisfatória, enquanto um número muito grande pode eliminar informação relevante e distorcer o espectro. O ideal é ajustar o tamanho da janela, que costuma variar entre 7 e 15 pontos, e escolher o grau do polinómio, sendo que os de 2º ou 3º grau são os mais usados (Sena & Almeida, 2018).

A seguir, a resposta no ponto central da janela é substituída pelo valor do polinómio ajustado. A janela move-se como no método da média móvel, e o valor do polinómio é calculado no novo centro. O processo repete-se até que todas as janelas tenham sido alisadas.

O filtro de *Savitzky-Golay* depende de dois parâmetros: do número de pontos da janela (m à esquerda e m à direita do centro) e do grau do polinómio ajustado, n (Ferreira, 2015).

Outro erro espectral comum em espectros NIR é a presença de desvios de linha-base, os quais podem ser lineares, causados pela presença de um sinal de fundo (*offset*) que precisa ser corrigido por causa de variações instrumentais ou compensação inadequada do branco, ou não-lineares, causados por efeitos multiplicativos (Sena & Almeida, 2018).

Desvios de linha-base podem ser corrigidos pelo uso da simples compensação do *offset*, derivadas ou métodos específicos para a correção de espalhamentos multiplicativos. As derivadas são ferramentas matemáticas úteis para melhorar a resolução de sinais analíticos, embora apresentem, como efeito colateral, o aumento do ruído.

Por isso, o uso de derivadas deve ser feito conjuntamente com métodos de alisamento (usam-se, frequentemente, derivadas de *Savitzky-Golay*). A primeira derivada elimina desvios de linha-base aditivos, enquanto a segunda derivada elimina também efeitos multiplicativos (Sena & Almeida, 2018).

Alisamento com filtros de Fourier

Outra técnica que pode ser aplicada para o alisamento de espectros é o uso de filtros baseados na transformada de Fourier. Embora seja mais comumente associada à espectroscopia no infravermelho médio (FTIR), a transformada de Fourier também pode ser utilizada no pré-processamento de dados espectrais NIR, especialmente para remover ruídos de alta frequência e melhorar a razão sinal/ ruído (S/R).

Neste caso, o espectro é transformado para o domínio da frequência, onde se aplica um filtro adequado, e posteriormente reconvertido ao domínio original.

Esta abordagem, quando aplicada corretamente, pode contribuir para uma melhor visualização e análise dos sinais espectrais (Ferreira, 2015).

8.1.1.2. Técnicas de correção da linha de base

Derivadas

Um problema instrumental ou de amostragem pode deslocar um espectro como um todo, de um valor constante positivo ou negativo em relação ao zero de absorvância, pode haver um deslocamento constante da linha de base (no eixo das ordenadas). Esse deslocamento pode ser corrigido tomando-se a primeira derivada do espectro. Como a primeira derivada de uma constante é zero, após a correção o espectro resultante estará deslocado para o zero de absorvância. Caso o espectro apresente uma inclinação da linha de base à medida que decresce o número de onda, essa variação sistemática também pode ser corrigida tomando-se a segunda derivada. O pré-tratamento com derivadas é bastante comum quando se analisam espectros de refletância difusa, em que os problemas de deslocamento e inclinação da linha de base geralmente ocorrem (Ferreira, 2015).

A derivada de uma função em um ponto qualquer da curva é a inclinação da reta tangente à curva naquele ponto, a derivada de um pico terá, então, dois lobos: um positivo, relativo ao lado esquerdo, e outro negativo, relativo ao lado direito do pico. Os máximos, positivo e negativo da derivada, correspondem aos pontos de inflexão do pico original. No ponto de intensidade máxima, a inclinação da reta tangente é nula e, portanto, a derivada é igual a zero (Ferreira, 2015).

Uma maneira simples de calcular derivadas é através da diferença entre dois valores sucessivos de absorvâncias, como indicado na equação seguinte, uma vez que os intervalos de comprimento de onda ($\Delta\lambda = \delta$) são constantes.

Equação 9 Cálculo da primeira derivada da absorvância (A) em função do comprimento de onda (λ), com base na diferença entre valores sucessivos de absorvância, considerando um intervalo constante δ . Fonte: Ferreira (2015).

$$2\delta \frac{dA}{d\lambda}(\lambda_j) \cong \Delta A(\lambda_j) = A_{\lambda_j+\delta} - A_{\lambda_j-\delta}$$

Logaritmo

O logaritmo pode ser aplicado com o objetivo de linearizar os dados e a escolha da base logarítmica; seja ela a base decimal (Log_{10}) ou outra, não afetará a interpretação qualitativa dos resultados. Por exemplo, em espectroscopia a resposta medida é a razão da intensidade que deixa a amostra, I , pela intensidade incidente na amostra, I_0 , que é a intensidade de luz quando a amostra não está presente. Essa razão é a transmitância $T = I/I_0$. O decréscimo na intensidade de luz passando através de uma amostra homogênea transparente não é linear, como exemplificado no esquema da figura 20 (Ferreira, 2015).

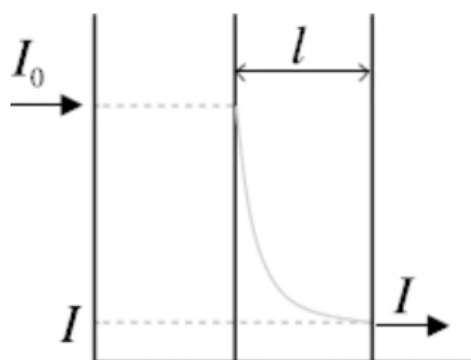


Figura 20 Representação esquemática do decréscimo na intensidade de luz incidente, I_0 , ao atravessar uma célula de caminho óptico igual a l . A luz deixa a amostra com intensidade I menor que I_0 porque parte foi absorvida pela amostra (Ferreira, 2015).

A relação entre a intensidade de luz absorvida pela amostra e a sua concentração é dada pela lei de Beer-Lambert, $A_\lambda = \alpha_\lambda lc$, onde A_λ é a absorvância num dado comprimento de onda, α_λ é o respetivo coeficiente de absorvância molar, l é o caminho óptico e c a concentração. A absorvância apresenta uma relação logarítmica com a transmitância, indicada nas seguintes equações (Ferreira, 2015).

Equação 10 Relação entre a absorvância A_λ e a transmitância T_λ , baseada na Lei de Beer-Lambert:

$$A_\lambda = -\log T_\lambda = -(\log I/I_0)_\lambda$$

A equação 10 expressa a absorvância como logaritmo decimal inverso da transmitância, sendo I a intensidade da radiação transmitida e I_0 a intensidade da radiação incidente para um determinado comprimento de onda (λ).

Equação 11 Relação entre a transmitância T_λ e os parâmetros físicos da amostra segundo a Lei de *Beer-Lambert*.

$$T_\lambda = 10^{-\varepsilon_\lambda lc}$$

A equação 11 descreve a transmitância em função do coeficiente de absorvidade molar (ε_λ), da concentração da amostra (c) e do comprimento do caminho ótico (l), demonstrando que a transmitância diminui exponencialmente com o aumento de qualquer um destes fatores (Ferreira, 2015).

Fazendo uma transformação logarítmica da transmitância, é possível obter uma relação linear entre a intensidade de luz e a concentração. Além das técnicas de transmitância, há também as técnicas de refletância, que diferem das primeiras porque o feixe de luz incidente é refletido ao invés de passar pela amostra. Da mesma maneira, uma transformação logarítmica da refletância, R_λ , conduz a uma relação linear com a concentração: $A_\lambda = -\text{Log } R_\lambda$ (Ferreira, 2015).

Transformação de Kubelka-Munk

Quando um feixe de luz incide numa superfície perfeitamente lisa, ocorre a reflexão especular e ele é refletido numa única direção e no mesmo plano, como mostrado pelas linhas contínuas na representação esquemática da figura 21. Se a rugosidade da superfície for maior que o comprimento de onda da luz incidente, ocorre a reflexão difusa, e a luz é espalhada esfericamente em todas as direções. Essa luz refletida (difusamente espalhada) é enviada para o detetor. Bandas que são fracas em espectros de transmitância em geral se tornam mais intensas em espectros de refletância difusa, e os espectros são mais ricos em informação. No entanto, o espalhamento de luz é um fenômeno extremamente complicado e, na maioria dos casos, causa deslocamentos na absorvância, mas que podem ser corrigidos (Ferreira, 2015).

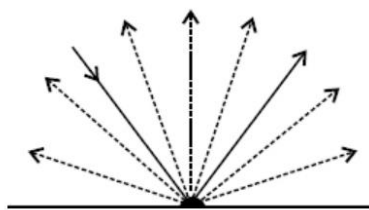


Figura 21 Representação esquemática da reflexão difusa. Reflexão da luz incidente numa amostra perfeitamente lisa (linha contínua) e o espalhamento da luz refletida de uma amostra rugosa (linhas tracejadas) (Ferreira, 2015).

Mesmo com boas práticas de preparação de amostra (tamanho, diluição, homogeneidade, empacotamento), o espectro de refletância difusa pode ter um aspeto diferente do espectro equivalente de transmitância. A transformação de *Kubelka-Munk* pode ser aplicada ao espectro de refletância para compensar essas diferenças e para linearizar espectros de amostras que apresentam espalhamento.

A equação original de *Kubelka-Munk* relaciona a refletância difusa absoluta com o coeficiente de espalhamento, s , e a absortividade molar, k , mas na prática, a refletância absoluta foi substituída pela refletância relativa (em relação a um padrão). A razão k/s é proporcional à quantidade de espécies absorventes na amostra. Uma versão corrigida da função original da equação de *Kubelka-Munk* é a equação 12 (Ferreira, 2015):

Equação 12 Transformação de Kubelka-Munk aplicada à refletância difusa relativa.

$$\left[\frac{(1 - R_\lambda)^2}{2R_\lambda} \right] = \frac{k}{s} \propto \text{concentração}$$

Correção multiplicativa de espalhamento (MSC)

A transformação “*Multiplicative Scatter Correction*” (MSC) é usada para corrigir efeitos de espalhamento aditivos e multiplicativos na absorvância. Esses efeitos de espalhamento são causados por fenómenos físicos, como mudanças no caminho ótico, na sensibilidade do detetor e do amplificador, variações na temperatura e na pressão e, diferenças no tamanho e na forma das partículas sólidas (pós e grãos) (Ferreira, 2015).

Esses efeitos aditivos e multiplicativos de espalhamento são dependentes do comprimento de onda e devem ser removidos, pois constituem fontes de variabilidade irrelevante para o problema. Eles podem ser entendidos fazendo-se um gráfico do espectro de uma dada amostra versus um espectro ideal, em cada comprimento de

onda. Na prática, o espectro “ideal” pode ser o espectro de uma das amostras do conjunto de dados, ou o espectro médio x_m (Ferreira, 2015).

Comparando o pré-tratamento MSC com o das derivadas, ambos corrigem deslocamentos na linha de base, mas a derivada corrige a inclinação na linha de base, o que não ocorre com MSC. Por outro lado, as derivadas não removem efeitos multiplicativos, enquanto MSC, sim. Portanto, esses pré-tratamentos removem efeitos de diferentes naturezas e podem até ser aplicados um após o outro. A vantagem de usar MSC em relação ao uso da derivada é a preservação da forma original do espectro, o que facilita a interpretação dos resultados, embora não haja correção na inclinação da linha de base. Isso se deve ao fato de que a transformação MSC utiliza a projeção dos espectros no espectro “ideal”, que possui essa mesma tendência. Ao usar dados tratados por MSC na construção de modelos de calibração, deve-se estar atento, pois se a ou b estiverem correlacionados com a propriedade de interesse, a correção MSC poderá remover informações importantes da matriz original dos dados, X (Ferreira, 2015).

Padronização normal de sinal (SNV)

A transformação SNV, como a MSC, corrige efeitos aditivos e multiplicativos e é apropriada para remover interferências de espalhamento e de tamanho de partícula sólida. Ambos os métodos têm uma formulação matemática muito semelhante, diferindo apenas na definição dos parâmetros a e b. No método SNV, a_i é o valor médio das intensidades do i -ésimo espectro, \bar{x}_i , e b_i é o desvio-padrão, s_i , das intensidades desse espectro, como representado nas equações 13 e 14 (Ferreira, 2015):

Equação 13	Cálculo da média espectral (\bar{x}).	$\bar{x} = \frac{1}{J} \sum_{j=1}^J x_{ij}$
Equação 14	Cálculo do desvio-padrão s_i das intensidades do i -ésimo espectro, com base na dispersão dos valores x_{ij} relativamente à média \bar{x}_i , ao longo de j variáveis.	$s_i = \sqrt{\sum_{j=1}^J (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}$

8.1.2. Pré-Processamento dos dados

A eliminação de desvios causados pelo espalhamento de luz é particularmente relevante no processamento quimiométrico de espectros NIR obtidos para sólidos através de medidas de refletância difusa. O uso de acessórios de refletância foi muito importante na difusão da espectroscopia NIR, permitindo medidas diretas e aumentando a versatilidade desta técnica. Esse tipo de desvio de linha-base não linear (*drift*) é causado por diferenças no caminho ótico, resultantes da falta de homogeneidade no tamanho das partículas ou das diferentes densidades dos grãos (Sena & Almeida, 2018).

Os métodos mais usados para mitigar esta fonte de variação são a correção do espalhamento multiplicativo (MSC, *Multiplicative Scatter Correction*) e a variação normal padrão (SNV, *Standard Normal Variate*). O MSC corrige o espalhamento multiplicativo através de uma regressão em relação a um espectro de referência, normalmente o espectro médio do conjunto de calibração. Dessa forma, interceptos e inclinações são corrigidos, eliminando a variação causada pelo espalhamento. O SNV é um tipo de normalização feito ao longo das linhas da matriz. Nele, o valor médio de cada linha é subtraído de todos os valores da respectiva linha, os quais são, em seguida, divididos pelos respectivos desvios-padrão. Portanto, o SNV corresponde, matematicamente, ao auto-escalamento aplicado à matriz de dados transposta, uma vez que a normalização é feita linha a linha em vez de coluna a coluna.

Pelo fato de não utilizar um espectro médio de referência, o SNV é considerado mais robusto à presença de amostras anômalas (*outliers*) do que o MSC (Sena & Almeida, 2018).

Centragem dos dados na média

Para centrar os dados na média, primeiro calcula-se o valor médio de cada coluna da matriz de dados e, a seguir, esse valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna, tal como mostra a equação 15:

Equação 15 Centragem dos dados em relação à média (Ferreira, 2015).
$$x_{ij(cm)} = x_{ij} - \bar{x}_j$$

O resultado deste pré-processamento é apenas uma translação de eixos para o valor médio de cada um deles e, conseqüentemente, a estrutura dos dados é totalmente preservada (Ferreira, 2015).

Escalamento pela variância

Nos métodos de escalamento, os dados são divididos por um fator de escala que é uma medida da dispersão dos dados. A equação 16 mostra como os dados são escalados pela variância. Os elementos de cada uma das variáveis (colunas de X) são divididos pelo fator de escala que é o seu respectivo desvio-padrão (Ferreira, 2015).

Equação 16 Escalamento dos dados pela variância.
$$x_{ij(v)} = \frac{x_{ij}}{S_j}$$

Auto-escalamento

O auto-escalamento implica subtrair de cada elemento de uma coluna da matriz de dados o valor médio da respectiva coluna e dividir o resultado pelo desvio-padrão dessa coluna, de acordo com a equação 17. Em resumo, cada coluna da matriz de dados é centrada na média e escalada pelo desvio-padrão (Ferreira, 2015).

Equação 17 Auto-escalamento dos dados.
$$x_{ij(\alpha)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{S_j}$$

O escalamento pela variância e o autoescalamento tornam os dados adimensionais, ou seja, com valores invariantes com respeito à unidade utilizada originalmente.

Existem extensões do auto-escalamento que usam diferentes fatores de escala. São:

- **Escalamento de Pareto:** utiliza a raiz quadrada do desvio-padrão (os dados pré-processados deixam de ser adimensionais);
- **Escalamento segundo a estabilidade da variável (conhecido como *variable stability - VAST*):** neste caso, o enfoque é nas variáveis que não apresentam grande variação (designadas variáveis estáveis) e os fatores de escala são dois, o desvio padrão e o coeficiente de variação;

- **Escalamento por nivelamento:** o fator de escala é o valor médio (ou a mediana) que não é uma medida de dispersão como em todos os outros casos, mas de tamanho (Ferreira, 2015).

Escalamento pela amplitude

Neste pré-processamento, o fator de escala é a amplitude e os dados são escalados como indicado na equação 18.

Equação 18 Escalamento dos dados pela amplitude.
$$x_{ij(amp)} = \frac{x_{ij} - x_{j(min)}}{x_{j(max)} - x_{j(min)}}$$

No caso em que $x_{ij} = x_{j(min)}$, o valor escalado pela amplitude é igual a zero e, para $x_{ij} = x_{j(max)}$, o valor escalado será $x_{ij(amp)} = 1,0$. Após o escalamento, todos os valores da matriz de dados variam no intervalo de zero a um. Obviamente, quando todos os valores de uma coluna forem constantes, $x_{j(min)} = x_{j(max)}$, esse pré-processamento será inócuo (Ferreira, 2015).

Como síntese das etapas de centragem e do escalamento, destacam-se a centragem dos dados na média e autoescalamento. Centrar na média é o pré-processamento mais utilizado, aplicado a todo o tipo de dados, incluindo espectros de um modo geral. Neste método, a média de cada variável é calculada e subtraída do valor de cada elemento da respectiva coluna. A distribuição de cada variável passa a ter média zero, ou seja, o centro das coordenadas do sistema é movido da origem natural para a média multivariada dos dados (espectro médio). O autoescalamento é mais utilizado em dados obtidos para variáveis discretas (medidas físico-químicas, concentrações de elementos, etc.), em modelos de análise exploratória. Ele inclui a “centragem” na média, mas, após esta etapa, cada elemento é dividido pelo desvio-padrão da respectiva coluna. Como consequência, todas as variáveis terão média zero e variância um, o que dará a elas pesos iguais, independentes de suas escalas naturais. É importante frisar que espectros de um modo geral, e de NIR em particular, não devem ser autoescalados, pois os picos de maior intensidade normalmente contribuem com mais informação para o modelo. Além disso, o autoescalamento de espectros aumenta a contribuição de variáveis ruidosas, em regiões espectrais de pouca absorvância, para o modelo (Sena & Almeida, 2018).

8.2. Análise Exploratória dos dados

Os métodos de análise exploratória de dados são também conhecidos como métodos de classificação não supervisionada. O termo “não supervisionada” indica que não serão fornecidas ao modelo quaisquer informações sobre a origem das amostras. Os objetivos desse tipo de método são verificar a presença de agrupamentos naturais de amostras, reduzir as dimensões dos dados e extrair os padrões latentes de informações mais relevantes. Por isso, às vezes usa-se também o termo “reconhecimento de padrões” para se referir a esses métodos.

Modelos exploratórios extraem informação latente, que pode ser visualizada em gráficos de dispersão simples ou em dendrogramas. Dessa forma, é possível identificar mais facilmente as tendências e os padrões subjacentes em grandes conjuntos de dados, os quais não seriam perceptíveis observando-se os valores de uma variável de cada vez.

Os mais importantes métodos quimiométricos exploratórios são a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis*, PCA) e a análise hierárquica de agrupamentos (*Hierarchical Cluster Analysis*, HCA) (Sena & Almeida, 2018).

8.2.1. Análise de Componentes Principais – PCA

A PCA pode ser considerada o mais importante método quimiométrico. Além de ter ampla aplicação em diversas áreas da ciência, a sua compreensão teórica é um pré-requisito para o entendimento da maioria dos métodos quimiométricos de classificação e calibração multivariada (Sena & Almeida, 2018).

A técnica PCA é muito útil para contornar alguns problemas nos dados, tais como, a falta de seletividade (nenhuma variável X isolada consegue estimar Y), a colinearidade (redundância e correlação entre as variáveis X), ou falta de conhecimento sobre a relação entre as variáveis (Soletto, 2020).

A PCA é um método que permite a redução da dimensionalidade de um conjunto de dados através da sua projeção em um subespaço vetorial, um novo sistema de eixos.

Os novos eixos são estimados através de combinações lineares das variáveis originais e são denominados componentes principais (CPs). Os CPs condensam a informação dos dados em um número bem menor de fatores, que são mais facilmente

visualizados. Por exemplo, espectros NIR típicos têm centenas de variáveis, que contêm muita variância redundante. Na verdade, um número muito menor de fatores, os componentes químicos das amostras, é responsável pela variação sistemática de interesse. Nesses casos, a PCA reduz centenas de variáveis a apenas uns poucos CPs, que retêm a maior parte da variância. A PCA pode ainda ser vista como um método que “filtra” as correlações presentes nos dados, o que é essencial na análise de espectros, que em geral contêm muitas variáveis correlacionadas (Sena & Almeida, 2018).

A figura 22 (a) mostra uma relação direta entre os dados X e as variáveis Y. Porém na prática é muito difícil construir um bom modelo sem decompor o conjunto inicial, não somente pelo grande volume de dados, mas também porque as relações entre as variáveis X são complexas. Por isso, ao realizar PCA (figura 22b), transformamos o conjunto original X em um conjunto menor, onde descobrimos relações importantes entre as variáveis X, tornando mais fácil construir um modelo que as relacione com o conjunto Y (Soletto, 2020).

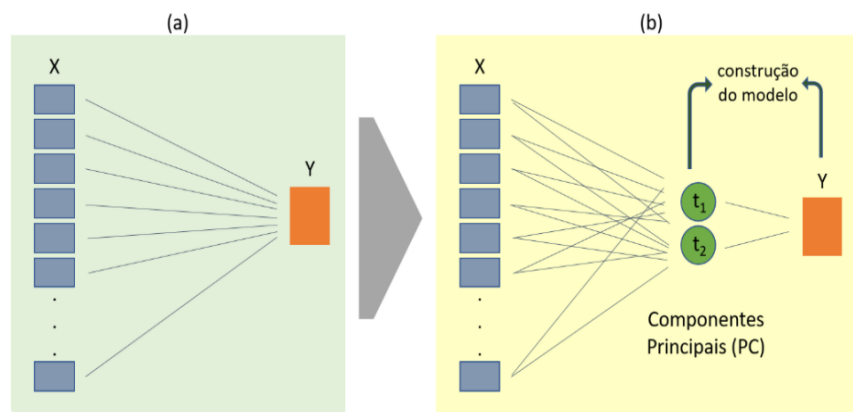


Figura 22 Representação esquemática da Análise de Componentes Principais (PCA). À esquerda (a), os dados originais com elevada dimensionalidade (X) são projetados num novo sistema de eixos, mantendo a informação relevante. À direita (b), ilustra-se a transformação dos dados nos componentes principais (PC), com redução de dimensionalidade e maior facilidade para construção de modelos de previsão, a partir de variáveis latentes (t) (Soletto, 2020).

A análise de Componentes Principais (PCA) pode ser compreendida como uma mudança na forma de representar os dados, permitindo visualizar a informação sob nova

Na figura 23 (c) mostra os dados projetados num sistema tridimensional com as variáveis originais, enquanto a figura 23 (d) apresenta esses mesmos dados reorganizados segundo componentes principais.

O primeiro componente principal (PC1) é construído de modo a capturar a maior quantidade possível de variância presente nos dados, o segundo componente principal (PC2) capta a maior variância remanescente, sendo ortogonal ao primeiro, e assim sucessivamente.

Desta forma, os componentes principais são combinações lineares das variáveis originais e permitem uma análise mais eficiente da estrutura subjacente dos dados (Soletto, 2020).

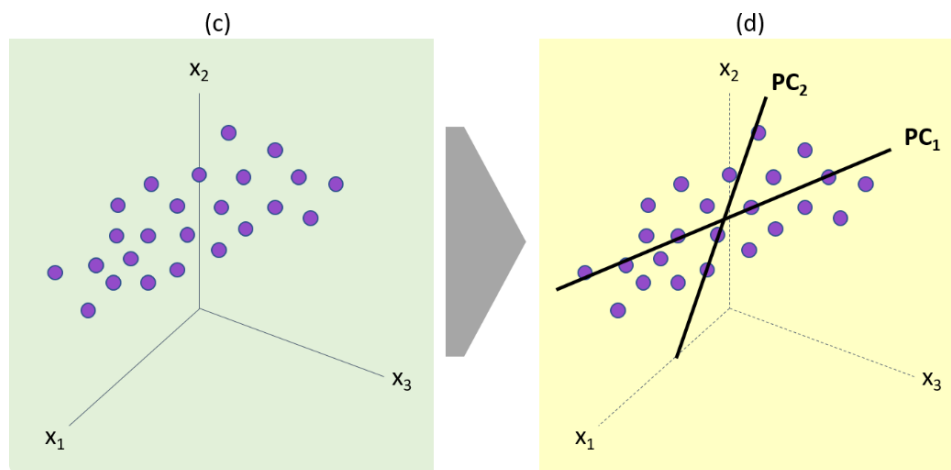


Figura 23 Representação tridimensional dos dados originais (c) com base nas variáveis X_1 , X_2 e X_3 , e reorganização dos mesmos dados segundo os Componentes Principais (d), evidenciando os eixos PC_1 e PC_2 gerados pela Análise de Componentes Principais (PCA), conforme descrito por Soletto (2020).

8.2.2. Análise de Agrupamentos por Métodos Hierárquicos – HCA

A HCA pretende observar agrupamentos de amostras (*clusters*) baseando-se em medidas de similaridade, normalmente na distância euclidiana, sem envolver uma etapa de redução da dimensionalidade dos dados. Como resultados, são obtidos dendrogramas que permitem analisar a formação de agrupamentos em função da distância entre as amostras no espaço multidimensional da variância dos dados. Por não envolver uma etapa de projeção dos dados e não permitir observar simultaneamente as relações entre amostras e variáveis, a HCA possui menor capacidade de extrair informações do sistema do que a PCA (Sena & Almeida, 2018).

8.3. Modelos de Regressão Multivariada (Calibração)

Durante o processo de calibração, a concentração de um componente ou outra propriedade de interesse é quantificada indiretamente através de medidas realizadas em um sistema químico. Quando existir uma variável seletiva que possa ser medida para esse sistema, a calibração univariada é usada. No entanto, espectros NIR raramente apresentam variáveis seletivas, mesmo para matrizes menos complexas (Pasquini, 2003).

Nesse caso, a alternativa é o uso da calibração multivariada, na qual muitas variáveis, centenas ou até milhares no caso de espectros de infravermelho em geral, são usadas para construir o modelo. Como na calibração multivariada predomina a calibração inversa, define-se um bloco de variáveis independentes (espectros), contidas na matriz X , e uma (ou mais) variável dependente a ser prevista, contida no vetor y . Assim, o modelo é definido matematicamente como $y = Xb$, sendo b o vetor dos coeficientes de regressão, um para cada variável (comprimento de onda) em X (Sena & Almeida, 2018).

As vantagens da calibração multivariada, pode-se mencionar a possibilidade de determinações diretas, na ausência de resolução do sinal analítico, na presença de interferentes desde que presentes no conjunto de calibração, e também a possibilidade de quantificações simultâneas a partir do mesmo conjunto de espectros, quando houver mais de um analito ou propriedade a ser analisado (Sena & Almeida, 2018).

Pelo menos dois conjuntos de amostras são necessários para o desenvolvimento do modelo. O primeiro é o conjunto de calibração, para o qual os valores das concentrações ou propriedades a ser determinadas são conhecidos, seja pela preparação de amostras de composição planejada ou pelo uso de métodos de referência. Estes valores em conjunto com os espectros são utilizados para estimar os coeficientes de regressão. O outro conjunto de dados é o de validação, no qual o modelo desenvolvido é testado para prever a concentração de amostras independentes, não incluídas na calibração. As amostras costumam ser divididas em cerca de dois terços para o conjunto de calibração e um terço para o conjunto de validação. As amostras de calibração devem ser representativas de toda a variância sistemática a ser modelada e estejam distribuídas homoganeamente. O número de amostras de validação deve ser

suficiente para testar uma generalização representativa das previsões (Sena & Almeida, 2018).

Os principais métodos de calibração multivariada são a Regressão Linear Múltipla (MLR), a Regressão em Componentes Principais (PCR) e os Mínimos Quadrados Parciais (PLS).

A MLR, embora simples, pode apresentar limitações devido à colinearidade entre variáveis espectrais, o que conduz a soluções instáveis. Nestes casos, opta-se por PCR ou PLS, que transformam os dados espectrais em novos eixos (componentes) não correlacionados. A escolha do número de componentes principais (PCs) ou fatores latentes (PLs) é feita com base na validação cruzada, minimizando o erro quadrático médio de validação cruzada (RMSECV). A determinação do RMSECV é calculada a partir da equação 19 (Sena & Almeida, 2018):

Equação 19
$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n_c}}$$

Sendo, n_c o número de amostras no conjunto de calibração, \hat{y}_i , o valor previsto pelo modelo e y_i , o valor de referência da i -ésima amostra.

A aplicação do modelo construído às amostras de calibração e validação origina outros dois parâmetros importantes, RMSEC (RMSE of calibration) e RMSEP (RMSE of prediction). Existem vários tipos de validação cruzada, dependendo dos critérios utilizados na reamostragem. Um dos mais usados é o *leave-one-out* (LOO), no qual uma amostra é removida à vez (Sena & Almeida, 2018).

Um bom modelo de calibração multivariada deve explicar a maior parte da variância, geralmente mais de 90%, nos dois blocos, X e Y. A validação externa deve ser realizada através da previsão do conjunto de validação independente e da estimativa do RMSEP. Outro aspeto importante é a interpretação espectral dos modelos construídos.

Para isto, os vetores informativos gerados no modelo PLS devem ser interpretados criticamente e associados às respetivas bandas espectrais. Os vetores informativos mais importantes são o vetor dos coeficientes de regressão e os *Variable Importance in Projection* (VIP) (Sena & Almeida, 2018).

8.3.1. Regressão Linear Múltipla (MLR)

A Regressão Linear Múltipla (MLR) é uma técnica estatística clássica que permite estimar uma variável resposta com base em múltiplas variáveis explicativas, assumindo uma relação linear entre elas. Os comprimentos de onda selecionados são aqueles que apresentam uma correlação mais elevada entre o valor de absorvância a um determinado comprimento de onda, os dados de referência correspondentes e calcula, para a análise de amostras com mais de um componente, uma relação linear entre o sinal e a concentração de cada componente através de um ajuste por mínimos quadrados (Risco, 2016).

Apesar de ser um método direto e amplamente utilizado, a Regressão Linear Múltipla (MLR) apresenta algumas limitações importantes quando aplicada à análise de dados espectrais complexos, como os obtidos por espectroscopia NIR.

A forma mais simples e direta de estimar b na equação $y = Xb$ é usando a MLR. A solução dos mínimos quadrados para esta equação é $b = (X^T X)^{-1} X^T y$. No entanto, a matriz $X^T X$ só será inversível na ausência de colinearidade entre as variáveis independentes e se existirem mais linhas do que colunas na matriz X , ou seja, mais amostras que variáveis. Mesmo que o número de amostras disponível para construir o modelo seja maior do que o número de comprimentos de onda modelados, espectros NIR sempre apresentam alto grau de colinearidade. Como resultado, a solução dessa matriz inversa representará um sistema instável (mal condicionado). De outra maneira, pode-se dizer que a MLR é limitada por incluir toda a variância espectral no modelo. Com isso, a quantidade significativa de informação não relevante será incorporada, tornando o modelo pouco robusto. Por isso, a MLR só funcionará satisfatoriamente para sistemas simples e bem-comportados, que apresentem respostas lineares, sem interferentes, com baixo ruído e nenhuma colinearidade. Uma alternativa é combinar a MLR com uma prévia seleção de variáveis, que encontre um pequeno número de comprimentos de onda não correlacionados (Sena & Almeida, 2018).

Por estas razões, a aplicação da regressão linear múltipla a dados espectrais mostrou-se limitada, especialmente em situações com alta colinearidade. Como alternativa, passou-se a considerar a realização da regressão não diretamente nos dados espectrais brutos, mas sim nas projeções dos dados nos componentes principais (PCA),

originando assim a metodologia de regressão em componentes principais (PCR) (Sena & Almeida, 2018).

8.3.2. Regressão em Componentes Principais (PCR)

O PCR é um método de calibração que trabalha com o espectro completo, embora o sintetize numa série de variáveis linearmente independentes, com o objetivo de evitar a colinearidade dos dados (Risco, 2016).

O PCR utiliza exclusivamente a informação espectral para calcular novas variáveis ortogonais entre si, denominadas componentes principais (PCs), e com estas novas variáveis realiza-se um ajuste de regressão múltipla.

De acordo com Wold, 1966, o PCR aproveita as propriedades da decomposição em componentes principais (PCA), realizando uma regressão múltipla inversa (MLR) da propriedade a determinar sobre as pontuações obtidas na PCA, em vez de realizá-la sobre os dados originais. Não há perda de informação útil, uma vez que as pontuações contêm a mesma informação que os dados originais, mas com o ruído eliminado (Risco, 2016).

A estimativa do vetor de regressão b passa a ser feita com base nos componentes principais, segundo a equação $b = (T^T T)^{-1} T^T y$, onde T corresponde à matriz das pontuações obtidas a partir da decomposição PCA. Esta abordagem evita problemas de instabilidade numérica associados à colinearidade, já que os scores são ortogonais entre si e estão em número bastante reduzido em comparação com o conjunto original de variáveis (Sena & Almeida, 2018).

Contudo, uma limitação do método PCR é o facto de ignorar, no momento da decomposição, qualquer informação contida na variável-resposta. Ou seja, os componentes principais são obtidos apenas com base na matriz X (espectros), sem considerar Y (concentrações) Essa separação pode resultar na retenção de variância não relevante para o modelo de previsão, o que levou ao desenvolvimento de um método alternativo, o PLS (Sena & Almeida, 2018).

8.3.3. Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

O método PLS foi desenvolvido por volta de 1975 por Herman Wold para modelação do conjunto de dados em termos de cadeias de matrizes e foi originalmente concebida para ser utilizada em econometria, visto que grande parte das covariáveis apresentam um elevado grau de colinearidade (Risco, 2016).

Na década de 1980 foi introduzido na literatura científica e nos anos seguintes, o PLS tornou-se o mais importante método de calibração multivariada. Assim como o PCR, o PLS é capaz de quantificar analitos na presença de interferentes, desde que eles tenham sido incluídos no conjunto de calibração. Entretanto, os fatores/componentes decompostos no PLS estão sob a restrição de explicar simultaneamente a variância dos espectros e das concentrações, o que provoca perda de ortogonalidade. Por isto, os fatores estimados num modelo PLS não são chamados CPs como na PCR, mas variáveis latentes (VLs), um termo mais geral. Como consequência e de maneira diferente do PCR, as VLs em um modelo PLS não são modeladas necessariamente em ordem decrescente da variância explicada (Sena & Almeida, 2018).

O método PLS é um método de regressão que fornece modelos que relacionam os blocos de variáveis X e Y. Deste modo, as informações das medidas espectrais e das concentrações ou propriedades são utilizadas simultaneamente na fase da calibração. É baseado no método PCA e utiliza as componentes principais para modelar os diferentes analitos e interferências nos dados de X. A regressão através do método PLS pode solucionar problemas de colinearidade com satisfatória habilidade de previsão. Por este motivo esta técnica é adequadamente aplicada em dados espectrais. As informações das variáveis são comprimidas e, como consequência, os modelos são mais fáceis de serem interpretados e os ruídos espectrais podem ser mantidos fora do modelo, na forma de resíduos (Muñiz et al., 2012).

A regressão PLS segue as etapas de calibração, a validação interna e a validação externa. Durante a calibração são utilizados os espectros de absorção das amostras do conjunto de calibração para a construção de um modelo matemático que melhor ajuste os dados espectrais aos valores de referência do parâmetro desejado. A validação interna avalia o erro de previsão de amostras que pertencem ao conjunto de calibração, também conhecida como validação cruzada. Finalmente, a validação externa avalia o

poder de previsão do modelo construído utilizando amostras externas ao conjunto ou que não participaram da etapa de calibração. Esse último conjunto de amostras é conhecido também como conjunto de validação. A etapa de validação é extremamente importante, pois os resultados dessa etapa indicarão se o modelo construído é adequado ou não para efetuar a determinação do parâmetro desejado em previsões futuras (Muñiz et al., 2012).

Para analisar a robustez dos modelos PLS desenvolvidos são avaliados os erros padrão na calibração (SEC), na validação cruzada (SECV) e na previsão (SEP). O SEC (*Standard Error of Calibration*), calculado a partir das amostras de calibração é uma medida do erro na modelagem. O erro padrão na validação cruzada SECV (*Standard Error of Cross Validation*) é obtido a partir das amostras da validação cruzada e o SEP (*Standard Error Prediction*), é o erro padrão calculado a partir das amostras do conjunto de previsão (Muñiz et al., 2012).

A robustez do método PLS é uma característica importante, já que permite que novas amostras sejam incluídas ou retiradas do modelo de calibração sem alteração significativa do mesmo. Isso é ideal para processos industriais onde é comum, devido a vários fatores, ocorrerem variações nas propriedades (Muñiz et al., 2012).

9. Metodologia

9.1. Amostras

Foram analisadas amostras pertencentes a quatro matrizes distintas: DDG de milho, glúten de milho, farinha de carne e alimentos compostos para ovinos e caprinos. A escolha destas matrizes baseou-se na sua relevância nutricional e tecnológica no setor da alimentação animal.

O DDG de milho foi incluído devido ao seu interesse crescente como ingrediente alternativo na formulação de alimentos compostos para animais, especialmente em resposta a limitações no mercado global de cereais. O glúten de milho destaca-se como fonte proteica vegetal amplamente utilizada na indústria. A farinha de carne, por sua vez, é uma matriz nutricionalmente densa, mas caracterizada por elevada variabilidade composicional, justificada pela sua origem mista. Por este motivo, considerou-se fundamental atualizar as calibrações previamente existentes, com a incorporação de novas amostras e dados espectrais, de modo a aumentar a robustez e a fiabilidade dos modelos de previsão. Os alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos foram incluídos pela sua importância prática na alimentação animal, permitindo a construção de modelos de previsão adaptados a diferentes perfis nutricionais.

9.2. Equipamento

A aquisição dos dados espectrais foi realizada com recurso ao equipamento NIRSTM DS3 da FOSS (figura 24), desenvolvido especificamente para a análise de alimentos compostos e matérias-primas destinadas à alimentação animal. Este equipamento opera por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e permite medições rápidas, fiáveis e não destrutivas.

O equipamento encontra-se instalado numa sala com ar condicionado, permitindo regular a temperatura ambiente sempre que necessário, de forma a evitar flutuações térmicas que possam interferir com a estabilidade do equipamento e a qualidade dos espectros adquiridos.

O DS3 combina desempenho analítico de elevada precisão com *softwares* e serviços de rede atualizados, fornecendo dados consistentes e robustos para o

desenvolvimento de modelos de previsão. A sua arquitetura foi concebida para suportar todo o ciclo de medição, desde a aquisição dos espectros até à calibração, validação e aplicação dos modelos, sendo particularmente indicado para ambientes de rotina laboratorial ou industrial.

Devido à sua elevada sensibilidade e capacidade de integração com os *softwares* WinISI e Foss Calibrator, o NIRS DS3 permitiu a recolha de espectros de qualidade para as diferentes matrizes analisadas, sendo essencial na construção de modelos de calibração robustos e representativos para a previsão de parâmetros nutricionais.



Figura 24 Equipamento NIRS™ DS3 FOSS utilizado para a aquisição dos espectros NIR das diferentes amostras analisadas.

9.3. Desenvolvimento dos modelos de Calibração

Para o desenvolvimento e validação dos modelos de previsão com base na espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), recorreu-se a dois *softwares especializados*: WinISI e o Foss Calibrator. Ambos permitem a construção e validação de equações de calibração por métodos multivariados, nomeadamente regressão por mínimos quadrados parciais modificados (mPLS).

Em ambos os programas utilizados, WinISI e Foss Calibrator, a regressão PLS é implementada na sua versão modificada (mPLS), a qual incorpora algoritmos otimizados para lidar com o ruído espectral e interferentes, resultando em modelos mais robustos e precisos.

O *software* WinISI foi a ferramenta principal utilizada ao longo deste estudo, tendo permitido efetuar tratamentos espectrais detalhados, como a aplicação de derivadas (exemplo: 1-4-4-1 e 1-16-16-1, onde os dígitos representam, respetivamente, número da derivada, intervalo da derivação, número de pontos para suavização e ordem da suavização), correções de dispersão e análise dos espectros (média, desvio padrão, análise de *outliers*).

A avaliação do desempenho dos modelos de calibração foi efetuada com base em estatísticas de precisão e exatidão, nomeadamente: média, máximos e mínimos, desvio padrão (SD), erro padrão de calibração (SEC), coeficiente de determinação da calibração (R^2), erro padrão da validação cruzada (SECV), coeficiente de determinação da validação cruzada (1-VR) e a relação de desempenho do desvio de erro (RPD).

Os tratamentos aplicados tiveram como objetivo corrigir a dispersão, eliminando os efeitos aditivos e multiplicativos da linha de base, reduzindo as interferências de características físicas, como o tamanho das partículas e o comprimento do caminho das amostras para os espectros. No que respeita à derivatização, adotou-se uma nomenclatura com quatro dígitos (por exemplo: 1-4-4-1), onde o primeiro dígito representa o número da derivada, o segundo dígito refere-se ao intervalo no qual a derivada é calculada (gap), o terceiro dígito indica o número de pontos de dados numa média de execução ou suavização, e o quarto dígito representa a segunda suavização.

Por sua vez, o Foss Calibrator foi utilizado numa fase posterior, com o objetivo de importar os modelos desenvolvidos no WinISI e verificar o seu comportamento em ambiente de validação, simulando uma possível aplicação prática em contexto de rotina laboratorial. O *software* mostrou-se particularmente útil na visualização gráfica dos resultados de previsão, com gráficos intuitivos que incluem os valores medidos *versus* previstos, distribuição dos resíduos e valores de H Global.

A aplicação conjunta dos *softwares* WinISI e Foss Calibrator constituiu uma mais-valia, não só para o desenvolvimento técnico das equações de calibração, como

também para a sua validação funcional, reforçando a robustez e a fiabilidade dos modelos obtidos.

10. Análise e Discussão dos Resultados

10.1. Interpretação dos Espectros e Tratamento Matemático com o programa software WinISI

Neste ponto é descrito o processo de pré-tratamento espectral e análise exploratória realizado com recurso ao *software* WinISI, no âmbito do desenvolvimento de modelos de previsão por Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR). Esta etapa foi aplicada às diferentes matrizes estudadas: alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos e matérias-primas como DDG de milho, glúten de milho e farinha de carne.

Os espectros obtidos para cada uma destas matérias-primas e alimentos compostos foram submetidos a tratamentos matemáticos específicos, com o objetivo de otimizar os modelos de previsão e reforçar a robustez estatística das equações desenvolvidas. A análise espectral permitiu caracterizar o comportamento das diferentes matrizes alimentares e identificar regiões espectrais com maior relevância para a calibração, independentemente da origem e variabilidade das amostras.

Deve-se salientar que a validação dos resultados obtidos por comparação com dados previamente reportados na literatura não foi possível, atendendo à natureza específica das matrizes em estudo e à escassez de referências bibliográficas disponíveis para este tipo de material.

10.2. Introdução dos dados analíticos laboratoriais no *software*

O primeiro passo consiste na introdução dos valores laboratoriais (parâmetros de referência) no *software* WinISI. Estes dados incluem humidade, proteína bruta, gordura, cinza, cálcio, fósforo e cloretos. São fundamentais para o desenvolvimento das equações de calibração, permitindo relacionar os espectros NIR com a composição química das amostras.

As tabelas que correspondem a cada matriz indicam os valores estatísticos relevantes (mínimos, máximos, médias e desvios-padrão) para cada constituinte, permitindo caracterizar a variabilidade intrínseca de cada conjunto de amostras. Estes dados são essenciais para garantir uma calibração robusta e representativa.

10.2.1. Ovinos e Caprinos

Na tabela 2 são apresentados os valores estatísticos (mínimo, máximo, média e desvio-padrão) e o número total de amostras referentes aos principais constituintes nutricionais das amostras de alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos. Estes resultados foram obtidos com base na análise dos dados através do *software* WinISI, e refletem a variabilidade observada em 156 amostras analisadas.

Tabela 2 Valores estatísticos dos constituintes nutricionais das amostras de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos, obtidos a partir da análise no programa *software* WinISI.

Constituinte	Ovinos e Caprinos				
	Valores estatísticos				
	Mínimo (%)	Máximo (%)	Média (%)	Desvio-padrão (%)	Total de amostras
Humidade	7,00	13,70	9,68	1,18	156
Proteína	10,70	22,70	16,90	2,42	156
Fibra	2,30	21,50	9,79	3,87	156
Gordura	1,80	7,00	3,70	0,83	156
Cinza	5,10	13,20	8,12	1,48	156
Cálcio	0,52	3,41	1,48	0,47	156
Fósforo	0,25	0,68	0,45	0,07	156

10.2.2. DDG de Milho

A tabela 3 apresenta os valores estatísticos (mínimo, máximo, média e desvio-padrão) e o número total de amostras dos principais constituintes nutricionais analisados em amostras de DDG de milho. As análises foram realizadas através do *software* WinISI, permitindo caracterizar a variabilidade intrínseca desde subproduto com base num total de até 65 amostras.

Tabela 3 Valores estatísticos dos constituintes nutricionais das amostras de matérias-primas de DDG de Milho, obtidos a partir da análise no programa *software* WinISI.

Constituinte	DDG de milho				
	Valores estatísticos				
	Mínimo (%)	Máximo (%)	Média (%)	Desvio-padrão (%)	Total de amostras
Humidade	10,10	14,70	12,80	0,93	65
Proteína	24,60	30,90	27,00	1,48	65
Fibra	6,70	12,80	8,55	1,31	65
Gordura	8,00	14,70	11,80	1,77	64
Cinza	3,60	5,10	4,10	0,33	64
Amidos	1,80	6,17	2,95	0,88	60

10.2.3. Glúten de Milho

Na tabela 4 é possível visualizar os valores estatísticos (mínimo, máximo, média e desvio-padrão) e o número total de amostras dos constituintes nutricionais determinados em amostras de glúten de milho, uma matéria-prima com elevado teor proteico. Os dados foram obtidos por análise no *software* WinISI.

Tabela 4 Valores estatísticos dos constituintes nutricionais das amostras de matérias-primas de Glúten de Milho, obtidos a partir da análise no programa *software* WinISI.

Constituinte	Glúten de milho				
	Valores estatísticos				
	Mínimo (%)	Máximo (%)	Média (%)	Desvio-padrão (%)	Total de amostras
Humidade	7,40	13,70	10,20	1,16	52
Proteína	49,50	76,20	65,00	5,65	53
Fibra	0,80	3,80	1,84	0,99	10
Gordura	3,20	10,60	5,06	1,50	46
Cinza	0,70	5,00	1,53	1,00	51
Amidos	5,02	23,90	12,30	4,06	45

10.2.4. Farinha de Carne

A tabela 5 apresenta os valores estatísticos (mínimo, máximo, média e desvio-padrão) e o número total de amostras dos principais constituintes nutricionais em amostras de farinha de carne. Os dados obtidos pelo *software* WinISI permitem descrever a variabilidade composicional desta matriz de origem animal.

Tabela 5 Valores estatísticos dos constituintes nutricionais das amostras de matérias-primas de Farinha de Carne, obtidos a partir da análise no programa *software* WinISI.

Constituinte	Farinha de Carne				
	Valores estatísticos				
	Mínimo (%)	Máximo (%)	Média (%)	Desvio-padrão (%)	Total de amostras
Humidade	0,80	4,50	2,07	2,11	3
Proteína	49,90	63,40	55,50	3,45	31
Gordura	5,40	27,40	15,50	3,40	52
Cinza	19,30	39,20	31,70	2,94	108
Cálcio	7,50	10,20	9,17	1,00	9
Fósforo	2,36	6,90	4,75	1,20	19
Cloretos	0,650	1,24	0,950	0,271	5

10.3. Visualização dos espectros sem tratamento matemático

Os espectros NIR apresentados neste ponto correspondem aos espectros tal-qual obtidos para as diferentes matrizes analisadas, nomeadamente alimentos compostos para ovinos e caprinos e matérias-primas como DDG de milho, glúten de milho e farinha de carne. Estes espectros foram obtidos com recurso ao *software* WinISI e não sofreram qualquer tipo de pré-tratamento matemático. Como tal, contêm simultaneamente informações relevantes e irrelevantes, o que pode dificultar a sua interpretação direta.

Ainda assim, permitem uma avaliação preliminar da consistência dos dados adquiridos e a identificação de eventuais desvios ou anomalias. A aplicação de técnicas de pré-processamento é essencial numa fase posterior, de forma a melhorar a qualidade dos sinais espectrais, reduzir interferências e possibilitar o desenvolvimento de modelos de calibração mais robustos e precisos.

10.3.1. Ovinos e Caprinos

A figura 25 apresenta os espectros tal-qual, sem aplicação de qualquer tratamento matemático.

As bandas próximas aos comprimentos de onda de 1450 nm e 1940 nm indicam a presença de compostos com ligações O-H e N-H, sugerindo que os dados espectrais podem ser bem correlacionados com parâmetros como umidade e proteína bruta.

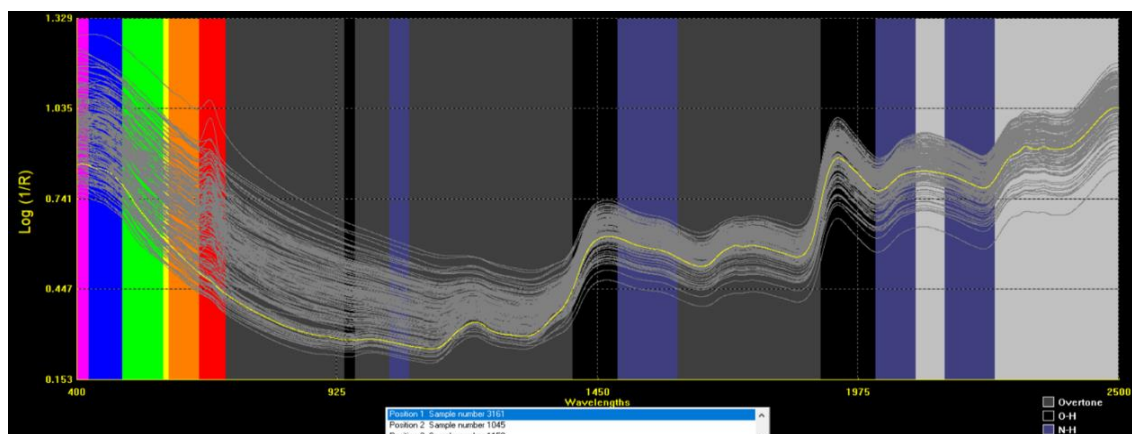


Figura 25 Espectros NIR sem tratamento matemático obtidos para amostras de alimentos compostos destinados a Ovinos e Caprinos no software WinISI.

10.3.2. DDG de Milho

A figura 26 mostra os espectros tal-qual para amostras de DDG de milho, antes de qualquer pré-processamento. As regiões nos comprimentos de onda de 925 nm, 1450 nm e 1975 nm, apresentam bandas de absorção evidentes, associadas à presença de água (O-H), proteína (N-H) e gordura (C-H), respectivamente.

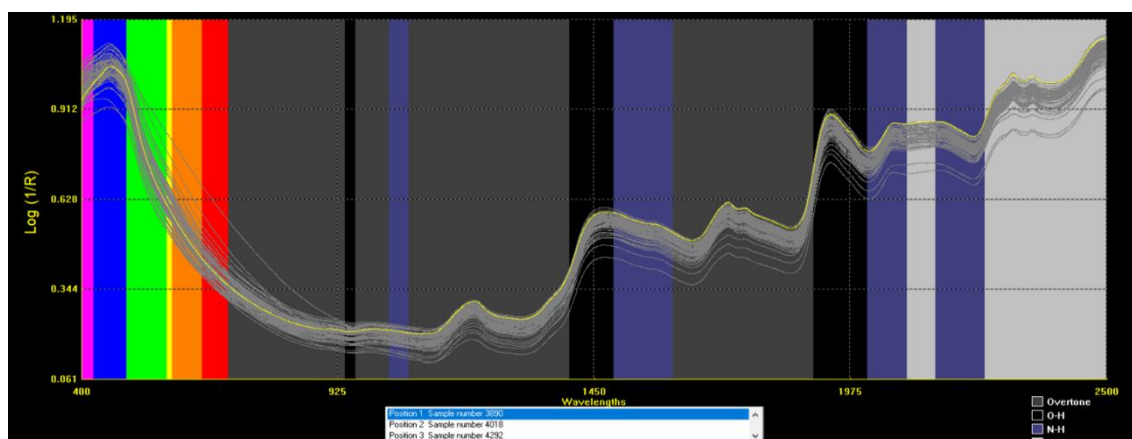


Figura 26 Espectros NIR sem tratamento matemático obtidos para amostras de matérias-primas de DDG de Milho no software WinISI.

10.3.3. Glúten de Milho

A figura 27 apresenta os espectros NIR obtidos com o *software* WinISI para amostras de glúten de milho, sem pré-processamento. É possível observar-se uma definição nas regiões de absorção características, nomeadamente em 1450 nm e 1940 nm, associadas à presença de água (O-H) e compostos nitrogenados (N-H).

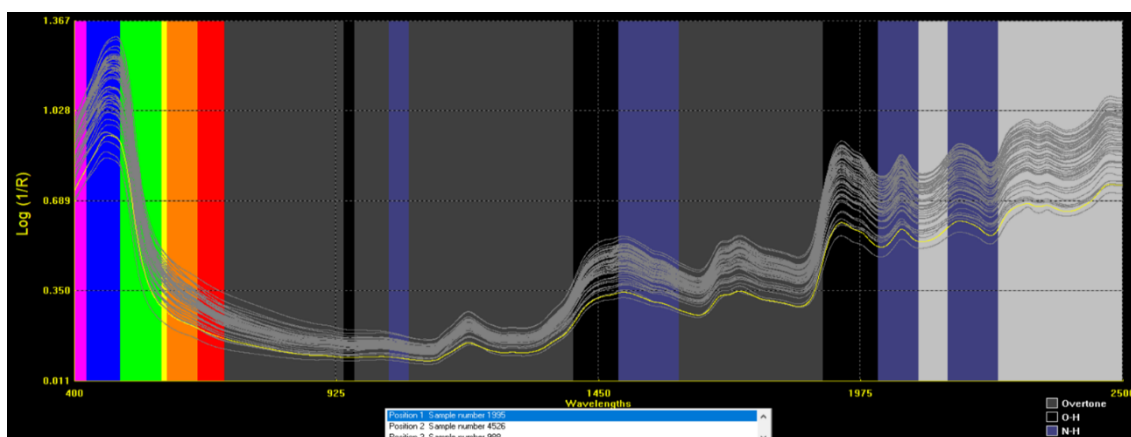


Figura 27 Espectros NIR sem tratamento matemático obtidos para amostras de matérias-primas de Glúten de Milho no software WinISI.

10.3.4. Farinha de Carne

A figura 28 apresenta os espectros NIR obtidos com o *software* WinISI para amostras de farinha de carne, antes de qualquer pré-processamento. Os espectros revelam variabilidade moderada, com destaque para regiões de absorção associadas à humidade e à matéria orgânica. A presença de bandas intensas na região dos 1450–1975 nm pode estar relacionada com a complexidade da matriz, exigindo tratamentos matemáticos robustos para a otimização dos modelos de calibração.

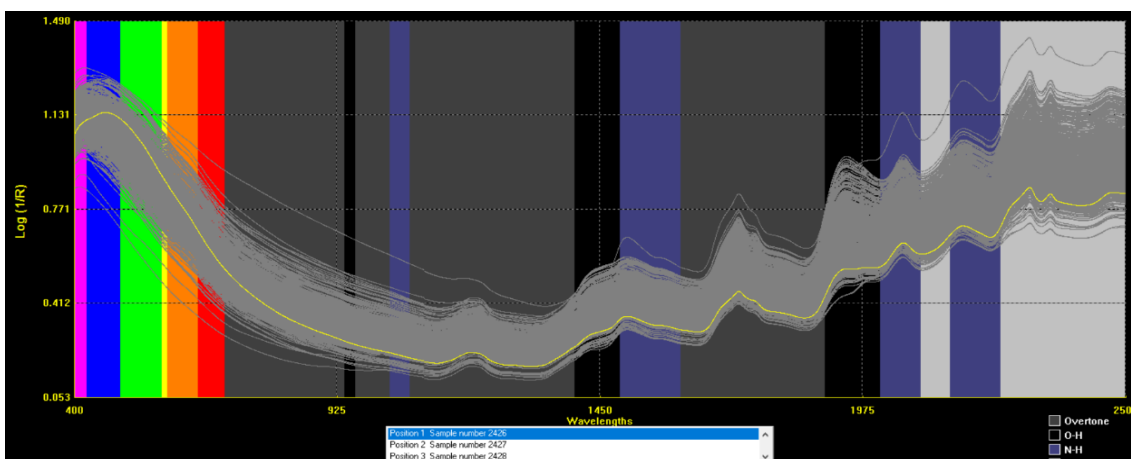


Figura 28 Espectros NIR sem tratamento matemático obtidos para amostras de matérias-primas de Farinha de Carne no software WinISI.

10.4. Espectro médio

O espectro médio (linha amarela) permite visualizar a tendência geral das amostras. A sobreposição dos espectros individuais (a cinzento) indica homogeneidade no conjunto de calibração, sendo um bom indicador de qualidade dos dados espectrais.

10.4.1. Ovinos e Caprinos

A figura 29 representa a média espectral para as amostras de alimentos compostos para ovinos e caprinos, reforçando a presença das bandas características, confirmando a estabilidade das amostras.

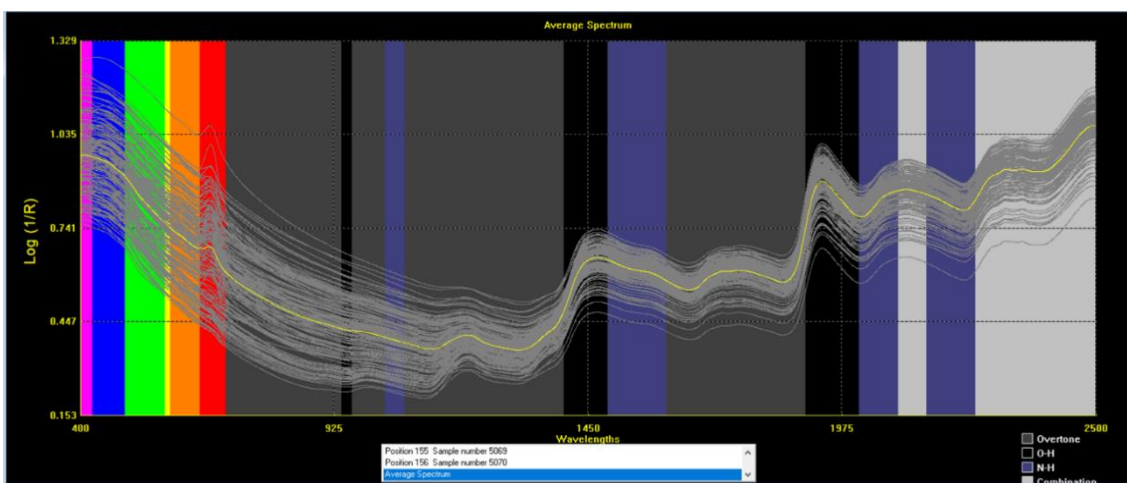


Figura 29 Representação do Espectro médio (linha amarela) das amostras de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos, sobreposto aos espectros individuais (a cinzento).

10.4.2. DDG de milho

A figura 30 representa os espectros médios para as amostras de DDG de milho, mostrando uma boa consistência espectral entre as amostras, o que é evidenciado pelas linhas sobrepostas ao longo de toda a gama espectral. Observa-se uma absorção característica nas regiões próximas de 1450 nm e 1975 nm, associadas a vibrações de ligações O-H, típicas da presença de água (humidade), bem como regiões relacionadas a C-H e N-H, associadas à matéria orgânica como gordura e proteína. A estabilidade do espectro médio sugere um bom potencial para calibração, já que a sobreposição indica baixa variabilidade entre as amostras, favorecendo o desenvolvimento de modelos robustos.

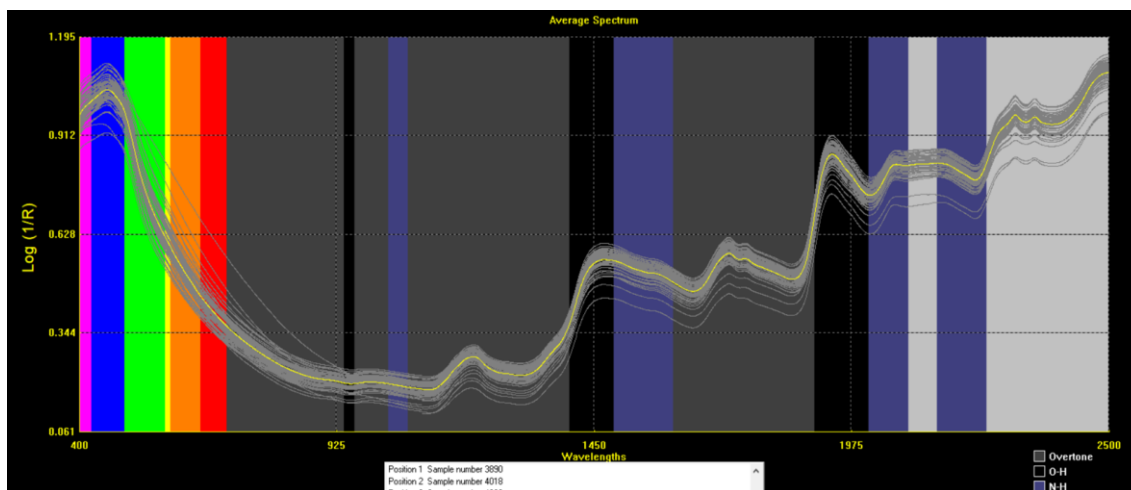


Figura 30 Representação do Espectro médio (linha amarela) das amostras de matérias-primas de DDG de Milho para Ovinos e Caprinos, sobreposto aos espectros individuais (a cinzento).

10.4.3. Glúten de milho

A figura 31 mostra os espectros médios das amostras de glúten de milho, evidenciando uma boa uniformidade espectral entre as amostras, o que é possível observar pelas linhas espectrais sobrepostas ao longo de toda a gama. A estabilidade apresentada neste espectro médio sugere um elevado potencial de aplicação em modelos de calibração.

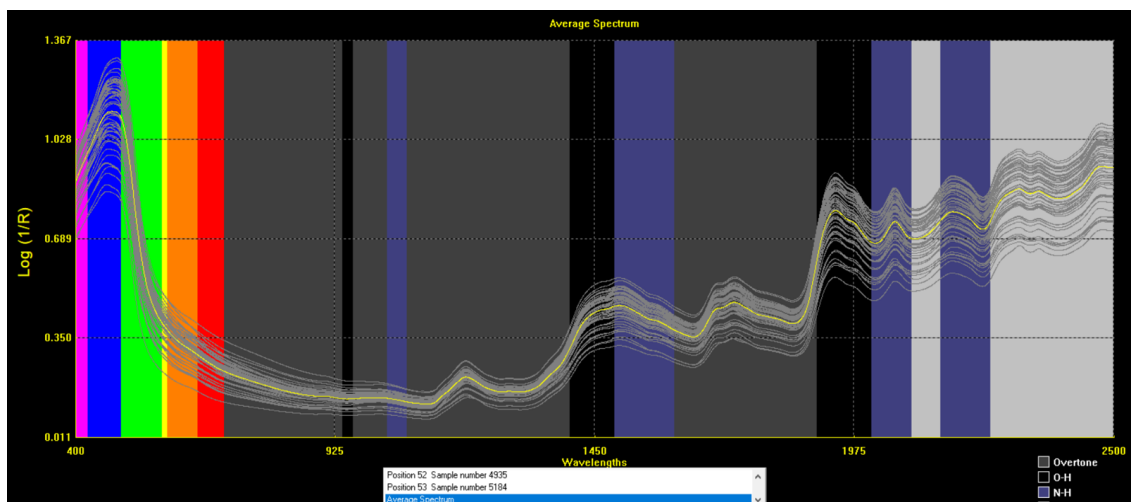


Figura 31 Representação do Espectro médio (linha amarela) das amostras de matérias-primas Glúten de Milho para Ovinos e Caprinos, sobreposto aos espectros individuais (a cinzento).

10.4.4. Farinha de Carne

Na figura 32 é possível observar os espectros médios da farinha de carne sobrepostos, o que indica uma consistência espectral entre as amostras. Também é possível observar alguns espectros fora desse conjunto de amostras sobrepostas, mas isso é normal, uma vez que a farinha de carne é uma matriz complexa e heterogênea.

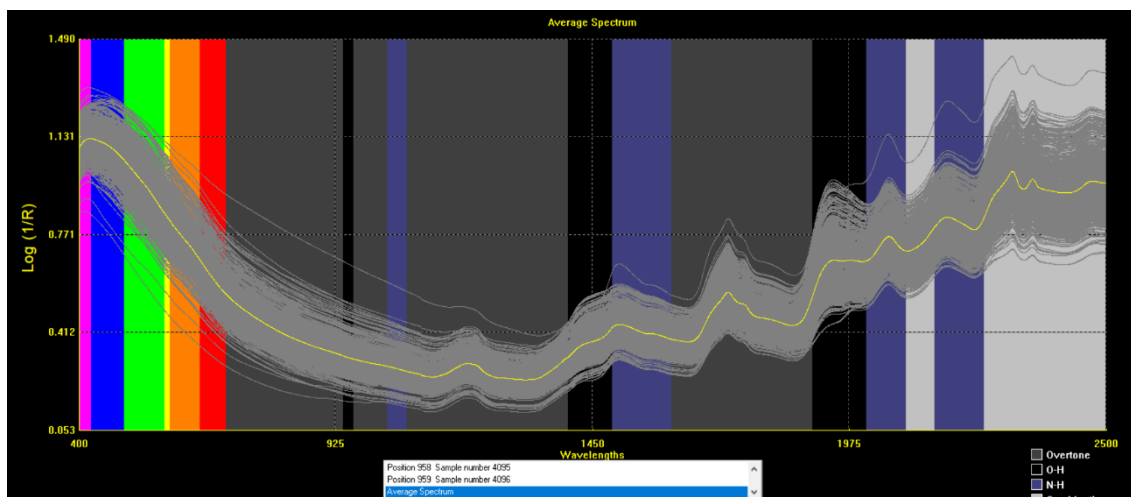


Figura 32 Representação do Espectro médio (linha amarela) das amostras de matérias-primas de Farinha de Carne para Ovinos e Caprinos, sobreposto aos espectros individuais (a cinzento).

10.5. Desvio padrão espectral

Os espectros do desvio padrão (linha amarela) permitem identificar quais regiões do espectro apresentam maior variabilidade entre amostras. Regiões com maior variabilidade indicam maior potencial informativo para a calibração.

10.5.1. Ovinos e Caprinos

Na figura 33 é possível observar a representação gráfica do desvio-padrão para amostras de alimentos compostos para ovinos e caprinos.

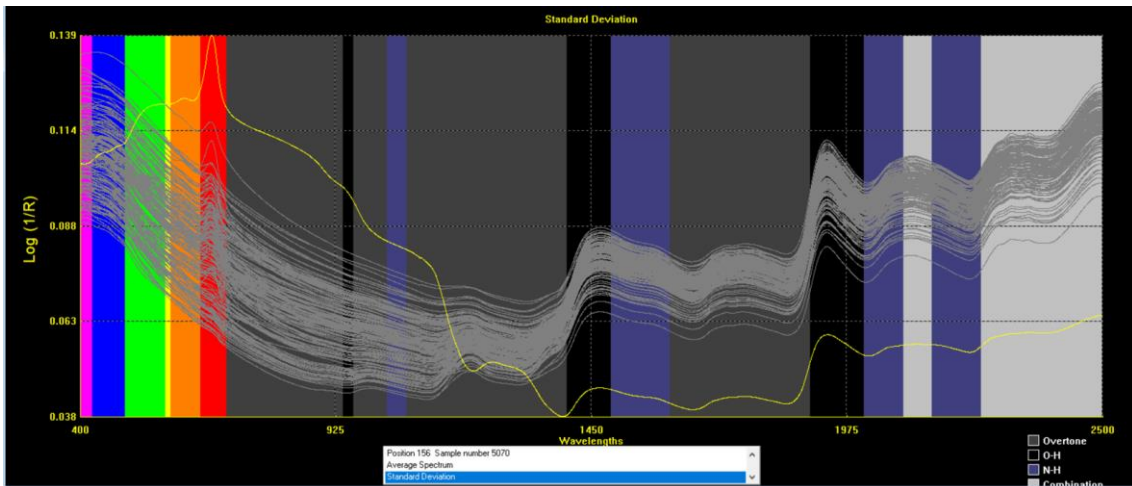


Figura 33 Representação do desvio-padrão dos espectros (linha amarela) das amostras de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos.

10.5.2. DDG de milho

A figura 34 representa o gráfico do desvio-padrão espectral (linha amarela), onde é possível identificar as regiões espectrais com maior variabilidade entre amostras.

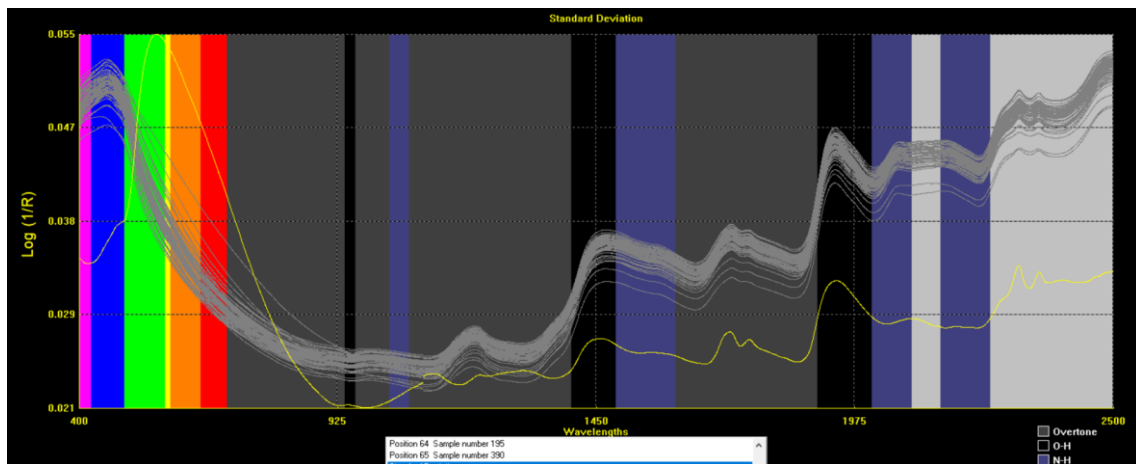


Figura 34 Representação do desvio-padrão (linha vermelha) dos espectros NIR das amostras da matéria-prima DDG de Milho.

10.5.3. Glúten de milho

Na figura 35 tem-se a representação dos espectros do desvio padrão para as amostras de matérias-primas de glúten de milho.

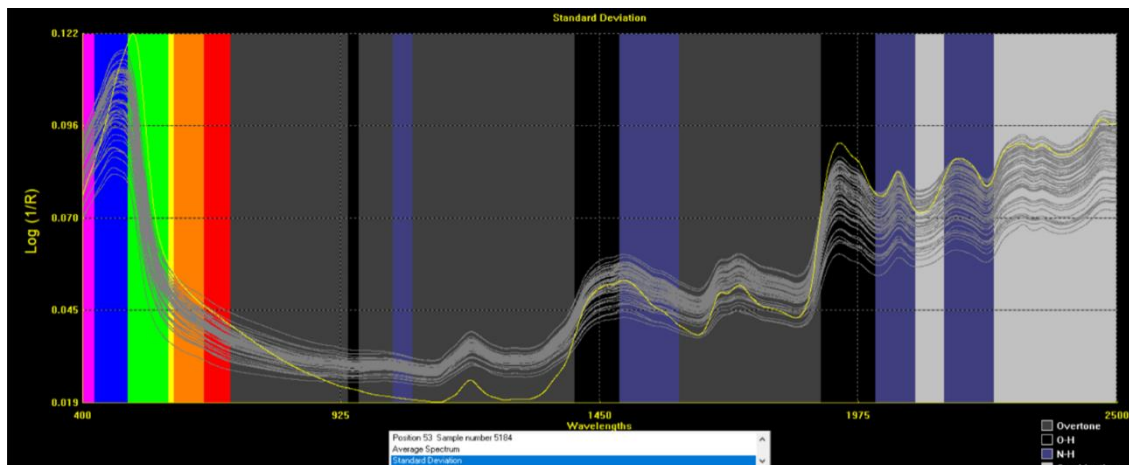


Figura 35 Representação do desvio-padrão (linha amarela) dos espectros NIR das amostras da matéria-prima Glúten de Milho.

10.5.4. Farinha de Carne

Na figura 36 observa-se a representação gráfica dos espectros do desvio padrão para as amostras de farinha de carne. Verifica-se uma variabilidade relativamente baixa em grande parte do intervalo espectral (linha amarela próxima da base), o que indica boa consistência entre as amostras.

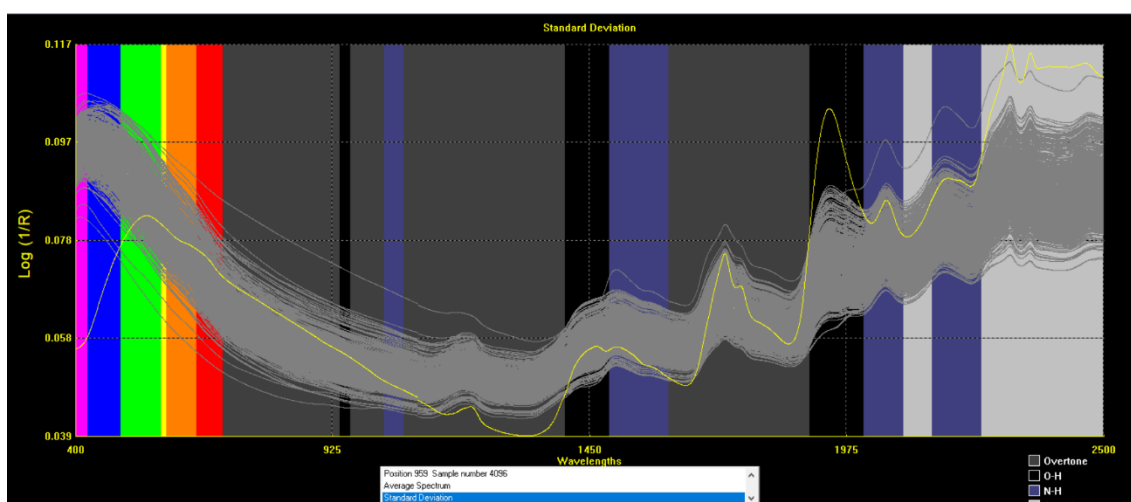


Figura 36 Representação do desvio padrão (linha amarela) dos espectros NIR das amostras da matéria-prima Farinha de Carne.

10.6. Indicadores estatísticos de desempenho dos modelos de previsão

A avaliação da qualidade e robustez dos modelos de calibração e previsão em espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) baseia-se em indicadores estatísticos, designadamente: o erro padrão de calibração (SEC), o erro padrão de validação cruzada (SECV), o coeficiente de determinação (R^2), a fração de variância não explicada ($1-VR$) e a relação do desempenho do modelo (RPD) que permitem interpretar o desempenho do modelo, tanto nos dados de calibração como de validação. Estes parâmetros são fundamentais para descrever a capacidade preditiva dos modelos desenvolvidos, permitindo identificar qual tratamento matemático aplicado aos dados espectrais (por exemplo: 1-4-4-1 e 1-16-16-1) oferece melhor desempenho analítico.

O Erro Padrão de Calibração (SEC – *Standard Error of Calibration*) representa a raiz quadrada da média dos quadrados dos resíduos entre os valores medidos e os valores previstos durante a calibração. É um indicativo da capacidade do modelo em ajustar-se aos dados usados na sua construção. Quanto menor o valor de SEC, maior a qualidade do ajuste (Williams & Norris, 2001; Risco, 2016).

O Erro Padrão de Validação Cruzada (SECV – *Standard Error of Cross Validation*) é obtido por meio da validação interna, frequentemente através da técnica *leave-one-out*, representa o desempenho de previsão do modelo quando aplicado a dados não utilizados na calibração, permitindo identificar situações de sobre ajuste (*overfitting*). De forma geral, uma pequena diferença entre SEC e SECV é desejável, pois indica que o modelo apresenta bom desempenho mesmo em dados externos (Risco, 2016).

Outro parâmetro relevante é o $1-VR$, em que VR (*"Variance Ratio"*) representa a fração da variância não explicada pelo modelo. Assim, $1-VR$ funciona de forma análoga ao R^2 e, portanto, quanto mais próximo de 1, maior é o poder explicativo do modelo (Ferreira, 2015; Williams & Norris, 2001).

O Coeficiente de Determinação (R^2) quantifica a proporção da variabilidade explicada pelo modelo. Valores próximos de 1 indicam uma forte correlação entre os valores previstos e os medidos.

O valor de RPD representa a relação entre o desvio padrão dos valores da propriedade medida pelo método convencional e o erro padrão das amostras contidas no conjunto de calibração ou previsão (Simeone et al., 2018; Tibola et al, 2018). Além disso, um valor de RPD entre 1,5 e 2 indica que o modelo apenas consegue diferenciar entre valores baixos e altos, enquanto um valor entre 2 e 2,5 significa que o modelo consegue realizar previsões de forma aproximada e entre 2,5 e 3 ou superior é indicativo de uma excelente previsão pelo modelo (Qu et al., 2015).

10.6.1. Ovinos e Caprinos

Na tabela 6 e 7 encontram-se os parâmetros estatísticos referentes aos tratamentos matemáticos (1-4-4-1) e (1-16-16-1), respectivamente, aplicados às amostras de alimentos compostos para ovinos e caprinos: erro padrão de calibração (SEC), coeficiente de determinação (RSQ), erro padrão de validação cruzada (SECV), coeficiente de determinação da validação cruzada (1-VR) e o valor residual de previsão (SD/SECV).

A tabela 6 apresenta os resultados do tratamento 1-4-4-1, evidenciando elevada qualidade estatística do modelo de calibração. Os valores de R^2 superiores a 0,90 e os RPD acima de 3 refletem uma forte correlação entre os dados de referência e os valores previstos pelo modelo NIR, o que demonstra elevada precisão do modelo de previsão.

Os baixos valores de erro de calibração (SEC) e de validação cruzada (SECV) reforçam a estabilidade e reprodutibilidade dos modelos desenvolvidos, tal como também observado por Alves (2023) em calibrações NIR aplicadas a alimentos compostos para ruminantes.

Tabela 6 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-4-4-1) aplicado às amostras de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N). *Fonte: Dados obtidos através do programa software WinISI.*

Tratamento Matemático (1-4-4-1) - Ovinos e Caprinos										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	9,70	1,12	6,36	13,00	0,29	0,93	0,34	0,91	3,29	150
Proteína	16,80	2,35	9,81	23,90	0,38	0,97	0,51	0,95	4,61	150
Fibra	9,62	3,67	2,30	20,60	1,67	0,92	1,18	0,90	3,11	148
Gordura	3,69	0,79	1,33	6,05	0,21	0,93	0,25	0,90	3,16	148
Cinza	8,02	1,27	4,20	11,80	0,74	0,66	0,84	0,56	4,54	151
Cálcio	1,43	0,36	0,34	2,52	0,26	0,48	0,28	0,40	1,29	149
Fósforo	0,44	0,06	0,26	0,62	0,03	0,74	0,04	0,60	1,5	149

A tabela 7 apresenta os parâmetros estatísticos do tratamento 1-16-16-1, que também revelou bons resultados de calibração, com valores de R² elevados e RPD adequados à previsão quantitativa. No entanto, observou-se uma ligeira redução nos indicadores de desempenho face ao modelo anterior (1-4-4-1), sugerindo maior suavização espectral e consequente redução da variabilidade explicativa.

Segundo Ferreira (2015), os pré-tratamentos espectrais mais intensos tendem a reduzir ruído e melhorar a estabilidade dos modelos, mas podem também diminuir ligeiramente a sensibilidade de previsão. Ainda assim, os valores obtidos demonstram bom ajustamento global e adequada capacidade de generalização, confirmando a viabilidade do modelo para controlo de qualidade industrial.

Comparando os dois tratamentos, verifica-se que o modelo (1-4-4-1) apresentou melhor desempenho global, com valores de R² e RPD ligeiramente superiores, indicando maior precisão e fiabilidade. O modelo (1-16-16-1), embora estatisticamente consistente, mostrou menor sensibilidade espectral, refletindo um compromisso entre suavização e desempenho de previsão.

De acordo com Ferreira (2015) e Pasquini (2003), a escolha do pré-tratamento ideal deve equilibrar a redução de ruído espectral e a preservação da variabilidade química relevante, garantindo a robustez e a estabilidade dos modelos. Nesse sentido, conclui-se que o tratamento (1-4-4-1) é o mais indicado para calibrações robustas e aplicações práticas na avaliação de alimentos compostos para ovinos e caprinos.

Tabela 7 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-16-16-1) aplicado às amostras de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N). *Fonte: Dados obtidos através do programa software WinISI.*

Tratamento Matemático (1-16-16-1) - Ovinos e Caprinos										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	9,67	1,10	6,38	12,96	0,30	0,92	0,38	0,88	2,89	151
Proteína	16,85	2,35	9,81	23,89	0,40	0,97	0,52	0,95	4,52	150
Fibra	9,62	3,67	2,30	20,63	1,07	0,92	1,17	0,90	3,14	148
Gordura	3,69	0,79	1,32	6,06	0,21	0,93	0,24	0,91	3,29	147
Cinza	8,02	1,27	4,20	11,84	0,75	0,65	0,84	0,56	1,51	151
Cálcio	1,41	0,34	0,39	2,44	0,26	0,41	0,29	0,28	1,17	149
Fósforo	0,44	0,06	0,26	0,62	0,03	0,68	0,04	0,59	1,50	149

10.6.2. DDG de milho

Os resultados da tabela 8 indicam que o tratamento (1-4-4-1) aplicado às amostras de DDG de milho originou modelos com desempenho satisfatório, apresentando valores de R² moderados e RPD entre 1,0 e 3,0. Estes valores sugere que as calibrações obtidas possuem capacidade de previsão limitada. Este comportamento é normal devido à heterogeneidade estrutural do subproduto e à presença de compostos com resposta espectral indireta no NIR. Ainda assim, a consistência dos coeficientes de determinação e dos erros padrão indica reprodutibilidade aceitável dos modelos, permitindo a sua utilização para monitorização geral da qualidade em processos industriais.

Tabela 8 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-4-4-1) aplicado às amostras de matéria-prima DDG de Milho. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N).

Tratamento Matemático (1-4-4-1) - DDG de Milho										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	12,85	0,87	10,23	15,47	0,51	0,65	0,55	0,59	1,58	61
Proteína	26,91	1,42	22,66	31,17	0,40	0,92	0,46	0,89	3,09	61
Fibra	8,35	1,00	5,34	11,37	0,91	0,18	1,00	-0,02	1,00	60
Gordura	11,87	1,71	6,75	17,00	0,81	0,77	0,91	0,71	1,88	62
Cinza	4,09	0,32	3,12	5,06	0,06	0,96	0,10	0,90	3,20	61
Amidos	2,76	0,54	1,14	4,38	0,48	0,22	0,50	0,11	1,08	56

O tratamento (1-16-16-1) apresentou tendência semelhante à observada no modelo 1-4-4-1, mantendo valores de R^2 e RPD muito próximos (tabela 9). A aplicação de um alisamento espectral mais intenso não resultou em melhoria substancial dos indicadores estatísticos, o que sugere que a informação relevante do espectro já se encontrava suficientemente tratada no modelo 1-4-4-1. Níveis elevados de derivação e suavização podem reduzir a variabilidade química útil, conduzindo a modelos mais estáveis, mas ligeiramente menos sensíveis (Sena & Almeida, 2018).

Tabela 9 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-16-16-1) aplicado às amostras de matéria-prima DDG de Milho. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N). *Fonte: Dados obtidos através do programa software WinISI.*

Tratamento Matemático (1-16-16-1) - DDG de Milho										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	12,85	0,87	10,23	15,47	0,51	0,65	0,55	0,59	1,58	61
Proteína	26,91	1,42	22,66	31,17	0,42	0,91	0,47	0,89	3,02	61
Fibra	8,35	1,00	5,34	11,37	0,91	0,18	1,00	-0,018	1,00	60
Gordura	11,87	1,71	6,75	17,00	0,81	0,77	0,91	0,71	1,88	62
Cinza	4,09	0,32	3,12	5,06	0,08	0,93	0,10	0,89	3,20	61
Amidos	2,76	0,54	1,14	4,38	0,48	0,22	0,51	0,11	1,06	56

10.6.3. Glúten de milho

Conforme observado na tabela 10, o tratamento (1-4-4-1) apresentou excelente desempenho estatístico, com valores de R^2 entre 0,91 e 0,99 e RPD acima de 3, demonstrando forte correlação entre os valores medidos e previstos. Estes indicadores confirmam a eficácia da técnica NIR para este tipo de matriz, caracterizada por elevada homogeneidade química e teor proteico elevado.

Tabela 10 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-4-4-1) aplicado às amostras de matéria-prima Glúten de Milho. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N). *Fonte: Dados obtidos através do programa software WinISI.*

Tratamento Matemático (1-4-4-1) - Glúten de Milho										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	10,10	1,11	6,81	13,50	0,32	0,91	0,37	0,88	3,00	50
Proteína	65,00	5,75	47,70	82,20	0,74	0,98	0,86	0,98	6,69	49
Gordura	5,07	1,52	0,51	9,63	0,17	0,99	0,22	0,98	6,91	45
Cinza	1,39	0,76	0,70	3,66	0,11	0,98	0,18	0,95	4,22	46
Amidos	11,90	3,64	1,02	22,80	0,71	0,96	0,87	0,94	4,18	43

10.6.4. Farinha de carne

A farinha de carne caracteriza-se por ser uma matriz altamente heterogênea, resultante da mistura de diferentes frações de tecidos animais, com variações significativas nos teores de proteína, gordura e minerais. Essa complexidade físico-química tende a dificultar a obtenção de calibrações espectrais consistentes, devido à interação desigual da radiação NIR com componentes orgânicos e inorgânicos.

De acordo, com Ferreira (2015) e Pasquini (2003), amostras com composição complexa e heterogênea tendem a apresentar maior dispersão espectral, o que requer a utilização de pré-tratamentos adequados para minimizar variações físicas sem comprometer a variabilidade química.

Apesar dessa variabilidade intrínseca, o tratamento (1-4-4-1) produziu modelos de calibração com desempenho sólido, apresentando valores de R^2 entre 0,89 e 0,97 e RPD até 3,9, o que indica boa correlação entre os valores de referência e os previstos e uma capacidade de previsão adequada para este tipo de matriz complexa. Os baixos valores de SEC e SECV demonstram ainda boa precisão e estabilidade, revelando que o pré-tratamento aplicado foi eficaz na redução de ruído e realce das informações químicas relevantes.

Simeone et al. (2018) referem que valores de R^2 acima de 0,90 e RPD entre 2,5 e 4 são aceitáveis para calibrações de rotina em produtos de origem animal, validando o desempenho obtido para a farinha de carne.

Assim, o tratamento (1-4-4-1) mostrou-se adequado à natureza complexa da matriz, permitindo a construção de modelos estatisticamente consistentes, robustos e com boa capacidade de generalização, confirmando o potencial da espectroscopia NIR como ferramenta eficiente e sustentável no controlo de qualidade de subprodutos de origem animal.

Tabela 11 Parâmetros estatísticos do tratamento matemático (1-4-4-1) aplicado às amostras de matéria-prima Farinha de Carne. Apresentam-se os valores médios, desvios-padrão, valores mínimo e máximo, e os indicadores de desempenho dos modelos de calibração e validação (SEC, RSQ, SECV, 1-VR, RPD e N). *Fonte: Dados obtidos através do programa software WinISI.*

Tratamento Matemático (1-4-4-1) - Farinha de Carne										
Constituintes	Valores Estatísticos									
	Média (%)	SD (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	SEC	RSQ	SECV	1-VR	RPD (SD/SECV)	N
Humidade	3,55	1,69	0,66	8,61	0,38	0,95	0,60	0,87	2,82	46
Proteína	57,52	6,34	38,50	76,53	1,62	0,93	1,87	0,91	3,39	245
Gordura	13,05	2,75	4,80	21,30	0,44	0,97	0,50	0,97	5,5	321
Cinza	29,01	5,79	11,64	46,38	1,17	0,96	1,47	0,94	3,94	317
Cálcio	7,85	2,22	11,92	14,52	0,74	0,89	0,90	0,83	2,47	113
Fósforo	4,13	1,04	1,01	7,26	0,35	0,89	0,41	0,84	2,54	115
Cloretos	1,45	0,42	0,18	2,72	0,27	0,59	0,34	0,34	1,24	67

Embora não tenham sido encontrados trabalhos recentes na literatura que apresentem valores diretamente comparáveis aos obtidos neste estudo, verifica-se que os resultados médios observados estão bastante próximos dos valores descritos por

McDonald et al. (2010). Este autor reporta dados médios de composição para o glúten de milho, DDG, farinha de carne e alimentos compostos para ovinos e caprinos, que, apesar de representarem valores de referência gerais, mostram boa concordância com os resultados experimentais obtidos.

Considerando que o livro de McDonald et al. (2010) é uma obra de referência consolidada, mas publicada há mais de uma década, é plausível supor que, devido a avanços tecnológicos nos processos industriais de obtenção e padronização das matérias-primas, os valores atuais possam apresentar ainda maior proximidade com os resultados determinados neste trabalho. Assim, as diferenças observadas podem ser atribuídas tanto à variabilidade natural das amostras como a possíveis melhorias nos métodos de processamento e secagem.

10.7. Espectros com tratamento matemático (1-4-4-1)

A aplicação do tratamento (1-4-4-1) evidencia as bandas espectrais mais relevantes, permitindo realçar pequenas diferenças entre amostras. Este tratamento matemático melhora a correlação entre os dados espectrais e os parâmetros analíticos, favorecendo o desempenho dos modelos mPLS.

10.7.1. Ovinos e Caprinos

Após a aplicação do tratamento matemático 1-4-4-1, é possível observar na figura 37 uma maior resolução espectral, com bandas mais bem definidas. A clarificação das bandas espectrais melhora a seletividade e a sensibilidade dos modelos de calibração.

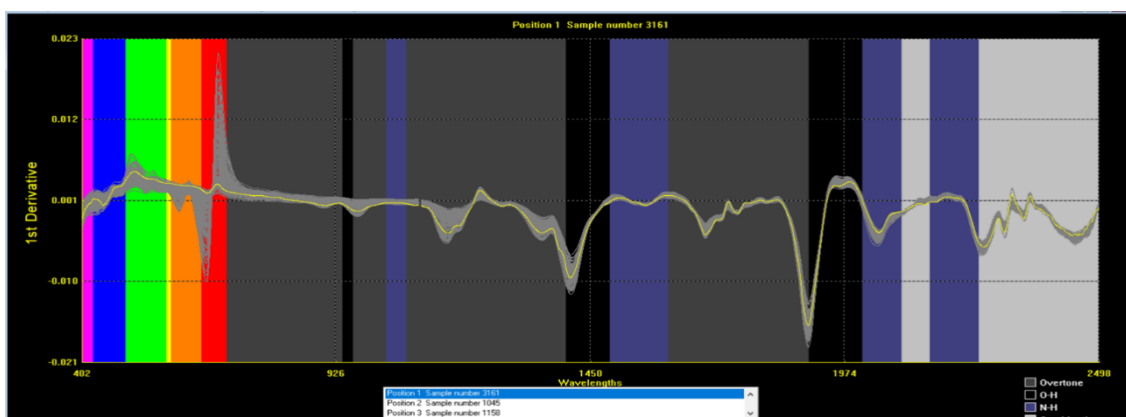


Figura 37 Espectros NIR de alimentos compostos para Ovinos e Caprinos após aplicação do tratamento matemático (1-4-4-1).

10.7.2. DDG de milho

Na figura 38 é possível observar-se, após a aplicação do tratamento matemático 1-4-4-1, maior definição das bandas espectrais, destacando os picos em regiões como 1450 nm (ligada à humidade) e 1974 nm (vibrações combinadas de grupos N-H e C-H, típicos de proteína e gordura). Este tratamento matemático melhora a separação entre sinais espectrais, aumentando a seletividade dos modelos e beneficiando os constituintes com absorções específicas.

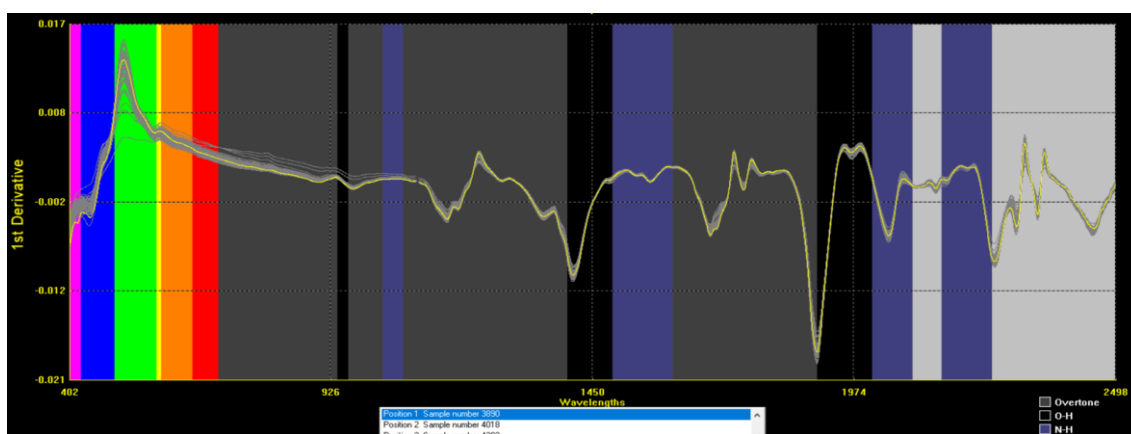


Figura 38 Espectros NIR de matérias-primas DDG de milho após aplicação do tratamento matemático (1-4-4-1).

10.7.3. Glúten de milho

Após a aplicação do tratamento matemático 1-4-4-1 para amostras de glúten de milho, é possível observar na figura 39, maior nitidez e definição das bandas espectrais, facilitando a identificação de picos significativos, sobretudo nas regiões de 1450 nm e 1974 nm. Estes picos estão relacionados com absorções de grupos funcionais como O-H, C-H e N-H, estando associados a constituintes como humidade, proteína e gordura. Este tratamento matemático com primeira derivada e suavização reduz o ruído instrumental e melhora a resolução espectral, o que contribui significativamente para a seletividade dos modelos de previsão.

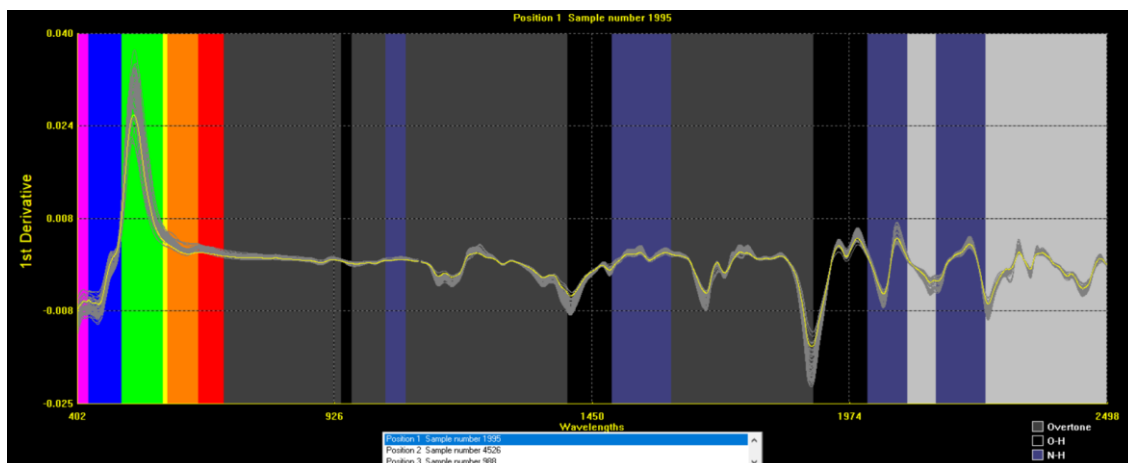


Figura 39 Espectros NIR de matérias-primas glúten de milho após aplicação do tratamento matemático (1-4-4-1).

10.7.4. Farinha de Carne

A figura 40 representa os espectros NIR das amostras de farinha de carne após a aplicação do tratamento matemático 1-4-4-1, sendo possível observar-se uma definição mais clara das bandas espectrais e com picos acentuados. A intensidade e nitidez dos picos, após o tratamento matemático, sugerem que este tratamento permite uma melhor diferenciação entre os constituintes presentes nas amostras, tais como umidade, proteína bruta, gordura, cinza, cálcio, fósforo e cloretos. A melhoria da resolução espectral contribui para a eficácia da calibração dos modelos, especialmente para constituintes com bandas de absorção mais subtis ou com presença menos dominante. Este tipo de pré-processamento facilita ainda a remoção de ruído de base e aumenta a seletividade do modelo ao reduzir efeitos instrumentais, sendo especialmente vantajoso em matrizes complexas como a farinha de carne.

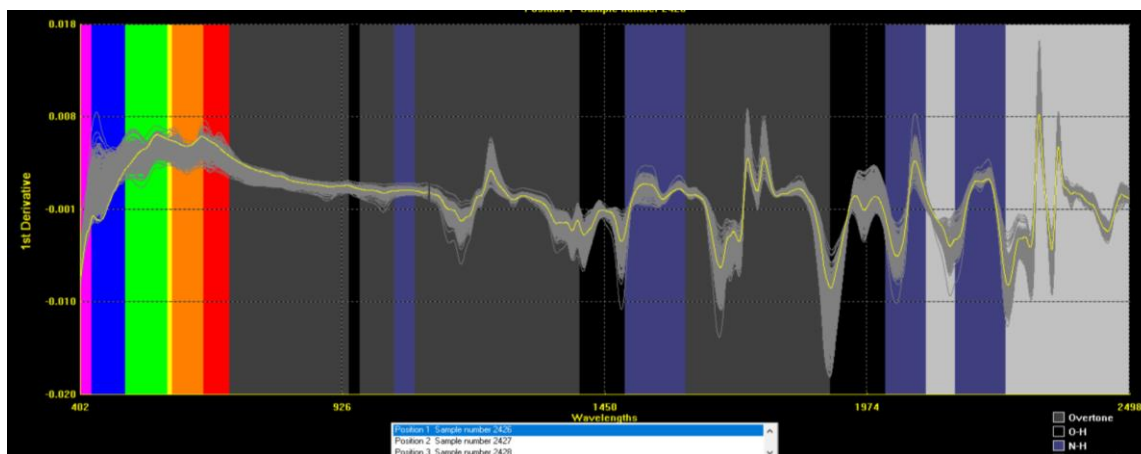


Figura 40 Espectros NIR de matérias-primas Farinha de Carne após aplicação do tratamento matemático (1-4-4-1).

10.8. Avaliação gráfica e estatística dos modelos no *software Foss Calibrator*

A avaliação dos modelos de calibração no software Foss Calibrator fundamenta-se em diversos indicadores estatísticos e gráficos que, em conjunto, permitem interpretar o desempenho de previsão e a robustez dos modelos desenvolvidos a partir de espectros no infravermelho próximo (NIR). Neste contexto, os principais parâmetros considerados são os seguintes:

RMSEP (*Root Mean Square Error of Prediction*): Corresponde à raiz quadrada da média dos quadrados dos erros entre os valores previstos pelo modelo e os valores reais medidos numa validação externa. Reflete o erro médio de previsão e é uma medida crítica da exatidão da previsão do modelo. Valores mais baixos de *RMSEP* indicam maior precisão na previsão de novas amostras (MontGomery et al., 2012).

Inclinação e Interceção (*Slope/Intercept*): Estes parâmetros são derivados da regressão linear entre os valores medidos e os previstos. A inclinação ideal aproxima-se de 1, indicando que os valores previstos aumentam na mesma proporção dos valores medidos. A interceção próxima de 0 reflete ausência de tendência sistemática no modelo. Desvios significativos destes valores podem indicar necessidade de ajustamento do modelo (MontGomery et al., 2012).

Viés (Bias): Representa a diferença média entre os valores medidos e previstos. Um viés próximo de zero é desejável, pois indica que o modelo não tende a sobrestimar nem a subestimar sistematicamente os resultados. Valores de bias elevados podem sugerir problemas de representatividade nas amostras de calibração (MontGomery et al., 2012).

Coefficiente de Determinação (R^2): Quantifica a proporção da variabilidade dos dados de referência explicada pelo modelo de calibração. Valores de R^2 superiores a 0,90 são geralmente considerados indicativos de um modelo com forte capacidade explicativa e preditiva (Mejía Risco, 2016).

Gráfico “Medido vs. Previsto”: Este gráfico apresenta a relação entre os valores de referência (eixo Y) e os valores previstos pelo modelo (eixo X). A boa performance do modelo é indicada por pontos alinhados ao longo da linha de identidade (45°). Dispersões acentuadas ou padrões não-lineares indicam menor correlação e desempenho insatisfatório (MontGomery et al., 2012; Castro Ferreira, 2015).

Gráfico de Resíduos: Representa a distribuição dos erros individuais (diferença entre valor medido e previsto). Uma distribuição centrada em torno de zero, com baixa dispersão, sugere bom ajuste do modelo. Assimetrias ou caudas longas podem apontar para presença de *outliers* ou necessidade de correções nos dados espectrais ou no modelo (MontGomery et al., 2012).

Gráfico H Global: Este gráfico baseia-se no cálculo da distância de *Mahalanobis*, que quantifica o quão distante uma amostra está do centro multivariado do conjunto de calibração (Castro Ferreira, 2015). É utilizado para detetar amostras atípicas com elevada influência no modelo. Amostras com valores de H superiores a 3 são consideradas *outliers* e, segundo Shenk & Westerhaus (1991), devem ser analisadas criticamente ou excluídas do conjunto de calibração. A sua análise é essencial para garantir a representatividade e robustez do modelo (Salette Tibola et al., 2018).

10.8.1. Ovinos e Caprinos

Proteína Bruta

Na figura 41 é possível observar o gráfico de dispersão “Medido versus Previsto” no ponto (A), no ponto (B) tem-se o gráfico de resíduos e no ponto (C) tem-se o gráfico H.

Na figura 41 (A) “Medido versus Previsto” é possível observar os pontos alinhados à linha ideal. A distribuição dos resíduos (B) apresenta uma distribuição simétrica centrada em torno do zero, e o gráfico “H Global” (C) indica ausência de *outliers* influentes, o que reforça a alta fiabilidade do modelo desenvolvido.

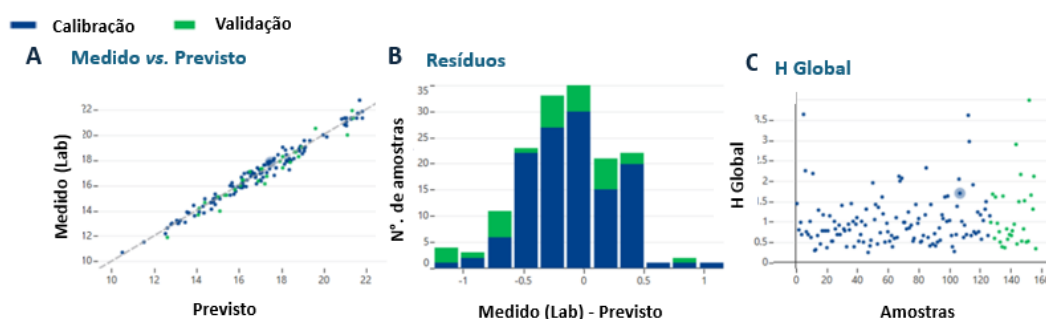


Figura 41 Avaliação do modelo de calibração da proteína bruta para ovinos e caprinos com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Representação do gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Analisando a tabela 12, o modelo de previsão para a proteína bruta revela excelente desempenho com coeficientes de determinação global (R^2) de 0,97 para o conjunto total de amostras, 0,98 na calibração e 0,95 na validação, indicando forte correlação entre os valores previstos e os valores laboratoriais. O *slope* é igual a 1,00, e o bias apresenta valores próximos de zero na calibração (0,000) e ligeiramente negativo na validação (-0,144), o que confirma a precisão do modelo, com mínima tendência de subestimação.

Estes resultados demonstram que o modelo apresenta boa precisão e robustez, sendo aplicável na análise de proteína bruta em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos. A presença de grupos N-H e C-H, que interagem fortemente com a radiação NIR, justifica o bom desempenho obtido.

Tabela 12 Resultados estatísticos de calibração para a Proteína bruta em alimentos compostos destinados a Ovinos e Caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, *RMSEP*, inclinação/ intercepção, *bias* e *coeficiente de determinação* (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	156	0,402	1,00/ -0,08	-0,020	0,97
Calibração (Proteína)	126	0,369	1,00/ 0,00	0,000	0,98
Validação (Proteína)	30	0,520	1,03/ -0,57	-0,144	0,95

Humidade

Na figura 42, o gráfico “Medido versus Previsto” (A) é possível observar os pontos alinhados à linha ideal, no ponto (B) é possível observar a distribuição dos resíduos que é centrada e homogênea, refletindo consistência nas previsões ao longo da gama de valores. No gráfico “H Global” (C), a maioria das amostras apresenta valores inferiores a 3, o que confirma a representatividade das amostras no conjunto de calibração e a ausência de *outliers* significativos.

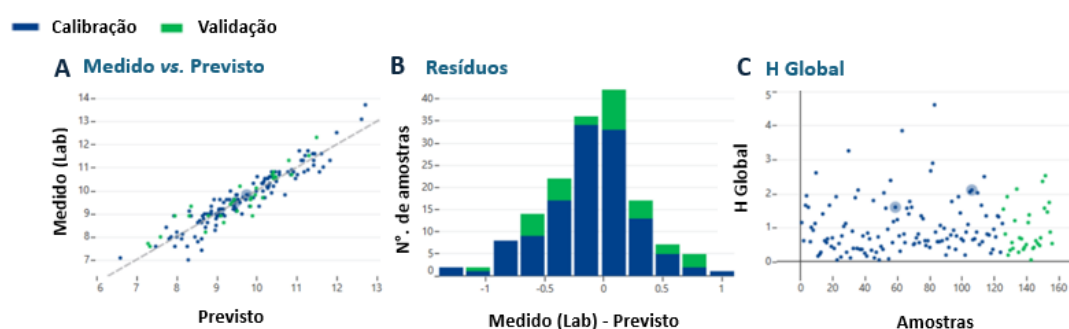


Figura 42 Avaliação do modelo de calibração da humidade para ovinos e caprinos com o software Foss Calibrator. (A) Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; (B) Distribuição dos resíduos; (C) Gráfico “H Global”.

Na tabela 13 tem-se os resultados estatísticos para a humidade em alimentos compostos para ovinos e caprinos.

O modelo de previsão para a humidade apresenta um bom desempenho, com coeficientes de determinação (R^2) de 0,89 na calibração e 0,83 na validação, indicando correlação adequada entre os valores previstos e os obtidos por métodos de referência.

A inclinação da reta de regressão (*slope*) é de 1,00 no conjunto de calibração e de 0,92 na validação, o que evidencia uma boa concordância entre valores medidos e previstos, embora com ligeira tendência à subestimação nos dados de validação. O valor de *bias* é reduzido (0,018), sugerindo ausência de erros sistemáticos relevantes.

Tabela 13 Resultados estatísticos de calibração para a humidade em alimentos compostos destinados a Ovinos e Caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	156	0,411	0,98/ 0,17	0,018	0,88
Calibração (Humidade)	125	0,397	1,00/ 0,00	0,000	0,89
Validação (Humidade)	31	0,463	0,92/ 0,81	0,092	0,83

Gordura Bruta

O modelo de previsão para gordura bruta apresenta desempenho consistente, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,86 tanto na calibração como na validação, evidencia boa correlação entre os valores previstos e os de referência. Na figura 43 (A), está representado o gráfico de dispersão entre os valores medidos e os previstos, onde se observa uma distribuição próxima da linha ideal ($y=x$).

A inclinação da reta de regressão (*slope*) é de 1,00 na calibração e 0,93 na validação, o que indica que as previsões estão próximas da ideal (linha $y = x$), mas com uma tendência ligeira para subestimar os valores reais nas amostras de validação. Esta subestimação resulta do facto de o modelo não acompanhar exatamente a variação real dos dados, ou seja, para um aumento nos valores previstos, o valor real aumenta ligeiramente mais, o que é comum quando o *slope* é inferior a 1. O *bias* global é reduzido (0,010) e na validação situa-se em 0,054, reforçando a boa precisão do modelo. Os valores de *RMSEP* (0,326 na calibração e 0,248 na validação) reforçam a precisão global do modelo.

Na figura 43 (B), a distribuição dos resíduos mostra-se centrada e simétrica, sem desvios sistemáticos aparentes, o que reforça a precisão do modelo.

A figura 43 (C) apresenta o gráfico “H Global”, no qual a maioria das amostras encontra-se abaixo do valor de corte ($H < 3$), indicando boa representatividade do conjunto de calibração e ausência de *outliers* marcados. Estes resultados demonstram a robustez do modelo para a previsão de teor de gordura bruta em alimentos compostos, com base em espectroscopia NIR.

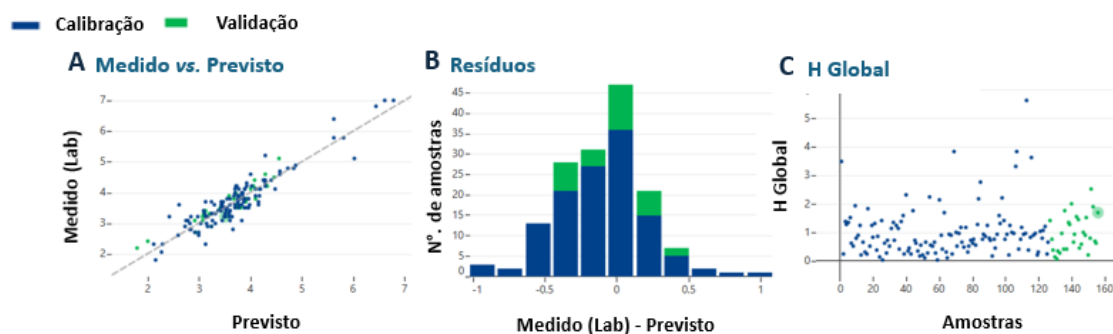


Figura 43 Avaliação do modelo de calibração da gordura bruta para ovinos e caprinos com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 14, tem-se o resumo dos resultados estatísticos do modelo, incluindo os valores de RMSEP, *slope/intercept*, *bias* e R^2 para os conjuntos de calibração e validação. O RMSEP apresenta-se como 0,326 na calibração e 0,248 na validação, e o *bias* global é reduzido (0,010).

Estes resultados estatísticos confirmam a robustez e a fiabilidade do modelo para a previsão do teor de gordura bruta em alimentos compostos para ovinos e caprinos, com base em Espectroscopia NIR.

Tabela 14 Resultados estatísticos de calibração para a gordura bruta em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	156	0,312	0,99/ 0,05	0,010	0,86
Calibração (Gordura)	126	0,326	1,00/ 0,00	0,000	0,86
Validação (Gordura)	30	0,248	0,93/ 0,32	0,054	0,86

Fibra Bruta

A avaliação do modelo de calibração para a fibra bruta evidencia uma relação linear ajustada entre os valores medidos e os previstos na figura 44 (A), ainda que com alguma variabilidade.

A distribuição dos resíduos, representada na figura 44 (B) encontra-se centrada em torno de 0, o que sugere a inexistência de enviesamento sistemático. O gráfico H Global, representado na figura 44 (C) mostra que a maioria das amostras se encontram dentro do intervalo espectral aceitável ($H < 3$).

com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,90 na calibração e 0,78 na validação, indicando uma redução da capacidade explicativa quando aplicado a dados independentes. A inclinação da reta de regressão é igual a 1 na calibração, mas decresce na validação (0,93), refletindo uma ligeira tendência de subestimação nos teores mais elevados. O gráfico de dispersão (Medido *versus*. Previsto) entre valores revela correlação satisfatória, embora com maior dispersão nos extremos. A distribuição dos resíduos mostra-se assimétrica e alargada, sugerindo variabilidade nos erros de previsão.

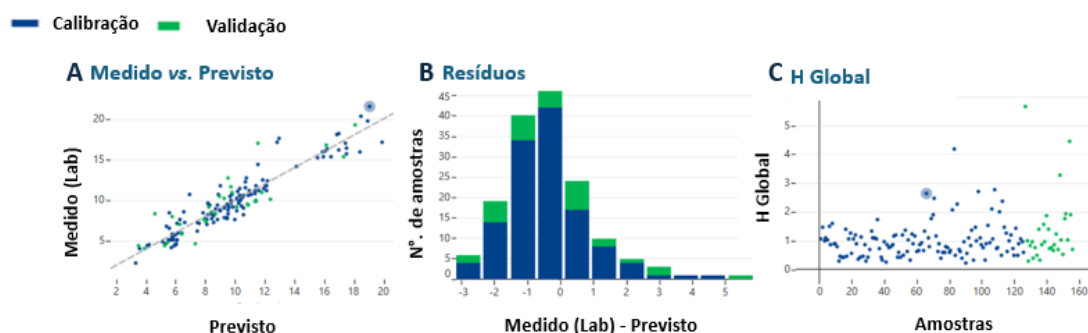


Figura 44 Avaliação do modelo de calibração da fibra bruta para ovinos e caprinos com o *software Foss Calibror*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Os parâmetros estatísticos apresentados na tabela 15 estão em conciliação com os padrões observados nos gráficos da figura 44.

O coeficiente de determinação da calibração ($R^2 = 0,90$) e da validação ($R^2 = 0,78$) indica capacidade explicativa do modelo para a fibra bruta, com boa linearidade na calibração e ligeira redução na validação.

A inclinação da reta de regressão aproxima-se de 1 na calibração, e apresenta ligeiro desvio na validação (0,93), sugerindo tendência para subestimação em teores mais elevados. A análise conjunta dos valores de RMSEP e bias sugere variabilidade controlada nos erros de previsão. Estes resultados são coerentes com os padrões de dispersão e distribuição de resíduos anteriormente descritos, podendo indicar a conveniência de incluir amostras com teores mais extremos no processo de calibração, para melhorar a representatividade espectral do modelo.

Tabela 15 Resultados estatísticos de calibração para a fibra bruta em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, bias e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	Bias	R^2
Todas seleccionadas	156	1,373	0,99/ 0,19	0,051	0,87
Calibração (Fibra)	126	1,245	1,00/ 0,00	0,000	0,90
Validação (Fibra)	30	1,813	0,93/ 0,90	0,263	0,78

Cinza

A figura 45 apresenta os gráficos de avaliação do modelo de calibração para o teor de cinza para ovinos e caprinos, desenvolvidos com o *software* Foss Calibrator.

O gráfico de dispersão “Medido *versus* Previsto”, representado na figura 45 (A), evidencia uma boa linearidade na calibração. Na validação, observa-se uma inclinação da reta de regressão inferior a 1 (0,84), com uma interceção de 1,32, sugerindo uma tendência de subestimação dos teores mais elevados.

A distribuição dos resíduos (figura 45B) encontra-se centrada em torno do zero, embora com alguma assimetria e maior dispersão nos valores extremos, o que reflete variações na precisão do modelo consoante o intervalo de concentração.

O gráfico “H Global” (figura 45C) mostra que a maioria das amostras se encontram dentro do intervalo espectral considerado aceitável ($H < 3$).

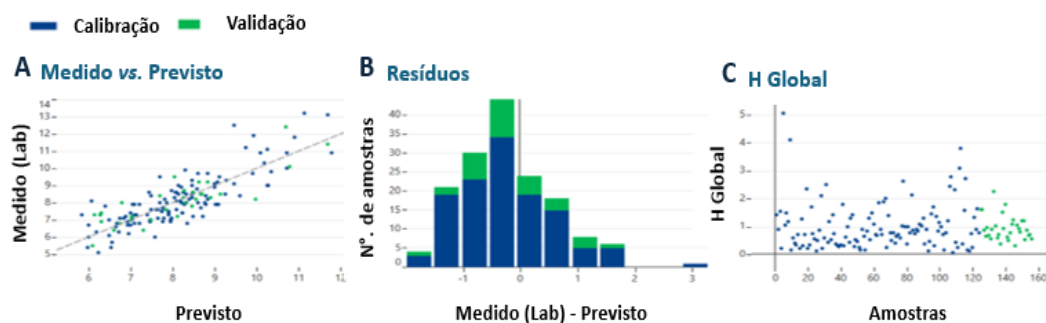


Figura 45 Avaliação do modelo de calibração da cinza para ovinos e caprinos com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Os resultados estatísticos apresentados na tabela 16 sustentam as observações gráficas. O coeficiente de determinação (R^2) é de 0,69 na calibração e 0,71 na validação, evidenciando consistência na capacidade explicativa do modelo.

Na calibração, a reta de regressão apresenta inclinação e intercepção ideais (1,00 e 0,000, respectivamente), enquanto na validação, a inclinação de 0,84 associada a uma intercepção de 1,32 confirma a tendência de subestimação identificada graficamente.

Os valores de RMSEP mantêm-se relativamente semelhantes entre a calibração (0,835) e validação (0,772) e o bias global é reduzido (0,012), indicando ausência de erros sistemáticos relevantes.

Tabela 16 Resultados estatísticos de calibração para a cinza em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software Foss Calibrator*. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, bias e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N de amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	156	0,822	0,96/ 0,32	0,012	0,69
Calibração (Cinza)	124	0,835	1,00/0,00	0,000	0,69
Validação (Cinza)	32	0,772	0,84/ 1,32	0,057	0,71

Fósforo

A figura 46 apresenta os gráficos de avaliação do modelo de calibração para o teor de fósforo, em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos. No gráfico de dispersão “Medido versus Previsto” (figura 46A), observa-se uma distribuição mais alargada dos pontos, sobretudo nas concentrações mais baixas, o que reflete uma maior variabilidade entre as amostras analisadas. Este comportamento é coerente com a diversidade da matriz e pode estar associado à forma indireta como o fósforo interage com a radiação NIR. O histograma de resíduos (figura 46B) mostra uma distribuição assimétrica, com ligeira concentração de erros em torno do zero, sugerindo variações pontuais entre amostras. No gráfico “H Global” (figura 46C), a maioria das amostras encontra-se dentro do intervalo espectral considerado aceitável ($H < 3$), o que indica uma cobertura espectral adequada e ausência de amostras discrepantes significativas.

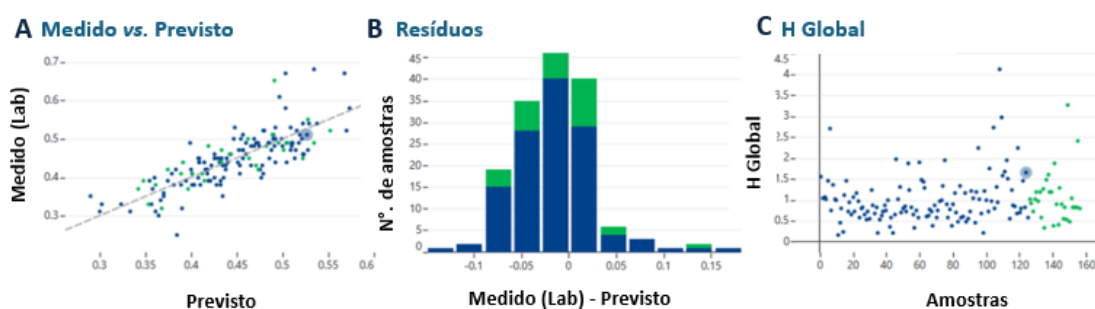


Figura 46 Avaliação do modelo de calibração do fósforo para ovinos e caprinos com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 17 apresentam-se os parâmetros estatísticos obtidos para o teor de fósforo, incluindo os valores de RMSEP, inclinação e interceção da reta de regressão, bias e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total de amostras. Os valores de R^2 , entre 0,58 e 0,64, refletem uma associação moderada entre os valores medidos e previstos, coerente com a natureza do fósforo, cuja deteção por NIR ocorre de forma indireta. A inclinação da reta de regressão para o conjunto de calibração é igual a 1,00, indicando uma correspondência exata entre os valores previstos e os observados nesse subconjunto. Na validação, a inclinação inferior (0,84) sugere uma ligeira tendência à subestimação em alguns teores. O bias é próximo de zero em todos os casos, e o RMSEP mantém-se constante (0,044), o que indica uma variação sistemática reduzida e previsões consistentes ao longo dos diferentes subconjuntos.

Tabela 17 Resultados estatísticos de calibração para Fósforo em alimentos compostos destinados a Ovinos e Caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	156	0,044	0,96/ 0,02	0,001	0,62
Calibração (Fósforo)	125	0,044	1,00/ 0,00	0,000	0,64
Validação (Fósforo)	31	0,044	0,84/ 0,08	0,005	0,58

Cálcio

A figura 47 ilustra a avaliação gráfica do modelo de calibração para o teor de cálcio em alimentos destinados a ovinos e caprinos. No gráfico de dispersão “Medido versus Previsto” (figura 37A), observa-se uma boa linearidade na calibração. No entanto, na validação é visível uma maior dispersão, especialmente nos teores mais baixos, o que poderá estar associado à menor representatividade ou ao número reduzido de amostras nesta fase. Este comportamento é também expectável considerando que o cálcio, por ser um elemento mineral, não possui bandas de absorção diretamente detetáveis no infravermelho próximo (NIR), sendo a sua previsão feita de forma indireta, por correlação com outros constituintes da matriz.

O gráfico de resíduos (figura 47B) apresenta uma distribuição centrada em torno do zero, mas evidencia assimetrias e maior variabilidade na validação, o que reforça a influência da heterogeneidade das amostras. O gráfico “H Global” (figura 47C) mostra que a maioria das amostras se encontram dentro dos limites aceitáveis ($H < 3$), embora algumas ultrapassem ligeiramente este valor, sugerindo que determinadas amostras da validação poderão apresentar características espectrais menos cobertas pelo modelo. Estes resultados sugerem que a inclusão de um maior número de amostras na validação

poderá contribuir para uma melhor avaliação da capacidade de previsão do modelo nesta matriz.

Figura 47 Avaliação do modelo de calibração do cálcio para ovinos e caprinos com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)**

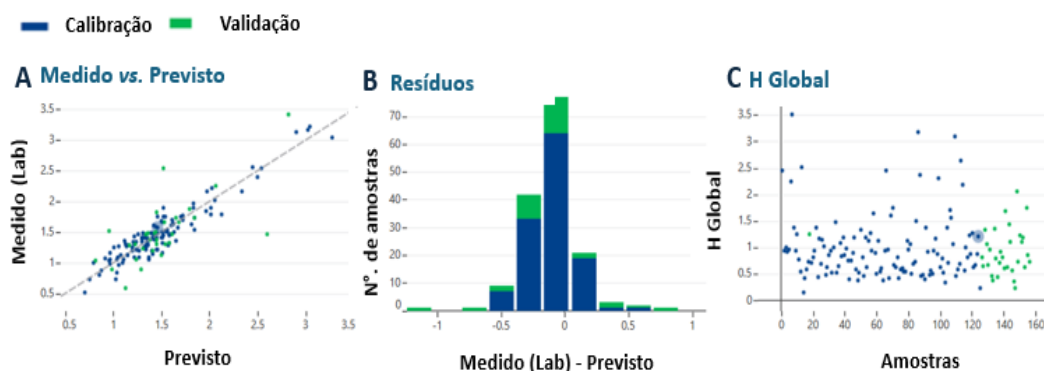


Gráfico “H Global”.

Na tabela 18 estão apresentados os parâmetros estatísticos da calibração multivariada para o teor de cálcio. O valor de R^2 na calibração foi de 0,89, indicando uma forte correlação entre os valores medidos e os previstos. Já na validação, o R^2 registou um valor de 0,50. Esta diferença pode estar associada ao número reduzido de amostras utilizadas na validação, o que limita a representatividade do conjunto e pode aumentar a variabilidade dos resultados. A inclinação da reta de regressão foi de 1,00 na calibração, refletindo boa linearidade, e de 0,89 na validação, com interceção negativa (-0,16), o que pode indicar uma ligeira subestimação nos teores mais elevados. O aumento do RMSEP (de 0,159 para 0,360) reforça a maior dispersão dos resíduos na validação. Ainda assim, o bias de -0,002 revela a ausência de tendência sistemática no modelo.

Tabela 18 Resultados estatísticos de calibração para cálcio em alimentos compostos destinados a ovinos e caprinos, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software Foss Calibrator*. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	156	0,212	0,95/ 0,06	-0,004	0,80
Calibração (Cálcio)	125	0,159	1,00/ 0,00	0,000	0,89
Validação (Cálcio)	32	0,360	0,89/ 0,16	-0,002	0,50

10.8.2. DDG de Milho

Proteína Bruta

A figura 48 apresenta os gráficos de avaliação do modelo de calibração para o teor de proteína bruta no DDG de milho. O gráfico de dispersão “Medido *versus* Previsto” (A) evidencia uma correlação muito forte entre os valores medidos e os previstos, sustentada por elevados coeficientes de determinação e por inclinações próximas da unidade, tanto na calibração como na validação. A reduzida dispersão dos pontos em torno da linha ideal ($y = x$) reforça a exatidão das previsões. A distribuição dos resíduos (B) mostra uma forma simétrica e centrada no zero, com baixa dispersão, o que indica uma distribuição aleatória dos erros sem enviesamentos sistemáticos relevantes. O gráfico “H Global” (C) confirma a homogeneidade da matriz, com a maioria das amostras abaixo do limiar crítico ($H < 3$), sem influência marcada de *outliers* ou amostras espectralmente anómalas.

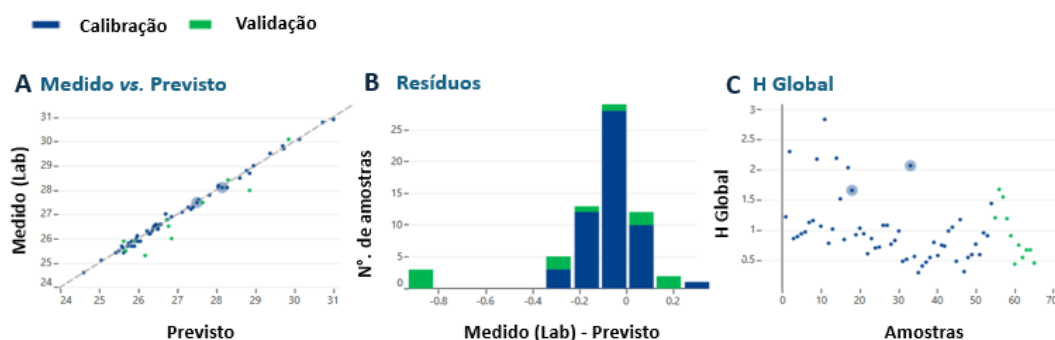


Figura 48 Avaliação do modelo de calibração da proteína bruta para DDG de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

A tabela 19 confirma o desempenho elevado do modelo de previsão para a proteína bruta no DDG de milho. O coeficiente de determinação (R^2) mantém-se elevado em todos os conjuntos, 1,00 na calibração, 0,91 na validação e 0,98 no total, refletindo uma correlação muito forte entre os valores medidos e previstos. A inclinação das retas de regressão é de 1,00 na calibração e 1,01 na validação, com interceções muito próximas do zero (-0,04 e -0,51, respetivamente), o que indica ausência de enviesamentos sistemáticos. O *RMSEP* global é reduzido (0,216), sendo particularmente baixo na calibração (0,098) e mais elevado na validação (0,477), refletindo um ligeiro aumento na variabilidade dos erros fora do conjunto calibrado, sem comprometer a

fiabilidade das previsões. O valor baixo do bias (-0,037) confirma a ausência de tendência sistemática do modelo.

Tabela 19 Resultados estatísticos de calibração para proteína bruta em matérias-primas de DDG de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	65	0,216	1,00/ -0,04	-0,037	0,98
Calibração (Proteína)	54	0,098	1,00/ 0,00	0,000	1,00
Validação (Proteína)	11	0,477	1,01/ -0,51	-0,220	0,91

Humidade

A figura 49 apresenta os gráficos de avaliação do modelo de calibração para o teor de humidade no DDG de milho. No gráfico “Medido *versus* Previsto” (A), observa-se alinhamento satisfatório na calibração, enquanto na validação há maior dispersão dos pontos, sobretudo nos teores mais elevados. A distribuição dos resíduos (B) encontra-se centrada no zero, mas com assimetria na validação, sugerindo menor estabilidade fora do conjunto calibrado. O gráfico “H Global” (C) mostra que, embora a maioria das amostras esteja dentro do intervalo espectral aceitável ($H < 3$), existem casos pontuais que ultrapassam esse limite, o que pode estar relacionado com pequenas variações físico-químicas resultantes do processo de produção do DDG.

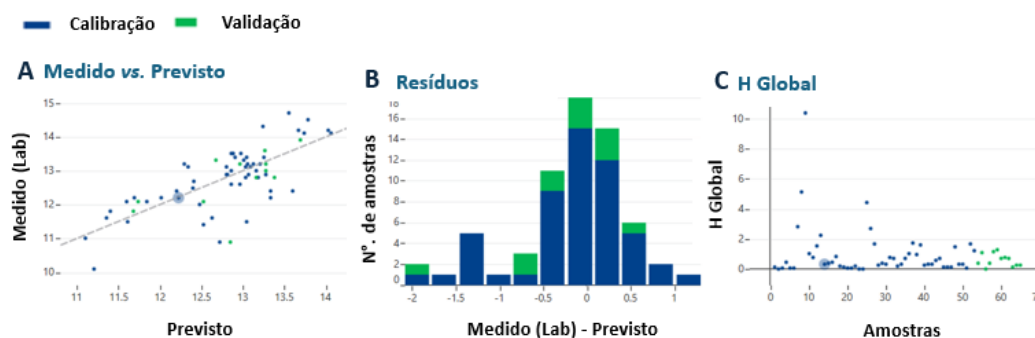


Figura 49 Avaliação do modelo de calibração da humidade para DDG de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Os resultados da tabela 20 revelam uma capacidade de previsão limitada do modelo para o teor de humidade no DDG de milho, com valores de R^2 de 0,55 na calibração e 0,39 na validação. Esta limitação pode ser atribuída ao próprio processo industrial de fermentação, destilação e secagem a que a matriz é submetida, o qual origina produtos com teores de humidade baixos e pouco variáveis. Essa reduzida variabilidade compromete a resposta espectral. A inclinação de 1,00 na calibração e 0,84 na validação, acompanhada de uma interceção de 1,90, indica tendência à subestimação nos teores mais elevados. Apesar da estabilidade do RMSEP, o valor mais elevado de bias na validação (-0,144) reforça a necessidade da inclusão de amostras com maior heterogeneidade.

Tabela 20 Resultados estatísticos de calibração para humidade em matérias-primas de DDG de Milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software Foss Calibrator*. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, bias e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	65	0,637	0,97/ 0,33	-0,027	0,52
Calibração (Humidade)	53	0,632	1,00/ 0,00	0,000	0,55
Validação (Humidade)	12	0,661	0,84/ 1,90	-0,144	0,39

Gordura Bruta

A figura 50 apresenta a avaliação do modelo de calibração desenvolvido para a gordura bruta no DDG de milho. Apesar deste constituinte estar presente na matriz, trata-se de um parâmetro com relevância limitada na prática analítica do DDG, o que

poderá explicar a menor robustez do modelo. O gráfico “Medido versus Previsto” revela uma dispersão acentuada, especialmente em teores mais baixos, o que pode estar relacionado com a reduzida representatividade desses perfis na calibração e com a variabilidade associada ao processo industrial de produção, nomeadamente ao grau de extração de óleo. A distribuição dos resíduos mostra assimetrias mais marcadas, indicando erros localizados em determinadas concentrações. Por sua vez, o gráfico “H Global” identifica algumas amostras influentes, sugerindo variações intrínsecas na composição da matriz, que podem ter comprometido a consistência da previsão fora do intervalo calibrado.

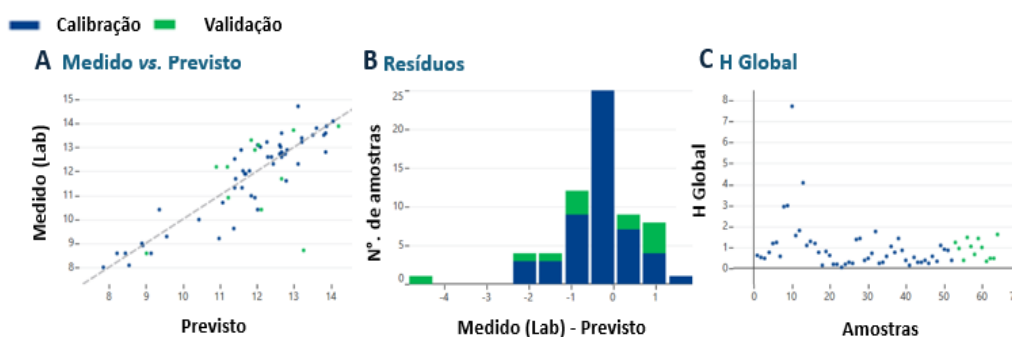


Figura 50 Avaliação do modelo de calibração da gordura bruta para DDG de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 21 é possível observar um coeficiente de determinação (R^2) de 0,83 na calibração e de 0,20 na validação. Esta diferença pode ser parcialmente justificada pela menor representatividade de perfis lipídicos no conjunto de validação, que inclui um número bastante inferior de amostras. A inclinação da reta de regressão passa de 1,00 na calibração para 0,61 na validação, com uma interceção de 4,57, indicando um possível desvio nas previsões dos teores mais elevados. O aumento do RMSEP (de 0,715 para 1,640) deve ser interpretado com cuidado, devido ao reduzido número de amostras na validação, o que pode ter amplificado a variabilidade observada. O bias mais acentuado na validação (-0,142) sugere a possibilidade de fatores sistemáticos associados à composição variável da matriz e ao possível grau de extração de óleo no processo industrial.

Tabela 21 Resultados estatísticos de calibração para gordura bruta em matérias-primas de DDG de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	64	0,959	0,95/ 0,58	-0,027	0,70
Calibração (Gordura)	52	0,715	1,00/ 0,00	0,000	0,83
Validação (Gordura)	12	1,640	0,61/ 4,57	-0,142	0,20

Fibra Bruta

Na figura 51 é possível observar os gráficos de avaliação do modelo de calibração para o teor de fibra bruta no DDG de milho. Observa-se uma fraca correlação entre os valores medidos e previstos, com maior dispersão na validação. Esta limitação está associada à baixa resposta espectral da fibra na região NIR, uma vez que este é um constituinte estruturalmente complexo, insolúvel e com grupos funcionais pouco ativos nesta gama do espectro. A distribuição dos resíduos mostra desvios em torno de zero, com maior variabilidade em certas faixas de concentração, e o gráfico “H Global” identifica algumas amostras influentes, o que poderá estar relacionado com diferenças na composição da matriz ou heterogeneidade no processamento.

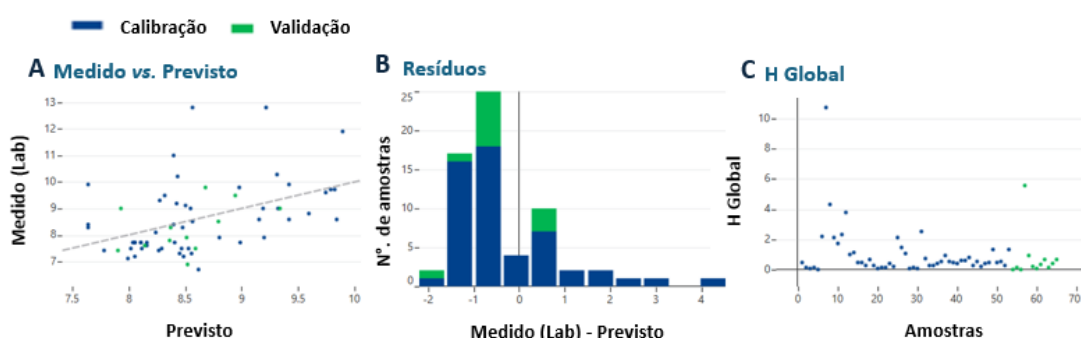


Figura 51 Avaliação do modelo de calibração da fibra bruta para DDG de milho com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 22 é possível observar os coeficientes de determinação baixos ($R^2 = 0,20$ para calibração e $0,19$ para validação). A inclinação ligeiramente inferior a 1 ($0,96$) e a interceção positiva ($0,09$) na validação indicam desvios sistemáticos, com subestimação dos teores reais. O bias negativo reforça esta tendência. Estes resultados

são consistentes com as dificuldades associadas à modelação da fibra por NIR, sendo o desempenho limitado justificado, em grande parte, pelas características físico-químicas da fibra e pela reduzida seletividade espectral para este tipo de componente.

Tabela 22 Resultados estatísticos de calibração para fibra bruta em matérias-primas de DDG de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	65	1,160	1,01/ -0,11	-0,044	0,20
Calibração (Fibra)	53	1,224	1,00/ 0,00	0,000	0,20
Validação (Fibra)	12	0,815	0,96/ 0,09	-0,239	0,19

Cinza

Na figura 52 (A) é possível observar o gráfico “Medido *versus* Previsto”, onde é clara a distribuição das amostras em torno da linha ideal ($y = x$), com dispersão reduzida e alinhamento consistente, evidenciando a estabilidade do modelo de previsão. A distribuição dos resíduos apresenta-se simétrica e centrada no zero, com amplitude limitada, o que sugere ausência de tendência sistemática nos erros. Por sua vez, o gráfico “H Global” mostra que praticamente todas as amostras se situam abaixo do limite crítico ($H < 3$), confirmando a homogeneidade da matriz e a reduzida influência de amostras individuais sobre o modelo.

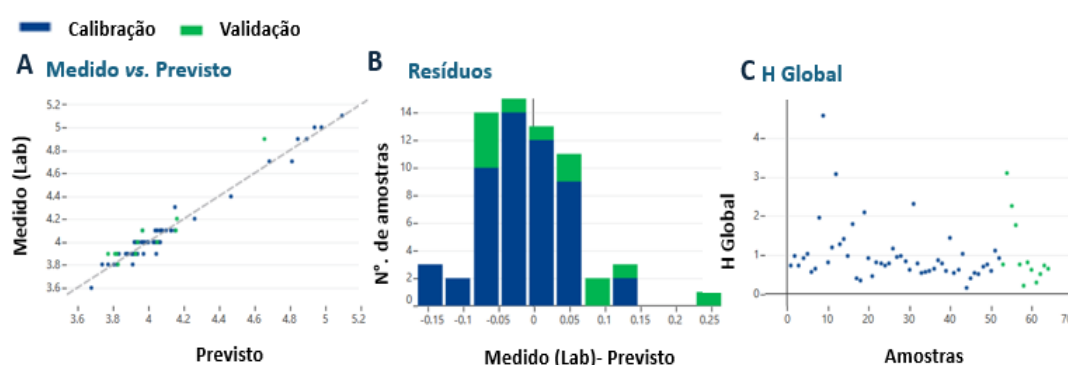


Figura 52 Avaliação do modelo de calibração da cinza para DDG de milho com o *software* Foss Calibrator. (A) Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; (B) Distribuição dos resíduos; (C) Gráfico “H Global”.

Na tabela 23 é possível observar, conforme os valores estatísticos, um excelente desempenho de previsão para o teor de cinza, com coeficientes de determinação (R^2) de 0,97 na calibração e 0,92 na validação, refletindo uma correlação forte e estável com os valores de referência. A inclinação da reta de regressão na validação é de 1,15, com uma interceção próxima de zero (-0,57), sugerindo um ligeiro sobredimensionamento em amostras de teores mais elevados, mas sem prejuízo significativo na performance global.

O RMSEP mantém-se baixo (0,100), tal como o bias (0,047), indicando uma previsão precisa e com erro sistemático mínimo. Estes resultados podem ser atribuídos à baixa variabilidade do DDG após os processos de fermentação e secagem, que originam uma matriz com teor de cinza relativamente estável, favorecendo uma correlação indireta eficaz entre a cinza e constituintes orgânicos detetáveis por NIR, o que permite a construção de um modelo robusto, apesar da natureza inorgânica do constituinte.

Tabela 23 Resultados estatísticos de calibração para cinza em matérias-primas de DDG de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	64	0,069	1,01/ -0,02	0,009	0,96
Calibração (Cinza)	52	0,059	1,00/ 0,00	0,000	0,97
Validação (Cinza)	12	0,100	1,15/ -0,57	0,047	0,92

Amido

Através da figura 53 é possível avaliar graficamente o modelo de calibração para o teor de amido no DDG de milho. A dispersão observada, sobretudo na fase de validação, pode ser explicada pela natureza da matriz: sendo o DDG um subproduto da fermentação do milho para produção de etanol. O amido é amplamente consumido durante o processo, originando teores residuais muito baixos. Esta baixa concentração, aliada a uma limitada expressividade espectral do amido na região NIR, dificulta a correlação entre os valores laboratoriais e previstos. A distribuição dos resíduos mostra maior variabilidade em algumas faixas de concentração, e o gráfico “H Global” não evidencia amostras influentes marcadas, reforçando que as limitações do modelo estão

associadas à reduzida presença e detetabilidade do constituinte na matriz, e não a problemas de calibração ou a *outliers*.

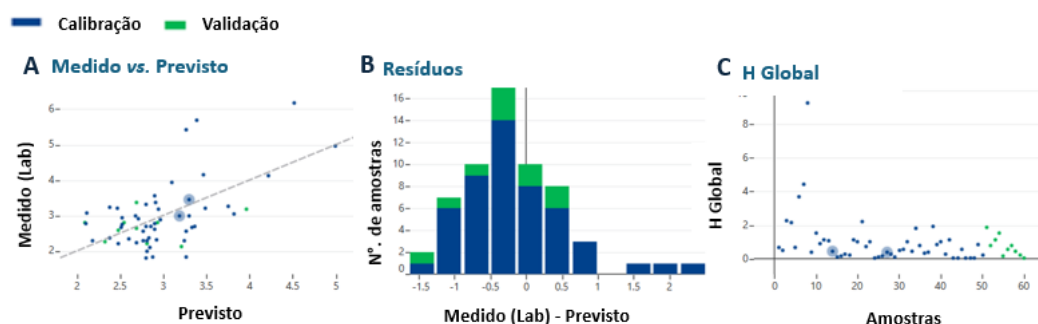


Figura 53 Avaliação do modelo de calibração do amido para DDG de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

A tabela 24 reflete a dificuldade na previsão do teor de amido no DDG de milho, com um R^2 total de 0,32 e apenas 0,04 na validação. Estes valores devem ser interpretados à luz da reduzida variabilidade do amido nesta matriz, consequência direta do processo de fermentação que consome quase totalmente este constituinte. A inclinação baixa com valor de 0,16 e a interceção de 2,23 na validação indicam um desvio relevante na extrapolação fora do conjunto calibrado, o que se compreende dada a escassez do parâmetro e a sua limitada resposta espectral. Este comportamento é expectável e justificado pela própria natureza do processo industrial envolvido.

Tabela 24 Resultados estatísticos de calibração para o amido em matérias-primas de DDG de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software Foss Calibrator*. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	60	0,725	0,90/ 0,29	-0,017	0,32
Calibração (Amidos)	50	0,752	1,00/ 0,00	0,000	0,35
Validação (Amidos)	10	0,570	0,16/ 2,23	-0,101	0,04

10.8.3. Glúten de Milho

Proteína Bruta

A análise da figura 54, que inclui os gráficos “Medido versus Previsto”, distribuição dos resíduos e “H Global”, permite verificar uma forte correspondência entre os valores medidos e os previstos, tanto na calibração como na validação. Esta proximidade dos pontos à bissetriz sugere um bom ajustamento do modelo, o que é coerente com a natureza da matriz em questão. O glúten de milho é um subproduto com elevada concentração proteica e composição relativamente estável, características que favorecem uma resposta espectral clara na região NIR.

O histograma dos resíduos revela uma distribuição simétrica e centrada, sem desvios sistemáticos evidentes, enquanto o gráfico “H Global” identifica algumas amostras potencialmente influentes, mas que não comprometem a robustez do conjunto. Esta estabilidade está associada à homogeneidade do glúten e à elevada seletividade espectral dos compostos azotados presentes na matriz.

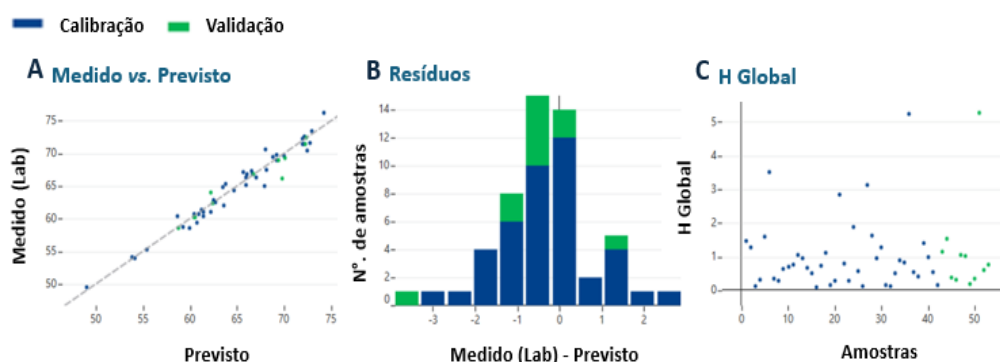


Figura 54 Avaliação do modelo de calibração da proteína bruta para glúten de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 25, observa-se um coeficiente de determinação elevado em ambos os conjuntos, com $R^2 = 0,97$ na calibração e $R^2 = 0,94$ na validação, refletindo uma forte correlação entre os valores medidos e previstos. A inclinação da reta de calibração é ideal (1,00), enquanto na validação desce ligeiramente para 0,90, com interceção de 6,05, o que indica alguma subestimação em amostras com teores proteicos mais elevados. O erro de previsão (*RMSEP*) mantém-se dentro de limites aceitáveis (1,296% na validação), e o bias negativo (-0,399) não aponta para erro sistemático relevante. Estes resultados refletem a elevada representatividade e qualidade espectral da proteína nesta matriz.

Tabela 25 Resultados estatísticos de calibração para a proteína bruta em matérias-primas de glúten de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	53	1,123	0,98/ 1,07	-0,083	0,96
Calibração (Proteína)	42	1,073	1,00/ 0,00	0,000	0,97
Validação (Proteína)	11	1,296	0,9/ 6,05	-0,399	0,94

Humidade

Na figura 55 (A), observa-se uma boa concordância entre os valores laboratoriais e os estimados pelo modelo, com os pontos distribuídos ao longo da linha ideal. O gráfico de resíduos (figura 55B) evidencia uma distribuição centrada, com assimetrias pouco marcadas, o que indica ausência de padrões sistemáticos de erro e sugere estabilidade do modelo. No gráfico “H Global” (figura 55C), a dispersão reduzida dos pontos reflete baixa influência de amostras individuais, o que reforça a representatividade e homogeneidade do conjunto de dados.

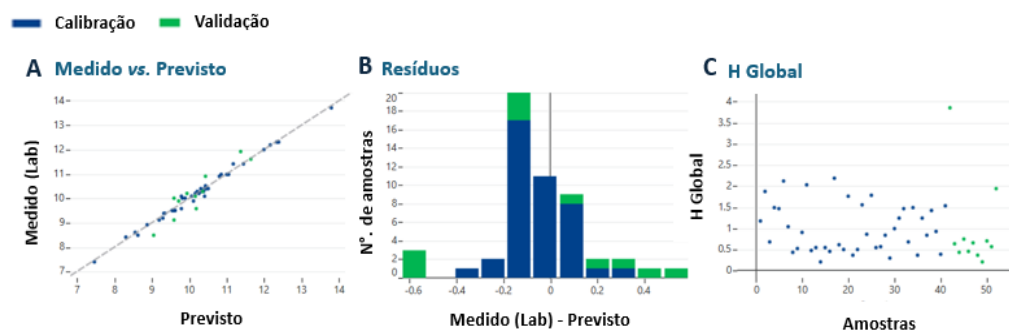


Figura 55 Avaliação do modelo de calibração da humidade para glúten de milho com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 26, os coeficientes de determinação obtidos são elevados, tanto na calibração ($R^2 = 0,99$) como na validação ($R^2 = 0,86$), o que evidencia uma forte correlação entre os valores medidos e previstos. O RMSEP apresenta um aumento natural da calibração (0,117) para a validação (0,389), o que poderá estar relacionado com o número reduzido de amostras no conjunto de validação. A inclinação superior à

unidade e a interceção negativa observadas na validação refletem uma ligeira sobrestimação, já mencionada na avaliação gráfica, sendo que o bias residual se mantém baixo (0,009), o que indica ausência de desvios sistemáticos relevantes. Estes resultados confirmam a boa capacidade de previsão do modelo para a humidade nesta matriz, que, pela sua baixa variabilidade e elevada resposta espectral no NIR, favorece uma modelação eficaz.

Tabela 26 Resultados estatísticos de calibração para a humidade em matérias-primas de glúten de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	52	0,207	1,02/ -0,19	0,002	0,97
Calibração (Humidade)	41	0,117	1,00/ 0,00	0,000	0,99
Validação (Humidade)	11	0,389	1,21/ -2,09	0,009	0,86

Gordura Bruta

O gráfico de dispersão “Medido *versus* Previsto” (figura 56A) mostra uma distribuição bastante alinhada dos pontos ao longo da linha ideal, tanto na fase de calibração como na validação, indicando forte concordância entre os valores laboratoriais e os estimados pelo modelo. Esta tendência é confirmada pela análise da distribuição dos resíduos (figura 56B), centrada e simétrica em torno do zero, o que demonstra ausência de enviesamentos sistemáticos. O gráfico “H Global” (figura 56C) reforça esta evidência, uma vez que não são identificadas amostras com influência estatística significativa, o que demonstra boa estabilidade do modelo face à variabilidade das amostras incluídas.

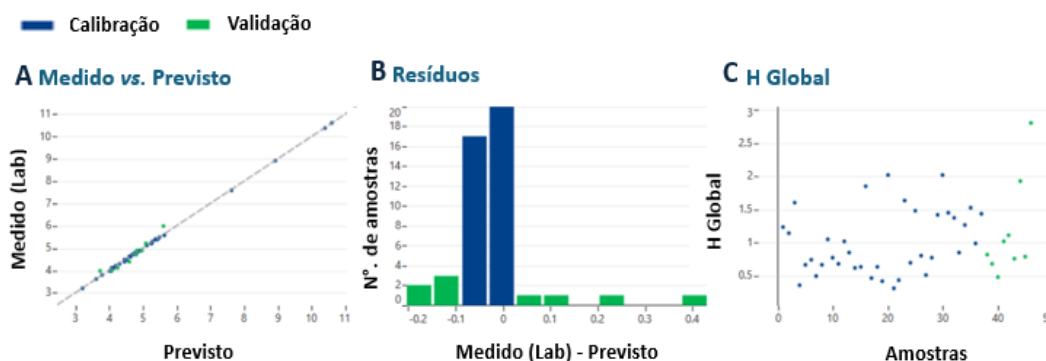


Figura 56 Avaliação do modelo de calibração da gordura bruta para glúten de milho com o software Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

A tabela 27 apresenta os resultados estatísticos do modelo, evidenciando um desempenho muito consistente. O coeficiente de determinação atinge o valor máximo na calibração ($R^2 = 1,00$) e mantém-se muito elevado na validação ($R^2 = 0,91$), revelando uma forte correspondência entre os valores previstos e os medidos. Na validação, a inclinação da reta de regressão é de 1,11 e a interceção de -0,46, apontando para uma ligeira tendência de sobrestimação, sem impacto relevante na robustez do modelo. O RMSEP global é reduzido (0,087), assim como o bias (0,006), confirmando uma elevada exatidão nas previsões. Estes resultados estão de acordo com a natureza do constituinte avaliado, os lípidos apresentam bandas de absorção bem definidas na região do infravermelho próximo (NIR), o que facilita uma deteção precisa. Além disso, o glúten de milho, enquanto subproduto com perfil de gordura relativamente homogêneo, contribui para a estabilidade e fiabilidade do modelo.

Tabela 27 Resultados estatísticos de calibração para a gordura bruta em matérias-primas de glúten de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N de amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	46	0,087	1,00/ 0,00	0,006	1,00
Calibração (Gordura)	37	0,019	1,00/ 0,00	0,000	1,00
Validação (Gordura)	9	0,193	1,11/ -0,46	0,031	0,91

Cinza

Apesar de a cinza ser, por norma, um constituinte de difícil previsão por espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), devido à sua natureza mineral e à ausência de grupos funcionais com forte resposta espectral, os resultados obtidos para o glúten de milho, apresentados na figura 57 e na tabela 28, demonstram uma capacidade de modelação bastante sólida. Este desempenho pode estar relacionado com a composição relativamente homogênea desta matriz, que resulta do processo de extração industrial e confere estabilidade à resposta espectral. A distribuição uniforme dos constituintes inorgânicos no glúten de milho poderá facilitar uma leitura mais consistente e contribuir para a performance observada. O gráfico de dispersão “Medido versus Previsto” (Figura 57A) mostra uma forte correlação entre os valores medidos e os previstos, com um alinhamento bem definido ao longo da reta de referência. O histograma de resíduos (Figura 57B) revela uma distribuição centrada e simétrica, sem assimetrias significativas, enquanto o gráfico “H Global” (Figura 57C) aponta para uma influência reduzida das amostras individuais, reforçando a estabilidade do modelo.

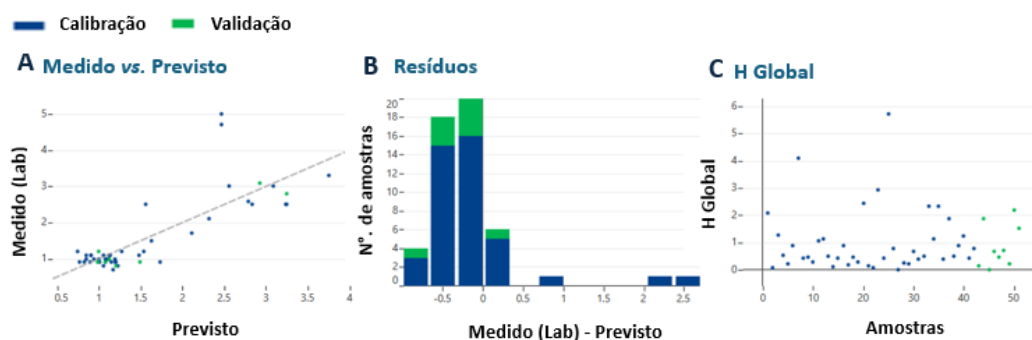


Figura 57 Avaliação do modelo de calibração da cinza para glúten de milho com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Os dados da tabela 28 confirmam este comportamento consistente, o coeficiente de determinação (R^2) na validação atinge 0,91, evidenciando uma forte correspondência entre os valores previstos e os medidos. A inclinação da reta de regressão (0,97) aproxima-se da reta ideal, e o bias residual é reduzido (-0,169), sugerindo ausência de tendência sistemática nos erros de previsão. O RMSEP de 0,304 indica uma margem de erro contida, compatível com os desafios inerentes à previsão de um constituinte com reduzida sensibilidade espectral. Em conjunto, estes indicadores reforçam a robustez do

modelo de previsão para o teor de cinza nesta matriz, mesmo tratando-se de um constituinte menos responsivo ao NIR.

Tabela 28 Resultados estatísticos de calibração para a cinza em matérias-primas de glúten de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	51	0,581	0,99/ -0,02	-0,030	0,66
Calibração (Cinza)	42	0,624	1,00/0,00	0,000	0,63
Validação (Cinza)	9	0,304	0,97/- 0,12	-0,169	0,91

Amido

A figura 58 permite observar a avaliação gráfica do modelo, onde o gráfico “Medido versus Previsto” (figura 58A) mostra um bom alinhamento entre os dados previstos e os medidos. A distribuição dos resíduos (figura 58B) revela uma forma simétrica e centrada, sugerindo ausência de erros sistemáticos relevantes, enquanto o gráfico “H Global” (figura 58C) evidencia uma baixa influência de amostras individuais, reforçando a estabilidade do modelo.

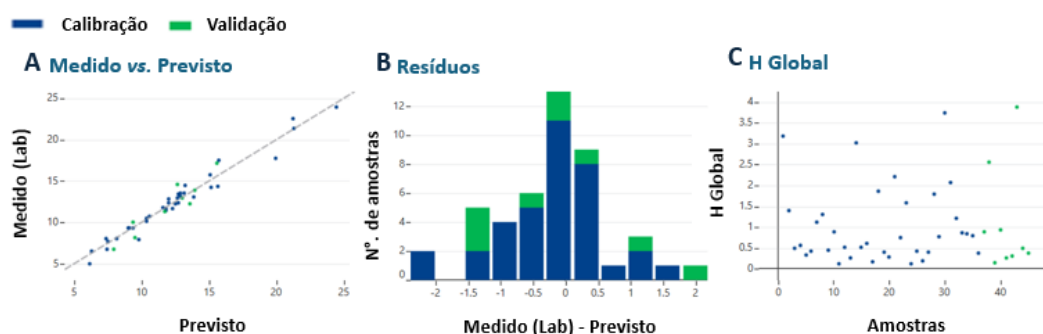


Figura 58 Avaliação do modelo de calibração de amido para glúten de milho com o *software* Foss Calibrator. (A) Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; (B) Distribuição dos resíduos; (C) Gráfico “H Global”.

O modelo de previsão para o teor de amido no glúten de milho apresentou resultados consistentes, com um coeficiente de determinação global (R^2) de 0,95, evidenciando uma forte correlação entre os valores previstos e os medidos. Este desempenho é particularmente relevante considerando a natureza da matriz, o glúten de milho é um coproduto da moagem húmida, intencionalmente produzido com teores

elevados e relativamente constantes de proteína e amido, o que contribui para uma composição homogénea e favorece uma resposta espectral mais previsível na região do NIR.

Complementando esta análise, a tabela 29 apresenta os parâmetros estatísticos associados. A calibração revela um R^2 de 0,96 e um RMSEP reduzido (0,809), sustentando a robustez do modelo nesta fase. Na validação, o coeficiente mantém-se elevado ($R^2 = 0,89$), com uma inclinação próxima da unidade ($slope = 1,22$), embora com um ligeiro desvio na interceção (-2,60), o que poderá ser reflexo da menor dimensão amostral nesta fase. Ainda assim, o *bias* nulo e o valor global de RMSEP (0,883) demonstram que o modelo mantém uma performance adequada à escala dos teores observados. Assim, mesmo tratando-se de um coproduto industrial, as características composicionais estáveis do glúten de milho favorecem a previsão do teor de amido por espectroscopia NIR com fiabilidade.

Tabela 29 Resultados estatísticos de calibração para o amido em matérias-primas de glúten de milho, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N de amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas seleccionadas	45	0,883	1,02/ -0,20	0,000	0,95
Calibração (Amido)	36	0,809	1,00/ 0,00	0,000	0,96
Validação (Amido)	9	1,132	1,22/ -2,60	0,000	0,89

10.8.4. Farinha de Carne

Proteína Bruta

É possível observar na figura 59, que o modelo de calibração para a proteína bruta na farinha de carne apresenta uma tendência linear global bem definida no gráfico “Medido versus Previsto” (figura 59A). A distribuição dos resíduos (figura 59B) revela assimetria com valores extremos, indicando a presença de amostras com desvios significativos em relação às previsões médias. O gráfico “H Global” (figura 59C) mostra alguns pontos com influência mais elevada, o que pode impactar a estabilidade geral do modelo.

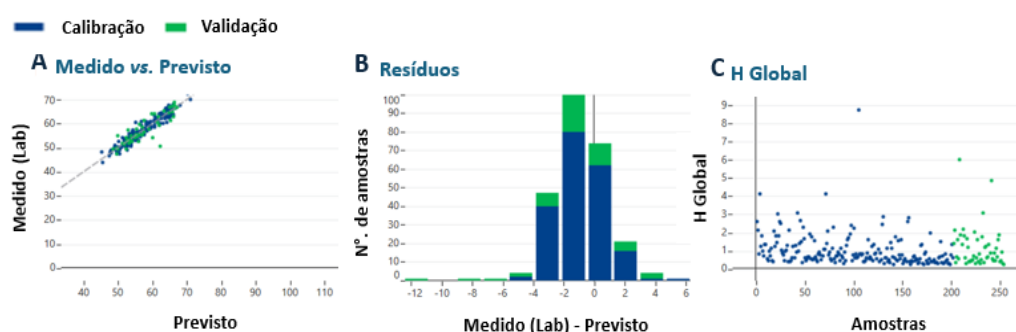


Figura 59 Avaliação do modelo de calibração da proteína bruta para farinha de carne com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

A partir da tabela 30, onde o coeficiente de determinação global ($R^2 = 0,92$) demonstra boa capacidade explicativa do modelo, com desempenho particularmente expressivo na calibração ($R^2 = 0,94$), mas com redução na validação ($R^2 = 0,82$).

A inclinação da reta de regressão próxima de 1 no conjunto global ($slope = 0,98$) e o bias negativo, especialmente na validação ($-0,274$), indicam uma subestimação sistemática dos valores reais. Esta tendência pode estar associada à elevada variabilidade composicional da farinha de carne, um produto de origem animal que apresenta diferenças relevantes entre lotes, tanto em função da matéria-prima utilizada como dos processos industriais envolvidos, influenciando a consistência espectral e a previsibilidade do modelo.

Tabela 30 Resultados estatísticos de calibração para a proteína bruta em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	254	1,872	0,98/ 1,31	-0,056	0,92
Calibração (Proteína)	202	1,513	1,00/ 0,00	0,000	0,94
Validação (Proteína)	52	2,869	0,90/ 5,76	-0,274	0,82

Humidade

Na figura 60 (A), o gráfico “Medido *versus* Previsto” revela dispersão mais visível nos extremos, refletindo dificuldades do modelo em captar valores muito baixos ou elevados de humidade, o que é comum em produtos com composição variável. A distribuição dos resíduos (figura 60B) é assimétrica, concentrando-se em valores negativos, o que reforça a tendência de subestimação. No gráfico Global H (figura 60C), algumas amostras apresentam maior influência, possivelmente ligadas a variações naturais no conteúdo de gordura e proteína, que afetam a interação da luz NIR com a humidade real da amostra.

Em matrizes como a farinha de carne, esta influência pode ser mais notória devido à presença de diferentes frações (ossos, carne, gordura), que alteram a distribuição da água e, conseqüentemente, a resposta espectral.

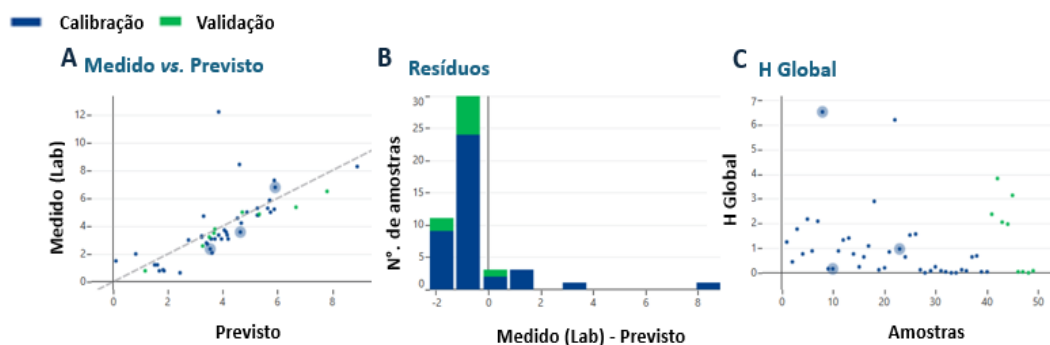


Figura 60 Avaliação do modelo de calibração da humidade para farinha de carne com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Na tabela 31 estão presentes os resultados obtidos para a previsão da humidade na farinha de carne, refletem diretamente as particularidades desta matriz, marcada por uma composição complexa e heterogénea, com teores variáveis de água, gordura e proteína. O coeficiente de determinação global ($R^2 = 0,53$) sugere que o modelo consegue captar uma parte da variação da humidade, embora de forma limitada, o que é esperado numa matriz onde a humidade pode estar distribuída de forma não uniforme entre os componentes orgânicos. A diferença observada entre a validação ($R^2 = 0,93$) e a calibração ($R^2 = 0,50$) indica que o modelo, embora tenha conseguido um bom ajuste nas amostras validadas, apresenta maior variação na calibração, provavelmente devido à diversidade das amostras utilizadas, que representam diferentes lotes e condições de processamento. Este tipo de discrepância é comum em matrizes como a farinha de carne, onde o teor de humidade pode ser influenciado por fatores como a origem da matéria-prima e o método de secagem. A inclinação global da reta de regressão (slope = 0,95) e o intercepto de 0,11 apontam para uma ligeira subestimação nas previsões, comportamento que se acentua na validação (slope = 0,83; intercepto = 0,28), com um bias negativo de -0,458. Esta subestimação pode estar associada à forma como a água se encontra presente na matriz, muitas vezes ligada a proteínas ou retida em gorduras, o que pode afetar a absorção da radiação NIR e dificultar a resposta linear do modelo.

O RMSEP global de 1,528 está dentro de um intervalo aceitável para este tipo de produto, considerando a complexidade da matriz. Assim, os resultados devem ser entendidos como representativos da variabilidade intrínseca da humidade na farinha de carne, onde oscilações nos dados são, em grande parte, consequência da própria natureza do material analisado.

Tabela 31 Resultados estatísticos de calibração para a humidade em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	49	1,528	0,95/ 0,11	-0,084	0,53
Calibração (Humidade)	40	1,659	1,00/ 0,00	0,000	0,5
Validação (Humidade)	9	0,689	0,83/ 0,28	-0,458	0,93

Gordura Bruta

O gráfico “Medido versus Previsto” (figura 61A) mostra um alinhamento forte com a linha ideal, embora se observe alguma dispersão nas amostras com teor de gordura mais baixo, algo expectável, dado que variações em teores baixos tendem a ser mais difíceis de modelar com precisão. O histograma dos resíduos (figura 61B) apresenta uma distribuição equilibrada e homogénea, sugerindo que os erros do modelo são maioritariamente aleatórios e sem tendências claras. O gráfico “H Global” (figura 61C) destaca poucas amostras com influência elevada, o que indica boa estabilidade do modelo mesmo perante a diversidade composicional inerente à farinha de carne.

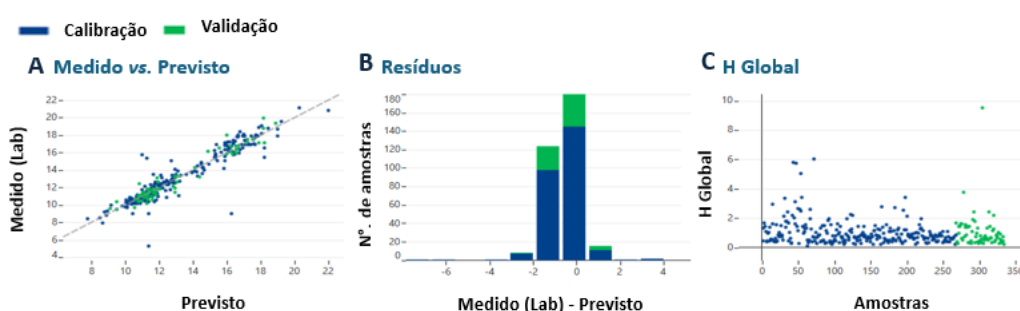


Figura 61 Avaliação do modelo de calibração da gordura bruta para a farinha de carne com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Os resultados obtidos, os quais são possíveis de observar na tabela 32, para a previsão da gordura bruta na farinha de carne evidenciam um desempenho muito consistente e fiável, mesmo tratando-se de uma matriz com variabilidade natural. O coeficiente de determinação global ($R^2 = 0,90$), com valores elevados tanto na calibração ($R^2 = 0,89$) como na validação ($R^2 = 0,94$), indica uma forte correlação entre os valores previstos pelo modelo e os obtidos laboratorialmente. Este comportamento deve-se, em grande parte, ao facto de a gordura ser composta por ligações químicas C-H, que apresentam uma resposta espectral intensa e característica na região do NIR, facilitando a sua quantificação, mesmo em matrizes complexas como a farinha de carne.

A inclinação da reta de regressão ($slope = 1,00$) e o valor do intercepto ($-0,05$), muito próximo de zero, indicam que o modelo não tende a sobrestimar ou subestimar sistematicamente os valores previstos. O *bias* global é igualmente reduzido ($0,003$), reforçando a ausência de desvios sistemáticos. O valor global de RMSEP ($0,888$) confirma

a boa precisão do modelo ao longo da gama de teores de gordura analisados, sustentando a sua aplicabilidade prática.

Tabela 32 Resultados estatísticos de calibração para a gordura bruta em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	Bias	R^2
Todas selecionadas	334	0,888	1,00/ -0,05	0,003	0,90
Calibração (Gordura)	267	0,936	1,00/0,00	0,000	0,89
Validação (Gordura)	67	0,666	1,02/ -0,27	0,014	0,94

Cinza

O gráfico “Medido *versus* Previsto” (figura 62A) confirma o forte alinhamento dos valores previstos com os reais, com apenas ligeira dispersão nas extremidades, o que é comum em gamas amplas de concentração. A distribuição dos resíduos (figura 62B) mostra-se simétrica e centrada no zero, reforçando a homogeneidade dos erros. O gráfico de “H Global” (figura 62C) indica que a grande maioria das amostras se encontram dentro do limite de influência aceitável, sendo os poucos desvios pontuais esperados devido à variabilidade normal de bases de dados alargadas.

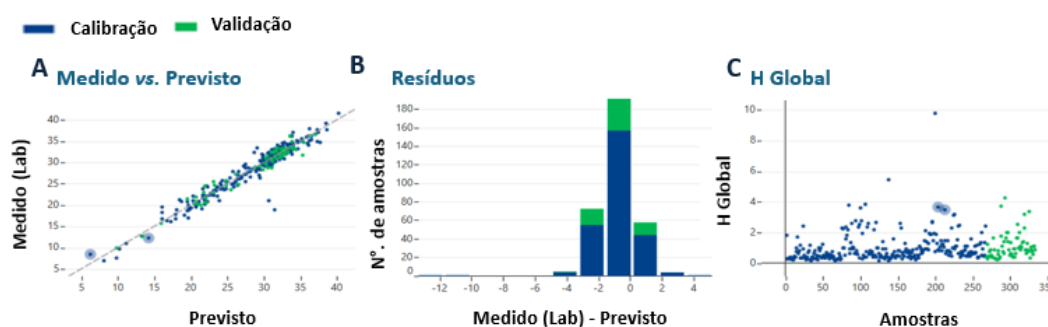


Figura 62 Avaliação do modelo de calibração da cinza para a farinha de carne com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

O desempenho do modelo de previsão para o teor de cinza na farinha de carne revela uma excelente capacidade explicativa, é possível observar na tabela 33, coeficientes de determinação (R^2) de 0,94 no conjunto total e 0,96 na validação. Embora o valor de R^2 seja elevado, importa destacar que a cinza, sendo um parâmetro mineral e

de determinação indireta por NIR (dependente da correlação com compostos orgânicos), nem sempre apresenta resultados tão consistentes. Assim, a boa performance observada pode ser, em grande parte, atribuída ao número elevado de amostras utilizadas na calibração ($n = 333$), o que contribuiu para uma modelação mais robusta e representativa. O *slope* de 0,99 e o intercepto de 0,14 reforçam a fidelidade da previsão, demonstrando proximidade à linha ideal. O *bias* global (-0,012) é praticamente nulo, indicando ausência de tendências sistemáticas. O valor de RMSEP de 1,452 é moderado, mas aceitável face à amplitude de teores de cinza observados. Estes resultados indicam que, apesar de a cinza ser um parâmetro difícil de prever por NIR, neste caso específico, a elevada representatividade da base de dados permitiu a obtenção de um modelo com elevada fiabilidade prática para estimativas do teor de cinza em farinha de carne.

Tabela 33 Resultados estatísticos de calibração para a cinza em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	333	1,452	0,99/ 0,14	-0,012	0,94
Calibração (Cinza)	267	1,514	1,00/ 0,00	0,000	0,94
Validação (Cinza)	66	1,171	0,97/ 0,74	-0,063	0,96

Fósforo

A figura 63 permite avaliar graficamente o desempenho do modelo de calibração do fósforo na farinha de carne. No gráfico “Medido *versus* Previsto” (figura 63A), observa-se uma distribuição dos pontos relativamente próxima da linha ideal, indicando uma correlação moderada entre os valores medidos em laboratório e os valores previstos pelo modelo. No entanto, há uma ligeira dispersão, sobretudo em amostras com teores mais baixos e mais altos, sugerindo alguma tendência à subestimação, consistente com o *bias* positivo reportado na tabela 33.

No gráfico de Resíduos (figura 63B), os resíduos distribuem-se de forma aproximadamente simétrica em torno de zero, sem indícios visuais de viés sistemático, o que indica que o modelo não comete erros sistemáticos evidentes. Ainda assim, a

largura da distribuição sugere variação considerável entre amostras, refletindo os valores moderados de RMSEP.

O gráfico H Global (figura 63C) mostra que a maioria das amostras apresenta valores de H dentro de limites aceitáveis, não se observando amostras com influência excessiva no modelo. Esta distribuição indica que o modelo se encontra bem ajustado ao conjunto de dados, com uma boa dispersão das amostras no espaço multidimensional, e sem presença de *outliers* com elevada influência.

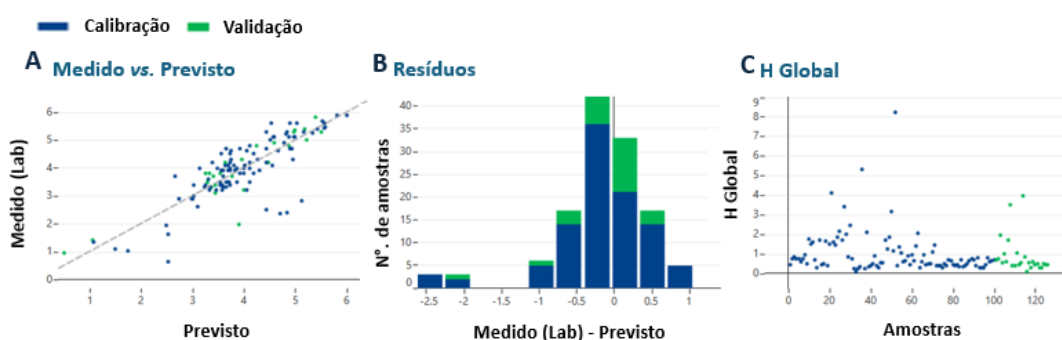


Figura 63 Avaliação do modelo de calibração do fósforo para a farinha de carne com o *software Foss Calibrator*. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

O modelo de previsão do teor de fósforo na farinha de carne apresenta um desempenho moderado. Na tabela 34 é possível observar o coeficiente de determinação global (R^2) de 0,69, refletindo uma correlação apenas razoável entre os valores previstos e os medidos. Esta limitação está em parte associada à natureza do fósforo na matriz, cuja detecção pelo NIR ocorre de forma indireta, através da correlação com constituintes orgânicos, resultando numa resposta espectral menos específica. Apesar disso, a validação revela um comportamento superior ($R^2 = 0,82$), sugerindo que, em novas amostras, o modelo é capaz de manter uma certa estabilidade. A inclinação da reta de regressão ($slope = 0,98$), próxima de 1, e o intercepto (0,09) indicam um alinhamento relativamente bom com a linha ideal, embora persista uma ligeira tendência para subestimação, corroborada pelo *bias* positivo de 0,011. O erro de previsão global (RMSEP) de 0,637 é compatível com a amplitude dos teores analisados, indicando uma precisão moderada para aplicações práticas. No entanto, considerando a detecção indireta do fósforo e a variabilidade natural da farinha de carne, o desempenho do modelo poderá beneficiar de uma expansão da base de calibração, especialmente com amostras que cubram uma maior diversidade composicional.

Tabela 34 Resultados estatísticos de calibração para o fósforo em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (slope/intercept)	Bias	R^2
Todas selecionadas	126	0,637	0,98/ 0,09	0,011	0,69
Calibração (Fósforo)	100	0,665	1,00/ 0,00	0,000	0,65
Validação (Fósforo)	26	0,516	0,93/ 0,31	0,053	0,82

Cálcio

O gráfico “Medido *versus* Previsto” (figura 64A) mostra uma dispersão moderada dos pontos em torno da linha ideal, com maiores desvios associados às amostras de valores extremos. Esta tendência é corroborada pelo histograma dos resíduos (figura 64B), que apresenta uma distribuição assimétrica e um aumento de valores residuais em gamas específicas, apontando para alguma variabilidade nos erros. No gráfico “H Global” (figura 64C), observa-se que a maioria das amostras se situam dentro dos limites de influência ($H < 3$), embora algumas amostras com valores mais elevados possam indicar um impacto maior na estabilidade do modelo.

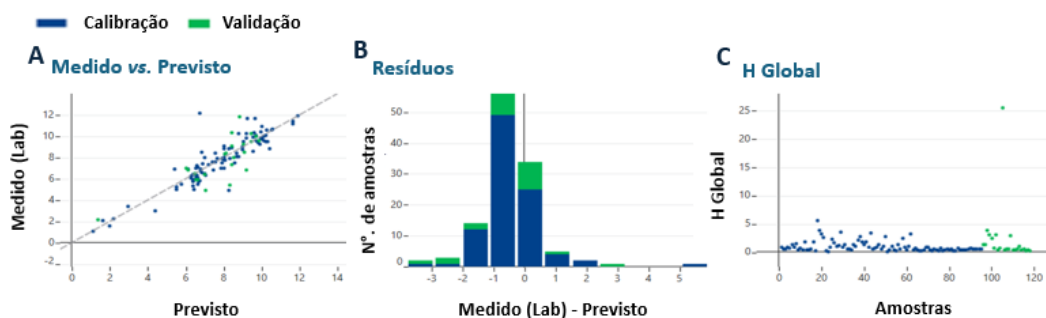


Figura 64 Avaliação do modelo de calibração do cálcio para a farinha de carne com o *software* Foss Calibrator. **(A)** Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; **(B)** Distribuição dos resíduos; **(C)** Gráfico “H Global”.

Em análise da tabela 35, o modelo de previsão para o teor de cálcio apresenta uma capacidade de previsão moderada, com um coeficiente de determinação global (R^2) de 0,79, sugerindo uma correlação aceitável entre os valores previstos e os valores laboratoriais. No entanto, observa-se uma quebra de desempenho na validação (R^2) de 0,64, indicando uma diminuição da robustez quando o modelo é aplicado a novas amostras. Este comportamento é relativamente esperado, dado que o cálcio é um componente mineral cuja determinação por NIR ocorre de forma indireta, através da associação com compostos orgânicos, o que limita a sensibilidade espectral. A inclinação da reta de regressão ($slope = 0,99$) próxima de 1 e o valor do intercepto (0,05) indicam um alinhamento satisfatório com a linha ideal, embora com uma ligeira subestimação nas previsões, como evidenciado pelo *bias* global negativo (-0,016). Este desvio, ainda que pequeno, torna-se mais acentuado na fase de validação ($bias = -0,083$), sugerindo que o modelo tende a subestimar ligeiramente os teores de cálcio em novas amostras.

Tabela 35 Resultados estatísticos de calibração para o cálcio em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ intercepção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Intercepção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	118	1,041	0,99/ 0,05	-0,016	0,79
Calibração (Cálcio)	95	0,975	1,00/ 0,00	0,000	0,82
Validação (Cálcio)	23	1,275	0,95/ 0,34	-0,083	0,64

Cloretos

O gráfico “Medido versus Previsto” (figura 65A) mostra uma dispersão considerável dos pontos em torno da linha de identidade, sobretudo em concentrações mais elevadas, comprometendo a robustez do modelo. O histograma dos resíduos (Figura 65B) evidencia assimetrias e caudas alargadas, sinalizando variabilidade nos erros de previsão. No gráfico “H Global” (figura 65C), a presença de algumas amostras com elevada influência estatística reforça a suspeita de heterogeneidade amostral, que pode estar a condicionar a estabilidade do modelo.

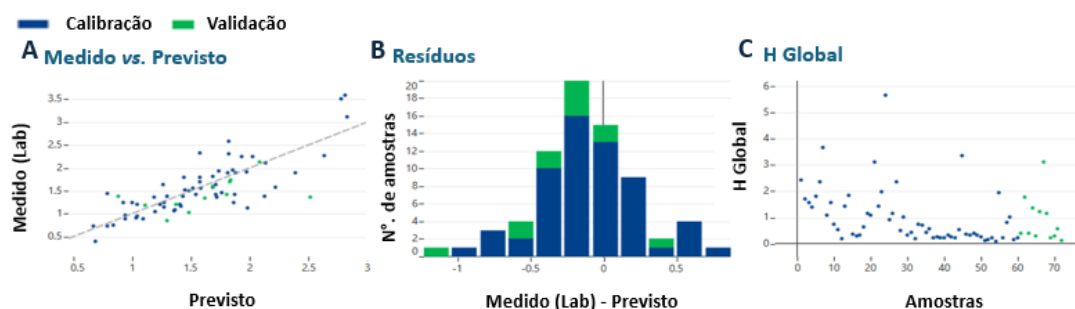


Figura 65 Avaliação do modelo de calibração de cloretos para a farinha de carne com o *software Foss Calibrator*. (A) Gráfico de dispersão “Medido vs. Previsto”; (B) Distribuição dos resíduos; (C) Gráfico “H Global”.

Na tabela 36, é possível observar que o modelo de previsão para o teor de cloretos na farinha de carne apresenta uma capacidade de previsão limitada, como evidenciado pelo coeficiente de determinação global (R^2) de 0,62, apontando para uma correlação moderada entre os valores previstos e os laboratoriais. A validação, com um R^2 de apenas 0,27, revela uma quebra substancial de desempenho em novas amostras, estes resultados podem ser justificados pela baixa representatividade amostral, sobretudo considerando o reduzido número de amostras de validação ($n=12$), e pela possível fraca absorção espectral dos cloretos na região NIR, já que estes são compostos iónicos cuja resposta no infravermelho próximo é limitada.

A inclinação global ($slope = 0,92$) e o bias ligeiramente negativo ($-0,036$) sugerem uma tendência discreta de subestimação, mas ainda dentro de limites aceitáveis.

Tabela 36 Resultados estatísticos de calibração para os cloretos em matérias-primas de farinha de carne, obtidos com o tratamento matemático (1-4-4-1) no *software* Foss Calibrator. Apresentam-se os valores das amostras, RMSEP, inclinação/ interceção, *bias* e coeficiente de determinação (R^2) para os conjuntos de calibração, validação e total.

Conjunto de amostras	N amostras	RMSEP	Inclinação/ Interceção (<i>slope/intercept</i>)	<i>Bias</i>	R^2
Todas selecionadas	72	0,364	0,92/ 0,09	-0,036	0,62
Calibração (Cloretos)	60	0,349	1,00/ 0,00	0,000	0,68
Validação (Cloretos)	12	0,433	0,41/ 0,75	-0,216	0,27

11. Validação dos modelos de previsão

Após a construção dos modelos de calibração com base nos dados espectrais e de referência, procedeu-se à sua validação, etapa essencial para verificar a robustez e a capacidade de generalização dos modelos quando aplicados a novos dados.

Neste contexto, foram realizadas duas abordagens complementares de validação:

- ✓ **Validação interna**, efetuada com amostras independentes não utilizadas na calibração, mas analisadas internamente pelo NIR, com o objetivo de testar a capacidade do modelo em prever com precisão novas amostras da mesma origem;
- ✓ **Validação externa**, realizada com amostras de ensaios interlaboratoriais fornecidas pela *QualimaC* - Barcelona, permitindo avaliar o desempenho dos modelos NIR em condições reais de rotina e com matrizes mais diversas.

Como exemplo prático da validação externa, foram utilizadas amostras de DDG de milho fornecidas pela ASFAC, previamente analisadas por métodos laboratoriais de referência. Essas amostras foram submetidas ao NIR, e os resultados obtidos foram comparados com os valores de referência, permitindo aferir a exatidão, precisão e robustez dos modelos desenvolvidos.

A ASFAC, enquanto entidade responsável pela organização dos ensaios de aptidão, assegura que as amostras analisadas possuem homogeneidade e estabilidade adequadas, garantindo uma base fiável para a validação externa. Esta abordagem reforça a confiança nos modelos NIR como ferramentas eficazes para aplicação laboratorial de rotina.

Após a construção dos modelos de calibração com base nos dados espectrais e de referência, procedeu-se à validação dos mesmos com o objetivo de avaliar o seu desempenho de previsão em amostras independentes. Esta etapa é essencial para verificar a robustez e a generalização dos modelos quando aplicados a novos dados.

11.1. Ovinos e Caprinos

Para a validação interna dos modelos de previsão desenvolvidos, foram utilizadas amostras de ovinos e caprinos que não integraram a base de calibração. Estas amostras foram analisadas por espectroscopia NIR e, em paralelo, por métodos laboratoriais de referência (químicos), permitindo comparar diretamente os resultados obtidos por ambas as metodologias. De forma geral, observou-se uma boa correspondência entre os valores previstos pelo NIR e os valores determinados por via laboratorial. Esta proximidade demonstra que o modelo apresenta boa capacidade de generalização quando aplicado a novos dados. Embora existam pequenas variações entre os métodos, o que é expectável dado o carácter indireto da técnica NIR e a complexidade da matriz alimentar, os resultados confirmam a robustez do modelo e a sua aplicabilidade na previsão de teores em amostras independentes. Assim, a validação interna evidencia a fiabilidade do modelo desenvolvido, reforçando o seu potencial para uso de rotina em análises rápidas e não destrutivas.

A tabela 37 apresenta os valores para a comparação entre os valores previstos por NIR (modelo 1-4-4-1) e os valores obtidos por métodos de referência, para diferentes constituintes nutricionais de amostras de ovinos e caprinos não incluídas na calibração, permitindo avaliar a exatidão e a robustez do modelo na validação interna.

Tabela 37 Comparação dos resultados obtidos de amostras destinadas a ovinos e caprinos analisadas por NIR (modelo 1-4-4-1) com os valores determinados por métodos de referência para os constituintes: humidade, proteína, cinza, cálcio, fósforo, gordura e fibra.

Ovinos e Caprinos														
Amostra	Tratamento Matemático (1-4-4-1) NIR							Determinação por métodos de Referência						
	Humidade (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Gordura (%)	Fibra (%)	Humidade (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Gordura (%)	Fibra (%)
5464	10,13	16,49	7,85	1,39	0,46	4,46	8,90	8,40	15,50	7,20	0,75	0,43	4,40	9,40
5465	10,57	15,22	6,66	1,09	0,47	3,75	8,12	8,10	14,80	7,60	1,59	0,39	3,00	8,60
5466	8,56	16,07	8,54	1,49	0,39	4,08	10,60	6,70	15,30	7,80	1,36	0,36	3,90	12,90
5467	11,22	15,98	6,35	1,16	0,38	4,20	4,22	8,50	15,40	6,80	1,14	0,38	4,00	5,00
5559	10,71	22,48	7,69	1,2	0,47	3,86	5,15	10,90	20,40	8,10	1,20	0,54	3,80	7,40
160	10,54	15,99	7,71	1,28	0,44	4,70	8,38	10,50	15,70	7,10	1,27	0,51	4,60	9,10
161	10,25	18,49	8,88	1,3	0,39	3,65	8,92	10,10	18,10	8,90	1,48	0,45	3,40	9,70
162	10,96	15,43	11,39	2,08	0,42	3,60	17,90	10,90	15,30	10,60	2,03	0,51	3,20	18,60
163	11,18	15,53	6,94	1,27	0,43	4,05	4,95	11,50	16,20	6,90	1,37	0,54	3,20	5,60
261	8,79	16,05	8,06	1,36	0,44	3,74	10,31	9,00	16,80	7,20	1,22	0,41	3,70	10,40
262	10,89	17,87	6,48	1,16	0,39	3,46	3,89	11,10	17,50	6,80	1,40	0,39	3,60	3,80
263	10,66	16,36	6,23	1,05	0,46	3,41	5,24	10,90	16,00	6,40	1,16	0,44	3,60	5,10
264	10,74	21,42	6,99	1,05	0,48	3,56	4,64	10,70	22,10	8,10	1,50	0,51	3,60	7,40
265	9,53	20,74	7,67	1,17	0,47	4,04	7,75	9,50	20,70	8,20	1,49	0,49	4,10	9,10
268	10,74	21,13	6,90	1,06	0,47	3,52	4,65	10,70	21,70	8,30	1,53	0,53	3,60	4,90

A tabela 38 apresenta a comparação entre os valores previstos por NIR (modelo 1-16-16-1) e os valores obtidos por métodos de referência, para diferentes constituintes nutricionais de amostras de ovinos e caprinos não incluídas na calibração.

Tabela 38 Comparação entre os resultados obtidos pelo NIR (modelo 1-16-16-1) e os resultados por métodos de referência para os constituintes nutricionais em amostras de ovinos e caprinos.

Ovinos e Caprinos														
Amostra	Tratamento Matemático (1-16-16-1) NIR							Análises de Referência (Químico)						
	Humidade (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Gordura (%)	Fibra (%)	Humidade (%)	Proteína (%)	Cinza (%)	Cálcio (%)	Fósforo (%)	Gordura (%)	Fibra (%)
5464	10,12	15,96	7,56	1,33	0,46	4,49	8,65	8,40	15,50	7,20	0,75	0,43	4,40	9,40
5465	10,50	14,81	6,62	1,08	0,47	3,87	8,01	8,10	14,80	7,60	1,59	0,39	3,00	8,60
5466	8,54	16,07	8,62	1,49	0,40	4,03	10,66	6,70	15,30	7,80	1,36	0,36	3,90	12,90
5467	11,12	16,47	6,29	1,22	0,39	4,20	4,08	8,50	15,40	6,80	1,14	0,38	4,00	5,00
5559	10,65	22,09	7,67	1,21	0,49	3,94	5,37	10,90	20,40	8,10	1,20	0,54	3,80	7,40
160	10,41	15,83	7,82	1,34	0,45	4,82	8,59	10,50	15,70	7,10	1,27	0,51	4,60	9,10
161	10,20	18,40	8,79	1,34	0,37	3,61	8,84	10,10	18,10	8,90	1,48	0,45	3,40	9,70
162	11,01	15,11	11,33	2,08	0,39	3,70	17,78	10,90	15,30	10,60	2,03	0,51	3,20	18,60
163	11,06	16,13	6,84	1,28	0,43	4,13	4,48	11,50	16,20	6,90	1,37	0,54	3,20	5,60
261	8,80	16,43	8,04	1,34	0,44	3,74	10,16	9,00	16,80	7,20	1,22	0,41	3,70	10,40
262	10,94	18,09	6,49	1,23	0,40	3,51	3,87	11,10	17,50	6,80	1,40	0,39	3,60	3,80
263	10,69	16,39	6,18	1,07	0,46	3,43	5,13	10,90	16,00	6,40	1,16	0,44	3,60	5,10
264	10,67	21,5	7,00	1,08	0,48	3,54	4,53	10,70	22,10	8,10	1,50	0,51	3,60	7,40
265	9,50	20,74	7,73	1,17	0,47	3,95	7,83	9,50	20,70	8,20	1,49	0,49	4,10	9,10
268	10,75	21,29	6,93	1,09	0,48	3,63	4,63	10,70	21,70	8,30	1,53	0,53	3,60	4,90

11.2. DDG de milho

Para o DDG de milho, a validação externa dos modelos de previsão foi realizada com amostras fornecidas pela ASFAC, submetidas tanto à análise por NIR como por métodos laboratoriais de referência. Observa-se que os valores obtidos para os diferentes constituintes apresentam uma boa concordância entre os métodos, refletindo a robustez dos modelos desenvolvidos.

No geral, os modelos (1-4-4-1 e 1-16-16-1), demonstram boa capacidade de previsão, embora existam algumas variações, estas estão dentro das margens aceitáveis para aplicações em rotina laboratorial, especialmente considerando as particularidades de cada método analítico.

A inclusão das amostras da ASFAC nesta validação confere ainda maior credibilidade ao desempenho dos modelos, demonstrando a sua aplicabilidade prática e capacidade de generalização.

A tabela 39 apresenta os resultados obtidos para as amostras de DDG de milho, permitindo a comparação entre os valores previstos por NIR (modelo 1-4-4-1), os valores determinados por métodos de referência e os fornecidos pela ASFAC, com o objetivo de avaliar a consistência entre metodologias e a fiabilidade do modelo.

Tabela 39 Comparação dos valores obtidos para amostras de DDG de milho analisadas por NIR (modelo 1-4-4-1), métodos de referência e valores fornecidos pela ASFAC.

DDG de Milho (1-16-16-1)							
	Número da amostra	Humidade (%)	Proteína (%)	Celulose Bruta (%)	Gordura Bruta (%)	Cinza (%)	Amidos (%)
NIR	01/02	12,36%	29,09%	9,39%	7,54%	4,89%	3,22%
	05/02	12,27%	29,19%	9,45%	7,43%	4,90%	3,25%
Químico	01/02	11,79%	29,41%	8,72%	5,47%	5,03%	4,96%
	05/02	11,72%	29,33%	9,16%	7,50%	5,12%	5,22%
Asfac	01/02	10,28%	29,44%	7,41%	6,30%	5,14%	5,23%
	05/02	10,46%	29,04%	7,40%	6,99%	4,81%	4,81%

A tabela 40 apresenta os resultados obtidos para as amostras de DDG de milho, permitindo a comparação entre os valores previstos por NIR (modelo 1-16-16-1), os valores determinados por métodos de referência e os fornecidos pela ASFAC, com o objetivo de avaliar a consistência entre metodologias e a fiabilidade do modelo.

Tabela 40 Comparação dos valores obtidos para amostras de DDG de milho analisadas por NIR (modelo 1-16-16-1), métodos de referência e valores fornecidos pela ASFAC.

DDG de Milho (1-4-4-1)							
	Número da amostra	Humidade (%)	Proteína (%)	Celulose Bruta (%)	Gordura Bruta (%)	Cinza (%)	Amidos (%)
NIR	01/02	12,35%	28,97%	9,39%	7,45%	4,76%	3,22%
	05/02	12,23%	29,26%	9,47%	7,54%	4,85%	3,25%
Químico	01/02	11,79%	29,41%	8,72%	5,47%	5,03%	4,96%
	05/02	11,72%	29,33%	9,16%	7,50%	5,12%	5,22%
Asfac	01/02	10,28%	29,44%	7,41%	6,30%	5,14%	5,23%
	05/02	10,46%	29,04%	7,40%	6,99%	4,81%	4,81%

12. Considerações finais

O presente estudo permitiu demonstrar o potencial da espectroscopia NIR como ferramenta de controlo de qualidade na avaliação de diferentes matérias-primas e alimentos compostos destinados à alimentação animal. A aplicação da técnica mostrou elevada capacidade de previsão para constituintes como proteína e gordura, refletindo forte interação dos grupos funcionais (N-H e C-H) com a radiação NIR e boa representatividade espectral.

Importa referir que a comparação direta dos resultados obtidos com dados disponíveis na literatura não foi possível, devido à especificidade das matrizes estudadas e à escassez de trabalhos publicados com características experimentais equivalentes. Esta limitação, contudo, não compromete a validade das calibrações desenvolvidas, que demonstraram coerência interna e consistência analítica.

Constituintes como a fibra, o amido e a humidade apresentaram desempenhos mais variáveis, influenciados por fatores inerentes à matriz, tais como heterogeneidade física, baixa concentração de alguns constituintes e limitada sensibilidade espectral em determinadas regiões do infravermelho próximo. Estes fatores condicionaram a robustez dos modelos e evidenciaram a necessidade de otimização adicional em alguns casos, nomeadamente através da ampliação do número de amostras e do ajuste de tratamentos matemáticos.

Para além da avaliação estatística dos modelos, este estudo evidencia de forma clara a aplicabilidade prática da espectroscopia NIR em contexto industrial, nomeadamente na avaliação de ingredientes de origem agroindustrial. A possibilidade de realizar análises expeditas, não destrutivas e com elevada precisão permite padronizar os resultados analíticos entre diferentes unidades de produção, o que é particularmente relevante em setores com matérias-primas de variabilidade significativa, como os subprodutos de milho e farinhas de origem animal.

Adicionalmente, a melhoria da eficiência dos processos resulta não só da rapidez das análises, mas também da capacidade de implementar ajustes em tempo real com base nos resultados obtidos. Isto traduz-se numa redução efetiva de desperdício, uma melhor gestão dos recursos e maior sustentabilidade dos processos produtivos. O

controle em linha possibilita ainda a monitorização contínua da produção, permitindo identificar desvios e agir preventivamente, melhorando a estabilidade e a qualidade dos produtos finais.

Por fim, o incremento da competitividade das empresas é uma consequência natural da aplicação destas tecnologias, ao viabilizar um controlo de qualidade mais rigoroso, com menores custos laboratoriais e maior rapidez de resposta às exigências dos mercados.

A integração de soluções baseadas em espectroscopia NIR constitui uma abordagem tecnológica promissora, com elevado valor científico e operacional no setor agroalimentar, contribuindo de forma efetiva para sistemas de produção mais sustentáveis, eficientes e robustos.

Para futuros trabalhos, destaca-se a relevância de incorporar a deteção de micotoxinas em modelos NIR, validando-os por métodos de referência como HPLC, de forma a garantir solidez estatística e credibilidade analítica.

Paralelamente, o reforço das calibrações atuais, através do aumento do número de amostras, maior diversidade de matérias-primas e aplicação de algoritmos avançados em quimiometria, permitirá elevar a robustez, dos modelos. Esta evolução poderá consolidar a espectroscopia NIR como ferramenta não apenas nutricional, mas também de monitorização de segurança alimentar no contexto industrial.

13. Referências Bibliográficas

- Agrocerees Multimix. (2019, 6 de março). *Nutrição Animal: Bovinos, Suínos e Aves*.
<https://agrocereesmultimix.com.br/blog/nutricao-animal/>.
- Alves, A. C. (2023). Desenvolvimento de um modelo de calibração MPLS-NIR para um alimento para animal (Dissertação de mestrado, Universidade do Porto).
Universidade do Porto.
- AviNews Brasil. (2024). A importância do uso do NIRS na produção animal. (agriNews,
<https://avinews.com/pt-br/a-importancia-do-uso-do-nirs-na-producao-animal/>).
- Bittar, C. M. (s.d.). *NIRS e sua Aplicação na Determinação do Valor Nutritivo*
[Apresentação de slides]. III Jornada Técnica NIR - LZT 0580: Análise e
Composição de Alimentos, ESALQ/ USP.
- BUCHI. (s.d.). Tecnologia NIR: Espectroscopia de infravermelho próximo.
<https://www.buchi.com/pt/knowledge/tecnologias/nir>.
- Caprita, R., Caprita, A., & Cretescu, I. (2010). Laboratory Procedures for Assessing Quality
of Soybean Meal. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 43, 375-
378.
https://www.usabtm.ro/fileadmin/fzb/Simp%202010/vol1/FUNDAMENTAL_SCIENCES_IN_ANIMAL_HUSBANDRY/BIOCHEMISTRY,BIOPHYSICS,MATHEMATICS/Caprita2.pdf.
- Cosmo, B. M. N., & Galeriani, T. M. (2020). Minerais na alimentação animal. *Revista Agronomia Brasileira*, 4, 1-9. <https://doi.org/10.29372/rab202011>.

- Direção-Geral De Alimentação e Veterinária (2014). *Água de Qualidade Adequada para Alimentação Animal Guia de Boas Práticas*. <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/08/Guia-de-boas-praticas-Agua-de-Qualidade-Adequada-na-Alimentacao-Animal-.pdf>.
- Ferreira, M. M. C. (2015). *Quimiometria - Conceitos, Métodos e Aplicações*. Editora da UNICAMP.
- FOSS. (2018). *Boas práticas de calibração de instrumentos NIR com modelos globais* [Manual Técnico]. <https://www.fossanalytics.com/>
- FOSS. (s.d.). *FossCalibrator™ e FossCalibrator™ Pro* [Software]. <https://www.fossanalytics.com/products/fosscalibrator-and-fosscalibrator-pro>.
- IACA. (s.d.-a). *Consumo de matérias-primas em 2023*. <https://www.iaca.pt/sector-consumo/>
- IACA. (s.d.-b). *CT 37*. IACA. <https://www.iaca.pt/ct-37/>
- IACA. (s.d.-c). *Produção de alimentos compostos para animais em 2023*.
- IACA. (s.d.-d). *QUALIACA – IACA e DGAV assinam Protocolo de Cooperação*. <https://www.iaca.pt/qualiaca-protocolo-cooperacao/>.
- IACA. (s.d.-e). *Secção de pré-misturas e aditivos*. <https://www.iaca.pt/quem-somos-seccao-de-pre-misturas-e-aditivos/>
- Instrulab. (s.d.). *A técnica NIR aplicada a alimentos* [E-book]. <http://www.instrulab.com.br/assets/downloads/ebooktecnicaniraplicadaaalimentospdf-4c929.pdf>.
- Jansà, M. G. (2011). *Determinaciones Cuantitativas de la Composición de Yogures por Tecnología NIRS* [Tese de mestrado]. Universidade Pública de Navarra.

- Marcos, N. A. (2020). Eficiência de uso da energia metabolizável por caprinos em crescimento (Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa).
Universidade Federal Viçosa.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., & Wilkinson, R. G. (2010). *Animal Nutrition* (7ª ed.). Pearson Education Limited.
- Mendonça, H. A. C. (2018). *Fontes de Fósforo na alimentação animal - Revisão de Literatura* [Monografia de graduação, Universidade de Brasília].
https://bdm.unb.br/bitstream/10483/24163/1/2018_HenriqueAlencarCarneiroDeMendonca.pdf
- Mihahjev, Z. A., Jaksic, S. M., Prica, N. B., Cupic, Z. N., & Zivkov-Balos, M. M. (2015). *Comparison of the Kjeldahl method, Dumas method and NIR method for total nitrogen determination in meat and meat products. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 21(4), 365-370.
- Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2012). *Introduction to Linear Regression Analysis* (5ª ed.). Wiley.
- Moreira, W. (2025, 21 de fevereiro). *Como o Uso de NIRS Auxilia na Determinação da Qualidade da Matéria-Prima na Indústria de Nutrição Animal*. LinkedIn.
- Muñiz, G. I. B. de., Magalhães, W. L. E., Carneiro, M. E., & Viana, L. C. (2012). Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. *Ciência Florestal*, 22(4), 865-875.
<https://www.redalyc.org/pdf/534/53424836020.pdf>
- Oliveira, B. (2022). *Técnica de regressão PLS e PCR: metodologias e aplicação* [Dissertação de Mestrado, Universidade do Minho].

- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14(2), 198-219.
<https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006>
- Pasquini, C. (2018). Princípios da espectroscopia no infravermelho próximo. In C. S. Tibola, E. P. de Medeiros, M. L. F. Simeone, & M. A. de Oliveira (Eds.), *Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos*. (pp. 14-39). Embrapa.
- Qu, J. H., Liu, D., Cheng, J. H., Sun, D. W., Ma, J., Pu, H., & Zeng, X. A. (2015). *Applications of near-infrared spectroscopy in food safety evaluation and control: A review of recent research advances*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(13), 1939-1954. <https://doi.org/10.10180/10408398.2013.871693>
- Reddy, P. B., Rathode, K. N., Harani, M., Das, T., & Namdeo, S. (2023). Analysis of Feed and Fodder by Using Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS). In *Técnicas analíticas avançadas em nutrição animal* (pp. 63-74). AkiNik Publications.
- Ribeiro Claro, P. (2017). Espectroscopia. *Revista de Ciência Elementar*, 5(4).
<https://doi.org/10.24927/rce2017.052>.
- Risco, F. L. M. (2016). *Predicción de la Composición Química de Harina de Sangre Bovina Mediante Espectroscopia de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano (NIRS)* [Dissertação de Mestrado, Universidade Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza do Amazonas].

- Santos-Rivera, M. (2022). *The spectral range for NIRS in the electromagnetic spectrum* [Imagem]. In *Novas estratégias em espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) e análise multivariada (MVA) para detecção e criação de perfis de patógenos e doenças de importância agrícola* [Tese de Mestrado]. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/The-spectral-range-for-NIRS-in-the-electromagnetic-spectrum_fig2_370770773.
- Sena, M. M. de., & Almeida, M. R. de. (2018). Quimiometria aplicada aos dados espectrais no infravermelho próximo. In C. S. Tibola, E. P. de Medeiros, M. L. F. Simeone, & M. A. de Oliveira (Eds.), *Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos*. (pp. 32-50) Embrapa.
- Silva, D. J., & Queiroz, A. C. de. (2005). *Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos* (3ª ed.). Editora UFV.
- Simeone, M. L. F., Pimentel, M. A. G., Neto, M. M. G., Paes, M. C. D., & Silva, D. D. da. (2018). Uso da Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Calibração Multivariada para Avaliar a Composição Química do Milho. In C. S. Tibola, E. P. de Medeiros, M. L. F. Simeone, & M. A. de Oliveira (Eds.), *Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos* (pp. 52-62). Embrapa.
- Soletto, F. (2020, 14 de outubro). *Técnicas PCA, PCR e PLS - Visão Geral*. LinkedIn. <https://www.linkedin.com/pulse/técnicas-pca-pcr-e-pls-visão-geral-francisco-falla-sotelo/>.

Tibola, C. S., Miranda, M. Z. de., & Guarienti, E. M. (2018). Avaliação de Parâmetros de Qualidade de Trigo por Espectroscopia no Infravermelho Próximo. In C. S. Tibola, E. P. de Medeiros, M. L. F. Simeone, & M. A. de Oliveira (Eds.), *Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos* (pp. 77-94). Embrapa.

TNA. (s.d.). *TNA- Portal institucional*. <https://tna.pt>.

Tonissi, R. H., Goes, B. Silva, L. H. X., & Souza, K. A. (2013). *Alimentos e Alimentação Animal*. Editora UFGD.

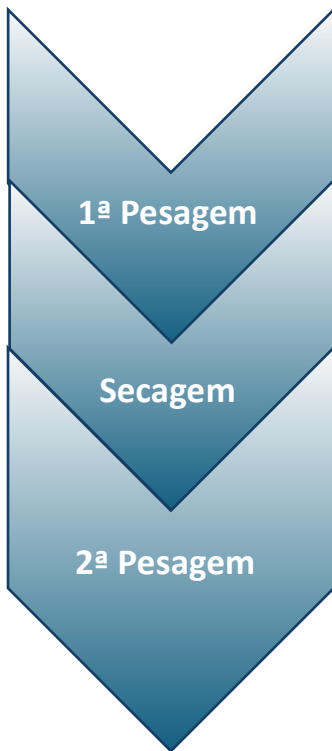
Wikipedia contributors. (2020). Near-infrared spectroscopy. In *Wikipedia*. https://en.wikipedia.org/wiki/Near-infrared_spectroscopy.

Williams, P., & Norris, K. (Eds.). (2001). *Near - infrared technology in the agricultural and food industries* (2^a ed.). AACC International.

ANEXO I

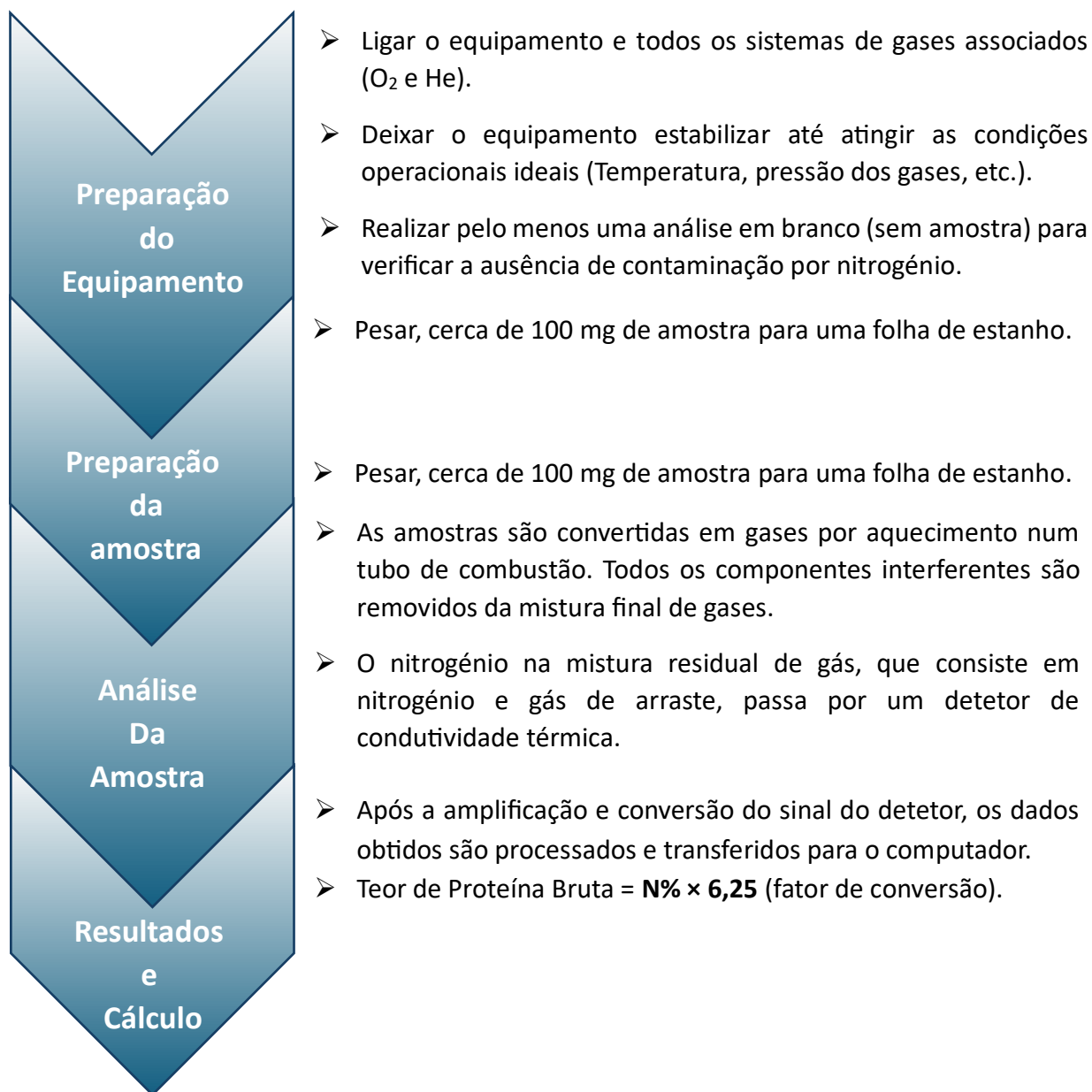
I.1. Fluxogramas dos Métodos de Referência para cada Parâmetro Nutricional:

I.1.1. Humidade (NP 875)



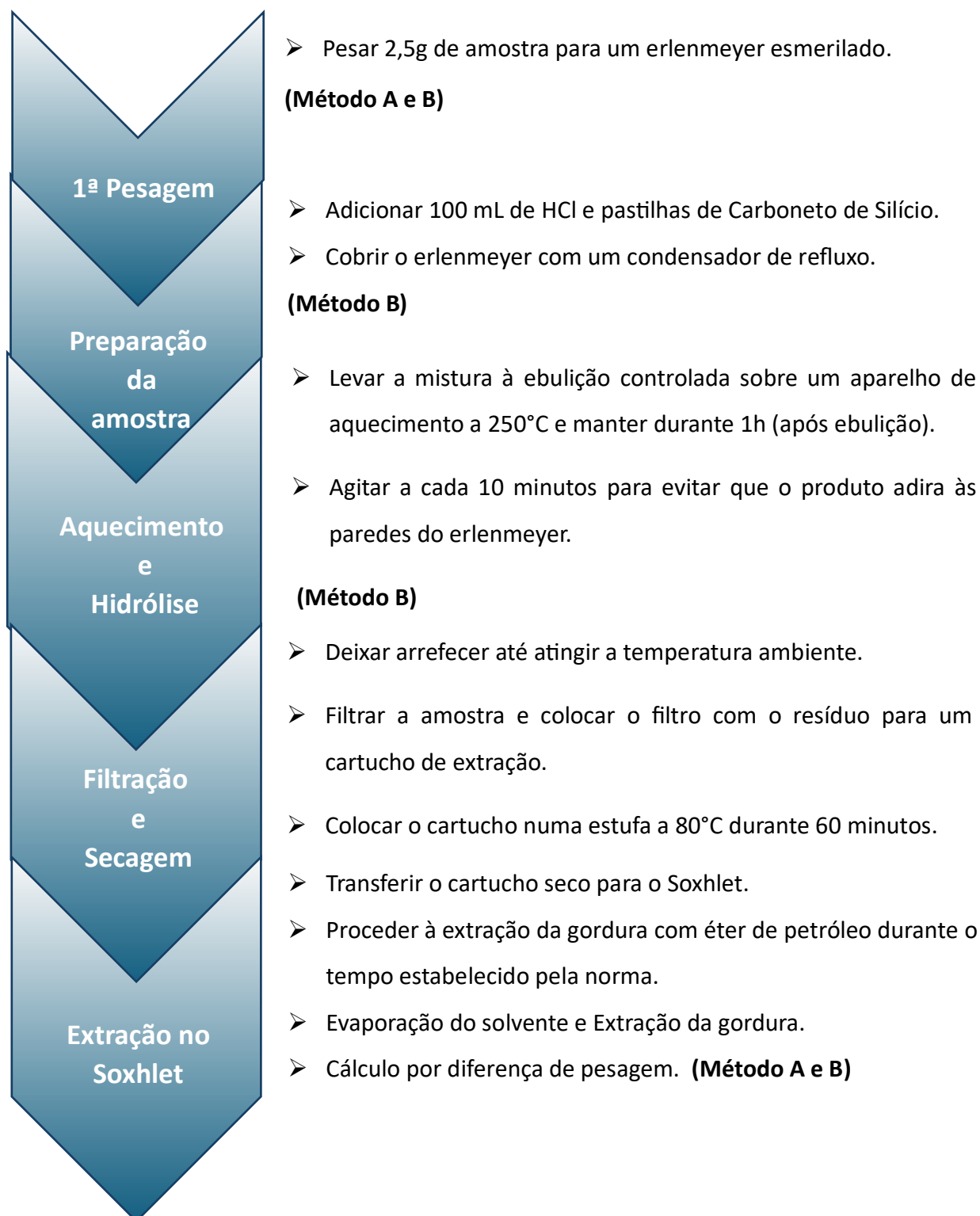
- Talar previamente a cápsula com a tampa.
- Pesar, aproximadamente, 5g de amostra para a cápsula.
- Colocar numa estufa a $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 4 horas.
- Retirar da estufa e colocar num exsicador a arrefecer durante 3/4h.
- Após o arrefecimento, pesar.
- Efetuar os cálculos.

I.1.2. Determinação do teor de azoto total, por combustão, segundo o método de Dumas e Cálculo do teor de Proteína Bruta (NP EN ISO 16634-1 2009)



I.1.3. Determinação do teor de gordura (NP ISO 6492 2014)

Método A (170 – sem hidrólise) e Método B (180 – com hidrólise)

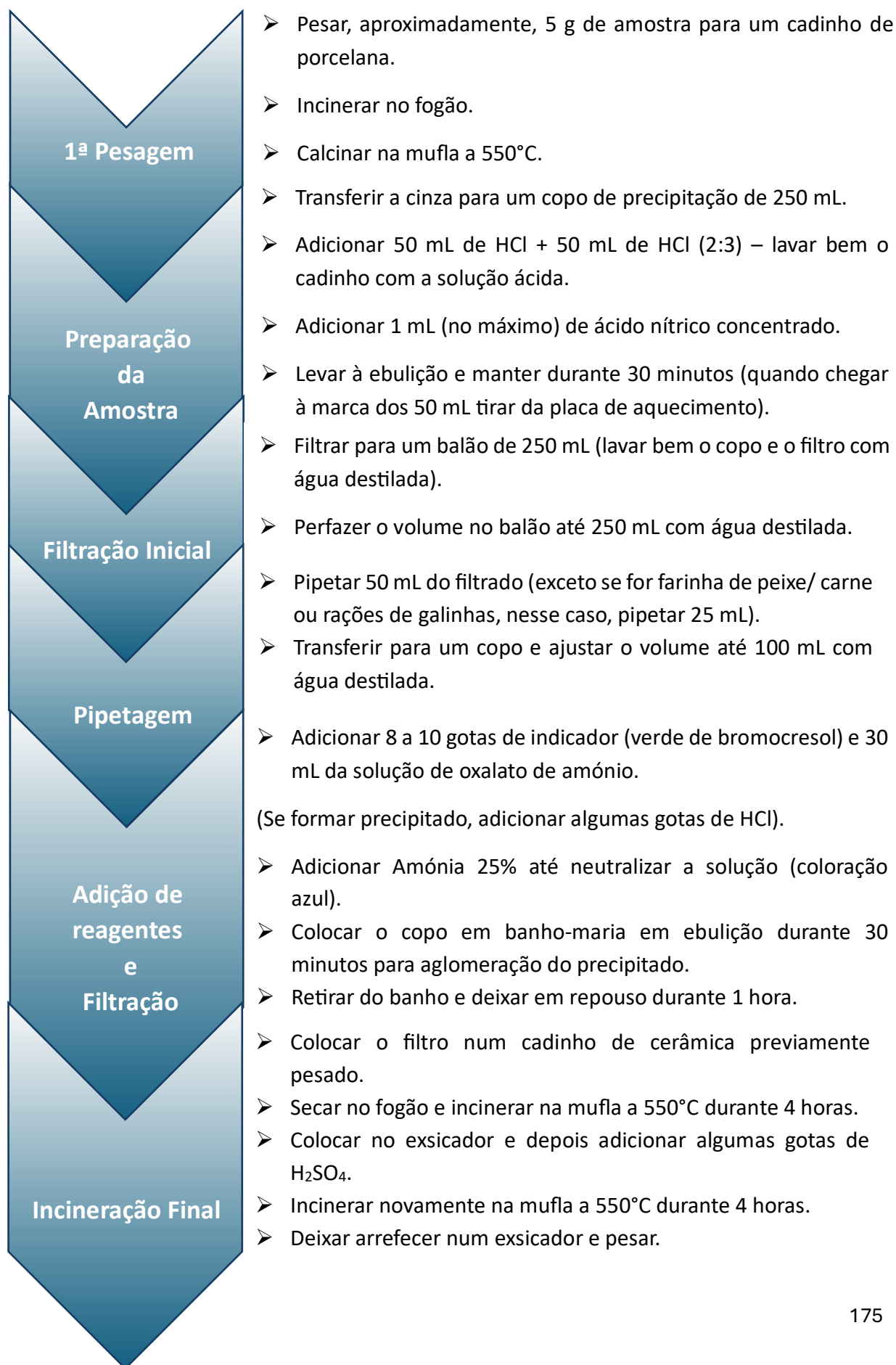


I.1.4. Determinação da Cinza Bruta (NP ISO 5984)

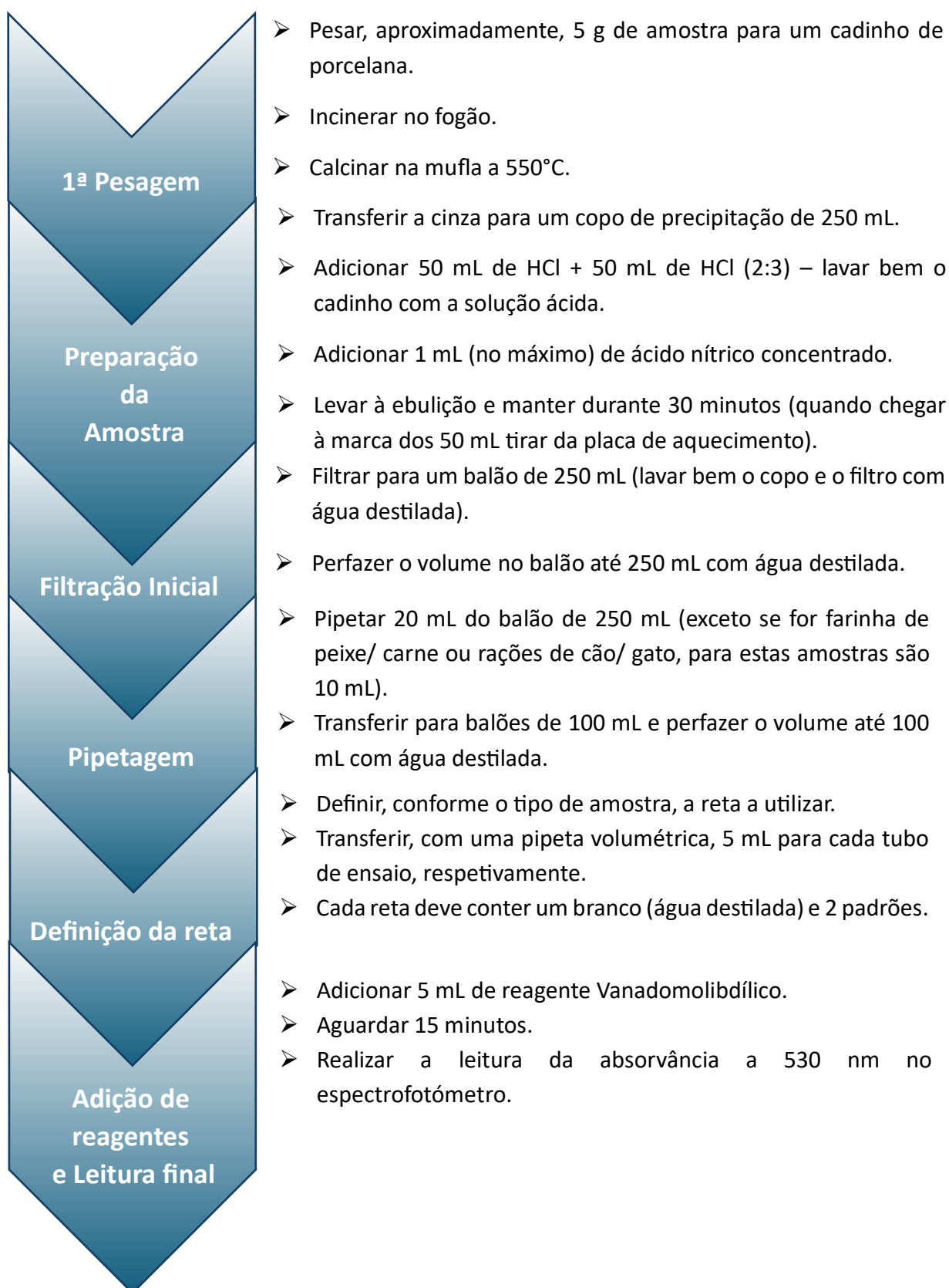


- Pesar 5g de amostra para um cadinho (cápsula de incineração).
- Colocar o cadinho contendo a amostra numa placa elétrica ou num queimador a gás e aquecer lentamente até à carbonização da amostra.
- Transferir o cadinho para a mufla a 550°C e deixar durante 3 horas (no caso de se verificar que a cinza ainda não está isenta de partículas de carbono deixar mais 1 hora).
- Arrefecer num exsiccador e depois pesar para se efetuar os cálculos.

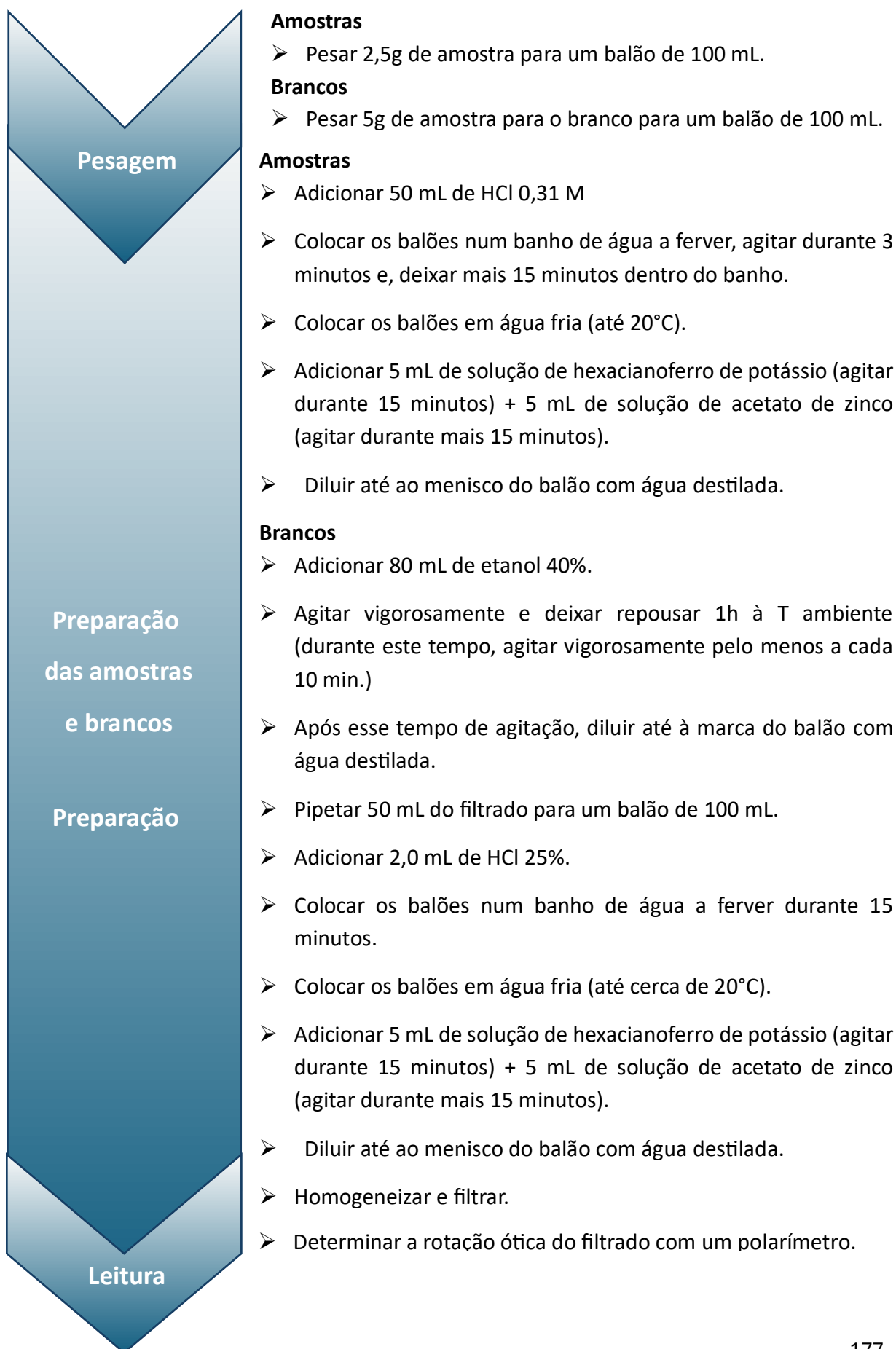
I.1.5. Determinação do teor de Cálcio: Método Volumétrico, processo corrente (NP-1786 1985)



I.1.6. Determinação de Fósforo (NP 874 2000)



I.1.7. Determinação do teor de Amido – Método Polarimétrico (NP ISO 6493 2020)



I.1.8. Determinação do teor de Cloretos solúveis na água: Método Titulométrico (NP ISO 6495-1 2018)

