

LOUISE BERGAMIN ATHAYDE DE SOUZA

**METODOLOGIA DOS LIMIARES HEDÔNICOS VARIANDO DOIS
ESTÍMULOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

S729m
2017

Souza, Louise Bergamin Athayde de, 1992-
Metodologia dos limiares hedônicos variando dois
estímulos / Louise Bergamin Athayde de Souza. – Viçosa, MG,
2017.

x, 33f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Valéria Paula Rodrigues Minim.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Hambúrgueres. 3. Sódio.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia
de Alimentos. Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos. II. Título.

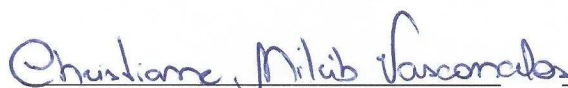
CDD 22 ed. 664

LOUISE BERGAMIN ATHAYDE DE SOUZA

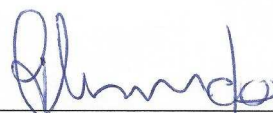
**METODOLOGIA DOS LIMIARES HEDÔNICOS VARIANDO DOIS
ESTÍMULOS**

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

APROVADA: 05 de Abril de 2017.



Christiane Miléib Vasconcelos



Tarcísio Lima Filho
(Coorientador)



Suzana Maria Della Lucia
(Coorientadora)



Valéria Paula Rodrigues Minim
(Orientadora)

Em memória dos meus avós Luis e Rosalina.

À minha mãe e minhas irmãs.

A Deus.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.” (Charles Chaplin).

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Valéria Paula Rodrigues Minim por me receber sob sua orientação, por todos os ensinamentos, correções, amizade e todo apoio prestado para a realização desse trabalho.

Ao meu coorientador Tarcísio Lima Filho que não mediu esforços para o desenvolvimento desse projeto, obrigada por todas as ideias, por todo auxílio para a execução das análises, por todas as correções e a imensa atenção dada a este trabalho.

À minha coorientadora Suzana Maria Della Lucia por todo auxílio, correções e atenção.

À Christiane Mileib Vasconcelos por toda a ajuda prestada, por toda atenção, correções e conselhos, você foi muito importante para a finalização deste projeto.

A todos os amigos e estagiários envolvidos nessa pesquisa: Nalini, Remio, Iara, Petiara, Pedro, Ana, Matheus, Katia, Elloá, Tarcísio, Raphael, Patrick, Gabriel, Pamela, Eduardo, Filipe, Clarissa, Francine, Matheus, Laura, Nathália, Ricardo, Danilo, Thomas, e todos os demais.

À minha mãe que não mediu esforços para que eu pudesse realizar esse sonho.

À minhas irmãs por todo apoio, carinho e amor.

Ao meu ai, por todo incentivo, apoio e amor.

À Joana e Donizete por terem me recebida como filha e terem me dado todo amor, carinho e apoio que necessitei fora de casa, tornando minha estadia nessa cidade muito melhor.

À Janayna e Manoel por toda amizade, companheirismo e amor.

Aos meus grandes amigos Lucidarce e Danilo por toda amizade, dicas, conselhos e paciência.

A todas as pessoas que eu conheci nessa trajetória de dois anos e, que de alguma forma me auxiliaram na construção desse sonho, sou grata por cada amigo feito e conselhos, pelos professores e seus ensinamentos, pelos funcionários e sua ajuda, pelos participantes da pesquisa.

Obrigada à todos que participaram direta ou indiretamente. Esse trabalho não seria possível sem vocês.

Por fim, agradeço principalmente à Deus por me dar forças e sempre estar ao meu lado.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
2.1. Limiares Sensoriais	2
2.2. Consumo de sódio.....	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
3.1. Delineamento experimental.....	9
3.2. Preparo dos hambúrgueres	9
3.3. Consumidores	11
3.4. Análise Sensorial	11
3.5. Análises estatísticas	13
3.5.1. Limiar de rejeição hedônica (LRH)	13
3.5.2. Limiar de aceitação comprometida (LAC)	14
4. RESULTADOS.....	16
4.1. Limiar de rejeição hedônica (LRH)	16
4.2. Limiar de aceitação comprometida (LAC)	18
4.3. Limiar de aceitação favorecida (LAF)	20
5. DISCUSSÃO.....	22
5.1. Limiar de Rejeição Hedônica (LRH).....	22
5.2. Limiar de Aceitação comprometida (LAC)	23
5.2.1. Limiar de Aceitação Favorecida (LAF)	24
6. CONCLUSÃO	26
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

RESUMO

SOUZA, LOUISE BERGAMIN ATHAYDE, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2017. **Metodologia dos Limiares Hedônicos Variando dois estímulos.** Orientadora: Valéria Paula Rodrigues Minim. Coorientadores: Suzana Maria Della Lucia e Tarcísio Lima Filho

Dentre as metodologias de limiares afetivos, destaca-se a proposta por Lima Filho et al. (2015) denominada Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH), que inclui dois novos limiares afetivos: o Limiar de Aceitação Comprometida (LAC) que indica a intensidade do estímulo na qual começa a ocorrer redução significativa ($p \leq 0,05$) da aceitação do produto em relação à amostra controle e o Limiar de Rejeição Hedônica (LRH) que indica a intensidade do estímulo que resulta em rejeição sensorial do produto pelo consumidor, que foram estudados variando um estímulo. Neste estudo, propôs-se avaliar a MLH quando dois estímulos são variados (MLHE₂). Os estímulos estudados foram concentração de sódio e de alho em pó em hambúrguer, com objetivo de reduzir o teor de sódio. A redução de sódio em alimentos processados tem sido buscada por diversos países por seu consumo excessivo estar relacionado à diversas doenças. A combinação de estímulos que levou ao menor teor de sódio para o LAC de interesse (LACi) foi: 0,25% de sódio e 0,96% de alho em pó - redução de quase 70%, se comparado ao controle (0,827% de sódio e 0% de alho em pó). Para o LRH de interesse (LRHi), a combinação que permitiu maior redução de sódio foi: 0,11% de sódio e 0,99% de alho em pó, reduzindo, portanto, quase 87% do teor de sódio quando comparado ao controle. Um novo limiar foi encontrado nesse estudo, denominado Limiar de Aceitação Favorecida (LAF), que representa as intensidades de estímulos em que começa a ocorrer maior aceitação sensorial quando comparada à amostra controle ($p \leq 0,05$); esse limiar possibilita variar os estímulos e ainda melhorar a aceitação do produto. A combinação de estímulos referentes ao LAF com menor teor de sódio (LAF de interesse) foi de: 0,37% de sódio e 0,96% de alho em pó. Portanto, é possível reduzir 55% de sódio e ainda aumentar a aceitação do produto quando comparado à amostra controle ($p \leq 0,05$). A Metodologia dos Limiares Hedônicos variando dois estímulos (MLHE₂) obteve importantes resultados quando aplicada ao hambúrguer, demonstrando que a redução de quase 70% de sódio pode ser utilizada sem afetar a aceitação sensorial

do produto (LACi). Ainda, é possível reduzir quase 87% e manter a aceitação do produto (LRHi) e com a determinação do novo limiar (LAF) descobriu-se que reduções de sódio de até 55%, combinado com adição de alho em pó, podem ainda favorecer a aceitação sensorial do produto (LAFi).

ABSTRACT

SOUZA, Louise Bergamin Athayde, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2017. **Hedonic Threshold methodology varying two stimuli.** Advisor: Valéria Paula Rodrigues Minim. Co-advisors: Suzana Maria Della Lucia and Tarcísio Lima Filho

Among the new methodologies of affective threshold, the one proposed by Lima Filho et al. in 2015 stands out. It was named Hedonic Threshold Methodology (HTM), which includes two new affective thresholds: the Compromised Acceptance Threshold (CAT) which indicates the intensity of stimulus that there is a significant reduction ($p \leq 0,05$) in the acceptance of the product compared to the control sample and the Hedonic Rejection Threshold (HRT) which indicates the intensity of stimulus that results in a sensorial rejection of the product by the consumer, which were studied varying one stimulus, which were studied varying only one stimulus. In this study, it was proposed to evaluate the HTM when two stimuli are varied (HTM2S). The studied stimuli were the sodium and garlic powder concentrations in hamburgers aiming the reduction of sodium content. The reduction of this element in processed food has been sought in different countries due to various diseases be related to its excessive consumption. The combination of stimuli that resulted in lower sodium content for the CAT (CAT of interest) was: 0,25% of sodium and 0,96% of garlic powder - a reduction of approximately 70% compared to the control (0,827% of sodium and 0% of garlic powder). For the HRT, the combination that allowed the most significant sodium reduction (HRT of interest) was: 0,11% of sodium and 0,99% of garlic powder, which reduced almost 87% the amount of sodium compared to the control. A new threshold was found in this study named Favored Acceptance Threshold (FAT), which represents the intensity of stimuli in which it begins to have greater acceptance than the control sample ($P < 0,05$), this threshold allows to vary stimuli and yet improve the acceptance of the product. The combination of stimuli that refers to FAT with the lowest sodium content (FAT of interest) was: 0,37% of sodium and 0,96% of garlic powder, this combination allowed a reduction of 55% of this element and yet improve the acceptance of the product when compared to the sample control ($p < 0,05$). The Methodology of hedonic thresholds varying two stimuli (HTM2S) obtained excellent results when it is applied to hamburger, which shows that a reduction of almost 70% can be used without affecting the sensory acceptance of the product (CATi); It is possible to reduce almost

87% and yet keep the acceptance of the product (HRTi) and using the new threshold (FAT) it was found that reductions of sodium up to 55% may yet favor a sensory acceptance of the product (LAFi).

1. INTRODUÇÃO

As aplicações dos limiares em análise sensorial de alimentos englobam: A determinação de substâncias químicas e suas intensidades (estímulos); a indicação de um limite para a presença de contaminantes ou sabores indesejáveis no produto; a seleção, o treinamento e a investigação da sensibilidade de avaliadores; entre outras (Lawless & Heymann, 2010). Entretanto, os estudos utilizando os limiares tradicionais (limiar de detecção, limiar de reconhecimento, limiar de diferença e limiar terminal) geram uma pobre estimativa da intensidade em que determinado estímulo (ativador químico ou físico que gera uma resposta das células sensoriais) altera a aceitação do produto, visto que, não utilizam métodos afetivos para sua determinação.

Lima Filho et al. (2015) propuseram a Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH), que inclui dois novos limiares afetivos: o limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH). O LAC indica a intensidade do estímulo na qual começa a ocorrer redução significativa ($p \leq 0,05$) da aceitação do produto em relação à amostra controle. O LRH se refere à intensidade do estímulo a partir do qual começa ocorrer rejeição sensorial do produto pelo consumidor, indicando a transição entre aceitação e rejeição sensorial.

A MLH pode ser aplicada quando se deseja investigar o efeito da intensidade de apenas um estímulo (concentração de sacarose, de sódio, de gordura, temperatura, dose de radiação, pH, entre outros) na aceitação sensorial do produto. Entretanto, a investigação de mais de um estímulo pode ser interessante para a indústria de alimentos, como em casos em que se deseja investigar a substituição parcial de ingredientes (sacarose por edulcorantes, sódio por condimentos, gorduras por géis, corantes artificiais pelos naturais), o processamento de alimentos (tempo/temperatura, pH/acidez, temperatura/densidade) e outros, podendo auxiliar, por exemplo, no alcance das metas estabelecidas de diminuição de sódio, açúcares e gorduras em alimentos processados. Portanto, uma metodologia capaz de investigar o efeito de mais de um estímulo na aceitação sensorial mostra-se relevante, pois a variação de mais de um estímulo pode ser mais abrangente que a variação de apenas um.

Assim sendo, esta pesquisa propõe a Metodologia dos Limiares Hedônicos variando dois estímulos (MLHE₂). Para isto, optou-se por testar essa metodologia em hambúrguer bovino com intuito de reduzir o teor de sódio, visto que a redução desse ingrediente em alimentos industrializados tem sido imposta por diversos órgãos nacionais e internacionais, a fim de reduzir as doenças acometidas pelo seu consumo excessivo. O outro estímulo estudado será o alho em pó por ser indicado pelo ministério da saúde como um possível substituto de sódio (Brasil, 2012).

Pretende-se verificar se a adição de alho em pó permite maiores reduções de sódio no hambúrguer sem comprometer sua aceitação ou causar rejeição sensorial; ou seja, pretende-se verificar os limiares hedônicos para redução de sódio e adição de alho em pó em hambúrguer bovino.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Limiares Sensoriais

Uma das primeiras características do sistema sensorial humano mensurada em análise sensorial foi o limiar de detecção (*detection* ou *absolute threshold*). Define-se este limiar como sendo o limite mínimo de um estímulo capaz de gerar uma sensação em um indivíduo; abaixo deste limite, nenhuma sensação é percebida pelo sistema sensorial (Meilgaard, Civille & Carr, 2006; Lawless & Heymann, 2010).

Nos estudos com alimentos, em análise sensorial, os limiares podem ser utilizados para seleção e treinamento de avaliadores, no controle de qualidade para detectar concentrações de substâncias em alimentos, que alteram a percepção sensorial do avaliador, entre outros (Martineau, Acree & Henick-Kling, 1995; Lawless & Heymann, 2010; Santos et al., 2010; Niu et al., 2011; Pérez-Cacho, Danyluk & Rouseff, 2011). Um exemplo é a fortificação de alimentos infantis com ferro, na qual uma das barreiras é encontrar um sal de ferro que possa ser absorvido de forma adequada sem alterar a qualidade sensorial do produto. Nesse caso, o uso dos limiares sensoriais foi uma eficiente ferramenta para se verificar em que concentração do sal de ferro se atingia o limiar de detecção (Viteri et al., 1995).

Os limiares sensoriais são também utilizados em outras áreas, como na física e na área médica, quando se deseja estudar a sensibilidade a diversos estímulos (sons, dor,

vibrações, entre outros) (Cordeau et al., 2014; Cuignet et al., 2015; Heldestad et al., 2010; Jammes et al., 2016).

São quatro os limiares clássicos: de detecção, de reconhecimento, de diferença e o limiar terminal. O limiar de detecção corresponde à menor intensidade de um estímulo que pode ser percebida por um indivíduo. O estímulo é percebido, porém, não se sabe o que ele é, não é possível defini-lo. A intensidade de estímulo capaz de provocar a identificação de sua categoria (gosto primário, por exemplo) corresponde ao limiar de reconhecimento. Define-se o limiar de diferença como a menor variação de um estímulo capaz de provocar alteração na intensidade percebida deste estímulo, ou seja, a intensidade que deve ser acrescentada ou reduzida para que este estímulo seja percebido como diferente do anterior. O limiar terminal refere-se à maior intensidade do estímulo que pode ser percebida - sua intensidade é tão alta que nenhum acréscimo será percebido pelo indivíduo, devido a sua saturação (Meilgaard, Civille & Carr, 2006).

Dentre os limiares clássicos, destaca-se a utilização do limiar de detecção em análise sensorial de alimentos. Este limiar, entre outras aplicações, é utilizado para estipular limites de concentração de substâncias desejáveis ou indesejáveis em alimentos (Martineau, Acree & Henick-Kling, 1995; Viteri et al., 1995; Santos et al., 2003; Lim & Lawless, 2006; Edge et al., 2010; Pérez-Cacho, Danyluk & Rouseff, 2011; Mitchell, Brunton & Wilkinson, 2013).

O limiar de detecção, entretanto, gera uma estimativa não satisfatória sobre a intensidade de estímulo capaz de afetar a aceitação sensorial de um produto. Neste contexto, em 2005, Prescott et al. propuseram o primeiro limiar afetivo: o limiar de rejeição pelo consumidor (*Consumer rejection threshold*), que se baseia na determinação do estímulo mínimo necessário para a ocorrência de preferência significativa entre amostras, utilizando, para isto, testes pareados de preferência dentro do método de estímulo constante da metodologia de limiar. Séries crescentes ou decrescentes de intensidade de um estímulo são testadas contra um estímulo padrão, quanto à preferência do consumidor. O limiar de rejeição pelo consumidor foi aceito pela comunidade científica, sendo utilizado em diversas pesquisas (Prescott et al., 2005; Saliba; Bullock & Hardie, 2009; Yoo et al., 2012; Harwood, Ziegler & Hayes, 2012a, 2012b; Lima Filho et al., 2014; Lima Filho et al., 2015; Methven et al., 2016).

A primeira aplicação do limiar de rejeição pelo consumidor foi para determinar qual a concentração de 2,4,6-tricloronisol (TCA) em vinho branco, que ocasionaria preferência significativa ($p \leq 0,05$) por uma amostra sem TCA. Essa substância está presente na rolha do vinho e, dependendo de suas concentrações, pode gerar um sabor desagradável na bebida. Para estimar o limiar de rejeição pelo consumidor, foram realizados diversos testes pareado-preferência com 56 consumidores de vinho branco. Em cada sessão era fornecida aos consumidores uma amostra controle (sem TCA) juntamente com uma amostra estímulo (contendo TCA). No decorrer das sessões, aumentava-se a concentração de TCA na amostra estímulo e os consumidores avaliavam a preferência entre as amostras. Os resultados demonstraram que concentrações iguais ou superiores a 3,1 ng/L de TCA em vinho branco causavam alteração da preferência sensorial em vinho branco, a um nível de 5% de significância comparado com o vinho sem TCA, sendo este o limiar de rejeição pelo consumidor (LRC). O limiar de detecção para TCA também foi analisado, sendo encontrado o valor de 2,1 ng/L por meio de testes triangulares, sendo inferior ao LRC (Prescott et al., 2005).

Harwood, Ziegler & Hayes (2012b) determinaram as concentrações de octaacetato de sacarose (composto amargo) em leite com chocolate que correspondiam à rejeição sensorial do produto (limiar de rejeição pelo consumidor). O limiar de rejeição pelo consumidor foi avaliado para dois grupos de indivíduos: um grupo era composto por pessoas que preferiam chocolate ao leite e, o outro, por pessoas que preferiam chocolate amargo. Os limiares de rejeição pelo consumidor foram diferentes para os dois grupos. O grupo que tinha preferência por chocolate amargo obteve um limiar 2,37 vezes maior do que o grupo que preferia chocolate ao leite. Entretanto, o limiar de detecção foi semelhante nos dois grupos.

Estudos de limiares de diferença e de rejeição pelo consumidor foram realizados por Pineli et al. (2016) para determinar os níveis de redução de açúcar aceitáveis e perceptíveis em néctar de laranja. Os autores verificaram que foi possível reduzir o teor de açúcar de 10% (doçura ideal, encontrada por escala do ideal) para 8,5% utilizando o limiar de diferença - o que representa uma redução de 15% de açúcar sem alterar a percepção do estímulo. O limiar de rejeição pelo consumidor foi encontrado por testes pareados de preferência, como proposto por Prescott et al. (2005). A concentração

encontrada foi de 7,2% de açúcar, redução de 28% em relação ao néctar de referência (10% de açúcar). Porém, ao analisar a aceitação sensorial dos néctares, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os néctares com 7,2%; 8,5% e 10% de açúcar, que apresentaram notas próximas a 6 em uma escala hedônica de nove pontos, referente ao termo “gostei ligeiramente”. Esse estudo realça que o fato de uma amostra ser preferida não reflete diretamente sobre sua aceitação, visto que, mesmo havendo preferência entre as amostras a aceitação foi equivalente entre elas.

Lima Filho et al. (2014), avaliando características sensoriais de morangos irradiados e não irradiados, estimaram a dose de 0,405 kGy como sendo referente ao limiar de detecção e a dose de 3,6 kGy referente ao limiar de rejeição pelo consumidor em relação ao morango não irradiado (0 kGy).

Na metodologia desenvolvida por Prescott et al. (2005) a rejeição sensorial das amostras é avaliada por testes de preferência, o que não é o mais indicado, visto que uma amostra menos preferida não é necessariamente rejeitada sensorialmente (Stone, Bleibaum & Thomas, 2012; Lima Filho et al., 2015; Pineli et al., 2016).

Dada a necessidade de limiares que determinam as intensidades de estímulos que inferem sobre aceitação e rejeição sensorial de produtos, Lima Filho et al. (2015) propuseram a metodologia dos limiares hedônicos (MLH), que permite estimar dois novos limiares afetivos: o limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH). O LAC indica a intensidade de estímulo na qual a aceitação sensorial do produto começa a ser significativamente inferior à amostra controle. O LRH se refere à intensidade de estímulo a partir do qual começa haver rejeição sensorial do produto, indicando a transição entre aceitação e rejeição sensorial. Em uma escala hedônica de nove pontos, o LRH se refere à intensidade de estímulo, no produto, que levará a uma média hedônica igual a 5.

A Metodologia dos Limiares Hedônicos (MLH) foi aplicada em duas matrizes distintas: em néctar de uva, com o intuito de reduzir a concentração de sacarose, e em hambúrguer bovino, para a redução de sódio. O limiar de aceitação comprometida (LAC) e o limiar de rejeição hedônica (LRH) atenderam satisfatoriamente os índices de desempenho analíticos aos quais foram submetidos: precisão, exatidão e robustez,

fornecendo resultados confiáveis e, desse modo, podendo ser aplicados para o fim pretendido (Lima Filho, 2015; Lima Filho et al., 2015).

Ao determinar os limiares hedônicos para concentração de sacarose em néctar de uva, Lima Filho et al. (2015) verificaram que começa a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial de néctar de uva em uma concentração de 6,87% de sacarose, quando comparado à amostra referência (9% de sacarose) e, portanto, para este caso, qualquer redução dentro desta faixa (entre 9% e 6,87% de sacarose) não causa alteração da aceitação sensorial do néctar de uva. A redução de até 23,6% na quantidade de sacarose pode ser realizada sem prejuízos à aceitação do produto. Os autores verificaram também que, somente a partir da concentração de 3,83% de sacarose, começa a ocorrer rejeição sensorial (LRH) do néctar de uva.

Lima Filho (2015) determinou os limiares hedônicos para concentração de sódio em hambúrguer de forma direcional. A amostra controle continha 0,827% de sódio (média de 10 marcas comerciais). Foi estimada a concentração de sódio em hambúrguer que resultava em comprometimento da aceitação sensorial (LAC) e rejeição sensorial (LRH) para os atributos: aroma, textura, sabor e impressão global. Como resultado, observou-se que a redução da concentração de sódio no hambúrguer resultou na alteração da aceitação sensorial do sabor ($LAC_s = 0,631\%$), do aroma ($LAC_a = 0,630\%$), da impressão global ($LAC_{ig} = 0,601\%$), da textura ($LAC_t = 0,482\%$) e rejeição sensorial do sabor ($LR_s = 0,170\%$) e rejeição global ($LR_{ig} = 0,014\%$). Não houve rejeição sensorial do hambúrguer em relação aos atributos aroma e da textura..

2.2. Consumo de sódio

A Organização Mundial da Saúde (OMS), em suas diretrizes, recomenda uma ingestão diária de menos de 2000 mg/d de sódio para adultos (cerca de 5 g de sal de cozinha), sendo recomendados para crianças níveis ainda menores. Tal recomendação visa à diminuição de doenças crônicas relacionadas à hipertensão, doenças essas que são a maior causa de morbidade e mortalidade em todo mundo, ultrapassando as mortes associadas ao uso do tabaco, ao sobrepeso e à obesidade (WHO, 2012).

O excesso de sódio na dieta está ligado diretamente a doenças cardíacas coronárias, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca, doença renal crônica e outros tipos de doenças crônicas (MacMahon et al., 1990; Whelton, 2011).

Estima-se que a população mundial consuma em média de 9 a 12 g de sal por dia, ou seja, aproximadamente 3500 mg a 4650 mg de sódio, valores muito acima dos recomendados pela OMS (Brown et al., 2009).

O sal de cozinha e condimentos à base de sal são os principais responsáveis pela ingestão de sódio. Em pesquisas realizadas entre 2002 - 2003 e 2008 - 2009, observou-se uma pequena redução da contribuição do sal e condimentos para a ingestão de sódio, diminuindo sua contribuição de 76,2% para 74,4%, e aumento da contribuição de sódio por alimentos processados, subindo de 15,8% para 18,9% (Sarno et al., 2013).

No mundo, o número total estimado de pessoas com hipertensão no ano de 2000 foi de 972 milhões, sendo a maior parte da população hipertensa (639 milhões) pertencente a países em desenvolvimento. A estimativa para 2025 é que o número de adultos hipertensos aumente 60% em relação ao ano de 2000, chegando a 1,56 bilhões de hipertensos. Quase 75% desse total provavelmente estarão em países em desenvolvimento econômico (Kearney et al., 2005).

Tendo em vista tais consequências do excesso de consumo de sódio, o Ministério da Saúde, aliado a planos setoriais como o “Plano de Ações Estratégicas Para Enfrentamento de Doenças Crônicas Não-Transmissíveis no Brasil 2011-2022”, tem como meta a diminuição do consumo desse elemento. Para que essa meta seja alcançada, pretendem-se realizar cada vez mais a promoção da alimentação saudável e a conscientização da população, das indústrias, profissionais de saúde, profissionais que trabalham diretamente com a fabricação de alimentos, por meio de ações educativas e informativas, e, por fim, a reformulação dos alimentos processados pelas indústrias (Nilson, Jaime & Resende, 2012).

Kirsten et al. (2011), estudando a diminuição de ingestão de sódio na população dos Estados Unidos, observaram, por meio de um modelo de simulação computacional, que, se houvesse uma diminuição do consumo para 3 g de sal (1200 mg de sódio) por dia, seriam evitadas de 44.000 a 92.000 mortes anualmente nos Estados Unidos. Além

disso, ao comparar os custos para diminuição de sódio e os custos com doenças relacionadas à hipertensão, pode-se afirmar que seria mais rentável diminuir a ingestão de sódio do que tratar as doenças relacionadas à hipertensão, poupando US\$ 10-24 bilhões relacionados aos gastos com saúde anualmente.

A diminuição da ingestão de sódio para 1200 mg, ou 3 g de sal, por dia, seria equivalente a uma diminuição de 50% do tabagismo, à redução de 5% no índice de massa corporal entre adultos obesos ou a tratamentos de baixo risco para hipertensos com estatinas (Kirsten et al., 2011). Poderia também evitar milhões de mortes e gerar uma economia de bilhões de dólares nos sistemas de saúde no mundo (WHO, 2010).

Em 2007, o Ministério da Saúde e a ABIA (Associação Brasileira de Indústria de Alimentos) assinaram um acordo que propunha a colaboração das empresas para promover uma dieta saudável e adequada, sendo seu foco a redução de açúcar, sódio, gorduras saturadas e ácidos graxos nos alimentos industrializados (Brasil, 2007).

Nos anos seguintes, o Ministério da Saúde do Brasil e diversas associações de indústrias de alimentos (ABIA, ABIMA, ABITRIGO, ABIPECS, entre outras) assinaram vários acordos entre 2011 e 2013 com o objetivo de diminuir gradativamente a concentração de sódio em alimentos processados (Brasil; 2011a, 2011b, 2012, 2013). A meta é que a ingestão de sal de cozinha seja de até 5 g/d até o ano 2020, como sugerido pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012). O 5º acordo assinado prevê a diminuição de sódio em diversos produtos, como salsicha, hambúrguer e mortadela (Brasil, 2013).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Espírito Santo sob o número 804.070.

Pretendeu-se verificar a aplicação da MLH em hambúrguer bovino para redução de sódio variando dois estímulos e, assim, encontrar a intensidade de estímulos que resultam em comprometimento da sua aceitação sensorial (LAC) e rejeição sensorial (LRH) do produto.

3.1. Delineamento experimental

Foi utilizado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), com α igual a $\sqrt{2}$, com dois fatores (concentração de sódio e de alho em pó) em dois níveis (2^2), mais quatro pontos axiais (2×2) e um ponto central com três repetições para estimativa do erro puro. No total, foram realizados 11 ensaios ($2^2 + 2 \times 2 + 3$) (Montgomery, 2001). Por meio de pré-testes, foram estabelecidas as concentrações máximas e mínimas de cada fator e, pelo delineamento, as demais (Tabela 1).

Tabela 1. Concentração de sódio e alho em pó nas amostras estímulo determinadas pelo DCCR

Experimento	Variáveis codificadas		Variáveis respostas	
	Sódio	Alho em Pó	Concentração de sódio (%)	Concentração de alho em pó (%)
1	-1	-1	0,11	0,29
2	-1	1	0,11	1,71
3	1	-1	0,67	0,29
4	1	1	0,67	1,71
5	-1,41	0	0,00	1,00
6	1,41	0	0,78	1,00
7	0	-1,41	0,39	0,00
8	0	1,41	0,39	2,00
9	0	0	0,39	1,00
10	0	0	0,39	1,00
11	0	0	0,39	1,00

3.2. Preparo dos hambúrgueres

Os hambúrgueres foram preparados respeitando as recomendações da legislação brasileira (Brasil, 2000) e de acordo com informações da literatura (Passos & Kuaye, 2002; Veioglu et al., 2010; Lima Filho, 2015).

A massa base de constituição dos hambúrgueres continha 71% de acém bovino, 4% de proteína de soja texturizada (PTS) - marca Natural Life (50% proteína), 15% de gordura (toucinho suíno) e 10% de água. Os únicos ingredientes que variaram nas amostras foram o sódio (proveniente de sal de cozinha, 390 mg de sódio/g - marca

Globo) e alho desidrato em pó (produzido na Índia e comercializado por Expin Comercial de Temperos Ltda.).

Acém bovino e gordura foram moídos conjuntamente em moedor de carne (marca C.A.F, modelo CAF 98D/S) equipado com uma placa de moagem de 4 mm. A proteína de soja texturizada (PTS) foi previamente hidratada na proporção de 2:1 (água: PTS), por imersão em água a 60 °C durante 20 min. (Passos & Kuaye, 2002). A água utilizada para hidratar a PTS foi uma parte da água da formulação. Posteriormente, foi adicionada a PTS hidratada na carne e na gordura e misturados até homogeneizar os ingredientes. Por fim, adicionou-se o restante de água gelada e foi realizada uma nova mistura até homogeneização da massa base.

A massa base foi processada e dividida em doze lotes: um para o preparo da amostra controle e onze (ensaios referentes ao delineamento) para o preparo das amostras estímulo.

A concentração de sódio da amostra controle foi determinada utilizando como referência a média aritmética do teor de sódio de 10 marcas comerciais de hambúrgueres bovinos (Lima filho, 2015). A média dessas marcas foi de 0,827% de sódio. Essa amostra não continha adição de alho em pó.

Os hambúrgueres continham aproximadamente 60 g de massa, com 9 cm de diâmetro e 0,8 cm de altura, obtidos por meio de moldes manuais de hambúrgueres. As amostras ficaram armazenadas a, aproximadamente, -18 °C até a realização dos testes sensoriais.

Momentos antes dos testes sensoriais, os hambúrgueres foram grelhados em chapa a gás (marca Metalcubas, modelo CBG800L), pré-aquecida, constituída de aço inoxidável. O processo de grelha durou 6 minutos, sendo 3 minutos para cada lado do hambúrguer, de modo a atingir a temperatura de aproximadamente 72 °C no ponto central interno (medida com termômetro Digital Tipo Espeto marca Incoterm). O hambúrguer foi dividido em quatro pedaços iguais, sendo servidos aos consumidores aproximadamente 15 g de hambúrguer por pedaço (1/4 de hambúrguer), na temperatura de, aproximadamente, 60 °C.

3.3. Consumidores

Consumidores habituais de hambúrguer bovino foram recrutados entre alunos e servidores públicos e terceirizados da Universidade Federal do Espírito Santo, *Campus* de Alegre - ES, compostos por 136 pessoas, 80 mulheres e 56 homens com idade entre 18 e 54 anos. Com faixa etária média de 21 anos $\pm$ 4,14.

3.4. Análise Sensorial

Assim como na MLH, na Metodologia dos Limiares Hedônicos variando dois estímulos (MLHE₂) os procedimentos de análise sensorial e coleta de dados para determinação dos dois limiares hedônicos (LAC e LRH) são os mesmos, diferindo apenas na análise dos resultados e cálculo dos limiares.

Sendo assim, para determinação do LAC e do LRH os 136 consumidores realizaram 11 sessões de testes de aceitação, divididos em dois dias: cinco sessões consecutivas no primeiro dia e seis sessões consecutivas no segundo dia.

Para se determinar os limiares hedônicos os consumidores receberam em uma mesma sessão duas amostras, das quais uma delas era a amostra controle contendo 0,827% de sódio, sem alho em pó, e a outra, uma amostra estímulo. Ao longo das sessões, a concentração de sódio da amostra estímulo diminuía, de modo que, na primeira sessão, essa amostra continha o maior teor de sódio (0,78% de sódio) e, na última sessão, o menor teor (0,11% de sódio). No caso das amostras de mesma concentração de sódio, seguiu-se ordem crescente de concentração de alho em pó (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração de sódio e alho em pó nas amostras estímulo por sessão de teste de aceitação

Sessão	Concentração de sódio (%)	Concentração de alho em pó (%)
1	0,78	1,00
2	0,67	0,29
3	0,67	1,71
4	0,39	0,00
5	0,39	1,00
6	0,39	1,00
7	0,39	1,00
8	0,39	2,00
9	0,11	0,29
10	0,11	1,71
11	0,00	1,00

Durante as sessões foi solicitado aos consumidores que provassem as amostras da esquerda para a direita e marcassem em fichas de escala hedônica de nove pontos (variando de 1 = “desgostei extremamente” a 9 = “gostei extremamente”) as respostas que melhor refletissem seus julgamentos (Figura 1). A amostra controle foi aleatorizada dentro de cada par.

Nome: _____ Sexo: _____ Idade: _____		
Por favor, prove as amostras da esquerda para a direita e indique o quanto você gostou ou desgostou de cada uma delas. Enxague a boca entre as avaliações e anote nos espaços em branco os códigos das amostras e o número referente à nota que melhor reflita seu julgamento.		
9 – Gostei extremamente	CÓDIGO DA AMOSTRA: _____	NOTA: _____
8 – Gostei muito	_____	_____
7 – Gostei moderadamente	_____	_____
6 – Gostei ligeiramente		
5 – Indiferente		
4 – Desgostei ligeiramente		
3 – Desgostei moderadamente		
2 – Desgostei muito		
1 – Desgostei extremamente		
Comentários: _____		

Figura 1. Ficha com escala hedônica de 9 pontos utilizada para os testes de aceitação.

3.5. Análises estatísticas

Uma grande diferença entre as metodologias MLH e a MLHE₂ é o número de valores calculados para cada limiar hedônico. Na MLH, variando apenas um estímulo, é possível obter apenas um valor para cada limiar (LAC e LRH). Já na MLHE₂ é encontrada uma faixa de valores para cada limiar (LAC e LRH), isso ocorre porque existem diferentes combinações de intensidades dos dois estímulos que acarretam em comprometimento da aceitação sensorial (LAC) ou início de rejeição sensorial (LRH) do produto.

3.5.1. Limiar de rejeição hedônica (LRH)

O LRH representa as combinações de intensidades dos estímulos em que começa a ocorrer rejeição sensorial do produto. Assim como na MLH, na MLHE₂ os valores de LRH são encontrados por meio das médias hedônicas das amostras estímulos.

Para se estimar as combinações de estímulos referentes ao LRH foram ajustados modelos de regressão das médias hedônicas das amostras estímulo em função do teor de sódio e alho em pó que continham nelas. Para isso foi observado a falta de ajuste, a significância dos coeficientes de regressão e o coeficiente de determinação R² (SQregressão/SQTratamento). Dos modelos que se adequaram aos dados (atenderam aos pré-requisitos citados) optou-se por escolher aquele em que havia maior R². Por meio deste modelo foi elaborado um gráfico de superfície de resposta das médias hedônicas em função dos estímulos.

Para se chegar aos valores dos LRH, foi utilizado o modelo de regressão das médias hedônicas em função dos estímulos (sódio e alho em pó) e substituída a variável “nota hedônica” pelo valor 5 (transição entre aceitação e rejeição) gerando uma equação do teor de sódio em função de alho em pó, que é a equação do LRH. Por meio dessa equação, é possível encontrar as combinações de estímulos em que começa a ocorrer rejeição sensorial das amostras. No gráfico de superfície de resposta das médias hedônicas em função dos estímulos confeccionou-se um intercepto no plano referente a esta equação, representando as intensidades de estímulos (sódio e alho em pó) que geram como resposta a nota hedônica 5, representando os limiares de rejeição hedônica, ou seja, onde começa a ocorrer rejeição sensorial das amostras.

A equação de LRH possui duas variáveis: o teor de sódio (Na) e o teor de alho em pó (A). Ao estabelecer valores fixos para uma das variáveis é possível resolver a equação e encontrar os respectivos valores da outra variável obtendo dessa forma a combinação que represente o LHR (gere nota hedônica igual à 5). Como o objetivo do estudo é minimizar o teor de sódio, haverá um LRH de interesse (LRHi), sendo este a combinação de estímulos que fornece menor teor de sódio para média hedônica 5 na equação de LRH. Para encontrar o LRHi, basta substituir na equação de LRH valores dos teores de alho em pó (dentro do intervalo de estudo de 0 – 2%) e calculados os respectivos valores de sódio. A combinação referente ao LRHi é aquela em que determinado teor de alho em pó gere como resposta o menor de teor sódio possível. Essa combinação representa o LRHi ou seja, é a combinação de estímulos em que começa haver rejeição sensorial da amostra, com menor teor de sódio possível dentro do intervalo de estudo.

Os testes estatísticos foram realizados utilizando o software SAS® (*Statistical Analysis System* – SAS), versão 9.3 licenciado pela Universidade Federal de Viçosa e o gráfico de superfície de resposta pelo programa SigmaPlot 11.0.

3.5.2. Limiar de aceitação comprometida (LAC)

O LAC representa as combinações de intensidades dos estímulos em que começa a ocorrer comprometimento da aceitação sensorial do produto. Assim como na MLH, na MLHE₂ os valores de LAC são encontrados por meio do valor *t* calculado, obtido pelo teste *t* pareado entre as amostras de cada sessão.

Para cada sessão, foi realizado o teste *t* para amostras pareadas com a nota hedônica da amostra controle (NHAC) e a nota hedônica da amostra estímulo (NHAE) (diferença: NHAC - NHAE). A partir desses dados foram ajustados modelos de regressão dos valores de *t* calculado em função do teor de sódio e alho em pó. Para a escolha do melhor modelo foram observados a falta de ajuste, a significância dos coeficientes de regressão e o coeficiente de determinação R^2 (SQregressão/SQTratamento). Dos modelos que se adequaram aos dados (atenderam aos pré-requisitos citados) optou-se por escolher aquele em que havia maior R^2 . Posteriormente, foi elaborado um gráfico de superfície de resposta do valor *t* calculado

em função das intensidades dos estímulos em estudo (concentração de sódio e concentração de alho em pó).

Para se chegar a equação de LAC, foi utilizado o modelo de regressão do valor de “t” em função dos estímulos (sódio e alho em pó) e substituída a variável “t” por 1,96 (Tabela *t* Student, $n=136$) gerando uma equação do teor de sódio em função de alho em pó, que é a equação do LAC. No gráfico de superfície de resposta do valor de “t” em função dos estímulos, confeccionou-se um intercepto no plano referente a esta equação, representando as intensidades de estímulos (sódio e alho em pó) a partir dos quais começa ocorrer aceitação comprometida das amostras.

Assim como a LRH, a equação do LAC possui duas variáveis: o teor de sódio (Na) e o teor de alho em pó (A). Ao estabelecer valores fixos para uma das variáveis é possível resolver a equação e encontrar os respectivos valores da outra variável, obtendo dessa forma a combinação que represente o LAC. Como no presente estudo o objetivo de se adicionar alho em pó é possibilitar uma maior redução de sódio sem alterar a aceitação sensorial do produto, existe um LAC de interesse (LAC_i), referente ao valor de LAC com menor concentração de sódio. Para encontrar o LAC_i, basta substituir na equação de LAC valores dos teores de alho em pó (dentro do intervalo de estudo de 0 – 2%) e calculados os respectivos valores de sódio, a combinação referente ao LAC_i é encontrada quando determinado teor de alho em pó gere como resposta o menor teor de sódio. Essa combinação representa o LAC_i ou seja, é a combinação de estímulos em que começa ocorrer comprometimento sensorial da amostra que possui menor teor de sódio dentre as combinações possíveis.

As análises para ajuste do modelo de regressão proposto foram realizadas utilizando o software SAS® (*Statistical Analysis System* – SAS) versão 9.3 licenciado pela Universidade Federal de Viçosa e o gráfico de superfície de resposta elaborado pelo programa Sigmaplot® 11.0.

4. RESULTADOS

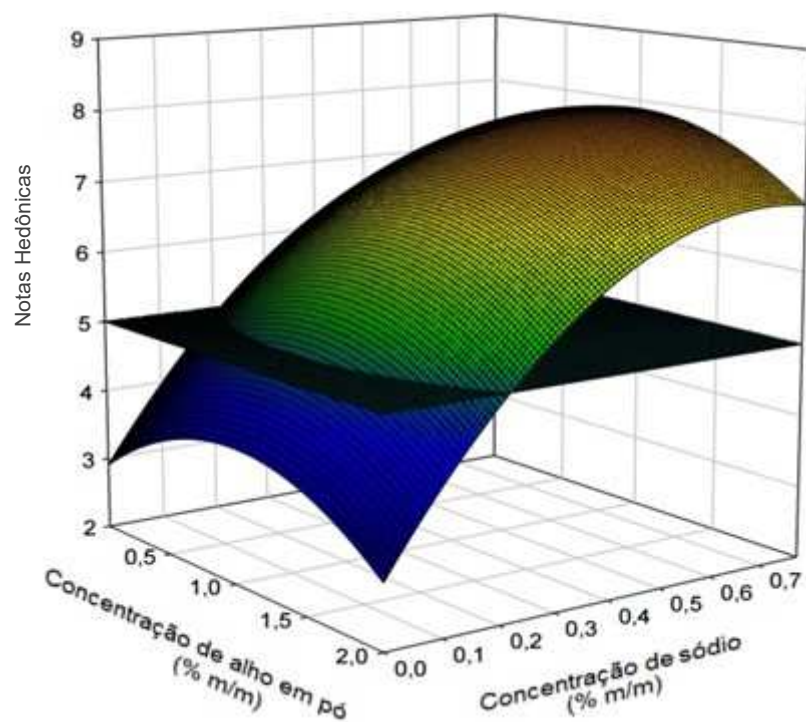
4.1. Limiar de rejeição hedônica (LRH)

Por meio das médias hedônicas das amostras estímulos, encontrados no teste de aceitação, foi ajustado um modelo de regressão que correlaciona as médias hedônicas obtidas com os teores de sódio e alho em pó da amostra. Dentre os possíveis modelos, o escolhido foi o que melhor se ajustou aos dados, no caso, o de segundo grau (Tabela 3). Para se estabelecer a equação de LRH, que fornecerá as combinações de estímulos em que começa ocorrer rejeição sensorial da amostra é substituída no modelo a variável “NH” por “5”, que é a nota hedônica que representa a transição entre aceitação e rejeição sensorial.

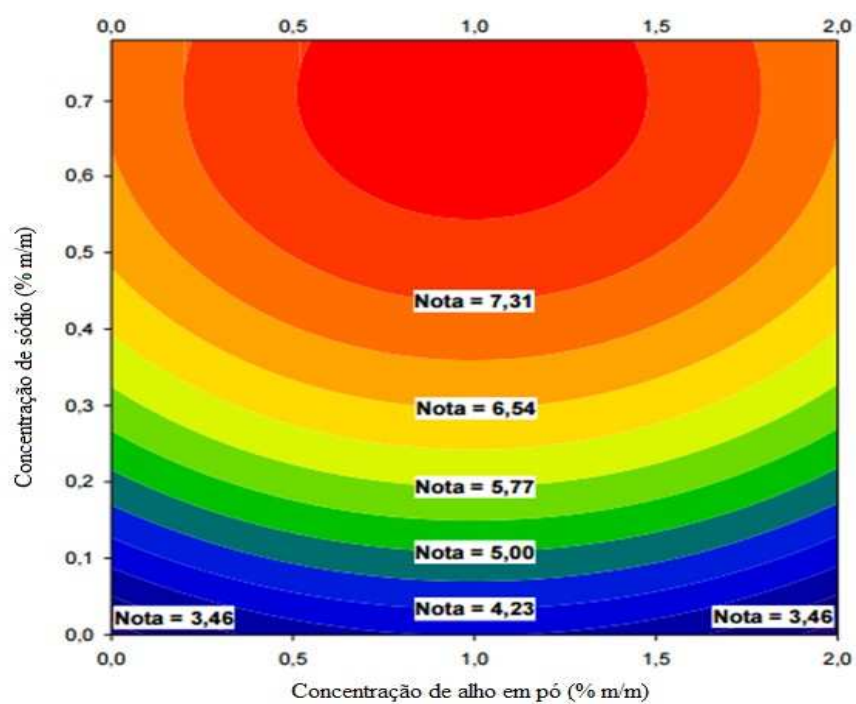
Tabela 3. Modelo de regressão para notas hedônicas (NH) em função da concentração de sódio (Na) e de alho em pó (A) com seu coeficiente de determinação (R^2) e nível de probabilidade (p)

FV	Modelo de regressão	R^2	p(F)
NH	$NH = -8,01883*Na^2 + 11,41098*Na - 0,95958*A^2 + 1,90814*A + 2,68510$	0,9715	<0,0001

Na figura 2 estão apresentados o gráfico de superfície de resposta das notas hedônicas em função dos estímulos sódio e alho em pó (2A) e sua respectiva linha de contorno (2B). No plano com a superfície de resposta foi confeccionado um intercepto referente à equação de LRH, as combinações de estímulos desse intercepto representam os limiares de rejeição hedônica, ou seja, as intensidades dos estímulos em que começa ocorrer rejeição sensorial das amostras.



A



B

Figura 2. Gráfico de superfície de resposta das médias sensoriais das amostras estímulo em função da concentração de sódio e de alho em pó (A). Curvas de contorno dos valores das médias hedônicas em função da concentração de sódio e de alho em pó (B).

4.2. Limiar de aceitação comprometida (LAC)

Na Tabela 4 estão representadas as médias hedônicas obtidas para cada amostra nas 11 sessões realizadas, o valor obtido de t calculado para amostras pareadas e seu nível de significância.

Tabela 4. Médias hedônicas das amostras controle e estímulo e valor de t calculado para amostras pareadas

Controle		Amostras estímulo			t calculado	p valor
Sessão	Média hedônica	Média hedônica	Sódio (%)	alho em pó (%)		
1	6,8	7,6	0,78	1,00	-6,41	< 0,0001*
2	6,7	7,5	0,67	1,71	-4,94	< 0,0001*
3	6,2	6,9	0,67	0,29	-4,29	< 0,0001*
4	6,1	5,5	0,39	2,00	3,85	0,0002*
5	6,3	6,8	0,39	1,00	-2,58	0,011*
6	6,4	7,0	0,39	1,00	-3,39	0,0009*
7	6,5	6,8	0,39	1,00	-1,47	0,1449
8	6,5	6,2	0,39	2,00	1,26	0,2081
9	6,5	4,5	0,11	1,71	9,54	< 0,0001*
10	6,4	4,2	0,11	0,29	10,19	< 0,0001*
11	6,7	3,6	0,00	1,00	14,37	< 0,0001*

*significativo à 5 % de probabilidade

Foi ajustado um modelo de regressão que correlaciona os valores de “t” (obtido pelo teste t para amostras pareadas nos testes de aceitação) com os teores de sódio e alho em pó (Tabela 5).

Tabela 5. Modelo de regressão para t em função da concentração de sódio (Na) e alho em pó (A) com seu coeficiente de determinação (R^2) e nível de probabilidade (p)

Modelo de regressão		R^2	p(F)
Valor de t	$t = 39,8732*Na^2 - 57,3473*Na + 4,6482*A^2 - 8,8814*A + 18,0625$	0,98	<0,0001

No modelo acima, substituindo o valor de “t” por 1,96 obtêm-se a equação de LAC. Por meio dessa equação é possível definir as combinações de estímulos em que começa a comprometer a aceitação sensorial da amostra.

Na Figura 3 estão apresentados o gráfico de superfície de resposta dos valores de “ t ” em função dos estímulos sódio e alho em pó (3A) e sua respectiva linha de contorno (3B). No plano confeccionou-se um intercepto referente à equação de LAC, ou seja, o intercepto representa as combinações de estímulo em que começa a comprometer a aceitação sensorial das amostras.

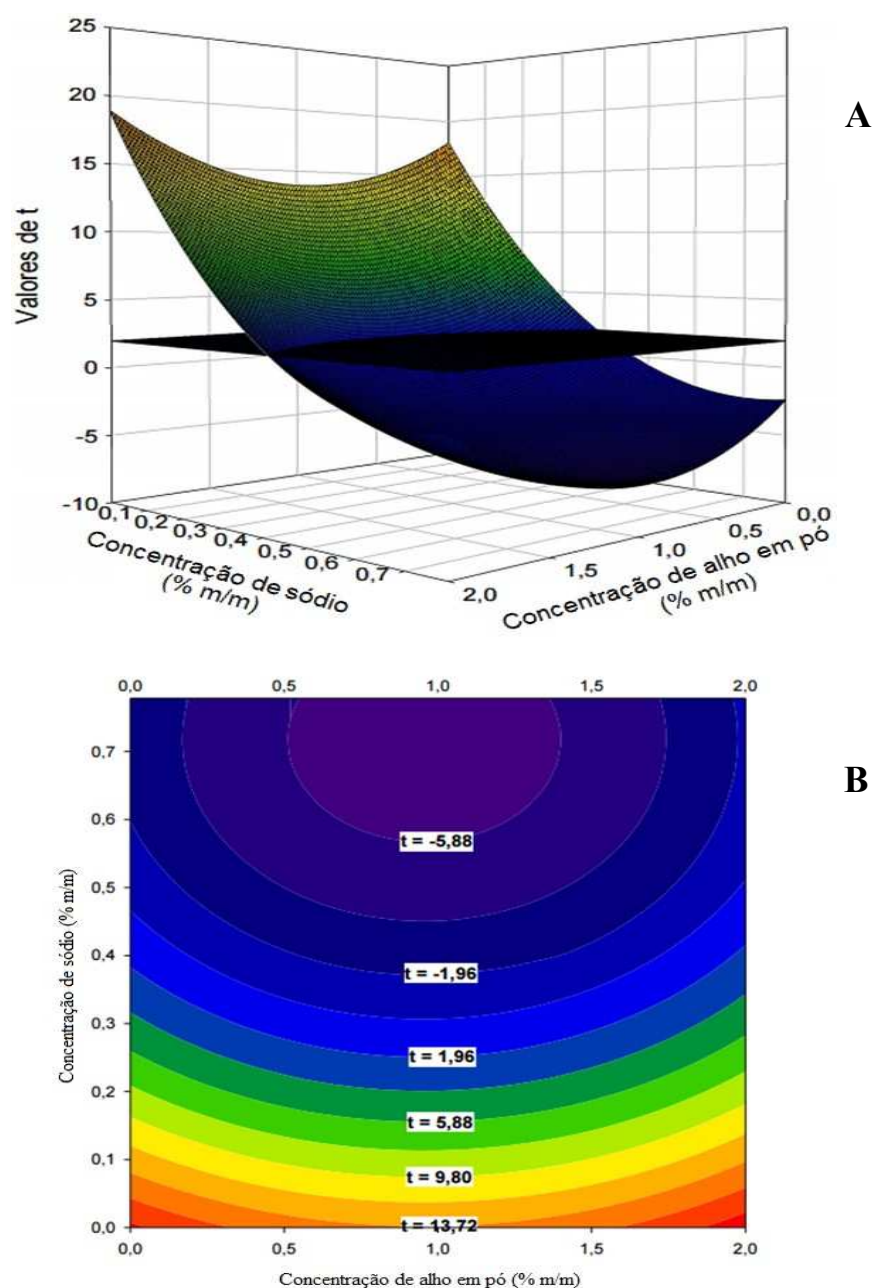


Figura 3. Gráfico de superfície de resposta dos valores de t calculado em função da concentração de sódio e alho em pó (A). Curvas de contorno dos valores de t calculados em função da concentração de sódio e alho em pó (B).

Ao plotar a superfície de resposta e a linha de contorno foi observado um plano ($t = -1,96$) a partir do qual as amostras estímulos começaram a ser significativamente mais aceitas que a amostra controle. Verificou-se, portanto, a existência de um novo limiar, o qual foi denominado Limiar de aceitação favorecida (LAF).

4.3. Limiar de aceitação favorecida (LAF)

Para determinar o LAF, utiliza-se o mesmo modelo ajustado para o LAC, que correlaciona os valores de “t” (obtido pelo teste t para amostras pareadas nos testes de aceitação) com os teores de sódio e alho em pó, onde basta substituir no modelo, o valor de “t” por -1,96 (Tabela *t* Studente), que estabelece diferença significativa entre as amostras ao nível de 5% de significância. Por meio dessa equação é possível definir as combinações de estímulos em que começa a favorecer a aceitação sensorial da amostra (Tabela 6).

Tabela 6. Modelo de regressão para t em função da concentração de sódio (Na) e alho em pó (A) com seu coeficiente de determinação (R^2) e nível de probabilidade (p) e equação para LAF

	Modelo de regressão	R^2	p(F)
Valor de t	$t = 39,8732 \cdot \text{Na}^2 - 57,3473 \cdot \text{Na} + 4,6482 \cdot \text{A}^2 - 8,8814 \cdot \text{A} + 18,0625$	0,98	<0,0001

O mesmo gráfico de superfície de resposta do LAC é utilizado, entretanto, as combinações que representam o LAF são aquelas que interceptam o plano com a superfície de resposta no valor de $t = -1,96$. Neste intercepto estão as combinações de sódio e alho em pó em que começa a ocorrer aceitação superior à amostra controle, ao nível de 5% de significância (Figura 4).

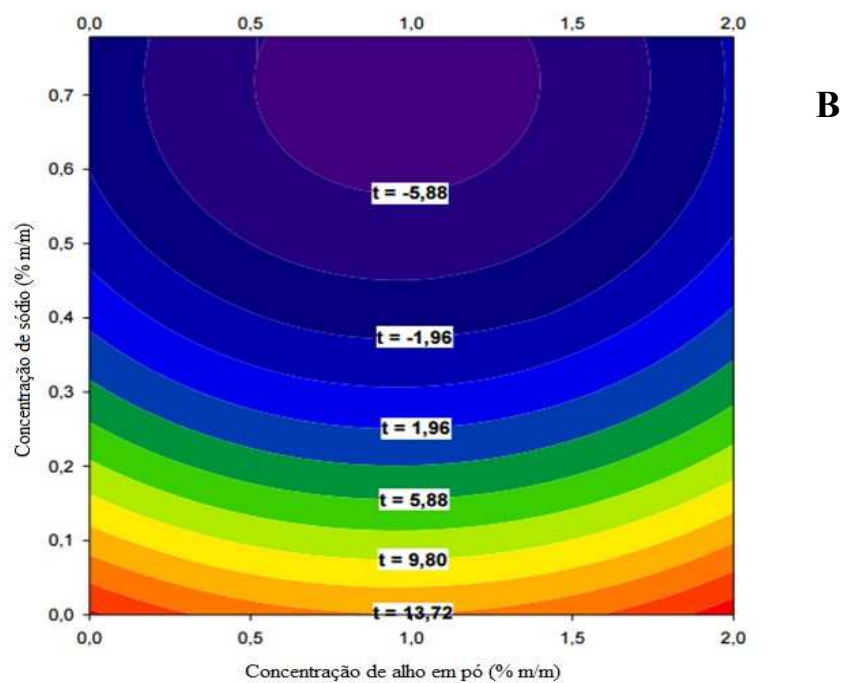
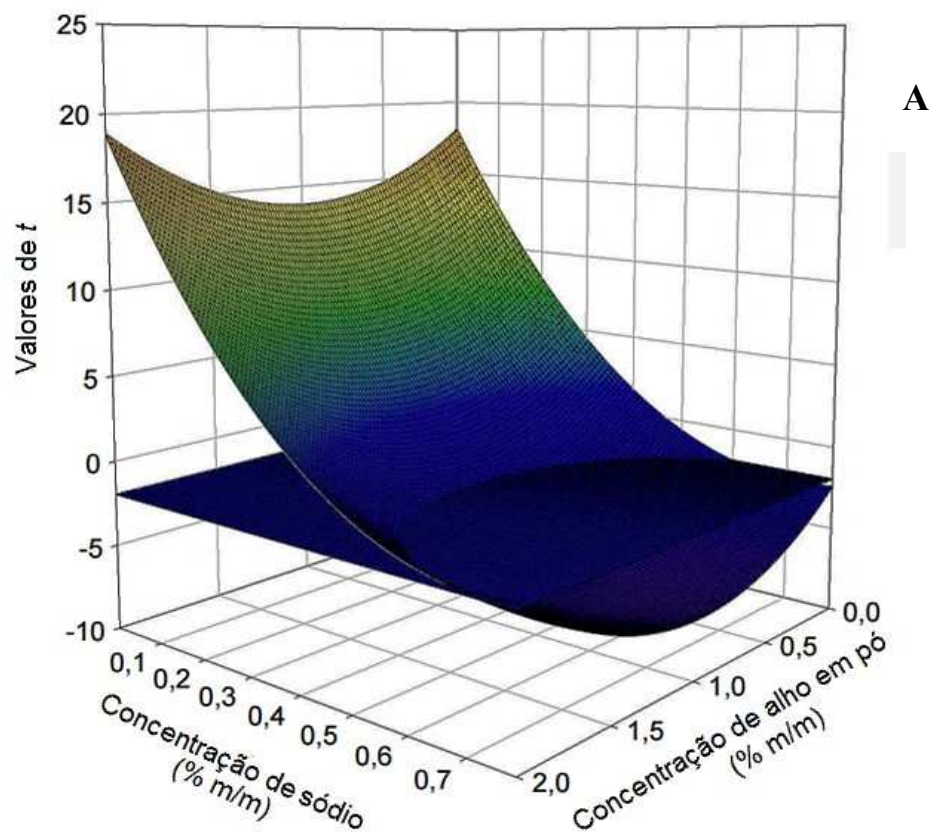


Figura 4. Gráfico de superfície de resposta dos valores t calculados em função da concentração de sódio e alho em pó (A). Curvas de contorno dos valores de t calculados em função da concentração de sódio e alho em pó (B).

5. DISCUSSÃO

5.1. Limiar de Rejeição Hedônica (LRH)

O intercepto traçado no plano com a superfície de resposta (Figura 2A) representa as combinações de sódio e alho em pó referente aos limiares de rejeição hedônica, ou seja, são as combinações de sódio e de alho em pó no hambúrguer que levam a uma média hedônica igual à 5 em uma escala de 9 pontos.

Uma amostra com média 5, termo “indiferente” na escala, é classificada como rejeitada, visto que um consumidor indiferente ao produto provavelmente não iria consumi-lo ou comprá-lo (Della Lucia et al., 2013; Della Lucia et al., 2014). Desse modo, concentrações desses condimentos que gerem notas iguais ou inferiores a 5 devem ser evitadas, devido à rejeição sensorial do produto.

A combinação de estímulos referente ao LRHi é de 0,11% de sódio e 0,99% de alho em pó, portanto, para começar a haver rejeição sensorial das amostras é necessário reduzir mais de 85% de sódio em relação à amostra controle. As concentrações de sódio e de alho em pó que geram médias hedônicas iguais ou menores que “5” não são recomendadas, visto que prejudicam a aceitação do produto.

É importante salientar que qualquer combinação acima do intercepto confeccionado (Figura 2A) torna o produto aceito sensorialmente (média hedônica superior a 5), ou seja, mesmo havendo reduções bruscas de sódio (mais de 85%) ainda é possível haver aceitação sensorial do produto. Dependendo da necessidade de redução do ingrediente, este limiar demonstra-se muito útil, pois pode ser usado para estimar o quanto alterado pode ser o produto sem levar à perda da aceitação. Ao aumentar ou diminuir o teor de alho em pó de 0,99% são necessários maiores teores de sódio para se atingir o LRH. Isto demonstra que esse teor de alho em pó gera melhores resultados, ou seja, necessita de menores teores de sódio para atingir o LRH.

Lima Filho (2015), ao avaliar a aceitação sensorial de hambúrguer bovino variando apenas o estímulo sódio, encontrou um LRH para sabor do hambúrguer de 0,170% de sódio e, para a impressão global, de 0,014% de sódio, bem abaixo do encontrado no presente estudo. Uma justificativa para esse resultado seria a avaliação

das amostras por meio da aceitação direcional, ou seja, vários atributos foram avaliados (aroma, sabor, textura e impressão global). A avaliação simultânea de várias características específicas e da avaliação geral de um produto podem levar a resultados diferentes dos obtidos quando se avalia cada característica separadamente (Lee et al., 2013).

Os resultados obtidos demonstram que a variação de dois estímulos permite grandes reduções de sódio, mantendo a aceitação sensorial do produto. O LRH da MLHE₂ pode auxiliar, entre outros, as metas estipuladas de redução desse ingrediente em alimentos processados.

5.2. Limiar de Aceitação comprometida (LAC)

O LAC é representado pela interseção do plano horizontal com a superfície de resposta no valor de $t = 1,96$ (Figura 3A). Esse intercepto representa as combinações de estímulos em que começa a ocorrer redução significativa ($p \leq 0,05$) da aceitação das amostras estímulos em relação à controle. Sendo assim, valores de t iguais e acima da interseção ($t \geq 1,96$) sugerem menor aceitação das amostras estímulo.

Concentrações de sódio menores que 0,25% proporcionam aceitação sensorial menor que a amostra controle ($t > 1,96$), independentemente da concentração de alho, o que implica em menor aceitabilidade sensorial do produto, se comparado ao controle. Portanto, concentrações inferiores a esse teor de sódio devem ser evitadas, para que o produto mantenha aceitação equivalente à amostra controle.

A combinação referente ao LAC_i (menor teor de sódio para valor de $t = 1,96$) é composta por 0,25% de sódio e 0,96% de alho em pó, redução de quase 70% de sódio em relação à amostra controle (0,827%), ou seja, é a combinação que fornece menor teor de sódio para que comece haver comprometimento da aceitação sensorial do produto. Essa informação é muito útil, pois revela o quanto é possível reduzir de sódio, e a aceitação permanece equivalente ao controle.

Observando a curva de contorno para notas hedônicas (Figura 2B), nota-se que a média hedônica para o LAC_i (0,25% de sódio e 0,96% de alho em pó), é equivalente à

controle (0,827% de sódio, 0% de alho em pó) que estaria próxima ao valor 6, representando o termo “gostei ligeiramente” na escala hedônica de 9 pontos.

Há uma faixa ótima de concentração de alho em pó para a redução de sódio, que é próxima a 1%. Concentrações próximas a essa permitem maiores reduções de sódio sem comprometer a aceitação do produto. Ao aumentar o teor de alho ou diminuí-lo, é necessário maior teor de sódio a fim de obter o mesmo valor de t calculado. Portanto, verifica-se que esse teor de alho em pó é ideal para maiores reduções de sódio.

Lima Filho (2015), utilizando a MLH variando apenas o estímulo sódio, encontrou valores de LAC em hambúrgueres bovinos de 0,631% de sódio para o atributo sabor, 0,630% para aroma, 0,601% para impressão global e 0,482% para textura. Comparando os resultados obtidos neste estudo com os de Lima Filho (2015), nota-se, portanto, que foi possível LACs com menores teores de sódio que o estudo citado, demonstrando que a variação de dois estímulos obteve melhores resultados que quando apenas um foi variado, e que o alho demonstrou-se um promissor substituto parcial do sódio.

5.2.1. Limiar de Aceitação Favorecida (LAF)

Na Figura 4 (A), observa-se um intercepto no plano com a superfície de resposta referente às combinações de estímulos que geram um valor $t = -1,96$. Esse intercepto revela combinações de sódio e de alho em pó em que começa a ocorrer maior aceitação da amostra estímulo em relação à amostra controle e, portanto, representando um novo limiar denominado limiar de aceitação favorecida (LAF).

O LAF representa as intensidades de estímulos em que começa a ocorrer maior aceitação sensorial em relação à amostra controle ($p \leq 0,05$). Dentre as combinações possíveis para o valor de LAF, a que fornece menor teor de sódio refere-se ao LAF de interesse (LAFi), sendo caracterizado por 0,37% de sódio e 0,96% de alho em pó, determinados por meio do modelo de equação (Tabela 6) por substituição dos valores. Tem-se, desse modo, uma redução de 55% de sódio nos hambúrgueres e uma aceitação sensorial superior ao controle ($p \leq 0,05$), o que demonstra excelentes resultados, visto que, mesmo diminuindo uma quantidade considerável de sódio, a amostra estímulo ainda obteve aceitação superior à da controle, indicando grande utilidade desse limiar.

Sabe-se que uma das barreiras para redução de sódio é a perda da aceitação sensorial do produto, entretanto, para este caso, foi possível reduzir o seu teor e ainda conseguir aumentar sua aceitação.

Observando a Figura 2 (B), pode-se notar que a média hedônica para o LAFi (0,37% de sódio e 0,96% de alho em pó) seria próximo a 7, representando o termo “gostei moderadamente” em uma escala hedônica de nove pontos. Valores maiores que 0,37% de sódio combinados com teores de alho em pó próximos a 1% possuem escores sensoriais ainda maiores, demonstrando o quão vantajoso pode ser este limiar. Além de reduzir o teor de sódio, ele permite elevar a média hedônica das amostras.

O Brasil possui como meta para 2017 que hambúrgueres contenham, no máximo, 0,74% de sódio (Brasil, 2013). Observando a curva de contorno da Figura 4 (B) e, ou, por meio da equação de notas hedônicas (Tabela 3), verifica-se que esse valor de sódio (0,74%), combinado com valores de alho em pó próximos a 1%, geram notas hedônicas entre “7” e “8” ($t < -1,96$), demonstrando excelente aceitação do produto.

Alguns estudos revelam que a substituição parcial de sódio por outras substâncias, como cloreto de potássio, misturas de sais, intensificadores de sabor, condimentos ou outros, pode não alterar ou até mesmo melhorar a aceitação sensorial e intenção de compra de alimentos processados (Mitchell, Brunton & Wilkinson 2013; Horita et al., 2014). Entretanto, esses estudos não podem fornecer com exatidão a proporção ideal dessa substituição que afeta a aceitação do produto ou levá-la à rejeição sensorial, sendo uma solução para isso a utilização da MLHE₂, que demonstrou, nesse estudo, que, para não haver rejeição, o teor de sódio deve ser superior a 0,11%; para não comprometer a aceitação do produto, é necessário um teor mínimo de 0,25% de sódio; e, para favorecer a aceitação, necessita-se de um teor mínimo de 0,37% de sódio, todos ambos combinados com valores próximos de 1% de alho em pó.

A variação de dois estímulos demonstrou ser uma opção viável para a redução de sódio em hambúrguer bovino, visto que gerou melhores resultados que quando apenas um estímulo foi variado. Muitos estudos sugerem reduções ou substituições máximas de até 50% de sódio em produtos cárneos para manter a aceitação sensorial do produto (Desmond, 2006; Aaslyng, Vestergaard & Koch, 2014; Lazic et al., 2015; Lilic

et al., 2015). Neste estudo, entretanto, verificou-se que reduções de quase 70% são possíveis sem prejudicar a aceitação do produto (quando combinado com outro estímulo), e ainda em reduções de até 55% (LAFi) pode-se favorecer a aceitação do hambúrguer bovino quando adicionado de alho em pó.

O uso de alho fresco e seus derivados (como o alho em pó) tem sido proposto por diversos autores devido a suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antitumoral, anti-inflamatória e outras (Yin & Cheng, 2003; Shamseer, Charrois & Vohra, 2006; Tapsell et al., 2006;; Horita et al., 2014), e aplicou-se perfeitamente para auxiliar na redução de sódio em hambúrguer bovino neste estudo, além de ser indicado como um possível substituto do sódio.

A MLHE₂ pode ser utilizada para outros fins, como: redução de sacarose e gordura, otimização de processamento de alimentos variando tempo/temperatura, tempo/pH, aumento de vida de prateleira, redução de custos, entre outros, sendo uma maneira útil de verificar o comportamento da aceitação do produto frente à variação de dois estímulos.

6. CONCLUSÃO

A Metodologia dos Limiares Hedônicos variando dois estímulos (MLHE₂ - sódio e alho em pó) aplicou-se adequadamente para a matriz hambúrguer bovino, permitindo estimar as intensidades de estímulos em que começa a ocorrer redução significativa de aceitação sensorial (LAC) e a rejeição sensorial das amostras (LRH), em relação à amostra controle. Com a MLHE₂ foi possível alcançar a redução de quase 70% de sódio sem afetar a aceitação sensorial do produto (LACi); e reduzir mais que 85% e ainda manter a aceitação do produto (observando o LRHi).

Além disso, um novo limiar foi proposto, o limiar de aceitação favorecida (LAF), que representa as intensidades dos estímulos em que começa ocorrer maior aceitação significativa do produto em relação ao controle. A determinação desse limiar é de grande relevância, visto que ele possibilita estimar intensidades de estímulos em que começa a melhorar a aceitação sensorial do produto, o que é muito vantajoso, já que uma das características mais importantes de um produto é a afetividade que o consumidor terá por ele. Para este estudo, para favorecer a aceitação, necessita-se de um

teor mínimo de 0,37% de sódio combinado com um teor de alho em pó de 0,96% (LAFi), representando redução de 55% do teor de sódio e ainda ocorrendo melhor aceitação que a amostra controle.

O ingrediente escolhido para substituição parcial de sódio, o alho em pó, demonstrou-se promissor para esse fim.

A MLHE₂ pode trazer grandes benefícios às indústrias (alteração de produtos) e aos consumidores (redução de ingredientes danosos à saúde) e tem grande potencial para ser utilizada. Sugere-se e incentiva-se a sua utilização para outras matrizes alimentares, para diversos fins (redução de gordura, açúcar, corantes, otimização de processamento, redução de custos, aumento de vida de prateleira, melhoramento de formulações etc.), visando a uma maior qualidade sensorial, redução de custos e benefícios à saúde do consumidor.

Conclui-se, portanto, que a aplicação da MLHE₂ é tangível e interessante, visto que, em indústrias alimentícias, a variação de mais de um estímulo pode ser mais proveitosa que a variação de apenas um, podendo este método proporcionar maiores alterações do produto sem causar perdas de sua aceitação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaslyng, M. D., Vestergaard, C., & Koch, A. G. (2014). The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*, 96(1), 47-55.

Brasil. (2000). MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Almôndega, de Apresuntado, de Fiambre, de Hambúrguer, de Kibe, de Presunto Cozido e de Presunto. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF. 2000. Seção 1, p. 3-31. Disponível em: <http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/outras_normas/instrucao_normativa_020_MAA.htm> Acesso em: 20/01/2016

Brasil. (2007). Ministério da Saúde. *Acordo de cooperação entre Ministério da*

Saúde e a ABIA, de 29 de novembro de 2007. Disponível em: <http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/acordodecooperacaoabia_ms.pdf> Acesso em: 20/01/2016.

Brasil. (2011a). Ministério da Saúde. Termo de Compromisso nº 004/2011 de 07 de abril de 2011. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 8 de abril de 2011. Disponível em: <http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/termo_abia.pdf>. Acesso em: 20/01/2016.

Brasil. (2011b). Ministério da Saúde. Termo de Compromisso nº 34 e nº 35 de Novembro de 2011. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 26 de Dezembro de 2011. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_5_dez_2011.pdf>. Acesso em: 20/01/2016.

Brasil. (2012). Ministério da Saúde. *Termo de compromisso de 6 de agosto de 2012.* Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_6_ago_2012.pdf>. Acessado em 20/01/2016.

Brasil. (2013). Ministério da Saúde. Termo de Compromisso de 5 de Novembro de 2013. *Diário oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 13 de dezembro de 2013. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/documentos/termo_nov_2013.pdf>. Acesso em: 21/01/2016.

Brown, I. J., Tzoulaki, I., Candeias, V., & Elliott, P. (2009). Salt intakes around the world: implications for public health. *International Journal of Epidemiology*, 38(3), 791–813.

Cordeau, D., Bélanger, M., Beaulieu-Prévost, D., & Courtois, F. (2014). The assessment of sensory detection thresholds on the perineum and breast compared with control body sites. *The journal of sexual medicine*, 11(7), 1741–1758.

Cuignet, O., Pirlot, A., Ortiz, S., & Rose, T. (2015). ScienceDirect The effects of electroacupuncture on analgesia and peripheral sensory thresholds in patients with burn

scar pain. *Burns*, 41(6), 1298–1305.

Edge, K., Barona, B., Young, R. F., Fedorak, P. M., Wismer, W. V. (2010). Odor detection thresholds of naphthenic acids from commercial sources and oil sands process-affected water. *Chemosphere*, 81(7), 932–939.

Harwood, M. L., Ziegler, G. R., & Hayes, J. E. (2012a). Rejection thresholds in chocolate milk: Evidence for segmentation. *Food Quality and Preference*, 26(1), 128–133.

Harwood, M. L., Ziegler, G. R., & Hayes, J. E. (2012b). Rejection Thresholds in Solid Chocolate-Flavored Compound Coating. *Journal of Food Science*, 77(10), 390–393.

Heldestad, V., Linder, J., Sellersjö, L., & Nordh, E. (2010). Clinical Neurophysiology Reproducibility and influence of test modality order on thermal perception and thermal pain thresholds in quantitative sensory testing. *Clinical Neurophysiology*, 121(11), 1878–1885.

Horita, C. N., Messias, V. C., Morgano, M. A., Hayakawa, F. M., & Pollonio, M. A. R. (2014). Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. *FRIN*, 66, 29–35

Jammes, Y., Julia, G., Rémi, F., Griffon, P., Weber, J. P., Vie, B., & Guieu, R. (2016). Psychophysical estimate of plantar vibration sensitivity brings additional information to the detection threshold in young and elderly subjects. *Clinical Neurophysiology Practice*, 1, 26–32.

Kearney, P. M., Megan Whelton, Kristi Reynolds, Paul Muntner, Whelton, P. K., & He, J. (2005). Global burden of hypertension--analysis of worldwide data. *The Lancet*, 365, 217–223.

Kirsten, B., Glenn, M. C., Pamela, G., Moran, A. E., Lightwood, J. M., Pletcher, M. J., & Goldman, L. (2011). Reductions in Dietary Salt. *National Institutes of Health*, 362(7), 590–599.

Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices*. 2^a ed. New York: Springer, 596p.

Lazic, I. B., Raseta, M., Nikolik, D., Lukic M., Karan, D., Lilic, S. (2015). Reducing the Sodium Chloride Content in Chicken Pate by Using Potassium and Ammonium Chloride. *Original Research Article*; 5 (1), 22-25.

Lee, W. J., Shimizu, M., Kniffin, K. M., & Wansink, B. (2013). You taste what you see: Do organic labels bias taste perceptions ? *Food Quality and Preference*, 29(1), 33–39.

Lilic, Slobodan., Brankovic, I., Koricanac, V., Vranic, D., Spalevic, L., Pavlovic, M., Lakicevic, B., (2015). Reducing Sodium Chloride Content In Meat Burgers By Adding Potassium Chloride And Onion. *Procedia Food Science*, 5(1), 164–167.

Lim, J., & Lawless, H. T. (2006). Detection thresholds and taste qualities of iron salts. *Food Quality and Preference*, 17(6), 513–521.

Lima Filho, T., Della Lucia, S. M., Scolforo, C. Z., Lima, R. M., Carneiro, J. C. S., Pinheiro, C. J. G., Minim, V. P. R. (2014). Consumer rejection threshold for strawberry radiation doses. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23, 194–198.

Lima Filho, T., Minim, V. P. R., Navarro, R. D. C., Della Lucia, S. M., & Minim, L. A. (2015). Methodology for determination of two new sensory thresholds : Compromised acceptance threshold and rejection threshold. *Food Research International*, 76(3), 561–566.

Lima Filho, T. (2015). *Proposição da metodologia dos limiares hedônicos : limiar de aceitação comprometida e limiar de rejeição*. Tese (doutorado). Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), Universidade Federal de Viçosa. p.109.

MacMahon, S., Peto, R., CUTLER, J., Collins, R., & SORLIE, P. (1990). Stroke, Prospective. *The Lancet*, 335, 765–774.

Martineau, B., Acree, T. E., & Henick-Kling, T. (1995). Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International*, 28(2), 139–143.

Meilgaard, M., Civille, G. V. & Carr, B. T. (2006). *Sensory evaluation techniques*. 4th

ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 448p.

Methven, L., Xiao, C., Cai, M., & Prescott, J. (2016). Rejection thresholds (R_{JT}) of sweet likers and dislikers. *Food Quality and Preference*, 52, 74–80.

Mitchell, M., Brunton, N. P., & Wilkinson, M. G. (2013). The influence of salt taste threshold on acceptability and purchase intent of reformulated reduced sodium vegetable soups. *Food Quality and Preference*, 28(1), 356–360.

Montgomery, D. C. (2001). Design and analysis of experiment. 5th ed. New York: *John Wiley & Sons*, p. 684.

Nilson, E. A. F., Jaime, P. C., & Resende, D. de O. (2012). Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados. *Rev Panam Salud Publica*, 32(4), 287–292.

Niu, Y., Zhang, X., Xiao, Z., Song, S., Eric, K., Jia, C., Zhu, J. (2011). Characterization of odor-active compounds of various cherry wines by gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and their correlation with sensory attributes. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 879(23), 2287–2293.

Passos, M. H. C. R., & Kuaye, A. Y. (2002). Influence of the formulation, cooking time and final internal temperature of beef hamburgers on the destruction of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 13, 33-40.

Pérez-Cacho, P. R., Danyluk, M. D., & Rouseff, R. (2011). GC-MS quantification and sensory thresholds of guaiacol in orange juice and its correlation with *Alicyclobacillus* spp. *Food Chemistry*, 129(1), 45–50.

Pineli, L.L.O., Aguiar, L.A., Fiusa, A., Botelho, R.B.A., Zandonadi, R.P., Melo, L. (2016). Sensory impact of lowering sugar content in orange nectars to design healthier, low-sugar industrialized beverages. *Appetite*, 96, 239–244

Prescott, J., Norris, L., Kunst, M., & Kim, S. (2005). Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. *Food Quality and Preference*, 16(4), 345–349.

- Saliba, A. J., Bullock, J., & Hardie, W. J. (2009). Consumer rejection threshold for 1,8-cineole (eucalyptol) in Australian red wine. *Food Quality and Preference*, 20(7), 500–504.
- Santos, M. V, Ma, Y., Caplan, Z., & Barbano, D. M. (2003). Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. *Journal of dairy science*, 86(5), 1601–7.
- Santos, J. P., Lozano, J., Aleixandre, M., Arroyo, T., Cabellos, J. M., Gil, M., & Horrillo, M. del C. (2010). Threshold detection of aromatic compounds in wine with an electronic nose and a human sensory panel. *Talanta*, 80(5), 1899–1906.
- Sarno, F., Claro, R. M., Levy, R. B., Bandoni, D. H., Ferreira, S. R. G., & Monteiro, C. A. (2013). Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2002-2003. *Rev Saúde Pública*, 47(3), 571–578.
- Shamseer, L., Charrois, T.L., Vohra, S. (2007). Complementary holistic and integrative medicine; Garlic. *Pediatric Reviews*, 27 (1), 77–80.
- Stone, H., Bleibaum, R. N. & Thomas, H. A. (2012). *Sensory evaluation practices*. 4th ed. New York: Academic Press. 446 p.
- Tapsell, L.C., Hemphill, I., Cobiac, L., Patch, C.S., Sullivan, D.R., Fenech, M. (2006). Health benefits of herbs and spices; the past, the present, the future. *Medical Journal of Australia*, 185 (1), 4–24
- U.S Department of Agriculture, & U.S Department Of Health and Human Services. (2010). Dietary Guidelines for Americans, 2010. *Washington, DC: U.S Government Printing Office*, (7).
- Veioğlu, H. M., Velioglu, S. D., Boyaci, I. H., Yilmaz, I., & Kurultay, S. (2010). Investigating the effects of ingredient levels on physical quality properties of cooked hamburger patties using response surface methodology and image processing technology. *Meat Science*, 84, 447-483.
- Viteri, F. E., Alvarez, E., Batres, R., Torún, B., Pineda, O., Mejía, L. a., & Sylvi, J.

(1995). Fortification of sugar with iron sodium ethylenediaminetetraacetate (FeNaEDTA) improves iron status in semirural Guatemalan populations. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61, 1153–1163.

Whelton, P. K. (2011). Urinary sodium and cardiovascular disease risk: informing guidelines for sodium consumption. *JAMA*, 306(20), 2262–2264.

WHO. (2010). Creating an enabling environment for population-based salt reduction strategies. United Kingdom. *Report of a joint technical meeting held by WHO and the Food Standards Agency*, United Kingdom, p.42.

WHO. (2012). *Guideline: Sodium intake for adults and children*. Geneva, World Health Organization (WHO), Department of Nutrition for Health and Development. p.48.

Yin, M. C., Cheng W. S. (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*, 63(1): 23-8.

Yoo, Y. J., Saliba, A. J., Prenzler, P. D., & Ryan, D. (2012). Total phenolic content, antioxidant activity, and cross-cultural consumer rejection threshold in white and red wines functionally enhanced with catechin-rich extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(1), 388–393.