



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química



**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS DO LEITE COMO METODOLOGIA
PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO**

Larissa Silva Paiva
Uberlândia - MG
2019



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química



**AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS DO LEITE COMO METODOLOGIA
PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO**

Larissa Silva Paiva

Orientador(a): Fabiana Regina Xavier Batista

Co-orientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química.

Uberlândia - MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

P149a
2019 Paiva, Larissa Silva, 1992-
Avaliação das propriedades ópticas do leite como metodologia para
detecção de adulteração [recurso eletrônico] / Larissa Silva Paiva. -
2019.

Orientador: Fabiana Regina Xavier Batista.
Coorientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2022.5320>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Batista, Fabiana Regina Xavier, 1976-, (Orient.). II.
Adamo, Ferreira Gomes do, 1972-, (Coorient.). III. Universidade Federal
de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV.
Título.

CDU: 54

Glória Aparecida
Bibliotecária - CRB-6/2047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 1K, Sala 206 - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP 38400-902
Telefone: (34)3239-4249 - www.ppgeq.feq.ufu.br - secppgeq@feq.ufu.br



ATA

Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia.

DEFESA DE: Dissertação de Mestrado Acadêmico, 01/2019, PPGEQ

DATA: 04 de fevereiro de 2019 - 14:00

DISCENTE: 11722EQU009 - Larissa Silva Paiva

TÍTULO DO TRABALHO: Avaliação das propriedades ópticas do leite como metodologia para detecção de adulteração

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Desenvolvimento de Processos Químicos

LINHA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Estudo do processo da lactose a partir de soro de leite, utilizando a operação de cristalização em leite vibrado

Às 14 horas do dia 04 de fevereiro do ano de 2019, na sala 1K228 - *Campus* Santa Mônica da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Professores Doutores: Bruna Vieira Cabral - ICTE/UFTM; Michelle Andriati Sentanin - FEQUI/UFU; Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros - FEQUI/UFU; Adamo Ferreira Gomes do Monte - INFIS/UFU, coorientador e Fabiana Regina Xavier Batista - PPGEQ/UFU, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos, a presidente da mesa, Profa. Dra. Fabiana Regina Xavier Batista, apresentou a Comissão Examinadora e a Candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir, a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata aprovada e não estabeleceu novo título para o trabalho.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação e regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos às 16 horas e 11 minutos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.

Fabiana Regina Xavier Batista - PPGEQ/UFU - Orientadora

Adamo Ferreira Gomes do Monte - INFIS/UFU - Coorientador

Bruna Vieira Cabral - ICTE/UFTM

Michelle Andriati Sentanin - FEQUI/UFU

Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros - FEQUI/UFU



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Regina Xavier Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2019, às 16:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Michelle Andriati Sentanin, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2019, às 16:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adamo Ferreira Gomes do Monte, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2019, às 16:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/02/2019, às 16:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruna Vieira Cabral, Usuário Externo**, em 04/02/2019, às 16:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0977935** e o código CRC **92B634BF**.

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS DO LEITE COMO METODOLOGIA PARA DETECÇÃO DE ADULTERAÇÃO

Dissertação de mestrado de Larissa Silva Paiva submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, em 04 de fevereiro de 2019.

Banca examinadora:

Profa. Dra. Fabiana Regina Xavier Batista
Orientadora, PPGEQ/FEQ/UFU

Prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte
Co-orientador, INFIS/UFU

Prof. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros
FEQ/UFU

Prof. Michelle Andriati Sentanin
FEQ/UFU

Prof. Bruna Vieira Cabral
UFTM

AGRADECIMENTOS

Agradeço, acima de tudo, aos meus pais, por terem sempre me motivado a buscar conhecimento e aprimoramento, além de estarem por trás de todos os meus passos: sem vocês, nenhum deles jamais teria sido possível. A meu marido que esteve do meu lado nas piores horas, me aconselhando e me dando forças para continuar. A minha irmã por sempre me incentivar e ver o lado bom das coisas. Sinceramente meu muito obrigada, sem vocês eu não conseguiria chegar até o fim!

Agradeço a professora Fabiana por ter me dado a oportunidade de trabalharmos juntas e a confiança na minha capacidade para realizar esse trabalho e pelos conhecimentos comigo compartilhados. Ao professor Adamo, pelo tempo dispendido em reuniões, pelos conhecimentos transmitidos e a paciência que teve comigo nesse período.

Agradeço a todos os mestres que tive durante a vida, que dedicaram tempo e energias ao meu desenvolvimento. O esforço de cada um me serve de inspiração e jamais será esquecido.

À Universidade Federal de Uberlândia, em especial à Faculdade de Engenharia Química e o Instituto de Física, pelos recursos oferecidos e à CAPES, FAPEMIG e CNPQ pelo suporte a esse trabalho.

Agradeço a todos os meus colegas que compartilharam comigo todos os momentos vividos durante esse percurso e tornaram a jornada para a realização desse projeto muito mais memorável, meu MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O leite é um dos principais alimentos mais consumidos no mundo. Neste sentido, deve-se garantir sempre a conservação de suas características sensoriais, nutritivas e de segurança, que são requisitos cada vez mais importantes para o consumidor, para a indústria e conseqüentemente para o produtor. Dessa forma, é essencial a regularidade da qualidade do produto, cujo controle é realizado por meio de análises de rotina e análises previamente regulamentadas, visando se verificar também a ocorrência de possíveis irregularidades. Essas análises são feitas desde a obtenção do leite cru, seu processamento e a distribuição do produto final. Porém, com o intenso número de fraudes e novos procedimentos para burlar os parâmetros mínimos de qualidade, se faz necessário o estabelecimento de novas metodologias para acelerar esse processo de detecção de adulteração do leite. Assim, este estudo avaliou uma nova metodologia para detecção de adulteração no leite, através do uso da esfera integradora que foi capaz de gerar dados das propriedades ópticas do produto, como coeficiente de absorção e espalhamento reduzido da luz para comparações com os valores característicos para cada tipo de leite. Os resultados no comprimento de onda determinado de 575,1 nm, revelaram tanto para o leite comercial quanto para o leite cru, variações pequenas do coeficiente de atenuação (μ_e) quando o produto foi adulterado por água e peróxido de hidrogênio. Já a soda cáustica, apresentou variações acentuadas, que indicaram facilmente o indício de fraude. Já o soro de queijo foi o adulterante mais complexo de se avaliar, pois não ocasionou variações significativas, necessitando de um estudo mais aprofundado. Por fim, tratou-se de uma metodologia bastante promissora e que uma vez aprimorada poderá ser inserida futuramente nas práticas de rotina para detecção de fraudes.

Palavras-chaves: leite, adulteração, propriedades ópticas, absorção, espalhamento, atenuação.

ABSTRACT

Milk is one of the most widely consumed foods in the world. In this sense, it must always ensure the preservation of its sensorial, nutritional and safety characteristics, which are increasingly important requirements for the consumer, the industry and, consequently, the producer. Thus, it is essential the regularity of product quality, which is currently done by routine analyses and previously regulated analyses, aiming to verify the occurrence of possible irregularities. These analyses are done from obtaining raw milk, processing and distributing the final product. However, with the intense number of frauds and new procedures to circumvent the minimum quality parameters, it is necessary to establish new methodologies to accelerate this process of detecting milk adulteration. Moreover, the current study evaluated a new methodology for detecting adulteration in milk, through the use of the integrating sphere that was able to generate data from the optical properties of the product, such as the absorption coefficient and the reduced light scattering for comparisons with the characteristic values for each kind of milk. The results in the wavelength determined from 575.1 nm, revealed both for commercial milk and raw milk, small variations of the attenuation coefficient (μ_e) when the product was adulterated by water and hydrogen peroxide. Caustic soda presented accentuated variations, which indicated easily evidence of fraud. The cheese whey was the most complex adulterant to evaluate, because it did not cause significant variations, needing a more thorough study. Finally, it was a very promising methodology that, once improved, could be inserted in the future routine practices for fraud detection.

Key words: Milk, adulteration, optical properties, absorption, scattering, attenuation.

LISTA DE FIGURAS





















Figura 1 – Espectro eletromagnético.....	23
Figura 2 - Materiais transparente, translúcido e opacos.....	23
Figura 3 - Tipos de reflexão (a) difusa e (b) regular.	24
Figura 4 - Formas de interação da radiação incidente com um material.	26
Figura 5 - Desvio da trajetória do fóton.	27
Figura 6 – Caminho médio ($1/\mu_s$) e caminho médio reduzido ($1/\mu_s'$).....	28
Figura 7 - Fenômeno de (a) absorção e de (b) espalhamento.	29
Figura 8 - Esquema do dispositivo óptico, constituída por (a) fonte externa, (b) espelho e (c) esfera integradora.	30
Figura 9 – Esquema de medida de (a) transmissão e (b) reflexão, utilizando (1) a amostra, (2) porta de entrada e (3) porta de saída.....	31
Figura 10 - Troca de radiação entra duas superfícies difusora.....	31
Figura 11 – Esfera com superfície interna difusora.	32
Figura 12 - Esfera integradora e suas aberturas.	34
Figura 13 - Medidas de (a) transmissão e (b) reflexão.	38
Figura 14 - Comportamento do (a) coeficiente de absorção - μ_a e (b) coeficiente de espalhamento reduzido - μ_s' , para leite  desnatado,  semidesnatado,  semidesnatado zero lactose,  integral e  cru.	41
Figura 15 - Fórmula estrutural geral de um triglicerídeo.....	43
Figura 16 – Formas anoméricas da molécula de lactose.	44
Figura 17 - Gráfico de normalidade dos dados.....	45
Figura 18 - Comportamento de μ_e com adição de água destilada (H_2O) no leite  desnatado,  semidesnatado,  semidesnatado zero lactose e 47	47
Figura 19 - Comportamento de μ_e com adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no leite  desnatado,  semidesnatado,  semidesnatado zero lactose e  integral.....	49
Figura 20 - Comportamento de μ_e com adição de soda cáustica ($NaOH$) no leite  desnatado,  semidesnatado,  semidesnatado zero lactose e  integral.	50
Figura 21 - Comportamento de μ_e com adição de soro de queijo no leite  desnatado,  semidesnatado,  semidesnatado zero lactose e  integral.	52

Figura 22 - Aspecto visual do leite cru adulterado por (a) água destilada, (b) peróxido de hidrogênio, (c) hidróxido de sódio e (d) soro de queijo..... 54

Figura 23 - Comportamento de μ_e do leite cru com adição de \blacklozenge H₂O, \blacktriangleleft H₂O₂, \blacktriangleright soro de queijo e \blacksquare NaOH. 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais produtores de leite de vaca do mundo.	12
Tabela 2 - Composição média do leite de vaca.....	14
Tabela 3 - Parâmetros mínimos de qualidade do leite UHT.	19
Tabela 4 – Valores característicos de coeficiente de atenuação (μ_e) determinado em cada tipo de leite em 575,1 nm.....	43
Tabela 5 - Teste de Shapiro-Wilk.	45
Tabela 6 – Resultados de probabilidade do teste de Tukey, para o leite desnatado (1), semidesnatado (2), semidesnatado zero lactose (3), integral (4) e leite cru (5).	46
Tabela 7 - Teste de Tukey para diferenciar as medidas de concentração.	48
Tabela 8 - Caracterização do soro de queijo.	51
Tabela 9 - Teste de Tukey para verificar diferença entre os adulterantes.....	57
Tabela 10 – Variação em cm^{-1} do coeficiente de atenuação em relação aos intervalos observados.....	58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. LEITE	14
3.1.1. <i>Propriedades Físico-Químicas do Leite</i>	15
3.1.2. <i>Classificação do Leite</i>	16
3.1.3. <i>Leite UHT e suas características</i>	18
3.2. CONTAMINANTES DO LEITE	19
3.2.1. <i>Água</i>	20
3.2.2. <i>Soro do queijo</i>	20
3.2.3. <i>Reconstituintes da crioscopia e densidade</i>	21
3.2.4. <i>Adição de conservantes</i>	21
3.2.5. <i>Neutralizantes de acidez</i>	21
3.2.6. <i>Ureia</i>	22
3.3. PROPRIEDADES ÓPTICAS	22
3.3.1. <i>Reflexão da luz</i>	24
3.3.2. <i>Transmissão da luz</i>	24
3.3.3. <i>Absorção da luz</i>	25
3.3.4. <i>Espalhamento da luz</i>	26
3.4. COEFICIENTE DE ABSORÇÃO, ESPALHAMENTO E ATENUAÇÃO	26
3.5. ESFERA INTEGRADORA.....	29
3.6. MÉTODO DE ADIÇÃO-DUPLICAÇÃO	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1. PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS.....	37
4.2. MEDIDA DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS	37
4.3. PROCESSAMENTO DE DADOS	38
4.4. TRATAMENTO DE DADOS.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA.....	40
5.2. DETERMINAÇÃO DE TIPO DE LEITE ATRAVÉS DE PARÂMETRO ÓPTICO	42

5.3.	ANÁLISE QUANTITATIVA DO LEITE COMERCIAL	46
5.4.	ANÁLISE DO LEITE CRU	53
5.4.1.	<i>Análise qualitativa do leite cru</i>	53
5.4.2.	<i>Análise quantitativas das propriedades ópticas do leite cru</i>	55
6.	CONCLUSÃO	59
7.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	60
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

Um dos alimentos mais consumidos mundialmente é o leite, pois possui nutrientes essenciais, além de ser uma importante fonte de energia, proteínas e gorduras de alta qualidade. O leite contribui para o nosso desenvolvimento físico e intelectual, já que fornece todos os aminoácidos essenciais em quantidades e proporções ideais para a manutenção do bom funcionamento do organismo.

Dentre os diversos tipos de leite animal, o mais consumido e produzido é o tradicional leite de vaca. Nesse aspecto, o Brasil é um dos maiores produtores de leite de vaca mundial (CONAB, 2017), permanecendo em quinto lugar em 2017, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais produtores de leite de vaca do mundo.

Local	Produção de leite de vaca em 1000 toneladas *					
	2012	2013	2014	2015	2016	2017
União Europeia	139.000	140.100	146.500	150.200	152.000	152.500
Estados Unidos	91.010	91.277	93.485	96.620	96.343	98.339
Índia	55.500	57.500	60.500	64.000	68.000	72.000
China	32.600	34.300	37.250	37.550	35.700	35.000
Brasil*	32.304	34.255	35.124	35.000	34.650	34.997

*1 litro de leite equivale a 1,032 kg.

Fonte: CONAB (2017)

Com essa alta demanda de consumo e produção expressiva, a fraude alimentar é um problema grave que nos últimos anos tornou-se uma preocupação em matéria de segurança alimentar e de saúde pública (SPINK E MOYER, 2011). Dessa forma, alguns produtores utilizam recursos para ocultar características que demonstram a má qualidade do produto com o objetivo de aumentar o lucro ou evitar prejuízos de perda de produto, pois a remuneração é feita a partir de critérios de qualidade.

Apesar de todas as informações de requisitos e limites estabelecidos pelos documentos oficiais, infelizmente as adulterações no leite fazem parte do nosso cotidiano. Nos últimos anos inúmeras reportagens têm sido divulgadas sobre o assunto. Em 2012 foi divulgado pela Agência de Notícias da Polícia Federal que a Justiça Federal de Uberaba condenou 18 pessoas envolvidas na Operação “Ouro

Branco” realizada em 2007. Nesse caso, foi desvendada a fraude no leite cometida por duas cooperativas mineiras. Uma solução composta por soda cáustica, ácido cítrico, citrato de sódio, sal, açúcar e água era adicionada ao produto para aumentar o volume e o prazo de validade e, com isso, aumentar a lucratividade. Em outra operação da Polícia Federal em 2013, na "Operação Rio Branco", investigou-se a adulteração do leite fraudado com a adição de soro de leite, prática comum visando o aumento de volume da matéria-prima. Para que a fraude não fosse apontada em análises, era usada uma formulação com quatro substâncias químicas: peróxido de hidrogênio, soda cáustica, citrato de sódio e uma pasta base. Já em 2017, o Ministério Público deflagrou a Operação Leite Compensado e executou mandados de busca e apreensão em oito municípios do Rio Grande do Sul. Entre os produtos apreendidos estavam 600 quilos de soda cáustica, formol, e a água oxigenada.

Diante de tantas fraudes e métodos de adulterações, encontrar um único teste que possa detectar os mais diversos tipos de contaminantes, sendo que, alguns deles são escolhidos especificamente para burlar tais testes, é uma tarefa desafiadora. Atualmente, uma vasta lista de técnicas e suas combinações vêm sendo utilizadas para esse fim. Podemos citar entre elas, a cromatografia combinada com a espectrometria de massa, a eletroforese, a quimiometria, a espectroscopia FTIR, MIR e UV-visível, a colorimetria, a metodologia de Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF), entre outras técnicas.

Em busca de métodos alternativos de análise, medidas ópticas vêm ganhando bastante espaço, pois são técnicas que não agredem a amostra e possuem resposta rápida e precisa. Com isso, captando variações ópticas é possível se detectar variações nas propriedades físico-químicas de uma substância. É neste contexto que o uso da esfera integradora é indicado. Trata-se de um equipamento no qual se podem determinar coeficientes de absorção e espalhamento da luz no leite e com isso observar a ocorrência de fraudes. A resposta é fornecida por meio de dados de transmissão e reflexão gerados pela amostra.

É importante salientar que essa metodologia de análise se constitui de novidade no que se refere a uma estratégia de medição de propriedades ópticas para a matéria-prima leite, já que a esfera é comumente utilizada para analisar tecidos biológicos, verificando a ocorrência de patologias. Assim, este trabalho de cunho multidisciplinar vislumbrou associar técnicas ópticas como ferramenta de análise,

além de estratégias de engenharia, visando o delineamento de um instrumento para o uso cotidiano e prático, que viabilizasse a realização de análises com rapidez e precisão.

2. OBJETIVO

O presente trabalho apresenta como objetivo geral a verificação de uma proposta que visa a detecção da adulteração do leite mediante o uso da esfera integradora. Já os objetivos específicos visaram:

1. Avaliar o intervalo do espectro magnético mais adequado para a detecção de adulteração e também,
2. Verificar como os adulterantes afetam o comportamento do coeficiente de atenuação dentre os diversos tipos de leite utilizados (cru, integral, desnatado e semidesnatado) em determinadas concentrações (0%, 5%, 10%, 20%,30% e 50%).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Leite

O leite é um fluido biológico complexo contendo provavelmente cerca de 100.000 diferentes espécies moleculares em vários estados de dispersão, possuindo como principais componentes a água, proteínas, lactose, gordura e sais minerais (SINGH E BENNETT, 2005). A Tabela 2 sumariza a composição percentual dos principais constituintes do leite.

Tabela 2 - Composição média do leite de vaca.

Constituinte	Teor (% v/m)
Água	87,0
Gordura	4,0
Lactose	4,8
Proteínas	3,4
Minerais	0,8

FONTE: Venturini *et al.* (2007)

A água é o constituinte quantitativamente mais importante, no qual estão dissolvidos, dispersos ou emulsionados os demais componentes. A maior parte encontra-se como água livre, embora haja água ligada a outros componentes, como proteínas, lactose e substâncias minerais. A lactose é o glicídio característico do leite, formado a partir da glicose e da galactose, sendo o constituinte sólido predominante e menos variável.

A gordura no leite ocorre como pequenos glóbulos contendo principalmente triacilgliceróis, envolvidos por uma membrana lipoproteica. As vitaminas A, D, E e K estão associadas aos glóbulos de gordura e as demais ocorrem na fase aquosa do leite (VENTURINI *et al.*, 2007).

O leite de vaca possui aproximadamente 440 ésteres de ácidos graxos e os principais são o ácido palmítico e o ácido oleico. Também contém teores consideráveis de cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês, formando sais orgânicos e inorgânicos.

O leite bovino contém vários compostos nitrogenados, dos quais aproximadamente 95% ocorrem como proteínas e 5% como compostos nitrogenados não-proteicos. O nitrogênio proteico do leite é constituído de cerca de 80% de nitrogênio caseínico e de 20% de nitrogênio não caseínico (albuminas e globulinas). Por fim, numerosas enzimas podem ser encontradas no leite, como lipases, proteinases, óxido-redutases, fosfatases, catalase e peroxidase. O desenvolvimento, intencional ou não, de microrganismos no leite contribui para o complexo enzimático (MARTINS *et al.*, 2015).

3.1.1. Propriedades Físico-Químicas do Leite

O leite fresco, produzido sob condições ideais, apresenta sabor *sui generis* pouco pronunciado, essencialmente devido à relação entre lactose e cloretos, apresentando-se como doce e salgado, não ácido e não amargo.

A cor branca do leite resulta da dispersão da luz refletida pelos glóbulos de gordura e pelas partículas coloidais de caseína e de fosfato de cálcio. A homogeneização torna o leite mais branco, pois as partículas fragmentadas dispersam mais luz. A cor amarelada provém do pigmento caroteno, que é lipossolúvel. O leite

desnatado apresenta tonalidade mais azulada, já que existe baixa quantidade de partículas maiores na suspensão (BEZERRA *et. al.*, 2010).

A acidez natural do leite varia entre 0,13 e 0,17%, expressa como ácido láctico. A elevação da acidez é determinada pela transformação da lactose por enzimas microbianas, com formação de ácido láctico, caracterizando a acidez desenvolvida do leite.

Para o leite proveniente de diversas fontes, depois de misturado, o pH varia entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 a 20°C ou 6,6 a 25°C. O leite apresenta considerável efeito tampão, especialmente em pH entre 5 e 6, em razão da presença de dióxido de carbono, proteínas, citratos, lactatos e fosfatos.

A densidade do leite varia entre 1,023 g/mL e 1,040 g/mL a 15°C, sendo o valor médio de 1,032 g/mL. Leite com alto teor de gordura apresenta maior densidade em relação a leite com baixo teor de gordura, em razão do aumento do extrato seco desengordurado que acompanha o aumento no teor de gordura (RODRIGUES, *et. al.*, 2013).

3.1.2. Classificação do Leite

3.1.2.1. Modo de produção

O leite pode ser classificado seguindo o seu modo de produção, composição e requisitos físico-químicos e biológicos, recebendo as denominações A, B ou C. Essa denominação é determinada a partir da contagem de microrganismos presentes no leite.

O leite tipo A é oriundo de um controle mais rigoroso na produção e higienização do leite. O leite é pasteurizado e embalado na própria fazenda, portanto existe menor quantidade de microrganismos, sendo que o número máximo de bactérias permitido para este leite é de 500 bactérias/mL. O leite tipo B é transportado para indústria na qual ele é pasteurizado e embalado (máximo 40 mil bactérias/mL). Já o leite tipo C é aquele pasteurizado e embalado na indústria, tendo uma maior quantidade de microrganismos, máximo de 150 mil bactérias/mL que é o que difere do leite do tipo B (VENTURINI, *et. al.*, 2007).

3.1.2.2. *Teor de matéria gorda*

O leite também é classificado quanto ao seu teor de matéria gorda, sendo que o leite integral possui no mínimo 3% gordura, o semidesnatado está entre 0,6 e 2,9% e o desnatado possui no máximo 0,5% (BRASIL, 1997). Leites do tipo A e B são leites integrais enquanto o leite do tipo C é legalmente o único que pode possuir os três teores de matéria gorda, integral, semidesnatado e desnatado.

3.1.2.3. *Processamento térmico*

Outra forma de classificação é quanto ao processamento térmico, que difere tanto na temperatura quanto no tempo de aquecimento do processo. Podendo ser classificado como leite cru refrigerado, leite pasteurizado, leite ultrapasteurizado (UHT) ou leite esterilizado.

O leite cru refrigerado é um produto refrigerado, transportado em carro-tanque isotérmico da propriedade rural para um posto de refrigeração de leite ou estabelecimento industrial adequado para ser processado. A temperatura máxima de conservação do leite estabelecida é de 7°C na propriedade rural/tanque e de 10°C no estabelecimento processador.

Já o leite pasteurizado é aquele líquido que foi submetido ao tratamento térmico (pasteurização), com aquecimento à temperatura de 72 a 75°C, por 15 a 20 segundos (processo rápido). Seguido de refrigeração imediata à temperatura igual ou menor que 4°C e posteriormente foi para o envasamento (BRASIL, 1996). Entre todos os tipos de tratamento térmico, este é o que permite obter maior semelhança ao leite em natureza, do ponto de vista nutricional e sensorial.

O leite mais conhecido de todos é o leite Longa Vida, ultrapasteurizado ou UHT (*Ultra High Temperature*). Geralmente o leite utilizado para este tipo de produto é o leite Tipo C, homogeneizado e submetido a um tratamento UAT (Ultra Alta Temperatura) ou UHT. Esse é um tipo de tratamento térmico no qual o leite é aquecido de 130 a 150°C por 2 a 4 segundos, seguido por resfriamento até uma temperatura menor que 32°C. Posteriormente, o leite segue para o envasamento asséptico (RODRIGUES *et al.*, 2013). Esse tratamento é suficiente para eliminar, além dos patógenos, todos os microrganismos viáveis no produto final, ou seja, todos aqueles

que conseguiriam se multiplicar dentro da embalagem de leite UHT causando alterações. Isso explica porque o leite UHT pode ser armazenado em temperatura ambiente, e, além disso, não recebe adição de nenhum tipo de conservante. A embalagem do leite UHT também é diferenciada, protegendo o leite da exposição à luz e ao oxigênio, para evitar também outras possíveis alterações químicas, chegando até 6 meses de vida de prateleira.

Por fim, o leite esterilizado é o leite aquecido a temperaturas mais elevadas durante um período de tempo mais longo (por exemplo, a 110°C durante 20 minutos) diretamente na embalagem final. O vidro resiste a estas temperaturas, por isso os leites esterilizados estão geralmente disponíveis em garrafa de vidro. Entre todos os tipos de tratamento térmico, este é o mais agressivo para o leite, do ponto de vista nutricional e sensorial. As temperaturas elevadas reduzem o teor vitamínico (principalmente vitaminas hidrossolúveis) e promovem alteração da cor e do sabor (mais caramelizado). Um leite esterilizado pode ter até 12 meses de validade.

3.1.3. Leite UHT e suas características

É um dos principais produtos lácteos comercializados no Brasil, especialmente em virtude da estabilidade comercial, que é conferida pelo processamento, embalagem, as propriedades físico-químicas e microbiológicas. Contudo, o leite UHT obteve um crescimento de 70% ao longo de vinte anos (MELO, 2015).

Na legislação consta a normatização da produção e parâmetros físico-químicos de qualidade do leite UHT conforme a Portaria nº 370 de 1997 (Tabela 3). Para garantir maior inocuidade do produto, na Instrução Normativa nº 68 de 2006 estão inseridas as técnicas para a detecção de fraudes do leite UHT (BRASIL, 2006).

Tabela 3 - Parâmetros mínimos de qualidade do leite UHT.

Requisitos	Leite Integral	Leite Semidesnatado	Leite Desnatado
Matéria Gorda % m/v	Min. 3,0	0,6 a 2,9	Máx. 0,5
Acidez g ac. Láctico/100 mL	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18	0,14 a 0,18
Estabilidade ao Etanol 68% v/v	Estável	Estável	Estável
Extrato Seco Desengordurado % (m/m)	Mín. 8.2	Mín. 8.3	Mín. 8.4

Fonte: modificado da Portaria nº 370, BRASIL (1997)

Outro aspecto fundamental da qualidade do leite UHT é a composição físico-química, que pode estar modificada devido ação do metabolismo microbiano e em casos de fraude. Entre as principais fraudes, destacam-se a adição de reconstituintes de densidade, água e reguladores de acidez. Em decorrência de fraudes, as informações nutricionais constantes nos rótulos podem não representar a real composição do leite, sendo um aspecto que deve ser observado em relação à qualidade do mesmo.

3.2. Contaminantes do leite

A legislação brasileira considera fraude, a adição de água; subtração de qualquer dos seus componentes, exceto a gordura nos tipos “C” e “magro”; adição de substâncias conservadoras ou de quaisquer elementos estranhos à sua composição; se apresentar rotulado como de outro de categoria superior a não pertence; cru vendido como pasteurizado; exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade (BRASIL, 1997). O leite pode ser adulterado com água, soro de leite, neutralizantes para mascarar a acidez (hidróxido de sódio), reconstituintes de densidade e crioscopia (sal, açúcar e amido), agentes inibidores do crescimento microbiano (peróxido de hidrogênio, formaldeído e sanitizantes), entre outros.

3.2.1. Água

A principal fraude detectada no leite ainda continua sendo a adição de água com o objetivo de aumentar seu volume. A adição de água no leite reduz de forma significativa o seu valor nutritivo, procedimento este que além de prejudicar a qualidade microbiológica do produto, reflete a falta de comprometimento com a produção de leite com qualidade.

A presença de água pode ser percebida pela interpretação dos valores obtidos na crioscopia e densidade. A densidade fica reduzida e a crioscopia mais alta, de modo que o valor se aproxima do ponto de congelamento da água (ABRANTES *et al.*, 2014). O leite pela legislação brasileira possui o ponto de congelamento em média de $-0,512^{\circ}\text{C}$, dessa forma, quanto mais ele se aproximar de 0°C maior a probabilidade de que o leite contenha água além dos padrões permitidos, fora do que está determinado por lei.

3.2.2. Soro do queijo

A adição do soro de queijo tem como objetivo aumentar o volume de leite. Por possuir uma composição de água, lactose e sais minerais, apresenta também características físico-químicas, como densidade e índice crioscópico, semelhantes com as do leite (TRONCO, 2008).

A legislação brasileira e também a de todos os países desenvolvidos, proíbe a adição de soro de queijo ao leite de consumo. Caso a adição seja feita, o produto final deverá chamar-se “bebida láctea” e não poderia ser considerado leite (tipo A, B, C, esterilizado, etc). Esse tipo de adulterante é um dos mais difíceis de ser detectado. Atualmente pode ser utilizado para sua detecção o método da eletroforese, que quantifica frações proteicas no leite. Caso o leite esteja adulterado pelo soro de queijo, essas frações estarão alteradas. Porém esse é um método caro e demorado para utilização.

Outra forma de detecção do soro de queijo é através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em fase reversa, que é eficiente até para captar quantidades menores a 1% de adulterante. Esse método detecta e quantifica o glicomacropéptido, que resulta da quebra da ligação peptídica da k-caseína entre

alguns aminoácidos. Desta cisão forma-se a para-k-caseína que permanece nas micelas de caseína e o glicomacropéptido que fica no soro (CARVALHO *et al.*, 2007). É um método rápido e eficiente, porém é extremamente caro, além de ser ineficaz se o leite adulterado estiver sido acidificado antes da análise.

3.2.3. *Reconstituintes da crioscopia e densidade*

O uso de reconstituintes em geral tem como por objetivo recompor a aparência e algumas características físico-químicas do leite que foi fraudado, geralmente com água ou soro de queijo. Dentre os principais reconstituintes utilizados destacam-se o sal, sacarose, amido e álcool. As adições de sacarose e do amido no leite, recompõem a densidade do leite, ou seja, a presença das substâncias sólidas adicionadas aumenta a densidade do leite aguado (SCHERER, 2015).

3.2.4. *Adição de conservantes*

Outro tipo de fraude do leite é a adição de bicarbonatos, formol, ácido bórico, peróxido de hidrogênio, bicromato de potássio, hipocloritos e ácido salicílico, todos empregados como conservantes. O formol e o peróxido de hidrogênio são utilizados em fraudes de leite que visam paralisar a atividade microbiana. Leites com carga microbiana elevada apresentam pH alterado e, conseqüentemente, acidez Dornic elevada, diagnosticado através dos testes de plataforma efetuados durante a recepção, o que causa recusa do leite pelo laticínio (ABRANTES *et al.*, 2014).

Normalmente utilizam-se soluções de óxido de vanádio e ácido sulfúrico para a detecção, como por exemplo, do peróxido de hidrogênio. Quando adicionadas ao leite, faz com que a sua coloração se torne rosa (BRASIL, 2006).

3.2.5. *Neutralizantes de acidez*

As substâncias neutralizantes como bicarbonatos e soda, são adicionadas com objetivo de reverter a acidez desenvolvida por microrganismos mesófilos, que

degradam a lactose gerando ácido láctico, levando a coagulação do leite. A neutralização de maneira ilegal da acidez pode mascarar este parâmetro, tornando um leite de péssima qualidade em um leite aceitável conforme a legislação brasileira (SILVA et al., 2010).

Atualmente utiliza-se nas análises de rotina o bromotimol, que quando adicionado ao leite faz com que sua coloração se torne esverdeada, quando à presença de hidróxido de sódio e se torna amarelada, quando o teste é negativo (BRASIL, 2006).

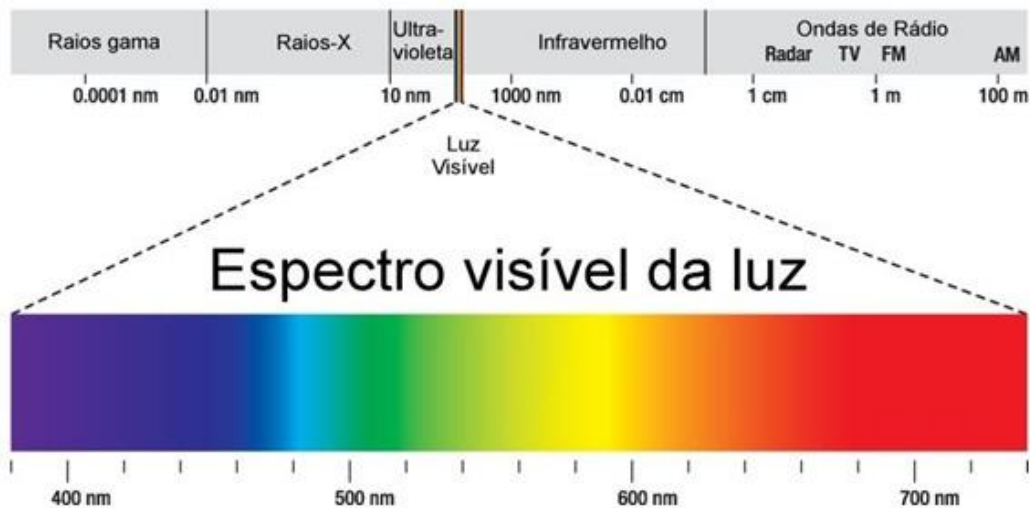
3.2.6. *Ureia*

A ureia é um dos mais comuns contaminantes usados, devido ao baixo custo e fácil acessibilidade, já que pode ser encontrada facilmente e comprada em grandes quantidades por qualquer pessoa. O fato de ter um alto teor de nitrogênio é um fator determinante para seu uso como contaminante. Ao se adicionar água ao leite, este perde sua densidade. A ureia adicionada ao leite junto com a água eleva a densidade a níveis normais. Também ajuda a elevar os níveis de nitrogênio para padrões normais. Como a ureia está presente no leite naturalmente, quantidades maiores que teores de 10 a 16 miligramas por decilitro, indicam que o produto foi contaminado ou adulterado (SOARES, 2015).

3.3. *Propriedades Ópticas*

A propriedade óptica é uma resposta de um material à exposição à radiação eletromagnética, em particular, à luz visível. O espectro eletromagnético da radiação abrange a larga faixa que vai desde os raios gama (emitidos pelos materiais radioativos), com comprimentos de onda da ordem 10^{-3} nm, e passa pelos raios X, ultravioleta, visível, infravermelho e, finalmente as ondas de rádio, com comprimentos de ondas tão longos quanto 10^5 m. A luz visível está localizada na faixa de comprimento de onda que vai de aproximadamente $0,4\mu\text{m}$ e $0,7\mu\text{m}$, como mostra a Figura 1 (CALLISTER, 2002).

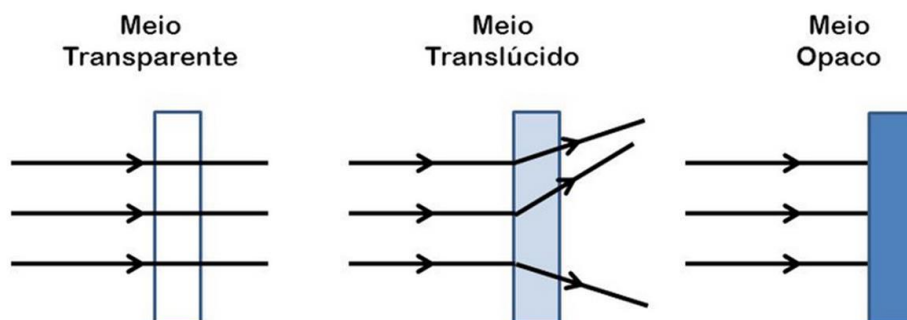
Figura 1 – Espectro eletromagnético.



FONTE: Oliveira (2017)

Os materiais capazes de transmitir a luz com absorção e reflexão relativamente pequenas são transparentes. Já os materiais translúcidos são aqueles através dos quais a luz é transmitida de uma maneira difusa, ou seja, a luz é dispersa no interior do material, em um grau em que os objetos não são claramente distinguíveis quando observados através de uma amostra dessa matéria. Aqueles materiais que são impenetráveis à transmissão da luz visível são conhecidos como opacos, como mostra a Figura 2.

Figura 2 - Materiais transparentes, translúcidos e opacos.



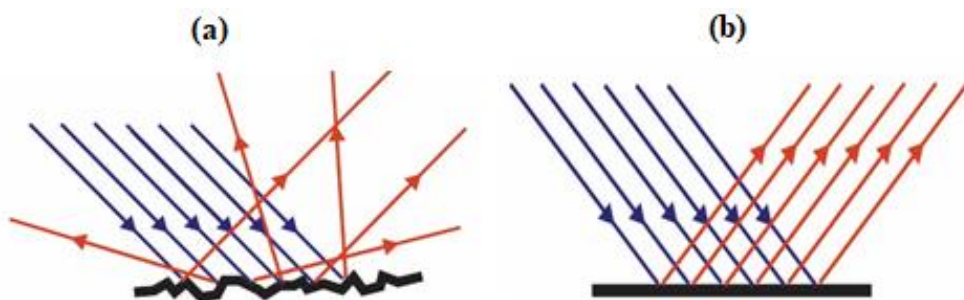
FONTE: Rosário (2019)

3.3.1. Reflexão da luz

A reflexão da luz é um fenômeno óptico em que um feixe de luz, ao incidir sobre uma superfície, retorna ao seu meio de origem com outra direção. Diferentes materiais possuem diferentes capacidades para refletir a luz. Porém, quando a radiação luminosa passa de um meio para o outro com o índice de refração diferente entre os dois meios, uma parte da luz é dispersa e outra parte é refletida. De acordo com a superfície de incidência da luz, como mostra a Figura 3, a reflexão pode ser classificada de duas formas:

- **Reflexão difusa:** ocorre quando os raios de luz incidem em uma superfície irregular ou rugosa e são refletidos em direções distintas;
- **Reflexão regular ou especular:** Quando os raios de luz incidem sobre uma superfície lisa, ou regular, e são refletidos na mesma direção, paralelos uns aos outros. Importante frisar que a luz vai refletir sempre no mesmo ângulo em incidência nessa superfície.

Figura 3 - Tipos de reflexão (a) difusa e (b) regular.



FONTE: Adaptado de Buglia (2019)

3.3.2. Transmissão da luz

A transmissão acontece quando a luz atravessa uma superfície ou objeto. Há três tipos de transmissão: direta, difusa ou seletiva.

- **Transmissão direta** ocorre quando a luz atravessa um objeto e não há mudança na direção ou qualidade dessa luz. Este fenômeno ocorre quando a luz atravessa um vidro ou o ar, por exemplo.

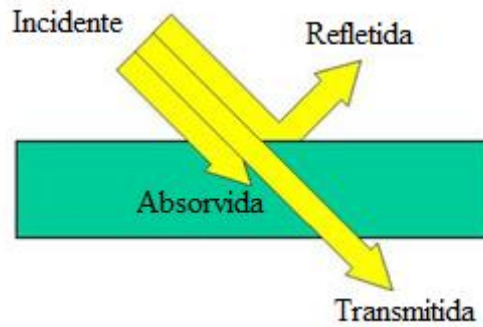
- **Transmissão difusa** ocorre quando a luz passa através de um objeto transparente ou semitransparente e este objeto apresenta algum tipo de textura. A luz ao invés de se projetar em uma única direção é desviada em muitas direções.
- **Transmissão seletiva** se dá quando a luz atravessa um objeto colorido. Parte da luz vai ser absorvida e parte vai ser transmitida por tal objeto.

3.3.3. Absorção da luz

A luz é uma forma de radiação eletromagnética constituída de partículas de energia denominadas fótons, em que o conteúdo energético está intimamente relacionado com o comprimento de onda. A absorção é o fenômeno no qual os fótons interagem com a matéria, sendo que esta recebe energia e transforma, podendo resultar em transições vibracionais das moléculas, ou em transações eletrônicas das moléculas e/ou átomos, dependendo do material que recebe e da energia do fóton. Os fótons possuem uma frequência característica que deve colidir com a frequência associada à energia de transição da molécula, para que a transferência ocorra (NASCIMENTO, 2001).

Em resumo, caso os fótons que interagem com a matéria excitem os elétrons das camadas de valências, alguns efeitos podem ocorrer, dentre eles a absorção, a reflexão ou a transmissão, como mostra a Figura 4. A absorção somente ocorre quando o fóton presente na radiação luminosa, cede toda a sua energia para elétron de valência do material incidente, excitando-o. Quando o elétron retorna da camada de valência para sua camada normal, há a emissão de um fóton de igual energia ao incidente, ou seja, reflexão. Se o fóton não interagir com a matéria, haverá o fenômeno de transmissão.

Figura 4 - Formas de interação da radiação incidente com um material.



FONTE: Adaptado de Abadi (2017)

3.3.4. Espalhamento da luz

O espalhamento da luz ocorre em matérias que apresentam variações no índice de refração, sejam entre partículas distintas ou variações mais contínuas do índice entre grandes conjuntos de partículas. Este fenômeno tem uma relação direta entre o comprimento de onda e a radiação (λ) incidente e o tamanho do centro espalhador (partícula).

Quando o tamanho da partícula é da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda na radiação incidente, o espalhamento é máximo (JAQUES E PRAHL, 1998a). No caso de a radiação ser desviada de sua trajetória sem perda de energia o fenômeno é chamado de espalhamento elástico (ou estático), do contrário, se houver perda de energia, é chamado de espalhamento inelástico (ou dinâmico) (GASPARINI, 2015).

3.4. Coeficiente de absorção, espalhamento e atenuação

O coeficiente de absorção (μ_a) é propriedade específica de cada material, e varia em função do comprimento de onda da radiação incidente; sendo o parâmetro utilizado para descrever a efetividade da absorção, dado em cm^{-1} . Os materiais que possuem grandes valores para o coeficiente de absorção são considerados altamente absorventes. Assumindo que $1/\mu_a$ é a distância na qual a intensidade da radiação

incidente decai na ordem de $1/e$, que também chamada de caminho médio. A determinação de decaimento da intensidade luminosa, após atravessar a matéria, é realizada através da Equação 1. Nesse caso, d é a espessura ou caminho óptico de uma amostra com coeficiente de absorção μ_a , que é atravessada por um feixe luminoso, I_0 é a intensidade do feixe antes de atravessar a amostra e I é a intensidade do feixe após atravessar a amostra (WELCH E GEMERT, 1995).

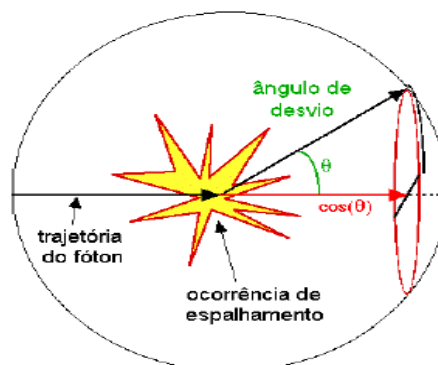
$$I = I_0 \cdot e^{-\mu_a \cdot d} \quad (\text{Eq. 1})$$

Já o coeficiente de espalhamento (μ_s) é o parâmetro utilizado para descrever a efetividade do espalhamento e é definido como sendo o inverso do livre caminho médio que um fóton percorre antes de colidir novamente, também dado por cm^{-1} (WELCH E GEMERT, 1995). Porém, é possível calcular o coeficiente de espalhamento a partir da soma dos fatores isotrópico e o anisotrópico do coeficiente de espalhamento reduzido.

Partindo do conceito de anisotropia, definida como o parâmetro g , é a medida da quantidade de direções dos fótons conservadas após uma única ocorrência de espalhamento conforme a equação 2. Considerando que um fóton é espalhado por uma partícula e que sua trajetória é modificada por um ângulo de desvio θ , têm-se a componente de uma nova trajetória alinhada na mesma direção, $\cos(\theta)$, conforme a Figura 5 na qual o valor médio do $\cos(\theta)$ é definido pelo parâmetro g (JAQUES E PRAHL, 1998b).

$$g = \cos(\theta) \quad (\text{Eq. 2})$$

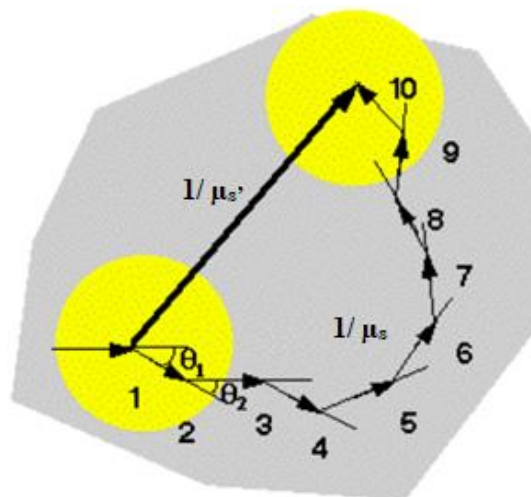
Figura 5 - Desvio da trajetória do fóton.



FONTE: Jaques e Prahl (1998b)

O objetivo do coeficiente de espalhamento reduzido é descrever a difusão de fótons em um caminho aleatório com passos de $1/\mu_s'$, ou seja, o caminho livre médio reduzido. Em cada passo do fóton ocorre um espalhamento isotrópico. É o mesmo que considerar o movimento do fóton utilizando diversos pequenos passos de $1/\mu_s'$ de ângulo de desvio θ parcial, como mostrado na Figura 6.

Figura 6 – Caminho médio ($1/\mu_s$) e caminho médio reduzido ($1/\mu_s'$).



FONTE: Jacques e Prah (1998e)

Para utilizar o coeficiente de espalhamento reduzido é necessário que $\mu_a \ll \mu_s$, ou seja, desde que existam muitas ocorrências de espalhamento antes de uma ocorrência de absorção. Entretanto, o coeficiente de espalhamento μ_s apresenta duas componentes, o espalhamento isotrópico, como descrito anteriormente pelo coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'), e o espalhamento anisotrópico, representado pelo produto do coeficiente de anisotropia e pelo coeficiente de espalhamento μ_s . A equação 3 descreve como é calculado o coeficiente de espalhamento μ_s .

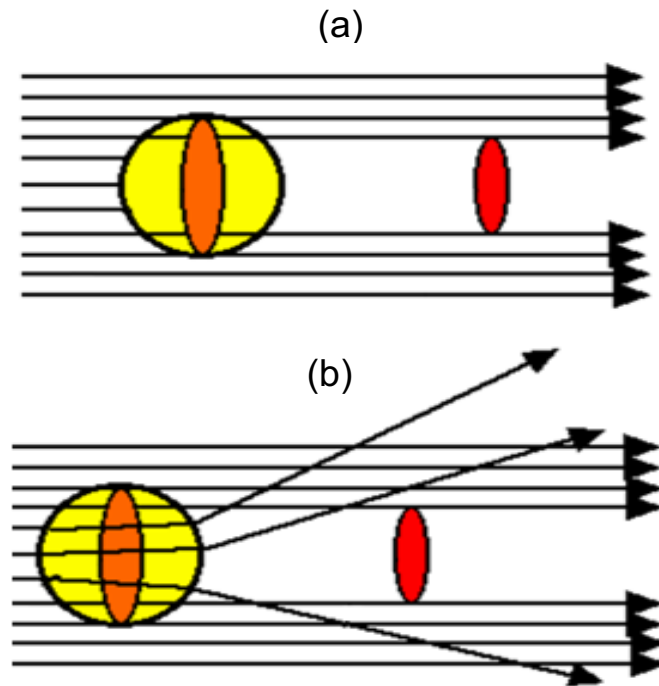
$$\mu_s = \mu_s' + g \cdot \mu_s \therefore \mu_s' = \mu_s - g \cdot \mu_s = \mu_s (1 - g) \quad (\text{Eq. 3})$$

Como a maioria dos materiais sofre os dois fenômenos ópticos concomitantemente, absorção e espalhamento, pode-se utilizar o coeficiente de atenuação (μ_e), que nada mais é que a soma do coeficiente de absorção (μ_a) e do

coeficiente de espalhamento (μ_s), ilustrados na Figura 7. Nesse caso, a equação 1 sofre a seguinte modificação:

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu_e \cdot d} \quad (\text{Eq. 4})$$

Figura 7 - Fenômeno de (a) absorção e de (b) espalhamento.



FONTE: Jaques e Prah (a - 1998c, b - 1998c).

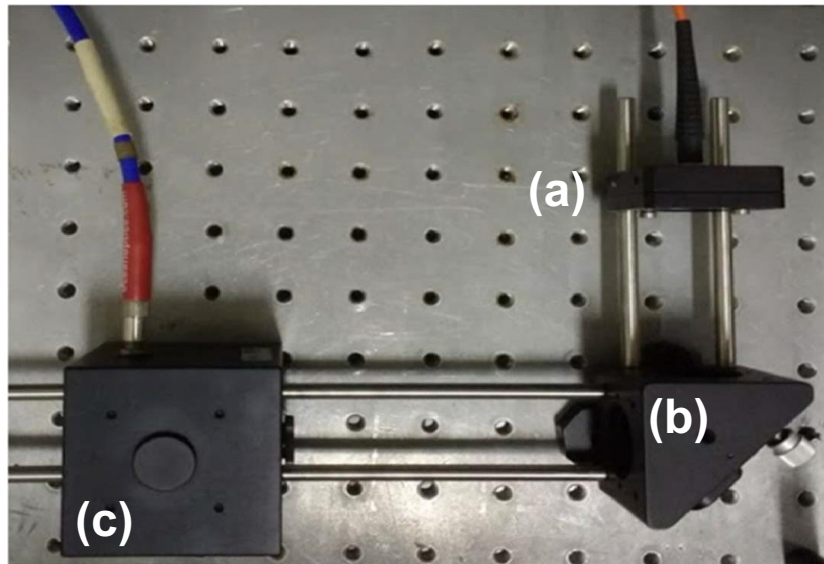
3.5. Esfera Integradora

A esfera integradora é um dispositivo desenvolvido para medir radiação óptica. A teoria de funcionamento da esfera integradora é baseada no princípio da troca de radiação entre superfícies difusoras. Ela possui interior recoberto por um material especial que reflete e difunde a luz incidente de maneira uniforme em todas as direções, representando dessa forma uma superfície com reflexão difusa perfeita, também denominada superfície Lambertiana.

A esfera coleta a radiação eletromagnética de uma fonte externa ao dispositivo óptico, geralmente para medição de fluxo ou atenuação óptica, como mostra a Figura 8. A radiação introduzida em uma esfera integradora atinge as paredes reflexivas e sofre múltiplas reflexões difusas. Após numerosas reflexões, a radiação é dispersa de forma altamente uniforme nas paredes da esfera. O nível de radiação integrado

resultante é diretamente proporcional ao nível de radiação inicial e pode ser medido facilmente usando um detector.

Figura 8 - Esquema do dispositivo óptico, constituída por (a) fonte externa, (b) espelho e (c) esfera integradora.



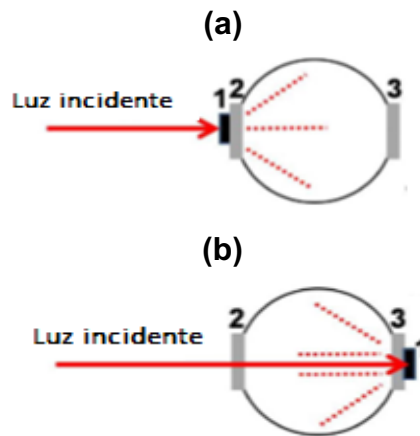
FONTE: Adaptado de Monte *et al.* (2018)

Em teoria, quanto maior a esfera, melhor a medição, menor a influência do equipamento e maior pode ser a fonte. O problema é que o tempo de integração (tempo de exposição do espectrômetro à incidência de luz) cresce junto com o tamanho da esfera e é inversamente proporcional à potência da radiação da fonte. Isto torna esferas pequenas adequadas a fontes de pequenos tamanhos e potências, e esferas grandes adequadas a fontes de médias e grandes potências e tamanhos (PEREIRA, 2015). Com isso, a constante de tempo das esferas integradoras, ou seja, o tempo necessário para que as reflexões ocorram de forma que desapareça o transiente, tipicamente varia de alguns nano segundos até dezenas de nano segundos.

As medidas ópticas realizadas pela esfera são medidas de transmissão e de reflexão. A transmissão pode ser medida a partir de uma amostra mantida na porta de entrada. A amostra é irradiada e, em seguida, comparada com uma medição de fonte direta sem a amostra. Já para medir a reflexão, uma amostra é mantida em oposição à porta de entrada e irradiada por um feixe incidente, como mostra o esquema na Figura 9. A radiação refletida total é integrada espacialmente pela esfera e medida por

um detector. A reflexão de uma amostra em relação a um padrão conhecido pode ser calculada medindo ambos e tomando sua relação.

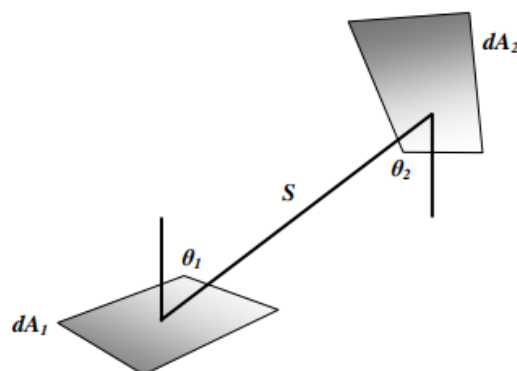
Figura 9 – Esquema de medida de (a) transmissão e (b) reflexão, utilizando a (1) amostra, (2) porta de entrada e (3) porta de saída.



FONTE: Adaptado de Monte *et al.* (2018)

A esfera tem seu funcionamento baseado no princípio da troca de radiação entre superfícies difusoras (LABSPHERE, 2017). Consideremos a troca de radiação entre dois elementos diferenciais de uma superfície difusora denominados de dA_1 e dA_2 , separados por uma distância S , conforme Figura 10.

Figura 10 - Troca de radiação entre duas superfícies difusoras.



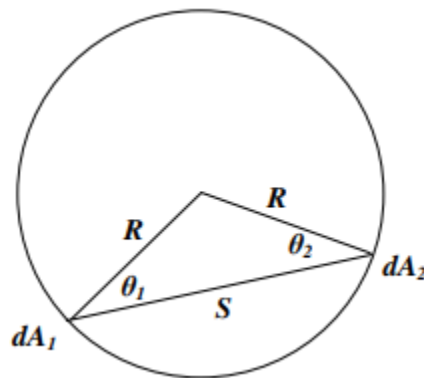
FONTE: Labsphere (2017)

A fração da energia que parte de dA_1 e incide sobre dA_2 é denominado fator de troca de radiação dF_{d1-d2} , dado pela Equação 5, no qual θ_1 e θ_2 são ângulos medidos em relação às normais da superfície (LABSPHERE, 2017).

$$dF_{d1-d2} = \frac{\cos\theta_1 \cos\theta_2}{\pi S^2} dA_2 \quad (\text{Eq. 5})$$

Considerando uma esfera de raio R com superfície interna difusora, possuindo esses dois elementos diferenciais dentro dela, conforme Figura 11. Como a distância S entre os elementos é dada pela Equação 6, então o fator de troca dF_{d1-d2} é dado pela Equação 7.

Figura 11 – Esfera com superfície interna difusora.



FONTE: Labsphere (2017)

$$S = 2R\cos\theta_1 = 2R\cos\theta_2 \quad (\text{Eq. 6})$$

$$dF_{d1-d2} = \frac{dA_2}{4\pi R^2} \quad (\text{Eq. 7})$$

A partir das equações acima, nota-se que o fator de troca independe dos ângulos θ_1 e θ_2 e da distância entre os elementos dA_1 e dA_2 , fazendo com que a fração do fluxo luminoso recebido por dA_2 seja sempre o mesmo para qualquer radiação emitida de qualquer ponto da superfície da esfera. Se a área infinitesimal dA_1 emitir radiação agora para uma área finita igual a A_2 , é obtido:

$$\int dF_{d_1-d_2} = \frac{1}{4\pi R^2} \int_{A_2} dA = \frac{A_2}{4\pi R^2} \quad (\text{Eq. 8})$$

Assim, verifica-se que a fração do fluxo independe de dA_1 e admitindo que $4\pi R^2$ é a área interna total da esfera:

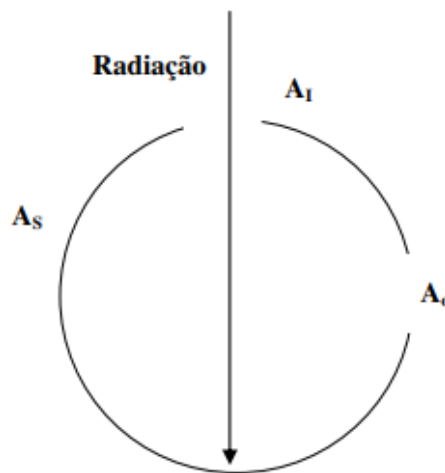
$$F_{1-2} = \frac{A_2}{4\pi R^2} = \frac{A_2}{A_S} \quad (\text{Eq. 9})$$

A radiação incidente na superfície interna da esfera integradora cria uma fonte de radiação virtual por reflexão, sendo essa fonte que emite radiação para o fotodetector, possibilitando sua medição. Inicialmente, o fluxo de radiação incidente é perfeitamente difundido na primeira reflexão. Posteriormente, depois de várias reflexões no interior da esfera, o fluxo total incidente em sua superfície é maior que o fluxo de entrada devido a múltiplas reflexões dentro da estrutura. Com isso, resulta-se em uma radiância L (densidade de fluxo por unidade de ângulo sólido) na superfície, equação 10, na qual Φ_i é o fluxo de entrada, A_S é a área atingida pela radiação, ρ é a reflectância da superfície interna da esfera e α é o ângulo sólido total projetado da superfície (LABSPHERE, 2017).

$$L = \frac{\Phi_i \rho}{\alpha A_S} \quad (\text{Eq. 10})$$

A esfera possui no mínimo duas aberturas, sendo uma para a entrada da radiação (A_i) e outra para o detector (A_o), como mostra a Figura 12. Essas aberturas, além de não refletirem radiação, absorvem a radiação que nelas incidem, fazendo com que a radiância agora seja dada pela equação 11, na qual f representa a relação entre a soma das áreas das aberturas da estrutura e a área total, equação 12. Quando existem mais de duas portas, f é calculado a partir da soma do total das portas (LABSPHERE, 2017).

Figura 12 - Esfera integradora e suas aberturas.



FONTE: Labsphere (2017)

$$L = \frac{\Phi_i}{\alpha A_s} \cdot \frac{\rho}{1 - \rho(1 - f)} \quad (\text{Eq. 11})$$

$$f = \frac{A_1 + A_2}{A_s} \quad (\text{Eq. 12})$$

As esferas de integração têm diversas vantagens em relação a outros métodos de medição de luz, como

- Medir feixes divergentes para mais de $\pm 45^\circ$ que outros métodos não podem;
- Medir potências relativamente altas (até 30W), apresentando uma faixa dinâmica maior que os sensores térmicos, além de medir até microwatts;
- Podem ser usadas para fazer medidas simultâneas de potência, espectro e forma de pulso temporal;
- Possui tempo de resposta rápido dos fotodiodos, mas podem medir altas potências como os sensores térmicos.

Com isso, a esfera integradora vem sendo empregada em estudos como a determinação de parâmetros ópticos em tecido biológico (μ_a e μ_s') na região do infravermelho próximo (NASCIMENTO, 2001). Infravermelho próximo é o nome dado à região do espectro eletromagnético imediatamente superior à região visível em termos de comprimento de onda, ou seja, trata-se da região do infravermelho “mais próxima” da região visível. O autor caracterizou os tecidos biológicos através do

coeficiente de absorção e espalhamento reduzido e assim, diferenciou tecidos saudáveis e patológicos.

Já em 2012, Gaspardo *et al.*, utilizou a esfera integradora através da espectroscopia de transformada de Fourier próximo ao infravermelho (FT-NIR), para avaliar a capacidade de prever teores de fumosina B1 e B2 em farinha de milho e detectar se o produto está contaminado ou não, dependendo da concentração encontrada dessas fumosinas.

Uma das pesquisas mais recentes, em 2017 realizada por Costa *et al.*, avaliou o efeito do teor de gordura nas propriedades ópticas do leite. Foi verificado que o coeficiente de absorção e espalhamento são diferentes entre leites com teores de gorduras distintos, sendo assim, capaz de caracterizar e gerar um padrão de referência para comparar e desenvolver outros equipamentos com sensores ópticos de análises rápidas e precisas.

3.6. Método de Adição-Duplicação

Diante do equacionamento mostrado na sessão anterior, precisa-se de um método iterativo para se obter os coeficientes de absorção e espalhamento. Para isso, o método de Adição-duplicação é um método utilizado para resolver a equação da transferência radioativa, é um modelo que retorna estimativas rápidas e precisas de distribuições de luz em qualquer tecido biológico (PRAHL, 1995).

O método de duplicação implica o conhecimento das propriedades de reflexão e transmissão para uma única camada fina e homogênea. A reflexão e transmissão de uma camada duas vezes mais espessa são encontradas sobrepondo as duas camadas idênticas e somando as contribuições de cada uma. Já o método de adição estende o método de duplicação para camadas diferentes, permitindo assim que se simule a média entre elas (PRAHL, 1995).

As vantagens do método de adição-duplicação é que a interpretação física dos resultados pode ser feita em cada passo da iteração; o método é equivalente para espalhamento isotrópico e anisotrópico, e os resultados são obtidos para todos os ângulos de incidência usados na integração (PRAHL, 1995).

Um conceito importante da física é a fluência, ou seja, é a intensidade de um deslocamento de partículas, ou seja, o tamanho do fluxo de partículas, ou radiativo,

integrado ao longo do tempo. Para as partículas, a fluência é o número de partículas que passam por uma área da unidade por um determinado tempo. Quando a fluência é necessária a uma espessura particular, pode ser calculada encontrando as matrizes de reflexão e transmissão para propagação de luz através do material acima e abaixo da camada desejada.

Algumas das desvantagens do método é que ele se torna inadequado para cálculo de fluências internas, restrito a geometrias de camadas com irradiação uniforme e é necessário que cada camada tenha propriedades ópticas homogêneas. Porém, esse método é adequado para problemas iterativos porque fornece cálculos precisos de reflexão e transmissão com relativamente poucos pontos de integração.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi utilizado o leite processado e disponível comercialmente adquirido em mercado local, em quatro tipos diferentes: integral, semidesnatado, semidesnatado zero (0) lactose e o desnatado. Posteriormente, realizou-se as análises do leite cru fornecido por uma Cooperativa Agropecuária da cidade de Uberlândia.

As amostras de leite, tanto comerciais quanto a de leite o cru, foram devidamente adulteradas pela adição das seguintes substâncias: água destilada, soro de queijo, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e soda cáustica (NaOH). O soro de queijo utilizado foi fornecido pela mesma Cooperativa Agropecuária citada anteriormente, e foi previamente caracterizado para conhecimento de sua composição. Os demais adulterantes foram fornecidos pelo laboratório de Bioquímica da Faculdade de Engenharia Química da UFU, sendo que o peróxido de hidrogênio utilizado foi da marca Vetec Química Fina, composto por uma solução aquosa que continha entre 20 a 60% de H_2O_2 . A soda cáustica utilizada foi adquirida em paletes da marca Merck, sendo necessário fazer uma solução de concentração de 10 mol/L (SANTOS, 2013), em que foi utilizado 4 gramas de NaOH e 10 mL de água destilada.

4.1. *Preparação de amostras*

Para a preparação das amostras realizadas, cujas medidas foram realizadas em triplicata, foi utilizado 1 mL de leite para ser a base de volume da amostra. Assim, o leite foi adulterado em % de volume/volume nas seguintes condições:

- 0 % - 1,0 mL de leite;
- 5 % - 0,95 mL de leite e 0,05 mL de adulterante;
- 10 % - 0,90 mL de leite e 0,10 mL de adulterante;
- 20 % - 0,80 mL de leite e 0,20 mL de adulterante;
- 30 % - 0,70 mL de leite e 0,30 mL de adulterante;
- 50 % - 0,50 de cada substância.

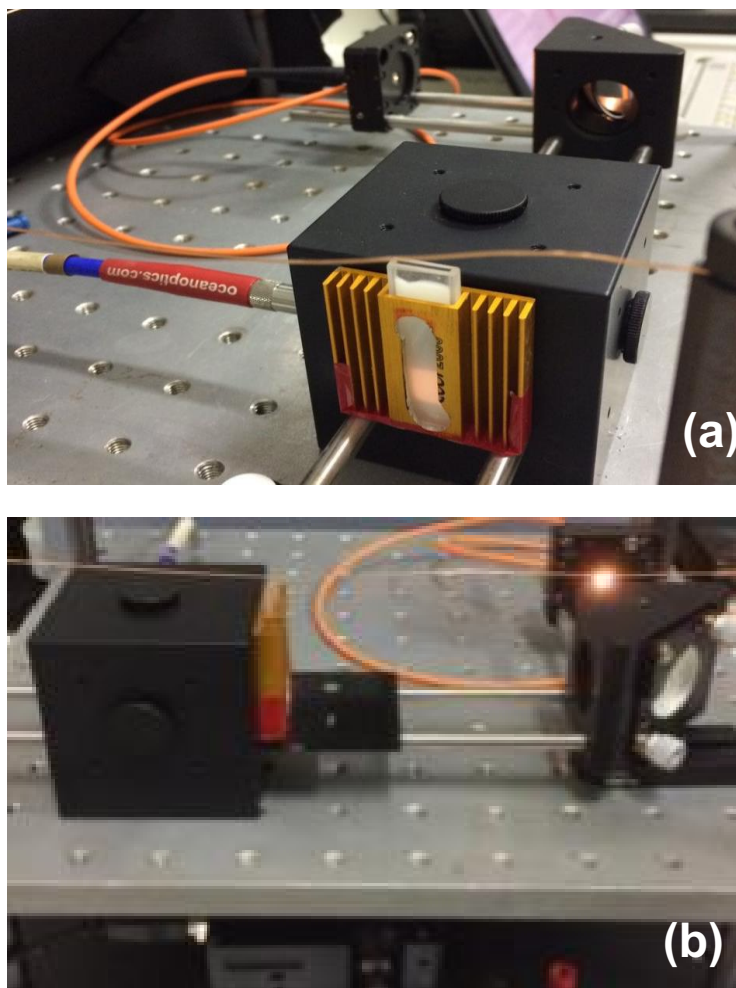
Todas as amostras foram homogeneizadas em um Eppendorf de 1,5 mL e transferidas para uma cubeta de vidro de 1 mm de espessura na quais foram realizadas medições de transmissão e reflexão pela esfera integradora.

4.2. *Medida das propriedades ópticas*

A esfera integradora utilizada foi de 2 polegadas, com uma fonte luminosa composta por uma lâmpada espectroscópica de halogênio de potência 1 mW e um espelho para direcionar o feixe luminoso (Figura 8). Esse equipamento está alocado no Laboratório de Imagens Funcionais do Instituto de Física da UFU, coordenado pelo prof. Dr. Adamo Ferreira Gomes do Monte.

As medidas realizadas de transmissão e reflexão, como mostrado na Figura 13, foram captadas por um detector e reveladas através do software Spectra Suite. Outra medida necessária realizada foi de calibração que consistiu na porta frontal aberta da esfera integradora e sem nenhuma amostra presente. A medida de calibração, juntamente com as medidas de transmissão e reflexão, e os demais parâmetros necessários forneceram valores para os coeficientes de absorção e espalhamento.

Figura 13 - Medidas de (a) transmissão e (b) reflexão.



FONTE: Costa *et al.* (2017)

4.3. *Processamento de dados*

Todos os dados fornecidos pelo Spectra Suite foram processados pelo MATLAB, em que foi utilizado um algoritmo que possui o método IAD (adição-duplicação). Esse método empregou a equação geral para a transferência radioativa de um estado estacionário em camadas planas paralelas e retornou valores de coeficiente de absorção e espalhamento. Para isso, é necessário entrar com os seguintes parâmetros exigidos pelo algoritmo:

- Anisotropia: 0,9 – valor padrão para diversos materiais (PRAHL, 1995);
- Espessura da amostra e da cubeta: ambas de 1 mm;
- Índice de refração da amostra e do vidro: 1,4 e 1,56, respectivamente;
- *Step size*: 0,9 s;

- Dados de reflexão, transmissão e calibração: fornecidos pelo Spectra Suite e previamente tratados para permanecer em um intervalo de 500 a 800 nm.

É importante ressaltar que o valor do índice de refração do leite foi devidamente medido através de um refratômetro Abbé modelo 2WAJ, da marca Biobrix. As medidas foram realizadas em triplicatas para garantir a confiabilidade do resultado. O valor obtido de 1,4 foi a média verificada entre as medições de todos os tipos de leite comercial utilizados (integral, semidesnatado, semidesnatado 0 lactose e desnatado). Para o índice de refração do vidro, esse é um valor referente a composição do vidro e foi fornecido pelo fabricante Optical Glass da cubeta de espessura de 1 mm.

4.4. Tratamento de dados

Após o processamento de dados, o programa retornou valores de coeficiente de absorção e espalhamento, realizados em triplicata, para todos os comprimentos de onda utilizados (500 a 800 nm). Os gráficos do comportamento das propriedades ópticas foram construídos através do software Origin 6.0. É importante destacar que foi preciso utilizar uma ferramenta para a retirada dos ruídos nos comprimentos de onda avaliados, o que se faz necessário quando se tratam de medidas ópticas. Nesse primeiro momento foi analisado cada tipo de leite em cada condição de adulteração, sendo o coeficiente óptico versus comprimento de onda.

Para melhor avaliação dos coeficientes de absorção e espalhamento, foi fixado o comprimento de 575,1 nm para analisar o comportamento do leite nas diferentes concentrações de adulteração. Nessa situação, para facilitar o entendimento fez-se o uso do coeficiente de atenuação, que representa a soma do coeficiente de absorção e espalhamento. Com isso, foi necessário empregar a técnica *B-spline*, sendo esta a aproximação de uma curva aos pontos analisados, para melhor visualização do comportamento do coeficiente de atenuação.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse trabalho, buscou-se avaliar uma técnica como uma proposta inovadora para detecção de adulteração no leite (esfera integradora). Assim, foi dado um primeiro passo no sentido da criação de uma estrutura básica de conceitos. É a partir disso que se acredita futuramente no desenvolvimento e utilização de um equipamento com resposta rápida e precisa para que se detecte qualquer tipo de adulteração no leite.

Primeiramente foi preciso entender o que interfere nas propriedades ópticas, ou seja, como o coeficiente de atenuação pode ser afetado em relação aos coeficientes de absorção (μ_a) e espalhamento (μ_s). A condição imposta para as análises foi de que $\mu_a \ll \mu_s$, dessa forma, o coeficiente de espalhamento terá maior contribuição do que o coeficiente de absorção na atenuação do feixe luminoso.

Os fatores que afetam μ_s e conseqüentemente o coeficiente de atenuação (μ_e), são o tamanho e a forma das partículas ou moléculas que estão presentes na amostra a ser analisada. Quanto maiores e mais complexas as moléculas presentes no meio, maior será o coeficiente de atenuação. Isso ocorre porque o feixe de luz sofre mais desvios ao colidir com um grande número de moléculas e dependendo da sua geometria, a luz pode sofrer ainda mais variações em sua rota para atravessar a amostra ou ser refletida.

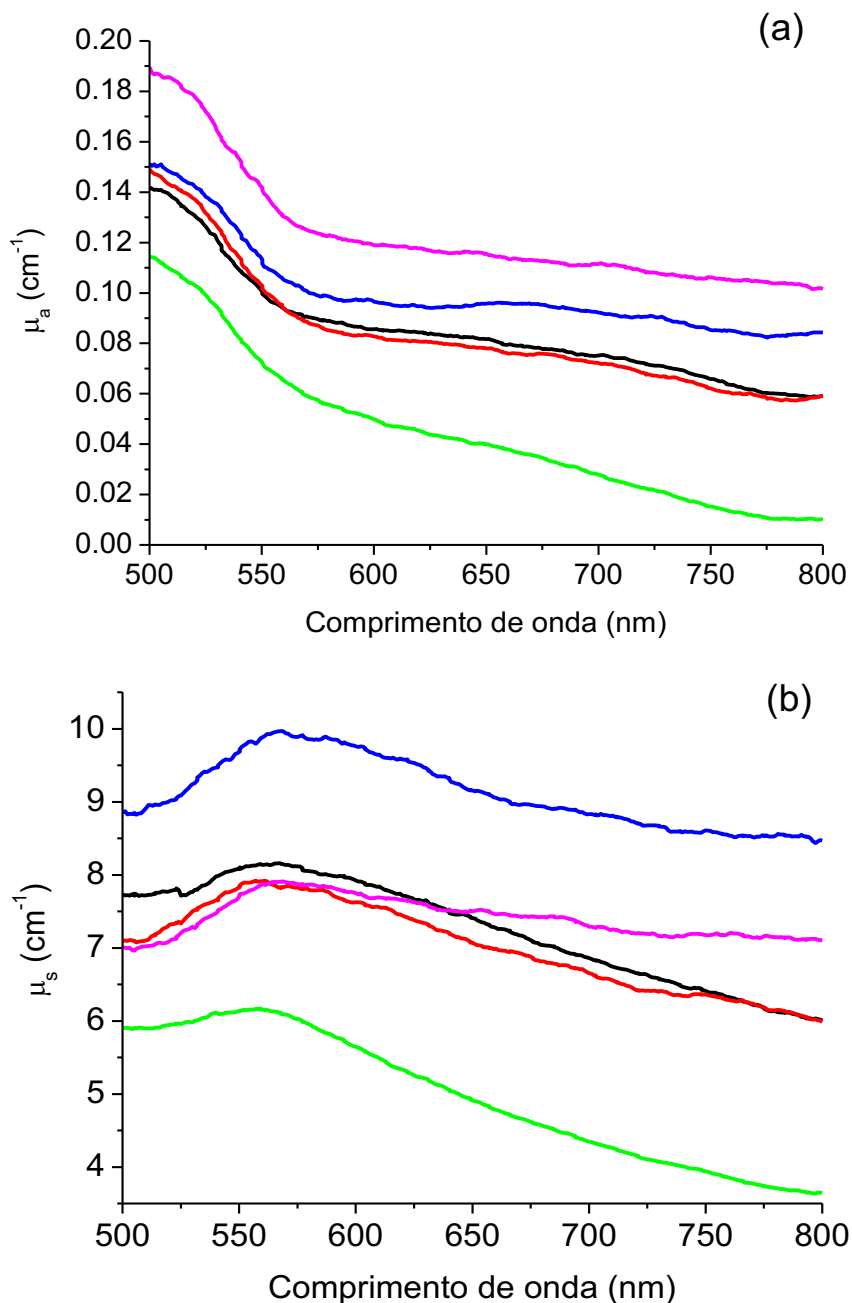
5.1. *Determinação do comprimento de onda*

A luz utilizada tem a capacidade de abranger um comprimento de onda de aproximadamente 345 a 1035 nm, porém quando se avalia qualquer propriedade óptica é preciso a verificação da ocorrência de ruídos e a legitimidade da medida. Portanto, para melhores resultados, foi utilizado um comprimento de onda que faz parte do espectro visível, de 500 a 800 nm, em que uma forte dispersão da luz incidente no leite pode ser observada (RATY E PEIPONE, 1999).

Para dar início as análises, primeiramente foi monitorado o comportamento do coeficiente de absorção (μ_a) e do coeficiente de espalhamento (μ_s) na faixa de

comprimento de onda selecionado. Nos gráficos mostrados na Figura 14, tem-se o comportamento de μ_a e μ_s para os leites puros, ou seja, sem adição de adulterantes.

Figura 14 - Comportamento do (a) coeficiente de absorção - μ_a e (b) coeficiente de espalhamento reduzido - μ_s' , para leite ■ desnatado, ■ semidesnatado, ■ semidesnatado zero lactose, ■ integral e ■ cru.



O leite é uma dispersão coloidal de proteínas e uma emulsão de gordura em uma solução aquosa de lactose, sais e outros compostos. Assim, não só absorve a

luz como também a dispersa, consequência do grande número de compostos presentes e a presença de partículas de vários tamanhos (RATY E PEIPONE, 1999). Entretanto, foi possível perceber que μ_s é mais que 100 vezes maior que μ_a em todo o comprimento de onda observado, caracterizando o leite como uma substância espalhadora (NASCIMENTO, 2001).

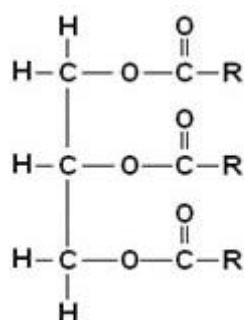
São principalmente as moléculas de gorduras e de proteínas no leite que dispersam a luz. O grau de espalhamento depende da densidade numérica e do tamanho das partículas espalhadoras. Além disso, o comprimento de onda da radiação incidente e a diferença no índice de refração entre as várias partículas, afetam o espalhamento (RATY E PEIPONE, 1999).

Dessa forma, ao analisar o ponto de 575,1 nm ficou claramente perceptível que nesse ponto e pontos próximos a ele, tem-se um máximo do coeficiente de espalhamento e um mínimo significativo do coeficiente de absorção. Com isso, a condição imposta está sendo satisfeita ($\mu_a \ll \mu_s$) e é possível utilizar nesse ponto, o coeficiente de atenuação para avaliar seu comportamento em relação aos volumes de adulterante inseridos nas amostras.

5.2. *Determinação de tipo de leite através de parâmetro óptico*

Os leites comerciais são diferenciados pelo seu teor de matéria gorda. A gordura no leite se encontra como glóbulos contendo principalmente triacilgliceróis (Figura 15), que são envolvidos por uma membrana lipoproteica. Esses pequenos glóbulos, juntamente com as partículas coloidais da caseína e do fosfato de cálcio, dispersam a luz (BEZERRA, 2010).

Figura 15 - Fórmula estrutural geral de um triglicerídeo.



FONTE: Brasil Escola (2019)

Sabendo como a luz sofre atenuação por uma substância e a partir do comprimento de onda selecionado, foi observado que o valor obtido para cada tipo de leite puro pode diferenciá-los, como mostrado na Tabela 4. Vale ressaltar que esse valor é uma média das medidas realizadas em triplicatas e o valor do coeficiente de atenuação (μ_e) nesse caso, pode ser relacionado com a quantidade de matéria gorda presente no leite.

Tabela 4 – Valores característicos de coeficiente de atenuação (μ_e) determinado em cada tipo de leite em 575,1 nm.

	Tipo de leite	μ_e (cm ⁻¹)	
		Média	Desvio Padrão
1	Desnatado	6,03	0,23
2	Semidesnatado	7,93	0,38
3	Semidesnatado 0 Lactose	7,99	0,33
4	Integral	10,08	0,51
5	Cru	7,91	0,09

Assim, nota-se que o valor de μ_e tende a aumentar com a porcentagem de matéria gorda presente em cada tipo de leite. Começando pelo leite desnatado (máximo de 0,5%), semidesnatado (entre 0,6 e 2,9%) até o leite integral (mínimo de 3%), com exceção do leite cru (acima de 3%).

O leite cru teoricamente como tem mais gordura teria que apresentar um valor maior que o integral, mas devido a homogeneização do leite sem desnate provocar uma substancial interferência na atenuação, seu valor cai e fica mais próximos aos leites semidesnatado (MILES *et al.*, 1989). Normalmente, quanto mais o leite é

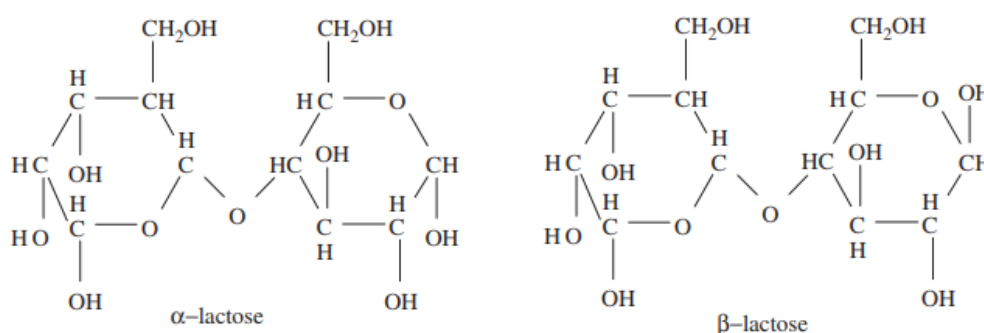
homogeneizado menor é sua atenuação, devido a redução do tamanho das moléculas de gordura.

No processo de homogeneização é realizada a quebra da molécula de gordura em partículas menores para serem agregadas as proteínas do leite e serve para impedir a formação de nata. Além de que, faz com que o leite fique mais branco, melhora seu aspecto, sua palatabilidade e digestão (VENTURINI, 2007). Independente do teor de gordura de cada tipo de leite esse processo é realizado, pois esse percentual não sofre alteração.

Na prática, o diâmetro médio dos glóbulos de gordura é inferior a um micrômetro após o processo de homogeneização. Em leite não tratado, o diâmetro dos glóbulos de gordura esféricos geralmente fica na faixa de $0,1 \pm 10$ mm, enquanto as dimensões correspondentes das micelas de caseína são de 10 ± 300 nm (RATY E PEIPONE, 1999).

É interessante ressaltar que segundo a ANVISA, produtos rotulados como zero lactose possuem limite de 100 mg/100 g ou mL. Dessa forma, verificou-se que por mais que o leite semidesnatado zero lactose apresente menor quantidade de moléculas em sua composição, isso não contribuiu para a redução do coeficiente de atenuação. Esse fato evidencia que a lactose (Figura 16) não influencia significativamente a dispersão do feixe luminoso.

Figura 16 – Formas anoméricas da molécula de lactose.



FONTE: Gänzle *et al.* (2008)

Para melhor confiabilidade dos dados, foi realizado uma análise estatística para se verificar a normalidade dos dados e a existência de diferenças estatísticas entre as médias encontradas para cada tipo de leite. Assim, primeiramente foi utilizado o teste

de Shapiro-Wilk com um nível de significância de 5%, assumindo as seguintes hipóteses:

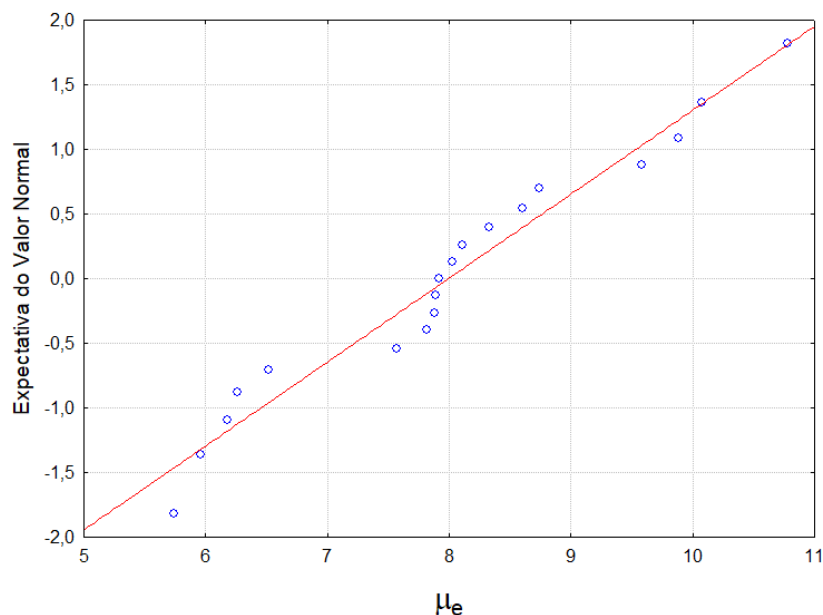
- H_0 : os dados provêm de uma população Normal;
- H_1 : os dados não provêm de uma população Normal.

A partir dos resultados obtidos na Tabela 5, foi observado que o valor de $W_{\text{calculado}} > W_{\text{tabelado}}$. Como $W_{\text{calculado}}$ está fora da região de rejeição e a probabilidade $p > 0,05$, a hipótese H_0 foi aceita e estatisticamente foi comprovada a normalidade dos dados. Para melhor visualização do resultado, a Figura 17 revela que os dados (pontos azuis) tendem a normalidade, representada pela linha vermelha.

Tabela 5 - Teste de Shapiro-Wilk.

	Calculado	Tabelado
Fator W	0,951	0,901
Probabilidade (p)	0,416	0,050

Figura 17 - Gráfico de normalidade dos dados.



Confirmando a normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Tukey para verificar a diferença entre as médias obtidas para cada tipo de leite em um nível de significância de 5%. Nesse caso, foi observado que os valores que possuem $p < 0,05$ são valores menores que o nível de significância e se diferenciam estatisticamente entre si (Tabela 6). Portanto, a partir dos valores obtidos foi observado que não há

diferença entre os leites 2, 3 e 5 ou seja, entre os leites semidesnatado, semidesnatado zero lactose e o leite cru.

Tabela 6 – Resultados de probabilidade do teste de Tukey, para o leite desnatado (1), semidesnatado (2), semidesnatado zero lactose (3), integral (4) e leite cru (5).

Leite	1	2	3	4	5
1	-	0,0044	0,0018	0,0002	0,0025
2	0,0044	-	0,9999	0,0015	1,0000
3	0,0018	0,9999	-	0,0010	0,9997
4	0,0002	0,0015	0,0010	-	0,0008
5	0,0025	1,0000	0,9997	0,0008	-

Esses resultados revelam que o coeficiente de atenuação (μ_e) pode diferenciar somente os tipos de leites UHT entre si, visto que o leite semidesnatado e semidesnatado zero lactose possuem o mesmo teor de gordura, por isso possuem valores característicos semelhantes. Para o leite cru, como há interferência na medida, essa análise não é eficiente para diferenciá-lo pelo teor de gordura dentre os demais leites analisados.

5.3. Análise quantitativa do leite comercial

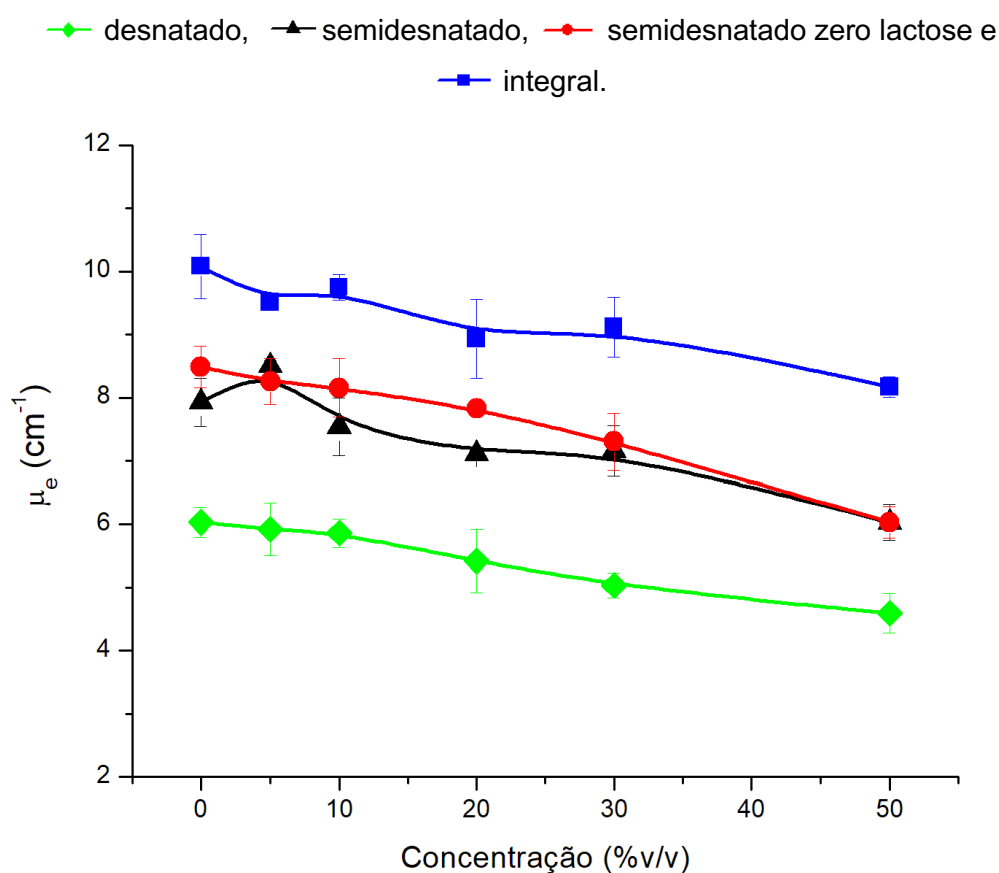
É importante destacar que neste estudo o leite disponível comercialmente foi utilizado devido a sua padronização em composição, sendo esta a condição admitida nesse estudo para que os resultados fossem reprodutíveis. Mesmo que as amostras de leite não tenham sido todas provenientes do mesmo lote inicial para a verificação do efeito de todos os adulterantes, considerou-se que todos os componentes presentes nas amostras de leite seguiam a mesma regularidade em quantidade. Assim, foi possível a avaliação das propriedades ópticas apenas em função da variação de adulterante inserido na amostra.

O comportamento de como cada adulterante interferiu no coeficiente de atenuação para cada tipo de leite foi verificado. Dessa forma, foi possível observar

através das Figuras 18 a 21 o comportamento de μ_e para os 4 adulterantes utilizados, em 6 volumes diferentes, de 0%, 5%, 10%, 20%, 30% e 50%.

É importante ressaltar que o coeficiente de atenuação é afetado pela quantidade de partículas ou moléculas de tamanho e geometria relevante. Portanto, a partir da Figura 18 observa-se o comportamento de μ_e em relação a concentração de água destilada. Os dados experimentais estão representados por uma forma geométrica específica para cada tipo de leite e a curva representa o comportamento de μ_e a partir da técnica *B-spline*.

Figura 18 - Comportamento de μ_e com adição de água destilada (H₂O) no leite



É possível notar um suave declínio de μ_e em função do aumento de água destilada independentemente do tipo de leite analisado. A partir do momento em que a concentração de água destilada aumentou, maior foi a diluição do leite e como o leite é uma substância com moléculas mais complexas do que a água (H₂O), esse adulterante não vai contribuir com o aumento do espalhamento do feixe luminoso. Então, as moléculas presentes na solução que mais contribuem para o espalhamento do leite ficaram mais dispersas no meio e assim, o feixe luminoso sofreu menos

desvios. É por esse motivo que μ_e tende a diminuir com o aumento de água destilada adicionada ao leite.

É interessante observar que o leite semidesnatado zero lactose possui um comportamento semelhante ao semidesnatado. Esse fato ressalta que a lactose não é uma molécula que interfere de forma significativa no coeficiente de atenuação, como visto anteriormente nos valores característicos.

A partir do teste de Shapiro-Wilk os dados apresentam normalidade, com $p = 0,53 > 0,05$. Com isso, aplicando o teste de Tukey com nível de significância de $\alpha = 0,05$ (Tabela 7), foi revelado que somente a concentração de 50% não pode ser confundida com nenhuma outra concentração, cujo valores foram abaixo de 0,0500. A concentração de 0 a 10% não tem valores significativos para diferenciá-las entre si, além de que 10% pode ser confundida com 20% e 20% também pode ser confundida com 30%.

Tabela 7 - Teste de Tukey para diferenciar as medidas de concentração.

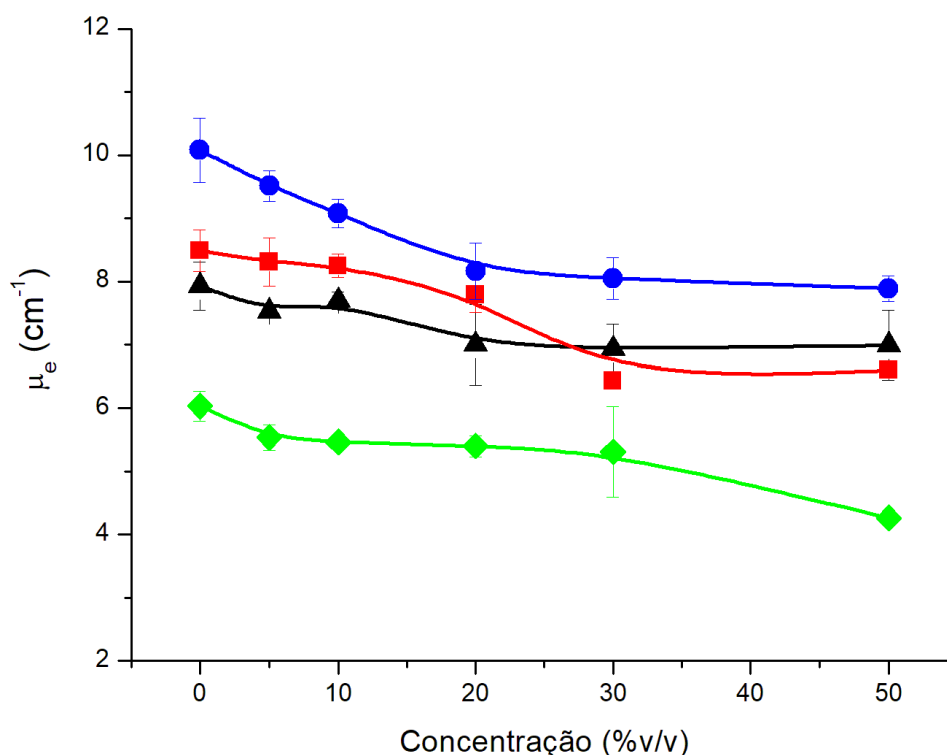
Conc. (%v/v)	0	5	10	20	30	50
0		0,9976	0,6020	0,0074	0,0014	0,0002
5	0,9976		0,8403	0,0168	0,0031	0,0002
10	0,6020	0,8403		0,1447	0,0287	0,0002
20	0,0074	0,0168	0,1447		0,9415	0,0005
30	0,0014	0,0031	0,0287	0,9412		0,0020
50	0,0002	0,0002	0,0002	0,0005	0,0020	

É interessante ressaltar que a partir dessa análise foi verificado que a esfera integradora pode ser capaz de identificar adulteração de H₂O a partir de aproximadamente 30% em volume em alguns leites comerciais, levando em consideração os desvios padrão de cada medida. No caso de uma leitura realizada de uma amostra e que se tenha detectado fraude, com uma concentração maior ou igual a 30% em volume de adulterante, a esfera só terá precisão se estiver adulterada em uma concentração de 50%, pois a concentração de 30% pode ser confundida com 20% de H₂O.

O segundo adulterante analisado, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), tem um comportamento semelhante ao anterior, como mostra a Figura 19. A molécula de peróxido de hidrogênio se diferencia da água por apenas um átomo de oxigênio, fato que não contribuiu para a molécula se tornar mais complexa e com um tamanho relevante. Com isso, notou-se que as amostras de leite sofreram também uma queda de μ_e com a adição de H_2O_2 , devido à diluição do leite.

Figura 19 - Comportamento de μ_e com adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no leite

◆ desnatado, ▲ semidesnatado, ■ semidesnatado zero lactose e ■ integral.

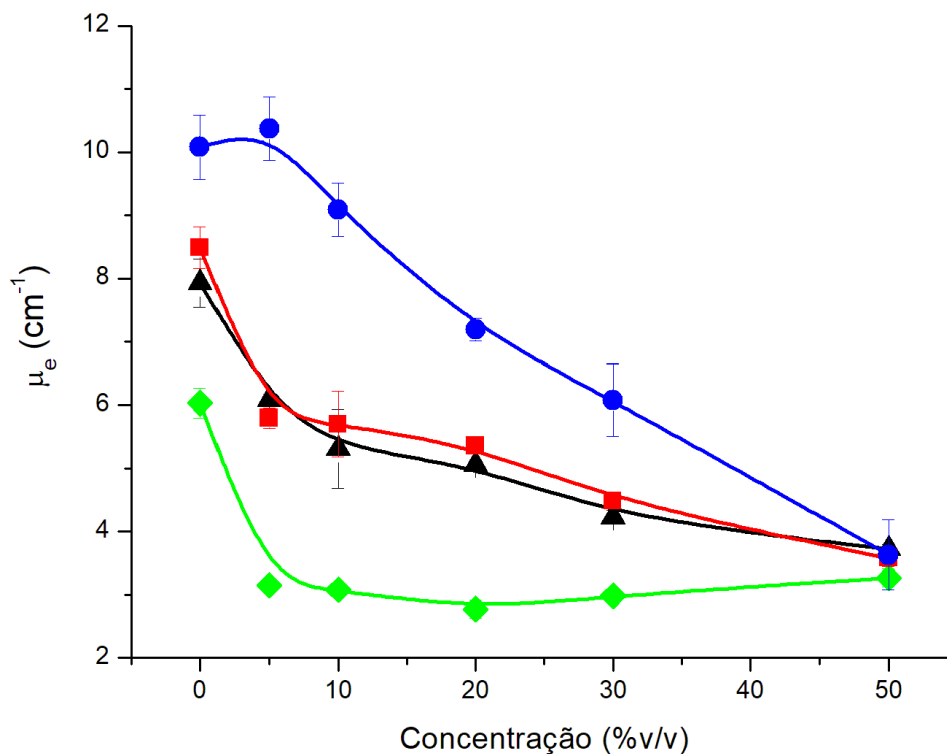


Os dados apresentaram normalidade com probabilidade de $p = 0,8433 > 0,05$ pelo teste de Shapiro-Wilk e pelo teste de Tukey verificou-se que os valores das concentrações podem ser confundidos entre si de forma geral para esse adulterante. Com isso, é possível perceber que alguns dados se sobrepõem uns aos outros, e se torna mais difícil identificar o indício de adulteração, impossibilitando revelar a concentração de uma amostra adulterada.

Analisando o hidróxido de sódio ($NaOH$), mais conhecido como soda cáustica, foi revelado um comportamento diferente dos adulterantes anteriores. A Figura 20 mostra um declínio acentuado em determinados tipos de leite, como o integral e o

desnatado. Por mais que a molécula NaOH não seja complexa, esse adulterante afeta o coeficiente de atenuação de outra maneira.

Figura 20 - Comportamento de μ_e com adição de soda cáustica (NaOH) no leite
—♦— desnatado, —▲— semidesnatado, —■— semidesnatado zero lactose e —■— integral.



Quando se adiciona soda ao leite, não somente o aspecto físico da amostra é alterado, como também sua estrutura molecular, degradando as micelas de caseína do leite. Essa degradação ocorre devido a mudança de cargas que as micelas sofrem, fazendo que essa desestruturação da molécula seja irreversível (FORTUNA, 2015).

Como já citado anteriormente, os glóbulos e a caseína são algumas das moléculas que mais contribuem para o espalhamento da luz e o aumento do coeficiente de atenuação. Assim, quando a caseína é degradada, consequentemente afeta o coeficiente de atenuação e o reduz.

É importante salientar que na obtenção dos dados resultantes com o uso desse adulterante, não foi observada a normalidade ($p = 0,03 < 0,05$) e foi necessária a aplicação do teste de Kruskal Wallis para a verificação das diferenças observáveis entres as concentrações. Nesse caso, as duas possibilidades de resposta foram a hipótese de nulidade (H_0) em que se afirma que as concentrações são iguais e a

hipótese alternativa (H_1) que afirma que as concentrações são diferentes. Assim, probabilidade obtida no teste foi de $p = 0,12 > 0,05$ e, portanto, a hipótese H_1 é rejeitada e pode-se afirmar estatisticamente que as concentrações não se diferenciam.

O último adulterante utilizado foi o soro de queijo, que é um dos adulterantes mais difíceis de ser detectado hoje em dia. O soro foi previamente caracterizado por nosso grupo de pesquisa da Pós-Graduação de Engenharia Química da UFU, como mostra a Tabela 8.

Tabela 8 - Caracterização do soro de queijo.

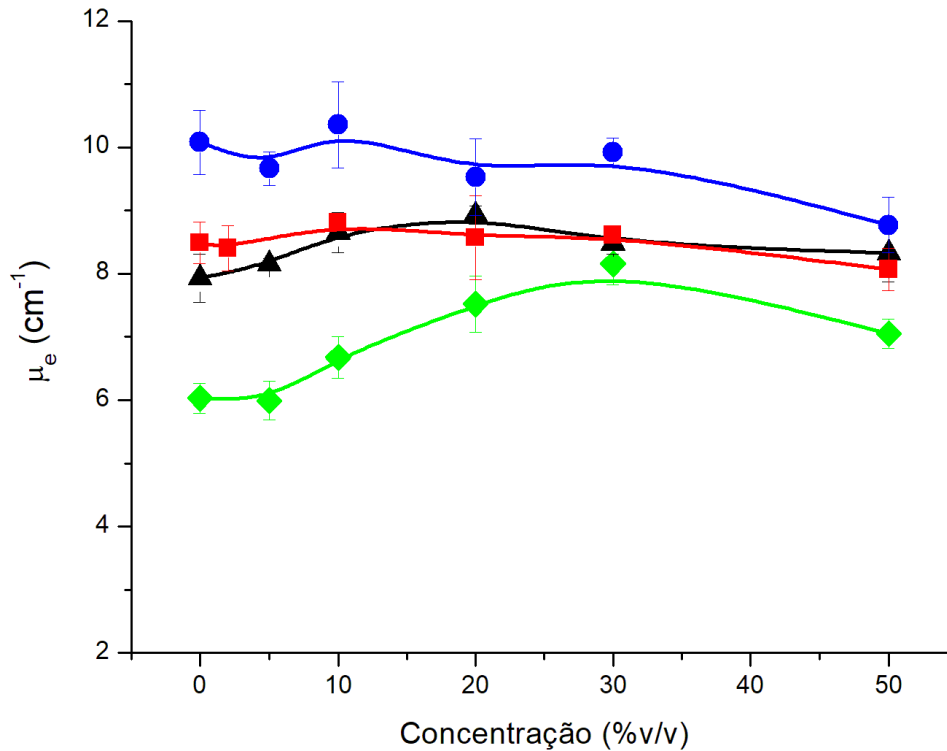
Parâmetro	Concentração (g/L)
Proteína	6,47 ± 0,13
Sólidos Solúveis Totais	2,77 ± 0,08
Sólidos voláteis	2,70 ± 0,13
Sólidos fixos	0,08 ± 0,05
Fósforo Total	0,22 ± 0,04
Carbono total	43,26
Carbono Orgânico Total	42,07
Carbono Inorgânico	0,78
Lactose	21 - 23
Nitrogênio Total	2,01
Mg, K, Fe, Na e Ca	< 2,0

Foi possível verificar que as proteínas e a lactose são as principais moléculas presentes na composição do soro de queijo. Porém, como já foi visto que a lactose não contribui para a atenuação do feixe luminoso, as proteínas tendem a ser as moléculas que mais contribuem na atenuação. Dessa forma, como os outros constituintes são partículas mais simples e em baixa concentração, não foram relevantes para interferirem no coeficiente de atenuação.

Já o comportamento de μ_e foi obtido em diferentes concentrações de soro de queijo, conforme a Figura 20. Com isso, verificou-se que o soro de queijo adicionado ao leite não causa variação significativa no coeficiente de atenuação para as amostras

de leite do tipo integral e semidesnatado, pois os valores não se diferenciam significativamente dos valores característicos (0%) de cada tipo de leite.

Figura 21 - Comportamento de μ_e com adição de soro de queijo no leite \blacklozenge desnatado, \blacktriangle semidesnatado, $\color{red}\blacksquare$ semidesnatado zero lactose e $\color{blue}\bullet$ integral.



Para o leite desnatado, há um aumento de μ_e entre a faixa de 5 a 30% de volume de soro de queijo. Como esse tipo de leite possui menor teor de gorduras que os demais, conseqüentemente apresentou menor quantidade de moléculas presentes na solução. Com a adição do soro de queijo, as proteínas contribuem até um certo ponto, aumentando μ_e . Mas quando se atinge 30%, μ_e praticamente se mantém constante, pois o soro já não está interferindo de forma efetiva na atenuação.

Os dados apresentaram normalidade com probabilidade $p = 0,256$ pelo teste de Shapiro-Wilk e através do teste de Tukey foi revelado que todas as medidas podem ser confundidas entre si. Esse fato já se era esperado devido aos comportamentos obtidos no gráfico, com exceção do leite desnatado, no qual os valores para as diversas concentrações encontraram-se em sua maioria na faixa do valor característico de cada tipo de leite.

Com todas as análises feitas até aqui, foi verificado que é possível perceber variações, em alguns casos significativos de μ_e , a partir das concentrações dos

adulterantes utilizados no comprimento de onda especificado. Portanto, concluiu-se que μ_e é uma propriedade que pode ser bastante interessante para se empregar em análises de detecção de adulteração no leite.

Entretanto, um dos objetivos foi verificar se seria possível aplicar a técnica para avaliar μ_e no leite cru, já que se mostrou sensível as diversas adulterações quando se utilizou o leite comercial. Como o leite cru é o que sofre maiores adulterações, tanto pelos produtores quanto pelos responsáveis pelo seu processamento, é importante testar essa nova técnica.

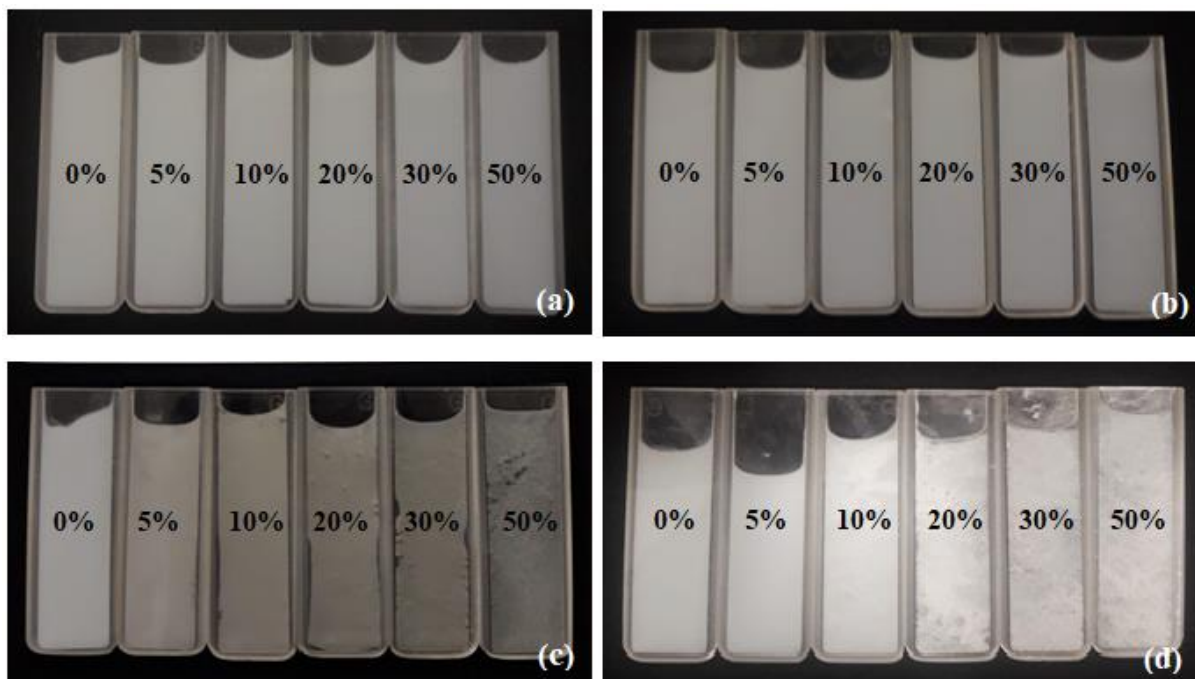
5.4. Análise do leite cru

Primeiramente é importante esclarecer que todas as análises do leite cru foram realizadas no mesmo dia, já que foi admitido que a composição do leite deve se manter constante. Ressalta-se tratar de um leite que a cada ordenha pode apresentar variação na composição, possuindo maior ou menor quantidade de gordura, proteínas, lipídeos, etc, além de ser mais suscetível a degradação por ação microbiana.

5.4.1. Análise qualitativa do leite cru

Uma análise qualitativa prévia do leite cru, realizada através do aspecto visual já pode ser útil para a detecção de anormalidades (coagulação) do produto (Figura 21). A água destilada (Figura 21a) e o peróxido de hidrogênio (Figura 21b) são os agentes que praticamente não interferiram no aspecto visual. Com isso, sua adição ao leite pode passar facilmente despercebida em análises rápidas qualitativas, mesmo que em grandes concentrações, como 50% de volume de adulterante. Nesses casos, ocorreu somente uma diluição do leite e a sua coloração não foi afetada de forma relevante, ficando discretamente menos intensa.

Figura 22 - Aspecto visual do leite cru adulterado por (a) água destilada, (b) peróxido de hidrogênio, (c) hidróxido de sódio e (d) soro de queijo.



Quando o leite está adulterado por adição de NaOH, mesmo que em pequenas concentrações, como em 5% de volume de adulterante, já é claramente visível que o leite passou a apresentar um aspecto fora do padrão, ou seja com coloração mais amarelada. É importante ressaltar que as micelas são grupamentos de várias moléculas de caseína ligada a íons, como o fosfato de cálcio, formando os complexos macromoleculares (FORTUNA, 2015). A partir do momento que NaOH foi adicionado, as micelas de caseína do leite foram se degradando e assim, tornou o aspecto da matéria-prima mais viscoso.

Já o soro de queijo, quando utilizado em baixas concentrações (de até 5%) não promoveu uma modificação relevante na amostra de leite quanto a sua fluidez e cor. Porém acima desse valor, já foi possível a verificação da ocorrência de coagulação no leite. A coagulação do leite é atribuída a uma modificação da estabilidade das micelas de caseína. Assim, quando um suficiente número de forças que evita a agregação das partículas do leite é ultrapassado, estas partículas tendem a coalescer e a formar um gel, o qual sofre um grau variável de sinérese. Esse fato pode ser mais expressivo na adição de soro de queijo com característica mais ácida, pois uma

desestabilização de cargas na superfície das micelas de caseínas pode ser observada de forma mais acentuada (FORTUNA,2015).

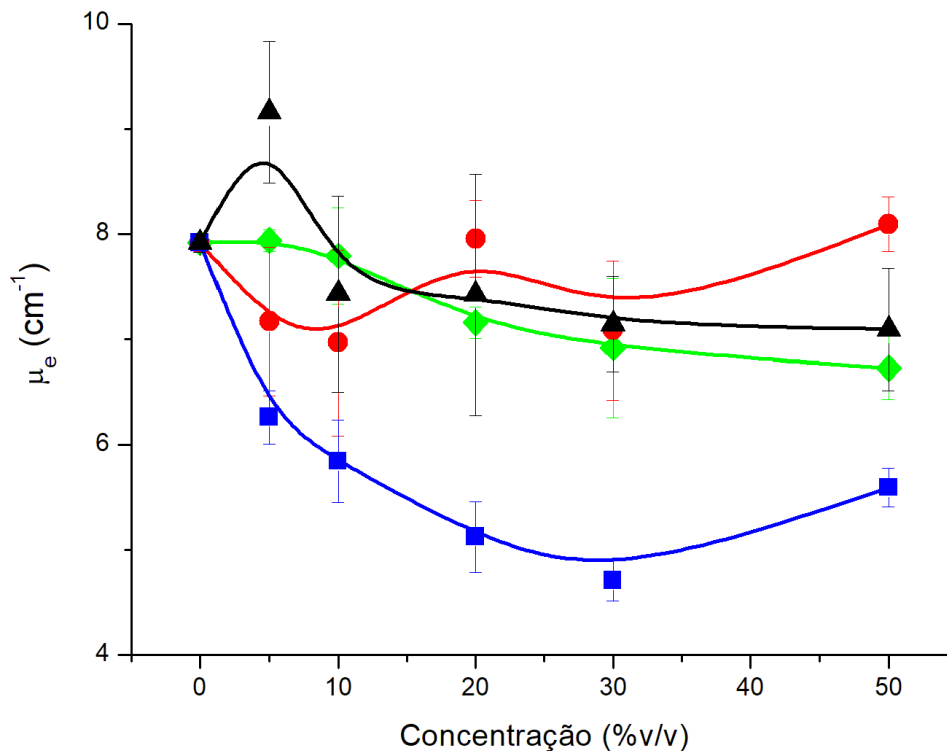
As análises qualitativas realizadas no leite cru mostraram que as adulterações no leite podem ser efetuadas de forma limitada. Por exemplo, não seria possível a adição de elevados percentuais de NaOH ao leite uma vez que modificações acentuadas em termos de coagulação proteica seriam verificadas de imediato. Porém, o intuito de se utilizar uma faixa mais ampla de volume de adulterante neste estudo, foi para tornar possível um melhor entendimento do comportamento de μ_e em relação a concentração. Neste sentido um conhecimento mais aprofundado sobre o efeito da adição de determinadas moléculas no comportamento das propriedades ópticas do leite pode ser adquirido, em uma faixa de baixo a elevado volume de agente adulterante.

5.4.2. Análise quantitativas das propriedades ópticas do leite cru

Partindo para a avaliação do coeficiente de atenuação (μ_e) e como mostrado na Tabela 4, o leite cru possui um valor característico de coeficiente de atenuação de $7,91 \pm 0,09 \text{ cm}^{-1}$. Qualquer leitura de μ_e que seja feita com um valor diferente deste, sugere um indício de adulteração.

Nesse estudo, foi avaliado o comportamento de μ_e no comprimento de onda de 575,1 nm a partir de diversos adulterantes adicionados ao leite cru (Figura 22). Importante lembrar que todos os pontos obtidos foram resultados de medidas realizadas em triplicata e que também foi utilizada uma ferramenta para a retirada dos ruídos da medida. Para essas análises, os dados experimentais para cada adulterante foram representados por uma forma geométrica específica e a curva representa o comportamento de μ_e , através da técnica *B-spline*.

Figura 23 - Comportamento de μ_e do leite cru com adição de $\color{green}\blacklozenge$ H₂O, \blacktriangle H₂O₂, $\color{red}\bullet$ soro de queijo e $\color{blue}\blacksquare$ NaOH.



É possível verificar algumas semelhanças do comportamento de μ_e em relação ao leite comercial, como era o esperado. A água destilada e o peróxido de hidrogênio causaram uma diminuição de μ_e com o aumento gradual de porcentagem de volume de adulterante. Quando o limite de 50% de volume de adulterante foi observado, percebeu-se que μ_e variou em torno de 10% de seu valor inicial, o que é uma variação discreta para a quantidade de adulterante inserido no leite.

Esse comportamento é obtido devido a diluição do leite por esses adulterantes, que fazem com que o feixe luminoso tenha mais espaço entre as moléculas para atravessar o meio, sofrendo menos desvios e conseqüentemente implicando em uma menor atenuação do feixe (NASCIMENTO, 2001). É relevante observar que só a partir de 40% de volume de adulterante que o coeficiente de atenuação foi diferente do valor característico do leite cru, levando em conta seu desvio padrão.

Já em relação a NaOH, μ_e sofreu um expressivo declínio do seu valor inicial com apenas 5% de volume de adulterante, semelhante a um comportamento de decaimento exponencial. Como visto anteriormente, a soda em si não é uma molécula de tamanho e geometria relevante para a atenuação, mas transforma o meio fisicamente e quimicamente, fazendo com que a atenuação do meio tenha seu valor

reduzido em torno de 35 %, mesmo na presença de um baixo percentual deste agente adicionado a amostra de leite.

O último adulterante avaliado foi o soro de queijo e nesse caso, houve uma variação oscilatória no coeficiente μ_e e alguns dos valores obtidos de μ_e permaneceram próximos ao valor inicial, o que torna difícil a detecção da adulteração. Com isso, tanto no leite cru como nas amostras de leite comercial, foi observado que o soro de queijo não altera μ_e de forma em que se tenha uma tendência no comportamento.

Os dados seguem a normalidade com probabilidade $p = 0,81 > 0,05$ por Shapiro-Wilk e através do teste de Tukey foi avaliado primeiramente se os adulterantes se diferenciam (Tabela 9) com significância de 0,05. Os valores maiores que esse fator revelaram insignificância entre os pares de adulterantes avaliados. Assim, foi obtido que NaOH não pode ser confundido com qualquer adulterante, mas que a água destilada, peróxido de hidrogênio e soro de queijo podem ser confundidos entre si.

Tabela 9 - Teste de Tukey para verificar diferença entre os adulterantes.

Adulterante	Probabilidade (p)			
	H ₂ O	H ₂ O ₂	NaOH	SORO
H ₂ O		0,8676	0,0057	0,9875
H ₂ O ₂	0,8676		0,0014	0,9704
NaOH	0,0057	0,0014		0,0031
SORO	0,9875	0,9704	0,0031	

Se tratando de comparar as concentrações, o teste de Tukey revelou que elas não se diferenciam e todas podem ser confundidas entre si. O que acarreta não conseguir determinar a concentração de adulterante mediante o valor obtido de uma amostra que passou pelo teste de adulteração com o uso da esfera integradora.

Foi possível constatar com os resultados apresentados, que há variações de μ_e quando se adiciona os adulterantes em questão, como mostrado a Tabela 10. É importante ressaltar que o valor característico do coeficiente de atenuação para o leite cru de $7,91 \pm 0,09 \text{ cm}^{-1}$, admitindo uma faixa de 7,82 a 8,00 cm^{-1} .

Tabela 10 – Variação em cm^{-1} do coeficiente de atenuação em relação aos intervalos observados.

Adulterante	$\mu_e (\text{cm}^{-1})$				
	5%	10%	20%	30%	50%
H₂O	7,94 ± 0,10	7,79 ± 0,46	7,16 ± 0,15	6,92 ± 0,66	6,73 ± 0,30
H₂O₂	9,16 ± 0,67	7,43 ± 0,93	7,42 ± 1,14	7,14 ± 0,45	7,09 ± 0,58
NaOH	6,26 ± 0,25	5,84 ± 0,39	5,12 ± 0,34	4,71 ± 0,20	5,59 ± 0,18
Soro	7,16 ± 0,70	6,97 ± 0,88	7,95 ± 0,36	7,08 ± 0,66	8,09 ± 0,26

Notou-se que para a água destilada, só é possível verificar a adulteração acima de 20% e para H₂O₂, só é possível determinar adulteração quando foi adicionado mais de 30% de adulterante. Em 5% de volume de H₂O₂ evidencia uma interferência no valor, não sendo possível confirmar que a esfera capta essa adulteração, pois é um valor divergente do que se era esperado.

Para a soda cáustica, a esfera integradora evidenciou fortemente o indício de adulteração quando havia somente 5% de NaOH presente no leite. Isso permite afirmar que essa técnica pode apresentar uma sensibilidade em até baixas concentrações de adulteração. Esse foi o agente adulterante que obteve maior destaque de detecção entre os demais, sendo possível captar adulteração em qualquer uma das concentrações avaliadas.

O soro de queijo é o adulterante mais complexo de identificar variações significativas de adulteração. Mesmo em altas concentrações de soro não revela um valor relevante de μ_e nesse comprimento de onda determinado. Portanto, quando a variação é pequena e o valor de μ_e permanece dentro dessa faixa do valor característico ou próximo a ela, não é possível evidenciar indícios de adulteração.

Com esse estudo foi revelado que através das propriedades ópticas apresentadas, pode ser possível utilizar essa técnica para detectar até baixos percentuais de adulteração, como no caso da soda cáustica, o que a torna bastante promissora. É viável que em trabalhos futuros seja avaliado um comprimento de onda em que a água, o peróxido de hidrogênio e o soro de queijo mostrem de forma mais assertiva alterações relevantes de μ_e , uma vez que sabemos que o comprimento de onda interfere diretamente na absorção e o espalhamento das moléculas presente no meio.

6. CONCLUSÃO

Primeiramente, a da esfera integradora foi capaz de se detectar qual é o tipo de leite que está sendo analisado, levando em consideração os leites comerciais. Esse conceito utilizou de base o teor de gordura presente no meio para gerar o valor característico de μ_e para cada tipo de leite.

O objetivo principal dessa pesquisa, foi verificar se a proposta de uma nova metodologia foi capaz de indicar fraudes no leite por adição de substâncias distintas de sua composição original, tanto pela quantidade quanto ao componente presente. Então, as primeiras análises foram feitas no leite comercial processado, que permitiu validar essa metodologia, pois detectou variações do coeficiente de atenuação (μ_e) dentre as concentrações de adulterantes analisadas.

Para a água e o peróxido de hidrogênio o coeficiente de atenuação (μ_e) teve uma queda suave conforme a adição de adulterante. Já para o soro, μ_e não apresentou variações significativas. Entretanto, essa técnica foi capaz de captar variação expressiva de μ_e em pequenas concentrações de soda cáustica.

As análises para o leite cru, iniciadas por uma análise de aspecto visual, elucidaram como os adulterantes interferiram na parte física e química da amostra. A água destilada e o peróxido de hidrogênio não resultaram em alteração relevante na cor do produto, mesmo quando volumes elevados destes agentes adulterantes foram adicionados ao leite. Já a soda cáustica e o soro de queijo, afetam de forma física e/ou química, tornando o leite mais viscoso, podendo gerar coagulação da amostra e também pode afetar a carga iônica das micelas de caseínas.

Nas análises quantitativas do leite cru, com a aplicação da técnica, houve uma semelhança do comportamento do leite cru com os leites UHT. Foi possível verificar que a esfera capta certos adulterantes a partir de uma determinada concentração, como a água destilada e o peróxido, 20 e 30% respectivamente. Já para o soro de queijo não foi eficiente para evidenciar a adulteração, mas para a soda cáustica mostrou ser assertiva.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Esse estudo propôs o uso de um método analítico alternativo para a detecção da adulteração do leite, sendo um início de testes para serem cada vez mais aprimorados para enfim, a aplicação da técnica ser realmente válida para uso prático. Estudos futuros poderão revelar formas mais eficientes de se observar variações de μ_e , como para a água destilada, peróxido de hidrogênio e especialmente o soro de queijo.

Uma das possíveis maneiras de aprimoramento é realizar uma varredura do espectro de luz e estabelecer um melhor comprimento de onda para analisar cada adulterante em questão e captar variações mais precisas de coeficiente de atenuação. Visto que, o comprimento de onda estima valores específicos de coeficiente de absorção e espalhamento, e que essas propriedades ópticas estão diretamente relacionadas com a composição do meio, ou seja, das moléculas presentes na amostra.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADI, A. Materials Properties. Chapter Seven: Thermal Properties. Disponível em: <http://uotechnology.edu.iq/appsciences/filesPDF/material/lectures/2c/3-Materials_prperties7.pdf>. Acesso em: 17 de jan. de 2019.

ABRANTES, M. R.; CAMPÊLO, C. S.; SILVA, J. B. A. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Mossoró, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DA POLÍCIA FEDERAL. Disponível em: <<http://www.pf.gov.br/agencia/>>. Acesso em: fevereiro de 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Rotulagem de lactose em alimentos tem regra publicada. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 17 de jan. de 2019.

BEZERRA, J. R. M. V.; RIGO, A.; RAYMUNDO, A. S.; BASTOS, R. G. Introdução à tecnologia de leite e derivados. Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil, 2010.

BRASIL. Instrução Normativa nº 68. Diário Oficial da União, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8; dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 370, setembro de 1997.

BRASIL. Portaria nº 146. Diário Oficial da União. Brasília, mar. 1996.

BRASIL ESCOLA. O que são triglicerídeos? Disponível em: <<https://brasilecola.uol.com.br/quimica/o-que-sao-triglicerideos.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

BUGLIA, F. Reflexão da Luz: Conheça Todos os Seus Tipos e Leis. Disponível em: <<https://www.infoenem.com.br/reflexao-da-luz-conheca-todos-os-seus-tipos-e-leis/>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

CALLISTER, W. D. Ciência e Engenharia dos materiais: Uma Introdução. 5ª ed, LTC, 2002.

CARVALHO, B. M. A.; CARVALHO, L. M.; ALCÂNTARA. L. A. P.; BONONO, R. C. Métodos de detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo. Revista electrónica de Veterinária, Volume VIII, Número 62007, 2007.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Conjuntura mensal especial – Leites e Derivados. Abril, 2017.

COSTA, J. N. R.; MONTE, A. F. G.; BATISTA, F. R. X. Efeito do teor de gordura nas propriedades ópticas do leite. XII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. UFSCar – São Carlos – SP, 2017.

FORTUNA, L. A. P. Estudo da estabilidade da micela de caseína em leite estável e instável não ácido. Universidade de Caxias Do Sul, 2015.

GÄNZLE, M. G.; HAASE, G.; JELEN, P. Lactose: Crystallization, hydrolysis and value-added derivatives. International Dairy Journal, Canadá, p. 685-694, 2008.

GASPARDO, B., DEL ZOTTO, S., TORELLI, E., CIVIDINO, S. R., FIRRAO, G., DELLA RICCIA, G., & STEFANON, B. A rapid method for detection of fumonisins B1 and B2

in corn meal using Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectroscopy implemented with integrating sphere. Food Chemistry, 2012.

GASPARINI, T. M. Aperfeiçoamento de um detector de espalhamento de luz laser em baixo ângulo (lalls in-line) para acompanhamento em tempo real do processo de extrusão. Universidade Federal de São Carlos - Programa De Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. São Carlos, 2015.

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. Definition and units of absorption coefficient μ_a [cm^{-1}]. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute, 1998c.

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. Definition and units of scattering coefficient. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute, 1998d.

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. Reduced scattering coefficient. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute, 1998e.

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. Definition of anisotropy, g [dimensionless]. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute, 1998b.

JACQUES, S. L.; PRAHL, S. A. Some biological scatterers. Biomedical Optics. Oregon Graduate Institute, 1998a.

LABSPHERE, I. Technical Guide: Integrating Sphere Theory and Applications. p. 22, 2017.

MARTINS, E. O.; SANTOS, H. A.; VIANA, D. A. F.; VIEIRA, E. S.; JUNIOR, A. M. F. Análise físico-química para a avaliação da qualidade do leite de propriedades localizadas na Região Norte do Estado de Sergipe, vol. 11, num. 04, 2015.

MELO, L. R. B. Avaliação da qualidade do leite UHT: aspectos bacteriológicos, físico-químicos, avaliação de embalagens e rotulagens. Universidade Federal Fluminense - Faculdade de Veterinária - Programa De Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico De Produtos De Origem Animal. Niterói, 2015.

MILES, C.A.; SHORE D.; LANGLEY, K.R. Attenuation of ultrasound in milks and creams. Institute of Food Research. Langford, UK, 1989.

MONTE; A. F. G.; REIS, A. F.; JUNIOR, L. B. C; ANTUNES, A. Preparation and quantitative characterization of polydimethylsiloxane optical phantoms with zinc-phthalocyanine dye absorbers. Applied Optics, vol. 57, No. 20, 2018.

NASCIMENTO, O. F. Determinação de parâmetros ópticos em tecido biológico (μ_a e μ_s) na região do infravermelho próximo. São José dos Campos, SP, 2001.

OLIVEIRA; I. R. N.; VIANA; K. W. C.; ROCHA; J. C. G.; STINGHETA; P. C. Ciência e Tecnologia de Alimentos: sustentabilidade, desafio e inovação, Capítulo 6: Corantes e medidas colorimétricas em alimentos. Universidade Federal de Viçosa, 2017.

PEREIRA, D. C. Radiometria e Fotometria Experimental Utilizando as Esferas Integradoras LMS 200 e LMS 400. Núcleo de iluminação moderna, Juiz de Fora - MG, 2015,

PRAHL, S. A. Optical-thermal Response of Laser-Irradiated Tissue. New York, 1995.

RATY, J. A.; PEIPONE, K. Reflectance study of milk in the uv-visible range. Applied Spectroscopy, v. 53, n. 9, p. 1123-1127, 1999.

RODRIGUES, E.; CASTAGNA, A. A.; DIAS, M. T.; ARONOVICH, M. Qualidade do leite e derivados - Processos, processamento tecnológico e índices. Manual Técnico, 37 ISSN 1983-5671. Niterói-RJ, 2013

ROSÁRIO, F. Consegues ver ou não?! Disponível em: <<https://pequenoscientistassanjoanenses.wordpress.com/tag/translucidos-e-transparentes/>>. Acesso em: 21 jan. 2019.

SANTOS, P. M. Aplicação de Imagens Digitais e Técnicas Espectroanalíticas combinadas com Quimiometria para Detecção e Quantificação de Adulteração em Leite Bovino, Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Departamento de Química, São Carlos-SP. (Tese de Doutorado), 2013.

SCHERER, T. Verificação quantitativa dos métodos qualitativos oficiais para detecção de fraude em leite. Centro Universitário Univates - Curso de Química Industrial. Lajeado, 2015.

SILVA, A.C.O., HOOD, C.; Silva, F.E.R.; Mársico, E.T. Detecção de fraudes em leite beneficiado e verificação dos métodos analíticos para análise de leite fluido. Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2010.

SINGH, H., BENNETT, R. J. Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products, 3rd Edition, p. 1-38, 2005.

SOARES, S. X. Detecção de leite adulterado através de medidas de atenuação da radiação gama. Universidade Federal do Abc. Santo André, 2015.

SPINK, J.; MOYER, D. C. Defining the Public Health Threat of Food Fraud. Journal of Food Science, 2011.

TRONCO, V. M. Manual para Inspeção da Qualidade do Leite. 3ª ed, 166 p. Santa Maria, 2008.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. Características do Leite. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Editado: 26.08.2007.

WELCH, A.; GEMERT, V. Definitions and overview of tissue optics. New York, Plenum Press, p. 15-46, 1995.