



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



CARACTERIZAÇÃO DO TEOR DE GORDURA DO LEITE ATRAVÉS DE MEDIDAS ÓPTICAS

Larissa Silva Paiva
Uberlândia - MG
2023



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



CARACTERIZAÇÃO DO TEOR DE GORDURA DO LEITE ATRAVÉS DE MEDIDAS ÓPTICAS

Larissa Silva Paiva

Orientador(a): Fabiana Regina Xavier Batista

Co-orientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte

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

Uberlândia - MG

2023

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

P149c
2023 Paiva, Larissa Silva, 1992-
Caracterização do teor de gordura do leite através de medidas ópticas
[recurso eletrônico] / Larissa Silva Paiva. - 2023.

Orientadora: Fabiana Regina Xavier Batista.
Coorientador: Adamo Ferreira Gomes do Monte.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-graduação em Engenharia Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2024.5067>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

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

CDU: 66.0

André Carlos Francisco
Bibliotecário Documentalista - CRB-6/3408

CARACTERIZAÇÃO DO TEOR DE GORDURA DO LEITE ATRAVÉS DE MEDIDAS ÓPTICAS

Tese aprovada para a obtenção do título
de Doutor em Engenharia Química no
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
Química da Universidade Federal de
Uberlândia pela banca examinadora composta
por:

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

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

Profa. Dra. Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros
FEQ/UFU

Profa. Dra. Michelle Andriati Sentanin
FEQ/UFU

Prof. Dr. Flávio Augusto de M. Marques
DFI/UFLA

Profa. Dra. Fernanda Maria Vani
FZEA/USP

Uberlândia (MG), 29 de agosto de 2023.



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 DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-graduação em:	Engenharia Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado, 06/2023, PPGEQ				
Data:	29 de agosto de 2023	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	17:25
Matrícula da Discente:	11913EQU009				
Nome da Discente:	Larissa Silva Paiva				
Título do Trabalho:	Caracterização do teor de gordura do leite através de medidas ópticas				
Área de concentração:	Desenvolvimento de Processos Químicos				
Linha de pesquisa:	Engenharia Bioquímica				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Propriedades óticas utilizadas na determinação de adulteração em alimento				
ODS-ONU:	ODS 2 – Fome Zero e Agricultura Sustentável, ODS 9 – Indústria, Inovação e Infraestrutura				

Reuniu-se por meio de webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, assim composta: Professores Doutores: Fernanda Maria Vanin - FZEA/USP, Flávio Augusto de Melo Marques - DFI/UFLA, Michelle Andriati Sentanin - FEQUI/UFU, Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros - PPGEQ/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 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 o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

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



Documento assinado eletronicamente por **Fabiana Regina Xavier Batista, Professor(a) do Magistério Superior**, em 29/08/2023, às 17:25, 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 29/08/2023, às 17:25, 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 **Flávio Augusto de Melo Marques, Usuário Externo**, em 29/08/2023, às 17:25, 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 **Fernanda Maria Vanin, Usuário Externo**, em 29/08/2023, às 17:26, 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 29/08/2023, às 17:26, 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 29/08/2023, às 17:26, 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 **4755158** e o código CRC **B184635C**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, acima de tudo, a Deus por sempre estar presente na minha vida e que tanto me escutou e me deu forças para eu conseguir chegar até aqui.

Aos meus pais, por todo o suporte e amor que tiveram nesse último ano, tanto comigo, quanto com meu filho. Sem vocês, eu jamais chegaria ao final dessa jornada. Esse título é dedicado especialmente à vocês. A minha irmã que sempre me dá forças e me diz que se orgulha muito de mim. Às lágrimas, eu não acredito que sou tão abençoada por ter essa família que torce tanto por mim. Hoje eu dedico todo meu esforço, minha pesquisa, minha vida inteira à meu filho Ricardo. Quero que você se orgulhe por ser meu filho e que eu possa servir de exemplo, inclusive nos estudos.

Agradeço imensamente a professora Fabiana, acima de tudo, a compreensão e principalmente, por fazer questão de estar ao meu lado para terminarmos mais essa etapa. Pela confiança na minha capacidade para realizar esse trabalho e pelos conhecimentos comigo compartilhados. Ao professor Adamo, por transmitir sua sabedoria e conhecimentos.

Agradeço a todos os mestres e doutores 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, CNPQ e a Fapemig pelo suporte a esse trabalho.

Agradeço aos amigos da Pós-graduação, Lucas, Ana Carolina e Ana Paula que rimos e choramos juntos por toda essa jornada. Compartilhamos muitas histórias, experiências e caronas de viagem, e que já ficaram marcados em minha vida. A todos os meus amigos que torcem e vibram por mim, agora chegou a hora de comemorar!

RESUMO

O leite é considerado um dos alimentos mais completos do mundo, sendo rico em cálcio, fósforo, sódio, potássio e vitaminas. Os leites pasteurizados podem ser categorizados como integral, semidesnatado e desnatado, com teores de gordura acima de 3%, entre 0,6% a 2,9% e menor ou igual a 0,5%, respectivamente. Com os avanços na pesquisa e na tecnologia, as análises rotineiras e laboratoriais vêm se aprimorando, com destaque para as análises ópticas. Esse procedimento dispensa a necessidade de adição de reagentes, não prejudica a amostra, fornece resultados rápidos e alta precisão. Neste estudo, apresentamos duas novas técnicas para classificar o leite com base no teor de gordura, usando o coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'). Para determinar esse dado na esfera integradora (1), medimos a transmissão e a reflexão da amostra a um comprimento de onda específico, 575,1 nm. Observamos uma relação direta entre o teor de gordura do leite e μ_s' , ou seja, quanto maior o teor de gordura, maior o valor de μ_s' . Isso ocorre devido à relação direta entre μ_s' e o tamanho, geometria e quantidade de partículas/moléculas presentes na amostra. A técnica tem como objetivo estabelecer uma faixa de valores: $\mu_s' \leq 1,5 \pm 0,035 \text{ mm}^{-1}$ para leite desnatado, entre $1,5$ a $3,1 \pm 0,035 \text{ mm}^{-1}$ para leite semidesnatado e $\mu_s' \geq 3,1 \pm 0,035 \text{ mm}^{-1}$ para leite integral. Na prática, utilizamos um fantoma com as mesmas características dos leites para estabilidade, evitando variações ao longo do tempo. Além disso, avaliamos o diâmetro médio dos glóbulos de gordura, que varia entre 2 e 2,5 μm após homogeneização. Usando o método de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI), determinamos os valores característicos para cada tipo de leite: $0,596 \pm 0,529 \text{ mm}^{-1}$ para o leite integral, $0,416 \pm 0,037 \text{ mm}^{-1}$ para o semidesnatado e $0,301 \pm 0,019 \text{ mm}^{-1}$ para o desnatado. Definimos uma faixa de classificação específica para esse método e especificamos a receita para produzir os fantasmas que retornam os valores desejados.

Quanto à implementação industrial, recomendamos a utilização dessa técnica logo após a padronização do leite, para verificar se o teor de gordura está conforme o desejado.

Palavras-chaves: leite, gordura, caracterização, propriedades ópticas, espalhamento reduzido, esfera integradora, fantoma, diâmetro, SFDI.

ABSTRACT

Milk is considered one of the most complete foods in the world, being rich in calcium, phosphorus, sodium, potassium and vitamins. Pasteurized milk can be categorized as whole, semi-skimmed and skimmed, with fat content above 3%, between 0.6% to 2.9% and less than or equal to 0.5%, respectively. With advances in research and technology, routine and laboratory analyzes have been improving, with emphasis on optical analyses. This procedure eliminates the need to add reagents, does not harm the sample, provides fast results and high accuracy. In this study, we present two new techniques to classify milk based on fat content, using the reduced scattering coefficient (μ_s'). To determine this data on the integrating sphere (1), we measure the transmission and reflection of the sample at a specific wavelength, 575.1 nm. We observed a direct relationship between milk fat content and μ_s' , that is, the higher the fat content, the higher the value of μ_s' . This occurs due to the direct relationship between μ_s' and the size, geometry and quantity of particles/molecules present in the sample. The technique aims to establish a range of values: $\mu_s' \leq 1.5 \pm 0.035 \text{ mm}^{-1}$ for skimmed milk, between 1.5 to $3.1 \pm 0.035 \text{ mm}^{-1}$ for semi-skimmed milk and $\mu_s' \geq 3.1 \pm 0.035 \text{ mm}^{-1}$ for whole milk. In practice, we use a phantom with the same characteristics as the milk for stability, avoiding variations over time. In addition, we evaluated the average diameter of fat globules, which varies between 2 and 2.5 μm after homogenization. Using the Spatial Frequency Domain Imaging (SFDI) method, we determined the characteristic values for each type of milk: $0.596 \pm 0.529 \text{ mm}^{-1}$ for whole milk, $0.416 \pm 0.037 \text{ mm}^{-1}$ for semi-skimmed and $0.301 \pm 0.019 \text{ mm}^{-1}$ for skimmed. We define a specific classification range for this method and specify the recipe to produce the phantoms that return the desired values.

As for the industrial implementation, we recommend using this technique right after milk standardization, to check if the fat content is as desired.

Keywords: milk, fat, characterization, optical properties, reduced scattering, integrating sphere, phantom, diameter, SFDI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma das operações unitárias associadas ao beneficiamento do leite.	17
Figura 2 - Padronização de teor de gordura no leite.	17
Figura 3 - Estágio do processo de homogeneização do leite com redução do diâmetro médio dos glóbulos de gordura.....	18
Figura 4 - Glóbulos de gordura e micelas de caseínas antes e após a homogeneização do leite.	19
Figura 5 - 1 - Triglicerídeos insaturados e de baixo peso molecular; 2 - Triglicerídeos sólidos; 3 – Fosfolipídios; 4 - Lipoproteínas, aglutininas e 5 - Cargas elétricas.	19
Figura 6 – Espectro eletromagnético.....	21
Figura 7 - Materiais transparente, translúcido e opacos.	21
Figura 8 - Tipos de reflexão (a) difusa e (b) regular.	22
Figura 9 - Formas de interação da radiação incidente com um material.	23
Figura 10 - Desvio da trajetória do fóton.	25
Figura 11 - Caminho médio ($1/\mu_s$) e caminho médio reduzido ($1/\mu_s'$).	26
Figura 12 - Fenômeno de (a) absorção e de (b) espalhamento.	27
Figura 13 - Esquema do dispositivo óptico.	27
Figura 14 – Esquema de medida de (a) transmissão e (b) reflexão, utilizando (1) a amostra, (2) porta de entrada e (3) porta de saída.....	28
Figura 15 - Troca de radiação entra duas superfícies difusora.	29
Figura 16 - Esfera com superfície interna difusora.....	29
Figura 17 - Esfera integradora e suas aberturas.	31
Figura 18 - Medidas de (a) transmissão e (b) reflexão realizadas na esfera integradora.	36
Figura 19 – Fantoma produzido com PDMS e TiO_2 (T_{amb}).	38
Figura 20 - Esquema da sequência dos procedimentos realizados.....	39
Figura 21 - (a) Esquema e (b) instrumento de aquisição da imagem por meio da técnica SFDI.....	40
Figura 22 - Imagens moduladas do leite integral obtidas a partir do LabView na fase 0° e na frequência espacial de 0 mm^{-1} ; $0,5 \text{ mm}^{-1}$; $0,10 \text{ mm}^{-1}$; $0,20 \text{ mm}^{-1}$ e $0,40 \text{ mm}^{-1}$	41

Figura 23 - Espectro do Leite UHT Integral.	42
Figura 24 - Espectro de absorção do Leite UHT Integral e da água.	42
Figura 25 – Espectros de absorção (μ_a), extinção (μ_e) e espalhamento reduzido (μ_s').	43
Figura 26 - Comportamento de μ_s' para cada tipo de leite UHT.	44
Figura 27 - Comportamento μ_s' de em relação ao diâmetro.	45
Figura 28 – Representação da estrutura e composição de um glóbulo de gordura.	46
Figura 29 - Classificação do leite a partir do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s').	48
Figura 30 - Fantomas produzidos com PDMS, TiO_2 e catalizador a temperatura ambiente.	48
Figura 31 - Ajuste linear do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s') em relação a concentração de TiO_2 dos fantomas.	49
Figura 32 - Relação entre coeficiente de espalhamento reduzido e porcentagem de gordura para o leite desnatado (■), semidesnado (■) e integral (■), com o ajuste linear.	51
Figura 33 - Faixa de classificação para o leite, utilizando o método SFDI.	52
Figura 34 - Relação do coeficiente de espalhamento reduzido e da massa de dióxido de titânio.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição média do leite de vaca.....	15
Tabela 2 - Quantidade das substâncias utilizadas pra a produção dos fantasmas (T_{amb}).	38
Tabela 3 - Parâmetros do ajuste da função de decaimento de potência (Eq. 13)	45
Tabela 4 - Valores característicos de μ_s' determinado cada tipo de leite em 575,1 nm.	47
Tabela 5 - Concentração de TiO_2 necessária para a produção dos fantasmas.	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO	144
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	144
3.1. LEITE	145
3.1.1. <i>Propriedades físico-químicas do leite.....</i>	<i>15</i>
3.1.2. <i>Gordura do leite</i>	<i>166</i>
3.2. PROPRIEDADES ÓPTICAS	20
3.2.1. <i>Reflexão da luz</i>	<i>222</i>
3.2.2. <i>Transmissão da luz.....</i>	<i>222</i>
3.2.3. <i>Absorção da luz</i>	<i>233</i>
3.2.4. <i>Espalhamento da luz</i>	<i>244</i>
3.2.5. <i>Coeficiente de absorção, espalhamento e extinção.....</i>	<i>244</i>
3.3. ESFERA INTEGRADORA	277
3.4. MÉTODO DE ADIÇÃO-DUPLICAÇÃO	322
3.5. FANTOMAS.....	333
3.5.1. <i>Polidimetilsiloxano (PDMS).....</i>	<i>344</i>
3.5.2. <i>Dióxido de titânio (TiO₂).....</i>	<i>344</i>
3.6. MÉTODO DE IMAGEM NO DOMÍNIO OU FREQUÊNCIA ESPACIAL (SFDI)	355
4. MATERIAL E MÉTODO.....	355
4.1. MEDIDA DAS PROPRIEDADES ÓPTICAS	35
4.2. PROCESSAMENTO DE DADOS.....	36
4.3. TRATAMENTO DE DADOS	37
4.4. PREPARO DOS FANTOMAS.....	377
4.5. IMAGEM NO DOMÍNIO OU FREQUÊNCIA ESPACIAL (SFDI)	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. ESPECTRO DO LEITE	41
5.2. COEFICIENTE DE ESPALHAMENTO REDUZIDO (μ_s').....	44
5.2.1. <i>Esfera Integradora</i>	<i>44</i>
5.2.2. <i>Método de Imagem no Domínio ou Frequência Espacial (SFDI).</i>	<i>50</i>
6. CONCLUSÃO	53

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
--	-----------

1. INTRODUÇÃO

Considerado um dos alimentos mais importante do mundo, o leite é rico em nutrientes e quimicamente complexo, composto por centenas de componentes diferentes (FOROUTAN et al., 2017). Desempenha um papel fundamental na nutrição, hidratação e desenvolvimento físico e intelectual, já que fornece todos os aminoácidos essenciais em quantidades e proporções ideais para a manutenção do bom funcionamento do organismo.

Sendo um excelente produto para consumo, é esperado uma expressiva produção global de leite, dominada por cinco espécies animais com 83% da produção total de leite proveniente de vacas, seguidas de búfalos com 13%, cabras 2%, ovelhas 1%, camelos 0,4% (FAO, 2017). Um dos maiores produtores de leite de vaca mundial é o Brasil, sendo que a produção nacional cresceu de 24,6 bilhões para 35,5 bilhões nos últimos 15 anos. Minas Gerais se destaca como o maior produtor do país, com 6,192 bilhões de litros produzidos no ano de 2021 (EMBRAPA, 2022).

Devido a uma alta produção e demanda, a qualidade é um ponto de extrema importância como garantia de alimento seguro e com qualidade nutricional para o consumidor. Para isso, o leite é avaliado por parâmetros físico químicos (estabilidade ao alizarol, acidez titulável, densidade relativa, índice crioscópico), de composição (gordura, proteína, extrato seco desengordurado) e por padrões higiênico-sanitários (contagem total bacteriana, contagem de células somáticas, detecção de resíduos de antibióticos) (EMBRAPA, 2022).

Para a indústria, é muito importante conhecer o teor de gordura no leite que está sendo industrializado. Este parâmetro, juntamente com o teor dos demais constituintes do leite, influencia no rendimento dos derivados. Como o leite é usado sendo matéria-prima de diversos produtos lácteos, ele precisa ter teor de gordura específico para a padronização da qualidade (TRONCO, 2008).

A gordura do leite pode ser determinada por diferentes métodos: butirométrico ou Gerber, Rose-Gottlieb (métodos clássicos) e métodos instrumentais. Os métodos clássicos, por apresentarem custo relativamente baixo e simplicidade ainda são amplamente usados na indústria e recomendados entre os métodos oficiais para análise de leite (BRASIL, 2006). Entretanto, nos testes clássicos é preciso adicionar

substâncias para verificação da propriedade analisada e consequentemente descarte da amostra.

Já quando se trata de métodos instrumentais, existem três áreas principais: a cromatográfica, e eletroquímica e a espectroscopia. Eles se diferem dos convencionais por serem mais exatos, porque comparativamente ao manuseio humano, o equipamento apresenta menor margem de erro, maior índice de assertividade, eficácia e eficiência por redução de interferentes e contaminantes. Se tratando da área da espectroscopia, atualmente temos o espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O software do equipamento utiliza um modelo matemático para calcular o teor de gordura a partir do espectro de absorvância no infravermelho próximo produzido pela amostra de leite analisada. O método instrumental apresenta boa exatidão, precisão e rapidez.

A vantagem dos métodos espectroscópios, além de ser de natureza interdisciplinar, é que são empregadas técnicas não invasivas e possuem resposta precisa. Dessa forma, com o avanço da tecnologia as medidas ópticas vem evoluindo e ganhando cada vez mais espaço nas análises de rotina.

Tendo em vista que a gordura do leite é de extrema importância para ser quantificada e que são possíveis as aplicações de técnicas ópticas para esse caso, o presente estudo indica o uso da esfera integradora para indicar o teor de gordura do leite. Trata-se de um equipamento no qual se podem determinar coeficiente espalhamento reduzido da luz no leite. Essa variável é diretamente relacionada ao tamanho e geometria das partículas, que é gerada por meio de dados de transmissão e reflexão gerados pela amostra, e posteriormente, são convertidos por um algoritmo em coeficiente de espalhamento reduzido.

Expandindo um pouco mais os métodos ópticos para esse tipo de análise, o método de Imagem no Domínio da Frequência Espacial (SFDI) também foi avaliado para diferenciar teor de gordura. Já nesta técnica, a resposta é obtida em um comprimento de onda específico através da modulação espacial da luz em um fantoma opticamente difuso usado como referência.

Essas duas técnicas citadas acima, já vem sendo bastante utilizadas na área da física médica, para detecção de patogenia em tecidos, através do coeficiente de absorção e espalhamento. Carregando o conhecimento já obtido nessa área, 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. Visando a boa sensibilidade na variação do coeficiente de espalhamento reduzido em relação a quantidade de gordura do leite, esse método se torna bastante atrativo.

O conceito do estudo é que a partir dos valores gerados de coeficiente de espalhamento reduzido para cada tipo de leite, se produz fantasmas com esses valores, para servirem de dado base de comparação e que seja fácil a caracterização do teor de gordura da amostra. A esfera integradora se destaca na utilização do método, pois é um equipamento de fácil manuseio e rápido resultado. Este estudo tem cunho multidisciplinar e vislumbrou associar técnicas ópticas como ferramenta de análise a estratégias de engenharia. Visando o delineamento de uma técnica 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 caracterizar o leite em relação ao seu teor de gordura mediante o uso da esfera integradora, através do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'). Sendo assim, especificamente, é necessário (i) determinar o teor de gordura do leite, tendo como foco os glóbulos de gordura presentes em cada tipo de leite; (ii) estabelecer um fantoma que represente cada leite; (iii) estimar o diâmetro dos glóbulos de gordura e (iv) validar o uso da técnica SFDI na caracterização.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Leite

De acordo com a legislação, o leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011). 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 et. al., 2005). A Tabela 1 sumariza a composição percentual dos principais constituintes do leite.

Tabela 1 - Composição média do leite de vaca.

Constituinte	Teor (%)
Água	87,0
Lactose	4,8
Gordura	4,0
Proteínas	3,5
Sais Minerais	0,7

FONTE: Venturini et al. (2007b)

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 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.

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).

Para atender aos seguintes parâmetros físico-químicos, o leite deve apresentar:

1. teor de gordura:
 - a. mínimo de 3,0g/100g para o integral e leite cru;
 - b. 0,6 a 2,9g/100g para o semidesnatado;
 - c. máximo de 0,5g/100g para o desnatado.
2. acidez de 0,14 a 0,18 em g de ácido láctico/100mL;
3. densidade relativa 15/15°C:
 - a. 1,028 a 1,034 para o cru ou integral;
 - b. 1,028 a 1,036 para o semidesnatado ou desnatado.
4. índice crioscópico entre -0,530°H e -0,555°H, equivalentes a -0,512°C e a -0,536°C, respectivamente;
5. teor de sólidos não gordurosos:
 - a. mínimo 11,4g/100g para o cru;
 - b. mínimo 8,4 g/100g com base no leite integral;
 - c. para os demais teores de gordura, esse valor deve ser corrigido pela fórmula Sólidos Não Gordurosos g/100g = $8,652 - (0,084 \times \text{Gordura g/100g})$.
6. proteína total mínima de 2,9g/100g;
7. lactose anidra mínima de 4,3g/100g;
8. testes enzimáticos: prova da fosfatase negativa e prova de peroxidase positiva.

3.1.2. Gordura do leite

A gordura é um componente lipídico do leite que é formada principalmente por triglicerídeos, cerca de 98%. A gordura do leite é secretada das células epiteliais mamárias na forma de glóbulos gordurosos, principalmente compostos de triglicerídeos rodeados de uma dupla camada lipídica. Esta membrana ajuda a estabilizar o glóbulo de gordura, formando uma emulsão dentro da fase aquosa do leite (DURR, 2000).

Sendo um dos componentes mais importantes do leite, existe algumas etapas do processamento do leite que são exclusivamente relacionados a gordura. A Figura

1 esquematiza a sequência do leite desde a coleta até a expedição (VENTURINI et al., 2007a).

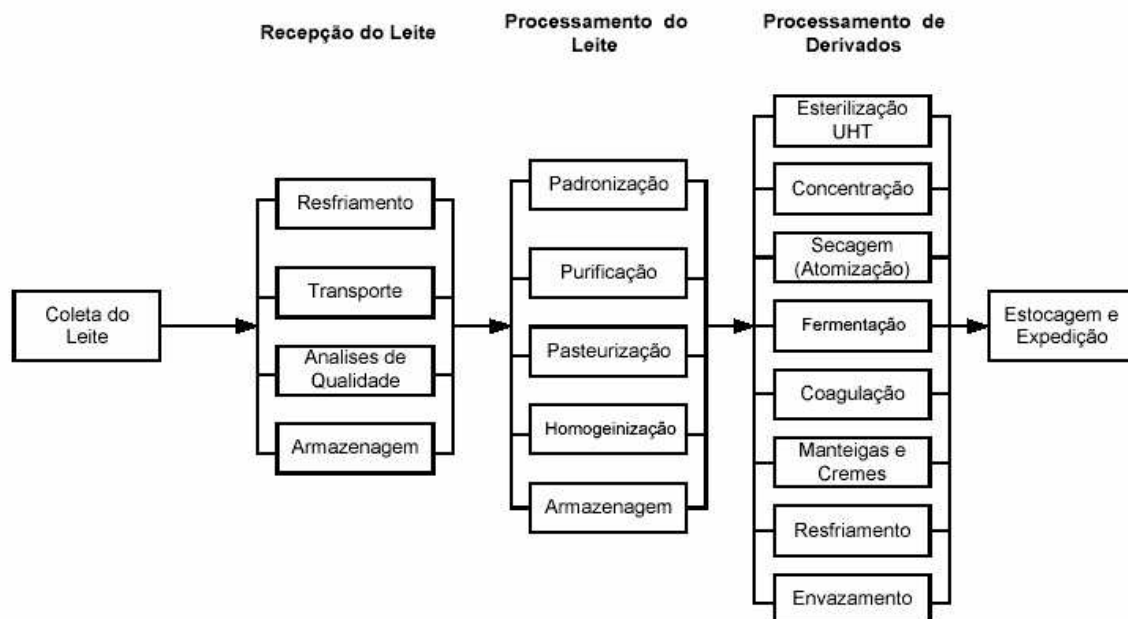


Figura 1 - Fluxograma das operações unitárias associadas ao beneficiamento do leite.

Uma das primeiras etapas do processamento do leite é a padronização. Industrialmente, o processo de padronização do leite pode ser realizado utilizando uma centrífuga padronizadora (Figura 2) que consiste na incorporação controlada de parte do creme de leite ao leite desnatado provenientes do processo de centrifugação.

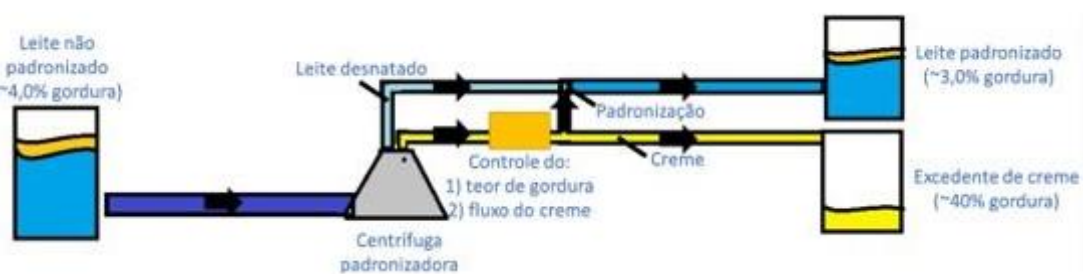


Figura 2 - Padronização de teor de gordura no leite.

O objetivo da padronização é manter constante o teor no produto final. O leite padronizado tipo C e UHT é padronizado com 3% de gordura, mais conhecido como

o leite UHT Integral. O excedente de creme é utilizado pelo laticínio para a fabricação de manteiga, requeijão, etc (VENTURINI et al., 2007a).

Outra etapa do processamento do leite focado exclusivamente na gordura, após a padronização, é a homogeneização do leite. Um processo físico mecânico que consiste em forçar o leite a pressões elevadas, por meio de um pequeno orifício (gap), a velocidades elevadas, com o objetivo de romper os glóbulos de gordura, subdividindo-os em glóbulos de menor diâmetro (faixa de 0,4 a 2,5 μm) (Figura 3) (VÉLEZ et al., 2017).

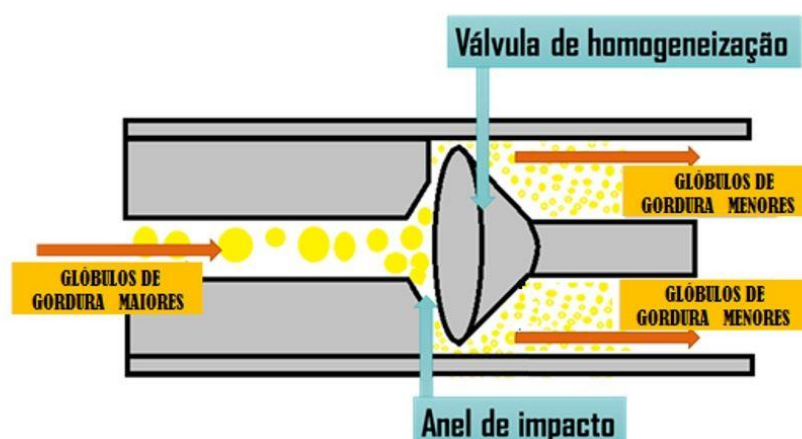


Figura 3 - Estágio do processo de homogeneização do leite com redução do diâmetro médio dos glóbulos de gordura.

Esse processo se faz necessário para que os glóbulos de gordura não consigam subir e formar creme sob condições normais de armazenagem. Essa redução é acompanhada pelo aumento da área interfacial total. Neste momento, os glóbulos menores não são mais completamente envoltos pelos fosfolípidios originais da membrana, apresentando também proteínas do leite, principalmente as caseínas, adsorvidas à superfície dos glóbulos, como mostra a Figura 4 (GONZÁLEZ et. Al., 2001).

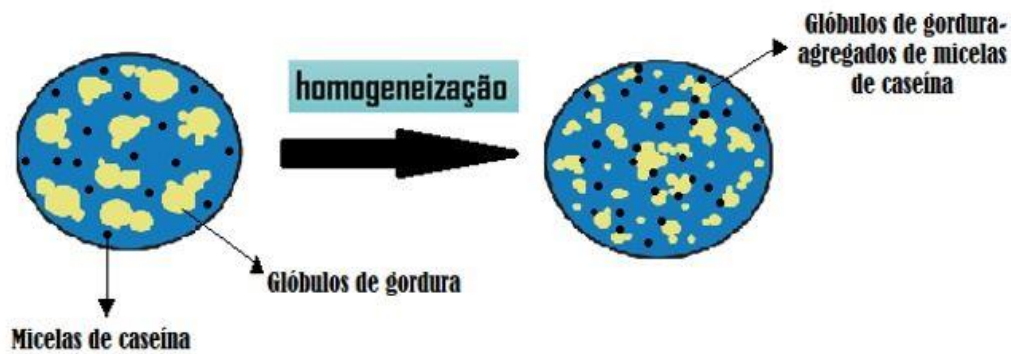


Figura 4 - Glóbulos de gordura e micelas de caseínas antes e após a homogeneização do leite.

O tamanho dos glóbulos de gordura pode afetar a textura e a cremosidade do leite e de seus derivados, como manteiga e creme. Além disso, a distribuição e estabilidade dos glóbulos de gordura também têm um impacto significativo na qualidade do leite e em seus produtos processados (DURR, 200). A estrutura do glóbulo de gordura pode ser esquematizada como círculos concêntricos com a seguinte composição, de dentro para fora, como mostra a Figura 5.

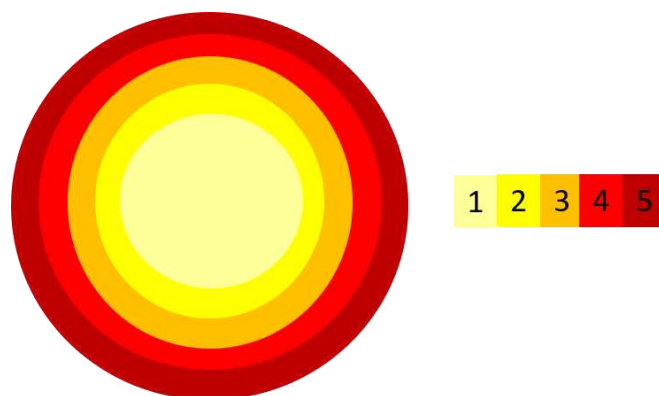


Figura 5 - 1 - Triglicerídeos insaturados e de baixo peso molecular; 2 - Triglicerídeos sólidos; 3 – Fosfolipídios; 4 - Lipoproteínas, aglutininas e 5 - Cargas elétricas.

Em leite não tratado, o diâmetro dos glóbulos de gordura esféricos geralmente fica na faixa de 0,1 a 10 μm , em média de 3 a 4 μm , suspensos na fase aquosa do soro em uma quantidade que pode atingir 15 bilhões de glóbulos/ml (COSTA et al.,

2021). Enquanto as dimensões correspondentes das micelas de caseína são de 10 a 300 nm. (RATY, 1999).

A determinação precisa do percentual de gordura no leite é primordial para a indústria, em virtude de sua importância para a produção de derivados e de seu alto valor comercial (CASTANHEIRA, 2012). O método tradicional de determinação do conteúdo de gordura do leite é o de Gerber. É aplicável para leite fluido in natura ou nas apresentações integrais e semidesnatadas, tratadas por processos de UHT ou pasteurização. (BRASIL, 2014).

Esse método baseia-se na separação e quantificação da gordura por meio do tratamento da amostra com ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido digere as proteínas que se encontram ligadas à gordura, diminuindo a viscosidade do meio, aumentando a densidade da fase aquosa e fundindo a gordura, devido a liberação do calor proveniente da reação, o que favorece a separação da gordura pelo extrator (álcool isoamílico) o qual modifica a tensão superficial do meio. A leitura é feita na escala do butirômetro, após centrifugação e imersão em banho-maria (BRASIL, 2014).

Devido ao baixo teor de gordura no leite fluido desnatado, este método não é aplicável para esta matriz. Nesse caso, emprega-se o método de Mojonnier (ou Roese-Gottlieb Modificado) baseia-se no uso de hidróxido de amônia para solubilizar a caseína, neutralizar a acidez e reduzir a viscosidade, já no álcool etílico para quebrar a emulsão gordura-caseína e na mistura éter etílico mais éter de petróleo para extrair a gordura. O éter de petróleo é usado para diminuir a solubilidade das substâncias não lipídicas, solúveis no éter etílico. A gordura assim extraída é determinada gravimetricamente (BRASIL, 2006). É um método mais demorado quando comparado ao de Gerber e a quantidade de reagentes empregada é bem maior.

O intuito dos métodos ópticos é trazer novas possibilidades de análise de teor de gordura, aonde não requer a inserção de reagentes e se obtém respostas rápidas e tão quanto eficazes.

3.2. Propriedades Ópticas

Para o início do entendimento das medidas ópticas, é necessário entender o que é uma propriedade óptica, ou seja, 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 105 m. A luz visível está localizada na faixa de comprimento de onda que vai de aproximadamente 0,4 μ m e 0,7 μ m, como mostra a Figura 6 (CALLISTER, 2002).

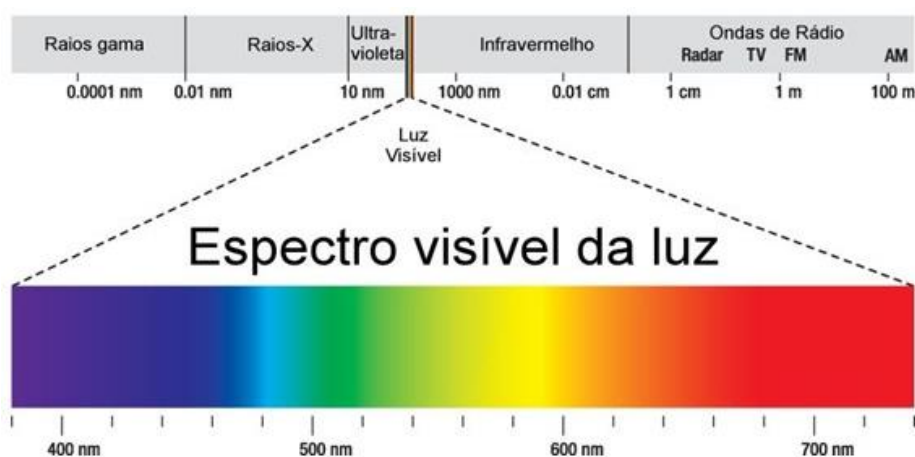


Figura 6 – Espectro eletromagnético.

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. Aquelles materiais que são impenetráveis à transmissão da luz visível são conhecidos como opacos, como mostra a Figura 7.

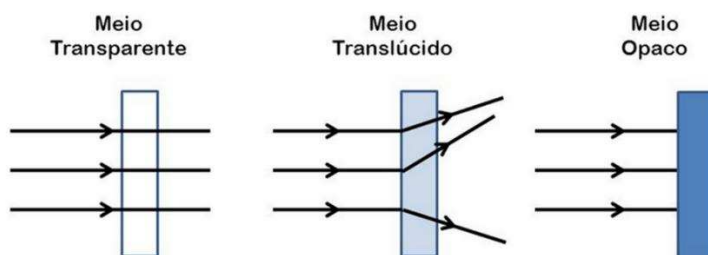


Figura 7 - Materiais transparente, translúcido e opacos.

3.2.1. 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, a reflexão pode ser classificada de duas formas. A reflexão difusa (Figura 8a) ocorre quando os raios de luz incidem em uma superfície irregular ou rugosa e são refletidos em direções distintas. Há a reflexão regular ou especular (Figura 8b), é 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 que incide nessa superfície.

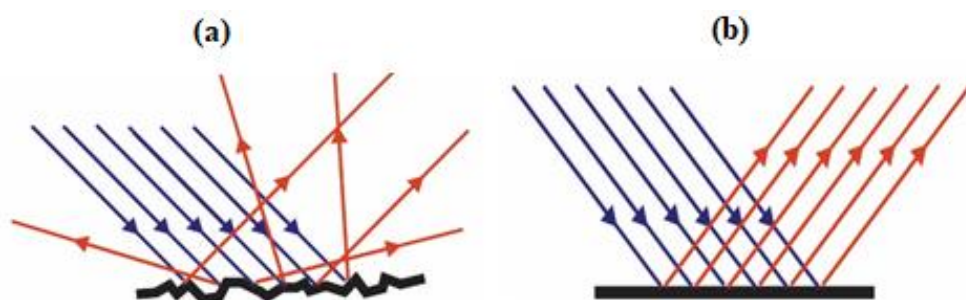


Figura 8 - Tipos de reflexão (a) difusa e (b) regular.

3.2.2. 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.

3.2.3. 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 a energia de transição da molécula, para que a transferência ocorra (NASCIMENTO, 2001).

Em resumo, caso os fótons que interagem com a matéria excitam os elétrons das camadas de valências, alguns efeitos podem ocorrer, dentre eles a absorção, a reflexão ou a transmissão, como mostra a Figura 9. A absorção ocorre quando o fóton cede toda a sua energia para elétron de valência, excitando-o. Quando isso ocorre e o elétron retorna à camada de valência, 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.

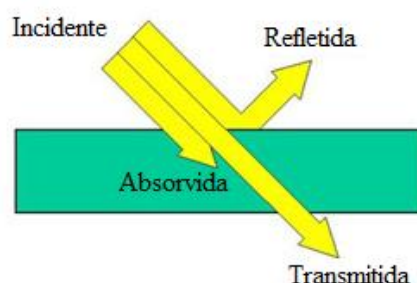


Figura 9 - Formas de interação da radiação incidente com um material.

3.2.4. Espalhamento da luz

O espalhamento da luz ocorre em materiais 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 et al., 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).

3.2.5. Coeficiente de absorção, espalhamento e extinção

O coeficiente de absorção (μ_a) é propriedade específica de cada material, e varia em função do comprimento de onda da radiação incidente. É 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. A determinação de decaimento da intensidade luminosa, após atravessar a matéria, é realizada através da equação 1, onde $1/\mu_a$ é a distância na qual a intensidade da radiação incidente decai na ordem de $1/e$, também chamada de caminho médio (WELCH, 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, dado em cm^{-1} (WELCH, 1995). Porém, para facilitar o uso do coeficiente de espalhamento, é mais comum a utilização do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'), que pode ser encontrado também como coeficiente de espalhamento anisotrópico.

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 10, na qual o valor médio do $\cos(\theta)$ é definido pelo parâmetro g (JAQUES et al., 1998b).

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

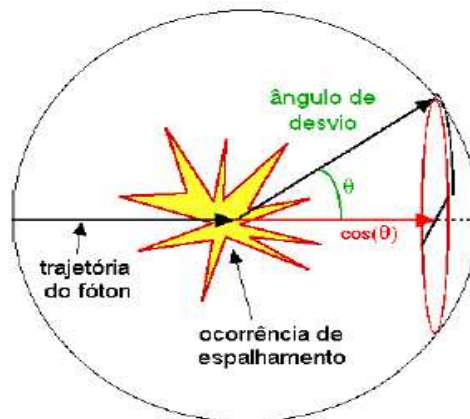


Figura 10 - Desvio da trajetória do fóton.

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 11.

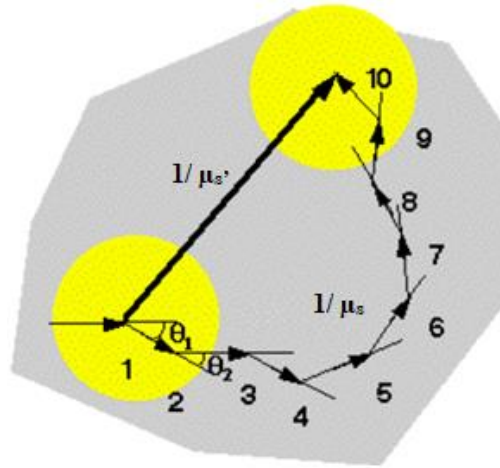


Figura 11 - Caminho médio ($1/\mu_s$) e caminho médio reduzido ($1/\mu_s'$).

Para utilizar o coeficiente de espalhamento reduzido é necessário que $\mu_a \ll \mu_s'$, ou seja, desde que existem 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 , conforme a Equação 3.

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

Como a maioria dos materiais sofre os dois fenômenos ópticos concomitantemente, absorção e espalhamento, pode-se utilizar o coeficiente de extinção (μ_e) para facilitar a análise, que nada mais é que a soma do coeficiente de absorção (μ_a) e do coeficiente de espalhamento (μ_s), ilustrados na Figura 12. Nesse caso, a Equação 1 sofre a seguinte modificação:

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

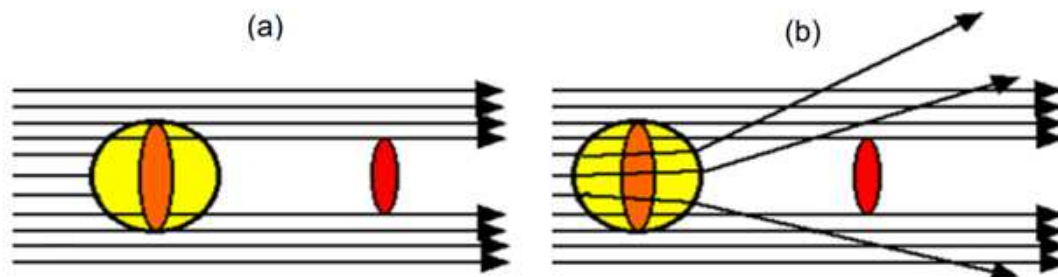


Figura 12 - Fenômeno de (a) absorção e de (b) espalhamento.

3.3. 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 extinção óptica, como mostra a Figura 13. 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.

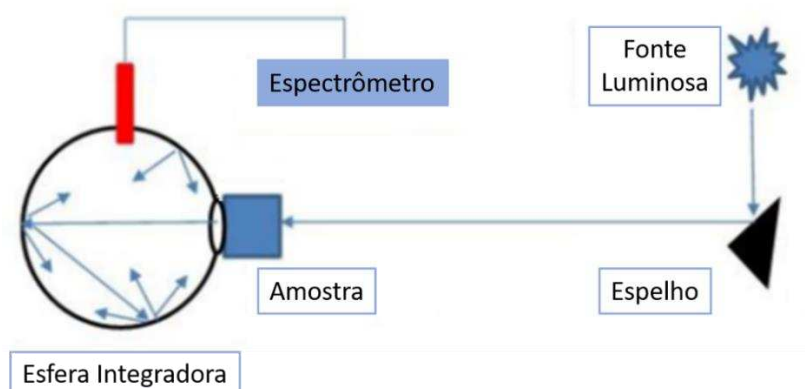


Figura 13 - Esquema do dispositivo óptico.

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 14. 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 14 – Esquema de medida de (a) transmissão e (b) reflexão, utilizando (1) a amostra, (2) porta de entrada e (3) porta de saída.

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 diferenciados de uma superfície difusora denominados de dA_1 e dA_2 , separados por uma distância S , conforme Figura 15.

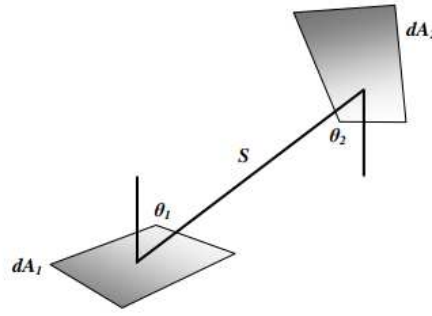


Figura 15 - Troca de radiação entra duas superfícies difusora.

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 por (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 16. 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.

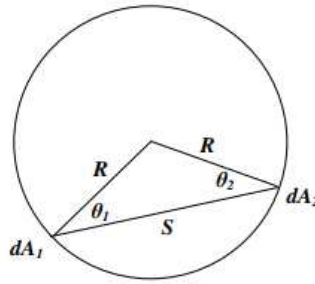


Figura 16 - Esfera com superfície interna difusora.

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

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

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:

$$\int dF_{d1-d2} = \frac{1}{4\pi R^2} \int_{A_2} dA = \frac{A_2}{4\pi R^2} \quad (\text{Eq. 8})$$

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_0), como mostra a Figura 17. 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 de total as portas (LABSPHERE, 2017).

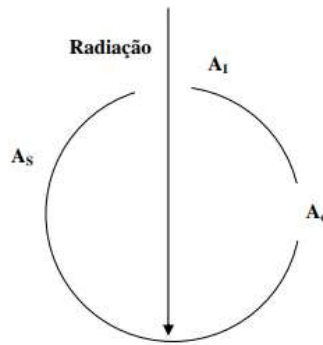


Figura 17 - Esfera integradora e suas aberturas.

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

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

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 muito 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 bastante 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 sadios 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 bastante diferentes entre leites com teores de gorduras distintos, sendo assim, capaz de gerar um padrão de referência para comparar e desenvolver outros equipamentos com sensores ópticos de análises rápidas e precisas.

3.4. 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 é encontrada 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 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 usado 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.

3.5. *Fantomas*

São objetos simuladores normalmente utilizados para representar as propriedades de material, também conhecidos como mimetizadores ou simuladores. Estes objetos são confeccionados e empregados com o objetivo de calibrar e simular a distribuição da luz, além de servir como medida de comparação de referência em relação a um dispositivo óptico (LAMOUCHE et al., 2012)

Existem diversos tipos de fantomas que são descritos na literatura, como fantomas líquidos, utilizando leite homogeneizado, ceras, suspensões de óleos, as gorduras em solução aquosa, entre outros. Os fantomas sólidos são usados frequentemente, como ágar, agarose e poliácridamida. Estes materiais podem ser cortados e moldados, há a possibilidade de adicionar corantes ou tintas de modo que permitam a heterogeneidade. Entretanto, esse tipo de fantoma possuem tempo de vida limitado (REIS, 2019).

Para contornar esse problema e melhorar a resistência de fantomas, foi empregado o uso de borrachas ou plásticos, como o silicone, poliéster, poliuretano e a resina epóxi. Esses materiais fazem com que o fantoma tenha estabilidade óptica, tempo de vida útil elevado e flexibilidade no processo de moldagem (MOFFITT et al., 2006).

A construção de um fantoma óptico se dá pela adição de materiais espalhadores e absorvedores sobre uma matriz, a qual é moldada em diferentes formas e tamanhos a depender da aplicação do fantoma (POGUE et al., 2006). Muitos dos estudos com

fantomas se baseiam no desenvolvimento de objetos regulares para simular os coeficientes de absorção (μ_a) e de espalhamento reduzido (μ_s') de tecidos biológicos em determinados comprimentos de onda (λ) (REIS, 2019). Dessa forma, há um interesse de transferir esse conhecimento para o desenvolvimento de simuladores que sejam compatíveis com as propriedades particulares do leite.

3.5.1. Polidimetilsiloxano (PDMS)

O polidimetilsiloxano é um elastômero de silicone, considerado inerte, termicamente estável, permeável a gases, sendo ainda facilmente manuseado à temperatura ambiente. Trata-se de um material que apresenta propriedades isotrópicas e homogêneas assim como reduzidos custos e é um material ideal para o desenvolvimento de microestruturas (MATA et al., 2005).

Na utilização do PDMS é fornecido num kit composto por dois produtos químicos no estado líquido, sendo um deles a base e o outro o endurecedor. Após a ocorrência da mistura destes dois componentes verifica-se que o PDMS no estado líquido passa a ser borracha. O principal constituinte químico da base é dimetilvinil, terminada dimetilsiloxano. Por outro lado, o agente de cura é feito à base de siloxano e metildimetilo. Na presença de um catalisador de platina, dá-se uma reação de hidrossiliação cruzada e liga as unidades de siloxano com os grupos vinilo terminais dos polímeros da base, transformando assim as cadeias curtas do polímero líquido numa rede elastomérica (Ainla, 2008).

3.5.2. Dióxido de titânio (TiO₂)

O dióxido de titânio é encontrado na forma de pó, de cor branco e sem odor, não apresenta ponto de fusão, não é inflamável, insolúvel em água, estável sob temperaturas normais e não reativo. Para a utilização em fantomas, ele age como agente espalhador.

3.6. Método de Imagem no Domínio ou Frequência Espacial (SFDI)

O SFDI (spacial frequency domain imaging) é uma técnica óptica inovadora e não invasiva que permite quantificar valores de absorção e espalhamento reduzido em uma base pixel por pixel (MONTE et al., 2018). O coeficiente de espalhamento reduzido μ_s' é estabelecido a partir da espectroscopia por migração de fótons de múltiplas distâncias (DÖGNITZ; WAGNIÈRES, 1998).

As propriedades ópticas são obtidas em um comprimento de onda específico através da modulação espacial da luz em um fantoma opticamente difuso usado como referência. Uma câmera megapixel é necessária para capturar uma imagem obtida como resultado da refletância em função da frequência espacial senoidal, codificada pela iluminação projetada na região de interesse, como mostra a Figura 13 (MONTE et al., 2018).

4. MATERIAL E MÉTODO

O estudo se inicia tendo de base três tipo de leite UHT: o integral, semidesnatado e o desnatado. Esses leites foram adquiridos em mercado local e é importante salientar que, foram comprados na mesma data da análise para não ocorrer alterações no produto depois de aberto. Todas as análises foram realizadas em laboratório com temperatura ambiente.

4.1. 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 18). 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 18, foram captadas por um detector e reveladas através do software Spectra Suite. Outra medida necessária realizada foi de calibração que consistiu na esfera somente com a

porta frontal aberta 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.

Para uma análise do espectro do leite, a faixa de comprimento de onda que o espectrômetro captou os dados foi de 450 a 1050 nm. Essa medida de baseia no mesmo esquema da medida de transmissão na esfera integradora, entretanto, esses dados não são processados posteriormente. Nessa análise, é possível avaliar o comportamento dos coeficientes de extinção (μ_e), absorção (μ_a) e espalhamento reduzido (μ_s').

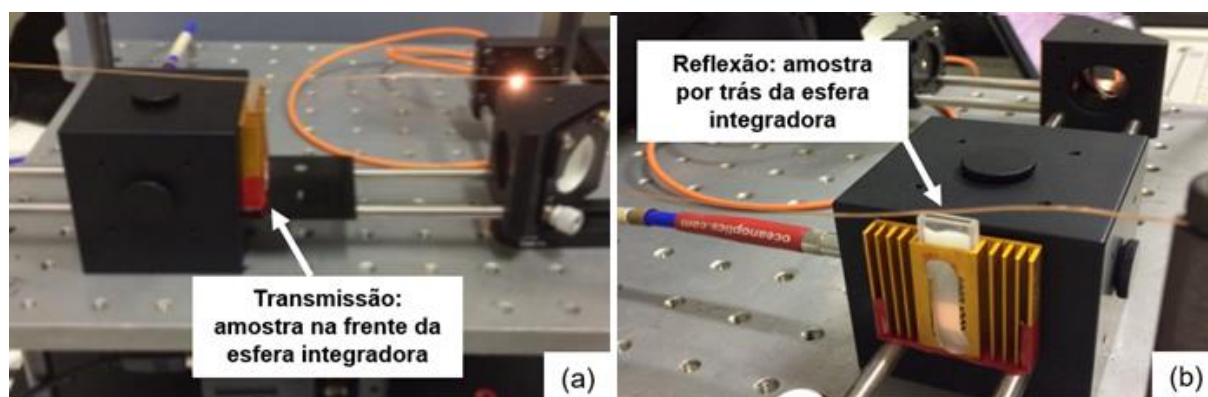


Figura 18 - Medidas de (a) transmissão e (b) reflexão realizadas na esfera integradora.

4.2. 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 comprimento de onda desejado.

Vale 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 confiança do resultado. O valor obtido de 1,4 foi a média verificada entre as medições de todos os tipos de leite comercial (integral, semidesnatado 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.

4.3. Tratamento de dados

Após o processamento de dados, o programa retornou valores de coeficiente de absorção e espalhamento para o comprimento de onda utilizado (575,1 nm). Foi preciso utilizar uma ferramenta para a retirada dos ruídos, o que se faz necessário quando se tratam de medidas ópticas.

4.4. Preparo dos Fantomas

Para produzir um fantoma com as mesmas características do leite, foi utilizado polidimetilsiloxano (PDMS - Marca Markertech Labs) como a matriz de fundo, dióxido de titânio (TiO_2) como agente espalhador. Em cada amostra utilizou-se 10,0 gramas de PMDS, e um catalisador para acelerar o tempo de cura do fantoma.

Esse catalisador possui como base de composição o siloxano e o metildimetilo, também da marca Markertech Labs. O volume utilizado foi de 1 ml em casa amostra. Entretanto, TiO_2 não se mistura de forma satisfatória diretamente no silicone, então foi necessário fazer uma solução de catalisador e TiO_2 , de concentração de 0,1g/mL. Essa solução ficou no banho ultrassônico por 2 horas para melhorar a quebra dos grânulos e garantir a homogeneidade da amostra. A Tabela 2, revela os valores utilizados de agente espalhador (TiO_2) e a espessura de que cada fantoma.

Tabela 2 - Quantidade das substâncias utilizadas pra a produção dos fantasmas (T_{amb}).

	MTiO ₂ (g)	Espessura (mm)
L1	0,005	2,5
L2	0,010	2,5
L3	0,015	2,5
L4	0,020	2,2
L5	0,025	2,3

O fantoma na forma ainda líquida, é despejado em uma forma desejada e levado para a câmara de vácuo para retirada das bolhas de ar e espera do tempo de cura do catalisador. O esperado é um fantoma de aparência lisa e homogenia, como mostrado na Figura 19.



Figura 19 – Fantoma produzido com PDMS e TiO₂ (T_{amb}).

A espessura do fantoma é de extrema importância para gerar os dados do coeficiente de espalhamento reduzido, pois interfere de maneira direta no resultado gerado pelo método IAD.

Abaixo, na Figura 20, tem-se um esquema da sequência dos procedimentos realizados.

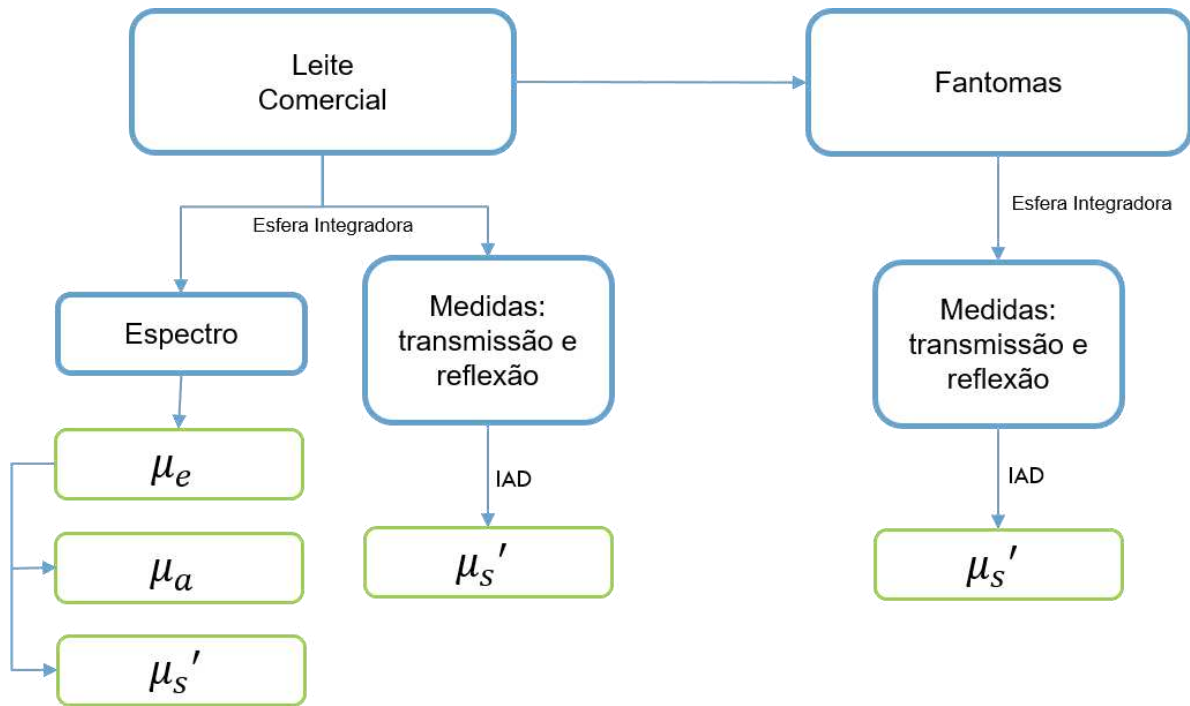


Figura 20 - Esquema da sequência dos procedimentos realizados.

4.5. Imagem no domínio ou frequência espacial (SFDI)

O equipamento utilizado para aquisição das imagens em SFDI consiste de uma fonte de luz branca, um filtro para seleção de diferentes comprimentos de onda da luz e uma câmera, conforme mostra esquematicamente a Figura 21a. O equipamento utilizado neste trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Imagens Funcionais (LIMF) do Instituto de Física da Universidade Federal de Uberlândia, e é mostrado na figura 21b, em que o tecido ilustrado foi alterado por um fantoma/amostra.

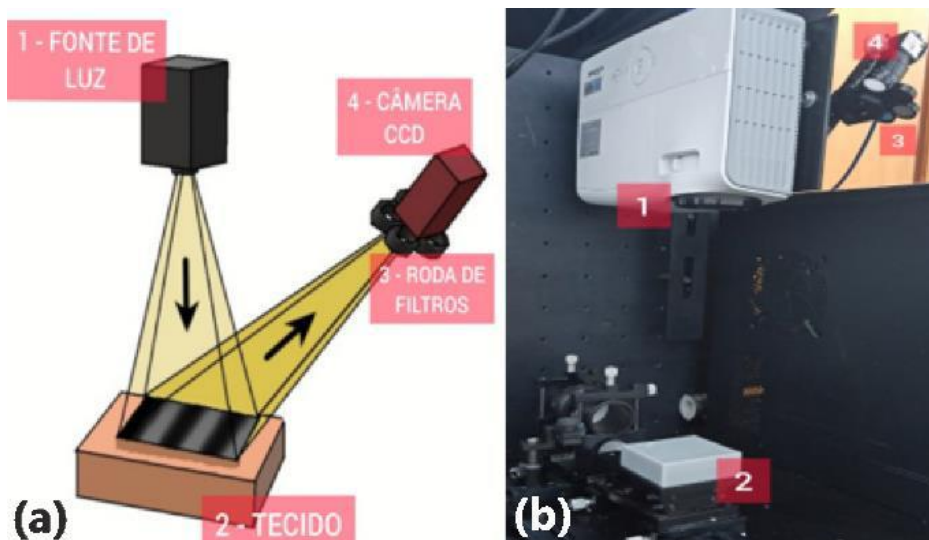


Figura 21 - (a) Esquema e (b) instrumento de aquisição da imagem por meio da técnica SFDI.

A fonte de luz utilizada foi uma lâmpada de luz branca e produz o feixe luminoso que incide sobre a região da amostra que se deseja avaliar. A intensidade deste feixe é modulada seguindo um padrão que varia no espaço de forma senoidal, com uma frequência espacial f . A luz que interage com a amostra, é refletida por ele passa por um filtro para seleção do comprimento de onda desejado, sendo então captada por uma câmera.

A realização deste procedimento foi possível devido ao uso de um software de instrumentação virtual conhecido como LabView. Este foi desenvolvido pela National Instruments (NI), onde cada instrumento virtual é composto por uma tela de comandos, pelo diagrama de blocos e um conector.

As imagens obtidas, conforme o exemplo da Figura 22, passam por um processo de calibração, tomando como base um material de referência (fantoma), cujas propriedades ópticas são conhecidas. As frequências utilizadas foram de 0 mm^{-1} e $0,05 \text{ mm}^{-1}$; $0,10 \text{ mm}^{-1}$; $0,20 \text{ mm}^{-1}$ e $0,40 \text{ mm}^{-1}$ e em cada uma delas são realizadas imagens para o comprimento de onda do filtro (650 nm) e três fases distintas (0° , 120° e 240°).

Um fator importante neste procedimento é selecionar a frequência $0,0 \text{ mm}^{-1}$, pois ela não gera padrões de ondas senoidais que são projetadas na superfície do fantoma e, portanto, gera uma imagem planar. Ou seja, para esta frequência o SFDI é capaz de projetar imagens reais tridimensionais (3D) em um plano (2D).



Figura 22 - Imagens moduladas do leite integral obtidas a partir do LabView na fase 0° e na frequência espacial de 0 mm⁻¹; 0,5 mm⁻¹; 0,10 mm⁻¹; 0,20 mm⁻¹ e 0,40 mm⁻¹.

Desta forma, foi possível obter um conjunto de imagens, em que cada pixel representa a refletância difusa $Rd(f)$ da amostra naquela região, a uma dada frequência espacial f .

O mapeamento do coeficiente μ_s' do leite em função dos valores de refletância difusa $Rd(f)$ foi realizado empregando métodos de inteligência artificial para reconhecimento de padrões, através do MATLAB, sendo o algoritmo utilizado baseado no método da difusão (DIFF).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectro do leite

A princípio, faz-se necessário entender que modelos básicos de propagação de luz são descritos em termos de transporte de radiação em um meio aleatório não homogêneo, como no caso do leite (TUCHIN, 2015). A contribuição de diferentes processos (espalhamento único e múltiplo, características de espalhamento, etc.) é determinada por elementos estruturais que estão na faixa de várias dezenas de nanômetros a centenas de micrômetros (FILATOVA et al., 2007).

O Leite UHT Integral foi o leite escolhido para se avaliar o comportamento do coeficiente de extinção (μ_e), ou seja, do espectro do leite (Figura 23). Já que nesse tipo de leite, tem-se uma maior influência dos glóbulos de gordura dentre os outros leites comerciais, devido ao seu maior teor de gordura.

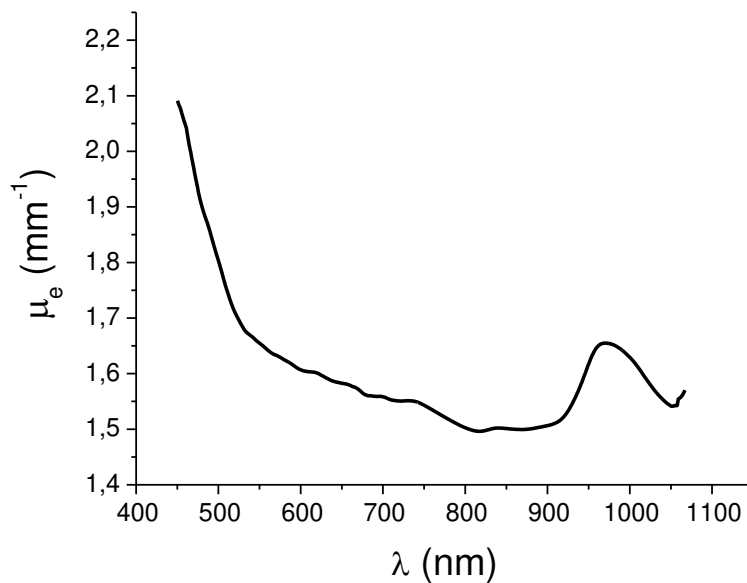


Figura 23 - Espectro do Leite UHT Integral.

Como o leite possui mais de 80% de água, é interessante compará-lo com o espectro de absorção de água, conforme a Figura 24. O aumento do espectro do leite no IR próximo é devido à absorção de água, aproximadamente 975 nm.

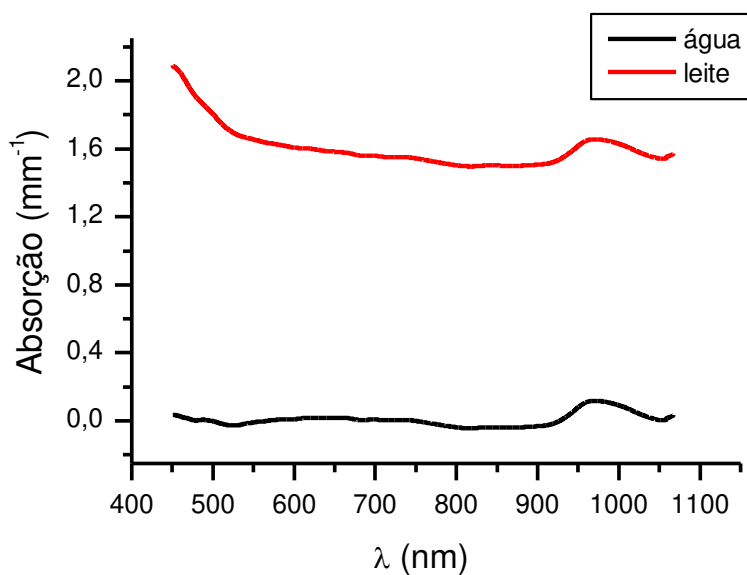


Figura 24 - Espectro de absorção do Leite UHT Integral e da água.

Segundo Tuchin (2015) a dispersão de luz pode ser explicada por dois conceitos: (i) é considerado o espalhamento de luz em meio com índice de refração

contínuo, mas espacialmente não homogêneo; ou (ii) o que foi considerado nesse estudo, considera-se o espalhamento da luz por partículas com índice de refração diferente do índice de refração do meio. Assim, o espalhamento pode ser descrito pela teoria de Mie, implicando que esferas ideais de um determinado tamanho estão em um meio homogêneo.

Levando em consideração a dispersão de luz na amostra, foi realizado a separação dos espectros de absorção (μ_a) do espectro de extinção (μ_e), Figura 25. Pode ser obtida uma aproximação, usando uma função de decaimento da lei de potência $\mu_{s'} \propto \lambda^{-b}$ (JAQUES, 2013), conforme a Equação 13.

$$\mu_{s'} = A \frac{\lambda^{-b_{Mie}}}{\lambda_{ref}} \quad (\text{Eq. 13})$$

Foi possível verificar que o leite é uma substância altamente espalhadora, pelo comportamento de $\mu_{s'}$ ser o fator principal de μ_e , satisfazendo a condição de que $\mu_a \ll \mu_{s'}$. Dessa forma, foi viável trabalhar somente com a variável $\mu_{s'}$.

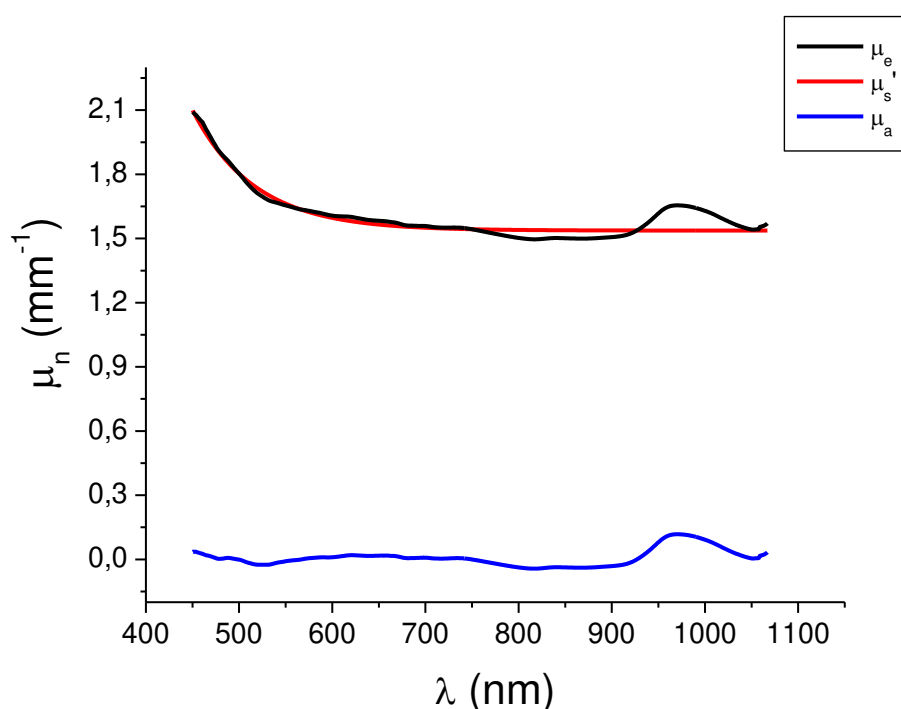


Figura 25 – Espectros de absorção (μ_a), extinção (μ_e) e espalhamento reduzido ($\mu_{s'}$).

5.2. Coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s')

5.2.1. Esfera Integradora

Sendo o leite uma substância espalhadora e levando em consideração o UV visível, foi possível observar com clareza a influência do teor de gordura em relação ao coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s'), como mostra a Figura 26.

Os valores médios da porcentagem de gordura exibida na legenda, foi resultado da média de quatro marcas diferentes que se encontram no mercado. Ficou bem estabelecido que do comportamento do leite desnatado, em que não se encontra quantidade de porcentagem de gordura relevante, revelou o comportamento das demais substâncias presente no leite, como a água, lactose, os sais minerais, etc.

Para uma análise mais minuciosa dos glóbulos de gordura, foi possível se obter o comportamento apenas dos glóbulos de gordura, subtraindo o comportamento do leite integral (o leite mais gordo analisado) e o leite desnatado. A partir desses dados e tomando de base de comparação dados fornecidos por um programa simulador de comportamento de coeficiente de espalhamento reduzido, Mie Simulator, que leva em consideração o diâmetro das moléculas, a concentração volumétrica da amostra (1×10^7 esferas/mm³), a faixa do comprimento de onda (450 a 900 nm) e os índices de refração da amostra (1,44) e do meio (1,33).

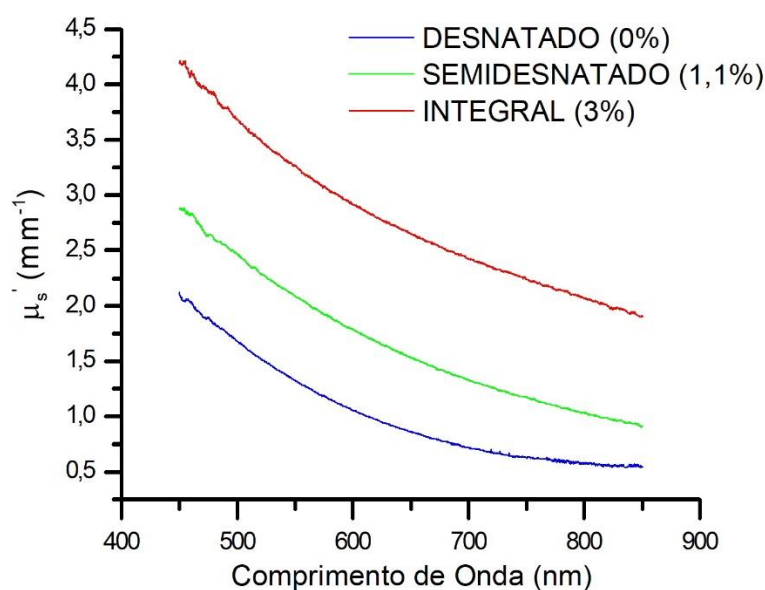


Figura 26 - Comportamento de μ_s' para cada tipo de leite UHT.

Esse software faz o ajuste conforme descrito na Equação 13, com as constantes λ_{ref} sendo 1000 nm, e os parâmetros A, e b_{mie} , conforme a Tabela 3. O intuito dessa análise foi observar se o valor do diâmetro médio dos glóbulos de gordura se enquadra com os valores da literatura, para que seja possível validar esse método. A figura 27 revelou que a gordura está entre os diâmetros de 2,0 e 2,5 μm , o que se é totalmente esperado conforme estudado anteriormente.

Tabela 3 - Parâmetros do ajuste da função de decaimento de potência (Eq. 13)

Diâmetro (μm)	A	b_{mie}
1,5	0,22	3,31
2,0	0,43	2,46
2,5	0,75	1,76
3,0	1,16	1,20

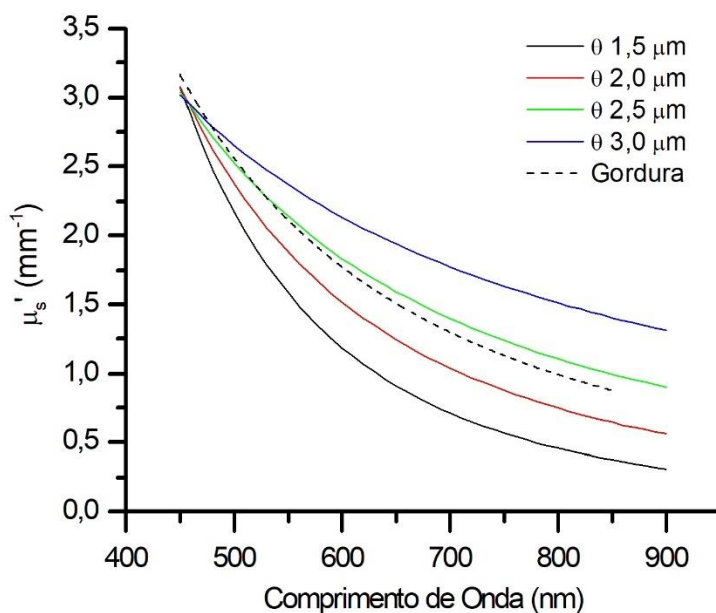


Figura 27 - Comportamento μ_s' de em relação ao diâmetro.

A partir dos resultados já vistos, foi possível verificar que as medidas ópticas se tornam cada vez mais atrativas e revelam valores significativos e com boa precisão. Além do fato que na aplicação não há adição de nenhum reagente, agregando ainda

mais relevância no método. Dessa forma, ainda existem mais algumas análises que podem ser feitas através de propriedades ópticas.

Dando seguimento no estudo, foi preciso fixar um valor de comprimento de onda, para se obter os próximos resultados. A condição imposta foi avaliar o comportamento de μ_s' em um comprimento de onda de 575,1 nm. Esse valor foi decido por um ponto onde observou-se um alto coeficiente de espalhamento reduzido e um mínimo significativo do coeficiente de absorção.

É importante lembrar que os fatores que afetam μ_s' 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 μ_s' . Isso ocorre porque o feixe de luz sofre muitos 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.

Sendo o leite uma dispersão coloidal de proteínas e uma emulsão de gordura em uma solução aquosa com outros compostos, são principalmente os glóbulos de gordura 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, 1999).

O teor de matéria é o que diferem os leites comerciais e, essa gordura no leite se encontra como pequenos glóbulos contendo principalmente triacilgliceróis (Figura 28), 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).

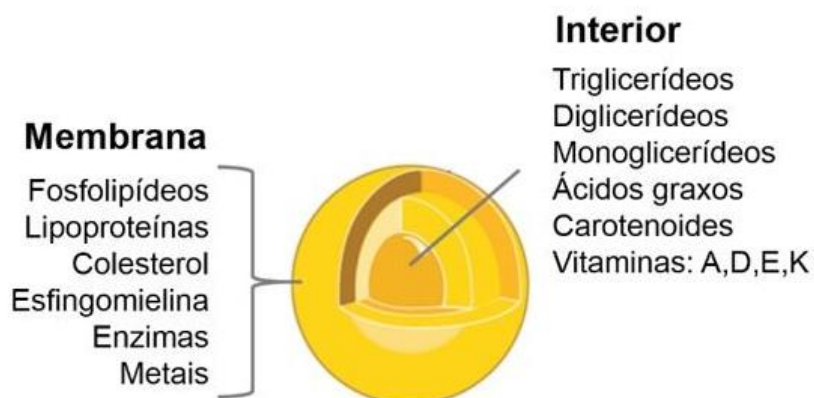


Figura 28 – Representação da estrutura e composição de um glóbulo de gordura.

Dessa forma, entende-se que o coeficiente de espalhamento reduzido é resultado do espalhamento da luz, especificamente, pelos glóbulos de gordura. No comprimento de onda especificado, de 575,1 nm, a relação estabelecida entre o teor de gordura (x) e μ_s' foi representado pela equação 14, com um coeficiente quadrático de 0,99967.

$$\mu_s' = 1,198 + 0,631x \quad (\text{Eq. 14})$$

Assim, existe um valor característico para cada tipo de leite, conforme a Tabela 4. Nota-se que o valor de μ_s' tende a aumentar com a porcentagem de matéria gorda presente em cada tipo de leite, devido a diferença de quantidade de glóbulos de gordura. Partindo do leite desnatado (máximo de 0,5%), semidesnatado (entre 0,6 e 2,9%) até o leite integral (mínimo de 3%).

Tabela 4 - Valores característicos de μ_s' determinado cada tipo de leite em 575,1 nm.

Tipo de leite	Gordura (%)	$\mu_s' \pm 0,035 \text{ (mm}^{-1}\text{)}$
Desnatado	$\leq 0,5$	1,5
Semidesnatado	0,6 – 2,9	1,6 – 3,0
Integral	≥ 3	3,1

A partir do valor médio de cada tipo de leite, a maneira prática de se utilizar esse conhecimento para caracterizar o leite que deverá ser analisado, se encontra na Figura 29. Sabendo dos limites do teor de gordura de cada leite, qualquer amostra que apresentar $\mu_s' \leq 1,5 \text{ mm}^{-1}$, será classificado como leite desnatado. Quando o valor de μ_s' estiver dentro do intervalo de 1,6 a $3,0 \text{ mm}^{-1}$, essa amostra de leite terá a classificação de leite semidesnatado. Por fim, o leite terá a classificação de leite integral, quando apresentar um $\mu_s' \geq 3,1 \text{ mm}^{-1}$. Vale ressaltar que todas essas análises são válidas para a condição do leite em temperatura ambiente.

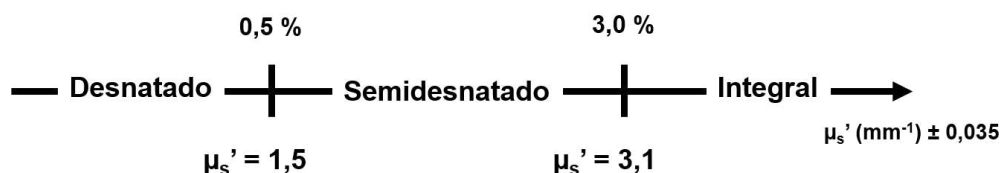


Figura 29 - Classificação do leite a partir do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s').

Levando em consideração a parte prática da técnica, a utilização do fantoma entra para evitar erros na questão de valor característico de cada leite. Como visto, os fantasmas feitos de silicone se mantêm estáveis e isso se torna muito importante, pois a leitura fornecida por esse objeto simulador é a chave para se obter os valores característicos em qualquer equipamento que possa gerar dados de transmissão e reflexão.

A partir dos valores obtidos na Tabela 4, foi realizado a busca de cada fantoma para representar o limite entre o teor de gordura dos leites. Com isso, foi necessário produzir alguns fantasmas com diferentes massas de TiO_2 (Figura 30), conforme a Tabela 2, para obter a relação entre μ_s' e TiO_2 .



Figura 30 - Fantasmas produzidos com PDMS, TiO_2 e catalizador a temperatura ambiente.

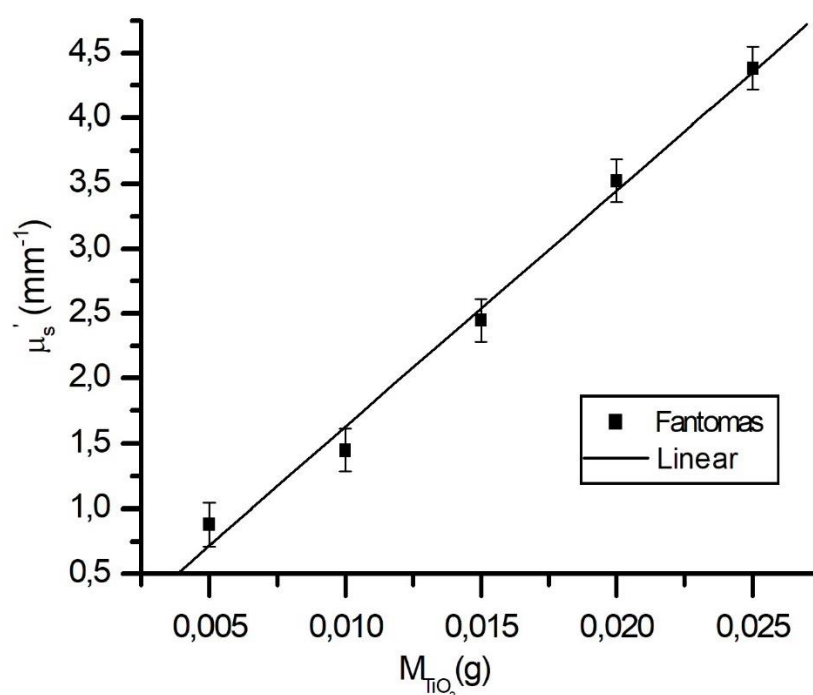


Figura 31 - Ajuste linear do coeficiente de espalhamento reduzido (μ_s') em relação a concentração de TiO_2 dos fantasmas.

A partir da relação encontrada de μ_s' e TiO_2 , com R^2 de 0,99562, mostrada pela Equação 14, foi possível se obter a massa necessária do agente espalhador para confeccionar os fantasmas que representam os limites de classificação para o leite. É importante ressaltar que se fez necessário apenas a construção de apenas 2 fantasmas (Tabela 5), pois são a partir desses 2 valores que se obtém as três possibilidades de classificação do leite.

$$\mu_s' = -0,190 + 181,80M_{TiO_2} \quad (\text{Eq. 14})$$

Tabela 5 - Concentração de TiO_2 necessária para a produção dos fantasmas.

Leite	μ_s' (mm ⁻¹)	MTiO2 (g)
Desnatado	1,5	0,009
Integral	3,1	0,018

Com os fantasmas produzidos na concentração de TiO_2 correta para representar cada tipo de leite, é possível ler esse valor com a mesma precisão anos depois. Pois o material base, o PMDS, é muito estável e não ocorre degradação com o passar no tempo. Além de que, não há reação entre os componentes do fantoma, ou seja, com o TiO_2 e o catalisador.

Assim, essa técnica fica viável para ser realizada, não somente pela esfera integradora, mas por outro instrumento que imprima como resultado μ_s' a partir da captação de dados de reflexão e transmissão.

Com esses fantasmas, não é necessário fazer a caracterização de cada leite em outro equipamento, pois os valores lidos dos fantasmas e impressos pelo instrumento já equivale a essa etapa. Apenas esses valores são necessários para a montagem da faixa de classificação do leite e conhecer qual o percentual de gordura da amostra desejada.

Tendo em vista a parte prática e usual dessa nova proposta de análise de teor de gordura no leite, na indústria é viável utilizá-la depois na padronização. No caso, recolhe-se uma pequena amostra no final desse processo para verificar qual o novo teor de gordura do leite e verificar se está dentro do desejado.

Uma proposta futura que facilite ainda mais esse tipo de análise, é tabelar valores de μ_s' para os dados de transmissão e reflexão da amostra, com as devidas especificações de caminho óptico previamente estabelecidas (normalmente uma cubeta de vidro de 1 mm) e temperatura. Assim, a técnica fica mais simples de ser empregada, visto que não será necessário um software para processamento de dados. Com isso, será quantificado a porcentagem de gordura presente na amostra.

5.2.2. Método de Imagem no Domínio ou Frequência Espacial (SFDI)

Outra metodologia que se mostrou interessante para a caracterização do leite, foi identificar μ_s' através de imagem, utilizando o SFDI. A partir das análises das fotos, Figura 22, as imagens dos ângulos de 120° e 240° foram semelhantes à de 0° , não havendo a necessidade da repetição das fotos. Um fator importante para a frequência, que quando se altera esse valor, trabalhamos com a profundidade da amostra. Nesse caso, não temos uma profundidade significativa da amostra e os valores com as

diversas frequências também foram semelhantes. Foi estabelecido então trabalharmos apenas com a frequência de referência de 0 mm^{-1} e a frequência de $0,05\text{ mm}^{-1}$ para a geração de resultados.

Importante ressaltar, que nessa técnica foi possível validar sua utilização mediante ao comprimento de onda de 650 nm . Nesse ponto, o método SFDI revelou excelentes resultados, não só para as amostras de leites, como também para os fantasmas.

Seguindo o mesmo raciocínio do método anterior, se obteve a relação do coeficiente de espalhamento reduzido e a gordura presente em cada tipo de leite (Figura 32). O valor característico de cada leite (μ_s') através do SFDI foi $0,596 \pm 0,529\text{ mm}^{-1}$ para o integral, $0,416 \pm 0,037\text{ mm}^{-1}$ para o semidesnatado e $0,301 \pm 0,019$ para o desnatado. A análise estatística mostrou que os valores não se sobrepõem e que são diferentes entre si, através do método de Tukey.

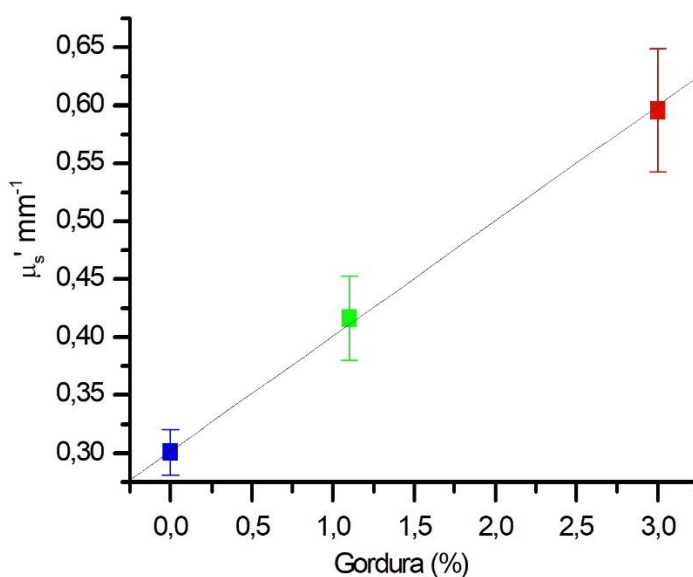


Figura 32 - Relação entre coeficiente de espalhamento reduzido e porcentagem de gordura para o leite desnatado (■), semidesnatado (■) e integral (■), com o ajuste linear.

A relação encontrada está descrita pela Equação 15, com R^2 de $0,99956$ e x representando a porcentagem de gordura no leite. Para esse equipamento, a faixa de classificação do leite ficou estabelecida conforma a Figura 33.

$$\mu'_s = 0,302 + 0,099x \quad (\text{Eq.15})$$

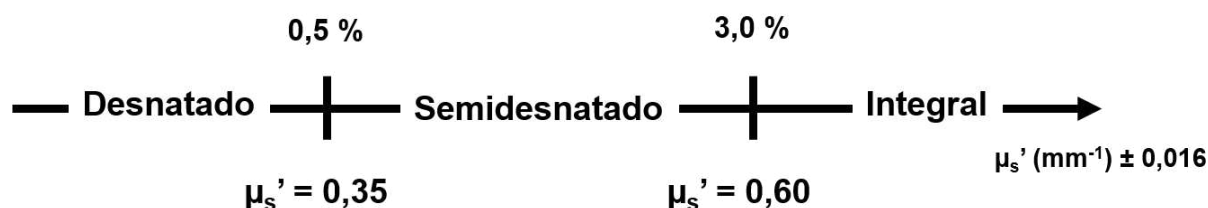


Figura 33 - Faixa de classificação para o leite, utilizando o método SFDI.

Para ser possível a utilização dos fantasmas nesse método, foi preciso realizar fantasmas com massas de TiO_2 diferentes do que ao que foi utilizado na esfera integradora. Isso ocorre porque nesse tipo de análise foi abrangido resultados a partir de pixels, feitos por meio de imagens, que se difere da esfera integradora que capta medidas de transmissão e reflexão da amostra. Assim, conforme a Figura 34 e a Equação 16 ($R^2=0,9965$), foi preciso utilizar fantasmas com massa de $6,45 \times 10^{-3} \text{ g}$ e $5,18 \times 10^{-2} \text{ g}$ para estabelecer o limite de 0,5 e 3,0% de gordura.

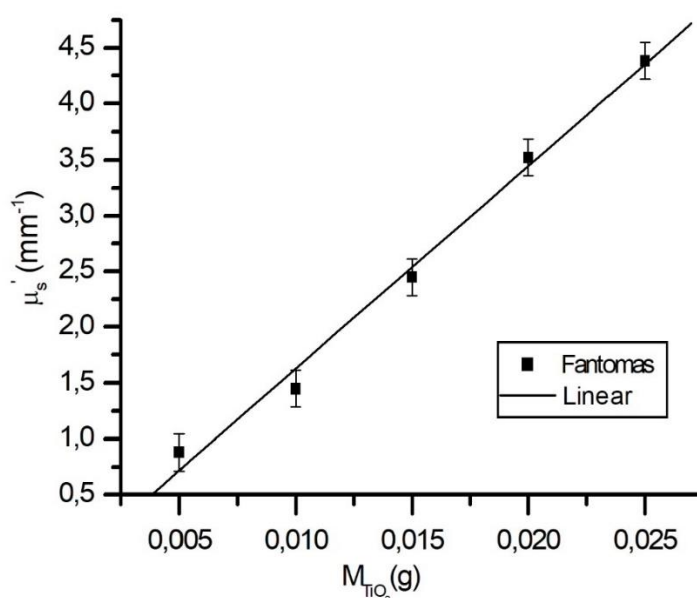


Figura 34 - Relação do coeficiente de espalhamento reduzido e da massa de dióxido de titânio.

$$\mu'_s = 0,144 + 55,141x \quad (\text{Eq.15})$$

Com isso, fica claro que as propriedades ópticas são muito eficientes em realizar as análises de caracterização do leite em relação ao teor de gordura por esses instrumentos ópticos utilizados, como a esfera integradora e o método SFDI. É uma técnica que pode ser aprimorada e ajustada para ser realizada em outro equipamento, podendo ainda sim, ser testada em outras matérias-primas.

Ficou evidente que é um método seguro, de resposta rápida e que pode ser inserido facilmente em uma linha de processos. Uma das grandes vantagens de utilização das medidas ópticas se deve ao fato de não ser necessário a utilização de nenhum reagente, além de que, esse método pode ser reproduzido com facilidade.

Essa linha de pesquisa vem crescendo bastante, não somente na área alimentícia, como na área da saúde e futuramente podem substituir os métodos clássicos.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo foi capaz de mostrar o comportamento do espectro do leite e verificou-se que se trata de uma substância espalhadora. Com isso, foi possível trabalhar apenas em cima do coeficiente de espalhamento reduzido (μ'_s). Isso faz com que o emprego dessa nova metodologia de classificação do leite, através do seu teor de gordura seja atrativa.

Utilizando as medidas ópticas geradas pela esfera integradora, foi identificado o diâmetro médio dos glóbulos de gordura a partir da equação de decaimento da lei de potência, em uma faixa de 2 a 2,5 μm . Essa análise se encaixa perfeitamente logo após da homogeneização do leite, para verificar se o diâmetro médio medido está no valor desejado.

Através da esfera integradora, foi estabelecido um valor de μ'_s para cada tipo de leite comercial analisado, ou seja, um valor característico. A partir desse valor, foi criada uma faixa para a classificação do leite, podendo ser leite integral, semidesnatado ou desnatado. Essa técnica é ideal de ser aplicada na indústria após

o leite passar pelo processo de padronização e verificar se está dentro do parâmetro desejado de gordura.

O emprego dos fantasmas, abre portas para que o conceito dessa técnica possa ser utilizado em qualquer outro equipamento que retorne como resultado final, μ_s' através dos dados de reflexão e transmissão gerados pela amostra. Cada fantoma produzido exibe o valor ideal para a faixa de classificação e pode ser lido em qualquer lugar, com segurança e confiabilidade do seu valor.

Expandindo o conceito do método anterior, foi possível investigar e validar a caracterização do leite através do uso da técnica e Imagem no Domínio da Frequência Espacial. Da mesma forma do método anterior, foram encontrados valores de μ_s' para de cada leite, $0,596 \pm 0,529 \text{ mm}^{-1}$ para o integral, $0,416 \pm 0,037 \text{ mm}^{-1}$ para o semidesnatado e $0,301 \pm 0,019 \text{ mm}^{-1}$ para o desnatado. Levando em consideração o leite comercial de 0; 1,1 e 3,0% de gordura, respectivamente. Com a relação entre μ_s' e o teor de gordura do leite, foi estabelecida a faixa de classificação para esse método.

As medias ópticas podem ser bastante exploradas, visto que existem ainda poucos estudos na aplicação de μ_s' quando se trata de leite. A partir do aprimoramento da técnica, existe a possibilidade de implantar o método em análises antifraude ou verificar a influência da lactose, quando fixado o leite semidesnatado, para que a variação seja apenas na lactose e não nos glóbulos de gordura.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINLA, A. Valves for Microfluidic Devices. Chalmers University of Technology. Gotemburgo, Suécia, 2008.

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. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite. Diário Oficial da União, Brasília, Seção 1, dez. 2011.

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

CASTANHEIRA, A. C. G. Controle de Qualidade de Leite e Derivados: manual básico comentado. São Paulo: Cap-Lab, 2012. 368p.

COSTA, R. G.; RIBEIRO, N. L., AZEVEDO, D. K. R. de; MEDEIROS, A. N. de. Morfometria dos glóbulos de gordura do leite de ruminantes: Revisão. Revista Científica de Produção Animal. v.23, n.1, p.13-19, 2021 - DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/2176-4158/rcpa.v23n1p13-19>

CUCCIA, D. J.; BEVILACQUA, F.; DURKIN, A. J.; AYERS, F. R.; TROMBERG, B. J. Quantitation and mapping of tissue optical properties using modulated imaging. Journal of Biomedical Optics, Vol.14 No.2, California, 2009.

DÖGNITZ, N.; WAGNIÈRES, G. Determination of tissue optical properties by steady-state spatial frequency-domain reflectometry. Lasers in Medical Science, v. 13, n. 1, p.55–65,1998. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/42/5/005>

DURR, J.W.; FONTANELLI, R.S.; BURCHARD, J.F. Fatores que afetam a composição do leite. In: KOCHANN, R.A.; TOMM, G.O.; FONTANELLI, R.S. Sistemas de produção de leite baseado em pastagens sob plantio direto. Passo Fundo: Embrapa, 2000, 135-156.

EMBRAPA. Anuário Leite 2022: pecuária leiteira de precisão. Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite, 2022.

FAO - Food and Agriculture Organization. Gateway to dairy production and products, 2017.

FILATOVA S. A.; SHCHERBAKOV, I. A.; TSVETKOV, V.B. Optical properties of animal tissues in the wavelength range from 350 to 2600 nm, J. Biomed. Opt. 22(3), 2017. doi: 10.1117/1.JBO.22.3.035009.

FOROUTAN, A.; GUO, A. C.; VAZQUEZ-FRESNO, R.; LIPFERT, M.; ZHANG, L.; ZHENG, J.; BADRAN, H.; BUDINSKI, Z.; MANDAL, R.; AMETAJ, B. N.; WISHART, D. S. Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67 (17), 4897-4914, 2019. doi: 10.1021/acs.jafc.9b00204

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

GONZÁLEZ, F. H. D., Composição Bioquímica do leite e hormônios da lactação. In. GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

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

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

JAKUES, S. L. Optical properties of biological tissues: a review. Physics in Medicine & Biology. 58(11), R37, 2013. 10.1088/0031-9155/58/11/R37

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

LAMOUCHE, G. et al. Review of tissue simulating phantoms with controllable optical, mechanical and structural properties for use in optical coherence tomography. *Biomedical optics express*, v. 3, n. 6, p. 1381–1398, 2012. <https://doi.org/10.1364/BOE.3.001381>

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.

MATA, A.; FLEISCHMAN, A.J.; ROY, S. Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) Properties for Biomedical Micro/Nanosystems. *Biomed Microdevices* 7, 281–293, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10544-005-6070-2>

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.

MOFFITT, T.; CHEN, Y.-C.; PRAHL, S. A. Preparation and characterization of polyurethane optical phantoms. *Journal of biomedical optics*, v. 11, n. 4, p. 41103, 2006. <https://doi.org/10.1117/1.2240972>

MONTE, A. F. G. et al. Mapping and quantification of gold nanoparticles in tissue simulating phantoms using spatial frequency domain imaging. *Optics InfoBase Conference Papers*, v. Part F123-, p. 3–4, 2018. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/42/5/005>

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.

POGUE, B. W.; PATTERSON, M. S. Review of tissue simulating phantoms for optical spectroscopy, imaging and dosimetry. *Journal of Biomedical Optics*, v. 11, n. 4, 2006.

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.

REIS, A. F. dos. Estudo de fantasmas e tecidos biológicos por meio de mapas de absorção e espalhamento ópticos obtidos pela técnica de imagem no domínio da frequência espacial. 2019. 166 f. Tese Doutorado em Física - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2019.2245>

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

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

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

TUCHIN, V. V. Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis, Vol. 642, SPIE Press, Bellingham, Washington, 2015. <https://doi.org/10.1117/3.1003040>.

VÉLEZ, M. A.; HYNES, E. R.; MEINARDI, C. A.; WOLF, V. I.; PEROTTI, M. C. Cheese milk low homogenization enhanced early lipolysis and volatiles compounds production in hard cooked cheeses. *Food Research International*, v. 96, p. 215-225, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.011>

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

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

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