

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS
PARA ENGENHARIA

Sensor Óptico para Análise da Qualidade do Leite

Samuel Rezende Bustamante

Itajubá, março de 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATERIAIS
PARA ENGENHARIA

Samuel Rezende Bustamante

Sensor Óptico para Análise da Qualidade do Leite

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Materiais para Engenharia.

Área de Concentração: Não Metais.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Antônio Alencar de Queiroz.

Março de 2020,

Itajubá

A Deus, sei que sempre fez e sempre fará o que for melhor para mim e por isso trabalho para Ele.

Agradecimentos

Agradeço a minha família por me ensinar que todo esforço será recompensado. Ao meu orientador pelo apoio e confiança. Agradeço aos produtores de leite que me receberam em suas fazendas, dentre eles os amigos da fazenda Charco. Em especial a Mayara, meu amor, por ter me incentivado e inspirado do começo ao fim desse trabalho.

Resumo

Com o aumento das medidas de controle sanitário do leite cresce a obrigatoriedade do produtor de leite em controlar a qualidade de sua produção. Juntamente com o controle de qualidade, o produtor rural tem dificuldade para obter informações práticas e confiáveis sobre qualidade do leite do seu rebanho e assim adequar a dieta dos animais. Com a dieta personalizada é possível aumentar o tempo de vida produtiva de suas vacas, a eficiência da alimentação e a valorização do seu leite. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver um sensor prático e rápido para o monitoramento da taxa de gordura do leite cru. Através de estudos das propriedades físicas e químicas das principais características analíticas do leite com interesse ao mercado, notou-se que em amostra de leite os glóbulos de gordura apresentavam absorção significativa do espectro infravermelho. Com isso, foi desenvolvido um dispositivo que opera no comprimento de onda sensível a gordura do leite, irradiando a amostra à ser analisada e, simultaneamente, fazendo a medição da absorção da irradiação pela amostra. A validação do dispositivo criado foi feito através do método analítico, ajustando a curva da taxa de gordura do sensor desenvolvido e comparando com resultado obtido pela medição no butirômetro de Gerber. O processo de validação do dispositivo mostrando-se adequadamente linear com $R^2=0,994$, boa precisão para teor de gordura de 1%, 2% e 3%, com exatidão de 96,4 % para teor de gordura de 1%, 98,2% para teor de gordura de 2,5% e exatidão 99,7% para concentração de gordura de 3,5%. Existindo a possibilidade de ser de utilizado futuramente em campo.

Abstract

With the increase in milk sanitary control measures, the obligation of the milk producer to control the quality of its production grows. Along with quality control, rural producers find it difficult to obtain practical and reliable information on the quality of their herd's milk and thus adapt it to the animals' diet. With the personalized diet, it is possible to increase the productive life of your cows, the efficiency of feeding and the valorization of your milk through the increase of quality. In this context, the present work aims to develop a practical and fast sensor for monitoring the fat rate of raw milk. Through studies of the physical and chemical properties of the main analytical characteristics of milk of interest to the market, it was noted that in milk sample the fat globules showed significant absorption of the infrared spectrum. With this, a device was developed that operates on the wavelength sensitive to milk fat, irradiating the sample to be analyzed and simultaneously measuring the absorption of irradiation by the sample. The validation of the created device was done through the analytical method, presenting the linearity of the measurement of the fat content similar to the measurement method in the Gerber. The device validation process shows a linear change with $R^2 = 0.994$, good accuracy for 1%, 2% and 3% fat content, with 96.4% accuracy for 1%, 98.2% fat content for 2.5% fat content and 99.7% accuracy for 3.5% fat concentration. There is the possibility of being used in the field in the future.

Lista de Ilustrações

Figura 1 - Espectro NIR em amostras de leite cru

Figura 2 - Datasheet TIL32 e TIL78.

Figura 3 - LED TIL32

Figura 4 - LED TIL78

Figura 5 - Diagrama do circuito elétrico do sensor.

Figura 6 - Desenho do circuito impresso.

Figura 7 - Descrição dos componentes do circuito.

Figura 8 - Posição da célula de vidro.

Figura 9 - Conexões de entrada e saída.

Figura 10 - Butirômetro de Gerber ilustrando a determinação do teor de gordura do leite UHT pelo método químico.

Figura 11 - Validação do sensor óptico projetado nesse trabalho utilizando os dados da butirometria.

Figura 12 - Análise da repetitividade do sensor óptico na determinação do teor de gordura (%) no leite UHT.

Figura 13 - Ensaio de precisão intercorrida para o leite UHT com teor de gordura igual a 1,8% no primeiro e terceiro dias e leite UHT com teor de gordura igual a 3,5% no terceiro e quarto dias distintos.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Tabela de custos de análise – Proposta de Parceria – Fazendas F13
PO GR 001-3

Lista de Abreviaturas e Siglas

ISO – *International Organization for Standardization*

USP/ESALQ – Universidade de São Paulo/ Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

IR – *Infra-Red*

CGAL/MAPA – Coordenação Geral de Apoio Laboratorial/ Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

IN-62 – Instrução Normativa número 62

CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

LED – *Light-Emitting Diode*

UV – Ultra Violeta

LCD – *Liquid Crystal Display*

BODIPY – *Boron-dipyrromethene*

DOFL – *Diversity-Oriented Fluorescence Library*

V – Tensão

R – Resistência

PWM – *Pulse Width Modulation*

USB – *Universal Serial Bus*

ICSP – *In Circuit Serial Programming*

UHT – *Ultra High Temperature*

H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico

Lista de Símbolos

cm – centímetro

μs – microssegundo

nm – nanometro

β – beta

m – metro

μm – micrómetro

pH – potencial hidrogeniônico

cm² – centímetro ao quadrado

mg/mL – miligrama por mililitro

mol – mole

g – grama

mm – milímetro

V – volts

Ω – ômega

mA – um milésimo de ampère

MHz – megahertz

rpm – rotação por minuto

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Análise da qualidade do leite	11
1.2 Sensores para auto monitoração do leite.....	11
1.3 Motivação para o desenvolvimento do trabalho	14
1.4 Objetivo	15
1.5 Apresentação da dissertação	15
2- FUNDAMENTAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	17
2.1 Composição química do leite	17
2.2 Análise do leite no laboratório de controle de qualidade	17
2.3 Espalhamento de luz e concentração de gordura no leite	20
2.4 Sensores para a qualidade do leite	21
2.4.1 Sensores ópticos em diversas áreas	22
3- ASPECTOS FÍSICOS DA INTERAÇÃO DA LUZ COM O LEITE E SUA RELAÇÃO COM O PROJETO DO SENSOR ÓPTICO.....	25
3.1 Modelagem do sensor óptico.....	25
3.2 Projeto dos dispositivos ópticos	27
4- MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.1 Construção do sensor óptico.....	32
4.2 Coleta e preparação das amostras de leite	35
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 Linearidade	38
5.2 Precisão quanto à repetibilidade	39
5.3 Precisão intermediária	40
5.4 Exatidão	41
6- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	43
7- REFERÊNCIAS	44

1- INTRODUÇÃO

1.1 Análise da qualidade do leite

Com o aumento de fazendas leiteiras e da produção de leite, os requisitos de qualidade aumentaram devido a maior concorrência. Houve também um deslocamento da mão de obra para as cidades e conseqüente diminuição da mão de obra disponível no campo, além de um aumento considerável no uso de sistemas automatizados de ordenha. Baseado nesses fatores, é visto a necessidade de se criar uma forma de monitoramento automático da saúde da vaca e da qualidade do leite. [1]

O leite produzido pela vaca apresenta informações importantes sobre a saúde da vaca, como o seu estado metabólico, nutricional e infeccioso, pois envolve interação com a circulação sanguínea. Com essas informações, torna-se possível adequar a dieta da vaca buscando um desempenho ótimo que, além da saúde do animal, agrega valor econômico ao leite produzido à medida que se eleva a sua qualidade. [2]

Um meio que apresenta grande eficiência no monitoramento da saúde da vaca leiteira e o aumento da qualidade do leite produzido é através da realização da análise regular do leite, que pode ser feita de modo online pela medição dos seus componentes, como a gordura, proteína, lactose, entre outros, no decorrer da ordenha. [2]

Historicamente, um papel tradicional para os seres humanos na ordenha é detectar o leite mastítico através da detecção de coágulos, alterações comportamentais e úberes inchados ou aquecidos. Com a inclusão de tecnologias acessíveis para medição da qualidade do leite durante a ordenha, o processo de identificação da mastite e conseqüentemente seu tratamento torna-se mais ágil. A ordenha robótica, padronizada pela ISO 20966, requer tecnologia de sensor para obter os mesmos resultados. [1]

1.2 Sensores para auto monitoração do leite

O método tradicional de detecção de gordura do leite (método de Gerber) é composto de muitos procedimentos, incluindo desestabilização de moléculas de gordura (triglicerídeos) pela mistura de leite com ácido sulfúrico, separação dos ácidos graxos da fase aquosa por centrifugação e medição volumétrica das camadas de ácidos graxos hidrofóbicos usando um butirômetro. Este método não é muito viável por apresentar manuseio complicado, uso inevitável de produtos químicos corrosivos tóxicos e um alto custo. [3]

Há equipamentos que utilizam a absorvância infravermelha de vibrações de ligações específicas disponíveis no mercado, no entanto, seu custo e configuração sofisticada impedem sua prevalência em regiões com recursos limitados. [3]

Há duas maneiras confiáveis de detectar a concentração de gordura, proteína e lactose do leite em laboratório, sendo elas a análise espectroscópica visível e a infravermelha próxima. Estas análises baseiam-se na absorção da radiação, dependente do comprimento de onda, pelos constituintes do leite. [2]

Atualmente, essa tecnologia está sendo utilizada por indústrias em sistemas de ordenha, no entanto ainda apresenta falhas em relação a sua precisão e robustez. Isso ocorre, principalmente, porque os sinais espectrais medidos, próximos à absorção, são influenciados significativamente pelas propriedades físicas do leite em relação à quantidade e tamanho dos glóbulos de gordura e micelas. [2]

Os índices de refração da gordura do leite e das micelas são diferentes dos índices do soro do leite, com isso a radiação desvia sua trajetória retilínea, aumentando até um grau desconhecido o seu trajeto. Há assim, dificuldades na previsão da composição do leite a partir de espectros medidos. [2]

Como opção para reduzir o problema de espalhamento da radiação nesta tecnologia, pode ser realizada a homogeneização dos glóbulos de gordura presentes na amostra de leite, produzindo uma distribuição de tamanho de glóbulo de gordura mais uniforme. Porém, a etapa de homogeneização demonstra um caráter destrutivo, apresenta um alto consumo de energia e desgaste significativo, fazendo com que não seja desejada em análises online na fazenda. [2]

Como alternativa, é possível reduzir a dispersão de luz com métodos empíricos ou modelos de espalhamento simplista. Todavia, essas técnicas são viáveis apenas para amostras com propriedades de absorção e espalhamento próximas às utilizadas no procedimento de calibração. [2,4]

A quantidade e tamanho dos glóbulos de gorduras e micelas para diferentes amostras de leite apresentam grandes variações e, por consequência, grandes variações nas propriedades de espalhamento. Dessa forma, não é possível utilizar apenas um modelo de calibração empírica. Portanto, técnicas mais avançadas são necessárias para remover a interferência de espalhamento dos espectros da análise espectroscópica visível e da infravermelha próxima. A separação precisa das propriedades de absorção e espalhamento reduziria a necessidade de correções de dispersão empíricas e promoveria uma previsão robusta da composição da amostra. [2,4]

A absorção pura é definida como o coeficiente de absorção a granel μ_a (cm^{-1}), que representa a probabilidade de absorção por unidade de comprimento de caminho infinitesimal a um comprimento de onda de radiação específica, e se relaciona diretamente com a composição da amostra em questão de acordo com a Lei de Lambert-Beer, que é o fundamento da espectrofotometria, relacionando a absorção de luz com as propriedades do material transpassado por ela. [4]

Já o espalhamento é definido como o coeficiente de dispersão μ_s (cm^{-1}), que representa a probabilidade de dispersão por unidade de dimensão infinitesimal a um comprimento de onda de radiação característica, sendo também conhecida pelo seu cosseno médio (o fator de anisotropia de espalhamento). [4]

As propriedades de dispersão são definidas pelas propriedades físicas de microestrutura de amostra. Referente ao leite, esta relação se dá principalmente com a quantidade e o tamanho dos glóbulos de gordura e micelas suspensas. [4]

Essas propriedades estão ligadas diretamente com as características físico-químicas, funcionais e sensoriais do leite, dessa forma, são importantes parâmetros de qualidade. [4]

O projeto de um sensor ideal para tal medição depende das propriedades de absorção e espalhamento das amostras a serem medidas por um procedimento de otimização iterativo, visto que os sinais medidos são determinados pelas propriedades ópticas em massa da amostra. [2]

A configuração do sensor que apresenta maior potencial para determinar a composição do leite e suas propriedades físicas, como a distribuição da dimensão dos glóbulos de gordura e micelas, é aquela capaz de separar robustamente as propriedades de absorção e espalhamento. [2]

Para aperfeiçoar o projeto de sensor, é necessário simular uma série de espectros coletados para cada configuração e para a faixa de propriedades ópticas em massa obtidas em amostras de leite. Com isso, é possível definir que o potencial de cada configuração de sensor é a capacidade de extrair as propriedades ópticas em massa dos sinais coletados após adicionar ruído típico para um espectrômetro. [2]

Como há uma relação entre a qualidade do leite e a saúde da vaca, esse sensor é capaz de aprimorar o manejo de laticínios na fazenda, possibilitando a adequação da dieta do rebanho, buscando não apenas melhorar a saúde dos animais, mas também a qualidade do leite, sendo estes dois fatores essenciais para a economia do produtor de leite. [2]

Em um estudo realizado por [5], foi analisado detalhadamente a influência nas propriedades de dispersão pela variação da dimensão dos glóbulos de gordura pela análise

espectroscópica visível e a infravermelha próxima. Neste estudo, também foi determinado, que com a redução do tamanho dos glóbulos de gordura, há uma maior dependência do comprimento de onda, tanto do coeficiente de dispersão quanto do fator de anisotropia de espalhamento.

Para a análise detalhada da absorção e espalhamento do leite cru é necessário que se realize medições na faixa de 550 a 1.900nm do comprimento de onda, pois abaixo de 550nm os principais componentes do leite não possuem bandas de absorção relevantes, enquanto acima de 1.900nm a água é um absorvedor muito forte, resultando em níveis muito baixos de sinal ruído para este tipo de medição óptica. [2]

1.3 Motivação para o desenvolvimento do trabalho

Devido a sua composição, o leite é estimado por ser um dos mais completos alimentos in natura, rico em proteínas, gorduras, carboidratos, sais minerais e vitaminas, fornecendo nutrientes essenciais e proteção imunológica para o recém-nascido. O leite oferece nutrientes anticarcinogênicos, encontrados na gordura, como vitaminas A e D, o ácido linoléico conjugado, ácido butírico, esfingomielina, β caroteno. [6]

Apesar de todos os benefícios nutricionais, atualmente no Brasil, a condição da matéria prima é um dos grandes obstáculos a ampliação e estabilização da indústria láctea no Brasil. Via de regra, o acompanhamento e controle da qualidade do leite, desde os anos 90, tem se limitado à prevenção de adulterações do produto pré-industrializado, baseado no percentual de gordura, determinação da acidez, do índice crioscópico, da densidade e do percentual de extrato seco desengordurado. [6]

Embora haja dificuldades no controle da qualidade, a produção nacional está localizada em quarto lugar do Ranking Mundial dos Países Produtores de Leite, atrás apenas dos Estados Unidos, Índia e China. [8]

A produção de leite no Brasil possui potencial para continuar crescendo a uma taxa anual de 2,1 a 3,0% até o ano de 2027. Sendo assim, a produção que recentemente foi de 34,5 bilhões de litros de leite por ano poderá atingir entre 45,0 bilhões de litros podendo chegar a 48,0 bilhões de litros. [8]

O fator responsável pelo crescimento da produção de leite, é a intensificação do uso de novas tecnologias em todo seu processo. Essa modernização se torna mais evidente em fornecedores de grande e de médio porte. A indústria láctea também acompanha esta evolução, impondo no setor leiteiro um maior dinamismo e competitividade. [8]

Com o aumento da produção e adesão de novos métodos tecnológicos cresce a atenção do mercado para o acompanhamento da qualidade físico-química e microbiológica do leite. A estrutura de atendimento da usina de beneficiamento ou da indústria segue normas de qualidade, que constituem-se no procedimento de rotina do beneficiamento do leite, com o objetivo de garantir a saúde da população. [9]

Através de análises físico-químicas de amostras do leite é possível constatar sua qualidade, comprovar se os controles de higiene durante a produção e transporte foram realizados corretamente. É também possível comprovar a adulteração da matéria prima, caso haja a adição de conservantes e, por fim, utilizar as análises como base para se calcular o rendimento dos processos de beneficiamento do leite. Com o objetivo de incentivar o produtor, que produz leite com melhor qualidade no Brasil, a maioria das indústrias utiliza o pagamento por qualidade físico-química. [9]

Por último, parte da motivação para esse trabalho se deve ao meu histórico familiar. Sou neto e sobrinho de produtores de leite. A primeira fazenda que visitei foi a da minha família, em sequência visitei 7 fazendas no sul de Minas, em cinco cidades diferentes.

Saindo do laboratório e realizando parte desse trabalho em campo, percebi o grande potencial que uma tecnologia prática e acessível de monitoramento da qualidade do leite tem de beneficiar o empreendimento dos produtores de leite.

1.4 Objetivo

Este trabalho tem como objetivo principal o desenvolvimento de um protótipo de laboratório de sensor para a análise da qualidade do leite baseado em princípios ópticos.

1.5 Apresentação da dissertação

A dissertação está estruturada em 7 capítulos.

1. O Capítulo 1 introduz as tecnologias do chip para o desenvolvimento dos sensores desenvolvidas até então para a análise do controle de qualidade do leite. Também é apresentado nesse capítulo o objetivo da dissertação.
2. O Capítulo 2 traz a fundamentação científica dos sensores para a qualidade do leite, com particular destaque para os sensores ópticos.
3. O Capítulo 3 apresenta o projeto de engenharia do dispositivo que foi desenvolvido para a análise da qualidade do leite. As propriedades características dos materiais utilizados

e os métodos de fabricação serão discutidos nesse capítulo, em particular, os sensores ópticos.

4. O Capítulo 4 detalha a construção dos dispositivos sensores e ópticos com ênfase aos materiais utilizados.
5. O Capítulo 5 mostra os principais resultados obtidos com o protótipo. Diferentes concentrações de substâncias específicas no leite foram medidas e a funcionalidade do protótipo desenvolvido foi verificada.
6. As conclusões e as perspectivas futuras dessa dissertação são apresentadas no Capítulo 6.

A dissertação foi redigida utilizando a “Normas para Apresentação de Dissertação de Mestrado e Tese de Doutorado” da Universidade Federal de Itajubá Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, estando as referências bibliográficas de acordo com a norma em referência.

2- FUNDAMENTAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Este capítulo trata-se de uma revisão dos conceitos fundamentais deste trabalho. Portanto, são apresentados a bioquímica do leite e os principais métodos de seu controle de qualidade. Também são apresentados os biossensores encontrados na literatura e as patentes relativas à análise do leite, com especial ênfase aos princípios físicos das técnicas desenvolvidas até esse momento.

2.1 Composição química do leite

O leite obtido pela ordenha de vacas saudáveis contém em sua composição uma média de 8,25% de sólidos sem gordura e 3,25% de gordura. [7]

O leite consiste em água, lipídios, carboidratos, proteínas, sais e vários outros constituintes, podendo conter até 105 tipos de moléculas diferentes. Os constituintes se enquadram em quatro categorias, sendo elas: [10]

1. Órgão e espécie específicos - muitas proteínas e lipídios.
2. Órgão, mas não espécie específica - lactose.
3. Espécie, mas não órgão específico - algumas proteínas.
4. Órgão e espécie não específicos - água, sais, vitaminas.

Esta é “a composição média do leite normal”, não levando em consideração fatores como a criação do animal, o ambiente, alimentação e manejo do mesmo, que podem causar variações na composição. [5,7]

2.2 Análise do leite no laboratório de controle de qualidade

Uma maneira viável para obter um aumento considerável do lucro na produção leiteira é aumentar não apenas a vida útil da vaca, mas também a quantidade e a qualidade do leite produzido. Para que seja possível alcançar estes três incrementos é necessário uma prevenção efetiva das doenças ocasionadas nas vacas leiteiras. [2]

A DPA (Dairy Partners Americans) é uma empresa constituída pela parceria entre as duas maiores empresas do mercado lácteo atual no Brasil, a Fonterra e a Nestlé. A DPA criou o Sistema de Valorização do Leite (SVL), uma metodologia simples que possibilita um reconhecimento, financeiro, dos produtores de leite que apresentam melhores resultados.

Através desta remuneração diferenciada, os fornecedores que alcançam elevados índices de qualidade são mais contemplados. [11]

Com o início do Sistema de Valorização, em 2005, o programa vem mantendo critérios de bonificação para diversos indicadores, como contagem bacteriana total, células somáticas, gordura e proteína, prática esta que passou a ser seguida posteriormente por grande parte do mercado. [11]

Através da análise realizada mensalmente, o produtor pode saber com antecedência qual será o preço mínimo que receberá pelo leite que fornecerá no mês seguinte. Isto permite que o produtor regule a dieta de seu rebanho para melhorar sua remuneração, ou até mesmo efetuar o cálculo da eficiência de seu rebanho leiteiro. [11]

Ao receber a Carta de Informação de Preços, gerada pelo DPA, o produtor será informado também qual será a tendência da variação do adicional de mercado para o período seguinte, podendo ser de um ou dois meses. [11]

Tomando como base para cálculo o preço R\$0,75/litro pago ao produtor, levando em consideração a taxa de gordura no leite, o produtor pode vir a ser punido pelo fator redutor em até -R\$0,52/litro ou bonificado por um fator adicional de até + R\$0,036/litro. Ou seja, uma variação de até 12,5% no valor pago ao produtor. [11]

Em [12], concluíram que a robótica 'fornece informações suficientes para produtores de leite motivados' para atingir os padrões nacionais de qualidade do leite. Os padrões de qualidade do leite para mastite são expressos na contagem de células somáticas (SCC), medida em laboratórios a partir de uma amostra de leite a granel.

No Brasil, o maior laboratório de análise do leite se encontra na cidade de Piracicaba-SP, localizada dentro do campus da USP/ESALQ, chamada Clínica do Leite. A Clínica do Leite atua na gestão e desenvolvimento da pecuária Brasileira, fornecendo análises laboratoriais, na formação de pessoas e também na disseminação de conhecimentos. Trata-se de uma instituição sem fins lucrativos, ligada a uma universidade pública. Assim sendo, segue a tabela de preços das análises do leite retirado de seu portfólio. [13]

Tabela de custos de análise– Proposta de Parceria – Fazendas F13 PO GR 001-3

Determinação	Número de amostras			
	até 20	21 a 100	101 a 500	>500
Contagem de células somáticas (CCS)		R\$ 2,00	R\$ 1,85	R\$ 1,74
Gordura + proteína + lactose + extrato seco desengordurado + sólidos totais	R\$ 4,76	R\$ 1,09	R\$ 1,05	R\$ 0,85
Nitrogênio ureico (NU)	R\$ 5,78	R\$ 2,60	R\$ 2,41	R\$ 2,32
Caseína	R\$ 1,09	R\$ 0,73	R\$ 0,58	R\$ 0,39
Crioscopia***	R\$ 1,92	R\$ 1,34	R\$ 1,16	R\$ 0,96
Contagem bacteriana total (CBT)	R\$ 23,17	R\$ 7,92	R\$ 7,64	R\$ 7,37
Resíduos de inibidores (ATB)***	R\$ 23,08	R\$ 9,56	R\$ 7,42	R\$ 6,36

Os valores acima descritos na “Proposta de Parceria”, segundo a Clínica do leite, representam uma contribuição para manter o funcionamento e a qualidade dos serviços da mesma. A empresa é credenciada junto à CGAL/MAPA para o monitoramento da qualidade do leite previsto na IN-62 de 2011. Além disso, é acreditada pela CGCRE do INMETRO, na norma ISO 17.025. [13]

É possível observar que o custo da análise por amostra reduz à medida que aumenta a quantidade de amostras, entretanto outro fator relevante a custo é o traslado das amostras para a cidade de Piracicaba, que atualmente vem de todas as regiões do país. São usuários dos serviços da Clínica do Leite as grandes empresas lactas atuantes no Brasil, como Nestlé, Lactalis, Itambé, Danone e Piracanjuba, além das grandes empresas mais de 560 outras espalhadas pelo Brasil, representando ao redor de 100.000 tanques. Ao todo a Clínica do Leite é responsável pela análise mensal de 90.000 animais, de 2.000 fazendas, avaliados mensalmente. [13]

2.3 Espalhamento de luz e concentração de gordura no leite

Com as exigências de controle sanitários das indústrias alimentícias cada vez mais severas, e principalmente na indústria láctea e de derivados de leite, a análise espectrométrica apresenta-se como um método de monitoramento que permite um controle abrangente de características, não evasivo, relativamente pouco complexo quando comparado a análises químicas em laboratórios, e principalmente que possibilita o acompanhamento em tempo real de processos e produtos. Por esses fatores, atualmente a espectrometria óptica é uma das tecnologias mais utilizadas para o monitoramento de qualidade da indústria alimentícia. [14]

A análise espectrométrica do leite cru vem sendo estudada intensamente na região de infra vermelho (IR), tanto na região de infra vermelho próximo (NIR 700 - 1100 nm), quanto na região de infra vermelho distante (far-NIR 1100 - 2500nm), sendo que o leite apresenta propriedades sensíveis ao espalhamento de luz. As propriedades sensíveis a luz são devidas a emulsão de proteína e glóbulos de gordura no leite cru. [12,15,16,17,18]

Em amostras com coloidais contendo partículas distribuídas de tamanhos diversos, torna-se complexo a análise espectrométrica, como é o caso do leite cru quando se trata da região visível da luz (400 – 700 nm), região do espectro em que o espalhamento de luz é significativamente maior do que na região de infra vermelho próximo (NIR). Desta maneira, a região do espectro visível é desprezada devido à falta de bandas de absorção dos componentes do leite cru. [14]

O espalhamento de luz, muitas vezes um fenômeno não desejado dependendo do estudo aplicado, tem o potencial de fornecer dados de importante análise. Em uma amostra com partículas coloidais de determinado tamanho é possível obter informações sobre o seu conteúdo ao se realizar a medição da intensidade de espalhamento de luz em comprimentos de ondas variados. Desta maneira, quando se trata de uma amostra de composição estável e conhecida, como o leite cru, o espalhamento e absorção de luz podem ser usados para diversos fins analíticos. [19,20]

A análise de comparação entre concentrações diferentes de gordura no leite cru em todo comprimento de onda do espectro de 5500 – 1000nm não é viável devido à pouca absorção de luz em boa parte do espectro. [21]

Nas proximidades do comprimento de onda de 980nm acontece um pico de absorção, e é possível realizar a discriminação da taxa de absorção da luz em ensaios com comprimentos de onda distintos. A variação de absorção de luz para o mesmo comprimento de onda pode ser

relacionado à variação da porcentagem de gordura do leite. Uma vez que as amostras de leite com mais gordura, ou seja, maior concentração de partículas, apresentarão maior espalhamento, seguido por maior absorção de luz. Isso pode ser demonstrado pela Figura 1, o espectro de NIR em amostras de leite cru. A medida que se aumenta o comprimento de onda tende-se a aumentar também a taxa de absorção. Os comprimentos ótimos para distinção de amostras de leite com taxas de gordura variadas estão apresentadas pelas linhas verticais, nas proximidades de 630nm e 980nm. As linhas apresentam diferentes teores de gordura e proteína entre si. Na linha 18: 3,02% gordura e 2,9% proteína; linha 21: 3,98% gordura e 2,9% proteína. Mantendo-se o teor de proteína e variando a concentração de 1% do teor de gordura da amostra do leite teve-se aproximadamente 20% de variação da absorção. [21]

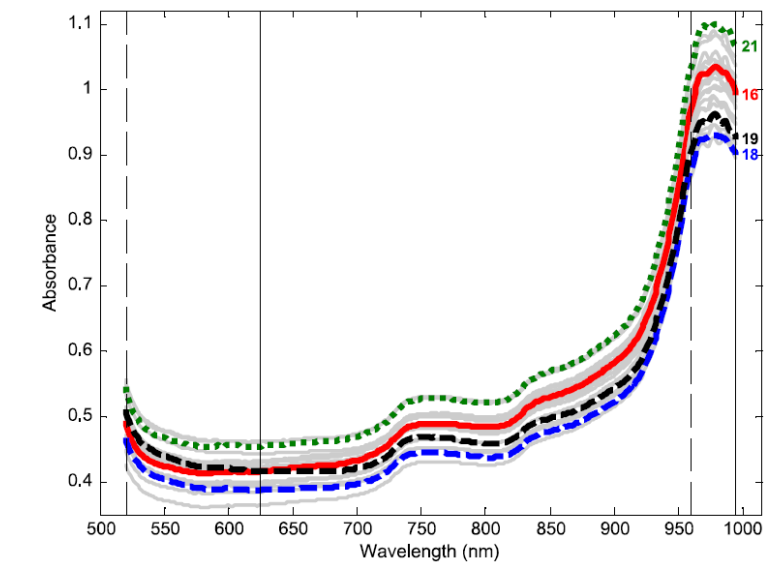


Figura 1. Espectro NIR em amostras de leite cru. [21]

2.4 Sensores para a qualidade do leite

O sensor é caracterizado por identificar moléculas biológicas específicas através de uma alteração no sinal elétrico ou optoeletrônico. [1,3]

O sistema do sensor consiste em um sensor, um sistema para analisá-lo e um microcomputador que converte o sinal elétrico em um formato a ser exibido no programa de computador. [1]

Com o aumento da lactação e da produção vitalícia por vaca é possível aumentar a lucratividade na pecuária leiteira. Desta maneira, torna-se necessário a realização de uma

prevenção eficaz e um tratamento precoce de doenças nas vacas e úberes através de um monitoramento, sendo feito através de sensores. A medição online dos componentes do leite (gordura, proteína, lactose, entre outros) durante a ordenha pode oferecer um potencial de detecção precoce de alterações sistêmicas e locais, fornecendo assim um valioso contributo para decisões de gerenciamento estratégico e operacional. [2]

2.4.1 Sensores ópticos em diversas áreas

Atualmente, há no mercado diversas tecnologias que utilizam sensores ópticos. A seguir serão citadas e explicadas algumas delas.

A medição da circulação sanguínea através do sistema de oximetria de pulso vem ganhando rápida aceitação e diversas aplicações médicas, incluindo cirurgias, unidades intensivas de cuidados neonatais e diversos outros casos de monitoramento. O sistema de oximetria de pulso geralmente inclui um sensor óptico aplicado ao paciente, um monitor para processar o sinal e apresentar os resultados e um cabo conectando o sensor no monitor. [22]

O sensor de oximetria de pulso possui dois diodos emissores de luz (LED), normalmente um emissor de luz no comprimento de onda vermelho e um emitindo no comprimento de onda infravermelho (IR), e um fotodiodo detector. O emissor e o detector são ligados à pele do paciente, podendo ser no dedo, por exemplo. O cabo transmite o sinal para o emissor do monitor, e o emissor responde ao sinal transmitindo luz para a pele. O detector gera o sinal de resposta para a luz emitida após a atenuação feita pela pulsação do fluxo de sangue no interior da pele do paciente. O cabo transmite o sinal do detector para o monitor, que processa o sinal e apresenta a leitura numérica dos parâmetros físicos, como saturação de oxigênio e pulsação cardíaca. Sistemas avançados de monitoramento utilizam múltiplos comprimentos de onda aprimorando as capacidades de medição, como por exemplo carboxihemoglobina (HbCO), meta-hemoglobina (MetHb) e hemoglobina total (tHb). [22]

Sensores ópticos são também empregados no monitoramento de partículas para medir o nível de poluição presente no ar. Através de sistemas de baixo custo baseados na medição do espalhamento de luz nas partículas contidas no fluxo de ar que atravessa o volume contido no interior do sensor. Esse fluxo de ar pode ser direcionado, por exemplo, por um ventilador ou aquecedor. As partículas que atravessam o volume do sensor são irradiadas por uma fonte contínua de luz e esse processo cria uma pulsação de luz com duração determinada pela passagem de partículas no volume do detector através do tempo. Esses pulsos são amplificados, filtrados e contados em um sistema eletrônico. Além de indicar a concentração de partículas no

ar, tal detector pode ser usado para conduzir a operação de um dispositivo purificador de ar. [23]

A poluição atmosférica particulada vem sendo associada ao aumento da morbidade e mortalidade por doenças respiratórias, cardíacas e alérgicas. Os efeitos na saúde humana dependem do tipo de partícula presente. Além disso é necessário identificar qual tipo de partícula está presente para prover o nível de concentração. [23]

Partículas finas, ou seja, na ordem de μm podem ser contadas individualmente por meios ópticos usando técnicas existentes conforme descritas. Na maioria das aplicações, a maneira mais barata e eficiente de monitoramento de partículas é utilizando LED ou laser com comprimento de onda vermelha ou próxima ao infravermelho. Também os detectores de pólen são comercialmente disponíveis, operando desta maneira. [23]

Para identificar qual tipo de partícula presente, a partícula deve ser iluminada por uma múltipla fonte de luz, como luz visível (400nm a 760nm), infravermelho ou ultravioleta. A iluminação UV tem a capacidade de apresentar a fluorescência, enquanto a IR tem a capacidade de apresentar o espalhamento. A proporção entre esses diferentes efeitos pode ser usada para identificar o tipo de partículas. [23]

Outra tecnologia em que sensores ópticos são amplamente usados são em módulos de reconhecimento em dispositivos eletrônicos que possuam um display de cristal líquido e a função touch. Sensores ópticos modulares podem ser colocados sob display de cristal líquido (LCD), para desta maneira oferecer funções de medições sensíveis a luz, incluindo biométrica através das digitais. [24]

O sistema de operação do sensoriamento entra em operação quando a camada de interface transparente do display é tocada pelo usuário. O módulo de sensoriamento óptico sob a tela de LCD recebe a luz que é refletida da camada transparente e atravessa a tela de LCD, detectando a digital do usuário. A estrutura localizada sob o display emite uma segunda fonte de luz para irradiar a área onde está ocorrendo o contato digital. A luz refletida da digital é absorvida pelo sensor óptico. O sinal de saída do sensor determina se a digital é compatível com a digital autorizada. [24]

O primeiro sensor fluorescente para determinar instantaneamente e quantitativamente a gordura do leite foi desenvolvido apresentando característica magnética, mas seletiva, para moléculas de gordura de leite por um mecanismo de emissão induzido por desagregação. [3]

A espectroscopia de fluorescência apresenta excelente sensibilidade e seletividade, e operação simples. Um composto BODIPY (corante), encontrado em um relatório nas

bibliotecas de fluorescência orientada para a diversidade (DOFL), que comprovaram suas aplicações versáteis no desenvolvimento de sensores e que exibe a maior resposta à gordura do leite, mostra incrementos notáveis no sinal de fluorescência com concentrações crescentes de gordura no leite. Foi demonstrado em [3] que este sensor pode determinar de forma instantânea e quantitativa gordura nas amostras dadas, independentemente das marcas de leite testadas. [3]

O BODIPY apresenta um importante recurso de agregação em soluções aquosas devido à sua natureza altamente hidrofóbica. Em um ambiente aquoso, os corantes BODIPY são envolvidos por moléculas de água; portanto, eles são forçados a compilar juntos e criar agregados auto isolados e não fluorescentes. [3]

O detector é composto de uma fonte de luz, um canal de passagem de luz e um detector de fluorescência de grade conectado a um computador. O processo de detecção é baseado na desagregação de agregados de BODIPY em solução aquosa, o que resulta em mudanças ópticas significativas. [3]

Essas são algumas tecnologias encontradas na literatura que utilizam sensores ópticos em suas aplicações.

3- ASPECTOS FÍSICOS DA INTERAÇÃO DA LUZ COM O LEITE E SUA RELAÇÃO COM O PROJETO DO SENSOR ÓPTICO

Na medida em que ocorrem avanços tecnológicos na cadeia produtiva do leite, intensifica-se o uso de diferentes aparelhos eletroeletrônicos e de modelos de negócio, a fim de obter melhores resultados dos parâmetros de controle da qualidade do leite e seus derivados, aumentar a produção, reduzir custos e diminuir o impacto ao meio ambiente.

Neste contexto, a medição das variáveis envolvidas na qualidade do leite torna-se indispensável para gerar as informações necessárias na tomada de decisão, tanto em sistemas de controle dos processos envolvidos como em sua gestão e monitoramento.

Vários parâmetros são importantes para o desempenho do sensor a ser desenvolvido nesse trabalho. Dentre eles, os principais são a geometria e características relacionadas à qualidade do leite como, por exemplo, temperatura, pH, condutividade, teor de gordura, presença de adulterantes. Portanto, métodos de otimização (aperfeiçoamento) são necessários para melhorar o desempenho dos sensores.

Este capítulo visa o desenvolvimento de métodos de otimização para geometria e parâmetros físico-químicos de um sensor e série de sensores.

3.1 Modelagem do sensor óptico

Métodos espectroscópicos não invasivos baseados na dispersão da luz são ferramentas que vêm sendo muito utilizadas nas últimas duas décadas para caracterizar as biomoléculas. [25]

Com uma única medição espectroscópica não é possível separar os efeitos de absorção e dispersão com precisão, permitindo uma interpretação errada da análise da composição do leite. Por outro lado, várias medidas em uma configuração diferente podem não ser perfeitamente correlacionadas. [2]

Uma junção de medições múltiplas com um modelo preciso, que descreve de forma matemática a propagação da luz como uma função das propriedades ópticas em massa da amostra permitiria uma boa separação das propriedades de absorção e espalhamento. Para obter uma separação maior entre essas propriedades é necessário que o sensor óptico seja projetado para receber várias medições com menos níveis de intercorrelação e máximo sinal-ruído. [2]

A dispersão dinâmica de luz, também academicamente citada como espectroscopia de correlação de fótons, determina a difusividade Dt de macromoléculas em solução. Dt representa a facilidade com que uma substância se desloca dentro de outra através de difusão. Pela Lei de Fick, Dt representa o gradiente de concentração de um soluto em um solvente ao longo de um eixo com o fluxo por 1cm^2 de área, sendo inversamente proporcional ao tamanho da partícula. É possível concluir que partículas menores se deslocam mais rápido do que partículas maiores na mesma solução. [25]

A razão entre a velocidade da luz no vácuo e a velocidade em determinada substância representa o índice de refração da mesma. De maneira similar, o índice de refração de uma solução pode ser considerado como a soma dos índices de refração de todas as ligações químicas. [25]

Em uma solução aquosa estável mantida a temperatura constante, a agitação contínua de moléculas de água leva ao deslocamento das moléculas de soluto dissolvidas nela. Com esse movimento browniano, que é o deslocamento aleatório de partículas em suspensão no meio fluído, pequenas moléculas se deslocam com maior velocidade do que moléculas grandes. Uma pequena fração de luz é espalhada após a irradiação com luz monocromática visível de alta coerência espacial e temporal. A intensidade desta luz dispersada flutua de maneira dependente do tempo e da distância entre as partículas, levando a interferências construtivas ou destrutivas. [25]

Como as moléculas de proteína têm dimensões abaixo de $1/20$ do comprimento de onda da luz, a dependência angular da intensidade dispersa é virtualmente zero e as medições podem ser realizadas em um único ângulo de espalhamento. Na dispersão dinâmica de luz, a função de autocorrelação de tempo da luz difusa é usada para extrair a distribuição de tamanho das partículas dissolvidas. A função de correlação de campo elétrico de primeira ordem da luz dispersa por uma população monomodal e monodispersa de macromoléculas pode ser escrita como um único exponencial da seguinte forma: [25]

$$G(\tau) = 1 + b \cdot \exp(-2Dt \cdot q^2 \tau) \quad (1.1)$$

Sabendo que b é uma constante dependente da ótica e da geometria do instrumento, Dt o coeficiente de difusão translacional das partículas e τ o tempo de decaimento característico. O vetor de dispersão q é dado por: [25]

$$|q| = 4\pi n_0/\lambda_0 \sin(\theta/2) \quad (1.2)$$

Sendo n_0 o índice de refração do solvente, λ_0 o comprimento de onda no vácuo e θ o ângulo de espalhamento. [25]

As interações entre biomoléculas em solução podem ser quantificadas pela intensidade total. Na prática, isso é feito medindo a intensidade I da luz espalhada pelas soluções em várias concentrações. I é uma função do tamanho de partícula e é diretamente proporcional à concentração de partículas. A variação de I pode ser usada para derivar a massa das partículas através da equação de Rayleigh: [25]

$$K_c/R_\theta = (1/M+2A_2c)P(\theta) \quad (1.3)$$

Onde R_θ é a relação de Rayleigh de luz dispersa a luz incidente, c a concentração (mg/mL), sendo M o peso molecular da amostra (D_a), A_2 o segundo coeficiente virial caracterizando as interações (mL mol/g^2), $P(\theta)$ a dependência angular do espalhamento da amostra e K ($\text{mol cm}^2/\text{g}$) uma constante óptica definida como: [25]

$$K = (2\pi^2/\lambda^4 NA)(n_0 dn/dc)^2 \quad (1.4)$$

Onde NA é o número de Avogadro, λ_0 o comprimento de onda da luz do laser, n_0 o índice de refração do solvente, e dn/dc o índice de refração do incremento com a concentração da amostra (mL/g). [25]

3.2 Projeto dos dispositivos ópticos

O projeto do sensor de controle de parâmetros bioquímicos do leite, que é foco deste trabalho, é composto por quatro partes principais, a célula de vidro que recebe o leite que será analisado, o circuito impresso, os componentes eletrônicos e por último a cápsula de isolamento óptico.

A célula de vidro possui dimensões de 45mm de altura, 12,5mm de largura e 12,5mm de comprimento com largura interna de 2mm. Volume total de 0,7ml com duas faces polidas e duas faces opacas.

O circuito impresso, com 500mm de largura e 800mm de comprimento, foi projetado para além de posicionar a célula com a amostra de leite, fornecer a tensão necessária para

polarizar o LED Emissor de tal maneira que o IR liberado seja recebido pelo LED receptor, gerando, assim, uma diferença de potencial. A diferença de potencial do LED receptor é registrada pelo Voltímetro.

Os componentes do circuito do sensor, desconsiderando as ligações eletrônicas, são cinco. O primeiro deles, o TIL32, é um LED, como mostrado na Figura 3, que emite radiação infravermelha. O segundo trata-se do o TIL78, apresentado na Figura 4, que é um fototransistor sensível a luz infravermelha, que absorve a radiação e consequentemente apresenta uma diferença de potencial em seus terminais. O terceiro é uma placa de Arduino Uno R3, que trabalha como fonte de tensão de 5V e tem como objetivo ser adaptado para fazer a leitura de tensão de saída. O quarto e o quinto são resistores de 10kΩ e 330Ω, respectivamente.

Light Emitters

Device Type	Power Output		θHP typ	VF		λp typ μm	Key Features
	min. mW	@ IF mA		max. V	@ IF mA		
TIL23	0.4	50	35°	1.5	50	0.93	Pill package for mounting on double-sided printed circuit board
TIL24	1.0	50	35°	1.5	50	0.93	
TIL25	0.7	50	35°	1.5	50	0.94	Hermetically sealed TO18 package Low cost 3 mm plastic package
TIL31	3.3	100	10°	1.75	100	0.94	
TIL33	2.5	100	80°	1.75	100	0.94	
TIL34	1.6	100	10°	1.75	100	0.94	
TIL32	0.5	20	35°	1.6	20	0.94	
TIL38	6.0	100	60°	1.9	100	0.94	Low cost 5 mm plastic package

Light Sensors

Device Type	Type	Light Current			Dark Current		Power Diss mW	Key Features
		min. mA	max. mA	@ V	max. nA	@ V		
LS600	Phototransistor	0.8	—	5	25	30	50	Pill Package
LS602	Phototransistor	0.5	—	5	25	30	50	
LS611	Phototransistor	0.5	2	5	25	30	50	Pill package designed for mounting on double-sided printed circuit board
LS612	Phototransistor	1	3	5	25	30	50	
LS613	Phototransistor	2	4	5	25	30	50	
LS614	Phototransistor	3	5	5	25	30	50	
LS615	Phototransistor	4	6	5	25	30	50	
LS616	Phototransistor	5	7	5	25	30	50	
LS617	Phototransistor	6	8	5	25	30	50	
LS618	Phototransistor	7	9	5	25	30	50	
LS619	Phototransistor	8	—	5	25	30	50	
TIL63	Phototransistor	0.4	—	5	25	30	50	
TIL64	Phototransistor	0.4	1.6	5	25	30	50	Low-cost header with epoxy lens. Operating temperature range—40°C to 80°C
TIL65	Phototransistor	1	4	5	25	30	50	
TIL66	Phototransistor	2.5	10	5	25	30	50	
TIL67	Phototransistor	6	—	5	25	30	50	
TIL78	Phototransistor	1	—	5	25	30	50	Low-cost plastic package
TIL81	As Phototransistor	5	—	5	100	10	250	
TIL99	As Photodiode	170* μA typ	—	0-50	10	30	250	TO-18 package with narrow field of view
	As Phototransistor	1	—	5	100	10	250	
	As Photodiode	40* μA typ	—	0-50	10	10	250	
TIL100	Photodiode	6 A/W	—	50	100	50	50	Low-cost "side looker" package
LS400	Phototransistor	1	—	5	25	30	50	Glass, hermetically sealed
TIL401	Phototransistor	0.5	3	5	25	30	50	
TIL402	Phototransistor	2	6	5	25	30	50	
TIL403	Phototransistor	5	10	5	25	30	50	
TIL404	Phototransistor	8	16	5	25	30	50	
TIL405	Phototransistor	10	20	5	25	30	50	

Figura 2. Datasheet TIL32 e TIL78. [10]

O TIL32 é um LED que emite luz infravermelha, com comprimento de onda de 940nm. O TIL 32 é frequentemente usado em sistemas de infravermelho, como, por exemplo, para comunicação sem fio, medição de distâncias e até detecção de objetos. Para realizar a

polarização do mesmo, por meio do seu datasheet é possível considerar que a tensão no circuito é de 5V, torna-se necessário calcular o resistor para limitar a corrente de entrada.[10]

$$R = \frac{(V_{\text{alimentação}} - V_{\text{led}})}{I} \quad (2.1)$$

Com os dados do Datasheet do TIL32, apresentado na Figura 2, sabe-se que V_{led} é igual a 1,6V e I é 20mA. Desta maneira tem-se:

$$R = \frac{(5-1,6)V}{20 \cdot 10^{-3}A} \quad (2.2)$$

$$R = 170 \Omega \quad (2.3)$$

A fim de limitar a tensão de saída, filtrando oscilações de menores proporções no sistema, foi dobrado o valor da resistência. Ou seja, a resistência final adicionada ao circuito emissor é de 340 Ω , comercialmente o valor que mais se aproxima é de 330 Ω .

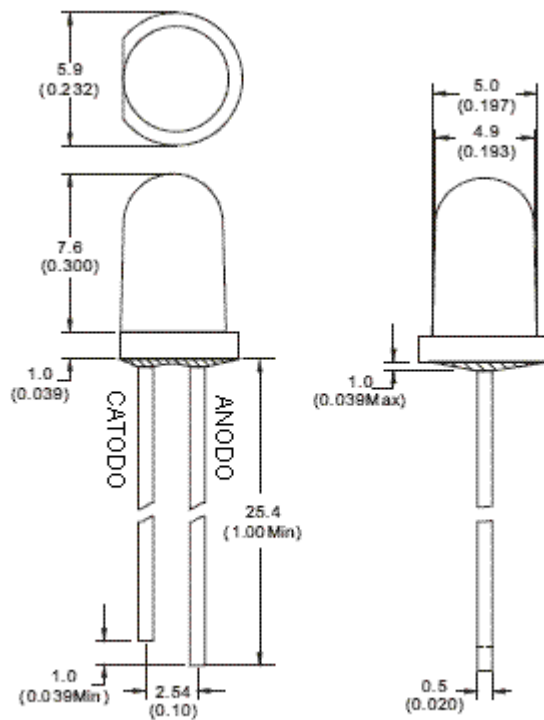


Figura 3 - LED TIL32. Fonte: Datasheet [10]

O TIL78 é um fototransistor, que pode ser encontrado comercialmente com dimensões reduzidas de até 3mm de comprimento, sendo amplamente usados em conjunto com o TIL32 por se tratar de um componente sensível a luz infravermelha no espectro próximo a 940nm. Ele possui dois terminais, que correspondem ao coletor e emissor do transistor. A base é ativada pela luz, quando uma quantidade suficiente de luz é captada, o transistor permite a passagem de corrente do coletor para o emissor. Ao ser retirado da presença da luz, o TIL78 deixa de conduzir e o coletor e o emissor retornam ao estado inicial ficando isolados. [10]

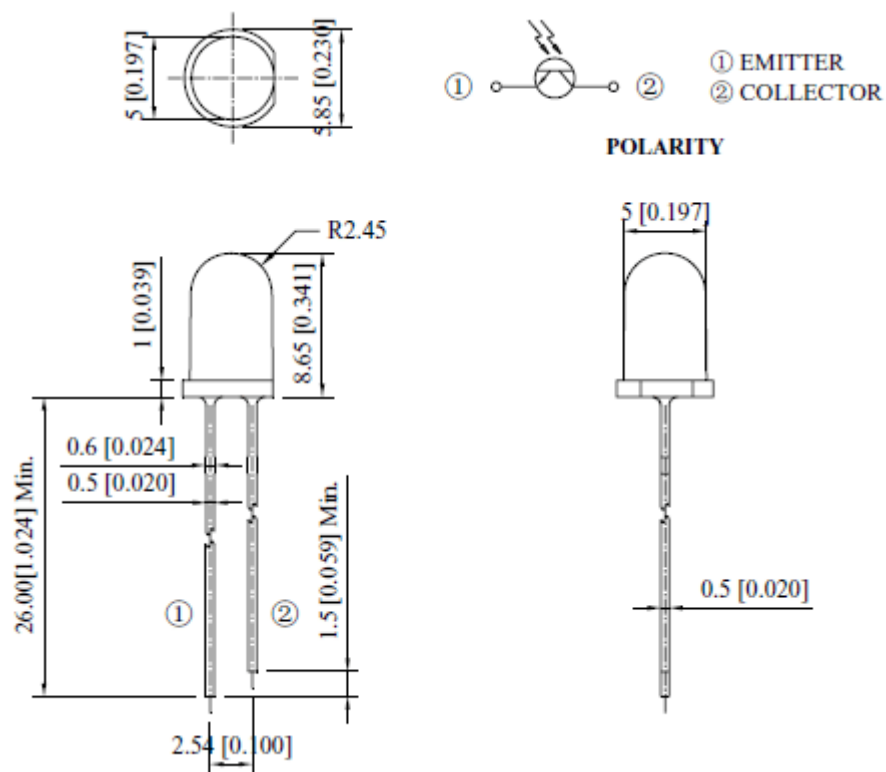


Figura 4 - TIL78. Fonte: Datasheet [10]

Com base nos dados obtidos no datasheet do TIL78, é possível saber que a tensão em light current é de 5V, com corrente mínima de 1mA e que a dark current é de 30V. Assim sendo, tem-se:

$$\frac{V}{R} = I \quad (3.1)$$

Utilizando o resistor comercial de 10k Ω , a fim de limitar a corrente acima da mínima necessária, tem-se:

$$\frac{30V}{10 \cdot 10^3 \Omega} = 3mA = I \quad (3.2)$$

O Arduino Uno R3 é uma placa baseada no microcontrolador Tmega328. A placa possui 14 pinos de entrada/saída digital (dos quais 6 podem ser usados como saídas PWM), 6 entradas analógicas, um cristal oscilador de 16MHz, uma conexão USB, uma entrada de alimentação, uma conexão ICSP e um botão de reset. É importante observar que o Arduino Uno R3 possui componentes necessários para suportar o microcontrolador. [10]

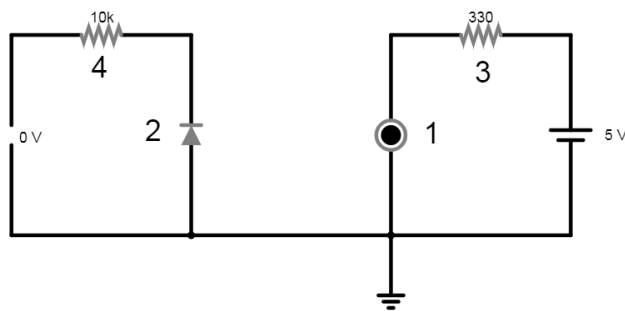


Figura 5 - Diagrama do circuito elétrico do sensor. Fonte: Autor.

Como demonstrado na Figura 5 o diagrama do circuito elétrico do sensor com seus componentes. Tem-se o emissor TIL32 representado como o número 1, o receptor TIL78 como número 2, a resistência de 330Ω pelo número 3 e a resistência 10kΩ pelo número 4.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Construção do sensor óptico

O circuito foi simulado primeiramente em um protoboard. Posteriormente, para melhor manuseio e possibilitar a estabilidade de medições, foi realizada a blindagem do circuito à luz ambiente. O circuito foi projetado em uma placa de circuito impresso ou PCBs (Printed Circuit Board).

As placas de circuito impresso são fabricadas a partir de uma placa de material não condutor revestido com uma camada de cobre. O autor optou por utilizar a placa de fonolite. A placa é coberta por uma camada de cobre de 35 μm , sendo este um excelente condutor. Durante a fabricação, que se trata de um processo subtrativo, todo o cobre da face da placa é retirado, mantendo apenas o cobre que é responsável pelas conexões dos componentes.

Como demonstrado na Figura 6, o esquemático do circuito foi desenhado na placa utilizando caneta com tinta resistente a corrosão do perclorato de ferro. Uma vez o circuito desenhado sobre a camada de cobre da placa, a placa foi imersa em solução aquosa de perclorato de ferro por 15 minutos. Após esse tempo, foi realizada uma inspeção visual da placa e notou-se que a corrosão já era suficiente, visto que todo o cobre que não estava coberto pela tinta fora removido.



Figura 6 - Desenho do circuito impresso. Fonte: Autor

Comprovada a remoção da camada de cobre indesejada, a placa foi lavada por imersão em água por 5 minutos. Após a lavagem, a tinta foi removida com a aplicação de acetona, expondo assim o cobre das conexões necessárias ao circuito.

Com a parte condutiva da placa devidamente preparada, foram realizados os furos necessários para realizar as conexões dos componentes, através de um perfurador manual. Com os furos finalizados, os resistores, LEDs e conectores foram encaixados e soldados utilizando fio de solda com composição de 63% estanho e 37% chumbo.

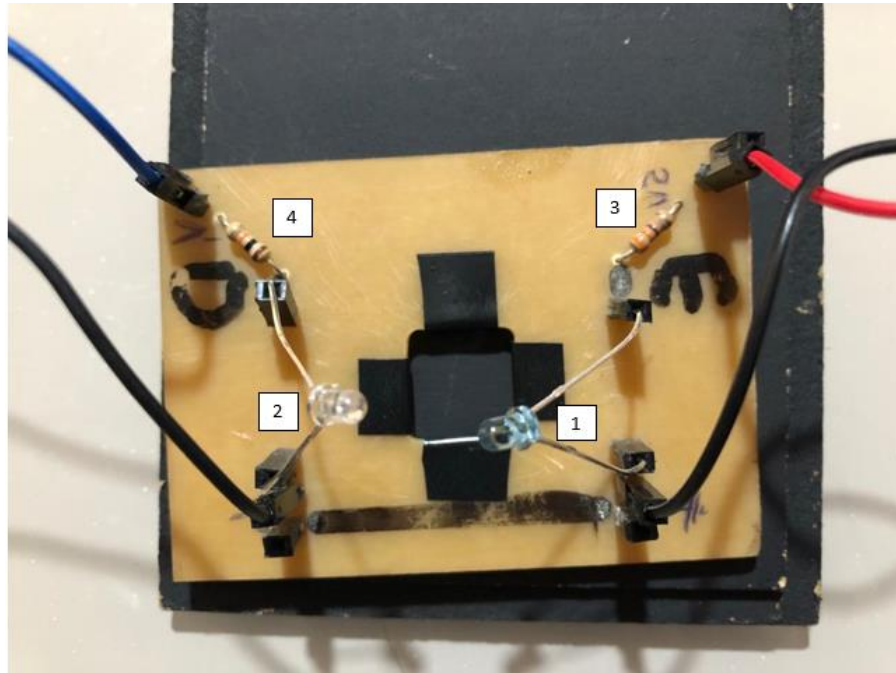


Figura 7 - Descrição dos componentes do circuito. Fonte: Autor

A Figura 7 apresenta a placa que contém os principais componentes do circuito do sensor óptico de análise de parâmetros do leite. Conforme a legenda apresentada na Figura 7, os números 1,2,3 e 4 são, respectivamente, o emissor TIL32, o receptor TIL78, o resistor 330 Ω limitador de tensão de entrada e o resistor 10k Ω atenuador da tensão de saída.

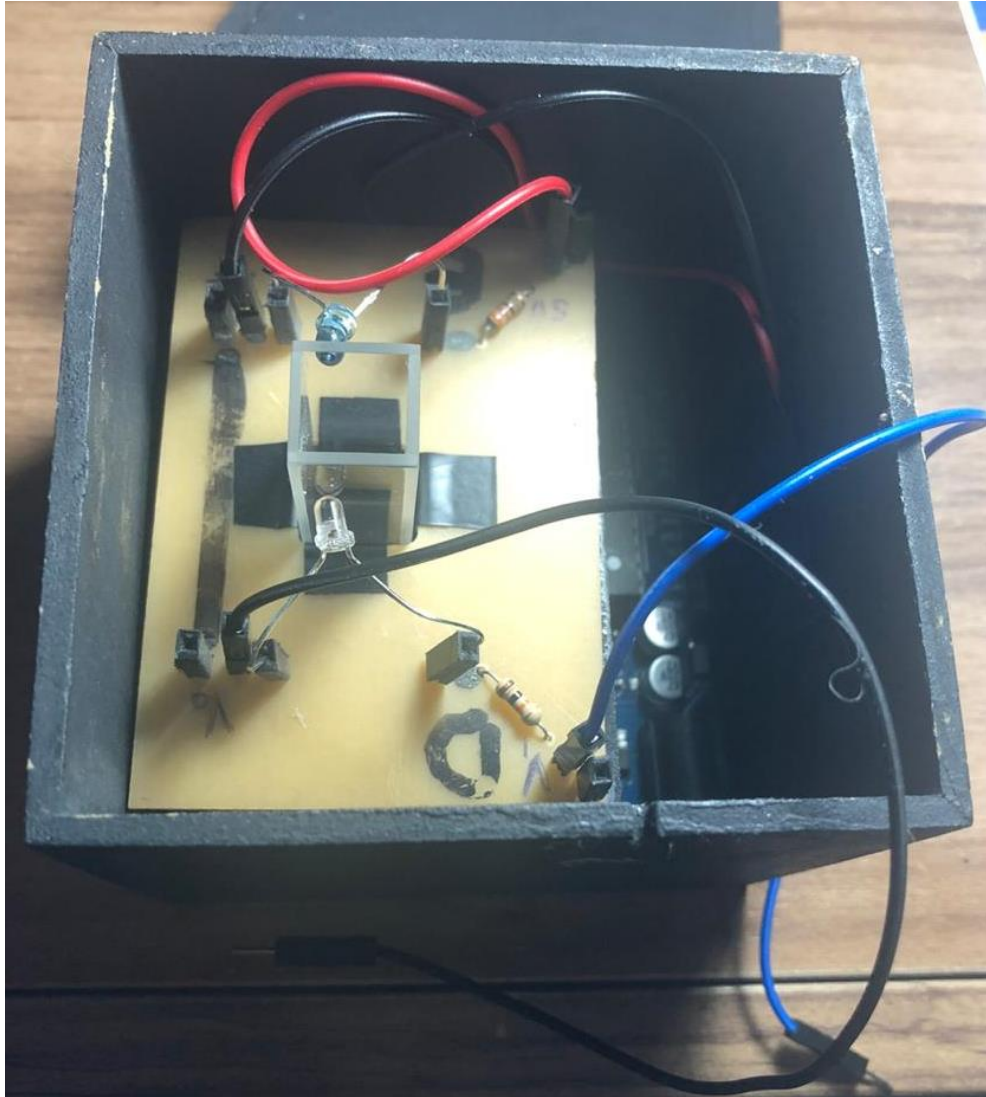


Figura 8. Posição da célula de vidro. Fonte: Autor

Na figura 8 é possível observar a placa de circuito impresso já inserida em sua cápsula de isolamento óptico e também o sensor com a célula de vidro perfeitamente acoplada ao dispositivo.

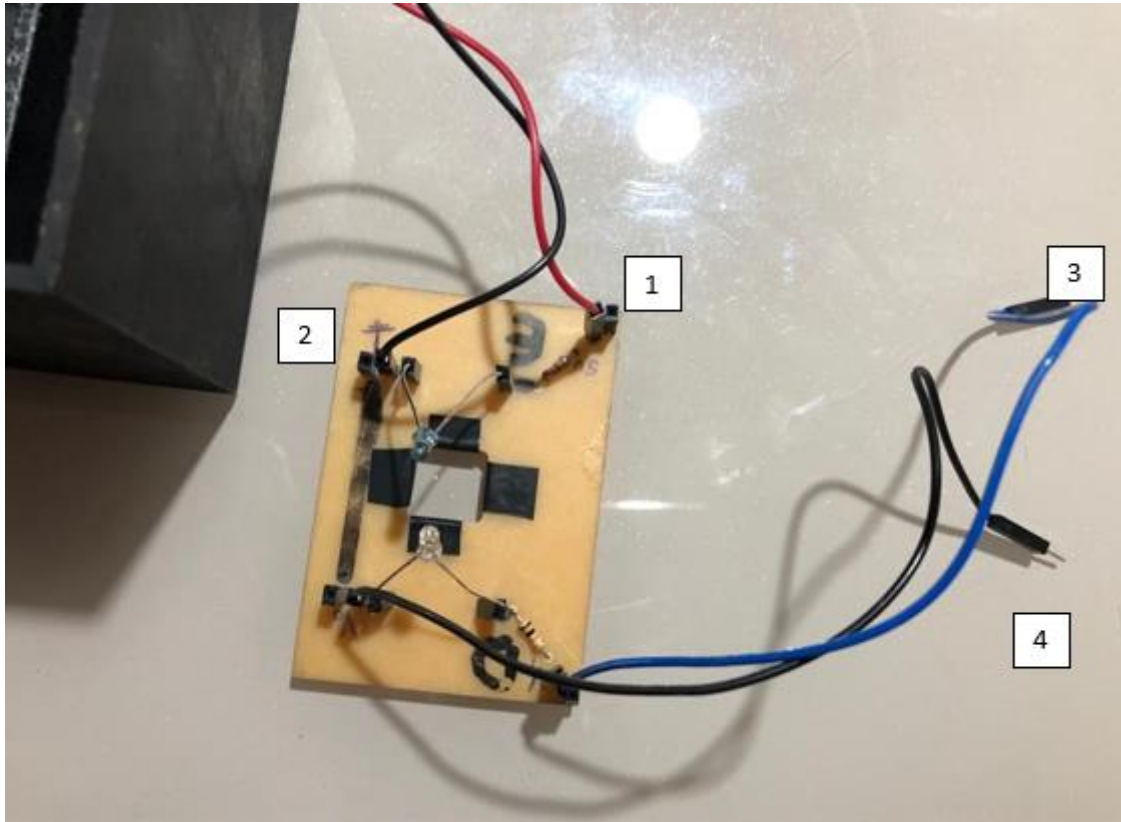


Figura 9. Conexões de entrada e saída. Fonte: Autor

A Figura 9 apresenta as conexões elétricas para a tensão de entrada e saída. Conforme legenda apresentada na Figura 9, os números 1,2,3 e 4 são, respectivamente, a entrada de 5V, entrada ground de 0V, tensão de saída do sensor e tensão de referência do sensor 0V. Tanto a tensão de entrada 5V quanto a tensão de referência de 0V são alimentadas por meio das portas do Arduino 5V e Grnd.

4.2 Coleta e preparação das amostras de leite

Foram preparadas amostras calibradas utilizando leite integral tipo UHT (Ultra High Temperature) da marca Ninho da Nestlé®, que é homogeneizado e não apresenta adição de estabilizantes, o que garante distribuição e formato de partículas de gordura regulares. Para obter amostras com diferentes teores de gordura, foram feitas diluições do leite integral (que possui teor de gordura aproximadamente igual a 3,5 %) utilizando leite desnatado da Marca Molico da Nestlé® (teor de gordura de cerca de 0,5%).

O método de Gerber foi utilizado de acordo com a norma ISO 488:2008 [26] com o objetivo de proceder o ajuste na curva de gordura do sensor óptico e sua consequente validação.

O fundamento do método de Gerber é a destruição do estado globular da gordura e a dissolução das proteínas ligadas por ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. O H_2SO_4 dissolve ou decompõe as proteínas e a lactose do leite, aumentando ao mesmo tempo a densidade da fase aquosa. A gordura é então liberada da micela e extraída por álcool amílico após um processo de centrifugação. Uma vez que a gordura é totalmente separada, o resultado do teor de gordura no leite é obtido por leitura direta na escala graduada do butirômetro, registrado volumetricamente e indicado como percentagem em massa de gordura. [3]

Para a análise do teor de gordura pelo método de Gerber, 11 mL de leite foram transferidos para o butirômetro de Gerber, como mostrado na Figura 10, contendo 10 mL de H_2SO_4 concentrado ($d = 1,820 \text{ g/cm}^3 - 1,825 \text{ g/cm}^3$ a 20°C) e 1 mL de álcool isoamílico. O butirômetro foi então fechado, agitado e centrifugado a 1200 rpm por 5 minutos em uma centrífuga. O percentual mássico de gordura foi lido diretamente na escala do butirômetro.

A linearidade do método proposto foi avaliada através da construção de curvas de calibração de leite UHT produzidas com soluções de diferentes concentrações de teor de gordura. As curvas de calibração foram construídas nas faixas de 0,5% – 3,5 % de teor de gordura e avaliadas matematicamente quanto a parâmetros de linearidade.

Para avaliar a repetibilidade do método foram feitas 10 análises consecutivas de soluções de leite UHT, contendo concentrações de gordura no intervalo de 1,0%, 2,5% e 3,5% em um mesmo dia. A avaliação da precisão intermediária foi realizada através da análise do leite UHT com os mesmos teores de gordura utilizados na verificação da repetibilidade em 3 diferentes dias, tendo um dia de intervalo entre as análises.

A exatidão da metodologia foi verificada por meio do método da recuperação. Uma amostra de leite UHT foi manipulada de forma a se obter um teor de gordura teórico. A exatidão foi verificada avaliando-se o quão próximo é o valor medido em relação ao valor teórico.



Figura 10- Butirômetro de Gerber ilustrando a determinação do teor de gordura do leite UHT pelo método químico. Fonte: Autor.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para garantir que o sensor óptico desenvolvido gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra de leite UHT ele deve ser validado. A Validação do método analítico deste trabalho é realizada pela confirmação através de ensaios e por meio deles fornecendo evidências objetivadas de que os requisitos específicos desejados para sua utilização pretendida seja atendida (NBR ISO/IEC 17025, 2001). Ou seja, a validação do método analítico permite demonstrar e comprovar que o método tem potencial para ser desenvolvido e utilizado para o controle do teor de gordura do leite.

A validação do método de medição inclui a especificação dos requisitos do método, a determinação das propriedades de interesse do método de medição, realizando a averiguação de que os requisitos são capazes de serem aprovados com o uso do método e por fim, a declaração sobre a validade do método (NBR ISO/IEC 17025, 2001).

A validação deve então garantir, por meio dos estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Os estudos de validação nesse trabalho envolveram a análise da linearidade, precisão e exatidão, ensaios estes, adequados para a análise da viabilidade de utilização do sensor óptico da qualidade do leite UHT [27,28].

5.1 Linearidade

Para a validação dos resultados, foram realizados testes de linearidade a fim de se demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito, nesse caso o teor de gordura, dentro do intervalo estudado. Os coeficientes da curva analítica obtida (Figura 10) foram obtidos pelo método de regressão linear, o qual gerou a equação $y = ax + b$, em que y é a resposta analítica, x é concentração, a é coeficiente angular e b é o coeficiente linear. Além dos coeficientes de regressão (a e b), obteve-se o coeficiente de correlação (r), que é um dos parâmetros que avalia a qualidade da curva analítica, pois quanto mais próximo de 1,0 menor é a dispersão das amostras e a incerteza dos coeficientes de regressão calculados.

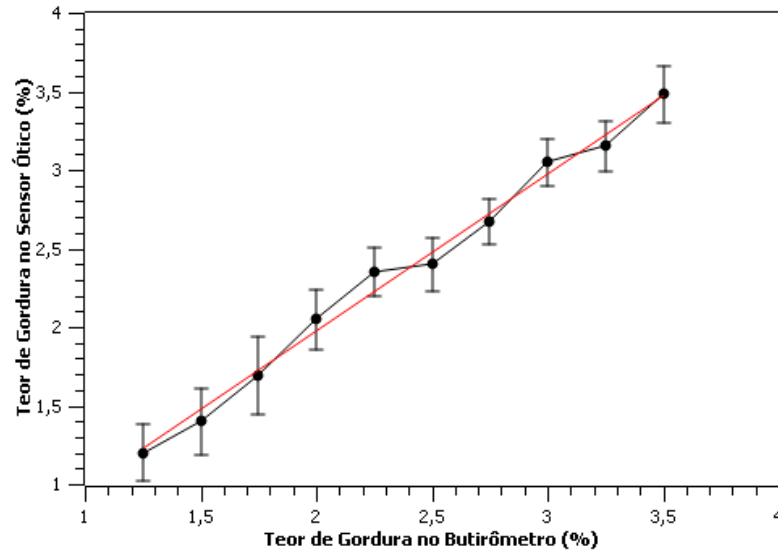


Figura 11- Validação do sensor óptico projetado nesse trabalho utilizando os dados da butirometria. A curva obtida obedece a função $y = 0,997x - 0,019$, $r = 0,994$. Fonte: Autor.

A Figura 11 mostrou-se adequadamente linear ($r = 0,994$), como demonstram os coeficientes de correlação apresentados, demonstrando que os resultados obtidos de teor de gordura no leite UHT com o sensor óptico são concordantes com o método butirométrico, regido pela norma ISO 488:2008, amplamente utilizado nos laboratórios de qualidade do leite no Brasil [26,29].

5.2 Precisão quanto à repetibilidade

O termo precisão, segundo a ISO International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (ISO-VIM), é a relação de proximidade das ocorrências entre os valores quantitativos por medições replicadas em condições específicas. Em um método analítico, a determinação da precisão é um dos principais parâmetros para a obtenção da repetibilidade e produtividade no método de validação. Avaliar a precisão implica expressar numericamente o erro aleatório ou o grau de dispersão de um conjunto de indivíduos, medições por meio do desvio padrão, da variância ou o coeficiente de variação.

A característica da repetibilidade, que é a variação em função do dispositivo de medição, refere-se ao uso do método analítico, realizado em um laboratório, utilizando o mesmo equipamento de medição, sendo estas realizadas pelo mesmo analista dentro de um curto período de tempo, no caso deste trabalho um sensor óptico. A repetibilidade do sensor óptico foi verificada nesse trabalho utilizando dez determinações seguidas, contemplando três

diferentes concentrações de teor de gordura no leite UHT, teor de gordura de 1,0%, 2,0% e 3,5%. Os resultados apresentam boa repetibilidade e encontram-se representados na Figura 12.

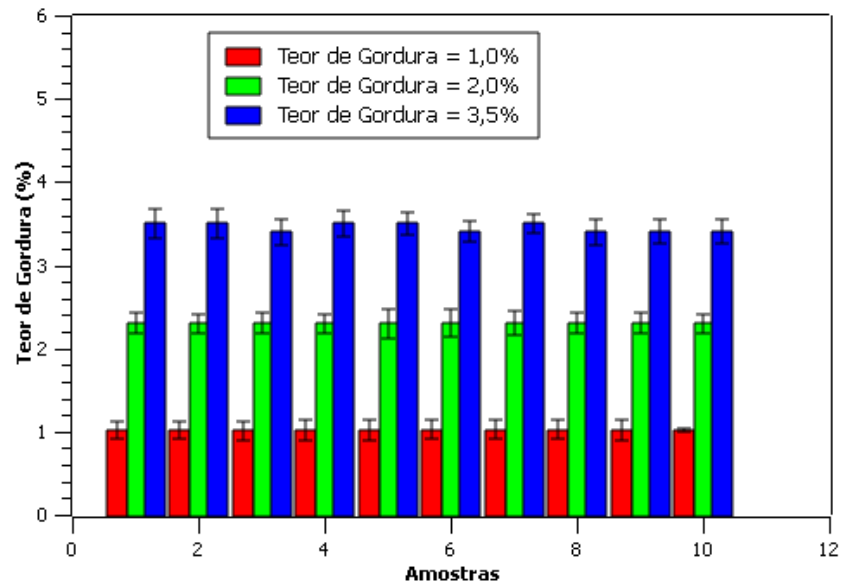


Figura 12- Análise da repetibilidade do sensor óptico na determinação do teor de gordura (%) no leite UHT. Fonte: Autor.

5.3 Precisão intermediária

Enquanto a repetibilidade de um método traduz a precisão do mesmo nas mesmas condições experimentais num curto espaço de tempo, a precisão intermediária torna-se diferente porque reflete a capacidade do método analítico de resistir a variações dos resultados quando analisados em um espaço de tempo maior, como em dias consecutivos, mantendo-se a mesma preparação, instrumental e condições de ensaio. Amostras de leite UHT com teor de gordura de 1,80% e 3,5% foram analisadas em dias distintos e os resultados de precisão intercorrida são apresentados na Figura 13.

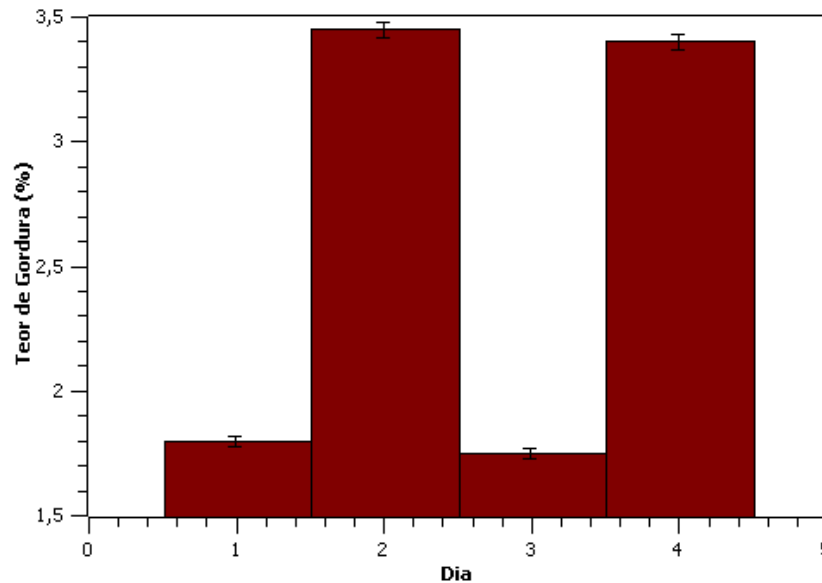


Figura 13- Ensaio de precisão intercorrida para o leite UHT com teor de gordura igual a 1,8% no primeiro e terceiro dias e leite UHT com teor de gordura igual a 3,5% no terceiro e quarto dias distintos. Fonte: Autor.

Os resultados da Figura 13 indicam que o sensor óptico desenvolvido além de possuir boa repetibilidade, também não sofre influência temporal na análise dos diferentes analistas. Os coeficientes de variação (cv) encontrados para as análises de repetibilidade (intra-dia) foram de 2,0% para o teor de gordura de 1,8%, e de 3,0% para a amostra de leite UHT com teor de gordura igual a 3,4%, garantindo, assim, uma adequada precisão do sensor óptico desenvolvido nesse trabalho. As análises intra e inter-dias foram ainda avaliadas quanto à similitude dos resultados, mostrando-se significativamente semelhantes apresentando $p > 0,05$ e intervalo de confiança de 95%.

5.4 Exatidão

A exatidão é a relação de proximidade entre as medições repetidas obtidas pelo método experimental e a referência aceitável. Foi apontado que a exatidão pode ser considerada como aspecto crucial para qualquer método analítico. [27,29] A determinação deste parâmetro permite estimar até que ponto quais erros sistemáticos afetam um método analítico avaliado. [30]

No estudo da exatidão do sensor óptico, determinada pela metodologia da recuperação, mostrou-se entre 96,4%, 98,2% e 99,7% para os três níveis de concentração de gordura no leite UHT analisado (1,0%, 2,5% e 3,5%).

6- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Esse capítulo irá descrever e resumir a pesquisa desta dissertação, identificando o método utilizado e discutindo suas implicações para atingir o objetivo deste trabalho.

Em todo o mundo, o uso de novas tecnologias no campo é o principal responsável pelo crescimento da produção de leite. O avanço tecnológico, que na vanguarda estavam os grandes produtores, à medida que ocorre o barateamento das tecnologias, passa também a ser acessível para os pequenos e médios produtores. A indústria de laticínios, por sua vez, acompanha esta evolução, impondo no setor leiteiro maior dinamismo e competitividade. [29]

Com o aumento da produção e adesão de novos métodos tecnológicos cresce a atenção do mercado para o controle da qualidade físico-química e microbiológica do leite. A plataforma de recepção da usina de beneficiamento ou da indústria segue normas de qualidade, que constituem-se no procedimento de rotina do beneficiamento do leite, com o objetivo de garantir a saúde da população. [28]

Sabendo das necessidades do mercado leiteiro, tanto no que se refere a qualidade de sua matéria prima como ao custo competitivo para produção, este trabalho propõe uma maneira acessível ao produtor de leite para medição da taxa de gordura do leite cru de vaca.

A solução se baseia na criação de um dispositivo de medição da taxa de gordura do leite. Nesse dispositivo a amostra de leite é irradiada com uma onda de comprimento específico, e o sensor óptico apresenta a diferença de potencial relativa a quantidade de gordura presente no leite cru. Os resultados das análises mostraram que o sensor criado apresenta exatidão e precisão suficientes para o dispositivo ser utilizado no campo.

A partir desta pesquisa espera-se desenvolver dois trabalhos. O primeiro deles será para aprimorar o dispositivo criado, aumentando sua funcionalidade, por meio da substituição do emissor TIL32 e do receptor TIL78 por grupos de LEDs que operem nas proximidades de 630nm, região ótima para diferenciação de concentração de gordura do leite cru. O segundo será para utilizar o conceito de sensoriamento óptico para realizar também a medição de outras características analíticas do leite, como proteína e lactose, através da utilização de múltiplos comprimentos de onda e os relacionados com características que tenham implicações de qualidade e também na valorização do leite.

7- REFERÊNCIAS

- [1] MOTTRAM, T. **Animal board invited review: Precision livestock farming for dairy cows with a focus on oestrus detection.** *Animal*, v. 10, n. 10, p. 1575–1584, 2016.
- [2] AERNOUTS, B. et al. Visible and near-infrared bulk optical properties of raw milk. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 6727–6738, 2015.
- [3] XU, W. et al. **Milk quality control: Instant and quantitative milk fat determination with a BODIPY sensor-based fluorescence detector.** *Chemical Communications*, v. 50, n. 72, p. 10398–10401, 2014.
- [4] GIOVANNI CABASSI, MAURO PROFAIZER, LAURA MARINONI, NICOLETTA RIZZI, AND T. M. P. C. Estimation of Fat Globule Size Distribution in Milk Using an Inverse Light Scattering Model in the near Infrared Region. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 21, n. 5, p. 359–373, 2013.
- [5] ARMSTRONG, T. V. Variations in the Gross Composition of Milk as Related to the Breed of the Cow: A Review and Critical Evaluation of Literature of the United States and Canada. **Journal of Dairy Science**, v. 42, n. 1, p. 1–19, jan. 1959.
- [6] OLIVEIRA, C. A. F.; FONSECA, L. F. L.; GERMANO, P. M. L. **Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite.** *Higiene Alimentar*, v.13, n.62, p.10-13, 1999.
- [7] TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite.** In: 5ª edição ed. [s.l: s.n.]. p. 103 a 142.
- [8] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Política Agrícola, **BRASIL PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO 2016/2017 a 2026/2027.** 8ª edição 2017.
- [9] United Nations. Food and Agriculture of the United Nations. **Milk and Milk Products: Price and Trade Update**, Junho de 2017.
- [10] Texas Instruments. **ADS7028 Small, 8-Channel, 12-Bit ADC with SPI Interface**,

GPIOs, and CRC. Dallas, Texas. Jun. 2019.

[11] DPA Brasil. Produtor DPA, 2005. **Pagamento do Leite.** Disponível em: <<https://www.produtordpa.com.br/informe-se/pagamento-de-leite>>. Acesso em: 10Maio2020

[12] TSENKOVA, R. et al. **Near-infrared spectroscopy for dairy management: Measurement of unhomogenized milk composition.** Journal of Dairy Science, v. 82, n. 11, p. 2344–2351, 1999.

[13] **Clínica do Leite.** Disponível em: <<https://www.clinicadoleite.com.br/>>. Acesso em: 6 ago. 2018.

[14] CROFCHECK, C. L. et al. **Fiber optic sensor response to low levels of fat in skim milk.** Journal of Food Process Engineering, v. 23, n. 2, p. 163–175, 2000.

[15] IÑÓN, F. A.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 2, p. 401–412, 2004.

[16] KALININ, S. V. et al. Probing the role of single defects on the thermodynamics of electric-field induced phase transitions. **Physical Review Letters**, v. 100, n. 15, p. 2–5, 2008.

[17] PURNOMOADI, A. et al. **Influence of feed source on determination of fat and protein in milk by near-infrared spectroscopy.** International Dairy Journal, v. 9, n. 7, p. 447–452, 1999.

[18] WALSTRA, P. et al. Dairy Science and Technology. **Dairy Science and Technology**, 2005.

[19] BRENNAN, D. et al. Issues in development of NIR micro spectrometer system for on-line process monitoring of milk product. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, v. 33, n. 1, p. 67–74, 2003.

[20] KALININ, A. V.; KRASHENINNIKOV, V. N.; POTAPOV, A. V. Effect of dispersion structure variation on chemometrical calibration of near-infrared spectrometer: Protein fractions in milk and reversed micelles solutions. **Chemometrics and Intelligent**

Laboratory Systems, v. 97, n. 1, p. 33–38, 2009.

[21] BOGOMOLOV, A. et al. Quantitative determination of fat and total protein in milk based on visible light scatter. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 412–418, set. 2012.

[22] Al-Ali, Ammar; Indorf, Keith Ward. **Total Hemoglobin Screening Sensor**. Depositante: Masimo Corporation, Irvine, CA (US). Depósito:5 Fev. 2019. Concessão: 6 Jun. 2019.

[23] Sluis, Paul Van Der. **Optical particle sensor and sensing method**. Depositante: Koninklijke Philips N. V., Eindhoven (NL). Depósito:31 Jan. 2018. Concessão: 6 Ago. 2019.

[24] He, Yi; Pi, Bo. **Under - LCD screen optical sensor module for on - screen fingerprint sensing**. Depositante: Shenzhen Goodix Technology Co,Ltd. Shenzhen (CN). Depósito:18 Set. 2017. Concessão: 4 Jan. 2018.

[25] LORBER, B. et al. Protein analysis by dynamic light scattering: Methods and techniques for students. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 40, n. 6, p. 372–382, nov. 2012.

[26] ISO (2008). ISO 488:2008 (IDF 105:2008). **Milk — Determination of fat content — Gerber butyrometers**

[27] BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. INMETRO: DOQ-CGCRE-008. **Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos**. Brasília, 2003.

[28] RAO, T.N.; **Validation of analytical methods**, (April 25th 2018). Validation of Analytical Methods, Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches, Mark T. Stauffer, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.72087. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/calibration-and-validation-of-analytical-methods-a-sampling-of-current-approaches/validation-of-analytical-methods>. Acesso em: 02Março2020.

[29] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução no 899, de 29 de maio de 2003*. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília, 2003.

[30] ARAUJO, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 877, n. 23, p. 2224–2234, 2009.