

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CAMILLA DORINI MACHADO

**APLICAÇÕES DA COLORIMETRIA POR IMAGENS DIGITAIS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES NO LEITE**

PONTA GROSSA

2022

CAMILLA DORINI MACHADO

**APLICAÇÕES DA COLORIMETRIA POR IMAGENS DIGITAIS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES NO LEITE**

Applications of colorimetry by digital images for identification of fraud in milk

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).
Orientador: Prof. Dr. Marcos André Bechlin

PONTA GROSSA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

CAMILLA DORINI AMCHADO

**APLICAÇÕES DA COLORIMETRIA POR IMAGENS DIGITAIS PARA
IDENTIFICAÇÃO DE FRAUDES NO LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia Química da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 16/novembro/2022

Marcos André Bechlin
Doutorado em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Sabrina Avila Rodrigues
Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Cesar Arthur Martins Chornobai
Doutorado em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**PONTA GROSSA
2022**

Dedico esse trabalho a minha família que, com muito amor, sempre me incentivou para a realização dos meus sonhos, me encorajando e não medindo esforços para que um dia eu chegasse até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus que sempre esteve ao meu lado me dando forças para superar todos os obstáculos.

Agradeço a minha família, por ser meu alicerce e estar ao meu lado em todos os momentos. Por vibrar todas as minhas vitórias e conquistas junto comigo. Por me ensinar o valor do estudo e me apoiar em cada etapa da minha jornada, por acreditarem em mim e por insistirem em mim. Obrigada pelas orações feitas, por todo amor, cuidado e compreensão em momentos que pareciam apenas escuridão. Vocês são meu porto seguro, tudo o que eu sei sobre amor, aprendi com vocês. Me deram asas para voar, mas me garantiram um abraço quente na volta.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos André Bechlin, por sempre estar disposto e presente, pelo seu profissionalismo e seus ensinamentos. Obrigada pela paciência e por acreditar em mim. Agradeço a caminhada que me proporcionou e pelas oportunidades que tive na área da pesquisa. Obrigada pela amizade e por ter me recebido de braços abertos.

Agradeço aos meus amigos, que me proporcionaram ter um caminho mais leve e prazeroso durante esses anos. Obrigada pelo companheirismo e por dividirem momentos únicos comigo. Deus colocou vocês em meu caminho e eu sou grata por isso. É um privilégio quando temos ao nosso lado pessoas tão maravilhosas, nunca saberei agradecer o apoio que me ofereceram em momentos em que tanto precisei. Sempre que penso no passado, e em tudo que já fizemos e fomos umas para as outras, o coração aquece e sorri.

Agradeço a instituição UTFPR, pela qualidade de ensino e oportunidades. Agradeço aos meus mestres pelo amadurecimento acadêmico e conhecimento oferecido durante a realização do curso.

E por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para que minha jornada acadêmica pudesse ser concluída.

RESUMO

O leite faz parte de um grupo de alimentos de grande valor nutricional, sendo fonte de proteínas, vitaminas e minerais. Devido a estas características é amplamente consumido, destacando seu valor comercial. Considerando os avanços no conhecimento sobre os efeitos que os alimentos têm na saúde humana, as exigências dos consumidores por produtos de maior qualidade e mais saudáveis têm elevado o nível de controle de qualidade por parte dos produtores, das indústrias e dos órgãos fiscalizadores. O leite, devido a suas características é um dos alimentos mais suscetíveis a fraudes, sendo desenvolvidas inúmeras metodologias analíticas para monitorar e controlar sua qualidade, verificando a ocorrência de adulterações. Os padrões de qualidade devem ser rigorosamente controlados para garantir um alimento saudável e que não cause danos à saúde dos consumidores. A Instrução Normativa nº 68, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, de 12 de dezembro de 2006, contém os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite. No entanto, à medida que novas técnicas de adulteração foram surgindo novos métodos para detecção de adulterantes foram sendo desenvolvidos, demonstrando alto potencial para a determinação da qualidade e/ou autenticidade do leite. Dessa forma, a alternativa desenvolvida neste trabalho na qual é de simples manuseio e baixo custo que apresentou grande potencial para monitoramento de possíveis fraudes, é a colorimetria por imagens digitais. Esta se baseou no uso de smartphones para coleta de imagens de reações colorimétricas, onde foram tratadas para obter informações dos valores do espaço de cores RGB (red, blue e green), a partir dos quais foi possível realizar a quantificação da substância analisada. Condições interferentes foram otimizadas, e parâmetros de análise foram estabelecidos de forma exitosa e o método aplicável, conseguindo obter caráter quantitativo validado pela análise de amostras de leite em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio.

Palavras-chave: laticínio; fraudes; quantificação; hipoclorito.

ABSTRACT

Milk is part of a group of foods of great nutritional value, being a source of protein, vitamins, and minerals. Due to these characteristics it is widely consumed, highlighting its commercial value. Considering the advances in knowledge about the effects that food has on human health, consumer demands for higher quality and healthier products have raised the level of quality control by producers, industries and inspection agencies. Milk, due to its characteristics, is one of the foods most susceptible to fraud. Numerous analytical methodologies have been developed to monitor and control its quality, checking for adulteration. The quality standards must be strictly controlled to ensure a healthy food that does not cause harm to consumers' health. The Normative Instruction N°. 68, of December 12, 2006, contains the official physical-chemical analytical methods for milk control. However, as new adulteration techniques have emerged, new methods for the detection of adulterants have been developed, demonstrating a high potential for determining the quality and/or authenticity of milk. Thus, the alternative developed in this work, which is simple to use and low cost, and which has shown great potential for monitoring possible frauds, is colorimetry by digital imaging. This was based on the use of smartphones to collect images of colorimetric reactions, which were processed to obtain information about the values of the RGB color space (red, blue and green), from which it was possible to perform the quantification of the analyzed substance. Interfering conditions were optimized, and analysis parameters were successfully established and the method was applicable, obtaining validated quantitative character by analyzing milk samples in different concentrations of sodium hypochlorite.

Keywords: dairy; fraud; quantification; hypochlorite.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Faixa de densidade e ponto crioscópico	20
Figura 2 – Exemplo do processo de digitalização da imagem	27
Figura 3 – <i>Modelo RGB</i>	28
Figura 4 – Cubo de cores RGB, e representação da escala de cinza, que se situa entre a coloração preta (0, 0, 0) e a coloração branca (1, 1, 1).	29
Figura 5 – Exemplo do modelo RGB para coloração azul.	30
Figura 6 – Combinação dos pixels	31
Figura 7 - Esquema do procedimento analítico otimizado utilizado por Anna Flávia	33
Figura 8 - Projeto da cabine de captura, onde: a) carcaça; b) trilho móvel com orifício de captura; c) gaveta de inserção da amostra; d) suporte de apoio ao trilho; e) tampa com estrutura para colagem da fita de LED; f) orifícios de inserção do conector da fonte; g) orifício de inserção do interruptor	36
Figura 9 – Cabine utilizada na captura das imagens das amostras	36
Fotografia 1 – Equipamentos utilizados: celular, cabine e placa de teste	35
Fotografia 2– Resultado obtido no processo de verificação de adulteração do leite UHT por NaClO	39
Fotografia 3– Pontos coletados para realizar o tratamento de dados: a) ponto superior; b) ponto direito; c) ponto inferior; d) ponto esquerdo; e) ponto central	41
Fotografia 4 – Local escolhido para quantificação	43
Fotografia 5– Cabine de luz em funcionamento	43
Gráfico 1 – Curva de calibração construída com escalas entre 30 a 3000 mg/L feito com o ponto central da imagem obtida no poço da placa de teste.....	40
Gráfico 2– Curva de calibração construída com escalas entre 30 a 3000 mg/L feito com a média de cinco pontos da imagem obtida no poço da placa de teste	41
Gráfico 3 – Curvas de calibração com todas as possibilidades de razões para o modelo matemático	44
Gráfico 4 – Curva de calibração B/R que melhor se adequou ao perfil de pontos, com R-quadrado igual a 0,9872.....	45
Gráfico 5 – Curva de calibração utilizando a razão B/R para todos os canais RGB entre concentrações de 30 a 3000 mg/L de NaClO.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição média do leite.....	16
Tabela 2 – Comparação de características físico-químicas do soro com o leite	24
Tabela 3 – Dados obtidos do canal RGB para cada concentração de NaClO com o ponto central da imagem.....	42
Tabela 4 – Dados obtidos do canal RGB para cada concentração de NaClO com a média dos cinco pontos da imagem.....	42
Tabela 5 – Resultado das concentrações recuperadas no teste realizado em três níveis para as três amostras de leite UHT	46
Tabela 6 – Resultado da média das concentrações recuperadas versus a real das amostras de leite UHT.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo Geral	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Composição e Qualidade do leite	16
3.1.1	Tipos comuns de fraudes em leite	19
3.1.2	Fraudes por adição de água e reconstituintes de densidade	20
3.1.3	Fraudes por desnate	21
3.1.4	Fraudes por adição de neutralizantes	21
3.1.5	Fraudes por adição de conservantes	22
3.1.6	Fraudes por resíduos antibióticos.....	23
3.1.7	Fraudes por adição de soro de queijo	23
3.1.8	Legislação	25
3.2	Métodos colorimétricos de análise	25
3.3	Imagens digitais	26
3.3.1	Modelo de cor RGB	28
3.3.2	Os pixels.....	30
3.3.3	Câmera Digital.....	31
3.4	Aplicações de imagens digitais	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Amostras	34
4.2	Reagentes e soluções.....	34
4.3	Equipamentos e acessórios	35
4.4	Otimização das condições de análise	36
4.5	Preparo da amostra e digitalização	37
4.6	Tratamento dos dados	37
4.7	Validação do método	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
5.1	Otimização das condições de análise	39
5.1.1	Testes da presença de adulteração por NaClO	39
5.2	Escalas de coloração e pontos coletados para tratamento de dados	40

5.3	Curvas de calibração	44
5.4	Validação do teste	46
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS.....	49
	ANEXO A - Lei n. 9.610, de 19 de fevereiro de 1998.....	54

1 INTRODUÇÃO

O leite é definido como um fluido biológico de alto valor nutritivo que se apresenta como uma emulsão de glóbulos de gordura e uma suspensão de micelas de caseína, dispersa em fase aquosa que contém solubilizadas moléculas de lactose, proteína do soro de leite e alguns minerais (ORDÓNEZ et.al, 2005). Em razão desses constituintes, é visto como um alimento básico na dieta alimentação humana, sendo uma das fontes de proteína mais acessível do mundo (DOS SANTOS, 2013).

Nas últimas décadas os consumidores têm buscado, cada vez mais, alimentos saudáveis e com garantia de procedência. Assim, o controle na qualidade do leite está exigindo mais atenção por parte dos produtores, das indústrias e órgãos fiscalizadores (SOARES, 2013).

No Brasil, o monitoramento da qualidade deste produto é realizado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio da Instrução Normativa nº 68 (IN-68) (BRASIL, 2006). Nessas inspeções são feitas verificações nas linhas de produção, no atendimento das boas práticas de fabricação e procedimentos operacionais padronizados. Além disso, abrange análises para identificação e quantificação de água oxigenada, amido, cloretos, neutralizantes de acidez, sacarose, álcool etílico e soro no leite (SILVEIRA, 2014). No entanto, muitas vezes, esses métodos são incapazes de detectar de forma direta, a autenticidade do produto, além de exigir tempo, grandes volumes de reagentes químicos e equipamentos específicos.

A cadeia do leite ainda é frágil e uma das mais suscetíveis a fraudes e adulterações, tornando-se um dos alimentos de grande vulnerabilidade, principalmente em países em desenvolvimento (RONCATO; RONCATO; VILLWOCK, 2017). Diante desse contexto, a busca por novas técnicas de detecção de fraudes alimentares se faz necessária. Uma alternativa de simples manuseio e baixo custo, que vem sendo empregada nos últimos anos, é a utilização de *smartphones* para coleta de imagens digitais de reações colorimétricas. Essa técnica é baseada no tratamento da imagem obtida e a conversão em valores do espaço de cores RGB (*red*, *blue* e *green*), obtendo um sinal a partir de uma das escalas de coloração existentes e, a partir da intensidade da coloração, é possível relacionar esta medida com a concentração de determinada substância (REDAÇÃO CCS/CAPES, 2020).

Neste sentido, este trabalho abordará o desempenho da aplicação da colorimetria por imagens digitais para monitoramento de parâmetros físico-químicos relacionados ao controle de qualidade do leite, uma vez que apresenta como vantagens sobre as demais técnicas analíticas a possibilidade do desenvolvimento de procedimentos rápidos, de baixo custo, com aplicações em tempo real, além de ser inovador e tecnológico.

2 OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho serão apresentados a seguir.

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho da colorimetria por imagem digital para o desenvolvimento de um procedimento simples, rápido e de baixo custo para a identificação de adulterações, como a adição de hipoclorito em amostras de leite integral UHT.

2.2 Objetivos Específicos

- Otimizar as condições de análise, tais como, iluminação, tratamento dos dados, faixa de trabalho, entre outros;
- Construir curvas de calibração e determinar os parâmetros de desempenho analítico, tais como, limite de detecção e de quantificação;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras de leite adquiridas nos supermercados do município de Ponta Grossa - PR;
- Avaliar o potencial do método na identificação de amostras adulteradas em laboratório.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para a realização deste trabalho foi feita uma revisão bibliográfica a respeito das características do leite, as principais fraudes existentes e a metodologia utilizando as imagens digitais para identificar e quantificar adulterações a fim de garantir uma aplicação rápida, com baixo custo benefício e eficiente no mercado.

3.1 Composição e Qualidade do leite

O leite é definido como “produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas” (BRASIL, 2011). Do ponto de vista físico-químico, é composto por uma combinação de elementos sólidos em água, sendo que esta representa, em média, 87% da composição média do leite (Tabela 1). De forma geral, os principais constituintes sólidos são os lipídeos, carboidratos, sais minerais, proteínas e vitaminas (EMBRAPA, 2021).

Tabela 1 – Composição média do leite

Componentes	Composição média no leite	IN-76 do MAPA de 2018	Variação
Água (g/100g)	87,1	-	85,3–88,7
Lactose (g/100g)	4,6	Mín 4,3	3,8–5,3
Gordura (g/100g)	4,0	Mín 3,0	2,5–5,5
Proteína (g/100g)	3,3	Mín 2,9	2,3–4,4
Minerais (g/100g)	0,7	-	0,57–0,83
Ácidos orgânicos (g/100g)	0,17	-	0,12–0,21
Outros (g/100g)	0,15	-	-
Sólidos não gordurosos (g/100g)	8,9	Mín 8,4	7,9–10,0
Sólidos totais (g/100g)	12,9	Mín 11,4	11,3–14,7

Fonte: Autoria Própria (2021)

A composição do leite e a quantidade produzida podem sofrer variações devido a alguns fatores, como: espécie, raça, fisiologia, alimentação, estações do ano,

doenças, período de lactação, ordenhas, fraudes e adulterações. A composição é um fator determinante para o estabelecimento da qualidade nutricional e adequação para processamento e consumo humano (SILVA, 1997).

A água é o componente mais importante e majoritário do leite, no qual estão dispersos, dissolvidos ou emulsionados o restante dos componentes. Ela pode realizar várias interações químicas, de grande importância na tecnologia de lácteos (GUIMARÃES, 2008). A maior parte encontra-se em água livre, podendo também estar na forma ligada a outros componentes como proteínas, lactose e substâncias minerais. A importância da água no leite deve-se à sua influência em diversas reações, como a de *Maillard*, oxidação de lipídeos, desenvolvimento microbiano, cristalização da lactose, entre outros (SILVA, 1997).

Na indústria, com o intuito de diminuir a água livre e estender a vida de prateleira dos produtos, é realizado a concentração do leite por meio da evaporação ou separação por membranas, obtendo produtos como leites concentrados, leite condensado e doce de leite, bem como a secagem por atomização para obtenção de produtos desidratados como o soro e leite em pó (LIPA/UFV, 2021).

Outro componente presente no leite é a gordura; os lipídeos no leite ocorrem como pequenos glóbulos, contendo principalmente triacilgliceróis, envolvidos por uma membrana lipoproteica (SOARES, 2013). O leite apresenta um teor médio de 4,0% de gordura, sendo composto quase que em totalidade por triacilgliceróis (em torno de 98% dos lipídios do leite) com a predominância de ácidos graxos (AG) de cadeia média e longa. Outros lipídios do leite são fosfolipídios (cerca de 1%) e ácidos graxos livres (menos de 0,5%). (EMBRAPA, 2021).

Para a EMBRAPA (2021), além dos lipídios, são encontrados no leite, traços de β -caroteno, vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e compostos aromatizantes. As vitaminas e minerais são compostos essenciais que devem fazer parte da dieta da população e para Silva (1997), o leite é uma importante fonte de vitaminas. Mais de dez vitaminas diferentes do complexo B são encontradas no leite. Entretanto, com exceção da vitamina B2 (riboflavina), as outras são encontradas em quantidades pequenas. As vitaminas do complexo B são produzidas no estômago composto (rúmen) dos animais (EMBRAPA, 2021).

Ainda sobre a composição do leite pode-se citar as proteínas. Do ponto de vista nutricional, elas apresentam um alto valor biológico por possuir todos os aminoácidos essenciais em elevadas concentrações com boa digestibilidade. Existem

vários tipos de proteína no leite, a caseína é a mais importante, sendo que existem vários tipos identificados de caseína (alfa, beta, gama, kappa), que possuem estruturas similares, porém, diferente importância para a qualidade do leite (GONZÁLEZ; NORO, 2011).

Essa proteína é produzida pelas células secretórias da glândula mamária e encontra-se organizada na forma de micelas, que são agrupamentos de várias moléculas de caseína junto com cálcio, fósforo e outros sais. Cerca de 95% da caseína total do leite está nessa forma. As micelas de caseína junto com os glóbulos de gordura são responsáveis por grande parte das propriedades relativas à consistência e à cor dos produtos lácteos. Ela não é facilmente alterada pelo calor, permanecendo bastante estável quando o leite é pasteurizado. Entretanto, quando ocorrem mudanças na acidez do leite, há rompimento da estrutura das micelas, o que faz a caseína precipitar e formar coágulos (EMBRAPA, 2021).

Juntamente com todos esses componentes, estão os carboidratos. A lactose é o principal carboidrato do leite e o componente majoritário dos sólidos lácteos. A quantidade de água do leite e, conseqüentemente, o volume de leite produzido pela vaca, depende da quantidade de lactose secretada na glândula mamária. Este carboidrato é formado por dois monossacarídeos, glicose e galactose de baixo poder edulcorante (1/4 da doçura comparado com a sacarose) que atua regulando o controle osmótico do leite. É um dos elementos mais estáveis, isto é, menos sujeito a variações. O leite possui em média 4,6% de lactose, e de acordo com a legislação vigente deve apresentar um teor mínimo de 4,3% (BRASIL, 2018).

Em produtos lácteos concentrados e desidratados, a lactose está presente em altas concentrações e devido à sua baixa solubilidade pode afetar a textura destes produtos, resultando em defeitos como arenosidade (grandes cristais perceptíveis na boca) em leite condensado e doce de leite. Outro ponto importante se deve a participação da lactose na reação de *Maillard*, que ocorre em elevadas temperaturas durante um longo tempo, gerando a produção de compostos que modificam as características sensoriais do alimento (LIPA/UFV, 2021).

Além das variações naturais dos constituintes do leite ocorrem também alterações motivadas pela ação humana alguma vezes com fins industriais/tecnológicos e outras para promoção intencional de alguma característica não apresentada naturalmente pelo produto ou para mascarar alguma característica

não desejável, são as chamadas adulterações, vistas de modo mais detalhado a seguir.

3.1.1 Tipos comuns de fraudes em leite

Ao analisar arquivos em jornais e na internet, é possível ver registros históricos de 1880 relacionados as fraudes no leite. Para cada fraude detectada ao longo dos anos, houve o desenvolvimento de técnicas analíticas capazes de identificá-las (CASSOLI, 2012).

A ocorrência de adição de substâncias estranhas ao leite está relacionada a fraudes que podem ocorrer desde o produtor até a fase de comercialização. Inicialmente, as adulterações do leite almejavam o aumento do volume, por meio da adição de água, e desnate para produção de creme de leite. Posteriormente, outros tipos de adulterações surgiram, como a adição de soro de queijo, de substâncias conservantes (peróxido de hidrogênio), neutralizantes (hidróxido de sódio, bicarbonato de sódio) e reconstituintes da densidade e crioscopia (sal, açúcar, amido) (ALMEIDA, 2013).

Por ser de origem biológica, a composição do leite é complexa e pode apresentar variação nos seus componentes, influenciando assim, na qualidade e na quantidade do leite de um animal. Há limites para essa variação, tanto para detectar problemas na produção, como para acusar adulterações no produto (BHEMER, 1999).

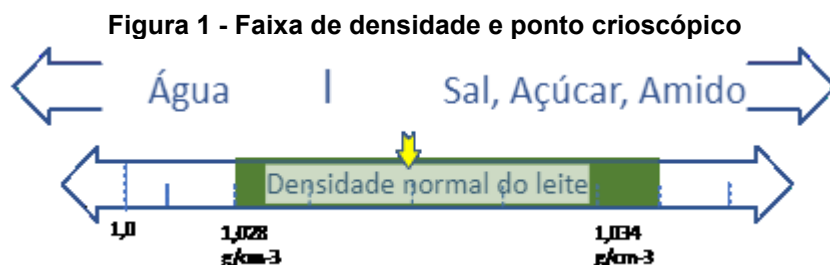
Um exemplo grave que ficou mundialmente conhecida, ocasionada por falta de segurança a fraude em leite ocorreu em 2008, na China. Neste episódio morreram seis pessoas e 300 mil pessoas adoeceram, por meio da adição de melamina visando mascarar o valor proteico do leite (SHARMA; PARADAKAR, 2010). No Brasil, em 2007, a Polícia Federal flagrou duas cooperativas de laticínios no estado de Minas Gerais acusadas de adicionar soro de leite, peróxido de hidrogênio e hidróxido de sódio ao leite longa vida integral, numa operação que ficou conhecida como “Ouro Branco”. No início de 2013, o Ministério Público desencadeou a “Operação Leite Compensado” com o objetivo de coibir a fraude em leite cru que era realizada por um grupo de transportadores do interior do Rio Grande do Sul com adição de água e ureia (ALMEIDA, 2013). E em 2014, foi deflagrada a chamada “Operação Leite Adulterado” I e II, no estado de Santa Catarina, e o III envolvendo os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, com o objetivo de investigar e punir os envolvidos em adulteração de leite (BRASIL, 2014).

Tipicamente, o leite é adulterado para ganho financeiro ou devido às más condições de higiene de processamento, armazenamento, transporte e comercialização. Pode-se dividir as fraudes no leite em quatro grandes grupos: alteração intencional na composição do leite, falhas na pasteurização, mistura de leites de espécies diferentes e fraudes de rotulagem.

3.1.2 Fraudes por adição de água e reconstituintes de densidade

É perceptível as diversas fraudes que podem ser encontradas no leite, a mais frequente no país é a por adição de água, com o intuito de aumentar o volume, diminuindo o valor nutritivo do leite. Com a adição de água, há a alteração do índice de crioscopia, que indica a temperatura de congelamento do leite e da densidade. A presença de água pode ser percebida pela interpretação dos valores obtidos na crioscopia e densidade. A densidade fica reduzida e a crioscopia mais alta, de modo que o valor se aproxima do ponto de congelamento da água (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

Após a fraude inicial com água, outros atos fraudulentos são realizados na tentativa de mascarar e identificar a adição do primeiro, geralmente, feito com a adição de substâncias que alteram os índices de densidade e crioscopia do leite fraudado para valores próximos aos naturais. Em síntese, como a adição de água aumenta o ponto de congelamento do leite, isso o faz ficar próximo de zero. Substâncias químicas quando dissolvidas ficam em solução perfeita, possuindo efeito contrário, diminuindo esse ponto de congelamento. Dessa forma, substâncias como o sal, o açúcar, o álcool e o citrato podem compensar a adição fraudulenta de água conforme a Figura 1 apresentada.



Fonte: Adaptado de Fagnani (2016)

Essas substâncias adicionadas visam ocultar a fraude realizada. Tais substâncias são chamadas de reconstituintes, por constituírem a densidade ou a

crioscopia do leite. De acordo com a IN-62, não é permitida a utilização de aditivos e coadjuvantes de tecnologia na elaboração do leite. Mesmo que a adição desses elementos não cause problemas de saúde humana, uma vez que não são tóxicos (BRASIL, 2011).

3.1.3 Fraudes por desnate

O desnate, retirada de gordura, na propriedade rural é considerada ilegal e é um dos possíveis fatores que podem afetar a porcentagem da gordura no leite (BRASIL, 2006). A determinação de gordura é também um dos meios utilizados para verificar fraude em leite. A determinação da densidade serve como método de detecção no que se refere ao desnate ou a adição de água, apesar de não ser um teste conclusivo, pois leites com alto teor de gordura apresentam-se com valores de densidade menores em virtude da baixa densidade das gorduras. O desnate do leite e a adição de amido são alterações que fazem a densidade aumentar (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

Uma forma de evitar e combater o desnate é o pagamento ao produtor por qualidade, recompensando financeiramente de acordo com o teor de gordura apresentado no leite.

3.1.4 Fraudes por adição de neutralizantes

Durante o processo de deterioração, os microrganismos produzem diversos metabólitos que alteram a composição natural do leite, convertendo, por exemplo, a lactose em ácido láctico. Esse diminui o pH do leite, e, para encobrir esse processo, substâncias básicas são adicionadas para recompor o pH natural, que varia de 6,4 a 6,8 (BRASIL, 2018). Essas substâncias são os neutralizantes, como o bicarbonato de sódio, o óxido de cálcio e o hidróxido de sódio. Eles possuem efeito apenas no pH, não possuindo efeito bactericida. Ao neutralizar o pH ácido do leite, é restaurado um ambiente favorável a multiplicação microbológica (FAGNANI, 2016).

É considerada uma fraude intencional, uma vez que tem o intuito de aumentar a conservação ou diminuir a acidez. No entanto, a presença dessas substâncias pode ocorrer também devido a falhas da higienização e da sanitização que utilizam soluções alcalinas na limpeza de equipamentos, utensílios ou mesmo da própria

estrutura física para remoção de gordura do leite (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

Dessa forma, para evitar a degradação do leite na propriedade, que é o principal motivador da fraude por neutralizantes, a IN-62 (BRASIL, 2011) determina que o leite deve ser refrigerado na propriedade após a ordenha, na qual, leites armazenados em tanque de expansão direta devem ser armazenados a temperaturas de no máximo 4°C, durante o período máximo de 48 horas. Leites armazenados em tanques de imersão devem ser armazenados a, no máximo, 7°C por no máximo 48 horas. Como também é possível entregar o leite sem refrigeração ao laticínio desde que a entrega ocorra em, no máximo, 2 horas após a ordenha, e desde que o estabelecimento aceite esse tipo de produto. Esses tanques devem, obrigatoriamente, ser vinculados aos estabelecimentos sob inspeção federal e também devem atender todas as normas complementares (IN 62) (BRASIL, 2011).

3.1.5 Fraudes por adição de conservantes

Outro tipo de fraude é a adição de bicarbonatos, formol, ácido bórico, peróxido de hidrogênio, dicromato de potássio, hipocloritos e ácido salicílico empregados como conservantes. Muitos são compostos tóxicos, por exemplo, os hipocloritos, que quando ingeridos podem provocar intoxicação aguda, irritações e queimaduras do trato gastrointestinal. Ou ainda, quando ingeridos em pequenas e frequentes doses podem ter efeitos carcinogênicos (BHEMER, 1999).

Devido ao seu metabolismo, os microrganismos podem facilmente deteriorar o leite. Para impedir que isso aconteça, esses conservantes são fraudulentamente adicionados, possuindo a capacidade de destruir os microrganismos e impedir a sua multiplicação (FAGNANI, 2016). Leites com carga microbiana elevada apresentam pH alterado e, conseqüentemente, acidez Dornic elevada, diagnosticado através dos testes durante a recepção, o que causa recusa do leite pelo laticínio (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

3.1.6 Fraudes por resíduos antibióticos

Os agentes mais relacionados a enfermidades veiculadas por alimentos são os microrganismos, mas a presença de resíduos de substâncias químicas é comum em todo o mundo. Resíduos de antimicrobianos são detectados com alta frequência e a presença destes resíduos no leite é considerada uma contaminação e adulteração do produto. A ocorrência de antimicrobianos no leite deriva do tratamento de vacas em lactação que apresentam doença infecciosa, ou devido ao controle de mastite durante o período seco (NETO, et al,2017).

A IN-62 de 2011 do MAPA, diz que não é permitido o envio de leite a estabelecimento industrial quando oriundo de animais que estejam sendo submetidos a tratamento com drogas e medicamentos de uso veterinário em geral, passíveis de eliminação pelo leite, motivo pelo qual devem ser afastados da produção pelo período recomendado pelo fabricante, de forma a assegurar que os resíduos da droga não sejam superiores aos níveis fixados em normas específicas.

Métodos usados para garantir amostras livres de resíduos de antimicrobianos incluem: método de inibição microbiológica, métodos imunológicos, métodos enzimáticos, cromatografia gasosa, cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

3.1.7 Fraudes por adição de soro de queijo

Felício (2007) cita o professor Luiz F. Prata, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), autor da seguinte afirmação: “uma das fraudes que mais preocupam na atualidade é a substituição de parte do leite por soro de queijo; ao utilizar um derivado do próprio leite, impõe dificuldades à sua detecção e coibição”. Ainda complementa que, a cada 10% de soro adicionado ocorre diminuição de 8% no teor de proteínas e, conseqüentemente, prejuízos econômico e nutricional ao consumidor. Apesar disso, alguns fraudadores mascaram esta fraude através do emprego de outros ingredientes como sacarose e cloreto de sódio, capazes de restaurar os valores analíticos normais obtidos a partir da análise físico-química do leite (VELLOSO, 2003).

Muitos métodos já foram desenvolvidos para descobri-la, mas todos possuem suas fragilidades. Até pouco tempo, pensava-se que a cromatografia era imbatível

nessa questão, mas isso já não é realidade. O principal motivo é que a composição do soro é semelhante à composição do leite. Na Tabela 2, abaixo, pode-se observar os valores médios das características físico-químicas do soro comparando-as com o leite.

Tabela 2 – Comparação de características físico-químicas do soro com o leite

	Soro	Leite
Densidade (g/cm ³)	1,025	1,031
pH	6,3	6,6
Acidez-Dornic (°D)	12	16
Crioscopia (°H)	-0,560	-0,542
Gordura (%)	0,5	3,5
Proteína (%)	0,8	3,3
Lactose	4,7%	4,7%
Minerais	0,7%	0,9%

Fonte: Autoria Própria (2021)

É possível notar que o fator limitante para a adição de soro no leite é a diluição da concentração de gorduras e proteínas. Por isso, dependendo da quantidade adicionada, a detecção fica imperceptível nas análises de rotina, como densidade, crioscopia e acidez Dornic. Assim, é necessário realizar outras provas específicas para a detecção de soro (FAGNANI, 2018).

A legislação brasileira utiliza como critério de avaliação de qualidade do leite a determinação quantitativa do caseinomacropéptido (CMP), resultante da ação proteolítica de enzimas, e considera inadequado ao consumo humano o leite com concentração de CMP acima de 75 mg/L (BRASIL, 2006). E se o índice de CMP for superior, este poderá ser destinado à alimentação animal, indústria química em geral, não podendo ser utilizado na alimentação humana. Uma presença superior a 30 mg/L de CMP no leite já é considerado como fraude, indicando que o leite não está dentro dos padrões adequados de qualidade, tornando-o impossibilitado de ser comercializado com a denominação de leite.

Em caso de fraude por adição de soro de queijo ao leite, os índices de CMP podem se apresentar aumentados por ser este resultante da hidrólise da k-caseína na etapa de coagulação enzimática do processo de fabricação de queijo. No entanto, proteases de origem bacteriana, principalmente as proteases termoestáveis

produzidas por microrganismos psicrotróficos podem, também, ser responsáveis por esse fenômeno mesmo após o tratamento térmico (ABRANTES; CAMPÊLO; SILVA, 2014).

3.1.8 Legislação

Atualmente estão em vigor as IN 62, 68 e 69 do MAPA referentes à produção e processamento do leite no Brasil.

A IN-62 regulamenta a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite tipo A, tipo B, tipo C, leite cru, leite refrigerado e leite pasteurizado (BRASIL, 2011).

Já a IN-68 tem como finalidade oficializar os métodos analíticos físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, e conformidade com o anexo desta IN determinando que sejam utilizados em Laboratórios Nacionais Agropecuários (BRASIL, 2006).

A IN-69 institui critério de avaliação da qualidade do leite in natura, concentrado e em pó, reconstituídos, com base no método analítico físico-químico oficial denominado “índice de CMP”, de que trata a IN 68, de dezembro de 2006 (Art. 1º). De acordo com o Art. 2º, somente quando o índice de CMP se for igual ou inferior a 30 mg/L, o leite, pode ser destinado para o abastecimento direto. Quando o índice de CMP estiver entre 30 mg/L e 75 mg/L, de acordo com o primeiro parágrafo desse artigo, o leite deveria ser destinado à produção de derivados lácteos (BRASIL, 2006).

3.2 Métodos colorimétricos de análise

A química analítica lida com métodos de separação, identificação e determinação das quantidades relativas dos componentes que constituem uma amostra. Essas informações podem ser obtidas por análises quantitativas e qualitativas (HOLLER et al., 2009).

Uma análise qualitativa fornece informações sobre a identidade das espécies atômicas ou moleculares ou dos grupos funcionais presentes nas amostras (HOLLER et al., 2009). Já a análise quantitativa determina numericamente a quantidade ou proporção de cada componente, ou um componente em especial, presente na amostra estudada (SKOOG et al., 2002). Segundo Holler et al. (2009) as análises

quantitativa e qualitativa dividem-se em métodos clássicos e instrumentais, cujos métodos são aplicados dependendo da necessidade de análise e o comportamento do analito.

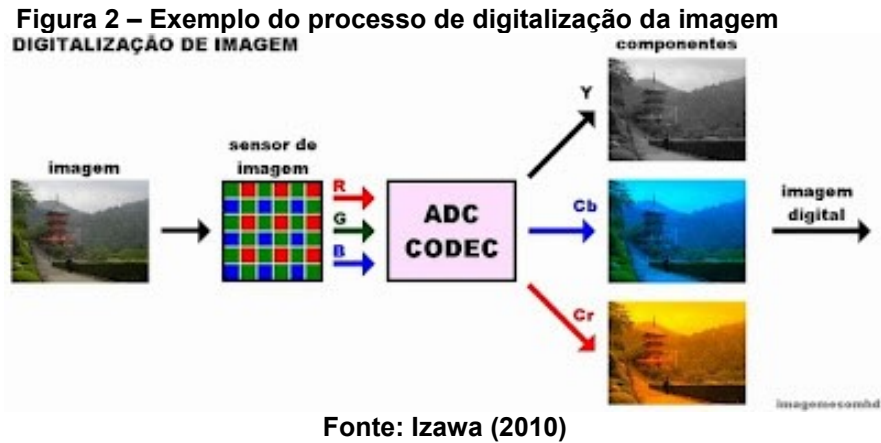
As aplicações da química analítica são encontradas em situações do nosso dia a dia, como em análises clínicas e nutricionais e, para controle de qualidade de inúmeras substâncias que fazem parte de nossa rotina (GOMES et al., 2008).

Dentre as inúmeras técnicas analíticas existentes atualmente, a análise colorimétrica se destaca devido a sua ampla gama de aplicações, sendo este um método instrumental que permite analisar quantitativamente diferentes analitos em uma amostra, a partir de reações seletivas que produzam cor à solução da amostra, cuja intensidade é proporcional a concentração do analito. Por se tratar de um método satisfatoriamente preciso é muito utilizado em análises de rotina, como determinação de fluoretos, fósforo, cloro residual, nitratos, nitritos, entre outros (CORRÊA, 2015).

3.3 Imagens digitais

Uma imagem digital pode ser definida como uma matriz de x linhas e y colunas que possuiu um conjunto finito de pixels. Os pixels são estruturas compostas por uma sequência de dígitos binários em série, geralmente quadriculada, e representam uma intensidade de luz e de cor, onde todos estes pixels em conjunto irão formar a imagem digital. A imagem digital é representada por uma função bidimensional de intensidade da luz $f(x,y)$, onde os valores de x e y representam as coordenadas espaciais e a amplitude de f representa a iluminação e refletância ou o nível de cinza da imagem no ponto, conforme a Figura 2 (GONZALEZ, WOODS 2010; LEÃO, 2005).

Estas imagens podem ser produzidas por diversos equipamentos, incluindo câmeras de vídeo e fotográficas digitais, scanners, aparelhos de raios-X, microscópios eletrônicos, aparelhos de ultrassom e radares, como também webcams e telefones celulares (REDAÇÃO CCS/CAPES, 2020).



Após passar pelo sensor de imagem, na digitalização e compressão, um pixel, que é formado por sub-pixels de RGB, do inglês *Red* (vermelho), *Green* (verde) e *Blue* (azul), passa a conter informação de luminosidade e cores. Uma imagem é formada por três componentes, Luminância Y (luma - preto e branco) e Crominâncias Cb (chroma - azulada) e Cr (chroma - avermelhada). Como a visão humana é mais sensível ao brilho do que às cores, durante a digitalização, as crominâncias são subamostradas, reduzindo a sua quantidade de pixel, sem quase afetar na qualidade perceptível da imagem (IZAWA, 2010; GONZALEZ; WOODS, 2010).

Quando capturada, uma imagem digital assume um tamanho definido pelo seu número de pixels e da resolução de captura. Por exemplo, uma imagem de 1400 x 900 pixels e resolução de 600 DPI (pontos por polegada, do inglês *dots per inch*), tem um tamanho real de 5,92662 x 3,80997 cm. Estas dimensões são calculadas pela Equação 1, onde se inicia calculando a resolução em DPC (pontos por centímetro, do inglês *dots per centimeter*), dividindo a resolução (600 DPI) por 2,54 cm (MACHADO E SOUKI, 2004; GONZALEZ; WOODS, 2010; GAIÃO et al., 2006).

$$\text{Tamanho da imagem} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de pixels}}{\text{Resolução}} \quad (1)$$

Ainda segundo Gonzales e Woods (2010) essa imagem colorida de RGB pode ser decomposta em três imagens diferentes, uma vermelha, uma verde e outra azul, como dito anteriormente, formando uma matriz cúbica $m \times n \times 3$, onde cada imagem representa um lado desta matriz. A partir desta concepção, quando cada componente de cor de uma imagem RGB tem 8 bits, podemos afirmar que a profundidade de cor de cada pixel desta imagem é de 24 bits (8 bits multiplicado por 3 planos). E, segundo

a equação 2, cada componente da imagem tem 256 tons diferentes (2^8) e a imagem RGB tem 16.777.216 cores (2^{24}).

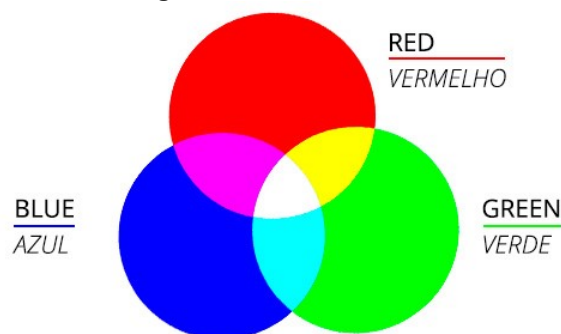
$$2^n = \text{número de tons, onde } n = \text{número de bits (2)}$$

3.3.1 Modelo de cor RGB

As telas exibem imagens com centenas de pixels, cada um desses possui três sub-pixels: luz vermelha, luz verde e luz azul, que acendem em diferentes intensidades, com base na cor que o pixel exibe para produzir um resultado em um monitor preto (VIEIRA, 2020).

Ainda de acordo com Viera (2020), os valores RGB são exibidos em um intervalo entre 0 e 255. O que significa que existem 256 níveis de cada uma das três cores, que podem ser combinadas para criar uma cor no espectro entre preto e branco. Por exemplo, o valor RGB para a cor preta é: 0,0,0 – o significa que há 0% de luz vermelha, 0% de luz verde e 0% de luz azul. Em outras palavras, há uma completa ausência de luz, logo, preto. Para criar branco, seria o oposto: 255, 255, 255 – o valor mais alto possível de cada cor, o que significa que as luzes vermelha, verde e azul são 100% brilhantes, resultando na presença máxima de luz, logo, branca. Outra maneira de pensar sobre o modo de cores RGB é referir-se ao vermelho, verde e azul como cores aditivas. Isso significa que o RGB cria outras cores adicionando quantidades de vermelho, verde e azul.

Figura 3 – Modelo RGB

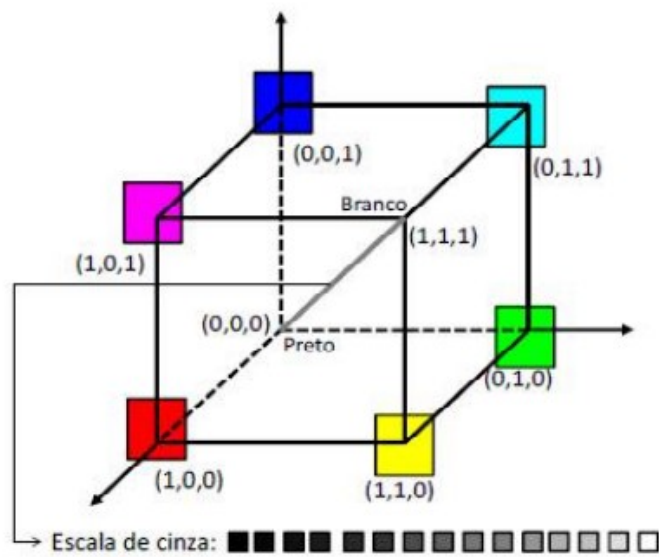


Fonte: Queiroz (2018)

Este modelo é o mais utilizado em imagens digitais, que se encontram representados num sistema de coordenadas cartesianas. É visualizado como um cubo

3D, chamado também de cubo RGB (Figura 4), no qual essas três cores primárias estão em três eixos perpendiculares, e alternadamente as cores secundárias em outros três eixos. Na origem do cubo encontra-se localizada a cor preta e do lado diagonalmente oposto a coloração branca, além disto, entre essas duas cores há a escala de cinza (pontos com valores RGB iguais). Por convenção usa-se valores normalizados de 0 e 1 para indicar a cor e as cores são definidos por vetores que parte da origem neste modelo (IZAWA, 2010; GONZALEZ; WOODS, 2010).

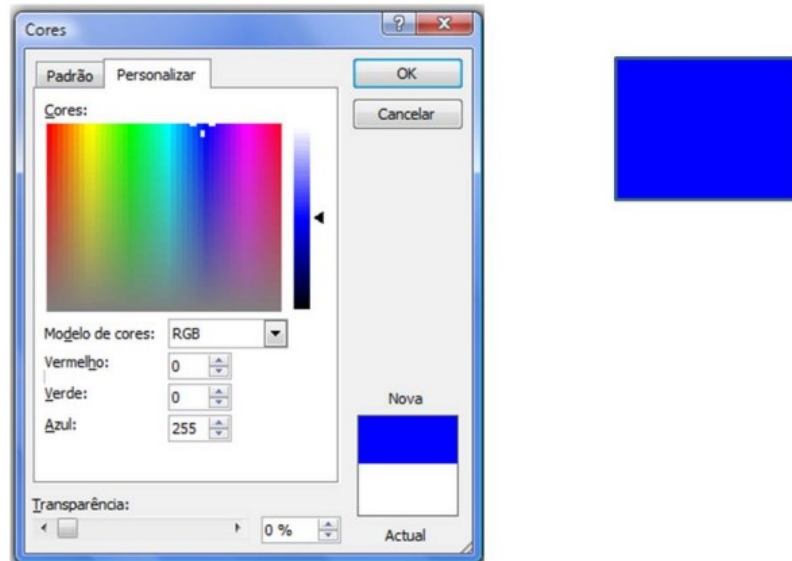
Figura 4 – Cubo de cores RGB, e representação da escala de cinza, que se situa entre a coloração preta (0, 0, 0) e a coloração branca (1, 1, 1).



Fonte: Cardoso (2014)

A Figura 5 apresenta um exemplo da coloração azul, na qual tem-se 0 para o vermelho, 0 para o verde e 255 (ou 1) para o azul. Este modelo pode assumir aproximadamente 16 milhões de cores diferentes $(2^8)^3$ (8 bits para cada matriz de cor).

Figura 5 – Exemplo do modelo RGB para coloração azul.

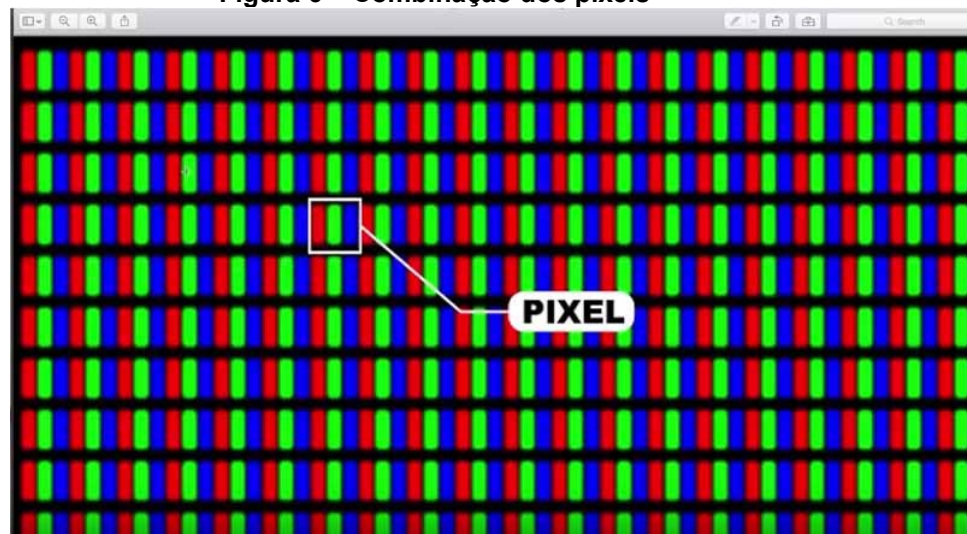


Fonte: Cardoso (2014)

3.3.2 Os pixels

O pixel é a menor unidade de uma imagem digital. Esse termo vem da contração da expressão “*picture element*” que significa “elemento da imagem”, em inglês. Ou seja, ao visualizar uma imagem com alto índice de aproximação, é possível identificar pequenos quadrados coloridos nela, que, somados, formam o desenho completo. Em uma foto digital por exemplo, verá que ela é formada por vários quadradinhos – os pixels (QUEIROZ, 2018).

A cor de cada pixel é fruto da combinação das três cores básicas mencionadas anteriormente. Os pixels são agrupados em linhas e colunas para formar uma imagem. Uma foto digital de 1024 x 768, por exemplo, teremos 786.432 pixels, tendo em sua composição 1024 pixels de largura por 768 de altura. Quanto maior o número de pixels, maior o volume de informação armazenada. Em outras palavras, quanto mais pixels uma imagem tiver, melhor será a sua qualidade (PORTILHO, 2009).

Figura 6 – Combinação dos pixels

Fonte: Portilho (2009)

3.3.3 Câmera Digital

A técnica de processamento de imagem digital teve início na década de 60, com aplicações nas áreas médicas e industriais. Nesta época os estudos realizados eram feitos com as imagens representadas em escala de cinza. A partir de 1985 foi disponibilizado o tratamento com imagens RGB. Nos finais dos anos 80, a comunidade quimiométrica juntou-se a este campo introduzindo ferramentas poderosas para análise de imagem, que já estavam em uso para o estudo de conjuntos de dados espectroscópicos clássicos que foram apropriadamente modificados para atender as especificidades das estruturas de imagem (SUN; DU, 2006).

Nos dias de hoje, a técnica de processamento de imagens digitais é cada vez mais importante devido a sua capacidade de execução de análises rápidas, de baixo custo, não destrutiva e quando combinada com os dispositivos mecânicos e instrumentais substitui esforços humanos no desempenho de um dado processo.

Sun e Du (2004), relatam que são várias as áreas privilegiadas com a implementação e desenvolvimento desta técnica. Na indústria alimentar devido ao aumento da procura da objetividade, consistência e eficiência nas análises, introduziram a técnica de processamento de imagem digital baseado em computadores para aumentar a exatidão, substituir a inspeção visual e ainda aumentar a flexibilidade nos processos de análises.

Existem cinco etapas principais do processamento de imagem digital que são: aquisição de imagem para efetuar a sua conversão no formato digital, pré-processamento para melhorar a resolução e outros aspectos da imagem adquirida, segmentação da imagem, que permite dividir a imagem em várias regiões, extração de informações ou características do objeto e por último a classificação, que identifica e classifica os objetos nos respectivos grupos (SUN; DU, 2004).

3.4 Aplicações de imagens digitais

Nos últimos anos, o emprego da imagem digital para fins analíticos vem crescendo consideravelmente, conseqüentemente, novas aplicações estão sendo desenvolvidas e utilizadas. Como frisado no tópico anterior, por ser considerado de baixo custo, rápido, simples e com chances de ser portátil e utilizado no campo, a técnica baseada na utilização de imagens digitais vem sendo vantajosa quando comparada a outras técnicas já empregadas. Ela tem sido amplamente utilizada em diversas áreas, com aplicações que variam de avaliação e controle de qualidade dos alimentos, determinações de compostos orgânicos e inorgânicos em diversas matrizes, determinação de poluentes na atmosfera, entre outros (CARDOSO, 2014).

O uso de imagens digitais para análise de alimentos já está registrado na literatura científica. Pode ser usado no controle da qualidade de presunto, na contagem de lactobacilos em leite fermentado e para determinar o tamanho de grãos de arroz. A partir desses exemplos, um grupo da UFSCar em 2009, obteve amostras de leite, cedidas por uma empresa de laticínio da região de São Carlos, e fez as adulterações com as cinco principais substâncias normalmente usadas pelos fraudadores, como água, peróxido de hidrogênio (água oxigenada), soro, leite e urina sintéticos, ureia e soda cáustica, em diferentes concentrações.

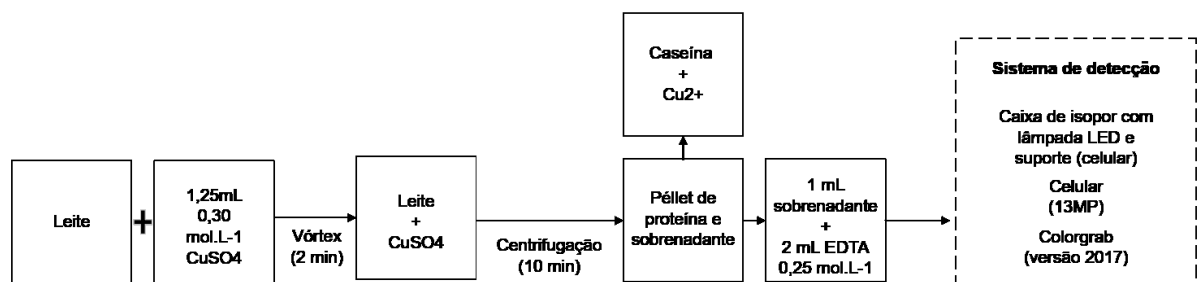
As imagens foram armazenadas em um computador, na amostra testada foi necessário digitalizar o copo com um pouco de leite, gerando uma imagem. Através de um software específico, ela foi comparada com as outras previamente armazenadas. Dessa forma, conseguiu-se identificar se a nova amostra é igual à testada e descobrir a fraude. Se o adulterante não corresponder a uma imagem armazenada, o programa não consegue identificá-lo, mas conseguirá dizer que o leite não é puro (SILVEIRA, 2014).

Há também um projeto em andamento e que está sendo desenvolvido pela pesquisadora brasileira Anna Flávia de Souza Silva, doutoranda em Ciências pelo

Centro de Energia Nuclear da Universidade de São Paulo (USP). Ela publicou em 2020 um artigo científico na Revista Internacional *Food Control* onde apresentou essa tecnologia capaz de detectar fraude em leite usando um *smartphone* (CAPES,2020).

Esta funciona da seguinte forma: uma luz de lâmpada LED, muito parecida com aquelas usadas em refletores de luz emergencial em espaços públicos, atinge a amostra que está dentro de um tubo. Esta amostra é posicionada no interior de uma câmara, que nada mais é do que uma caixa de isopor, para que se possa controlar a luminosidade da foto feita, isso reproduzirá o efeito observado no dia a dia. A ideia é que se tirar uma foto com pouca ou muita luz, a imagem vai parecer diferente e as cores também, mesmo que haja sombra, além de outras distorções. O mesmo acontece quando deseja-se identificar fraudes e adulterações em alimentos. Só é preciso fixar a câmera do celular a 90° do tubo contendo a amostra e tirar uma foto. Depois de fazer isto, pega-se a foto e a transforma em uma espécie de sinal químico, a partir de uma das escalas de coloração existentes. No caso do trabalho de Anna, foi utilizado os canais RGB. Essa conversão da imagem em valores do RGB pode ser feita através de um software gratuito (REDAÇÃO CCS/CAPES, 2020).

Figura 7 - Esquema do procedimento analítico otimizado utilizado por Anna Flávia



Fonte: Adaptado de Capes (2020)

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para atingir os objetivos propostos e testar as hipóteses experimentais, este trabalho se baseou em uma estratégia quantitativa de pesquisa, de caráter exploratório, por meio da modalidade laboratorial. Nos tópicos abaixo, pretende-se demonstrar os procedimentos metodológicos do tipo de pesquisa utilizado, abordando critérios para a construção do estudo, assim como o método de coleta de dados, o preparo e a forma de tratamento destas análises.

4.1 Amostras

Três amostras de leite longa vida UHT foram adquiridas em um supermercado da cidade de Ponta Grossa-PR, sendo coletadas amostras de diferentes marcas e lotes.

4.2 Reagentes e soluções

Após a avaliação da IN-68, optou-se por avaliar o potencial da colorimetria por imagens digitais para monitorar adulterações causadas pela adição de hipoclorito, por se tratar de uma reação colorimétrica e cujo reagente está disponível na universidade. Assim, foi seguido o procedimento de acordo com o método oficial descrito pela IN-68 (BRASIL, 2006).

Para a análise de hipoclorito, a qual se fundamenta na formação do iodo livre a partir de iodeto de potássio pela ação de hipoclorito, foram empregados banho-maria, pipetas graduadas, tubos de ensaio e béqueres. Os reagentes empregados para as análises foram os seguintes: solução aquosa de HCl (1:2 v/v) preparado pela diluição de 33 mL de ácido clorídrico (HCl) da marca Synth em balão volumétrico de 100 mL com água destilada, amido solúvel ($C_6H_{10}O_5$) da marca Mallinckrodt a 1% (m/v) preparado pela dissolução de 1,0037 g em 100 mL de água destilada e solução de iodeto de potássio (KI) (7,5 % m/v) da marca Alphatec, preparado pela diluição de 3,7614 g do sólido em 50 mL de água destilada.

O procedimento foi realizado utilizando béqueres, na qual foram dispensados 5 mL de leite e adicionados 0,5 mL de solução de iodeto de potássio, em agitação. Para a análise qualitativa, foi realizado o ensaio da presença de hipoclorito

adicionando ao mesmo tubo 33 mL de solução de ácido clorídrico (1:2 v/v) e colocado em banho-maria, com a temperatura controlada a 80 ° C através de um termômetro por 10 minutos, em seguida, resfriado em água corrente.

4.3 Equipamentos e acessórios

Como mostrado na Fotografia 1, para aplicar a técnica da colorimetria por imagens digitais, foi utilizado como equipamento um *smartphone*, para as detecções nas amostras. O celular é da marca Motorola, modelo G50, com câmera de 48 MP. E, para controlar a luminosidade, foi empregada uma caixa confeccionada de material PET-G, sendo a parte externa na cor preta a fim de evitar a interferência de luz externa dentro da cabine. Já para evitar possíveis interferências pela interação com a amostra, o corpo da bandeja na qual a alíquota será dispensada é na cor branca, conhecida como placa de teste.

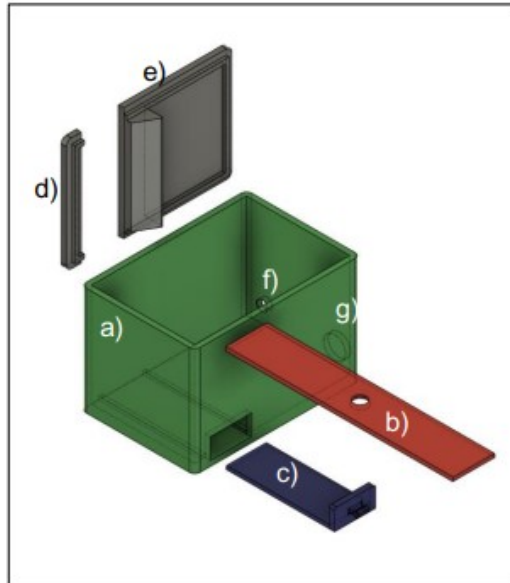
Fotografia 1 – Equipamentos utilizados: celular, cabine e placa de teste



Fonte: Autoria Própria (2022)

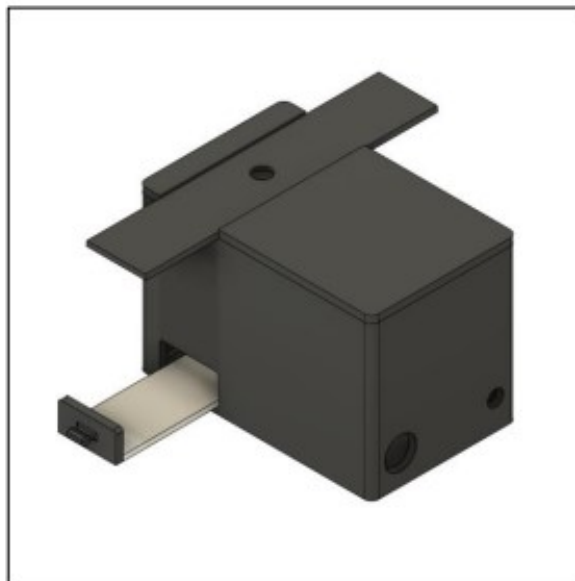
A tampa da cabine é feita de uma estrutura na qual uma pastilha de LED branco (contendo 3 LEDs) foi fixada para iluminar a gaveta de inserção da amostra, incidindo em um ângulo de 45°. A conexão dos componentes do sistema de iluminação da cabine é de fios de cobre, e utilizando um conector para a fonte de alimentação de 12 A, acionada por um interruptor bola (20 mm).

Figura 8 - Projeto da cabine de captura, onde: a) carcaça; b) trilho móvel com orifício de captura; c) gaveta de inserção da amostra; d) suporte de apoio ao trilho; e) tampa com estrutura para colagem da fita de LED; f) orifícios de inserção do conector da fonte; g) orifício de inserção do interruptor



Fonte: Januario (2021)

Figura 9 – Cabine utilizada na captura das imagens das amostras



Fonte: Januario (2021)

4.4 Otimização das condições de análise

Visando otimizar as condições de análise para determinar os parâmetros padrão, por se tratar de um experimento onde as condições de coleta da imagem podem ter grande interferência nos resultados obtidos, foram estabelecidas condições

padrão, minimizando a ação dos fatores que poderiam causar alguma interferência. Foram preparadas amostras em várias concentrações de NaClO, de modo a gerar escala de cores que foram empregadas para efeito de comparação para obter informações quantitativas do adulterante.

Para isso, foram realizadas diversas análises até se conseguir obter um leite adulterado com características similares aos reportados na literatura, seguindo o mesmo padrão, alterando-se somente a quantidade de amostras e a concentração de hipoclorito nas mesmas.

Curvas de calibração foram preparadas em todos os dias de análise, variando as concentrações de NaClO entre 15 e 3000 mg/L, onde foram dispensados em béqueres, juntamente com 5 mL de leite, 0,5 mL de KI e 1 mL de amido solúvel (C₆H₁₀O₅). No total foram seis testes realizados, todos com amostras de leite das três marcas compradas.

4.5 Preparo da amostra e digitalização

Após a coleta das amostras, estas foram acondicionadas no laboratório de acordo com as condições indicadas pelo fabricante. Quando abertas, as mesmas foram acondicionadas em refrigerador e analisadas no prazo apontado na caixa como prazo de validade.

As análises foram realizadas de acordo com os específicos reagentes conforme descritas no item 4.2, e, então, as mesmas foram dispensadas em uma porta amostra de porcelana com volume de, aproximadamente, 1 mL, sendo este inserido dentro da caixa de PET-G, controlando a luminosidade da foto. Após isso, fixada a câmera do celular a 90° em relação a amostra e, então, as imagens foram coletadas e transformadas em valores RGB a partir das escalas de coloração existentes, onde cinco pontos aleatórios foram escolhidos para a medição dos parâmetros RGB em cada imagem.

4.6 Tratamento dos dados

Para realizar esta conversão da imagem em valores do RGB, foi utilizado o aplicativo gratuito "*What a color?*" que traduziu a informação contida na imagem para os canais RGB, e, a partir das intensidades das colorações, foi possível relacionar esta medida com a concentração da substância que estava sendo analisada, através

do software Microsoft Office Excel, onde os dados foram processados, construindo as curvas de calibração e fazendo a quantificação dos analitos, observando assim a capacidade da curva de calibração construída em apontar a faixa de concentração.

4.7 Validação do método

Para validação do método de quantificação, foram preparadas soluções com concentrações conhecidas de hipoclorito: 150, 300 e 600 mg/L para as três marcas de leite, sendo estas as esperadas para efeito de comparação. Essa etapa foi trabalhada em três níveis, sendo preparadas alíquotas distribuídas em tubos de ensaio e dispensadas na placa de teste em triplicata para um resultado mais eficiente.

As reações entre as soluções produzidas e os reagentes anteriormente descritos foram realizados e medidos parâmetros RGB, observando a partir do tratamento dos dados, a capacidade da curva de calibração construída em apontar se o resultado obtido de concentração está dentro do esperado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com a metodologia escolhida e especificada, a seguir serão mostrados os resultados obtidos a partir das análises laboratoriais realizadas na UTFPR.

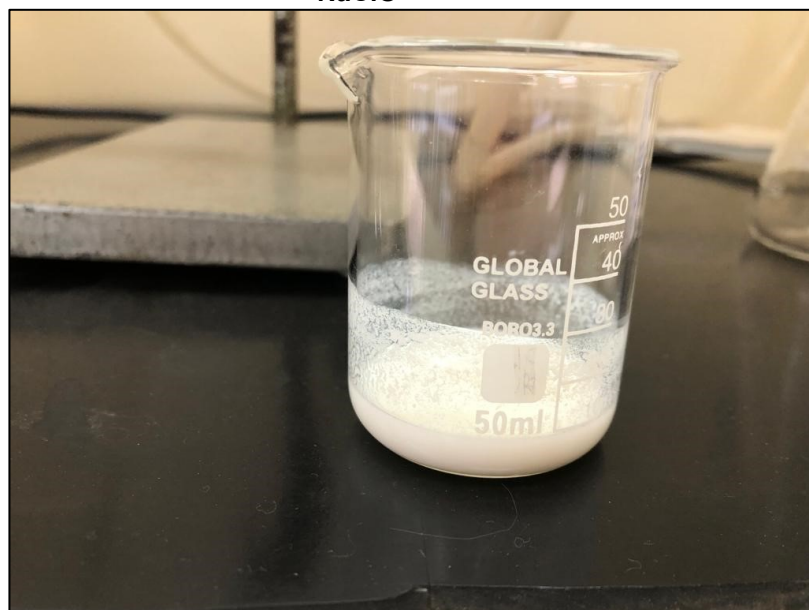
5.1 Otimização das condições de análise

5.1.1 Testes da presença de adulteração por NaClO

Os métodos qualitativos podem verificar a presença do analito em questão pela alteração da cor da matriz. Nesta etapa o resultado é expresso como positivo ou negativo, o resultado é considerado positivo com aparecimento de coloração amarela característica. Um resultado positivo não significa necessariamente fraude por adição de cloretos à amostra, significa que a concentração de cloretos na amostra é superior a quantidade normalmente encontrada em animais sadios (0,08 a 0,1%) (BRASIL, 2006).

Como em um primeiro momento não houve nenhuma alteração, foi realizada a análise para verificar se havia a presença de hipocloritos, acrescentando àqueles mesmos reagentes os 33 mL de solução de ácido clorídrico, sendo posteriormente colocado em banho maria por 10 minutos e após resfriado em água corrente.

Fotografia 2– Resultado obtido no processo de verificação de adulteração do leite UHT por NaClO



Fonte: Autoria própria (2022)

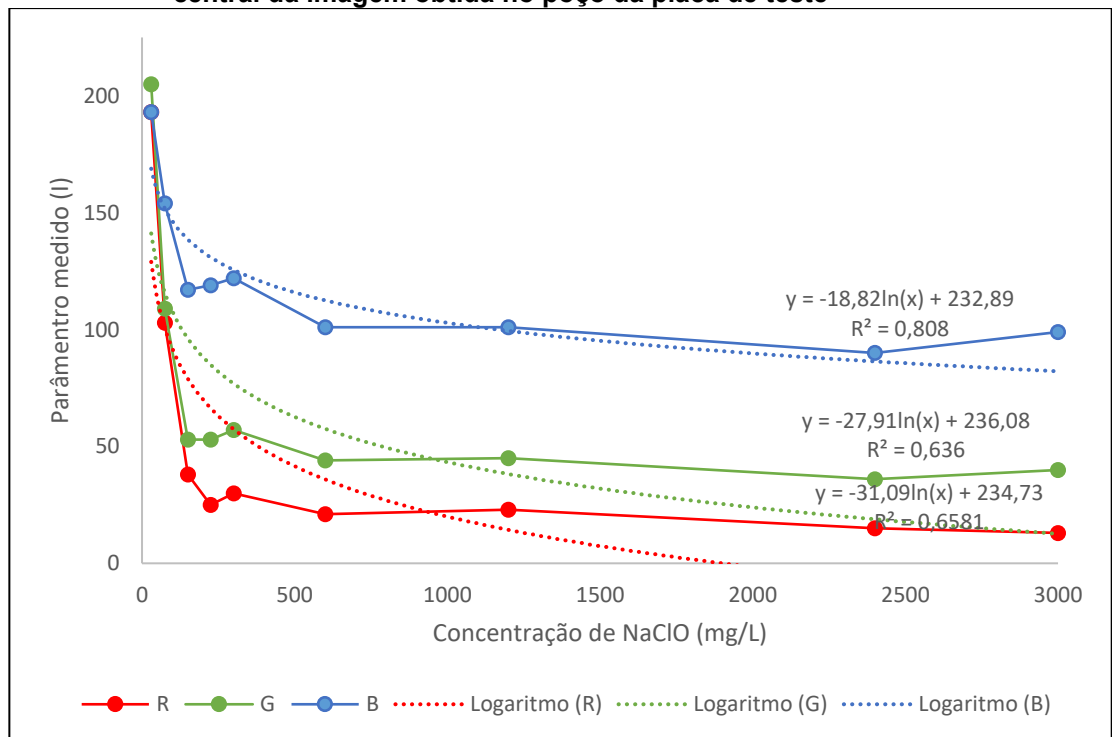
Com o resultado foi perceptível que ficou inalterada a coloração no reagente, demonstrando que a amostra de leite analisada não sofreu adulteração por adição de hipocloritos.

5.2 Escalas de coloração e pontos coletados para tratamento de dados

Uma vez que a amostra não apresentou qualquer presença de possível fraude por hipoclorito de sódio, foram realizados vários testes posteriores acrescentando concentrações crescentes do reagente para observar a cor e estabelecer a faixa de trabalho do método.

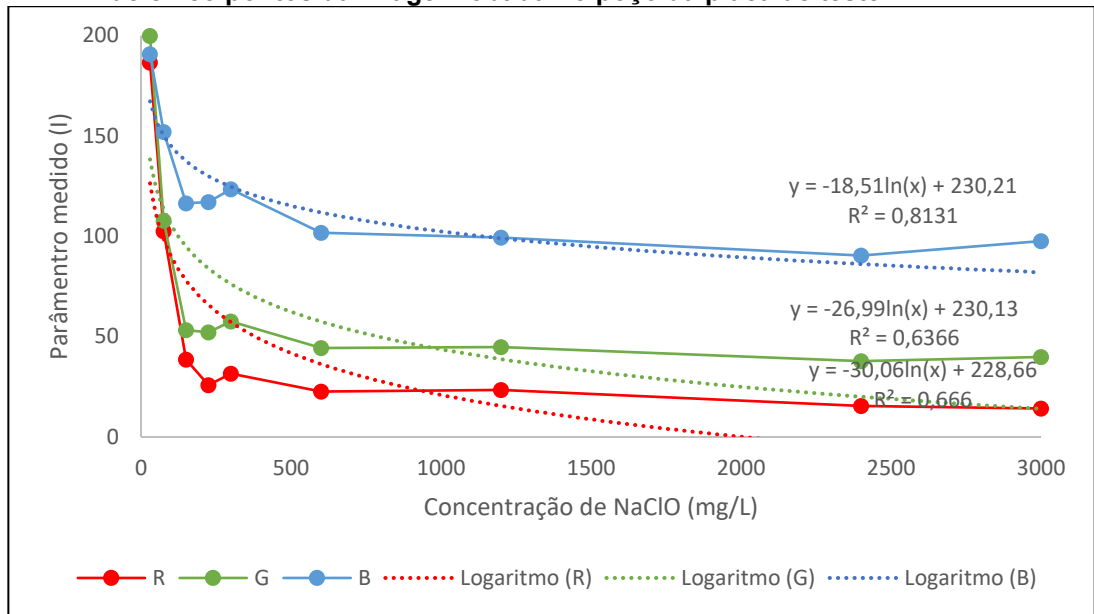
Inicialmente, decidiu-se trabalhar com dez pontos: 30, 75, 150, 225, 300, 600, 1200, 2400 e 3000 mg L⁻¹ de NaClO, empregando as mesmas condições e reagentes previamente preparadas, sob condição de iluminação interna da cabine, alterando-se apenas os pontos coletados das imagens. Os resultados obtidos são apresentados a seguir.

Gráfico 1 – Curva de calibração construída com escalas entre 30 a 3000 mg/L feito com o ponto central da imagem obtida no poço da placa de teste



Fonte: Autoria própria (2022)

Gráfico 2– Curva de calibração construída com escalas entre 30 a 3000 mg/L feito com a média de cinco pontos da imagem obtida no poço da placa de teste

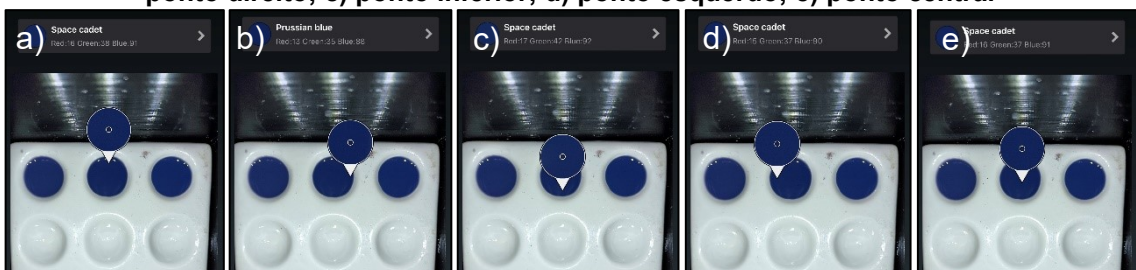


Fonte: Autoria própria (2022)

Comparando as curvas de calibração do gráfico 1 com o gráfico 2, observa-se que o canal R sofreu o maior distúrbio dentro da cabine, porém, sabe-se que quanto mais próximo o valor de R^2 (R-quadrado) de 1, melhor é o modelo ajustado, dessa forma, apesar do canal G e B estarem melhores, ainda não estão adequados para nossa metodologia proposta.

Por outro lado, quando é trabalhado o ponto central da imagem como a média dos cinco pontos (superior, direito, inferior, esquerdo e central) no tratamento dos dados, como mostrado na figura abaixo, realizado para otimização do processo, verificando dessa forma se havia diferença significativa em selecionar os canais RGB de qualquer ponto da amostra do poço na placa de teste ou em um específico, ficou claro que se podia fazer a escolha de coletar o ponto central, uma vez que houve similaridade nas curvas de calibração entre as mesmas, como visto anteriormente.

Fotografia 3– Pontos coletados para realizar o tratamento de dados: a) ponto superior; b) ponto direito; c) ponto inferior; d) ponto esquerdo; e) ponto central



Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 3 – Dados obtidos do canal RGB para cada concentração de NaClO com o ponto central da imagem

Concentração de NaClO (mg/L)	R	G	B
30	193	205	193
75	103	109	154
150	38	53	117
225	25	53	119
300	30	57	122
600	21	44	101
1200	23	45	101
2400	15	36	90
3000	13	40	99

Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 4 – Dados obtidos do canal RGB para cada concentração de NaClO com a média dos cinco pontos da imagem

Concentração de NaClO (mg/L)	R	G	B
30	187	200	191
75	103	108	152
150	39	53	116
225	26	52	117
300	32	58	123
600	23	44	102
1200	23	45	99
2400	15	38	90
3000	14	40	98

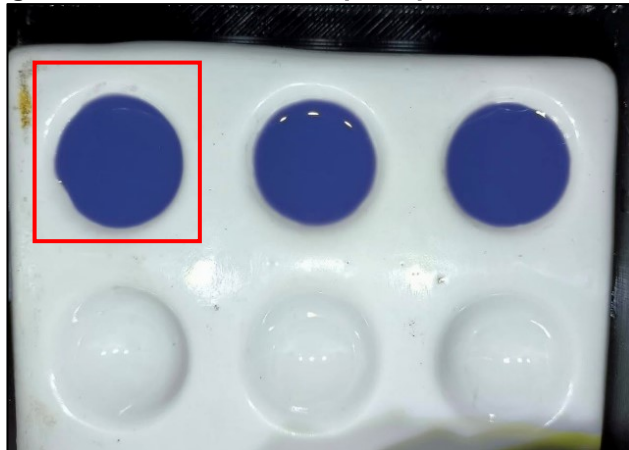
Fonte: Autoria própria (2022)

Vale ressaltar a influência da luz nas análises. As cores aparecem de forma diferente sob diferentes condições de iluminação. Dependendo da frequência emitida e também das características do material, um corpo pode ou não absorver certa quantidade de energia (JUNIOR, 2022).

O uso de uma cabine de luz para avaliação é fundamental para o melhor controle de qualidade avaliando de forma precisa a cor objetiva, melhorando as condições e reduzindo erros (RODA et al., 2016). No entanto, devido a configuração da placa de teste utilizada, observou-se ligeiras diferenças nos valores obtidos para cada canal RGB de uma mesma solução colocada em diferentes posições, ou seja, a mesma alíquota analisada nos três diferentes poços da placa de teste. Diante disso e do que pode ser verificado ao realizar a análise sob pontos diferentes dentro da

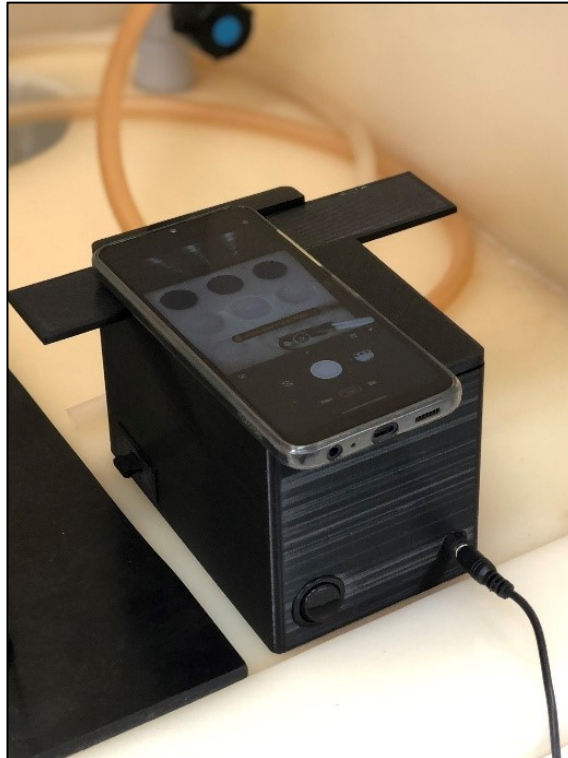
cabine, o que obteve menor influência sofrida pela mudança na iluminação, sensibilidade adequada para representar as mudanças de tonalidade e possibilitar a quantificação das concentrações do analito, foi o poço superior esquerdo (Fotografia 4), na qual não se observa a ocorrência de reflexos no poço, diferentemente dos poços central e direito onde é perceptível reflexos do LED. Com isso, toda calibração e quantificação foi dada a partir deste local da placa de teste.

Fotografia 4 – Local escolhido para quantificação



Fonte: A autoria própria (2022)

Fotografia 5– Cabine de luz em funcionamento



Fonte: A autoria própria (2022)

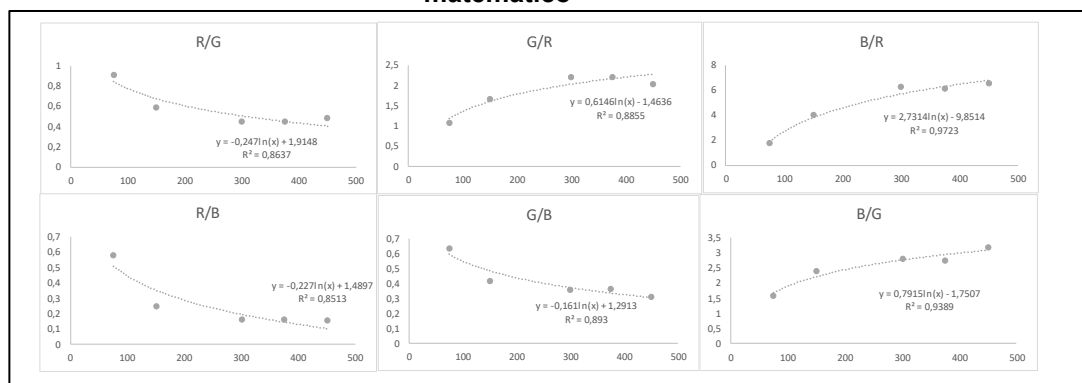
5.3 Curvas de calibração

Para a construção da curva, concentrações de 30, 75, 150, 225, 300, 600, 1200, 2400 e 3000 mg/L de NaClO foram preparadas nas condições de análise especificadas anteriormente, dessa vez, reduzindo o intervalo de calibração e com as três marcas de leite para efeito de comparação. Em todas foram realizadas triplicatas, como também foram testados os tratamentos dos dados com o flash do celular e sem ele, para observar o quanto a iluminação poderia interferir nos ajustes do modelo matemático, conferindo a partir deste ensaio que a iluminação sem o flash seria o ideal para ser trabalhado, uma vez que o flash influenciava no reflexo da foto, deixando áreas esbranquiçadas na amostra e com isso alterando os valores do espaço RGB.

Ao fazer a curva com apenas um canal, R, G ou B, não foi possível obter um bom ajuste, conseqüentemente, sem um modelo matemático adequado, mas quando se trabalhou a razão de um canal pelo outro, o canal B/R apresentou melhores ajustes, conseguindo ter uma melhor normalização do erro.

A partir deste modelo aprimorado, foi observado que tanto os canais únicos como as razões são similares, os perfis dos pontos são parecidos, portanto, foi possível trabalhar com a razão B/R dentre todas as possibilidades de razões (R/G, R/B, G/R, G/B, B/G e B/R).

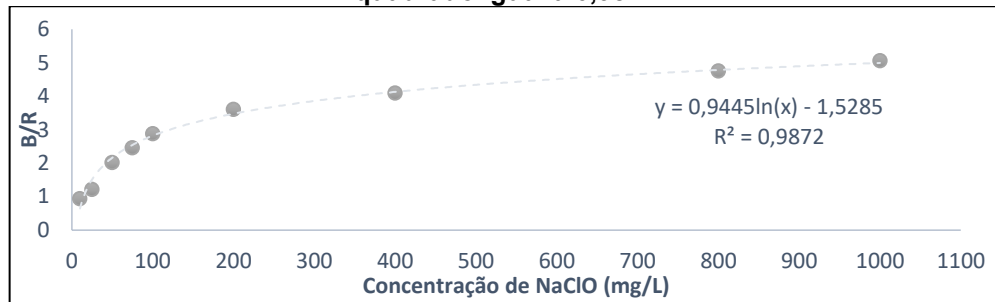
Gráfico 3 – Curvas de calibração com todas as possibilidades de razões para o modelo matemático



Fonte: Autoria própria (2022)

Dessa forma, o modelo B/R foi o que melhor se adequou ao perfil dos pontos, onde teve a regressão-r mais próxima de 1, realizando a análise quantitativa a partir desta e, com resultados satisfatórios.

Gráfico 4 – Curva de calibração B/R que melhor se adequou ao perfil de pontos, com R-quadrado igual a 0,9872



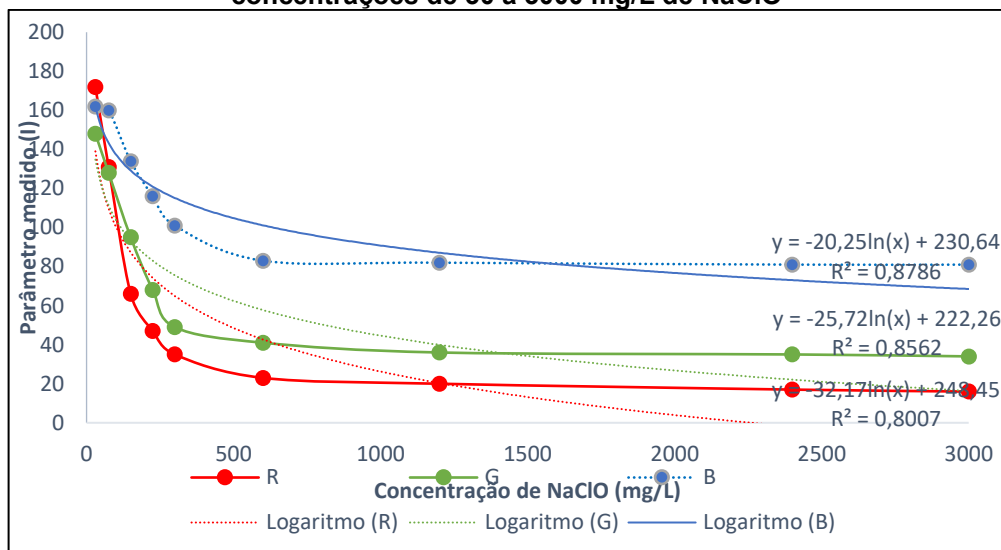
Fonte: Autoria própria (2022)

A equação 3 é referente a equação da reta encontrada para a curva de calibração da razão B/R, escolhido como referência para o trabalho, onde “x” é a concentração não conhecida e “y” o parâmetro medido de variação da intensidade obtida pelos pixels.

$$y = 0,9445 * \ln(x) - 1,5285 \quad (3)$$

$$R^2 = 0,9872$$

Gráfico 5 – Curva de calibração utilizando a razão B/R para todos os canais RGB entre concentrações de 30 a 3000 mg/L de NaClO



Fonte: Autoria própria (2022)

Conclui-se então, que o método demonstra bons resultados ao quantificar hipoclorito em amostra de leite na faixa de 30 a 3000 mg/L de NaClO, não conseguindo um ajuste de modelo adequado ao se fazer em um canal único, R, G ou B, porém, ao realizar a razão entre eles, B/R se tornou um modelo aprimorado, demonstrando que a análise possuiu dados satisfatórios.

5.4 Validação do teste

Por último, ao realizar a análise em três níveis, na qual cada marca de leite UHT conseguiu uma recuperação para valores de 150, 300 e 600 mg/L, foi possível verificar que após uma média com desvio padrão para cada uma dessas concentrações conhecidas, foram atingidas concentrações de 152,95 mg/L, 288,47 mg/L e 611,78 mg/L, o que pode equivaler estar dentro da faixa de validação.

Tabela 5 – Resultado das concentrações recuperadas no teste realizado em três níveis para as três amostras de leite UHT

Concentrações de NaClO (mg/L)	1° amostra B/R	2° amostra B/R	3° amostra B/R
Leite 1			
150	159,39	147,83	153,33
300	329,36	246,21	295,49
600	677,45	604,59	586,95
Leite 2			
150	158,53	151,80	143,20
300	304,79	267,28	378,75
600	626,66	711,02	547,70
Leite 3			
150	144,52	158,93	150,92
300	272,57	346,80	296,02
600	581,11	691,32	600,10

Fonte: Autoria própria (2022)

Tabela 6 – Resultado da média das concentrações recuperadas versus a real das amostras de leite UHT

Concentrações de NaClO (mg/L)	Média dos níveis em B/R	Desvio Padrão
150	152,95	0,0427
300	288,47	0,038
600	611,78	0,0331

Fonte: Autoria própria (2022)

Assim, o método proposto, apesar de necessitar de ajustes, cumpriu seu objetivo possibilitando a análise do teor de hipoclorito no leite, conseguindo uma boa recuperação da quantidade analisada, o que possibilita utilizar a metodologia em fiscalizações para identificar e quantificar adulterações deste tipo, podendo ser futuramente aprofundado em análises com leite cru para o alcance de melhores

resultados, uma vez que o leite UHT passa por processos para a eliminação de microrganismos para uma maior duração nas prateleiras e o leite cru é ordenhado manualmente, podendo gerar maiores riscos de contaminação.

6 CONCLUSÃO

Diante do aumento das descobertas de fraude no leite é importante que os estabelecimentos de laticínios cumpram com sua obrigação de controlar rigorosamente a qualidade da matéria-prima recebida diariamente na sua indústria, nos termos da legislação em vigor, por meio de análises como as apresentadas nesta revisão. No entanto, muitas vezes as análises oficiais possuem baixo rendimento analítico e necessidade de mão de obra especializada, o que dificulta que estas sejam aplicadas a toda matéria-prima que chega à indústria. Como uma ferramenta de controle da qualidade do leite e garantia de sua autenticidade a metodologia de colorimetria por imagens digitais vem apresentando bons resultados.

No decorrer do estudo foram realizados vários ajustes para conseguir obter um modelo matemático adequado para a quantificação, uma vez que a regressão próxima de 1 da equação da reta seria aquela que os dados tratados no Microsoft Excel melhor se ajustaria no trabalho. Dentre todas as possibilidades, foram testados cada ponto da foto no valor RGB, a posição da iluminação do LED e flash do celular com a mesma amostra dentro da cabine, assim como, os testes em três níveis de adição e em três amostras de leites de marcas diferentes.

Por fim, devido a necessidade do desenvolvimento de procedimentos analíticos rápidos, precisos e robustos, as estratégias apresentadas neste trabalho se mostraram viáveis para a quantificação de adulteração em amostras de leite, apesar de ter necessitado de vários ajustes cumpriu seu objetivo através da razão dos canais B/R e o seu resultado de recuperação, possibilitando medir o teor de NaClO nas amostras de forma satisfatória. Além disso, uma das principais vantagens do procedimento proposto é estar associado a equipamentos simples, sua utilização conseguiu ser uma ferramenta analítica com vantagens de baixo custo operacional para aquisição dos dados e acessibilidade a qualquer smartphone

REFERÊNCIAS

ABRANTES, M. R., CAMPÊLO, C. S., SILVA, J. B. A. **Fraude em leite: métodos de detecção e implicações para o consumidor.** Revista Instituto Adolfo Lutz. 2014. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2014/ses-31994/ses-31994-5905.pdf>. Acesso em: 05 Nov. 2021.

ALMEIDA, T. V. **Deteção de adulteração em leite: análises de rotina e espectroscopia de infravermelho.** Goiânia – GO. 2013. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/2013_Thamara_Venancio_Seminario2corrig.pdf. Acesso em: 04 Nov. 2021.

ALMEIDA, J. M., SILVA, J. C. J. **Espectrofotometria UV-Vis.** 2018. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2010/10/Aula-2-UV-Vis-1o-Sem-2018-parte-1.pdf>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

BHEMER, M. L. A. **Tecnologia do leite: produção, industrialização e análise.** 13a ed. São Paulo (SP): nobel; 1999.

BRASIL, 2011. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa nº. 62, de 29 de dezembro de 2011. **Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.** Diário oficial da União, Brasília, p. 6, 30 Dez 2011.

BRASIL, 2012. LABORATÓRIO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL. **Pesquisa de Amido em Leite Fluido e Desidratado.** 2012. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/credenciamento-e-laboratorios-credenciados/legislacao-metodos-credenciados/arquivos-metodos-da-area-poa-iqua/met-poa-12-01-amido.pdf>. Acesso em: 05 Nov. 2021.

BRASIL, 2014. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Operação Leite Adulterado I e II.** Disponível em: <http://www.Agricultura.gov.br/animal/noticias/2014/08/operacao-leiteadulterado-i-e-ii>>. Acesso em: 04 Nov. 2021.

BRASIL, 2006. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº. 68 de 12 de dezembro de 2006. **Oficializa Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para controle de leite e produtos lácteos.** Diário oficial da república federativa do Brasil. Brasília, 14 dez 2006.

BRASIL, 2018. MISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 76. **Aprovar os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A.** Brasília, DF: 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União. Brasília, 2018.

BRASIL, 2010. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa N° 07, de 2 de março de 2010. ANEXO I. **Aprovar o Método Oficial de Determinação de CMP (caseinomacropéptido) em leite, por HPLC, Eletroforese Capilar e Espectrometria de Massas em leite, em apresentações integrais, semidesnatadas e desnatadas, tratados por processos de UHT ou pasteurização.** Diário Oficial da União, Brasília, 03 de março 2010. Seção 1, p. 1-3.

BRASIL, 2006. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. Instrução Normativa N° 69, de 13 de dezembro de 2006 – ANEXO I. **Institui critério da qualidade do leite in natura, concentrado e em pó, reconstituídos, com base no método analítico oficial físico-químico denominado “índice de CMP”,** de que trata Instrução normativa n°68, de 12 de dezembro de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, 15 de dezembro de 2006.

BRITO, R.S.; FERREIRA, F.; LOURENÇO, N. D.; PINHEIRO, H. M.; MATOS, J. S. **Espectrofotometria para monitorização da qualidade de água residual em drenagem urbana.** Revista Recursos Hídricos, v. 34, n. 1, 5-16, 2013.

CARDOSO, D. E. B. F. **Aplicação de imagem digital ao Controlo da Qualidade.** 2014. Disponível em: https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/32350/1/mq-cqa_dcardoso-1.pdf. acesso em: 06 Nov. 2021.

CASSOLI, L. D. **Fraudes na cadeia do leite: Como monitorá-las?** Revista Leite Integral. Jun, 2012. Disponível em: <https://www.revistaleiteintegral.com.br/noticia/fraudes-na-cadeia-do-leite-como-monitora-las>. Acesso em: 04 Nov. 2021.

CORRÊA, G. L. P. **Desenvolvimento e avaliação de um protótipo de colorímetro por imagens digitais.** 2015. Disponível em: <https://repositorio.unisc.br/jspui/bitstream/11624/1542/1/Gelson%20Luis%20Peter%200Corr%c3%aaa.pdf>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

DOS SANTOS, P. M. **Aplicação de imagens digitais e técnicas espectroanalíticas combinadas com quimiometria para detecção e quantificação de adulteração de leite bovino.** 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/6253/4924.pdf?sequence=1&isallowed=y>. Acesso em: 11 Out. 2021.

EMBRAPA, 2021. **Composição.** Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_128_21720039243.html. Acesso em: 30 Out. 2021.

FAGNANI, R. **Principais fraudes em leite.** 2016. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/rafael-fagnani/principais-fraudes-em-leite-100551n.aspx>. Acesso em: 05 Nov. 2021.

FAGNANI, R. **Soro no leite: vulnerabilidades das técnicas para detectar essa fraude.** 2018. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/rafael->

fagnani/soro-no-leite-conheca-as-vulnerabilidades-das-tecnicas-para-detectar-essa-fraude-208310/. Acesso em: 05 Nov. 2021.

FELÍCIO, P. E. **Adulteração do leite mostra que é hora de investir no sistema de inspeção sanitária Federal**. Revista Abcz, Uberaba, N. 41, Nov/Dez., 2007, P. 77.

GAIÃO, E. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. S.; ALMEIDA, L. F.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. **Digital image-based titrations**. Analytica Chimica Acta. v. 570, p. 283-290, 2006.

GOMES, M.S.; TREVIZAN, L. C.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. **Uso de scanner em espectrofotometria de absorção molecular: aplicação em experimento didático enfocando a determinação de ácido ascórbico**. Química Nova, v. 31, n. 6, p. 1577-1581, 2008.

GONZÁLEZ, F. H. D.; NORO, G. Variações na composição do leite no subtropico brasileiro. In: Gonzáles, F. H. D. Et Al (Org.). **Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtópico**. Passo Fundo: Upf Editora, 2011. Cap. 2. P. 28-53. Disponível em: https://repositorio.ifg.edu.br/bitstream/prefix/305/1/TCC_Henrique%20Faria%20Paula.pdf. Acesso Em: 30 Out. 2021.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento digital de imagens**. 3^a ed. São Paulo: Pearson, 624 p., 2010.

GUIMARÃES, P. **Composição do Leite**. Ciência do Leite. 2008. Disponível em: <https://cienciadoleite.com.br/noticia/134/composicao-do-leite>. Acesso em: 30 Out. 2021.

HELERBROCK, Rafael. **Luz**. Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/fisica/luz.htm>. Acesso em 06 Nov. 2021.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6^aed., Porto Alegre: Bookman, 2009.

IZAWA, T. **Pixel e imagem digital**. 2010. Disponível em: <http://imagemesomhd.blogspot.com/2010/09/pixel-e-imagem-digital.html>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

JANUARIO, M. E. **Desenvolvimento de método colorimétrico utilizando imagens digitais capturadas por smartphones para a quantificação de ureia no suor**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2021.

JÚNIOR, J. S. S. **Cores e a frequência da luz**; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/fisica/cores-2.htm>. Acesso em 19 de outubro de 2022.

LEÃO, A. C. **Gerenciamento de cores para imagens digitais**. Dissertação (Curso de Mestrado em Artes Visuais da Escola de Belas Artes), Universidade Federal de

Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

LIPA/UFV, 2021. **Composição e características dos componentes do leite.** Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/colunas/lipaufv/composicao-e-particularidades-dos-componentes-do-leite-225189/>. Acesso em: 30 Out. 2021.

MACHADO, A.W.; SOUKI, B. Q. **Simplificando a obtenção e a utilização de imagens digitais - scanners e câmeras digitais.** R Dental Press Ortodon Ortop Facial, Maringá, v. 9,n. 4, p. 133-156, 2004.

NETO, S. A. G.; PINHEIRO, C. G. M. E.; SILVA, J. B. A.; SOUZA, L. B. **Resíduos de antimicrobianos em leite bovino cru no estado do Rio Grande do Norte.** 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cab/a/DMQv9SJxn3fgJBrttTKTPPz/?lang=pt#>. Acesso em: 05 Nov. 2021.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de Alimentos.** Volume 2. Alimentos de Origem Animal. Arimed, 2005, 163p.

PORTILHO, G. **O que é um pixel?** Super Interessante. 2009. Disponível em: <https://super.abril.com.br/mundo-estranho/o-que-e-um-pixel/>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

QUEIROZ, J. **O que significa RGB?** AFIXGRAF. 2018. Disponível em: <http://www.afixgraf.com.br/o-que-significa-rgb/>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

REDAÇÃO CCS/CAPEs. Pesquisadora cria técnica que detecta fraude no leite. **Ministério da Educação.** CAPES. Out. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/capes/pt-br/assuntos/noticias/pesquisadora-cria-tecnica-que-detecta-fraude-no-leite>. Acesso em: 18 Out. 2021.

RODA, A., MICHELINI, E., ZANGUERI, M., DI FUSCO, M., CALABRIA, D., SIMONI, P. **Smartphone-bases biosensors: A critical review and perspectives.** Trends in Analytical Chemistry, 79 (2016), 317 - 325.

RONCATO, P. E. dos S.; RONCATO, M. A.; VILLWOCK, A. P. S. **As Fraudes na Cadeia Produtiva do Leite: Um Estudo de Caso na Região Fronteira Noroeste do Rio Grande do Sul sob a Luz da Nova Economia Institucional.** Desenvolvimento em Questão, [S. l.], v. 15, n. 38, p. 295–318, 2017. DOI: 10.21527/2237-6453.2017.38.295-318. Disponível em: <https://www.revistas.unijui.edu.br/index.php/desenvolvimentoemquestao/article/view/4516>. Acesso em: 18 out. 2021.

SHARMA, K.; PARADAKAR, M. **The melamine adulteration scandal.** Food security.2010; 2:97-107.

SILVA, P. H. F. **Leite.** Química Nova na Escola. N° 6, Nov 1997. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc06/quimsoc.pdf>. Acesso em: 30 Out. 2021.

SILVA, S. F. **Composição e qualidade do leite no Alto Paranaíba de Minas Gerais.** Viçosa, 2019. Disponível em:

<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/27479/1/texto%20completo.pdf>. Acesso em: 31 Out. 2021.

SILVEIRA, E. **Imagens da fraude**. Revista Pesquisa FAPESP. Edição 215. Jan. 2014. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/imagens-%e2%80%a8da-fraude/>. Acesso em: 11 Out. 2021.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª ed., Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOARES, F. A. C. **Composição do leite: fatores que alteram a qualidade química**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2013/10/leiteFred.pdf>. Acesso em: 11 Out. 2021.

SUN, D.; DU, S. **Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation**. Trends in Food Science & Technology. Volume 15. 5, Maio de 2004, p. 230-249. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224403002711?via%3Dihub>. Acesso em: 06 Nov. 2021.

SUN, D.; DU, S. **Learning techniques used in computer vision for food quality evaluation: a review**. Journal of Food Engineering, 72(1):39 – 55, 2006.

VELLOSO, C. Celso Velloso: **As ações do Ministério para o combate à fraude de leite no Brasil**. Entrevista. Milkpoint, mai. 2003. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/?actA=7&areaID=50&secaoID=126¬icialID=8435>. Acesso em: 05 Nov. 2021.

VIEIRA, T. **O que são os padrões de cores RGB e CMYK?** Tecnoblog. 2020. Disponível em: <https://tecnoblog.net/353078/o-que-sao-os-padroes-de-cores-rgb-e-cmyk/>. Acesso em 06 Nov.2021.

ANEXO A - Lei n. 9.610, de 19 de fevereiro de 1998



Presidência da República
Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos

LEI Nº 9.610, DE 19 DE FEVEREIRO DE 1998¹.

Altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais e dá outras providências.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

Título I - Disposições Preliminares

Art. 1º Esta Lei regula os direitos autorais, entendendo-se sob esta denominação os direitos de autor e os que lhes são conexos.

Art. 2º Os estrangeiros domiciliados no exterior gozarão da proteção assegurada nos acordos, convenções e tratados em vigor no Brasil.

Parágrafo único. Aplica-se o disposto nesta Lei aos nacionais ou pessoas domiciliadas em país que assegure aos brasileiros ou pessoas domiciliadas no Brasil a reciprocidade na proteção aos direitos autorais ou equivalentes.

Art. 3º Os direitos autorais reputam-se, para os efeitos legais, bens móveis.

Art. 4º Interpretam-se restritivamente os negócios jurídicos sobre os direitos autorais.

Art. 5º Para os efeitos desta Lei, considera-se:

I - publicação - o oferecimento de obra literária, artística ou científica ao conhecimento do público, com o consentimento do autor, ou de qualquer outro titular de direito de autor, por qualquer forma ou processo;

II - transmissão ou emissão - a difusão de sons ou de sons e imagens, por meio de ondas radioelétricas; sinais de satélite; fio, cabo ou outro condutor; meios óticos ou qualquer outro processo eletromagnético;

III - retransmissão - a emissão simultânea da transmissão de uma empresa por outra;

IV - distribuição - a colocação à disposição do público do original ou cópia de obras literárias, artísticas ou científicas, interpretações ou execuções fixadas e fonogramas, mediante a venda, locação ou qualquer outra forma de transferência de propriedade ou posse;

V - comunicação ao público - ato mediante o qual a obra é colocada ao alcance do público, por qualquer meio ou procedimento e que não consista na distribuição de exemplares;

VI - reprodução - a cópia de um ou vários exemplares de uma obra literária, artística ou científica ou de um fonograma, de qualquer forma tangível, incluindo qualquer armazenamento permanente ou temporário por meios eletrônicos ou qualquer outro meio de fixação que venha a ser desenvolvido;

VII - contrafação - a reprodução não autorizada;

VIII - obra:

a) em co-autoria - quando é criada em comum, por dois ou mais autores;

b) anônima - quando não se indica o nome do autor, por sua vontade ou por ser desconhecido;

c) pseudônima - quando o autor se oculta sob nome suposto;

d) inédita - a que não haja sido objeto de publicação;

e) póstuma - a que se publique após a morte do autor;

f) originária - a criação primígena;

g) derivada - a que, constituindo criação intelectual nova, resulta da transformação de obra originária;

h) coletiva - a criada por iniciativa, organização e responsabilidade de uma pessoa física ou jurídica, que a publica sob seu nome ou marca e que é constituída pela participação de diferentes autores, cujas contribuições se fundem numa criação autônoma;

i) audiovisual - a que resulta da fixação de imagens com ou sem som, que tenha a finalidade de criar, por meio de sua reprodução, a impressão de movimento, independentemente dos processos de sua captação, do suporte usado inicial ou posteriormente para fixá-lo, bem como dos meios utilizados para sua veiculação;

IX - fonograma - toda fixação de sons de uma execução ou interpretação ou de outros sons, ou de uma representação de sons que não seja uma fixação incluída em uma obra audiovisual;

X - editor - a pessoa física ou jurídica à qual se atribui o direito exclusivo de reprodução da obra e o dever de divulgá-la, nos limites previstos no contrato de edição;

XI - produtor - a pessoa física ou jurídica que toma a iniciativa e tem a responsabilidade econômica da primeira fixação do fonograma ou da obra audiovisual, qualquer que seja a natureza do suporte utilizado;

XII - radiodifusão - a transmissão sem fio, inclusive por satélites, de sons ou imagens e sons ou das representações desses, para recepção ao público e a transmissão de sinais codificados, quando os meios de decodificação sejam oferecidos ao público pelo organismo de radiodifusão ou com seu consentimento;

XIII - artistas intérpretes ou executantes - todos os atores, cantores, músicos, bailarinos ou outras pessoas que representem um papel, cantem, recitem, declamem, interpretem ou executem em qualquer forma obras literárias ou artísticas ou expressões do folclore.

Art. 6º Não serão de domínio da União, dos Estados, do Distrito Federal ou dos Municípios as obras por eles simplesmente subvencionadas.

¹ Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19610.htm.