

ADEVAIR DE PAULA JUNIOR

**Aplicação de uma Língua Eletrônica para classificação de Leite
(ALECLE)**

Trabalho de Formatura apresentado
à Escola Politécnica da Universidade
de São Paulo para conclusão de
curso.

São Paulo
2009

ADEVAIR DE PAULA JUNIOR

**Aplicação de uma Língua Eletrônica para classificação de Leite
(ALECLE)**

Trabalho de Formatura apresentado
à Escola Politécnica da Universidade
de São Paulo para conclusão de
curso.

Área de concentração:
Engenharia Elétrica com ênfase
em Sistemas Eletrônicos

Orientador: Prof. Livre-Docente
Fernando Josepetti Fonseca

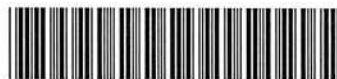
São Paulo
2009

PSI

TF-2009

P281a

DEDALUS - Acervo - EPEL



31500019025

FICHA CATALOGRÁFICA

M2009W

De Paula Junior, Adevair

Aplicação de uma língua eletrônica para classificação de leite: ALECLE / A. de Paula Junior. -- São Paulo, 2009.

59 p.

Trabalho de Formatura - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos.

1. Medidas elétricas 2. Microeletrônica I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos II. t.

1824303

OK

Aos meus pais, Adevair e Maria, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Fernando Josepetti Fonseca, pela orientação e pelo constante estímulo transmitido durante todo o trabalho.

Aos amigos Guilherme de Souza Braga, John Paul Hempel Lima e Leonardo Giordano Paterno, pela colaboração direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

Aos meus familiares, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

RESUMO

Este trabalho visa o desenvolvimento de um sistema multisensorial dedicado à classificação do teor de gordura nos diversos tipos de leite UHT utilizando uma língua eletrônica de polímeros condutores. Serão testados alguns polímeros condutores com o intuito de identificar os que produzem os melhores resultados de classificação do leite de maneira rápida e satisfatória quanto à porcentagem de gordura no leite industrializado. Também serão utilizados alguns microeletrodos com geometrias diferentes e sem filmes poliméricos a fim de entender a influência da geometria e presença dos filmes no desempenho dos sensores.

Sumário

LISTA DE FIGURA

LISTA DE TABELA

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 15 |
| 2. JUSTIFICATIVA..... | 16 |
| 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 17 |
| 3.1. LÍNGUA ELETRÔNICA | 17 |
| 3.2. LEITE COMO FONTE DE ALIMENTO | 17 |
| 3.3. PROCESSO DE COLETA E PAGAMENTO..... | 18 |
| 3.4. TIPOS DE LEITE | 19 |
| 3.5. EQUIPAMENTOS..... | 23 |
| 3.6. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 51 DE 18/09/2002..... | 23 |
| 3.7. ANÁLISE DE MERCADO | 24 |
| 3.8. MEDIDAS DE IMPEDÂNCIA..... | 24 |
| 3.9. PARÂMETROS DESEJÁVEIS EM SISTEMA SENSORIAL | 25 |
| 3.10. ANÁLISE DA COMPONENTE PRINCIPAL (PCA – Principal Component Analysis)..... | 25 |
| 4. OBJETIVOS DO PROJETO..... | 26 |
| 4.1. OBJETIVO GERAL..... | 26 |
| 4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 26 |
| 5. METAS..... | 26 |
| 6. RECURSOS NECESSÁRIOS | 27 |
| 6.1. ANÁLISE DE VIABILIDADE E CUSTOS | 27 |
| 7. MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 7.1. PROCEDIMENTOS DE MEDIDAS..... | 28 |
| 7.2. MÉTODO DE FABRICAÇÃO..... | 31 |

| | |
|--|----|
| 7.2.1. Fabricação do microeletrodo | 31 |
| 7.2.2. Deposição de filmes poliméricos | 31 |
| 7.2.3. Características dos sensores utilizados | 34 |
| 8. RESULTADOS | 35 |
| 8.1. LEITE MARCA A | 40 |
| 8.1.1. Análise por capacitância | 40 |
| 8.2. LEITE MARCA B | 40 |
| 8.2.1. Análise por capacitância | 40 |
| 8.2.2. Análise por resistência | 43 |
| 8.3. LEITE MARCA C | 45 |
| 8.3.1. Análise por capacitância | 45 |
| 8.3.2. Análise por resistência | 47 |
| 8.4. LEITE MARCA B E LEITE MARCA C | 49 |
| 8.4.1. Análise por capacitância | 49 |
| 8.4.2. Análise por resistência | 51 |
| 9. CONCLUSÕES | 54 |
| 10. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS | 55 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 56 |
| ACOMPANHAMENTO PELO ORIENTADOR | 59 |
| TERMO DE ACEITAÇÃO DO ORIENTADOR | 59 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Sistema multisensorial com 10 sensores | 29 |
| Figura 2 - Equipamentos utilizados para aquisição dos dados | 30 |
| Figura 3 - Representação esquemática do processo de deposição automontagem: (a) suporte sólido com superfície carregada negativamente. (b) adsorção de um polícation. (c) adsorção de um polianion e formação de uma bicamada | 32 |
| Figura 4 - Microeletrodo interdigitado e suas dimensões | 32 |
| Figura 5 - Parâmetros a, d, h, l envolvidos na estimativa da capacidade total de um eletrodo interdigitado | 33 |
| Figura 6 - Ilustração da fabricação de 1 bicamada de POEA/PSS pela técnica de automontagem | 33 |
| Figura 7 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para água destilada | 35 |
| Figura 8 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite desnatado marca A diluído em água destilada (1:49) | 35 |
| Figura 9 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite semidesnatado marca A diluído em água destilada (1:49) | 36 |
| Figura 10 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite integral marca A diluído em água destilada (1:49) | 36 |
| Figura 11 - Valor da capacidade [F] para os diversos tipos de leite (marca A) e água destilada na freqüência de 1 kHz em função dos diferentes polímeros dos sensores* | 37 |
| Figura 12 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca A | 40 |
| Figura 13 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B - todos os sensores | 41 |
| Figura 14 - Análise PCA (2D) para dados de capacidade dos leites marca B – todos os sensores | 41 |
| Figura 15 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B – sensores com filmes poliméricos | 42 |
| Figura 16 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B – sensores sem filmes poliméricos | 42 |

| | |
|--|----|
| Figura 17 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B – todos os sensores | 43 |
| Figura 18 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B - sensores com filmes poliméricos..... | 44 |
| Figura 19 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B – sensores sem filmes poliméricos..... | 44 |
| Figura 20 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – todos os sensores | 45 |
| Figura 21 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – todos os sensores | 46 |
| Figura 22 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – sensores com filmes poliméricos..... | 46 |
| Figura 23 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – sensores sem filmes poliméricos..... | 47 |
| Figura 24 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – todos os sensores | 47 |
| Figura 25 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – sensores com filmes poliméricos..... | 48 |
| Figura 26 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – sensores sem filmes poliméricos..... | 49 |
| Figura 27 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – todos os sensores..... | 49 |
| Figura 28 - Análise PCA (3D) para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – todos os sensores | 50 |
| Figura 29 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – sensores com filmes poliméricos | 50 |
| Figura 30 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – sensores sem filmes poliméricos | 51 |
| Figura 31 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C – todos os sensores..... | 51 |
| Figura 32 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B e marca C – todos os sensores | 52 |
| Figura 33 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C – sensores com filmes poliméricos | 52 |

Figura 34 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C –
sensores sem filmes poliméricos 53

Figura 35 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B e marca
C – sensores sem filmes poliméricos 53

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela I - Porcentagem de teor de gordura nos leites UHT | 20 |
| Tabela II - Valores de Condutividade elétrica em relação aos tipos de leite..... | 21 |
| Tabela III - Valores de condutividade em relação à concentração de íons..... | 22 |
| Tabela IV - Composição do leite de vaca | 22 |
| Tabela V - Características de cada sensor utilizado..... | 34 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------|---|
| 2D | Análise PCA com duas componentes principais (PC1 e PC2) – gráfico bidimensional |
| 3D | Análise PCA com três componentes principais (PC1, PC2 e PC3) – gráfico tridimensional |
| BD | Leite Marca A Tipo Desnatado |
| BI | Leite Marca A Tipo Integral |
| BS | Leite Marca A Tipo Semidesnatado |
| Desn_x | x-ésimo ponto do leite desnatado |
| ED | Leite Marca C Tipo Desnatado |
| EI | Leite Marca C Tipo Integral |
| ES | Leite Marca C Tipo Semidesnatado |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária |
| Int_x | x-ésimo ponto do leite integral |
| LS | Lignina sulfonada |
| Ni-Ts-Pc | ftalocianina tetra-sulfonatada de níquel |
| PANI | polianilina |
| PCA | “Principal Component Analysis” – Análise da Componente Principal |
| PD | Leite Marca B Tipo Desnatado |
| PEDOT | poli(etilenodioxitifeno) |
| PI | Leite Marca B Tipo Integral |
| POEA | poli(o-etoxianilina) |

| | |
|--------|--------------------------------------|
| POMA | poli(<i>o</i> -metoxianilina) |
| PPY | polipirrol |
| OS | Leite Marca B Tipo Semidesnatado |
| PSS | poli(estireno-sulfonato de sódio) |
| Semi_x | x-ésimo ponto do leite semidesnatado |

1. INTRODUÇÃO

Desde 1999 a Escola Politécnica da Universidade de São Paulo e EMBRAPA Instrumentação Agropecuária passaram a colaborar na pesquisa de um sistema multisensorial utilizando sensibilidade global, denominado Língua Eletrônica (LE), para a classificação de produtos de interesse do Agronegócio. Entre estes produtos salientamos o café, suco de frutas e água como sendo os produtos mais estudados.

Inúmeros trabalhos realizados e publicados pelas duas equipes ^[1,2,3] mostram o sucesso na classificação de vários analitos – parte da amostra que é o foco da análise – através da utilização de uma LE utilizando filmes poliméricos condutores nanoestruturados.

Atualmente, entre os novos analitos a serem estudados encontra-se o leite *in natura*, e os diversos tipos de leite longa vida, que são tratados pelo processo de ultra-pasteurização (UHT). Como a obtenção do leite *in natura* na cidade de São Paulo não é trivial, iniciaremos o estudo da classificação do leite processado industrialmente. Serão utilizados os leites facilmente encontrados em supermercados e padarias como o leite integral, o semidesnatado e o desnatado.

O artigo nº 475 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA ^[4], diz o seguinte: "*entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda*". O leite é um alimento de grande importância na alimentação humana, devido ao seu elevado valor nutritivo. Analisando-o como fonte de proteínas, lipídios, carboidratos, minerais e vitaminas, torna-se também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis ^[5]. A durabilidade do leite é limitada pela presença e multiplicação de microrganismos que causam modificações físico-químicas no mesmo. Seguindo com a definição dos aspectos físico-químicos, de acordo com a ciência do leite ^[6], temos: "Pelo aspecto simples de um líquido branco, o leite é um dos alimentos mais complexos da natureza. Representa um equilíbrio entre a solução aquosa, emulsão fina de glóbulos de gordura e uma

suspensão coloidal de proteínas com algumas partículas gasosas – gás carbônico e oxigênio.”

A análise da constituição físico-química do leite é muito importante para as indústrias e produtores, pois seu valor, uso e consumo dependem de avaliações referentes à composição e condição higiênico-sanitária. Este artigo tem como foco a análise do teor de gordura do leite, uma vez que este teor é um dos fatores responsáveis pela diferenciação do preço do leite pago ao produtor.

Por outro lado, as alterações no teor de gordura podem trazer informações sobre as condições de saúde da vaca e funcionamento do manejo alimentar. Uma deficiência protéica na dieta pode ter efeito variável sobre teor de gordura do leite. De modo geral, o teor de gordura diminui com o aumento no volume da produção.

A LE será composta por filmes ultrafinos de polímeros condutores depositados sobre microeletrodos interdigitados de ouro presentes sobre uma lâmina de vidro. O método de detecção utilizado será a medida da capacidade ou resistência do líquido e a análise dos dados será feita através da PCA.

2. JUSTIFICATIVA

A classificação de leite quanto ao teor de gordura, de modo expedito, possibilitará a valorização do produtor que melhora a sua produção e, portanto, merece ser recompensado. Atualmente, como não existe um método diligente para realizar esta análise no momento do recebimento do produto nas usinas de processamento, o leite acaba sendo pago como commodities, ou seja, sem uma variação de preço relacionada à qualidade do produto. Este trabalho se insere na direção de possibilitar a diferenciação de produtos do agronegócio por um método *on-line*, de modo a estimular o aprimoramento da produção de leite.

Nos últimos anos sistemas multisensoriais utilizando membranas poliméricas tem sido amplamente empregado na análise de alimentos, como o reconhecimento de vinhos ^[7] e análise de bebidas ^[8,9,10,11,12]. A maioria desses sistemas utiliza sensores potenciométricos ^[13,14] com eletrodos de referência, técnicas de ultra-som ^[15] ou sensores baseados em voltametria ^[16,17,18,19].

Entretanto, poucos trabalhos sobre a aplicação de dispositivos sensoriais para análise de leite estão disponíveis na literatura, especialmente relacionados aos dispositivos de língua eletrônica utilizando filmes poliméricos e aquisição de dados baseado em impedância. Entretanto, podemos encontrar na literatura algumas obras utilizando narizes eletrônicos para análise do leite [20,21,22,23].

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. LÍNGUA ELETRÔNICA

Línguas eletrônicas são conjuntos de sensores para análise de líquidos utilizando sensores químicos de elevada sensibilidade a seleção de íons. A principal finalidade da língua eletrônica é a análise qualitativa, como o reconhecimento, classificação e identificação de amostras, que depende da estrutura polimérica depositada e os procedimentos matemáticos adotados para o tratamento dos dados.

3.2. LEITE COMO FONTE DE ALIMENTO

No inicio de 2008 a mídia veiculou matérias envolvendo técnicos e profissionais considerados capacitados adulterando o leite, causando um prejuízo em toda a cadeia produtiva, e colocando em dúvida a qualidade do leite produzido no Brasil.

O leite é um alimento rico em seu valor nutricional, por ser fonte de vitaminas A, D, E, K, proteína, minerais, caroteno, ácidos graxos essenciais e gorduras de fácil digestão. Isso traz alguns benefícios como: fonte de cálcio e fósforo, redução do colesterol total e níveis de triglicerídeos, diminuição da gordura corporal, aumento de resistência à doenças e prevenção de câncer devido ao ácido linoléico conjugado (CLA) e ácido butírico [24].

Por outro lado, havendo portadores de doenças transmissíveis ao homem poderá colocar em risco a saúde humana, apesar de apresentar várias propriedades

nutritivas. Portanto, processos de melhoria da qualidade do produto desde a fonte produtora até a mesa do consumidor são de grande importância.

3.3. PROCESSO DE COLETA E PAGAMENTO

Hoje em dia o processo de venda do leite é feito por meio de cooperativas para poder suprir a grande demanda por parte dos compradores. Os grandes fornecedores de produtos derivados do leite e de leite industrializado precisam ter um mecanismo rápido e eficaz de medição da qualidade do produto, uma vez que o valor pago ao produtor está relacionado principalmente ao teor de gordura e proteína presentes no leite. Devido à existência de várias cooperativas de leite no país, a análise e classificação completa do leite são feitos trimestralmente e o resultado leva algumas semanas para ser confirmado. Uma vez confirmado, os compradores assumem que as fazendas avaliadas continuarão a fornecer o produto com as mesmas especificações de quando foram feitos os testes. Assim, os caminhões passam pelas diversas fazendas aprovadas na análise e mistura os leites dos diversos produtores em seus tanques. Isto acarreta uma amostra final de característica duvidosa caso haja algum produtor que tenha alterado as características de seu leite. Fica evidente a falta um melhor controle do processo, principalmente na fase de coleta, uma vez que o produto pode sofrer variações diárias em suas características e acabar prejudicando os produtores de leite de melhor qualidade.

O preço final do leite é feito equilibrando as características desejáveis das não-desejáveis, ou seja, o comprador pagará mais pelo teor de gordura e proteínas e subtrairá do preço final a quantidade de água presente no leite, contagem de células somáticas (CSS) e contagem bacteriana total (CBT), caso estejam fora dos padrões estabelecidos. Todos esses valores de preço e porcentagem da composição do leite estão tabelados de acordo com o Sistema de Valorização da Qualidade (SVQ) ^[25].

A utilização de um equipamento que possa fazer essas medidas *on-line* garantiria benefícios aos bons produtores e maior dificuldade de alteração do produto. Empresas como a EKOMILK ^[26], LACTOSCAN ^[27], e a TEXTECH ^[28], já

possuem equipamentos para análise do teor de gordura em tempo menor que um minuto, mas esses equipamentos são muito caros e grandes, dificultando a análise em campo. Os equipamentos mencionados efetuam suas análises através de técnicas de ultra-som.

3.4. TIPOS DE LEITE

Existem hoje no mercado vários tipos de leite longa vida (UHT). Analisaremos apenas os principais: integral, semidesnatado e desnatado. Devido à dificuldade de encontrar o leite *in-natura*, este só será avaliado após análises satisfatórias dos resultados obtidos na separação dos três tipos de leites longa vida descritos acima. As diferenças entre eles podem ser referentes à concentração de gordura ou quanto aos ingredientes adicionados ao leite^[29].

Leite Integral

O leite integral é considerado uma excelente fonte de cálcio e proteínas, além de possuir no mínimo 3% de gordura. Estudos recentes apontam que as gorduras presentes no leite apresentam um nutriente denominado CLA, ou ácido linoléico conjugado – o qual desempenha um papel importante na queima de gordura pelo corpo. Por isso, esse leite, além de apresentar as características nutricionais tradicionais do leite, ainda pode favorecer o controle de peso.

Leite Semidesnatado

O leite semidesnatado apresenta uma diminuição no teor de gordura (de 0,6 a 2,9 % de gordura), mas é considerado, assim como o leite integral, uma excelente fonte de cálcio e proteínas. Este leite é indicado para pessoas que desejam ingerir menos gordura para diminuição de peso corporal ou por problemas como colesterol alto no sangue. Apesar da diminuição de gordura, o leite desnatado mantém o teor de cálcio e proteínas do leite.

Leite Desnatado

O leite desnatado apresenta uma diminuição ainda maior no teor de gordura em relação ao semidesnatado: no máximo 0,5 % de gordura. Este leite é indicado

para pessoas que desejam ingerir ainda menos gordura para diminuição de peso corporal ou por problemas como colesterol alto no sangue. Apesar da diminuição de gordura, o leite desnatado mantém o teor de cálcio e proteínas do leite.

Diferentes Teores de Gordura

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UHT, o leite recebe diferentes denominações conforme o seu teor de gordura:

| Tipo de Leite | Teor de Gordura |
|----------------------|------------------------|
| Integral | Mínimo de 3% |
| Semidesnatado | De 2,9 a 0,6%* |
| Desnatado | Máximo de 0,5% |

* dependendo do fabricante

Tabela I - Porcentagem de teor de gordura nos leites UHT

Leites Fortificados

São acrescentados vitaminas, ferro, cálcio e omega.

Leite Homogeneizado

O leite passa por um processo chamado homogeneização, ou seja, quando a gordura do leite é uniformemente distribuída, evitando a formação da nata e a separação da gordura.

Leite Pasteurizado

O leite líquido é submetido por tratamento térmico, que consiste no aquecimento do leite à temperatura de 72 a 75°C por 15 a 20 segundos, e refrigeração à temperatura entre 2 a 5°C sendo envasado em seguida.

Leite Esterilizado

O leite é pré-aquecido a 70°C em fluxo contínuo, embalado e em seguida esterilizado na própria embalagem à temperatura de 109 a 120°C, de 20 a 40 minutos, sofrendo resfriamento numa temperatura de 20 a 35°C.

Leite Com Baixo Teor de Lactose

Pessoas que possuem problema na síntese da enzima lactase e, portanto, não conseguem digerir a lactose (açúcar do leite), podem apresentar após a ingestão deste alimento sintomas como: flatulência, mal-estar e diarréia. O leite com lactose reduzida é indicado aos intolerantes a lactose, para que possam obter os nutrientes presentes no leite, através de seu consumo, sem os inconvenientes que a lactose costuma lhes causar.

Leite enriquecido com Fibras

É enriquecido com a inulina, que é um tipo de fibra alimentar. Uma substância totalmente natural, solúvel, e que ao ser adicionada no leite não altera seu aspecto e nem seu sabor. Por não ser digerida pelo estômago, a inulina não é aproveitada pelo organismo e, portanto, não altera o valor calórico do leite nem aumenta o nível de açúcar no sangue. Na verdade, quem consome essa substância são as bifidobactérias. Essas bactérias compõem a flora intestinal e inibem o desenvolvimento de outras bactérias indesejáveis, que causam diarréia ou câncer de colón, por exemplo. Alguns estudos indicam que o consumo de fibras também ajuda no controle dos níveis de colesterol sanguíneo.

Alguns dados sobre a condutividade do leite foram obtidos no site da LACTOSCAN^[27]. A condutividade eletrolítica é definida como a capacidade de uma substância conduzir corrente elétrica. O valor médio da condutividade elétrica, em um animal saudável, é:

| Tipo de leite | Valores de Condutividade* |
|----------------|----------------------------|
| Leite de vaca | Entre 4 e 6 mS/cm (18°C) |
| Leite de cabra | Entre 3 e 5 mS/cm (18°C) |
| Búfalo | Entre 2,5 e 5 mS/cm (18°C) |

*Estes valores dependem da região geográfica, raça e outros fatores.

Tabela II - Valores de Condutividade elétrica em relação aos tipos de leite^(*)

A condutividade do leite é alterada de acordo com a concentração de íons presentes, conforme a tabela:

| | |
|---|--|
| Adicionar água, açúcar, proteínas, sólidos insolúveis | Diminui a concentração de íons. A condutividade do leite diminui. |
| Adicionar sais | Aumenta a concentração dos íons. A condutividade do leite aumenta. |
| Valores extremamente significativos 6,5 - 13,00 mS/cm (18°C) | Pode indicar o desenvolvimento de mastite. Infecções causam dano no tecido da úbere permitindo que íons de sódio e cloro presentes no sangue sejam liberados no leite. Assim aumenta a concentração de íons no leite, podendo este conduzir melhor a corrente elétrica, aumentando a condutividade do leite. |

Tabela III - Valores de condutividade em relação à concentração de íons

O leite bovino é uma mistura complexa e heterogênea, composta por um sistema coloidal de três fases: solução, suspensão e emulsão. A solução é composta por minerais e hidratos de carbono dissolvidos na água, a suspensão é formada pelas substâncias protéicas com a água em suspensão, e a emulsão é apresentada pela gordura (fase dispersa) em água. O leite de vaca, em condições normais, tem em média os seguintes componentes ^[6]:

| Componentes principais | Composição média (%) |
|-------------------------------|-----------------------------|
| água | 87,25 |
| sólidos totais | 12,75 |
| gordura | 3,8 |
| proteína | 3,5 |
| lactose | 4,8 |
| sais minerais | 0,65 |

Tabela IV - Composição do leite de vaca

3.5. EQUIPAMENTOS



EKOMILK TOTAL ^[26]: baseado em analise por ultra-som, não necessita de reagentes para realizar os testes. Parâmetros de medida para o teor de gordura estão na faixa de 0 a 25%, com precisão de $\pm 0,1\%$. Os resultados ficam prontos em 45 segundos.

LACTOSCAN MCC ^[27]: analisador de leite ultra-sônico. Faixa de Teor de gordura de 0 a 25%, com precisão de $\pm 0,06\%$.



MASTER CLASSIC ^[28]: analisador de leite baseado em técnicas de ultra-som. Tempo de resposta: 60 segundos.

MASTER MINI ^[28]: analisador de leite por ultra-som. Análise é feita em 90 segundos. Faixa de gordura entre 0 a 20% e precisão $\pm 0,1\%$.



3.6. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 51 DE 18/09/2002

A IN/51, em vigor desde setembro de 2002, estabelece novos parâmetros para a produção de leite ^[4]. A tendência é que os índices de Unidade Formadora de Colônia de Bactérias (UFC) e Contagem de Células Somáticas (CCS), que atestam

a qualidade do produto, ficarão próximos aos exigidos nos países com pecuária leiteira desenvolvida. Haverá também rigor no que diz respeito ao percentual de sólidos totais (gordura, proteína e sólidos desengordurados) e contaminantes do leite.

3.7. ANÁLISE DE MERCADO

A indústria de laticínios no Brasil tem crescido fortemente nos últimos anos. Desde 2004 o Brasil vem aumentando sua exportação, com volumes significantes, para mais de 70 países. A produção nacional é bem espalhada por todo o território com aproximadamente um milhão de produtores, representando 40% de todo território agrícola. A média de crescimento desde 2000 tem sido de 3% ao ano e há expectativa de crescimentos similares para os próximos anos. Em 2008 o Brasil entrou para o *ranking* dos 5 maiores países produtores de leite bovino, com uma parcela de quase 5% da produção mundial de leite bovino^[30]. No entanto, as indústrias de laticínios ainda enfrentam uma baixa qualidade do leite, a qual impõe um obstáculo para substituir os produtos importados pelo mercado interno. A melhoria na qualidade do leite pode agregar valor ao produto, melhorando a competitividade global e abastecimento interno.

3.8. MEDIDAS DE IMPEDÂNCIA

As propriedades elétricas de um filme de polímero condutor podem ser alteradas irreversivelmente pelo deslocamento de espécies ionizadas para o seu interior, bem como por polarização permanente do filme, quando este é submetido à corrente contínua. Medidas em corrente alternada impedem esses efeitos. Além disso, a flexibilidade de operar sensores feitos de polímeros condutores, em diferentes freqüências, permite que estes possam ser sensíveis e seletivos a certas substâncias, o que normalmente não ocorreria com medidas em corrente contínua.

De uma maneira geral, pode-se dizer que na região de baixas freqüências a capacidade é dominada por efeitos de dupla camada, sendo que na região de 10 Hz a 104 Hz aparecem os efeitos devido à presença do filme sobre os eletrodos. Em

freqüências muito altas, acima de 105 Hz, a impedância do sistema é dominada pela capacidade geométrica dos eletrodos ^[31].

3.9. PARÂMETROS DESEJÁVEIS EM SISTEMA SENSORIAL

Os parâmetros mais desejáveis em um sistema sensorial de qualidade são: sensibilidade, reproduzibilidade e repetibilidade. De acordo com a *International Society of Automation* ^[32], esses parâmetros são definidos como:

Sensibilidade: a relação entre a variação do valor de saída e a variação do valor de entrada correspondente, depois de alcançado o regime estacionário. É expressa como uma relação com indicação das unidades de medida das duas grandezas.

Reproduzibilidade: em instrumentação de processos é a proximidade da concordância entre várias medidas repetidas da saída para o mesmo valor da entrada, sob as mesmas condições de operação, ao longo de um período de tempo, chegando de ambas as direções.

Repetibilidade: a proximidade de concordância entre um número de medidas consecutivas de saída para um mesmo valor de entrada, nas mesmas condições de operação, chegando da mesma direção, em percurso de faixa total.

3.10. ANÁLISE DA COMPONENTE PRINCIPAL (PCA – Principal Component Analysis)

A análise de componentes principais é indicada para conjuntos de medidas correlacionadas linearmente, que assim podem ser reduzidas a poucas variáveis sintéticas, denominadas componentes principais ^[33].

A PCA reduz praticamente a dimensão do problema para duas – ou três – componentes principais, através da combinação linear das variáveis iniciais que mais contribuem para tornar as amostras diferentes umas das outras. O objetivo principal da análise de componentes principais é a obtenção de um pequeno número

de combinações lineares (componentes principais) de um conjunto de variáveis, que retenham o máximo possível da informação contida nas variáveis originais.

Existem vários modelos de classificação que podem ser construídos a partir de análise de componentes principais como: PCA, PLL e rede neural artificial, entre outros [13,34].

4. OBJETIVOS DO PROJETO

4.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral é a montagem de uma Língua Eletrônica de polímeros condutores que possa distinguir teores de gordura no leite bovino industrializado.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos são: a identificação dos melhores polímeros a serem utilizados na LE, a verificação da metodologia para o *reset* dos sensores e a comparação entre algumas geometrias de sensores com e sem filmes poliméricos.

5. METAS

- I. Definir quantitativamente a utilização de uma LE na classificação de leite bovino quanto ao teor de gordura;
- II. Comparação do funcionamento da LE em função da geometria dos microeletrodos e presença de filmes poliméricos;
- III. Construção de uma LE dedicada à classificação de leite bovino;
- IV. Apresentação de análise multivariada em busca de separação entre os diversos tipos de leite através de medidas de capacidade ou resistência com a LE.

6. RECURSOS NECESSÁRIOS

No presente momento, o Grupo de Eletrônica Molecular (GEM) do PSI possui os recursos necessários para a fabricação do sistema sensorial e sua utilização.

Para a base teórica, serão usados artigos científicos disponíveis sobre o assunto.

6.1. ANÁLISE DE VIABILIDADE E CUSTOS

Os materiais necessários para a realização do projeto, em sua maioria, estão disponíveis no GEM do PSI. Para a confecção dos microeletrodos serão necessários materiais como: soluções poliméricas, solventes, amostras de leite, polímeros como a polianilina, poliestireno, polipirrol, entre outros. Os custos desses polímeros chegam a aproximadamente R\$2.000,00 (dois mil reais). A construção da cabeça (suporte) custará R\$50,00 (cinquenta reais). Haverá uma necessidade de 24 eletrodos com custo por unidade de R\$60 (sessenta reais). Os solventes utilizados estão na faixa de R\$90 (noventa reais) o litro. Estima-se um gasto de R\$300 (trezentos reais) com amostras de leite, uma vez que este produto é perecível e depois de aberto deve ser consumido em poucos dias. Gastos com energia elétrica ficará em torno de R\$50 (cinquenta reais) mensais. Com isso, percebemos que os gastos com materiais estão na faixa de R\$4.500,00 (quatro mil e quinhentos reais), pois produtos como polímeros, soluções poliméricas e solventes possuem um limite mínimo para venda. Como o laboratório já possui a maioria desses materiais e utilizaremos por volta de 1% dos mesmos para a fabricação dos microeletrodos, o projeto tornar-se-á viável e os maiores gastos recairão na compra das amostras de leite para os testes. O tempo de produção dos microeletrodos será de aproximadamente 10 dias.

O horário de trabalho para a realização do projeto está fixado inicialmente em 20 horas semanais, podendo sofrer modificações caso haja necessidade.

Apesar de o projeto apresentar um alto valor financeiro, a sua realização é economicamente viável uma vez que o laboratório do PSI tem condição de

proporcionar os materiais de maiores custos para a realização do projeto. Essa língua eletrônica é de grande interesse por parte de produtores e compradores de leite.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1. PROCEDIMENTOS DE MEDIDAS

O procedimento para a preparação das amostras procurou reproduzir um ambiente com características similares às encontradas em campo, permitindo temperatura ambiente (25°C) com variação de +ou- 2°C e utilização de produtos para diluição facilmente encontrados no mercado.

Para analisar a capacidade de separação será utilizado o método PCA para tratamento dos dados de capacidade e/ou resistência. Os resultados serão projetados em 2 ou 3 componentes principais mais importantes denominadas PC1, PC2 e PC3.

Será adotado um padrão sistemático de medidas, tornando mais consistente as aquisições dos dados. Os dados serão analisados da seguinte forma: aquisição de 30 (trinta) valores para cada sensor em um mesmo analito e posterior média simples desses 30 valores, resultando em um valor médio para cada sensor. Com isso, temos um conjunto de 10 (dez) valores, fornecido pelo sistema multisensorial, para formar uma matriz de dados. Essa matriz de dados será tratada pela análise PCA, fazendo uma impressão digital para cada tipo de analito e possível separação entre amostras diferentes. Os diversos filmes poliméricos utilizados no sistema sensorial procuram reproduzir a língua humana e sua sensibilidade às substâncias químicas. A aquisição dos sinais serão feitos através dos programas SLE ou ROBO, editados com o software LabVIEW. A comunicação com os equipamentos Solartron ou LCR será feita pela interface GPIB.

Os parâmetros iniciais dos equipamentos foram configurados do seguinte modo:

- ✓ Tensão: 50mV;

- ✓ Velocidade: lento;
- ✓ Frequência: a definir;
- ✓ Circuito: paralelo;
- ✓ Equipamento – parâmetro da coleta: (1) Solartron – capacidade e resistência ou (2) LCR – impedância – módulo e fase;
- ✓ Tempo para estabilização dos sensores: 60 segundos;
- ✓ Tempo para limpeza dos sensores: agitação de 300 segundos em água destilada;
- ✓ Temperatura ambiente: $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$;

Para a limpeza dos sensores e diluição do leite será utilizado, de início, água destilada.

As configurações iniciais a serem utilizadas estão descritas acima, caso estas não forneçam resultados satisfatórios serão propostas algumas alterações dessas configurações no decorrer das análises.

O sistema multisensorial proposto está representado na figura abaixo.

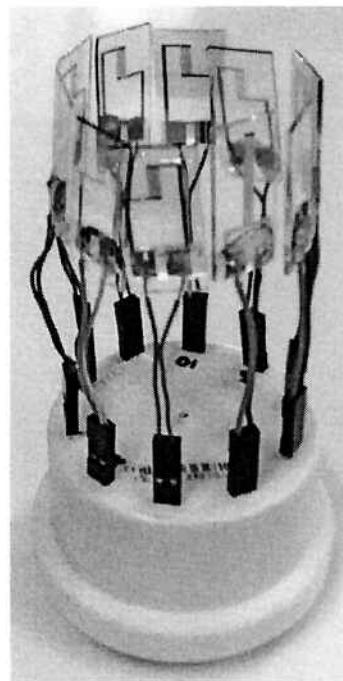


Figura 1 – Sistema multisensorial com 10 sensores

As embalagens serão abertas somente na hora de fazer as medidas e/ou no preparo das amostras diluídas em água destilada. Após aberto, o leite será mantido refrigerado e sua utilização terá um prazo máximo de 4 (quatro) dias. Este procedimento visará manter as características do leite, de acordo com as indicações do fabricante, já que o mesmo sofre deterioração com o tempo. Essa deterioração é significante se exposto aberto ao ambiente por mais de 24 horas, e certamente estará estragado após 48 horas de exposição ao ambiente [17,35].

O procedimento de diluição será adotado com a finalidade de diminuir a aderência das substâncias presentes no leite na superfície do sensor, evitando danificar as bicamadas poliméricas dos sensores e facilitar a limpeza.

Iniciaremos as medidas de impedância fazendo uma varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz com passo linear de 100 Hz para observar a melhor faixa de aquisição dos dados, ou seja, região onde há maior diferença na resposta elétrica entre as diferentes amostras. Os leites integral, semidesnatado e desnatado serão diluídos em água destilada nas proporções 1:99, 1:49 e 1:9, para determinar a maior diluição possível das amostras sem perder os padrões das respostas elétricas. Um meio menos agressivo aos polímeros presentes nos sensores pode garantir melhores resultados para as impressões digitais desses eletrodos e maior tempo de vida. O conjunto utilizado para a aquisição dos dados é formado pelos seguintes equipamentos: computador, sensor, amostra, controle de temperatura, solução de limpeza, multiplexador e o Solartron.

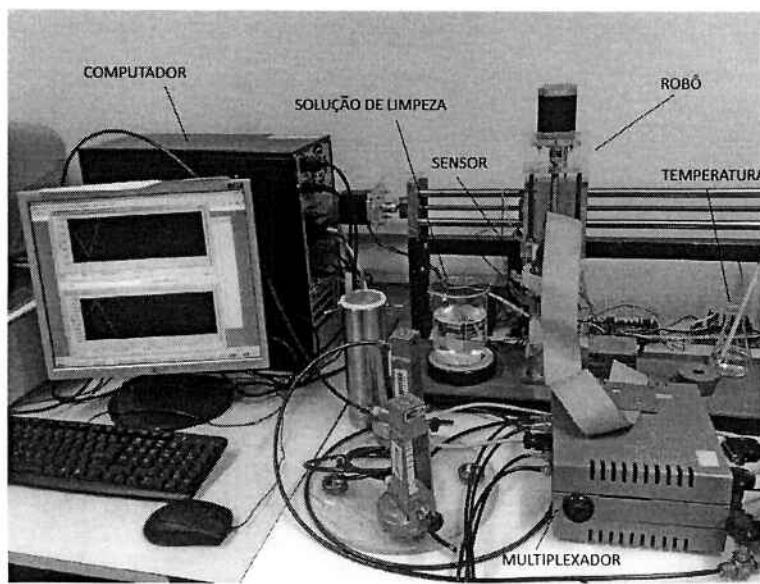


Figura 2 - Equipamentos utilizados para aquisição dos dados

7.2. MÉTODO DE FABRICAÇÃO

7.2.1. Fabricação do microeletrodo

O processo de fabricação do microeletrodo é iniciado com a técnica de sputtering, depositando NiCr e ouro sobre as placas de vidro que são utilizadas como substrato. A camada de ouro possui espessura de aproximadamente 2000 ângstrons. Logo após é iniciado o processo de fotogravação utilizando uma fotomáscara com os parâmetros e geometria desejados. Em seguida temos o processo de revelação e corrosão deixando apenas a camada de ouro coberta pelo fotoressiste. Nesta fase é feita uma varredura, com o microscópio, pela superfície do microeletrodo em busca de eventuais curtos circuitos entre os dígitos. Após a aprovação visual, o fotoressiste é removido com acetona e o microeletrodo está pronto [31].

7.2.2. Deposição de filmes poliméricos

A fabricação de um filme nanoestruturado pela técnica de deposição por automontagem consiste na imersão de um suporte sólido em uma superfície carregada. Os polímeros tornam-se condutores somente após serem dopados, formando portadores de cargas positiva chamados de polarons ou bipolarons.

As camadas de policátons e poliâions serão depositadas alternadamente pelo método da adsorção. Para remover o excesso de material, o sensor será imerso numa solução de limpeza e depois seco com ar comprimido ou nitrogênio. Assim, uma bicamada estará formada após a adsorção de uma camada de policáton e outra de poliâion. Repetindo sucessivamente essas etapas vão sendo formadas bicamadas até a espessura desejada. Neste caso, em específico, serão utilizadas 10 (dez) bicamadas para os sensores com filmes.

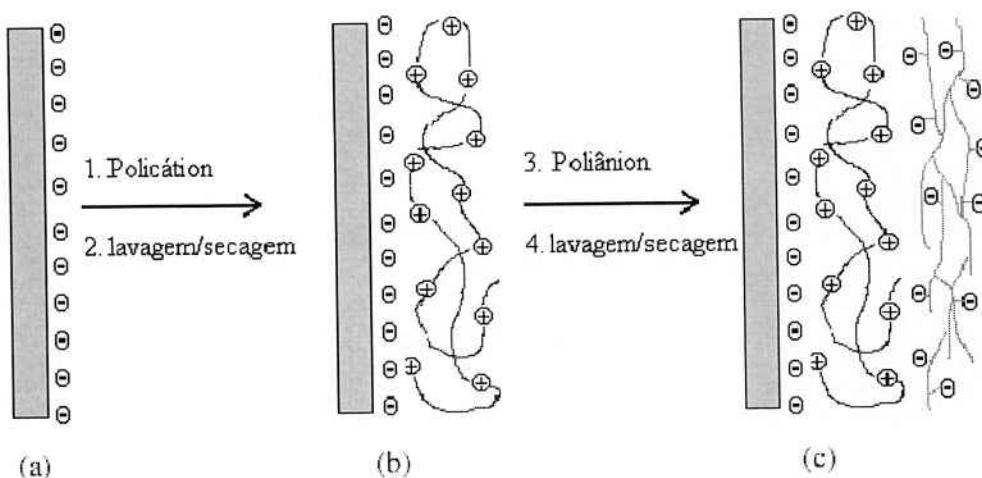


Figura 3 - Representação esquemática do processo de deposição automontagem: (a) suporte sólido com superfície carregada negativamente. (b) adsorção de um policátion. (c) adsorção de um poliânon e formação de uma bicamada

Os microeletrodos interdigitados, juntamente com polímeros condutores atuam como transdutores, gerando um valor de capacitância para cada líquido analisado. A figura abaixo mostra uma ilustração simplificada do microeletrodo e suas dimensões.

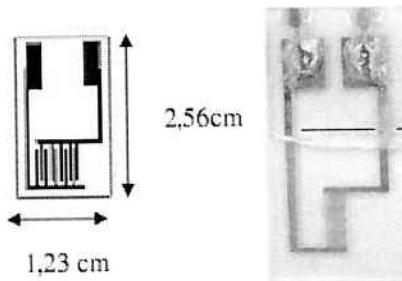


Figura 4 - Microeletrodo interdigitado e suas dimensões

A estimativa da capacitância total do sensor será dada pelas características do eletrodo interdigitado e sua geometria. As geometrias se diferenciam em relação ao comprimento, largura e números de dígitos, bem como o espaçamento entre um dígito e outro.

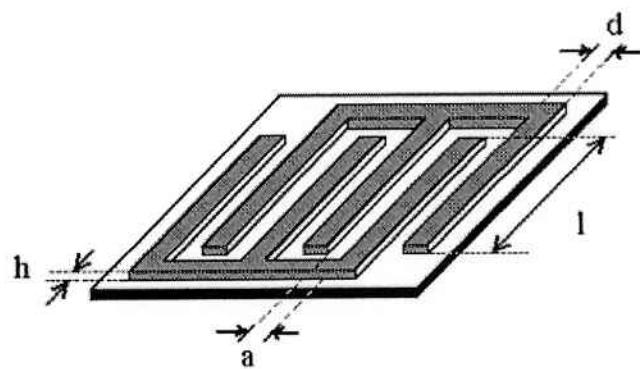


Figura 5 - Parâmetros a, d, h, l envolvidos na estimativa da capacidade total de um eletrodo interdigitado

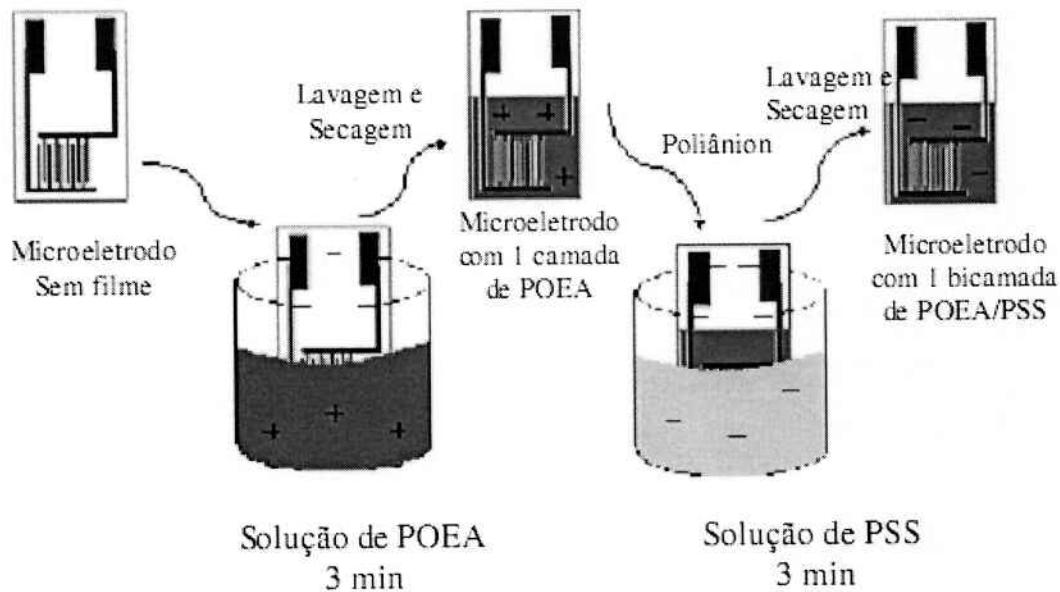


Figura 6 - Ilustração da fabricação de 1 bicamada de POEA/PSS pela técnica de automontagem

7.2.3. Características dos sensores utilizados

| | Identificação | Polímero utilizado | Largura entre dedos | Nº de dígitos |
|------------------|---------------|--------------------|---------------------|---------------|
| SENSOR 1 | Z07 | POMA/PEDOT | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 2 | V31 | POEA-TSA/PSS | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 3 | D52 | sem filme | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 4 | V49 | PANI/LS | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 5 | V93 | POEA/PSS | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 6 | V78 | PANI/PSS | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 7 | V89 | PANI/PSS | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 8 | C04 | sem filme | 50 µm | 50 pares |
| SENSOR 9 | V99 | POMA/PPI | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 10 | V32 | PANI/Ni-Ts-Pc | 10 µm | 50 pares |
| SENSOR 11 | D16 | sem filme | 10 µm | 1 par |

Tabela V - Características de cada sensor utilizado

A largura do dedo do sensor 11 é de 550 µm e sua geometria é do tipo T.

Após a análise do leite marca A, acrescentamos os sensores 10 e sensor 11. O sensor 11 substituiu o sensor 2 que estava danificado, totalizando os 10 sensores na cabeça.

8. RESULTADOS

Nesta primeira etapa será utilizado somente um tipo de fabricante do leite – marca A – para as escolhas de diluição e freqüência de aquisição dos dados. Com as configurações iniciais descritas anteriormente, obtivemos melhores resultados com a diluição do analito em 2% em volume, ou seja, 1 ml da amostra de leite para 49 ml de água destilada. A definição da freqüência para aquisição dos dados foi feita após uma varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz, com passos de 100 Hz, escolhendo aquela de maior separação entre os sinais dos sensores. A seguir, serão apresentados apenas os gráficos pertinentes aos objetivos e metas propostos.

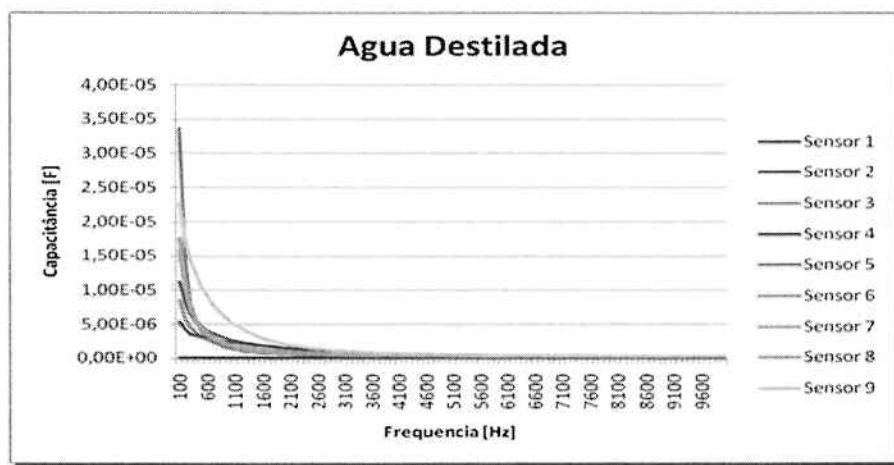


Figura 7 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para água destilada

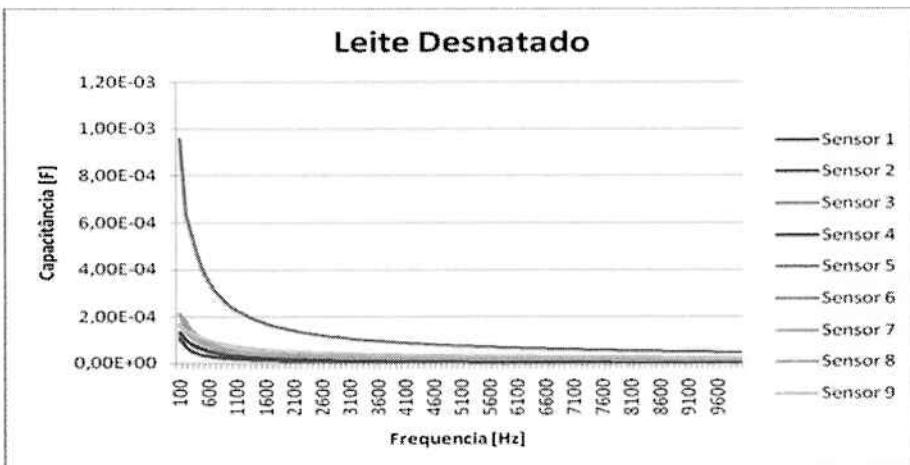


Figura 8 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite desnatado marca A diluído em água destilada (1:49)

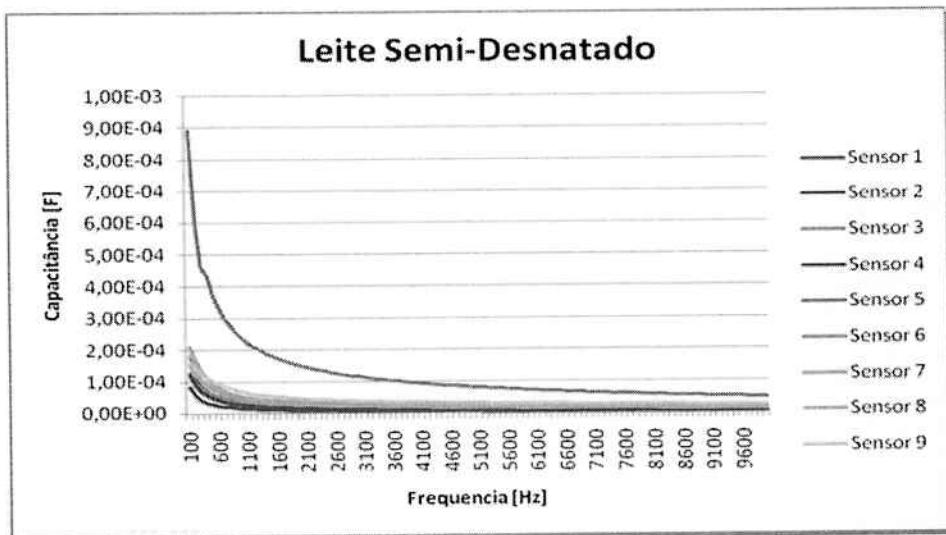


Figura 9 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite semidesnatado marca A diluído em água destilada (1:49)

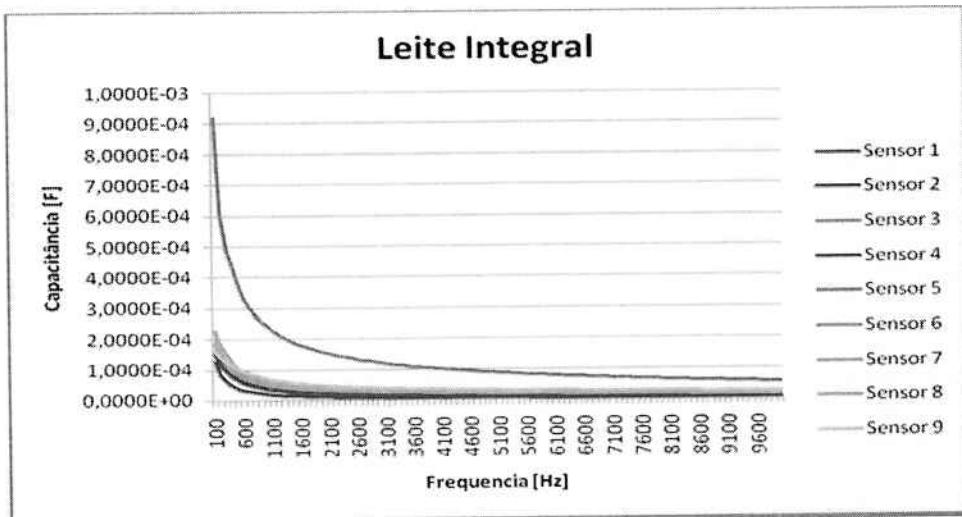


Figura 10 - Varredura em freqüência de 100 Hz a 10 kHz para leite integral marca A diluído em água destilada (1:49)

Analisando os gráficos, nota-se que entre 500 Hz e 2000 Hz podemos ter uma maior variação da resposta elétrica dos sensores. Portanto, escolhemos a freqüência de 1 kHz para fazer as medidas devido a uma maior diversidade de equipamentos que possuem essa freqüência específica. Abaixo, segue a analise das amostras de leite (marca A) e água destilada para a freqüência de 1 kHz em função dos sensores:

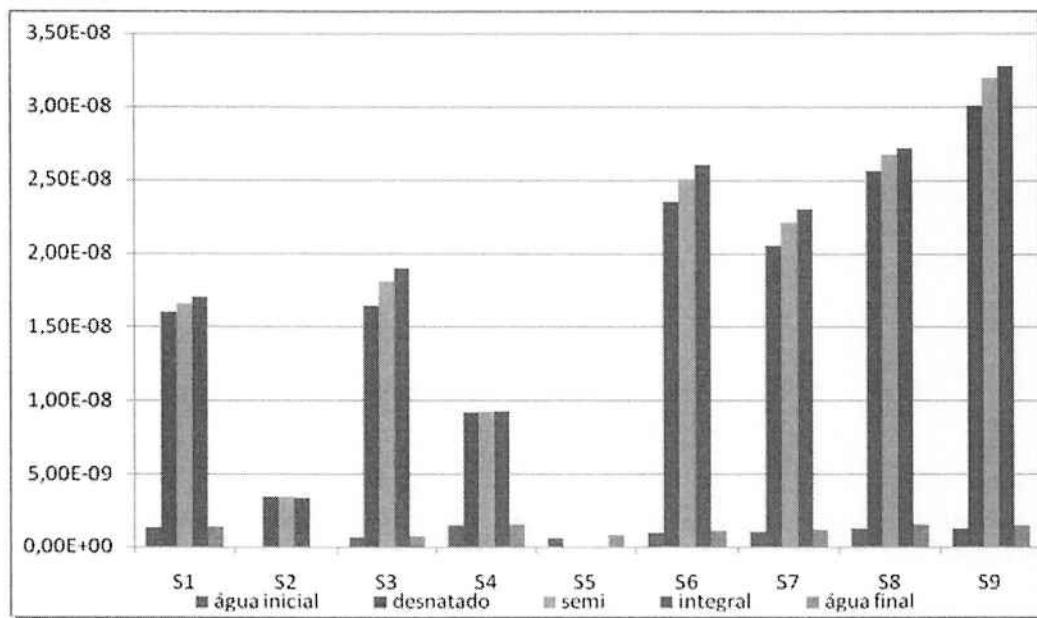


Figura 11 - Valor da capacidade [F] para os diversos tipos de leite (marca A) e água destilada na freqüência de 1 kHz em função dos diferentes polímeros dos sensores*

(* sensor 5 foi retirado devido ao alto valor de sua resposta elétrica, prejudicando a visualização dos demais sensores)

Após essa etapa inicial, temos as informações necessárias para determinar os parâmetros de diluição em volume do analito e freqüência a ser utilizada na aquisição dos sinais. O próximo passo será realizar a etapa do teste de *reset*, onde haverá medidas dos diversos tipos de leite, alternadamente com a água destilada, procurando garantir que os sensores estão voltando aos seus patamares padrão para uma determinada substância de referência—água destilada.

O teste de *reset* após os primeiros 15 ciclos de medidas começou a mostrar-se insatisfatório. Cada ciclo é composto da análise dos leites integral, semidesnatado e desnatado. Os 15 primeiros ciclos de medidas foram distribuídos da seguinte maneira: (1) varredura em freqüência para as 3 (três) diluições propostas (1:9; 1:49; 1:99) entre os leites tipo desnatado, semidesnatado e integral, totalizando 9 ciclos; (2) análise dos dados para as 3 amostras na freqüência escolhida de 1 kHz, totalizando 3 ciclos; (3) comprovar os dados obtidos anteriormente, mais 3 ciclos, totalizando os 15 primeiros ciclos. Neste ponto, comprovamos na prática um dos problemas já esperado em teoria: a eficiência da limpeza dos sensores para garantir algumas das características necessárias para esse dispositivo – repetibilidade e reprodutibilidade.

A primeira tentativa de melhoria na limpeza dos sensores foi utilizar detergente, com a expectativa da remoção de possíveis resíduos de gordura na superfície do mesmo e que possa estar prejudicando a correta leitura dos sensores. Para isso, diluímos 4 (quatro) gotas de detergente em 500 ml de água destilada e agitação até formar espuma na solução. A concentração de detergente foi mínima porque não desejamos uma reação entre o detergente e os filmes poliméricos dos sensores, arrancando-os e prejudicando o trabalho proposto. Feito este procedimento, iniciou-se um novo conjunto de ciclos (16 a 18). Para estes testes utilizamos apenas leite integral, devido à maior porcentagem em gordura, para verificar o reset dos sensores. Mais uma vez os resultados não foram satisfatórios, havendo uma diferença muito grande entre a leitura da água no inicio e no final dos testes.

Após pesquisar vários métodos de remoção de gordura nos sites disponíveis na literatura e sites da internet, decidiu-se por aumentar a temperatura da água para 30°C e realizar novamente os testes de reset nas mesmas condições da primeira tentativa. Os resultados continuaram sendo insatisfatórios para o reset dos sensores. Neste ponto, paramos o projeto por 3 dias em busca de informações que possam ajudar na limpeza dos sensores. Fizemos contato com as duas empresas no Brasil que possuem analisadores de leite – TEXTECH E LACTOSCAN – e obtivemos as seguintes informações: (1) os equipamentos das duas empresas necessitam de limpeza com produtos químicos entre a 15° e 20° amostras analisadas, esses produtos são fornecidos pelos fabricantes e (2) esse produto era uma “espécie de detergente” segundo seus vendedores. Lembramos que a análise feita pelos equipamentos desses fabricantes é baseada em técnicas de ultra-som e seus eletrodos não são danificados ao reagir com detergente. Um dado importante dessas informações é que o sensor proposto neste trabalho fez praticamente a mesma quantidade de medidas antes de ter que passar por um processo mais agressivo de limpeza. Portanto, prosseguimos com a sequência da nossa proposta de trabalho.

As soluções de limpeza encontradas nos artigos da literatura [34,35,36] utilizavam soluções acidas ou básicas para a limpeza dos microeletrodos. Assim, fizemos um paralelo com a biologia e decidimos utilizar o ácido presente no suco gástrico dos seres humanos – ácido clorídrico. Após a escolha do ácido clorídrico

(HCl), optamos pela concentração 0,1M para ser utilizada na limpeza dos sensores, tendo o cuidado de não danificá-los com a solução de limpeza. A limpeza, agora, será feita do seguinte modo: 180 segundos em solução 0,1M com agitação 7 em uma escala de 0 a 10, e agitação em água destilada, na mesma intensidade, durante 300 segundos. Com estes procedimentos foi verificado um reset satisfatório para as medidas de água inicial e final, garantindo uma repetibilidade e reproduzibilidade dos sensores. Fazendo testes preliminares (6 medidas alternadas entre limpeza e analito), notou-se que um aumento no tempo de estabilização dos sensores para 90 segundos e a secagem dos sensores com nitrogênio após cada sessão de limpeza melhorava consideravelmente a reproduzibilidade do sistema multisensorial.

Prosseguindo com a etapa final, serão analisados os leites tipo integral, semidesnatado e desnatado das marcas B e C. Para cada leite serão feitas 12 medidas – indicando 12 pontos. Para cada sensor, cada ponto será o resultado de uma média simples de 30 aquisições de dados de um mesmo analito. As medidas dos pontos de cada leite serão feitas alternando-se entre a medida do analito e limpeza na solução de ácido clorídrico em concentração 0,1M. Assim, teremos dados suficientes para fazer os gráficos de análise das componentes principais para leites tipo desnatado, semidesnatado e integral das duas marcas. A marca A não será incluída juntamente com as marcas B e C pela dificuldade de encontrar o tipo semidesnatado da marca A nos locais de venda. Então, o leite da marca A foi utilizado somente para a definição dos parâmetros de diluição e frequência de aquisição dos dados. Assim, analisaremos os dados e análise PCA dos leites de marca A em separado. Os resultados da análise PCA dos leites marca A, B e C estão nos gráficos abaixo:

8.1. LEITE MARCA A

8.1.1. Análise por capacidade

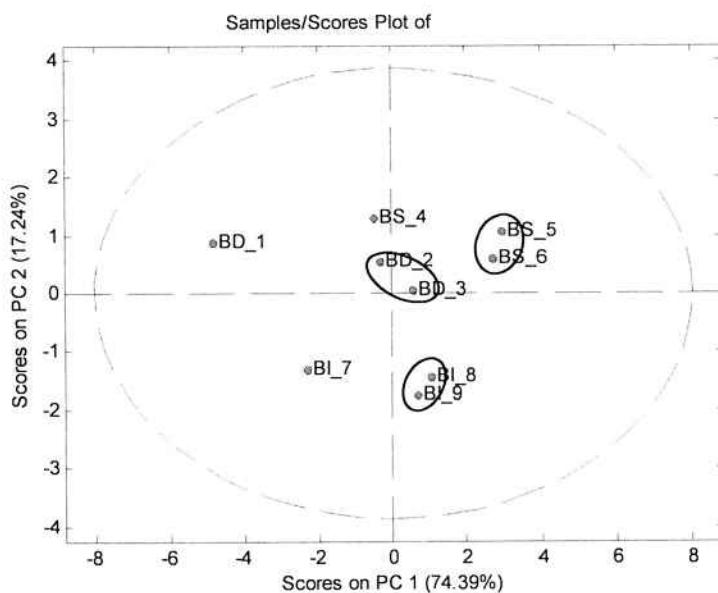


Figura 12 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca A

Nota-se no gráfico acima que apesar de termos a formação de clusters separando os tipos de leite por teor de gordura, não foi possível englobar todos os pontos, eliminando um ponto de cada tipo de leite. Após esta análise acrescentamos mais 2 sensores sem filmes poliméricos. O sensor 10 e o sensor 11 em substituição do sensor 2 danificado, totalizando 10 sensores – 7 com filmes poliméricos e 3 sem filmes.

8.2. LEITE MARCA B

8.2.1. Análise por capacidade

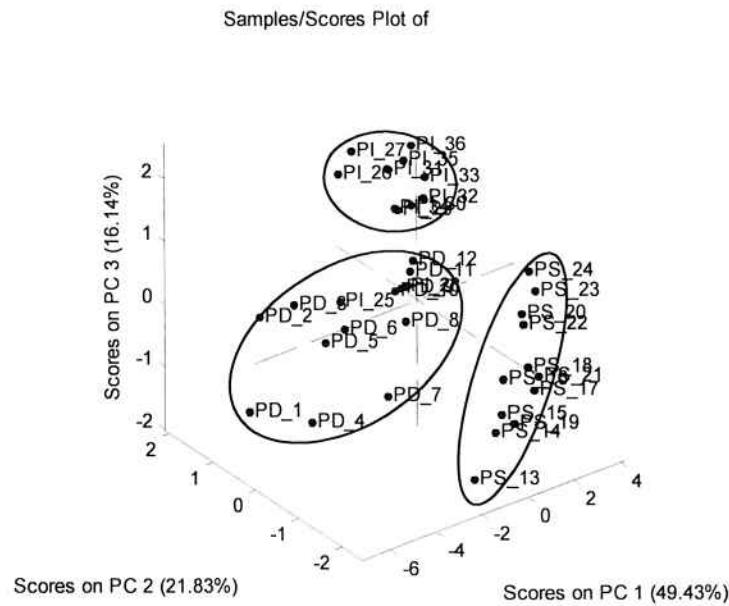


Figura 13 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B - todos os sensores

Inserindo uma nova componente na análise das componentes principais, PC3, conseguimos construir um gráfico tridimensional. Este gráfico foi gerado utilizando todos os sensores do sistema multisensorial. Aqui, percebemos uma separação entre os tipos de leite da marca B com a formação de clusters englobando todos os pontos, garantindo resultado satisfatório para a análise do teor de gordura na marca analisada.

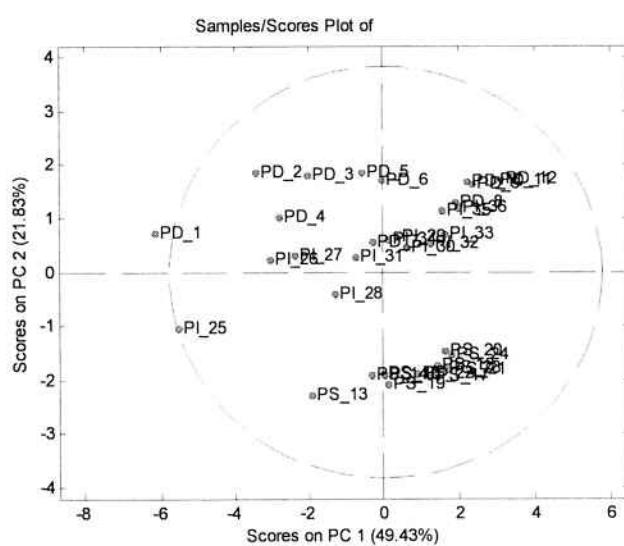


Figura 14 - Análise PCA (2D) para dados de capacidade dos leites marca B – todos os sensores

Quando analisados todos os sensores, em 2D, temos uma pequena sobreposição entre PD e PI, desnatado e integral, respectivamente. Assim, a análise gerada com todos os sensores a partir de duas componentes principais produz um resultado insatisfatório.

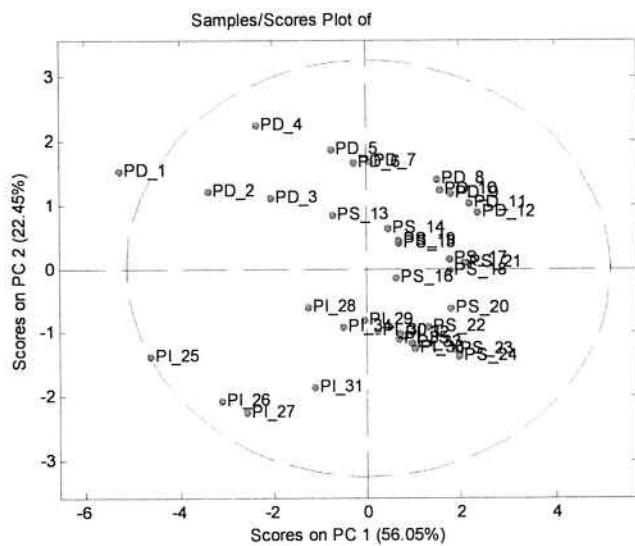


Figura 15 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B – sensores com filmes poliméricos

A análise de todos os pontos, utilizando somente os resultados dos sensores com polímeros, em 2D, acarreta sobreposição entre PI e PS, tornando o resultado insatisfatório.

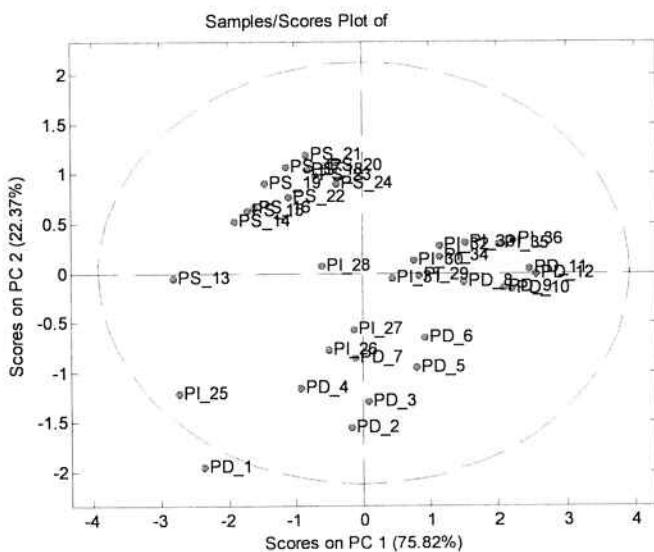


Figura 16 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B – sensores sem filmes poliméricos

A análise de todos os pontos, somente com os resultados dos sensores sem polímeros, em 2D, acarreta sobreposição entre PI e PD, tornando o resultado insatisfatório.

8.2.2. Análise por resistência

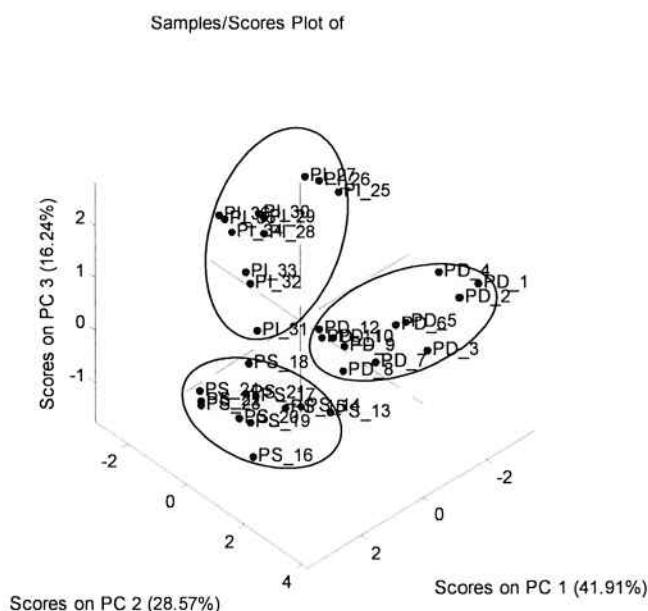


Figura 17 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B – todos os sensores

A análise da PCA com três componentes principais, para dados de resistência, conseguiu separar as amostras de leite de mesma marca. Portanto, temos um resultado satisfatório para a análise utilizando três componentes principais (PC1, PC2 e PC3).

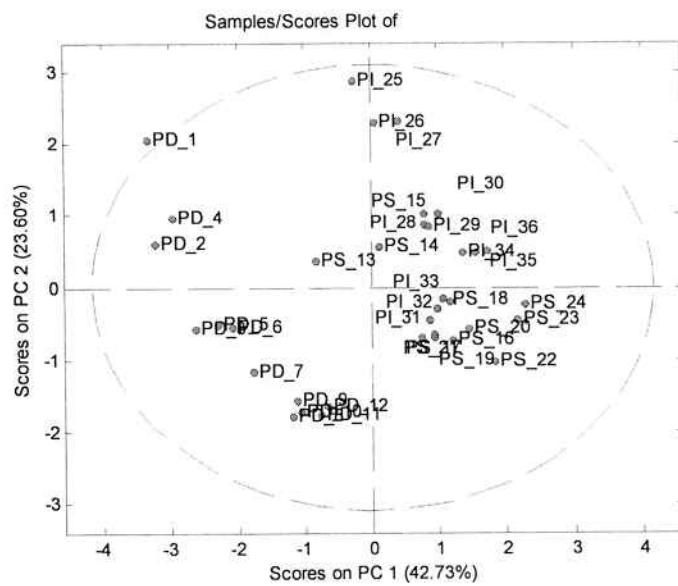


Figura 18 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B - sensores com filmes poliméricos

Utilizando somente os sensores com filmes poliméricos para a analise PCA, em 2D, há sobreposição entre os leites integral e semidesnatado.

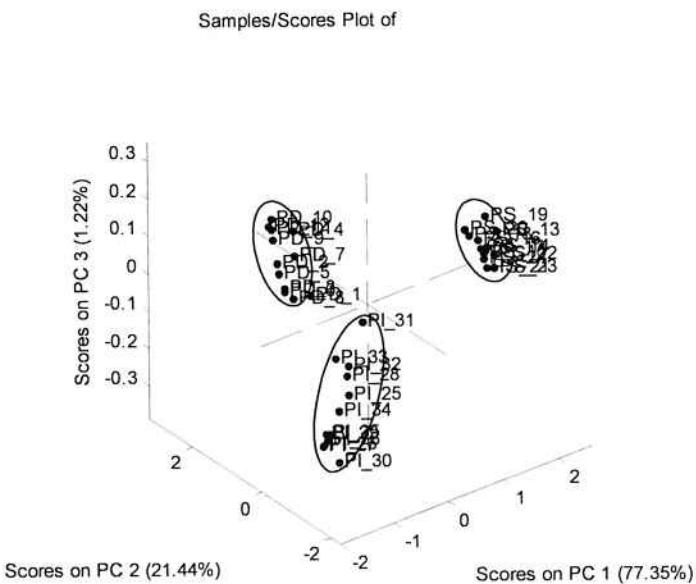


Figura 19 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B – sensores sem filmes poliméricos

O resultado obtido na análise PCA, com a utilização de três componentes principais, para valores de resistência e sensores sem filme, mostra uma ótima formação de *clusters* e separação entre os analitos da mesma marca. Esse gráfico

mostra que a análise do PCA, utilizando os valores de resistência somente com sensores sem filmes poliméricos, consegue uma melhor separação para os leites integral, semidesnatado e desnatado de mesma marca.

8.3. LEITE MARCA C

8.3.1. Análise por capacidade

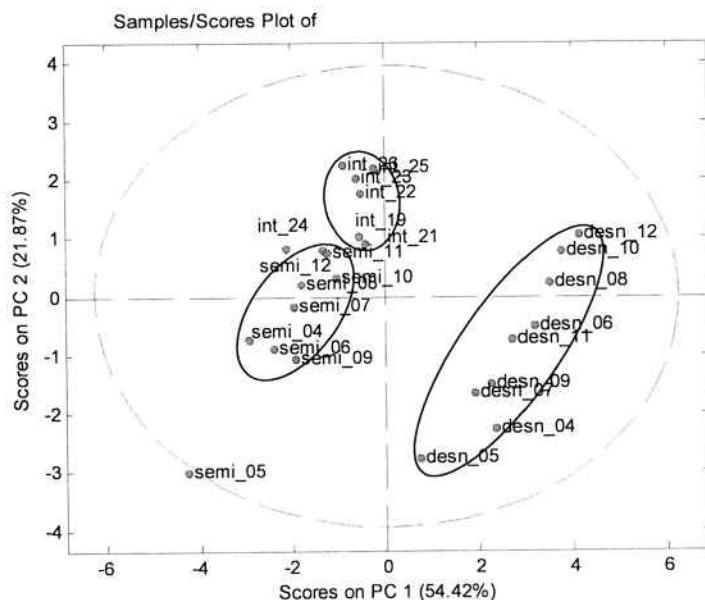


Figura 20 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – todos os sensores

Esse resultado mostrou-se pouco satisfatório devido aos pontos fora das elipses, além de estarem descartadas as três primeiras amostras. Essas amostras foram retiradas porque as respostas elétricas dos sensores não haviam atingido a estabilidade necessária para melhor separação entre os tipos de leite. Portanto, eliminando as amostras iniciais e manipulando um pouco mais os resultados acima, chegamos ao seguinte gráfico:

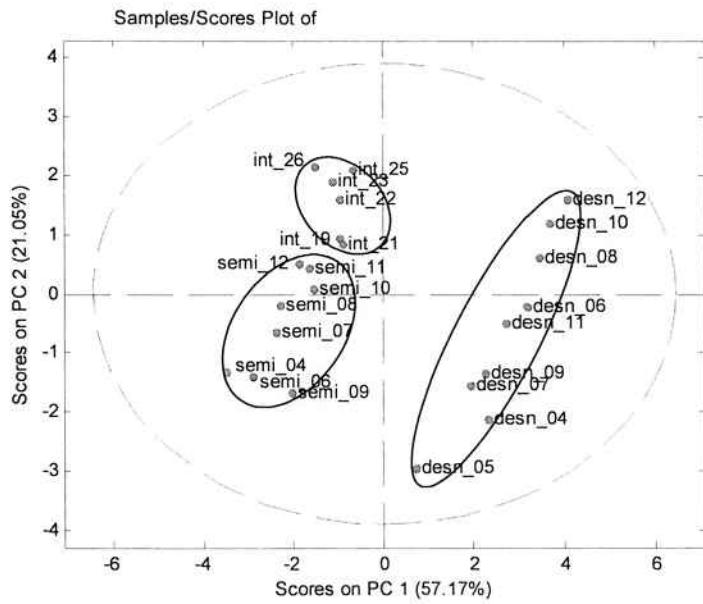


Figura 21 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – todos os sensores

A eliminação das três primeiras medidas e os pontos 5, 18, 20 e 24 resultou em uma análise de PCA satisfatória, apesar de haver pontos muito próximos entre os leites semidesnatado e integral. Isso já era esperado, pois de acordo com a parte teórica, pois o leite semidesnatado pode sofrer variação em seu teor de gordura de acordo com o fabricante.

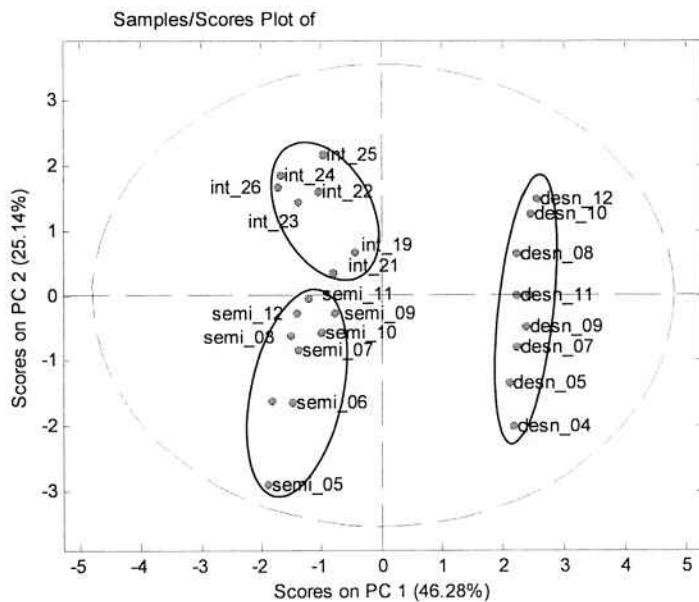


Figura 22 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – sensores com filmes poliméricos

Para o gráfico acima, após eliminar as três primeiras medidas e os pontos 18 e 20, temos uma separação satisfatória fazendo a análise dos valores de capacidade obtidos somente pelos sensores com filmes poliméricos.

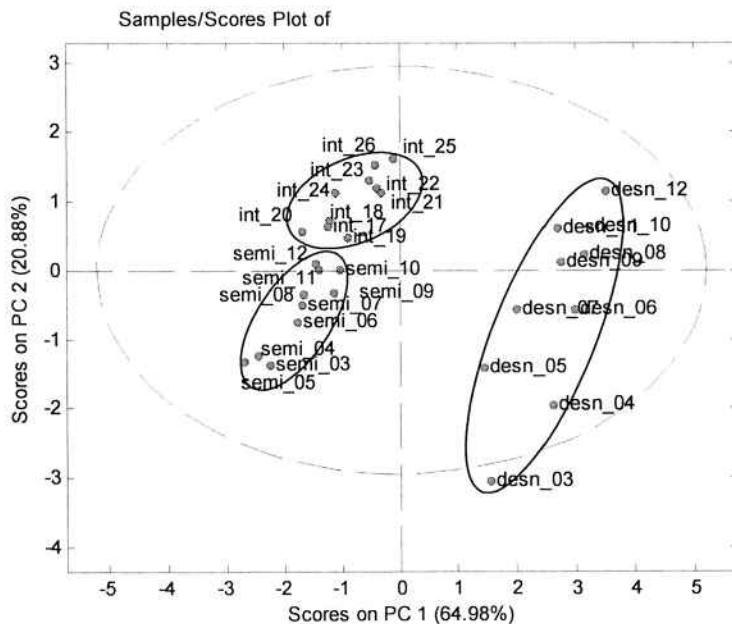


Figura 23 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca C – sensores sem filmes poliméricos

A eliminação dos pontos 4, 6, 7 e 10 ajudou a separar melhor os grupos.

8.3.2. Análise por resistência

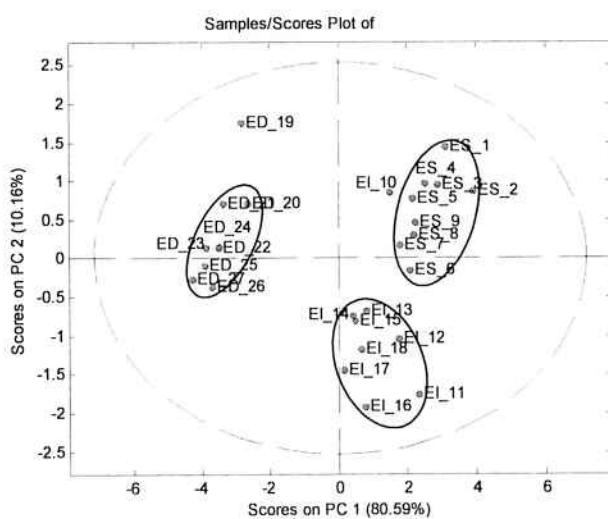


Figura 24 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – todos os sensores

Nota-se que ao eliminar as três primeiras medidas por tipo de leite melhora a separação entre eles.

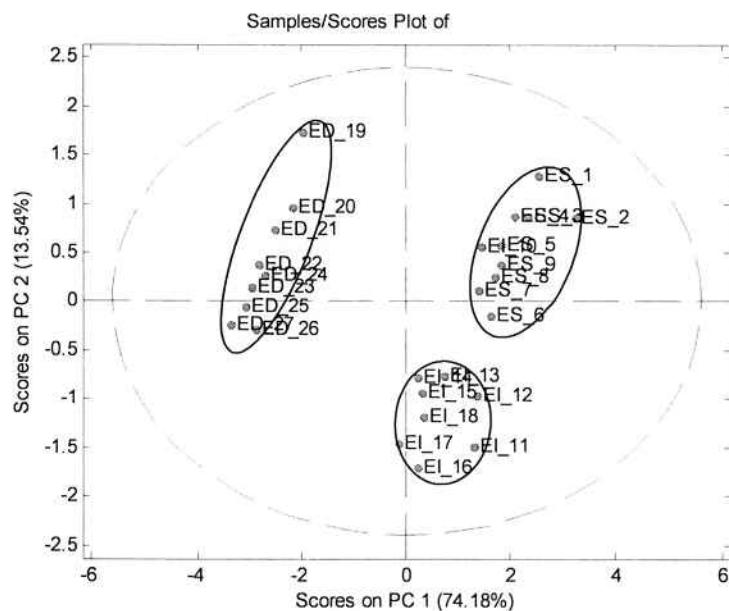


Figura 25 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – sensores com filmes poliméricos

Pela análise dos dados de resistência e eliminação das três primeiras medidas de cada tipo de leite, há uma nítida separação entre os tipos de leite desnatado, semidesnatado e integral. A utilização de sensores com filmes poliméricos e o tratamento dos dados de resistência pela análise das componentes principais (PC1 e PC2) mostrou-se satisfatória para a separação dos leites da marca C em grupos distintos.

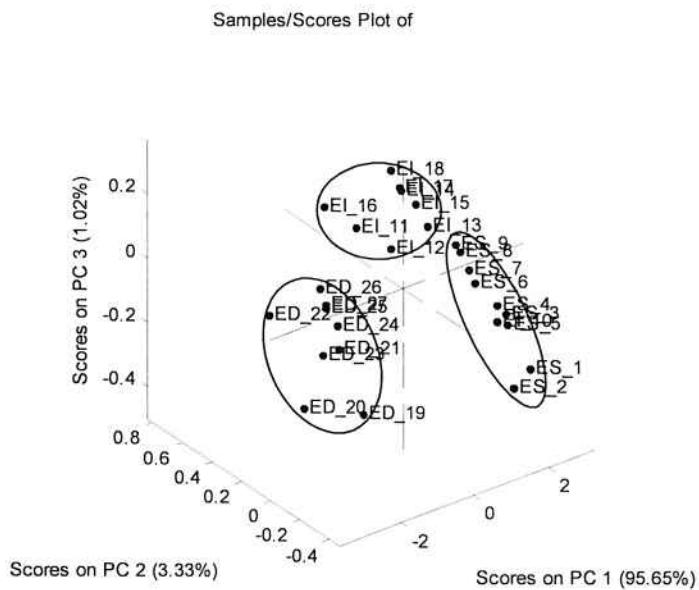


Figura 26 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca C – sensores sem filmes poliméricos

Com a adição da terceira componente principal (PC3), os sensores sem a presença de filmes poliméricos foram capazes de separar os tipos de leite da mesma marca.

8.4. LEITE MARCA B E LEITE MARCA C

8.4.1. Análise por capacidade

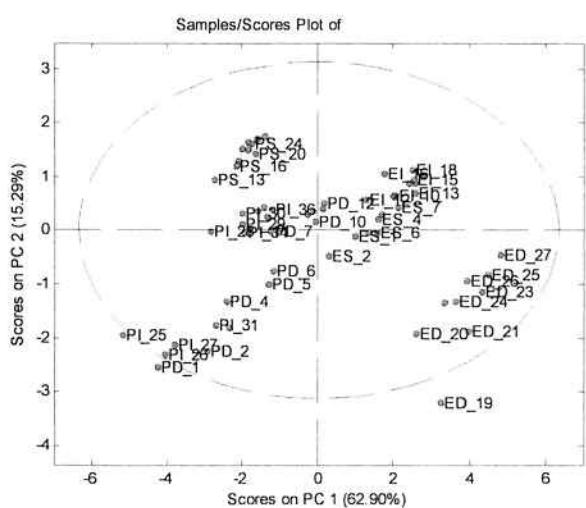


Figura 27 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – todos os sensores

Não foi obtido sucesso na separação total, entre as marcas B e C, para os tipos de leite longa vida analisados.

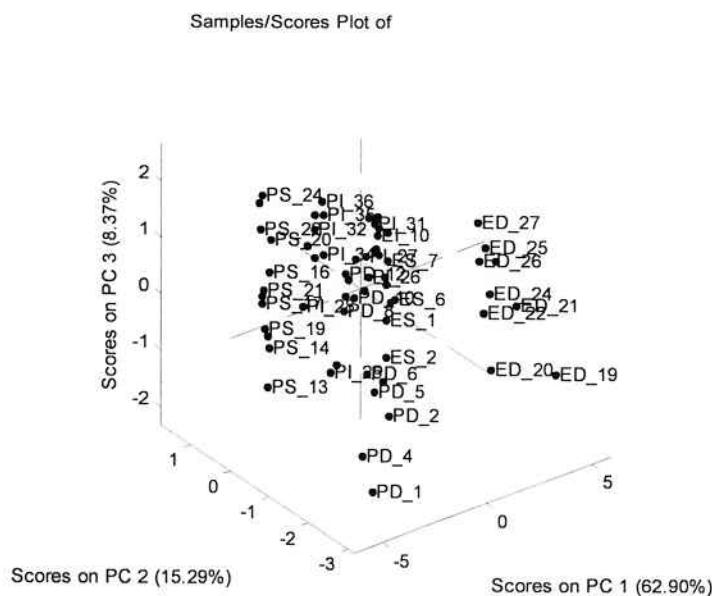


Figura 28 - Análise PCA (3D) para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – todos os sensores

Mesmo na presença da terceira componente principal não foi possível obter êxito na separação entre as marcas de leite. A análise PCA não conseguiu separar todos os grupos através do tratamento dos dados de capacidade.

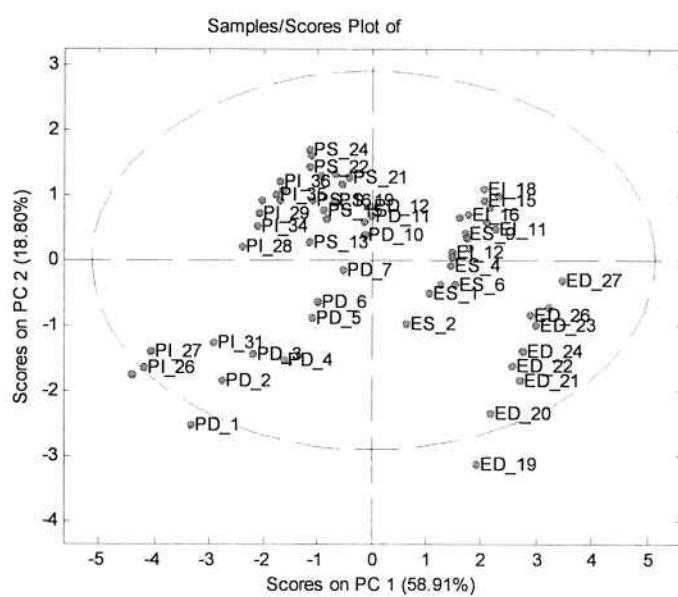


Figura 29 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – sensores com filmes poliméricos

Analisando os dados somente dos sensores com filmes poliméricos, fica nítida a sobreposição de elementos diferentes.

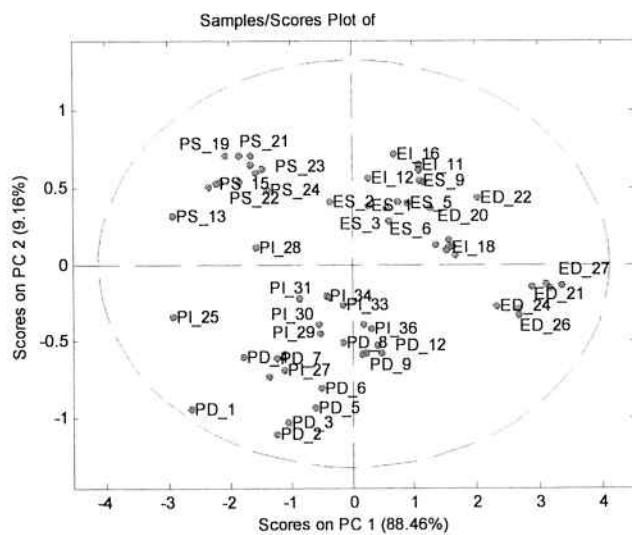


Figura 30 - Análise PCA para dados de capacidade dos leites marca B e marca C – sensores sem filmes poliméricos

Nem mesmo a análise de capacidade, somente dos sensores sem filmes poliméricos, conseguiu gerar um resultado satisfatório para a separação dos tipos de leites de marcas diferentes.

8.4.2. Análise por resistência

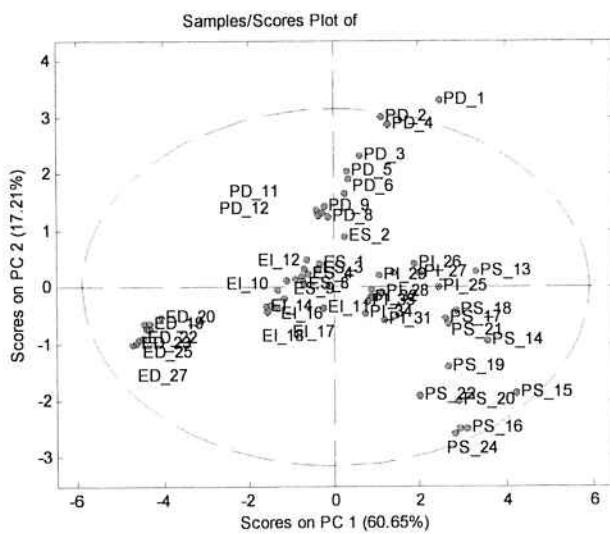


Figura 31 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C – todos os sensores

A manipulação dos dados de resistência, através da PCA, não foi capaz de gerar um resultado satisfatório para a classificação dos leites de diferentes marcas. Porém, nota-se que os leites ED, PD e PS estão separados.

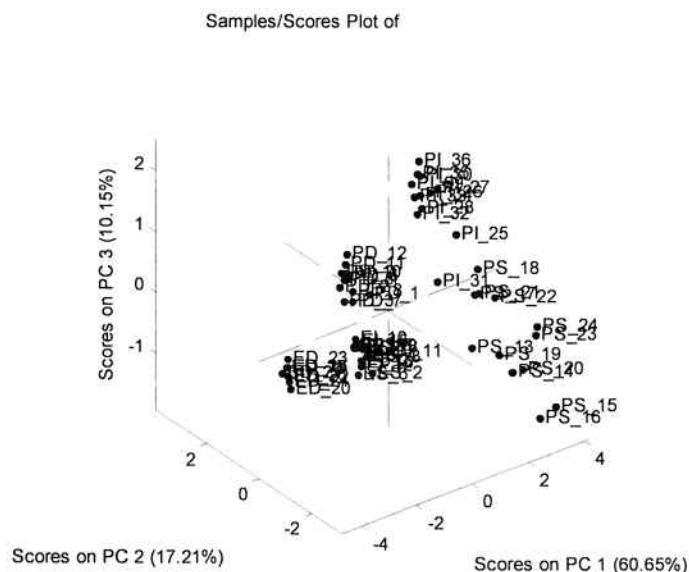


Figura 32 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B e marca C – todos os sensores

Adicionando mais uma componente principal na análise dos dados de resistência obtemos uma melhor separação, mas longe de ser satisfatória.

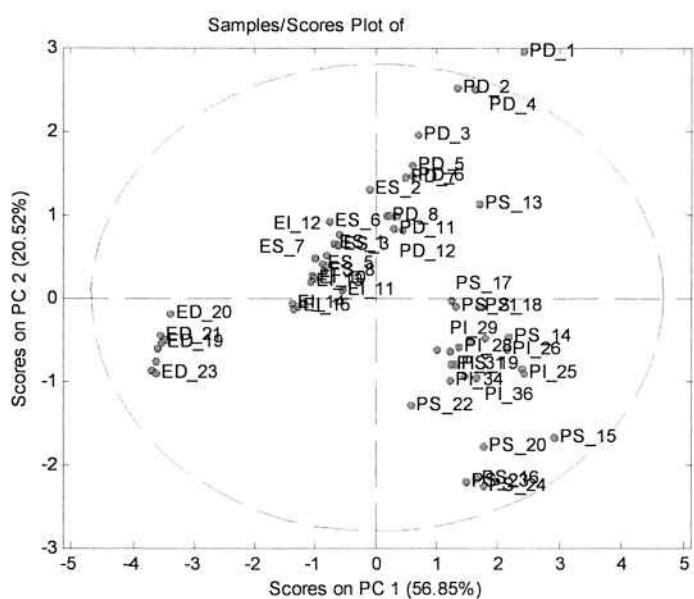


Figura 33 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C – sensores com filmes poliméricos

Os dados de resistência obtidos pelo sistema sensorial, somente sensores com filmes, não foram capazes de gerar informações suficientes para haver uma separação total entre as duas marcas de leite após a análise PCA.

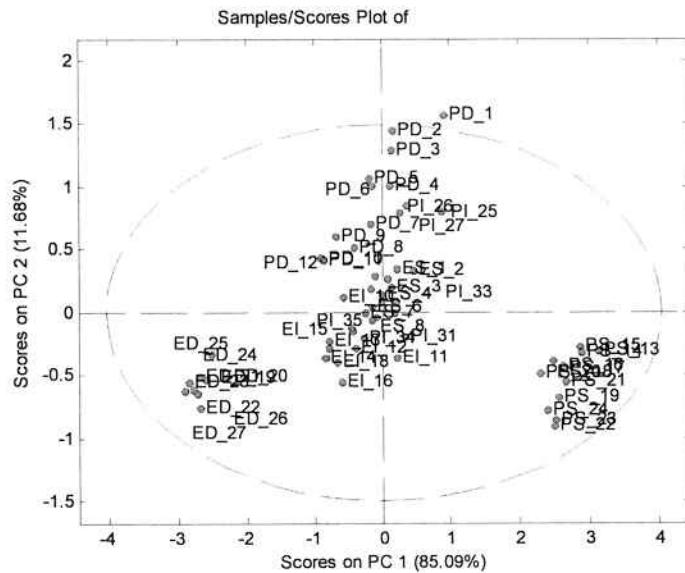


Figura 34 - Análise PCA para dados de resistência dos leites marca B e marca C – sensores sem filmes poliméricos

Fazendo a mesma analise anterior, só que agora para sensores sem filmes, não conseguimos obter êxito no experimento realizado.

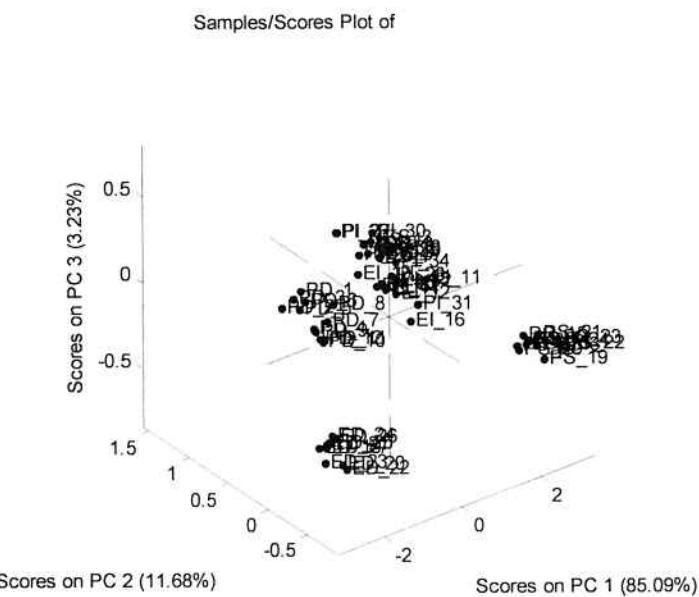


Figura 35 - Análise PCA (3D) para dados de resistência dos leites marca B e marca C – sensores sem filmes poliméricos

Os dados de resistência, obtidos somente pelos sensores sem filmes, foram analisados através da PCA utilizando três componentes principais. Houve a formação de quatro grupos, porém, ainda houve sobreposições de analitos diferentes. Com isso, o resultado mostrou-se insatisfatório para a separação entre leites de marcas diferentes com o método proposto.

9. CONCLUSÕES

Analizando os resultados da separação dos leites longa vida tipo integral, semidesnatado e desnatado, de uma marca específica, observa-se que a utilização de sensores de mesmo tipo e análise de PCA feita através dos dados de resistência, com a eliminação dos 3 primeiros pontos (amostras) de cada tipo de leite, produzem resultados satisfatórios. Sensores de mesmo tipo são aqueles com presença de filmes poliméricos ou com ausência de filmes poliméricos. Entretanto, através da combinação de sensores com e sem filmes poliméricos e manipulação de alguns pontos, podemos obter uma boa resposta para a classificação dos tipos de leite longa vida entre uma marca específica.

De um modo geral, para essa configuração de sensores, os dados analisados mostraram-se satisfatórios quando fixamos uma única marca e analisamos seus diferentes tipos de leite. O mesmo não ocorreu ao unir as marcas B e C. Pode-se observar, nos gráficos da figura 26, figura 30 e figura 33, a separação de alguns tipos de leite entre as duas marcas, mas a presença de muitas sobreposições para os outros analitos acabaram por resultar em uma análise insatisfatória. Essa configuração de sensores produziu melhores resultados quando foram analisados, através da PCA, os dados de resistência e escolha de uma única marca.

Houve grande dificuldade na limpeza da superfície dos sensores poliméricos apenas com água destilada, mesmo quando foi elevada a temperatura para 30°C e velocidade de agitação. Assim, ficou demonstrado em testes de laboratório a dificuldade da limpeza dos sensores devido à característica complexa do leite. Isso indica que a vida útil desse sistema sensorial, em específico para análise de leite, mostrou ser muito curta e necessitando de limpezas mais agressivas como a

utilização de soluções ácidas. Os procedimentos de limpeza com solução ácida (0,1M de ácido clorídrico em água ultra-pura) e posterior limpeza em água destilada, somados a secagem dos sensores com nitrogênio, resultaram em melhor reprodução dos dados.

Há grande dispersão entre os pontos do leite desnatado quando comparado com a dispersão dos pontos do leite integral e leite semidesnatado. Isso pode ser reflexo da complexidade da amostra analisada, dificultando a repetibilidade e reproduutibilidade dos dados.

10. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A interação entre os polímeros utilizados e amostras de leite necessitou de maior tempo para estabilização do sensor, precisando aumentar este tempo para 90 segundos. Isto pode ser causado pela pequena quantidade de íons formados quando diluímos a solução em água destilada, já que o leite é classificado como uma mistura complexa e não como substância iônica. Assim, a sensibilização dos sensores é prejudicada, pois os mesmos possuem elevada sensibilidade em presença de substâncias iônicas.

A utilização de soluções ácidas, em concentrações baixas para não danificar os polímeros, mostrou ser mais eficiente que apenas a utilização de limpeza com água destilada. Para análises futuras podem ser testadas outras concentrações e substâncias diferentes, verificando a eficácia da limpeza para substâncias complexas.

Visando um produto comercial, seria interessante a utilização de sensores descartáveis. Isso diminuiria a desconfiança por parte dos produtores para uma análise *on-line*.

Outro fator seria a análise de diluição do leite em soluções que possam formar maior quantidade de íons sem sofrer reações químicas com o analito em estudo e gerar melhores respostas do sistema multisensorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] FERREIRA M.; RIUL Jr. A.; WOHN RATH K.; FONSECA F. J.; OLIVEIRA Jr. O. N.; Mattoso L. H. C. **Anal. Chem.**, v.75, p.953-955, 2003.

[2] RIUL A. Jr.; Dos SANTOS D.S.; WOHN RATH K.; Di TOMMAZO R.; CARVALHO A.C.P.L.F.; FONSECA F.J.; OLIVEIRA Jr. O.N.; TAYLOR D.M.; MATTOSO L.H.C. Artificial taste sensor: efficient combination of sensors made from Langmuir-Blodgett films of conducting polymers and a ruthenium complex and self-assembled films of an azobenzene-containing polymer; **Langmuir**, v.18, p.239-245, 2002.

[3] RIUL A. Jr.; MALMEGRIM R.R.; FONSECA F.J.; MATTOSO L.H.C. An artificial taste sensor based on conducting polymers. **Biosensors and Bioelectronics**, v.18, p.1365-1369, 2003.

[4] <<http://extranet.agricultura.gov.br/>>, acessado em 11/09/2009.

[5] SOUZA M. R. *et al.* Pasteurização do leite. **Caderno Técnico da Escola de Veterinária**, UFMG, n.13, p.85-93, 1995.

[6] <<http://www.cienciadoleite.com.br/>>, acessado em 11/09/2009.

[7] RIUL Jr. A. *et al.* "Wine classification by taste sensors made from ultra-thin films and using neural networks" **Sensors and Actuators B**, v.98, p. 77–82, 2004.

[8] LEGIN A. *et al.* Tasting of beverages using an electronic tongue, **Sensors and Actuators B**, v.44, p.291–296, 1997.

[9] CIOSEK P.; AUGUSTYNIAK E.; WRÓBLEWSKI W. Polymeric membrane ion-selective and cross-sensitive electrode-based electronic tongue for qualitative analysis of beverages, **Analyst**, v.129, p.639–644, 2004.

[10] CIOSEK P.; BRZÓZKA Z.; WRÓBLEWSKI W. Electronic tongue for flow-through analysis of beverages, **Sensors and Actuators B**, v.118, p.454–460, 2006.

[11] LVOVA L. *et al.* All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis, **Analytica Chimica Acta**, v.468, p.303–314, 2002.

[12] CIOSEK P.; WRÓBLEWSKI W. Performance of selective and partially selective sensors in the recognition of beverages, **Talanta**, v.71, p.738–746, 2007.

[13] CIOSEK P.; WRÓBLEWSKI W. The analysis of sensor array data with various pattern recognition techniques, **Sensors and Actuators B**, v.114, p.85–93, 2006.

[14] CIOSEK P.; WRÓBLEWSKI W. Miniaturized electronic tongue with an integrated reference microelectrode for the recognition of milk samples, **Talanta**, v.76, p.548–556, 2008.

[15] NAZÁRIO S.L.S. *et al.* Obtenção do teor de gordura em leite através de técnicas de ultra-som e redes neurais, **Brazilian Conference on Dynamics, Control and Their Applications**, 2006.

[16] CIOSEK P.; BRUDZEWSKI W.; WRÓBLEWSKI W. Milk classification by means of an electronic tongue and Support Vector Machine neural network, **Measurement Science Technology**, v.17, p.1379–1384, 2006.

[17] WINQUIST F. *et al.* Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry, **Measurement Science and Technology**, v.9, p.1937–1946, 1998.

[18] WINQUIST F.; WIDE P.; LUNDSTROM I. "An electronic tongue based on voltammetry" **Anal Chim. Acta**, v.357, 21-31, 1997.

[19] PAIXÃO T.R.L.C.; BERTOTTI M. Fabrication of disposable voltammetric electronic tongues by using Prussian Blue films electrodeposited onto CD-R gold surfaces and recognition of milk adulteration, **Sensors and Actuators B**, v.137, p.266–273, 2009.

[20] COLLIER W. A. *et al.* Discrimination among milks and cultured dairy products using screen-printed electro-chemical arrays and an electronic nose, **Sensors and Actuators B**, v.92, p.232–239, 2003.

[21] MABROOK M. F.; DARBYSHIRE A. M.; PETTY M. C. Quality control of dairy products using single frequency admittance measurements, **Measurement Science and Technology**, v.17, p.275–280, 2006.

[22] BRUDZEWSKI K.; OSOWSKI S.; MARKIEWICZ T. Classification of milk by means of an electronic nose and SVM neural network, **Sensors and Actuators B**, v.98, p.291–298, 2004.

[23] CAPONE S. *et al.* Monitoring of rancidity of milk by means of an electronic nose and a dynamic PCA analysis, **Sensors and Actuators B**, v.78, p.174–179, 2001.

[24] <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>, acessado em 01/05/2009.

[25] <<http://www.dpamericas.com.br/>>, acessado em 10/06/2009.

[26] <<http://www.eonbg.com/>>, acessado em 15/09/2009.

[27] <<http://www.entelbra.com.br/entelbra/>>, acessado em 14/09/2009.

[28] <<http://www.textechbrasil.com.br/>>, acessado em 17/09/2009.

[29] <<http://www.ablv.org.br/>>, acessado em 20/05/2009.

[30] *Bulletin of the International Dairy Federation* – ed.432/2008. The World Dairy Situation 2008.

[31] WIZIACK N.K.L, "Estudo do Desempenho de uma Língua Eletrônica Baseada em Materiais Nanoestruturados", Tese de mestrado (2005).

[32] <<http://www.isa.org/>>, acessado em 01/10/2009.

[33] MANLY B.F.J. 1994. Multivariate statistical methods: a primer. 2nd ed., **London**, Chapman & Hall.

[34] DIAS L.A. et al. An Electronic Tongue Taste Evaluation: Identification of Goat Milk Adulteration With Bovine Milk, **Sensors and Actuators B**, v.136, p.209–217, 2009.

[35] SIM M.Y.M. et al. Monitoring of Milk Quality With Disposable Taste Sensor, **Sensors**, v.3, p.340-349, 2003.

[36] WINQUIST F. et al. An Electronic Tongue in the Dairy Industry, **Sensors and Actuators B**, v.111–112, p.299–304, 2005.

[37] FERREIRA I.M.P.L.V.O.; CAÇOTE H. Detection and quantification of bovine, ovine and caprine milk percentages in protected denomination of origin cheeses, **Journal of Chromatography A**, v.1015, p.111–118, 2003.

[38] TOKO K. Electronic sensing of tastes, **Electroanalysis**, v.10, p.657–669, 1998.

ACOMPANHAMENTO PELO ORIENTADOR

Prevê-se um acompanhamento quinzenal pelo Orientador, sendo este feito por meio de reuniões. Trocas de email serão constantes.

TERMO DE ACEITAÇÃO DO ORIENTADOR

Eu, Prof. Dr. **Fernando Josepetti Fonseca**, orientador do Aluno(a) **Adevair de Paula Junior**, N° USP4951624, comprometo-me a:

- participar no Planejamento e na Execução, de acordo às Diretrizes das Disciplinas PSI 2591 e PSI 2594, do seguinte Projeto de Formatura:

Título do Projeto: **Aplicação de uma Língua Eletrônica para a classificação de leite (ALECLE)**

- oferecer toda a infra-estrutura necessária para atender os prazos estabelecidos, incluindo o material de consumo, equipamentos e serviços,
- participar da Banca de avaliação deste projeto
- participar da Banca de avaliação de outros projetos semelhantes

