

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha por
ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos
concentrados proteicos**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Nataly Leidens

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha por
ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos
concentrados proteicos**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Nataly Leidens

Dissertação de mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Engenharia

Área de concentração: Fenômenos de Transporte
e Operações Unitárias

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Tessaro

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Baldasso

Porto Alegre

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha por ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos*, elaborada por Nataly Leidens como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Aline Schilling Cassini

Prof^a. Dr^a. Helen Treichel

Dr^a. Poliana Deyse Gurak

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João Antonio e Dilema, e ao meu irmão, João Felipe, pelo apoio, amizade e por tornar possível este momento.

Às minhas orientadoras, Isabel e Camila, pelos conhecimentos transmitidos, paciência, orientação e dedicação.

À UFRGS e ao PPGEQ, seus professores e funcionários, que fazem desta uma das melhores universidades do país.

À Confer Alimentos, pela doação do soro de leite de ovelha para a realização dos experimentos.

À Capes, pela bolsa de mestrado.

Aos amigos, colegas e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O soro de leite é o líquido remanescente da precipitação da gordura e das caseínas do leite durante a fabricação de queijo e apresenta em sua composição proteínas, lactose e minerais. Dentre as tecnologias para o seu aproveitamento, os processos de separação com membranas permitem concentrar, purificar e fracionar os constituintes do soro, melhorando suas propriedades funcionais e facilitando a sua incorporação em alimentos. Os objetivos deste trabalho são concentrar as proteínas do soro de leite de ovelha pelo processo de ultrafiltração (UF) e determinar as propriedades funcionais dos concentrados proteicos obtidos. Na etapa de concentração foram conduzidos três experimentos, utilizando uma membrana espiral de massa molar de corte (MMC) de 10 kDa, em pressão de 3 bar e temperatura de 50 °C: (i) o soro foi concentrado até o fator de concentração volumétrico (FCV) de 4 e, em seguida, foram realizadas 2 diafiltrações (DF); (ii) o soro foi diluído em 50% e concentrado até o FCV de 4; e (iii) adicionou-se ao soro uma quantidade de 0,5 L de cloreto de cálcio (CaCl_2) 60 g.L^{-1} , como forma de alterar a força iônica do meio, a solução foi concentrada até o FCV de 4 e 2 DF foram realizadas. Os concentrados proteicos foram liofilizados e avaliaram-se as suas propriedades funcionais de solubilidade proteica, índice de atividade emulsificante (IAE) e expansão e estabilidade de espuma. Em todos os experimentos, o fluxo permeado diminuiu com o tempo de operação em função dos fenômenos de *fouling* e polarização por concentração. O teor de lactose em base seca nos concentrados foi reduzido de 68 para 49% no experimento 1, de 76 para 62% no experimento 2 e de 58 para 42% no experimento 3, enquanto que o teor de proteína em base seca nos concentrados aumentou de 20 para 41% no experimento 1, de 12 para 29% no experimento 2 e de 19 para 49% no experimento 3. Os valores de solubilidade proteica ficaram entre 39,2 e 86,8% para o CP – 1, 21,1 e 42,7% para o CP – 2 e 40,9 e 77,3% para o CP – 3. O CP – 1 obteve o maior valor de IAE ($33,4 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$), enquanto que o CP – 2 apresentou o menor valor de IAE ($7,2 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$). Os valores de expansão de espuma ficaram entre 15 e 25% e a estabilidade de espuma em torno de 97%. Os resultados obtidos indicam que a UF é um processo adequado para a concentração das proteínas do soro de leite de ovelha e que os concentrados proteicos obtidos apresentam satisfatórias propriedades funcionais, o que viabiliza o seu uso em alimentos.

ABSTRACT

Whey is the remaining liquid of fat and caseins precipitation during cheese manufacture and it is composed of proteins, lactose and minerals. Among the technologies for its exploitation, membrane separation processes allow concentration, purification and fractionation of whey constituents, improving its functional properties and incorporation into food. The objectives of this study were concentrate the ovine whey proteins using ultrafiltration (UF) and determine the functional properties of the concentrates obtained. In the concentration stage, three experiments were conducted using a spiral module membrane with molecular weight cut-off (MWCO) of 10 kDa, pressure of 3 bar and temperature of 50 °C: (i) whey was concentrated until the volumetric concentration factor (VCF) of 4 followed by 2 diafiltration (DF); (ii) whey was diluted to 50% and concentrated until the VCF of 4; and (iii) 0.5 L of calcium chloride (CaCl_2) 60 g.L^{-1} was added to whey in order to change the ionic strength of the solution and was concentrated until the VCF of 4 followed by 2 DF. The protein concentrates were freeze-dried and their functional properties of protein solubility, emulsifying activity index (IAE) and foam expansion and stability were evaluated. In all experiments, the permeate flux decreased with operating time due to the phenomena of fouling and concentration polarization. The lactose content in the concentrates on dry basis was reduced from 68 to 49% in experiment 1, from 76 to 62% in experiment 2, and from 58 to 42% in Experiment 3, while the protein content on dry basis in the concentrates increased from 20 to 41% in experiment 1, from 12 to 29% in experiment 2, and from 19 to 49% in experiment 3. The protein solubility values were between 39.2 and 86.8% for CP – 1, 21.1 and 42.7% for CP – 2, and 40.9 and 77.3% for CP – 3. CP – 1 showed the highest value of IAE ($33.4 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$), while the CP – 2 had the lowest value of IAE ($7.2 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$). The foam expansion values were between 15 and 25% and the foam stability at around 97%. The results indicate that the UF process is suitable for the concentration of ovine whey proteins and showed the concentrates obtained have satisfactory functional properties which allows their use in food products.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE TABELAS.....	xix
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xxiii
INTRODUÇÃO	1
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Leite de ovelha.....	5
2.2 Produção do queijo e do soro de leite	7
2.3 Componentes do soro lácteo	10
2.3.1 Lactose.....	10
2.3.2 Minerais	11
2.3.3 Proteínas	11
2.4 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite	15
2.4.1 Solubilidade proteica	16
2.4.2 Emulsificação	17
2.4.3 Formação de espuma	18
2.5 Produtos de soro de leite e suas aplicações.....	19
2.6 Processos de separação com membranas (PSM)	25
2.6.1 Aspectos gerais dos PSM	26
2.6.2 Ultrafiltração (UF).....	30
2.6.3 Parâmetros característicos dos PSM.....	31
2.6.4 Fenômenos inerentes aos PSM: <i>fouling</i> e polarização por concentração	34
2.7 Aplicação dos PSM na indústria de laticínios	37
2.8 Considerações finais	41
MATERIAIS E MÉTODOS.....	43
3.1 Soro de leite de ovelha.....	43
3.2 Reagentes analíticos.....	43
3.3 Processo de UF	45
3.3.1 Membrana de UF.....	45
3.3.2 Equipamento.....	45
3.3.3 Metodologia experimental.....	48

3.3.4	Limpeza da membrana.....	51
3.4	Liofilização dos concentrados obtidos pelo processo de UF.....	52
3.5	Métodos analíticos.....	52
3.5.1	Condutividade elétrica.....	52
3.5.2	pH.....	53
3.5.3	Sólidos totais.....	53
3.5.4	Lactose.....	53
3.5.5	Proteína.....	53
3.6	Propriedades funcionais.....	54
3.6.1	Solubilidade proteica.....	54
3.6.2	Índice de atividade emulsificante.....	54
3.6.3	Expansão e estabilidade espumante.....	54
RESULTADOS E DISCUSSÃO		55
4.1	Caracterização do soro de leite de ovelha.....	55
4.2	Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha.....	56
4.2.1	Fluxo permeado em função da pressão transmembrana.....	56
4.2.2	Experimentos de concentração do soro de leite de ovelha.....	58
4.2.3	pH e condutividade elétrica.....	63
4.2.4	Teor de sólidos totais.....	65
4.2.5	Teor de proteína.....	67
4.2.6	Teor de lactose.....	69
4.2.7	Teor de proteína e de lactose em base seca.....	71
4.2.8	Massas de proteína e de lactose.....	72
4.2.9	Retenção de sólidos totais, proteína e lactose.....	74
4.2.10	Avaliação da tendência ao <i>fouling</i> e eficiência da limpeza da membrana.....	75
4.3	Análise das propriedades funcionais dos concentrados proteicos.....	77
4.3.1	Solubilidade proteica.....	77
4.3.2	Índice de atividade emulsificante.....	80
4.3.3	Expansão e estabilidade de espuma.....	81
CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....		85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		89
APÊNDICE A – MÉTODOS ANALÍTICOS.....		97

A.1 Análise de proteína – Método de Lowry.....	97
A.2 Análise de lactose – Método do ácido dinitrossalicílico (DNS).....	97
A.3 Análise de sólidos totais – Método gravimétrico.....	98
APÊNDICE B – PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	99
B.1 Solubilidade proteica.....	99
B.2 Índice de atividade emulsificante.....	100
B.3 Expansão e estabilidade de espuma	101
APÊNDICE C – DADOS EXPERIMENTAIS.....	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Fluxograma da produção de queijo.	7
Figura 2.2 Representação genérica de um processo de separação com membranas.	26
Figura 2.3 Representação esquemática da seção transversal dos diferentes tipos de morfologia de membranas sintéticas	27
Figura 2.4 Configurações do escoamento dos PSM.	29
Figura 2.5 Três estágios do declínio do fluxo permeado.....	36
Figura 2.6 Aplicação dos PSM para separação de componentes do leite em função do seu tamanho	37
Figura 3.1 Fotografia da membrana espiral de UF.	45
Figura 3.2 Representação esquemática da unidade piloto de UF.	46
Figura 3.3 Fotografia do tanque de alimentação com o banho termostático acoplado.	47
Figura 3.4 Fotografia da bomba de deslocamento positivo.....	47
Figura 3.5 Fotografia do pré-filtro de cartucho.	48
Figura 3.6 Fotografia da carcaça do módulo de membrana espiral.....	48
Figura 4.1 Fluxos permeados com água destilada e soro de leite de ovelha <i>in natura</i> em função da pressão transmembrana na temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h ⁻¹	57
Figura 4.2 Fotografia das amostras de soro de leite de ovelha <i>in natura</i> , concentrado e permeado após o experimento de concentração.	59
Figura 4.3 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 1. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h ⁻¹	59
Figura 4.4 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 2. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h ⁻¹	60
Figura 4.5 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 3. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h ⁻¹	61
Figura 4.6 Fluxo permeado médio em função do fator de concentração volumétrico para os experimentos 1, 2 e 3 na etapa de UF. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e vazão de alimentação de 490 L.h ⁻¹	63
Figura 4.7 Valores de pH das amostras de concentrado e permeado: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.	64

Figura 4.8 Valores de condutividade elétrica das amostras de concentrado e permeado: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.	65
Figura 4.9 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.	66
Figura 4.10 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.	66
Figura 4.11 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.	67
Figura 4.12 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.	68
Figura 4.13 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.	68
Figura 4.14 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.	69
Figura 4.15 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.	70
Figura 4.16 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.	70
Figura 4.17 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.	71
Figura 4.18 Massa de proteínas dos concentrados em cada etapa dos experimentos 1 e 3.	73
Figura 4.19 Massa de lactose dos concentrados em cada etapa dos experimentos 1 e 3.	73
Figura 4.20 Retenção observada de sólidos totais, proteínas e lactose em função do tempo: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.	74
Figura 4.21 Fluxo permeado de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.	76
Figura 4.22 Curvas de solubilidade proteica para os três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3 sob diferentes valores de pH.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Composição do leite bovino e do leite ovino.....	6
Tabela 2.2 Composição média do soro de leite bovino e do soro de leite ovino.	9
Tabela 2.3 Composição de minerais em 100 g de soro doce bovino em pó.....	11
Tabela 2.4 Concentração das principais proteínas do soro no soro de leite bovino e no soro de leite ovino e suas respectivas massas molares e pontos isoelétricos.	12
Tabela 2.5 Exemplos da aplicação do soro de leite na indústria de alimentos.....	16
Tabela 2.6 Produtos derivados do soro de leite bovino e suas respectivas composições.....	21
Tabela 2.7 Possíveis aplicações dos produtos de soro de leite.....	24
Tabela 2.8 PSM relacionados pelo tamanho de poros das membranas e respectivas pressões de operação.....	28
Tabela 2.9 Comparação da densidade de empacotamento dos diferentes tipos de módulos de membranas.....	30
Tabela 3.1 Reagentes utilizados, fórmula molecular, grau de pureza e fornecedor.....	44
Tabela 4.1 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, lactose e proteína do soro de leite de ovelha <i>in natura</i> utilizado nos experimentos.	55
Tabela 4.2 Teor de proteína e de lactose em base seca (%) nos concentrados ao longo dos experimentos 1, 2 e 3.....	71
Tabela 4.3 Comparação entre o aumento da concentração de proteína e a diminuição da concentração de lactose nos concentrados no início e no final dos experimentos 1 e 3.	72
Tabela 4.4 Valores de permeabilidade hidráulica antes e depois da concentração do soro de leite de ovelha e determinação da tendência ao <i>fouling</i> para os experimentos 1, 2 e 3.....	77
Tabela 4.5 Valores de índice de atividade emulsificante (IAE) dos três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3.....	80
Tabela 4.6 Valores de expansão de espuma (FE) e estabilidade de espuma (FS) dos três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3.....	82
Tabela C.1 Dados de fluxo permeado médio de água destilada e soro de leite de ovelha <i>in natura</i> para diferentes pressões na temperatura de 50 °C.	103
Tabela C.2 Dados de fluxo permeado médio do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.	103
Tabela C.3 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.....	103

Tabela C.4 Dados de fluxo permeado médio do experimento 2 durante a UF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.....	104
Tabela C.5 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 2 durante a UF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.....	104
Tabela C.6 Dados de fluxo permeado médio do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.....	104
Tabela C.7 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.....	105
Tabela C.8 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF.....	105
Tabela C.9 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF.	106
Tabela C.10 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 2 durante a UF.....	106
Tabela C.11 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 2 durante a UF.....	107
Tabela C.12 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF.....	107
Tabela C.13 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF.....	108
Tabela C.14 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 1. .	108
Tabela C.15 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 2. .	109
Tabela C.16 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 3. .	109
Tabela C.17 Fluxo permeado médio ($L.m^{-2}.h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 1.	109
Tabela C.18 Fluxo permeado médio ($L.m^{-2}.h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 2.	110

Tabela C.19 Fluxo permeado médio ($L.m^{-2}.h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 3.	110
Tabela C.20 Valores médios de solubilidade proteica (%) dos concentrados obtidos nos experimentos 1, 2 e 3.	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α -La	α -lactalbumina
β -Lg	β -lactoglobulina
ϕ	Fração de óleo gasto para formar a emulsão
$\partial P/\partial x$	Gradiente de pressão ($\text{bar}\cdot\text{m}^{-1}$)
A	Área da membrana (m^2)
Ab	Absorbância
ABIQ	Associação Brasileira das Indústrias de Queijo
BSA	Albumina do soro
C_B	Concentração de solutos na corrente de alimentação ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
C_P	Concentração de solutos na corrente permeado ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)
C_S	Concentração proteica do sobrenadante ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
CPS	Concentrado proteico de soro
d	Diâmetro da cubeta (m)
D	Diálise
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio ($\text{g O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
DF	Diafiltração
DNS	Ácido 3,5-dinitrossalicílico
ED	Eletrodiálise
FAO	Food and Agriculture Organization
FCV	Fator de concentração volumétrico
FD	Fator de diluição
FE	Expansão de espuma (%)
FS	Estabilidade de espuma (%)
FV	Volume inicial de espuma (mL)
GMP	Glicomacropéptido
IAE	Índice de atividade emulsificante ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$)
Ig	Imunoglobulina
IPS	Isolado proteico de soro

J _P	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
L _P	Permeabilidade hidráulica (L.m ⁻² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)
MF	Microfiltração
MMC	Massa molar de corte (Da)
NF	Nanofiltração
NPN	Nitrogênio não proteico
OI	Osmose inversa
pI	Ponto isoelétrico
P	Pressão transmembrana (bar)
PG	Permeação de gases
PS	Teor de proteínas solúveis (%)
PSM	Processos de separação com membranas
R	Retenção observada (%)
S	Concentração de proteína (%)
SDS	Dodecil sulfato de sódio
ST	Sólidos totais (g.L ⁻¹)
t	Tempo (h)
T	Turbidez
UF	Ultrafiltração
USDEC	U.S. Dairy Export Council
V ₀	Volume inicial de solução (L)
V ₃₀	Volume de espuma após 30 minutos (mL)
V _C	Volume do concentrado (L)
V _P	Volume do permeado (L)
W	Massa da amostra (mg)
W _{Pa}	Permeabilidade à água destilada antes da UF (L.m ⁻² .h ⁻¹ . bar ⁻¹)
W _{Pd}	Permeabilidade à água destilada depois da UF (L.m ⁻² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O soro de leite é o líquido que permanece em solução após a precipitação da gordura e das caseínas do leite durante a fabricação de queijo. Apresenta em sua composição quantidades consideráveis de proteínas, lactose e minerais, que representam metade dos constituintes do leite e cerca de 90% do seu volume. É considerado o subproduto mais importante da indústria de laticínios, não apenas pelo grande volume gerado, como também por sua alta carga orgânica.

Para fabricar um quilograma de queijo, 5 litros de leite de ovelha são necessários, gerando 4 litros de soro, enquanto que 10 litros de leite de vaca são requeridos para a mesma quantidade de queijo. Esse maior rendimento é explicado pelo conteúdo de gordura e caseína mais elevado no leite ovino do que no leite bovino. A concentração de proteínas no soro ovino também é maior do que no soro bovino e as principais são a β -lactoglobulina e a α -lactalbumina e, em menores quantidades, a albumina do soro, as imunoglobulinas e a lactoferrina. Estas proteínas são compostas por aminoácidos essenciais em proporções equilibradas e apresentam elevada digestibilidade.

A produção mundial de soro de leite é estimada em 160 milhões de toneladas por ano. O soro lácteo ainda é considerado um resíduo da fabricação de queijo, principalmente em laticínios de pequeno e médio porte, e geralmente é incorporado às estações de tratamento de efluentes, descartado em cursos d'água ou destinado à alimentação animal.

Em função das suas excelentes propriedades nutricionais e funcionais, além de ser uma fonte de proteínas e lactose de baixo custo, cada vez mais têm sido realizados estudos que viabilizem a utilização do soro de leite como matéria-prima da fabricação de produtos da indústria de alimentos.

Alguns fatores como excesso de minerais e altos teores de lactose fazem com que o uso do soro de leite *in natura* na alimentação humana seja limitado, sendo empregado apenas na fabricação de queijo do tipo Ricota e na incorporação a bebidas lácteas. A fim de realçar suas propriedades funcionais (solubilidade proteica, emulsificação, formação de espuma, entre outras), aumentar seu tempo de vida útil e diminuir os custos com armazenamento e transporte, o soro é submetido a processamento para obtenção dos mais diversos produtos como soro em pó, soro em pó desmineralizado, soro em pó deslactosado, concentrados e isolados proteicos.

Uma das tecnologias promissoras para a concentração e separação dos componentes do soro de leite são os processos de separação com membranas (PSM). A indústria de laticínios é uma das pioneiras no desenvolvimento de equipamentos e técnicas com membranas, sendo que a ultrafiltração (UF) é o principal processo para fracionar os constituintes do soro, onde é utilizada desde a década de 70. A UF é um processo que usa a diferença de pressão como força motriz; neste sistema, quando aplicado ao soro lácteo, água, lactose e sais permeiam pela membrana, constituindo a corrente de permeado, enquanto que as proteínas são retidas, formando a corrente de concentrado.

Existe na literatura uma extensa informação acerca das características, utilização e processamento do soro de leite bovino, entretanto, o mesmo não ocorre no que diz respeito ao soro de leite de ovelha. No Brasil, como a ovinocultura vive um momento de expansão, tem-se observado um interesse maior pela exploração da produção de leite e seus derivados e este fato torna atrativo o investimento em pesquisas e geração de conhecimentos nesta área.

O objetivo deste trabalho é avaliar três alternativas que viabilizem o uso do soro de leite de ovelha através da recuperação de suas proteínas, agregando valor a este subproduto da indústria de laticínios. Na primeira etapa, para a obtenção de concentrados proteicos, foi utilizado o processo de ultrafiltração com três diferentes protocolos experimentais. Em seguida, foram avaliadas as propriedades funcionais de solubilidade proteica, emulsificação e formação de espuma.

Desta forma, esta dissertação está dividida em capítulos. No Capítulo 2 foi realizada uma revisão da literatura abrangendo as características e os principais componentes do leite e do soro de leite bovino e ovino, bem como suas propriedades funcionais, produtos derivados e possível utilização. Os fundamentos teóricos dos processos de separação com membranas,

incluindo maiores detalhes sobre a ultrafiltração, além da aplicação desta tecnologia na indústria de laticínios, também estão contidos neste capítulo. No Capítulo 3 são apresentados o equipamento, a metodologia, as análises e os reagentes utilizados no desenvolvimento experimental do trabalho. No Capítulo 4 são expostos e avaliados os resultados obtidos na parte experimental de caracterização do soro de leite de ovelha, concentração das proteínas do soro pelo processo de UF e a determinação de suas propriedades funcionais. E, finalmente, no Capítulo 5 são elencadas as conclusões de acordo com os resultados obtidos na parte experimental, além de algumas sugestões para trabalhos futuros.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada uma revisão da literatura sobre as características e componentes do leite de ovelha e dos soros de leite bovino e ovino, bem como suas propriedades funcionais e suas possíveis formas de utilização. Também estão abordados os fundamentos teóricos sobre os processos de separação com membranas para que haja um entendimento dos estudos realizados no âmbito desta dissertação e uma revisão de trabalhos específicos que utilizaram esta tecnologia em produtos da indústria de laticínios.

2.1 Leite de ovelha

A criação de ovinos de leite é uma parte vital da economia de muitos países, em especial, os países mediterrâneos, do Oriente Médio e do norte da África, que tradicionalmente se destacam com as maiores produções mundiais de leite de ovelha. No entanto, países da Oceania e América do Sul, além dos Estados Unidos têm dado mais atenção a esse produto nos últimos anos (BERGER *et al.*, 2004; PARK *et al.*, 2007; HERNÁNDEZ-LEDESMA *et al.*, 2011;).

De acordo com dados de 2010 da FAO (Food and Agriculture Organization), o leite ovino corresponde a 1,4% da produção leiteira mundial, com pouco mais de 10 milhões de toneladas. Dentro desse panorama, o leite ovino situa-se em quarto lugar, depois do leite bovino (82,9%), bubalino (13%) e caprino (2,3%).

Os primeiros ovinos com aptidão leiteira foram trazidos ao Brasil em 1992. A raça introduzida foi a Lacaune, originária da França, que atualmente está bem adaptada às condições de clima e alimentação do sul do Brasil. Apesar disso, a produção de leite ovino ainda é uma atividade pouco conhecida, embora, no Estado do Rio Grande do Sul, tenha se observado um crescimento dessa produção nos últimos anos, bem como a sua industrialização para fabricação de queijos (BRITO *et al.*, 2006). Segundo dados de 2009, a produção de leite

de ovelha no Brasil foi estimada em 509.000 litros, concentrada nos Estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ROHENKOHL *et al.*, 2011).

A composição química do leite pode variar significativamente de acordo com a época do ano, raça, estágio de lactação, variações durante a ordenha, condições climáticas, idade, saúde e alimentação do animal (PARK *et al.*, 2007). Em comparação com o leite de vaca, o leite de ovelha é mais rico em proteínas e gordura, conforme mostra a Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Composição do leite bovino e do leite ovino.

Componente	Leite bovino	Leite ovino
Sólidos totais (%)	12,0 – 12,7	17,7 – 19,3
Gordura (%)	3,4 – 3,7	7,0 – 7,9
Caseína (%)	2,6 – 2,7	3,7 – 4,9
Proteínas do soro (%)	0,6 – 0,7	0,8 – 1,1
Lactose (%)	4,6 – 4,8	4,5 – 5,3
Minerais (%)	0,7 – 0,8	0,8 – 1,0

Fonte: adaptado de BYLUND (1995); FOX & MCSWEENEY (1998); MILLER *et al.* (2000).

As proteínas presentes compreendem duas frações principais: as caseínas (80% das proteínas totais do leite de vaca e 82% das proteínas totais do leite de ovelha) e as proteínas do soro. As proteínas do soro diferem das caseínas por serem menores, globulares, compactas, solúveis em ampla faixa de pH, termolábeis e não coaguláveis pela renina (BYLUND, 1995; BERGER *et al.*, 2004).

O conteúdo nutricional do leite é de excelente qualidade, pois possui, além dos componentes mostrados na Tabela 2.1, uma grande variedade de aminoácidos essenciais que não podem ser sintetizados pelo corpo humano, além de conter vitaminas, enzimas e frações de nitrogênio não proteico (NPN) (MILLER *et al.*, 2000). O principal componente da fração de nitrogênio não proteico é a ureia, representando 40% desse total (DE WIT, 2001).

Segundo BRITO *et al.* (2006), PARK *et al.* (2007) e ROHENKOHL *et al.* (2011), com exceção de algumas situações de economias de subsistência em que o leite é consumido *in natura*, a maior parte do leite ovino obtido é transformada em queijo, e, em menor escala, em iogurte. Mais concentrado que o leite de vaca, esse leite é indicado para a fabricação de queijos com aromas e sabores especiais, de alto valor comercial, sendo o Roquefort, o Manchego, o Pecorino e o Feta os mais consumidos.

2.2 Produção do queijo e do soro de leite

A fabricação de queijo é um método de transformação de componentes do leite em um produto de fácil conservação, menor volume, alto valor nutritivo, sabor agradável e boa digestibilidade. O rendimento da produção de queijo pode variar entre 8,5 e 20%, produzindo assim, além do queijo, o soro de leite (GIROTO & PAWLOWSKY, 2001).

O soro de leite é o principal subproduto da indústria de laticínios, é definido como sendo o líquido residual proveniente da fabricação de queijo e contém cerca de 50% dos nutrientes do leite (BYLUND, 1995).

O número de estágios da produção de queijo depende da variedade a ser obtida. As principais etapas da fabricação de queijo estão ilustradas no fluxograma da Figura 2.1.

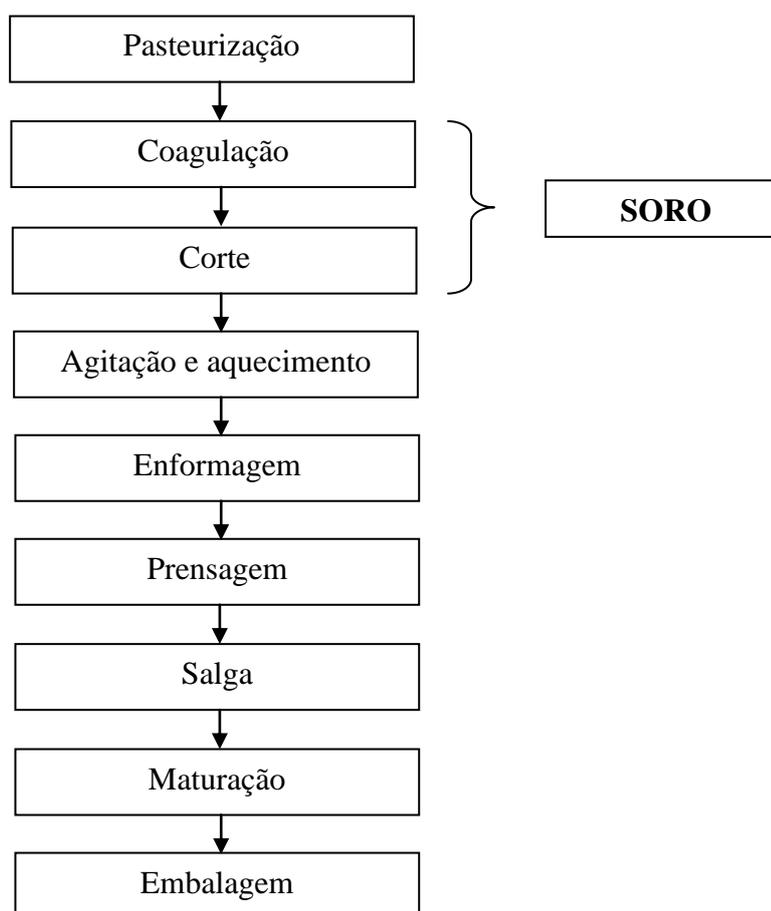


Figura 2.1 Fluxograma da produção de queijo. Fonte: adaptado de ABIQ, 2013.

O queijo é feito a partir de leite pasteurizado com o objetivo de eliminar a presença de microrganismos prejudiciais à saúde. Ao leite pasteurizado são acrescentados coalho e fermento ou ácido láctico, para possibilitar a coagulação do leite. Após a coagulação, corta-se a coalhada

para a separação do soro, passando por um processo de agitação e aquecimento. A massa é então enformada em diferentes moldes e tamanhos que conferem ao queijo seu formato final. Depois de enformados, os queijos são prensados para expulsar o excedente de soro. Em geral, após a prensagem, os queijos são imersos em banho de salmoura antisséptica, responsável pelo teor de sal e pela formação de cascas que os protegem. Após a salga, os queijos passam por processos de secagem em câmaras frias. Em seguida vão para câmaras de maturação, com temperatura e teor de umidade adequados, até atingir o ponto ideal, que varia conforme cada queijo. A maturação é muito importante na definição da aparência, da textura e do sabor do queijo. Por fim, os queijos são embalados e podem ser mantidos sob refrigeração nas fábricas ou durante o transporte (BYLUND, 1995; ABIQ, 2012).

Durante a fabricação do queijo há uma separação dos nutrientes do leite no coalho e no soro. Os componentes insolúveis em água (caseína e gordura) permanecem no coalho, enquanto que os constituintes solúveis em água (lactose, sais e proteínas do soro) são retidos no soro. A distribuição dos componentes do leite depende do tipo de queijo que está sendo fabricado, do leite e das formas de coagulação da caseína. Os microrganismos e as enzimas que maturam o queijo também podem alterar a repartição dos nutrientes (MILLER *et al.*, 2000).

Em média, são utilizados 10 litros de leite de vaca para a produção de um quilograma de queijo, gerando, aproximadamente, 9 litros de soro. Em contrapartida, para fabricar a mesma quantidade de queijo, são necessários de 4 a 5 litros de leite de ovelha. A diferença entre os rendimentos é explicada principalmente pelo maior conteúdo de gordura e caseína presente no leite ovino em comparação ao bovino (BYLUND, 1995; BERGER *et al.*, 2004).

O soro contém água, lactose, proteínas, sais minerais, gordura e vitaminas. O teor destes compostos varia de acordo com a variedade de queijo produzida, bem como com o tipo de leite e o processamento ao qual é submetido (BYLUND, 1995; BERGER *et al.*, 2004). A composição média do soro de leite de vaca e do soro de leite de ovelha está detalhada na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 Composição média do soro de leite bovino e do soro de leite ovino.

Componente	Soro de leite bovino	Soro de leite ovino
Sólidos totais (%)	5,8 – 6,5	6,1 – 7,6
Gordura (%)	0,2 – 0,25	0,35 – 0,4
Proteínas do soro (%)	0,6 – 0,8	0,8 – 1,3
Lactose (%)	4,4 – 4,5	4,2 – 5,0
Minerais (%)	0,5 – 0,8	0,6 – 0,9

Fonte: adaptado de BYLUND (1995); FOX & MCSWEENEY (1998); MILLER *et al.* (2000).

Em comparação com o soro de leite de vaca, o soro de leite de ovelha apresenta maior concentração de proteínas, devido ao teor maior desses componentes no leite de ovelha (BERGER *et al.*, 2004).

Há dois tipos principais de soro de leite: doce e ácido. O soro doce é obtido quando a coagulação da caseína é enzimática e seu pH é maior ou igual a 5,6; provém da fabricação de queijos duros ou semi-duros, tais como Cheddar, Mozzarella, Provolone e Parmesão. O soro ácido apresenta pH menor ou igual a 5,1, uma vez que a coagulação da caseína é ácida; queijos do tipo Cottage originam soros deste tipo. A composição proteica de ambos os soros é semelhante, no entanto, o soro doce é mais rico em lactose, enquanto que o soro ácido exibe uma maior concentração em minerais (BYLUND, 1995; ANTUNES, 2003).

O soro apresenta a característica de ser altamente poluente (50.000 litros de soro, se lançados como efluentes, equivalem a um esgoto de uma cidade de 25.000 habitantes). A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) de um litro de soro se situa entre 30.000 e 45.000 mg.L⁻¹ e exige o oxigênio presente em 4.500 litros de água para despoluí-lo (MIZUBUTI, 1994).

Devido à alta DBO, o soro de leite, quando considerado resíduo e despejado junto com os demais resíduos líquidos das indústrias de laticínios, pode significar a duplicação do sistema de tratamento. Por apresentar alta concentração de matéria orgânica e deficiência de nitrogênio, sua estabilização por métodos convencionais de tratamento biológico é dificultada (GIROTO & PAWLOWSKY, 2001).

Tradicionalmente, o soro de leite tem sido visto como um resíduo da indústria de laticínios com pouco valor perante os consumidores. No entanto, aumentou nos últimos anos o interesse pelas propriedades nutricionais e funcionais das proteínas do soro, bem como em

seus produtos derivados e suas funções na saúde humana (HERNÁNDEZ-LEDESMA *et al.*, 2011).

De acordo com dados da FAO, a produção mundial de soro de leite é estimada em 160 milhões de toneladas por ano. Segundo dados da ABIQ (Associação Brasileira das Indústrias de Queijo), em 2011, a produção brasileira de queijo foi de 745.000 toneladas de queijo e, conseqüentemente, em torno de 6.705.000 toneladas de soro foram geradas, representando 53.640 toneladas de proteínas, o que justifica o interesse crescente na utilização comercial deste subproduto. Com o decorrer dos anos, o soro de leite deixou de ser processado somente para sua simples comercialização evoluindo para sua transformação em uma variedade de produtos com valor agregado muito superior ao do soro *in natura*.

2.3 Componentes do soro lácteo

Dos componentes presentes no soro, a lactose e as proteínas são os mais importantes. As proteínas possuem alto valor nutricional, pois contêm todos os aminoácidos essenciais; a lactose é fonte de material energético para diversos processos biotecnológicos e matéria-prima da indústria farmacêutica e alimentícia (GIROTO & PAWLOWSKY, 2001; ANTUNES, 2003). As características dos principais componentes presentes no soro serão apresentadas com maiores detalhes nesta seção.

2.3.1 Lactose

A lactose é um açúcar redutor, encontrado apenas no leite, formada por dois carboidratos menores, chamados monossacarídeos, a glicose e a galactose, sendo, portanto, um dissacarídeo (FOX & MCSWEENEY, 1998). Este açúcar representa aproximadamente 54% dos sólidos totais desengordurados presentes no leite, além de contribuir em 30% do seu total de calorias. A sua massa molar é de 0,35 kDa (MILLER *et al.*, 2000).

O leite de todos os mamíferos contém lactose, sendo que a sua concentração varia substancialmente em cada espécie. A sua síntese ocorre nas glândulas mamárias, a partir da glicose absorvida do sangue. A lactose é uma importante fonte de energia na dieta humana e tem importância fundamental na absorção de cálcio, magnésio e fósforo (USDEC, 1997; FOX & MCSWEENEY, 1998).

2.3.2 Minerais

O soro de leite pode ser considerado uma boa fonte de minerais, pois possui porções de cálcio, magnésio, fósforo, potássio e sódio, entre outros (DE WIT, 2001). A concentração destes sais no soro doce bovino em pó está apresentada na Tabela 2.3. Informações sobre composição mineral do soro de leite ovino não foram encontradas, por isso são apresentados os valores referentes ao soro de leite bovino.

Tabela 2.3 Composição de minerais em 100 g de soro doce bovino em pó.

Mineral	Composição (mg)
Cálcio	796
Ferro	0,88
Magnésio	176
Fósforo	932
Potássio	2080
Sódio	1079
Zinco	1,97
Cobre	0,07
Manganês	0,009
Selênio	27,2

Fonte: adaptado de USDEC (1997).

O soro ácido também apresenta quantidades expressivas de minerais, como o cálcio, o magnésio e o fósforo; o conteúdo desses sais é de 2.054, 199 e 1.348 mg em 100 g de soro ácido bovino em pó, respectivamente (USDEC, 1997).

2.3.3 Proteínas

As proteínas do soro são definidas como as proteínas que permanecem solúveis na fase líquida após a precipitação da caseína; apresentam excelente composição em aminoácidos, alta digestibilidade e biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e, portanto, elevado valor nutritivo. Constituem um grupo bastante diversificado de proteínas com diferentes características estruturais (SGARBIERI, 2005).

Dentre as proteínas do soro, as principais são a β -lactoglobulina, a α -lactalbumina, as imunoglobulinas, a albumina do soro e a lactoferrina (HERNÁNDEZ-LEDESMA *et al.*, 2011). A concentração dessas proteínas no soro de leite de vaca e no soro de leite de ovelha, suas massas molares e pontos isoelétricos (pI) podem ser observados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 Concentração das principais proteínas do soro no soro de leite bovino e no soro de leite ovino e suas respectivas massas molares e pontos isoelétricos.

Proteína	Soro bovino (g.L ⁻¹)	Soro ovino (g.L ⁻¹)	Massa molar (kDa)	Ponto isoelétrico
β-lactoglobulina	3,2 – 4,0	2,7 – 5,0	18,3	5,2
α-lactalbumina	1,2 – 1,5	1,2 – 2,6	14,2	4,8
Albumina do soro	0,3 – 0,6	0,26 – 0,3	66,2	4,7
Lactoferrina	0,05 – 0,2	0,1	76	8

Fonte: adaptado de ANTUNES (2003); HERNÁNDEZ-LEDESMA *et al.* (2011).

O soro de leite de ovelha contém maiores concentrações de β-lactoglobulina e menores concentrações de albumina do soro do percentual total em comparação ao soro de leite de vaca. Os valores de α-lactalbumina e lactoferrina são semelhantes para as duas variedades de soro (HERNÁNDEZ-LEDESMA *et al.*, 2011).

As características e propriedades destas proteínas estão descritas detalhadamente nos tópicos seguintes.

β-lactoglobulina

A β-lactoglobulina (β-Lg) é uma proteína tipicamente globular, sendo a mais importante das proteínas do soro de leite de bovino, ovino e caprino. Contém 162 aminoácidos e sua massa molar é de 18,3 kDa (ANTUNES, 2003; THOMPSON *et al.*, 2009).

Caracteristicamente, a β-Lg está presente no leite de todos os ruminantes e suínos, enquanto o leite de quase todos os não ruminantes não a possuem, como por exemplo, o leite humano, o que justifica a alergia atribuída às proteínas do leite que afeta algumas crianças (ANTUNES, 2003).

A molécula de β-lactoglobulina possui duas ligações dissulfídicas e uma sulfidril livre, não contendo fósforo. Cerca de doze variantes genéticas já foram identificadas no soro de leite bovino, sendo as duas principais as β-Lg A e B, diferenciando-se entre si em duas posições de aminoácidos; na variante B uma glicina é substituída e na variante A, um resíduo de ácido aspártico A. O ponto isoelétrico da β-Lg é ao redor de pH 5,2, um pouco mais alto para a variante B do que para A (ANTUNES, 2003; SGARBIERI, 2005).

Em pH acima do ponto isoelétrico a proteína existe como um dímero de massa molar da ordem de 36,7 kDa. Em valores de pH abaixo de 3,5 e acima de 7,5, ocorre dissociação e a proteína apresenta-se na forma monomérica; em pH entre 3,5 e 5,2 a forma dimérica se polimeriza dando origem a um octômero com massa molar de 147 kDa (ANTUNES, 2003).

A β -Lg é uma proteína termossensível e vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, entre eles perda de solubilidade e exposição de regiões da molécula apropriada para diferentes tipos de interação com outros componentes, em sistemas complexos (SGARBIERI, 2005).

Em temperaturas menores que 70 °C a β -Lg apresenta mudanças conformacionais reversíveis. Temperaturas elevadas podem provocar sua desnaturação e polimerização irreversível ou um significativo aumento na susceptibilidade de degradação desta proteína por pepsina e quimiotripsina (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002).

α -lactalbumina

A proteína que se apresenta com o segundo maior teor no soro de leite é a α -lactalbumina (α -La). Contém 123 aminoácidos e sua massa molar é de 14,2 kDa. É muito solúvel em água e seu ponto isoelétrico é de 4,8 (THOMPSON *et al.*, 2009).

A α -La é uma proteína globular, praticamente esférica, possui quatro ligações dissulfídicas, não apresenta grupos fosfato e é a única proteína do soro capaz de ligar-se ao cálcio. Desnatura-se a 65,2 °C, pH 6,7, sendo que 90% da desnaturação reverte-se com resfriamento (ANTUNES, 2003).

Duas variantes genéticas de α -La (A e B) já foram identificadas, porém somente a variante B tem sido encontrada em leite das raças bovinas ocidentais. O leite de todos os mamíferos que contém lactose também contém α -lactalbumina (ANTUNES, 2003; SGARBIERI, 2005).

Uma propriedade característica da α -La é a forte tendência de formar associações em pH abaixo do seu ponto isoelétrico. No pH natural do leite, pH 6,6 ou acima, a α -La apresenta-se como monômero com sua estrutura terciária (SGARBIERI, 2005).

A α -La é rica em triptofano, aproximadamente 6% em peso, e é considerada adequada para a nutrição humana, especialmente para o preparo de alimentos infantis, devido à similaridade em relação a principal proteína do leite materno (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002).

Outras proteínas

A albumina do soro (BSA) é uma proteína globular, contém 582 resíduos de aminoácidos, apresenta uma estrutura similar ao encontrada à da albumina do soro sanguíneo, sendo que sua massa molar é de 66,2 kDa e ponto isoelétrico a pH 4,7 (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002; SGARBIERI, 2005).

As imunoglobulinas representam uma classe especial de proteínas de elevada massa molar encontrada no soro sanguíneo e em outros fluidos do organismo. Todas as imunoglobinas são monômeros ou polímeros formados de unidades de quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias curtas e duas cadeias longas, ligadas por pontes dissulfetos (SGARBIERI, 2005). A massa molar das imunoglobulinas pode variar entre 150 e 900 kDa (BRANS *et al.*, 2004).

No soro de leite, são encontradas três classes de imunoglobulinas: IgG, IgA, IgM. A IgG é a que está em maior quantidade no leite bovino, cerca de 75% do conteúdo total das imunoglobulinas do leite, enquanto a IgA é a de maior teor no leite humano (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002; SGARBIERI, 2005).

A lactoferrina é uma glicoproteína fortemente ligadora de ferro, apresentando-se com uma cor salmão-vermelha, quando em solução; sem o ferro ligado, apresenta-se incolor. Sua massa molar é de 76 kDa e seu ponto isoelétrico é em torno de pH 8 (ANTUNES, 2003; SGARBIERI, 2005).

O glicomacropéptido (GMP) é encontrado apenas no soro de leite doce e não apresenta aminoácidos sulfurados e aromáticos. Sendo uma das únicas proteínas naturais livres de fenilalanina, o GMP pode ser utilizado em alimentos para o tratamento da fenilcetonúria, uma vez que pessoas portadoras desta doença não podem ingerir este aminoácido (ZYDNEY, 1998).

2.4 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite

O soro de leite é reconhecido pela sua qualidade nutricional e funcional, uma vez que contém proteínas, lactose, minerais e vitaminas. A presença de proteínas no soro torna-o um produto adequado para emprego na alimentação humana, especialmente na formulação de alimentos infantis e dietéticos, devido à elevada qualidade nutricional destas proteínas (MILLER *et al.*, 2000; GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2004).

O soro lácteo é uma fonte de proteínas que oferece uma série de benefícios funcionais em aplicações alimentícias. Segundo KINSELLA (1987), propriedades funcionais podem ser definidas como as propriedades físicas e químicas de um componente que influenciam a manipulação, processamento, estocagem, preparação, embalagem, estabilidade, e principalmente, os atributos de qualidade padrão de um produto alimentar (cor, odor, sabor e textura) os quais são inseridos.

Dentre as propriedades funcionais das proteínas do soro de leite destacam-se: solubilidade, emulsificação e formação de espuma. Essas características garantem que esses componentes possam ser utilizados como ingredientes nos mais diversos produtos alimentícios, como formulações para crianças, carnes processadas, merengues, sorvetes, chocolates, produtos de panificação, molhos, sopas, iogurtes, suplementos alimentares e bebidas (USDEC, 1997; ANTUNES, 2003).

O soro, quando adicionado a outros produtos alimentícios, melhora a textura, realça o sabor e a cor, emulsifica e estabiliza, melhora a dispersibilidade em misturas secas ao mesmo tempo em que atua como agente anti-aglutinante, amplia a vida de prateleira e aumenta a qualidade final dos alimentos (USDEC, 1997).

Devido às propriedades funcionais, fisiológicas e biológicas específicas de cada uma das proteínas do soro, tem havido um crescente interesse no seu fracionamento. A β -lactoglobulina possui as propriedades de gelificação, emulsificação e formação de espuma; por outro lado, o leite humano não contém β -Lg e, por esse motivo, a α -lactalbumina é mais adequada para a formulação de alimentos infantis, além de ser um agente emulsificante (ZYDNEY, 1998; ANTUNES, 2003).

Na Tabela 2.5 são apresentadas algumas aplicações do soro de leite na indústria de alimentos e o efeito da sua adição a nível funcional.

Tabela 2.5 Exemplos da aplicação do soro de leite na indústria de alimentos.

Aplicação	Efeito funcional
Produtos de panificação, sorvetes, molhos e produtos cárneos	Emulsões estáveis
Produtos lácteos (sobremesas e iogurtes)	Gelificação, textura lisa e cremosa
Massas tipo macarrão	Melhoria da textura e firmeza
Molhos para saladas e sopas	Retenção de água, aumento de viscosidade, melhoria da textura
Bebidas nutricionais	Melhoria da qualidade nutricional, aumento da viscosidade
Merengues, bolos e produtos de confeitaria	Mantém a estabilidade da espuma e melhoria da capacidade de aeração

Fonte: adaptado de GIRALDO-ZUÑIGA *et al.* (2002).

CASPER *et al.* (1999) compararam algumas propriedades funcionais dos concentrados proteicos de soro ovino e bovino. Os resultados mostraram que o produto fabricado a partir do soro de leite de ovelha possui melhores características para formação de géis, formação e estabilidade de espumas e valores semelhantes para capacidade emulsificante em comparação ao produto de soro de leite de vaca.

Algumas características das principais propriedades funcionais das proteínas do soro de leite estão explicadas nos tópicos a seguir.

2.4.1 Solubilidade proteica

A solubilidade proteica pode ser definida como a porcentagem de proteína que se mantém em solução ou dispersão coloidal sob condições específicas e que não sedimenta com forças centrífugas moderadas (PELEGRINE & GASPARETTO, 2005). De acordo com FENNEMA (1996), a solubilidade de uma proteína é uma manifestação termodinâmica do equilíbrio entre interações proteína-proteína e proteína-solvente.

As proteínas do soro são extremamente solúveis, principalmente quando comparadas ao caseinato de sódio e às proteínas da soja (GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2002). O uso de ingredientes com alta solubilidade e facilmente dispersos simplifica o processamento e

melhora a consistência dos alimentos. Devido à sua solubilidade, o soro pode ser adicionado a bebidas, sopas, molhos, carnes processadas, molhos de salada e produtos de panificação (USDEC, 1997).

Esta propriedade depende de vários fatores como massa molar e conformação das moléculas, massa específica e distribuição das cargas elétricas, que por sua vez são influenciados pelo pH, natureza e concentração de íons ou força iônica e temperatura (KINSELLA, 1987; FENEMMA, 1996). Geralmente, as proteínas são mais solúveis em pH ácido ou alcalino devido ao excesso de cargas de mesmo sinal, produzindo repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade (PELEGRINE & GASPARETTO, 2005).

Segundo WIT (1984) e FENNEMA (1996), quando uma solução proteica está no seu ponto isoelétrico, as interações proteína-proteína aumentam, pois as forças eletrostáticas moleculares são mínimas, conseqüentemente, menos água interage com as moléculas de proteína, condição favorável para que estas se aproximem, agreguem e precipitem. Ou seja, quanto mais próximo for o pH de uma solução proteica do seu ponto isoelétrico, mais baixa será a sua solubilidade.

A solubilidade é a propriedade funcional mais importante das proteínas para a sua utilização em alimentos. Outras propriedades funcionais dependem da capacidade inicial de dispersão das proteínas em soluções aquosas, pois a sua solubilização é essencial para se avaliar outras propriedades funcionais, tais como propriedades emulsificantes e espumantes (KINSELLA, 1987; ANTUNES, 2003). As proteínas insolúveis têm usos muito limitados em alimentos (FENNEMA, 1996).

2.4.2 Emulsificação

Outra importante propriedade do soro é a sua capacidade emulsificante, ou seja, o soro é um produto que torna possível a formação ou a manutenção de uma mistura uniforme de duas ou mais fases imiscíveis em um alimento, graças à presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos (SGARBIERI, 1996). As propriedades emulsificantes do soro de leite são vantajosas para o processamento de molhos, carnes, sorvetes, maionese, bolos e molhos de salada (USDEC, 1997).

As propriedades das emulsões estabilizadas pelas proteínas são afetadas por vários fatores, como pH, força iônica, temperatura, presença de surfactantes de baixa massa molar, açúcares, volume da fase óleo, tipo de proteína, entre outros (FENNEMA, 1996).

De acordo com FENNEMA (1996) e ANTUNES (2003), as propriedades emulsificantes de proteínas são avaliadas por meio de vários métodos, citados a seguir.

- **Atividade emulsificante:** refere-se à máxima área interfacial por unidade de peso de proteína de uma emulsão estabilizada em sistemas cuidadosamente estabelecidos.
- **Capacidade emulsificante:** reflete a quantidade máxima de óleo emulsificado sob condições específicas por uma quantidade padrão de proteína.
- **Estabilidade de emulsão:** refere-se à capacidade de uma proteína de formar emulsão que permanece estável durante certo período de tempo a uma dada temperatura e num campo gravitacional definido.

2.4.3 Formação de espuma

As espumas consistem de uma fase contínua aquosa e uma fase dispersa gasosa (ar). Em geral, a formação de bolhas ou o ato de bater ou agitar uma solução proteica criam espumas estabilizadas por proteínas. A propriedade de uma proteína de formar espuma refere-se a sua capacidade de formar uma película fina e resistente na interface gás-líquido, de modo que grandes quantidades de bolhas de gás possam ser incorporadas e estabilizadas. A capacidade de formar espumas ou a espumabilidade de uma proteína refere-se à quantidade de área interfacial que pode ser criada pela proteína (FENNEMA, 1996).

Os princípios que governam o processo de formação de espumas são basicamente os mesmos que determinam a formação de emulsões. A formação de espuma depende da habilidade das proteínas em formar rapidamente um filme interfacial coesivo capaz de envolver e reter ar (ANTUNES, 2003). Esta propriedade faz com que seja atrativa a adição de soro de leite em alimentos como iogurtes, cremes, pudins, sorvetes e flans (USDEC, 1997).

As maneiras mais utilizadas para medir esta propriedade são a expansão de espuma e a estabilidade espumante. Expansão de espuma indica quando uma proteína tem a capacidade de formar espuma e em que medida acontece o aumento do volume sobre o volume da solução e a estabilidade de uma espuma se refere à habilidade que uma espuma formada tem

para reter o máximo do volume após um tempo determinado de repouso (KINSELLA, 1987; SGARBIERI, 1996).

2.5 Produtos de soro de leite e suas aplicações

O reconhecimento do valor do soro lácteo, principalmente devido às propriedades nutricionais, biológicas e funcionais das suas proteínas, assim como a necessidade de resolver o problema do impacto ambiental, causado pela produção de volumes elevados deste produto, o qual possui uma carga orgânica alta, aliando-se ao fato de que a utilização do soro em alimentos ocasiona uma boa relação custo/benefício, faz com que seu aproveitamento seja valioso.

Segundo MAWSON (1994), as formas de disposição e/ou utilização do soro lácteo podem ser divididas em três categorias: uso direto ou disposição, onde o soro é utilizado sem ou mínimo tratamento, incluindo alimentação de animais, ingrediente em algumas bebidas e alimentos e descarte em cursos d'água; estabilização, onde o soro é tratado física e quimicamente, com técnicas como ultrafiltração, osmose inversa, evaporação, desnaturação térmica, cristalização e secagem, originando diferentes produtos de soro de leite; e processos de conversão, onde a lactose presente no soro é utilizada como substrato em processos fermentativos.

PELEGRINE & CARRASQUEIRA (2008) expõem que a economia gerada pela diminuição dos descartes, através da utilização do soro do leite para a formulação de outros produtos, é motivo suficiente para incentivar o desenvolvimento de uma metodologia que vise o aproveitamento deste subproduto atualmente descartado pela maior parte das indústrias de laticínios, principalmente as de pequeno e médio porte.

O enriquecimento de alimentos com soro de leite confere uma série de vantagens, uma vez que pode melhorar a textura, realçar o sabor e a cor, melhorar a estabilidade e a capacidade emulsificante. Outra vantagem do acréscimo de soro aos alimentos é a melhora do seu valor nutritivo, visto que as proteínas do soro de leite são de excelente qualidade, não sendo deficientes em nenhum aminoácido e, quando não desnaturadas, são altamente solúveis, boas formadoras de espuma e de emulsões (ZAVARESE *et al.*, 2010).

O soro líquido é utilizado principalmente como suplemento alimentar para animais, porém, o excesso de lactose e minerais pode limitar o seu uso com esse propósito. Outro

destino do soro *in natura* é a sua utilização como fertilizante, mas com a desvantagem de criar depósitos salinos no solo (SISO, 1996).

Na alimentação humana, o soro líquido fresco é pouco aproveitado, já que é de difícil transporte e de fácil deterioração, além de apresentar quantidades elevadas de lactose e minerais; uma parte do soro de leite *in natura* é empregada na fabricação de queijo do tipo Ricota e na incorporação de produtos lácteos, especialmente bebidas (SISO, 1996; MILLER *et al.*, 2000).

Segundo PELEGRINE & CARRASQUEIRA (2008), a venda de bebidas e produtos enriquecidos nutricionalmente tem aumentado nos últimos anos. A utilização de soro de leite na elaboração de bebidas lácteas constitui uma forma de aproveitamento além de apresentar excelente valor nutritivo e fornecer alta qualidade proteica.

HENRIQUES *et al.* (2011) analisaram os efeitos da adição de soro líquido bovino e ovino em substituição ao leite desnatado nas propriedades bioquímicas e físicas de iogurtes. Os autores concluíram que ambos os soros podem ser utilizados como ingredientes de iogurtes, pois houve um aumento do conteúdo de proteínas em relação ao produto convencional, além de apresentar melhores propriedades funcionais.

Como o teor de proteínas no soro líquido é muito reduzido, são necessárias etapas de concentração, para que as suas propriedades funcionais sejam realçadas. Além disso, os processos de concentração e secagem do soro de leite reduzem os seus custos de transporte e armazenamento e melhoram a qualidade e a durabilidade do produto, tornando os produtos de soro, como o soro em pó e os concentrados e isolados proteicos, as formas mais adequadas para a alimentação humana (HUFFMAN, 1996; MILLER *et al.*, 2000).

As frações dos produtos de soro podem ser agrupadas em sete categorias básicas, de acordo com as características determinadas pelo tipo e grau de processamento aos quais são submetidas. São elas: soro doce em pó, soro ácido em pó, soro deslactosado, soro desmineralizado, concentrados proteicos de soro (CPS), isolados proteicos de soro (IPS) e lactose. Cada um desses produtos de soro é utilizado com base nas características funcionais específicas apresentadas por cada um deles (ANTUNES, 2003; YADA, 2004).

A Tabela 2.6 relaciona os produtos derivados do soro de leite bovino disponíveis comercialmente e suas respectivas composições percentuais.

Tabela 2.6 Produtos derivados do soro de leite bovino e suas respectivas composições.

Produto	Proteína (%)	Lactose (%)	Gordura (%)	Minerais (%)	Água (%)
Soro doce em pó	11 – 14,5	63 – 75	1 – 1,5	8,2 – 8,8	3,5 – 5
Soro ácido em pó	11 – 13,5	61 – 70	0,5 – 1,5	9,8 – 12,3	3,5 – 5
Soro em pó deslactosado	18 – 24	52 – 58	1 – 4	11 – 22	3 – 4
Soro em pó desmineralizado	11 – 15	70 – 80	0,5 – 1,8	1 – 7	3 – 4
Concentrado proteico – 34	34 – 36	48 – 52	3 – 4,5	6,5 – 8	3 – 4,5
Concentrado proteico – 50	50 – 52	33 – 37	5 – 6	7,5 – 8,5	3,5 – 4,5
Concentrado proteico – 60	60 – 62	25 – 30	1 – 7	4 – 6	3 – 5
Concentrado proteico – 75	75 – 78	10 – 15	4 – 9	4 – 6	3 – 5
Concentrado proteico – 80	80 – 82	4 – 8	4 – 8	3 – 4	3,5 – 4,5
Isolado proteico	90 – 92	0,5 – 1	0,5 – 1	2 – 3	4,5
Lactose	–	> 98	–	0,1 – 0,5	1

Fonte: adaptado de USDEC (1997); YADA (2004).

De acordo com SISO (1996), 50% do total de soro de leite produzido no mundo é tratado, transformado ou adicionado a vários produtos alimentares. Desse total reaproveitado, 45% são utilizados na forma líquida, 30% na forma de soro em pó, 15% como lactose e o restante como concentrados e isolados proteicos.

O soro em pó é obtido por meio de uma pré-concentração e posterior secagem do soro *in natura*, onde a remoção de água é da ordem de 95%. Este contém todos os constituintes do soro *in natura*, na mesma proporção relativa, com exceção da umidade (MIZUBUTI, 1994; USDEC, 1997). As principais operações unitárias que podem estar envolvidas na produção de soro em pó são a osmose inversa, a evaporação a vácuo, a cristalização e a secagem por *spray drying* (PERRONE *et al.*, 2011).

SECCHI *et al.* (2011) investigaram a influência da adição de soro de leite de ovelha em pó no tempo de vida de prateleira de biscoitos. Duas amostras foram preparadas, sendo uma sem e outra com soro. Ambas as formulações não apresentaram diferenças nas análises sensoriais e os biscoitos com adição de soro apresentaram melhores características de textura, além de maior tempo de vida de prateleira em comparação com a amostra sem soro. O estudo mostrou que o soro de leite de ovelha pode ser utilizado como um agente de conservação em biscoitos.

MADRONA *et al.* (2009) estudaram o efeito da adição de soro de leite em pó no perfil sensorial de doce de leite. O estudo concluiu que a substituição do leite pelo soro não ocasiona alterações na qualidade físico-química e sensorial do produto final, representando uma alternativa para a diminuição dos efluentes das indústrias de laticínios.

A concentração e secagem do soro, embora seja realidade lucrativa em diversos países, sendo que o Brasil está entre os maiores importadores mundiais dos produtos de soro, envolve alto custo de produção, sendo considerado inviável por muitas indústrias nacionais. Por outro lado, o custo relativamente alto do leite desnatado em pó tem aumentado o interesse na busca de fontes alternativas para o suprimento de sólidos não gordurosos do leite na formulação de diversos produtos. Em 2010, o Brasil importou 24.000 toneladas de soro em pó, número um pouco abaixo do relativo ao ano de 2009, quando uma quantidade de 32.000 toneladas foi importada (PERRONE *et al.*, 2011).

O processo de secagem é o mais importante método de conservação de lácteos, pois a utilização desta técnica remove a água presente no leite, no soro de leite, nos concentrados e isolados proteicos, sem perdas nutricionais e funcionais. A secagem permite que o soro em pó e os produtos de soro em pó possam ser armazenados por um período de tempo maior, além de facilitar o seu transporte e armazenamento, pois reduz drasticamente seu volume (HUFFMAN, 1996; MILLER *et al.*, 2000; PERRONE *et al.*, 2011).

Industrialmente, o principal método de secagem do soro de leite e seus produtos derivados é o processo de *spray drying* (BYLUND, 1995; USDEC, 1997). No entanto, segundo BYLUND (1995) e PERRONE *et al.* (2011), durante o processo pode ocorrer a agregação e a adesão de uma camada de partículas nos equipamentos, sendo difícil a sua remoção. Outra desvantagem desta técnica é a necessidade do uso de temperaturas controladas, a fim de evitar possíveis alterações nas características dos produtos finais.

SONG *et al.* (2005) apontam que a secagem por liofilização representa uma alternativa ao método de *spray drying* para a secagem de produtos lácteos, pois estes são sensíveis à temperatura. A liofilização gera produtos de excelente qualidade, uma vez que minimiza as alterações associadas a altas temperaturas, como qualidade nutricional, sabor, aroma e cor. A secagem resulta em produtos com maior estabilidade, maior tempo de vida útil e maior facilidade de comercialização (OIKONOMOPOULOU *et al.*, 2011).

Antes do processo de secagem, o soro pode passar por processos que visam reduzir o seu teor de lactose e minerais, pois estes componentes alteram significativamente o seu sabor, além de dificultar a inserção do soro em alimentos (DIBLÍKOVÁ *et al.*, 2013). O soro em pó deslactosado apresenta teor de lactose inferior a 60%, enquanto que o soro em pó desmineralizado apresenta teor máximo de minerais de 7%. Estes produtos apresentam alta concentração de sólidos, maior vida de prateleira, fácil transporte e armazenamento e maior facilidade e versatilidade para a sua incorporação em alimentos (MILLER *et al.*, 2000; DE WIT, 2001).

A desmineralização do soro envolve a remoção de minerais e alguns ácidos orgânicos pelos processos de nanofiltração, eletrodialise e troca iônica ou combinações entre estas tecnologias. A maior parte do soro desmineralizado produzido é utilizado em alimentos infantis (DIBLÍKOVÁ *et al.*, 2013).

Os concentrados proteicos de soro (CPS) são definidos como sendo o produto obtido pela remoção de constituintes não proteicos do soro de leite, contendo ao menos 25% de proteínas. Os CPS disponíveis comercialmente apresentam, em geral, teores de proteínas na faixa entre 34 e 90%, mas suas composições podem variar muito, dependendo do método de manufatura. Estes produtos são adicionados a sopas e formulações infantis devido às suas propriedades emulsificantes e a carnes e produtos de panificação pelas propriedades gelificantes (MILLER *et al.*, 2000). De acordo com dados de 2012 da USDEC (U.S. Dairy Export Council), os Estados Unidos exportaram cerca 26.000 toneladas de concentrados proteicos e, desta quantidade, o Brasil importou 395 toneladas do produto.

Os isolados proteicos de soro (IPS) são a forma comercial mais pura das proteínas do soro e contêm entre 90 e 95% de proteína. Contêm gordura e lactose em quantidades muito pequenas, sendo muitas vezes isentos desses dois componentes (ANTUNES, 2003).

Os concentrados e isolados proteicos de soro têm uma vasta aplicação na indústria alimentar, pela funcionalidade que podem conferir aos alimentos. O valor comercial dos CPS e IPS é de 3 a 10 vezes maior que o do soro em pó, devido à maior especificidade do produto a nível funcional e ao excelente valor nutritivo do mesmo (USDEC, 1997; YADA, 2004).

As operações envolvidas na produção de concentrados e isolados proteicos de soro são, principalmente, os processos de separação com membranas, como microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa, associados com a diafiltração (DE WIT, 2001).

NIKAEDO *et al.* (2004) utilizaram concentrados proteicos de soro juntamente com leite em pó integral, carragena, goma guar, chocolate em pó, açúcar e sorbato de potássio na elaboração de sobremesas lácteas cremosas. Os resultados mostraram que é viável utilizar o CPS em substituição ao leite em pó, oferecendo um produto com menores teores de gordura e maior teor de proteínas. Além disso, o produto apresentou melhor qualidade nutricional, além da redução calórica.

SINHA *et al.* (2007) propuseram a formulação de uma bebida utilizando concentrados proteicos de soro hidrolisados, leite em pó desnatado, cacau, açúcar e gordura vegetal. Não houve diferenças significativas nos atributos sensoriais da bebida formulada e da disponível comercialmente, indicando que o concentrado proteico de soro hidrolisado pode ser utilizado na fabricação de bebidas lácteas.

Ainda, conforme ANTUNES (2003), quando adicionado a produtos cárneos, os concentrados e isolados proteicos de soro permitem melhor fluxo do produto, tornando-o mais fácil de manusear; após o cozimento, ajudam na formação de gel e aumentam a viscosidade; o conteúdo de lactose melhora o sabor e a coloração.

A Tabela 2.7 apresenta um resumo das possíveis aplicações dos produtos derivados do soro de leite.

Tabela 2.7 Possíveis aplicações dos produtos de soro de leite.

Produto	Aplicação
Soro <i>in natura</i>	Bebidas, queijo do tipo Ricota, alimentação para animais
Soro em pó	Sobremesas, produtos de panificação
Soro em pó deslactosado	Queijos processados, molhos, carnes
Soro em pó desmineralizado	Alimentos infantis, sobremesas, produtos de confeitaria
CPS	Produtos de panificação e confeitaria, queijos, sobremesas, produtos nutricionais, produtos lácteos, bebidas
IPS	Produtos lácteos, produtos de panificação e confeitaria, salgadinhos, carnes
Lactose	Caramelos, alimentos infantis, produtos de panificação e confeitaria, sobremesas, medicamentos

Fonte: adaptado de USDEC (1997).

Os estudos citados anteriormente mostram que a utilização dos diversos produtos derivados do soro de leite como ingredientes nos gêneros alimentícios para consumo humano tem transformado este subproduto em item valioso para a indústria de laticínios. Ingredientes lácteos à base de soro podem substituir, com eficiência e baixo custo, os sólidos do leite e dar origem a fórmulas alternativas para diversos alimentos.

2.6 Processos de separação com membranas (PSM)

A partir do início da década de 1970, em adição aos processos clássicos de separação como destilação, filtração, absorção, troca iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização e outros, surge uma nova classe de processos que utilizam membranas sintéticas como barreira seletiva. As membranas sintéticas surgem como uma tentativa de imitar as membranas naturais, em particular quanto as suas características únicas de seletividade e permeabilidade.

Os processos de separação com membranas (PSM) são operações que utilizam membranas para separar, concentrar e/ou purificar misturas e soluções envolvendo espécies de tamanho e natureza química diferentes.

Os PSM têm sido utilizados nos mais diferentes setores da indústria química, alimentícia e farmacêutica, além da área médica. Alguns exemplos: recuperação de H_2 , fracionamento do ar, purificação de enzimas, separação de substâncias termolábeis, esterilização de meios de fermentação, fracionamento de proteínas, desidratação de etanol, concentração do leite, concentração do soro de leite, concentração de sucos de frutas, clarificação e desalcoolização de vinhos e cervejas, dessalinização de águas, desmineralização de águas para caldeira, produção de água ultrapura, separação água/óleo, tratamento de águas residuais, tratamento de esgotos, rim artificial, dosagem controlada de remédios, entre outros.

As principais vantagens dos PSM em comparação aos processos tradicionais de separação são: economia de energia, pois a separação ocorre sem mudança de fase, seletividade, separação de compostos termolábeis, uso de temperaturas amenas e simplicidade de operação e escalonamento.

Neste tópico são abordadas algumas características importantes dos PSM, focando na ultrafiltração que é o processo que será utilizado nesse trabalho. Os fundamentos teóricos

desta seção foram adaptados de PORTER (1990), NOBLE & STERN (1995), MULDER (1996), HABERT *et al.* (2006) e BRITZ & ROBINSON (2008).

2.6.1 Aspectos gerais dos PSM

De uma maneira geral, uma membrana é uma barreira que separa duas fases e que restringe total ou parcialmente o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nas fases. Através da aplicação de uma força motriz, a corrente de alimentação é separada em duas novas correntes: o permeado (parte da alimentação que passou pela membrana) e o concentrado (parte da alimentação que não passou pela membrana), conforme é mostrado na Figura 2.2.

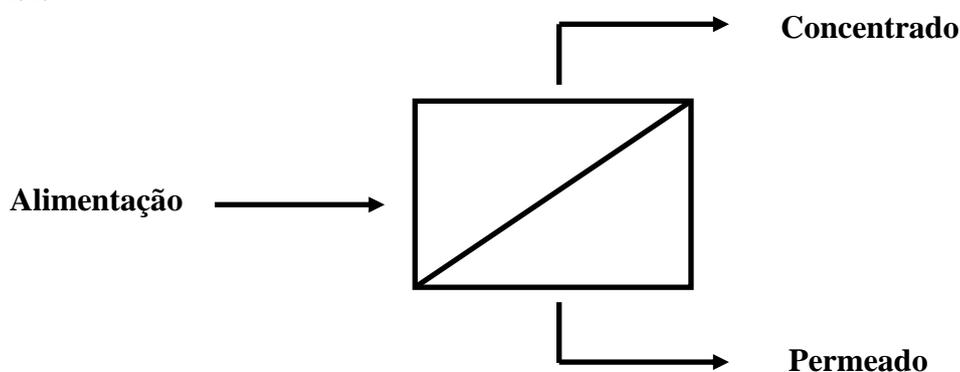


Figura 2.2 Representação genérica de um processo de separação com membranas.

Para que ocorra o transporte de uma espécie através de uma membrana é necessária a existência de uma força motriz agindo sobre a mesma. Os processos comerciais de separação com membranas utilizam como força motriz o gradiente de potencial químico e/ou o gradiente de potencial elétrico. O gradiente de potencial químico pode ser expresso em termos do gradiente de pressão e de concentração (ou pressão parcial).

As membranas podem ser classificadas em duas grandes categorias: densas e porosas. As características da superfície da membrana que estão em contato com a solução a ser separada é que vão definir a utilização de uma membrana. A Figura 2.3 apresenta as morfologias mais comuns observadas nas seções transversais de membranas comerciais.

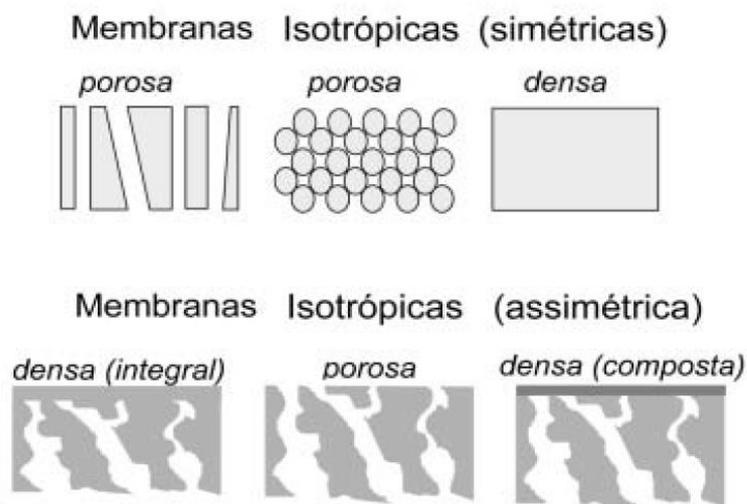


Figura 2.3 Representação esquemática da seção transversal dos diferentes tipos de morfologia de membranas sintéticas. Fonte: adaptado de HABERT *et al.* (2006).

Tanto as membranas densas como as porosas podem ser simétricas ou assimétricas, ou seja, podem ou não apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura. As membranas assimétricas se caracterizam por uma região superior muito fina (com espessura de 1 μm), mais fechada (com poros ou não), suportada em uma estrutura porosa. Quando ambas as regiões são constituídas por um único material a membrana é do tipo assimétrica integral. Caso materiais diferentes sejam empregados no preparo de cada camada, a membrana será do tipo assimétrica composta.

Em processos que utilizam membranas porosas, o transporte através da membrana é fundamentalmente convectivo e a separação está diretamente associada à relação entre o tamanho das espécies presentes e o tamanho dos poros da membrana; em membranas densas, o transporte dos componentes é difusivo e a capacidade seletiva depende da afinidade das diferentes espécies com o material da membrana e da difusão das mesmas através do filme polimérico.

Dependendo do mecanismo de transporte e da força motriz, os PSM podem ser divididos em três classes distintas: a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF) e a nanofiltração (NF), os quais utilizam a diferença entre o tamanho dos solutos e o tamanho dos poros da membrana para a separação das partículas, sendo que a força motriz é o gradiente de potencial químico expresso em termos de gradiente de pressão; a osmose inversa (OI), a permeação de gases (PG) e a diálise (D), cujas membranas possuem estruturas (parcialmente) densas, e cuja força motriz é o gradiente de potencial químico expresso em termos dos gradientes de pressão e/ou concentração, fazem uso da diferença de afinidade entre os componentes da alimentação com a membrana e da diferença de difusividade mássica através

da membrana; e a eletrodialise (ED) usa membranas íon-seletivas (catiônicas e aniônicas) para separar as moléculas carregadas das neutras e a força motriz para o transporte dos íons é o gradiente de potencial elétrico.

Os processos de separação com membranas que utilizam a diferença de pressão como força motriz diferenciam-se, principalmente, pela estrutura da membrana e a intensidade do gradiente de pressão aplicado para ocorrer a separação da espécie desejada. Na Tabela 2.8 está apresentada a faixa de tamanhos de poros das membranas para os PSM que utilizam o gradiente de pressão como força motriz e as faixas de pressão aplicáveis para cada processo.

Tabela 2.8 PSM relacionados pelo tamanho de poros das membranas e respectivas pressões de operação.

PSM	Tamanho dos poros (nm)	Faixa de pressão (bar)
Microfiltração	50 – 10000	0,1 – 2,0
Ultrafiltração	1 – 100	1,0 – 5,0
Nanofiltração	< 1	5,0 – 20
Osmose inversa	Sem poros	10 – 100

Fonte: adaptado de MULDER (1996).

As membranas sintéticas comerciais são produzidas a partir de duas classes de materiais: os materiais orgânicos (materiais biológicos ou poliméricos sintéticos) e os inorgânicos (materiais vítreos, metálicos ou cerâmicos). Os polímeros mais utilizados são acetato de celulose, polietersulfona, polissulfona, polipropileno, poliamida e poliacrilonitrila.

As membranas cerâmicas são mais resistentes em termos de limpeza química e térmica do que as membranas poliméricas. Entretanto, as membranas cerâmicas têm custo mais elevado, o que torna o seu emprego mais restrito. As membranas poliméricas, por sua vez, dominam o mercado devido a sua diversidade quanto aos diferentes tipos de polímeros existentes e quanto à disponibilidade, além de apresentarem um campo de aplicação muito amplo.

A configuração do escoamento dos PSM pode ser transversal ou tangencial. Nos processos de filtração transversal, com o passar do tempo, as partículas retidas formam uma camada mais concentrada próximo à superfície da membrana, formando uma ‘torta’ e aumentando a resistência à filtração. Na filtração tangencial, a fase concentrada é forçada a escoar ao longo da superfície da membrana, desestabilizando as partículas retidas próximas à

superfície e, desta forma, a camada concentrada permanece relativamente fina e a resistência à filtração é menor. As duas configurações estão esquematizadas na Figura 2.4.

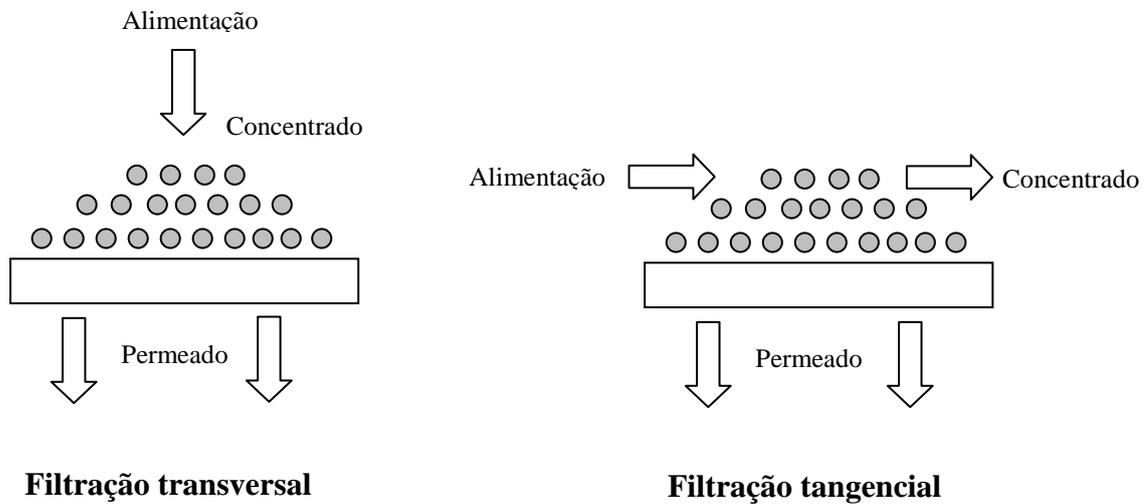


Figura 2.4 Configurações do escoamento dos PSM.

As membranas são utilizadas em diversas configurações, denominadas módulos. Estes podem apresentar duas geometrias diferentes: plana e cilíndrica.

As membranas planas podem ser utilizadas para fabricar módulos do tipo placa e quadro e espiral; os primeiros consistem de sanduíches de membranas e espaçadores e apresentam uma densidade de empacotamento baixa. A configuração em espiral é uma das mais utilizadas nas indústrias que operam com processos de separação por membranas, principalmente MF, UF e OI, estes módulos são constituídos por envelopes de membranas e espaçadores que são fixados e enrolados ao redor de um tubo coletor central por onde escoam o permeado. A partir da geometria cilíndrica podem ser confeccionados os módulos tubular, com diâmetro de 5 mm, capilar, com diâmetro entre 0,5 e 5 mm, e fibra oca, cujo diâmetro é menor do que 0,5 mm.

A escolha do módulo para uma determinada separação depende de uma série de fatores, tais como: densidade de empacotamento, custo, resistência ao *fouling*, considerações operacionais, características da mistura a ser fracionada, facilidade de operação, limpeza e manutenção. A Tabela 2.9 compara os diferentes tipos de módulos em termos de densidade de empacotamento, ou seja, a relação entre a área de membrana disponível para a permeação e o volume do módulo.

Tabela 2.9 Comparação da densidade de empacotamento dos diferentes tipos de módulos de membranas.

Módulo	Densidade de empacotamento ($m^2 \cdot m^{-3}$)
Tubular	30
Placa e quadro	500
Espiral	900
Capilar	1.000
Fibra oca	10.000

Fonte: adaptado de HABERT *et al.*, 2006.

Conforme a Tabela 2.9, o módulo tubular apresenta densidade de empacotamento baixa, representando uma desvantagem aos processos que utilizam esta configuração. Os valores para os módulos placa e quadro e espiral são considerados bons, enquanto que as configurações capilar e fibras ocas possuem excelentes densidades de empacotamento, sendo estes os módulos mais compactos.

2.6.2 Ultrafiltração (UF)

A ultrafiltração (UF) é um processo de separação com membranas utilizada quando se deseja purificar e fracionar soluções contendo macromoléculas. As membranas de UF apresentam poros na faixa entre 1 e 100 nm e utilizam o gradiente de pressão como força motriz, sendo que as diferenças de pressão através da membrana variam de 2 a 10 bar.

As membranas de UF comerciais são especificadas através da sua massa molar de corte (MMC), cuja unidade mais utilizada é o Dalton (Da). A MMC é definida como a massa molar para o qual a membrana apresenta uma retenção igual a 95%. As medidas de desempenho das membranas de UF são o fluxo permeado e a retenção de macromoléculas.

Soluções contendo solutos numa ampla faixa de massa molar ($10^3 - 10^6$ Dalton) podem ser tratadas pelo processo de ultrafiltração. Portanto, as principais substâncias retidas pela UF são proteínas, polissacarídeos, substâncias particuladas, enzimas e colóides.

A perspectiva de aplicação da UF é reforçada pela sua relativa simplicidade, baixo consumo energético e elevada eficiência. É um processo no qual além do tamanho do soluto, a manipulação do pH, da força iônica e da concentração do soluto, possibilitam a separação de macromoléculas de massas molares semelhantes.

Os fatores que afetam a capacidade de separação das membranas de UF são: a resistência da membrana, que é função da espessura da membrana, da sua área superficial porosa e do diâmetro dos poros; e a resistência de uma membrana secundária formada pela deposição de material sobre a membrana de UF, que reduz o fluxo permeado, fenômeno que será discutido mais detalhadamente na seção 2.6.4.

Uma maneira diferente de operar os PSM que utilizam o gradiente de pressão como força motriz é a diafiltração (DF). Consiste basicamente em adicionar ao processo de UF uma alimentação contínua de solvente (geralmente água) em vazão igual à vazão de permeado. Trata-se, na verdade, de uma operação de “lavagem” da solução problema, a fim de aumentar a purificação do concentrado. A diafiltração pode também ser operada em regime descontínuo, com o solvente sendo adicionado por etapas, com volumes e número de volumes pré-definidos.

A diafiltração é utilizada quando se deseja purificar um determinado soluto de uma solução, onde os contaminantes são compostos de dimensões menores do que as do soluto de interesse. Assim, os contaminantes vão sendo eliminados no permeado, enquanto a membrana retém o soluto de interesse. Na indústria de laticínios, a DF é normalmente empregada após a concentração do soro por MF, UF ou NF, para permitir maior separação da lactose e sais minerais, elevando a proporção de proteínas no concentrado.

2.6.3 Parâmetros característicos dos PSM

Nesta seção são abordados parâmetros importantes relativos aos processos de separação com membranas, necessários para o entendimento deste trabalho.

Fluxo permeado e permeabilidade

O fluxo permeado é definido como sendo como a vazão (volumétrica, mássica ou molar) por unidade de área. O fluxo volumétrico de permeado pode ser calculado segundo a Equação 2.1.

$$J_p = \frac{V_p}{A \times t} \quad (2.1)$$

onde: J_p é o fluxo permeado [$L.m^{-2}.h^{-1}$], V_p é o volume de permeado coletado [L], A é a área permeável do módulo da membrana [m^2], e t representa o tempo [h] para coletar o permeado.

O fluxo é função das características da membrana, tais como espessura, tamanho dos poros, porosidade, morfologia, entre outros, bem como das características da solução a ser processada e das condições de operação, como pressão transmembrana, velocidade de escoamento tangencial, fator de concentração, temperatura, pH e força iônica do meio.

De um modo geral, para os processos que utilizam o gradiente de pressão como força motriz, o fluxo permeado de solvente (geralmente água) é diretamente proporcional ao próprio gradiente de pressão de acordo com a Lei de Darcy, Equação 2.2.

$$J_p = -L_p \times \frac{\partial P}{\partial x} \quad (2.2)$$

onde: L_p é a permeabilidade hidráulica da membrana [$L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$], e $\partial P/\partial x$ é o gradiente de pressão [$bar.m^{-1}$].

A permeabilidade hidráulica depende das características da membrana e pode ser entendida como uma medida de maior ou menor facilidade que a membrana oferece à passagem de um dado solvente.

O fluxo apresenta um comportamento linear inicial e, à medida que a pressão aumenta, este sofre um aumento assintótico até atingir o fluxo limite. O valor do fluxo limite é aquele atingido quando um aumento de pressão não acarreta mais um aumento de fluxo. Este comportamento está relacionado com os fenômenos de polarização por concentração e *fouling* que serão discutidos mais adiante na seção 2.6.4.

Outro conceito importante é o de fluxo crítico, que consiste em um valor de fluxo abaixo do qual a tendência ao *fouling* é reduzida ou a ocorrência do mesmo se torna desprezível. Desta forma, praticamente não ocorre acúmulo de partículas na superfície da membrana e, se as interações entre o material da membrana e o soluto forem desprezíveis, a filtração ocorre sob condições estáveis, sem alterações no valor do fluxo com o tempo.

O fluxo através da membrana é influenciado pela temperatura da solução de alimentação, uma vez que o fluxo é função da viscosidade dinâmica da solução que, por sua

vez, é função da temperatura; o aumento da temperatura ocasiona em fluxo permeado mais elevado. A velocidade de escoamento também influencia positivamente no fluxo permeado, pois com o aumento da velocidade, ocorre um aumento da turbulência do escoamento e consequente diminuição da camada polarizada de concentração.

Outros parâmetros importantes que afetam o fluxo através da membrana são o pH e a força iônica; o efeito de cada um deles, entretanto, varia muito em função da solução de alimentação e da membrana utilizada. Estes parâmetros influenciam, principalmente, a solubilidade dos componentes da alimentação, alterando as interações entre os diversos componentes entre si e com a membrana.

Seletividade

A seletividade depende da habilidade de retenção ou rejeição da membrana e, para o caso de misturas aquosas diluídas, é convenientemente expressa em função da retenção em relação a um soluto em particular. Nestes casos, o soluto é parcialmente ou totalmente retido pela membrana, enquanto que as moléculas de solvente passam livremente por ela.

A retenção ou rejeição do soluto (R) é definida como sendo uma fração do soluto originalmente presente na corrente de alimentação e retido pela membrana, sendo geralmente expressa em porcentagem, como mostra a Equação 2.3. O valor de R varia entre 100% (completa retenção do soluto) e 0% (soluto e solvente passam pela membrana livremente).

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_B}\right) \times 100 \quad (2.3)$$

onde: R é a retenção observada de solutos pela membrana [%], C_B é a concentração de solutos na corrente de alimentação [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$], e C_p é a concentração de solutos na corrente permeada [$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$].

A capacidade seletiva de membranas porosas está diretamente associada à relação entre o tamanho das espécies presentes e o tamanho dos poros da membrana. Nas membranas densas, a seletividade depende da afinidade das diferentes espécies com o material da membrana e da difusão das mesmas através do filme polimérico.

Fator de concentração volumétrico

O fator de concentração volumétrico (FCV) é um importante parâmetro do processo e é definido como sendo a razão entre o volume inicial da solução e o volume do concentrado (ou retido), conforme a Equação 2.4.

$$FCV = \frac{V_0}{V_C} = \frac{V_0}{(V_0 - V_p)} \quad (2.4)$$

onde: FCV é o fator de concentração volumétrico, V_0 é o volume inicial da solução [L], V_C é o volume do concentrado [L], e V_p é o volume do permeado [L].

No processo de concentração de um dado componente através da UF, a concentração de um soluto durante o processo varia em função tanto da redução do volume, como da retenção do soluto pela membrana.

2.6.4 Fenômenos inerentes aos PSM: *fouling* e polarização por concentração

O desempenho dos PSM pode variar significativamente com o passar do tempo, ocorrendo uma significativa diminuição do fluxo permeado e mudanças na retenção de solutos.

Dois fatores comuns nos processos de separação por membranas que podem ocasionar os problemas acima citados são o *fouling* e a polarização por concentração. Esses fenômenos dependem do tipo de membrana e do tipo de solução empregada e ocasionam a adição de resistências ao transporte da alimentação através da membrana.

A polarização por concentração ocorre quando o soluto acumula-se próximo à superfície da membrana, aumentando a concentração do mesmo nesta região. O fato de a concentração do soluto próximo à superfície da membrana ser maior do que no seio da solução, provoca um movimento difusivo deste soluto no sentido de retornar ao seio da solução.

O *fouling* é o conjunto de incrustações que ocorrem nas membranas, incluindo diversos processos, tais como bloqueio de poros, adsorção, formação da camada gel e formação de torta. Estas incrustações podem incrustar-se ao material da membrana, o que leva

a uma diminuição do fluxo. Além de afetar as características de separação da membrana, o *fouling* modifica a composição da solução, devido ao depósito de solutos.

O *fouling* é causado por uma série de interações entre a membrana e a solução e é influenciado pelas suas naturezas físico-químicas, tais como conformação, potencial zeta e hidrofobicidade; as condições de operação – velocidade tangencial, pressão e temperatura – também afetam a formação de incrustações na membrana. Geralmente, proteínas e gordura causam os principais problemas de *fouling* em produtos de laticínios.

Os principais fenômenos que contribuem para as incrustações estão apresentados a seguir.

- Adsorção das moléculas de soluto na superfície da membrana e/ou no interior de seus poros devido a interações físico-químicas com o material da membrana.
- Entupimento de poros por moléculas ou partículas em suspensão. Trata-se da ação mecânica de bloqueio de poros, que pode ocorrer tanto na superfície da membrana como no seu interior, dependendo de sua morfologia.
- Depósito de material em suspensão sobre a superfície da membrana com formação de uma torta de filtração. No caso de soluções de macromoléculas, na região próxima à superfície da membrana, pode-se atingir uma concentração suficientemente elevada, de modo a possibilitar a gelificação da solução nesta região. Solutos de baixa massa molar, como sais, por exemplo, podem atingir o limite de solubilidade e precipitarem na superfície da membrana.

Geralmente, três estágios de queda do fluxo permeado podem ser identificados durante o processo, conforme a Figura 2.5. A queda rápida inicial no fluxo (estágio I) é devida, principalmente, à polarização por concentração; no segundo estágio (II), o fluxo continua diminuindo, devido à formação de depósitos de partículas; e, no terceiro estágio (III), o fluxo passa a ter um valor constante.

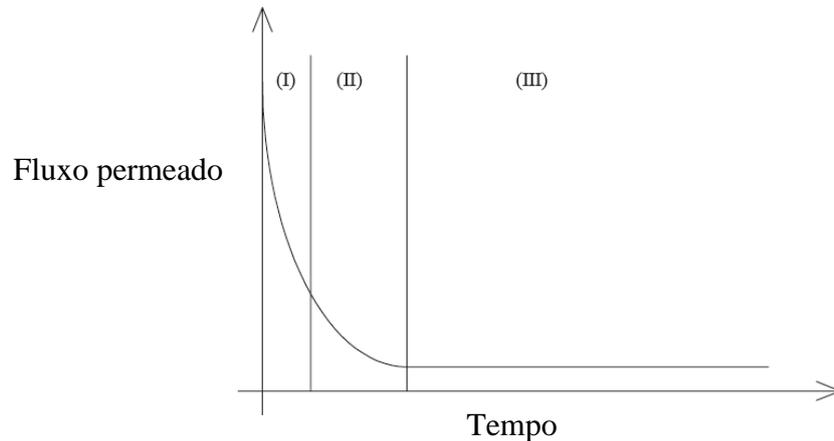


Figura 2.5 Três estágios do declínio do fluxo permeado. Fonte: adaptado de NIGAM *et al.* (2008).

Como o fenômeno de *fouling* ocorre em todo processo de separação por membranas, é necessário realizar limpezas nas membranas, a fim de manter a eficiência da operação. A escolha dos agentes de limpeza depende das características da solução de alimentação e da resiliência da membrana e deve ser bastante criteriosa, uma vez que algumas soluções de limpeza podem apresentar, com o tempo de uso, um efeito adverso na seletividade da membrana.

Em nível industrial, o *fouling* diminui a produtividade do processo e, conseqüentemente, os custos operacionais em função da formação de depósitos de difícil remoção, de danos permanentes causados à membrana e da necessidade de limpezas frequentes. Assim sendo, quaisquer iniciativas visando minimizar o *fouling* são interessantes, não só do ponto de vista prático e imediato (aumento do fluxo de permeado), mas também ao longo prazo (aumento do tempo de vida útil da membrana).

A tendência ao *fouling* de uma membrana pode ser avaliada utilizando vários "testes de incrustação", através do qual é possível medir a queda do fluxo permeado em função do tempo no estado de equilíbrio e em condições de operação constante.

WU *et al.* (2007) estudaram o *fouling* durante a ultrafiltração de efluente gerado da fabricação do óleo de palma usando uma membrana de polissulfona de 20 kDa. A tendência ao *fouling* do sistema foi calculada comparando a permeabilidade à água destilada antes e depois da UF, como mostrado pela Equação 2.5.

$$Fouling(\%) = \left(1 - \frac{W_{Pd}}{W_{Pa}}\right) \times 100 \quad (2.5)$$

onde: W_{Pa} é a permeabilidade hidráulica antes da UF [$L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$], e W_{Pd} é a permeabilidade hidráulica depois da UF [$L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$].

Os valores de W_{Pa} e W_{Pd} foram obtidos diretamente da inclinação das curvas relativas à diferença de pressão aplicada e ao fluxo de permeado destilado da água antes e após a ultrafiltração das soluções em estudo.

2.7 Aplicação dos PSM na indústria de laticínios

Os processos de separação com membranas vêm sendo utilizados com sucesso desde a década de 70 na indústria de laticínios, permitindo concentrar, purificar e fracionar os componentes do leite e do soro de leite, com membranas de MF, UF, NF, OI e ED. Há registros de que no mundo estão instaladas cerca de 300.000 m^2 de área de membranas aplicadas à indústria de laticínios, onde 2/3 desta área é utilizada para o tratamento do soro de leite e 1/3 para o leite (ZYDNEY, 1998; LEITE *et al.*, 2006).

BRANS *et al.* (2004) comentam que os PSM representam uma excelente alternativa ao processamento do leite e do soro de leite, pois podem atuar em diversas aplicações, como remoção de gordura e microrganismos, concentração das micelas de caseína, concentração, purificação e separação das proteínas do soro. A Figura 2.6 apresenta o tamanho dos componentes do leite e o respectivo PSM que poderia ser empregado na separação destes.

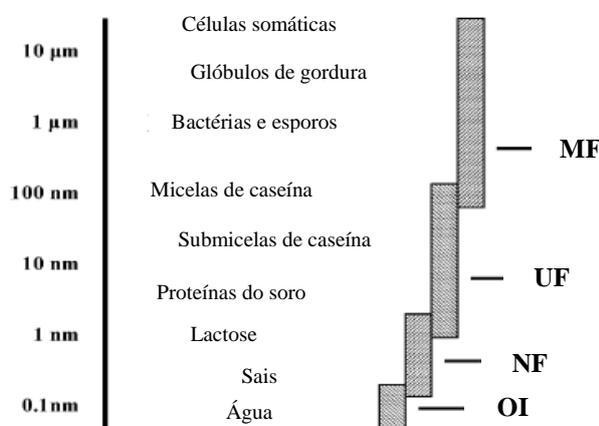


Figura 2.6 Aplicação dos PSM para separação de componentes do leite em função do seu tamanho. Fonte: adaptado de BRANS *et al.* (2004).

A osmose inversa é empregada na indústria de laticínios como uma técnica de pré-concentração ou concentração do leite e do soro, sendo que a membrana de acetato de celulose é a mais desenvolvida e a mais disponível comercialmente. O processo de OI permite a concentração do soro de leite em até quatro vezes (MIZUBUTI, 1994). De acordo com GIRALDO-ZUÑIGA *et al.* (2004), os sistemas de osmose inversa reduzem a carga orgânica dos efluentes de laticínios de 50.000 mg.L⁻¹ para aproximadamente 300 mg.L⁻¹ e, em muitas situações, o permeado (água) pode ser utilizado como lavagem industrial.

Segundo ROSENBERG (1995) e LEITE *et al.* (2006), membranas de microfiltração podem ser empregadas na remoção de bactérias do leite e do soro em substituição ao tratamento térmico convencional. Para ZYDNEY (1998), a MF é vantajosa frente ao processo de pasteurização a altas temperaturas para eliminação de microrganismos, pois evita a degradação dos constituintes dos produtos lácteos. A remoção de bactérias do leite por MF não altera o seu sabor, além de aumentar seu tempo de vida de prateleira (BRANS *et al.*, 2004).

ROSENBERG (1995) e ZYDNEY (1998) expõem que a microfiltração também é utilizada para a remoção da gordura residual presente no soro como pré-tratamento da ultrafiltração. Apesar de a centrifugação ser um processo preferencial em escala industrial à MF para remoção de gordura do soro e do leite, BRANS *et al.* (2004) relatam que a separação por membranas representa menos danos aos seus constituintes, resultando em melhores características sensoriais, além de uma redução do consumo de energia.

A ultrafiltração é o processo de separação com membranas de maior destaque na indústria leiteira e é utilizada para concentrar e separar os componentes do leite e do soro lácteo. Nestes sistemas, os componentes de baixa massa molar (lactose, sais e água) permeiam preferencialmente pela membrana (corrente permeado) e as proteínas são retidas (corrente concentrado) (ZYDNEY, 1998; LEITE *et al.*, 2006).

CHOLLANGI & HOSSAIN (2007) examinaram a eficiência de três membranas de UF de celulose regenerada com massa molar de corte de 3, 5 e 10 kDa no fracionamento das proteínas e da lactose do soro de leite. A recuperação da lactose foi de 70 – 80% com a membrana de 3 kDa, 90 – 95% com a membrana de 5 kDa e aproximadamente 100% com a membrana de 10 kDa. Ao final, concluíram que a membrana de 10 kDa foi a mais eficiente na separação de duas frações de produto: o permeado rico em lactose e o concentrado rico em proteínas.

ATRA *et al.* (2005) estudaram a aplicação da ultrafiltração para a concentração das proteínas do soro, com membrana de massa molar de corte de 8 kDa. O processo atingiu uma alta eficiência, com valores de retenção de proteínas entre 92 e 98%. A temperatura adequada de operação foi de 50 °C, onde a viscosidade do soluto é baixa e não ocorre decomposição das proteínas e danos ao material da membrana.

O *fouling* é o principal fator limitante da aplicação de membranas no processamento do leite e do soro de leite, uma vez que o fluxo permeado e a seletividade são fortemente afetados (BRANS *et al.*, 2004). BRITZ & ROBINSON (2008) expõem que na indústria de produtos lácteos, os principais causadores de *fouling* são proteínas, gorduras e minerais. A limpeza padrão para esses processos é lavagem com soluções cáusticas para remoção de proteínas e gorduras, seguida de uma lavagem ácida para remoção de minerais.

Grande quantidade de concentrado proteico de soro tem sido produzida industrialmente pela técnica de ultrafiltração. Para atingir altas proporções de proteínas em relação aos sólidos totais, reduzindo o conteúdo de lactose e sais no concentrado, é inserida no processo a etapa de diafiltração (DF), após a UF; o emprego da DF aumenta a retenção de proteínas, podendo atingir um valor de 85% (ZYDNEY, 1998; GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2004; GUADIX *et al.*, 2004).

BALDASSO *et al.* (2011a) testaram a UF associada à DF na concentração das proteínas do soro lácteo, alterando o fator de concentração volumétrico (FCV), o número de DF e a quantidade de água aplicada em cada uma. O experimento com maior FCV resultou em percentual de proteína ligeiramente maior ao final da UF tendo essa diferença acentuada com a aplicação da DF. Os autores também concluíram que menores volumes de água na DF são mais eficientes na remoção de sais e lactose do concentrado.

De acordo com LEITE *et al.* (2006) e POULIOT (2008), a UF pode ser empregada na produção de alguns tipos de queijos a partir do leite pasteurizado, principalmente os macios. O processo difere do tradicional logo no seu início, onde ocorre uma pré-concentração das proteínas do leite pasteurizado, obtendo-se o “pré-queijo” ou concentrado que é, então, convertido em queijo pelo processamento tradicional. A pré-concentração inicial leva a um aumento em torno de 15 a 20% no rendimento da produção de queijo, devido à inclusão das proteínas do soro, com conseqüente decréscimo na geração de resíduos.

CATARINO *et al.* (2013) utilizaram uma membrana de UF para concentrar leite de ovelha, para futura fabricação de queijo. Após a coagulação do leite ultrafiltrado, os autores perceberam que o coalho apresentou uma firmeza mais elevada, além de um aumento do teor de proteínas.

Os processos de microfiltração e de ultrafiltração também são empregados com o propósito de fracionar as proteínas presentes no soro. Para a utilização em alguns alimentos essa separação é atrativa, uma vez que esses componentes possuem propriedades e características distintas. A MF e a UF podem ser utilizadas em conjunto com outros processos, como troca iônica e precipitação térmica, com o intuito de aumentar a purificação das frações proteicas (ZYDNEY, 1998; BRANS *et al.*, 2004; GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2004).

BALDASSO *et al.* (2011b) estudaram a eficiência de duas membranas de MF com tamanho de poro de 0,1 μm (em módulos de geometria plana e espiral) com o intuito de obter duas frações de proteínas a partir de um concentrado proteico de soro, uma rica em β -lactoglobulina e outra rica em α -lactalbumina. A membrana plana reteve 78% das proteínas, sendo permeável às duas proteínas presentes. A membrana de módulo espiral apresentou retenção de 65% das proteínas, onde a α -La permeou preferencialmente pelo sistema. Os resultados indicaram que pode ter ocorrido agregação das proteínas durante a etapa experimental, pois houve apenas uma separação parcial dos compostos.

A nanofiltração tem sido aplicada com o objetivo de desmineralizar parcialmente o soro de leite, removendo até 84% dos sais presentes. Outro emprego deste processo envolve a concentração e parcial remoção de sais do permeado obtido na ultrafiltração, para recuperação de lactose (ROSENBERG, 1995; BRANS *et al.*, 2004; GIRALDO-ZUÑIGA *et al.*, 2004).

JÖNSSON & TRÄGARDH (1990) comentam que o permeado da UF contém lactose e sais e não pode ser utilizado diretamente. É necessário um tratamento nesta solução para obtenção de produtos que possam ser empregados na hidrólise de glicose/galactose, processos de fermentação para produção de etanol e metanol ou ainda produção de lactose.

De acordo com PAN *et al.* (2009), as membranas de NF possuem uma alta permeabilidade para sais monovalentes (por exemplo, NaCl e KCl) e compostos orgânicos de baixa massa molar, e baixa permeabilidade para compostos orgânicos de massa molar acima de 300 Da, representando uma excelente alternativa para a simultânea concentração e desmineralização do soro.

MINHALMA *et al.* (2007) estudaram a utilização da nanofiltração no reaproveitamento do soro do queijo Serpa, fabricado com leite de ovelha. A membrana permitiu a obtenção de uma corrente enriquecida em lactose, com concentração cinco vezes maior do que a concentração inicial. A corrente de permeado apresentou alta concentração de sais, sem presença de matéria orgânica, mostrando a eficiência do processo de NF na separação dos sais e da lactose.

A desmineralização do soro lácteo pelo processo de eletrodialise é o método mais seletivo e está baseado no transporte preferencial de íons monovalentes através da membrana, induzido pela diferença de potencial elétrico como força motriz (DE WIT, 2001). Comparando o desempenho de uma unidade de ED com a troca iônica na desmineralização do soro, GREITER *et al.* (2004) relataram o melhor desempenho da primeira técnica em relação à separação de íons e o menor consumo de energia na operação.

Segundo VAN REIS *et al.* (1999), a eficiência de um processo de separação com membranas pode aumentar conforme a escolha do módulo e as condições de operação; parâmetros como pH e força iônica também exercem forte influência na seletividade em sistemas de concentração de proteínas.

POULIOT *et al.* (1999) analisaram a influência da adição de soluções de 0,5 M de NaCl como forma de alterar a força iônica no processo de UF para a separação de peptídeos de uma solução de proteína hidrolisada de soro de leite. Os autores observaram que a adição do sal aumentou a permeabilidade, porém também aumentou a ocorrência de *fouling*.

BRITZ & ROBINSON (2008) comentam que a tecnologia de membranas aplicada à indústria de laticínios obteve significativos avanços nas últimas décadas, principalmente quanto à redução do custo do processo. Cada vez mais se tem buscado melhorias no design de membranas e na otimização das condições de operação, visando separações mais eficientes, fluxos mais elevados e redução de *fouling*.

2.8 Considerações finais

O soro de leite origina-se da fabricação de queijo, é gerado em grandes volumes e possui uma alta carga orgânica. No Brasil, a produção de queijos a partir de leite de ovelha aumentou nos últimos anos, devido ao seu rendimento ser consideravelmente maior em

comparação ao produzido a partir de leite de vaca, originando produtos com sabores especiais e alto valor agregado.

Apesar de ser uma fonte de proteínas e lactose de baixo custo, o soro ainda é considerado um resíduo da indústria de laticínios. Assim, anualmente, são desperdiçadas enormes quantidades destes componentes, que podem ter diversas aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica e biotecnológica, além de diminuir o impacto ambiental causado pelo seu descarte indevido.

O Brasil é um importador de soro de leite em pó, concentrados e isolados proteicos, sendo que as indústrias nacionais consideram o soro um efluente e não matéria-prima para a sua transformação em diversos produtos. Por estes motivos, torna-se atrativo o incentivo a novas tecnologias e estudos que permitam o aproveitamento do soro, diminuindo os gastos com importação e minimizando a necessidade de sistemas de tratamento de efluentes em laticínios.

Dentre as tecnologias para o processamento do soro de leite, os processos de separação com membranas têm ganhado espaço na indústria conforme os diversos estudos citados anteriormente. A ultrafiltração é uma das técnicas que utilizam membranas, permitindo a concentração e a separação dos componentes do soro, podendo obter-se concentrados e isolados proteicos. Após secagem, estes produtos apresentam elevada qualidade nutricional e funcional e facilidade de manuseio e armazenamento.

Diante do exposto neste capítulo, percebe-se a importância de conscientizar as indústrias de laticínios a diminuir os gastos com o tratamento do soro de leite, encontrando alternativas que visem a sua utilização e transformação nos mais diversos produtos, considerados matéria-prima na formulação de uma vasta gama de alimentos. Para tanto, são necessários investimentos em pesquisa e desenvolvimento de tecnologias que viabilizem o uso do soro de leite comercialmente e solucionem o problema ambiental que o seu descarte indevido pode ocasionar.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentados os equipamentos, amostras de soro de leite ovino e reagentes químicos utilizados, assim como a descrição dos métodos analíticos empregados e a metodologia empregada para a realização dos experimentos com o soro, caracterização, limpeza da membrana e determinação das propriedades funcionais.

3.1 Soro de leite de ovelha

O soro de leite de ovelha utilizado nos experimentos é do queijo tipo Feta e foi doado pela CONFER ALIMENTOS (Viamão, RS), sendo recolhido entre os meses de janeiro e junho de 2013.

As amostras de soro lácteo foram armazenadas em garrafas plásticas com capacidade de 5 L e transportadas ao laboratório logo após a sua obtenção, sendo mantidas sob refrigeração a 5 °C. Em cada lote foram feitas análises de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteínas e lactose.

3.2 Reagentes analíticos

A Tabela 3.1 apresenta os reagentes utilizados nas análises, limpeza da membrana e determinação das propriedades funcionais.

Tabela 3.1 Reagentes utilizados, fórmula molecular, grau de pureza e fornecedor.

Reagente	Fórmula molecular	Grau de pureza	Fornecedor
Experimento 3 – UF			
Cloreto de cálcio	CaCl ₂	Mínimo 96%	DINÂMICA
Análise de proteínas			
Carbonato de sódio	Na ₂ CO ₃	99,50%	FMAIA
Citrato de sódio	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O	99%	FMAIA
Folin-Ciocalteus	W + Mo + H ₃ PO ₄	Não informado	VETEC
Hidróxido de sódio	NaOH	97%	FMAIA
Sulfato de cobre	CuSO ₄ .5H ₂ O	P.A.	FMAIA
Análise de lactose			
Ácido 3,5 – dinitrossalicílico	C ₇ H ₄ N ₂ O ₇	Mínimo 99%	VETEC
Hidróxido de sódio	NaOH	97%	FMAIA
Tartarato duplo de sódio e potássio	KNaC ₄ H ₄ O ₆ .4H ₂ O	P.A.	FMAIA
Solubilidade proteica			
Ácido clorídrico	HCl	36,5 - 38%	FMAIA
Cloreto de sódio	NaCl	99 - 100,5%	VETEC
Hidróxido de sódio	NaOH	97%	FMAIA
Índice de atividade emulsificante			
Dodecil sulfato de sódio	C ₁₂ H ₂₅ SO ₄ Na	99%	MERCK
Limpeza da membrana			
Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	Mínimo 99,5%	VETEC
Hidróxido de sódio	NaOH	97%	FMAIA
Hipoclorito de sódio	NaOCl	Comercial	SUL-QUÍMICA
Padrões moleculares			
Albumina do soro	BSA	Mínimo 98%	SIGMA-ALDRICH
Lactose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ .H ₂ O	P.A.	FMAIA

3.3 Processo de UF

A membrana de UF, o equipamento utilizado para a concentração das proteínas do soro de leite, a metodologia experimental aplicada e o protocolo de limpeza estão apresentados nesta seção.

3.3.1 Membrana de UF

A membrana utilizada no processo de UF é fabricada pela KOCH MEMBRANE SYSTEMS. O módulo da membrana é do tipo espiral com massa molar de corte de 10 kDa, feita de polietersulfona e área de permeação de 0,28 m². A membrana pode operar em faixas de pH de 1,8 a 11 e a temperatura máxima de 55 °C. O módulo é composto por um envelope de membrana de polietersulfona com espaçadores de polipropileno, enrolados em um tubo coletor perfurado, para o qual o permeado escoar. Na Figura 3.1 está apresentada uma fotografia da membrana espiral de UF.



Figura 3.1 Fotografia da membrana espiral de UF.

3.3.2 Equipamento

O processo de UF foi realizado numa planta piloto WGM-KOCH PROTOSEP IV localizada no Laboratório de Tecnologia em Engenharia Química (LATEQ) do Departamento de Engenharia Química (DEQUI) da UFRGS. A unidade piloto de UF está esquematizada na Figura 3.2.

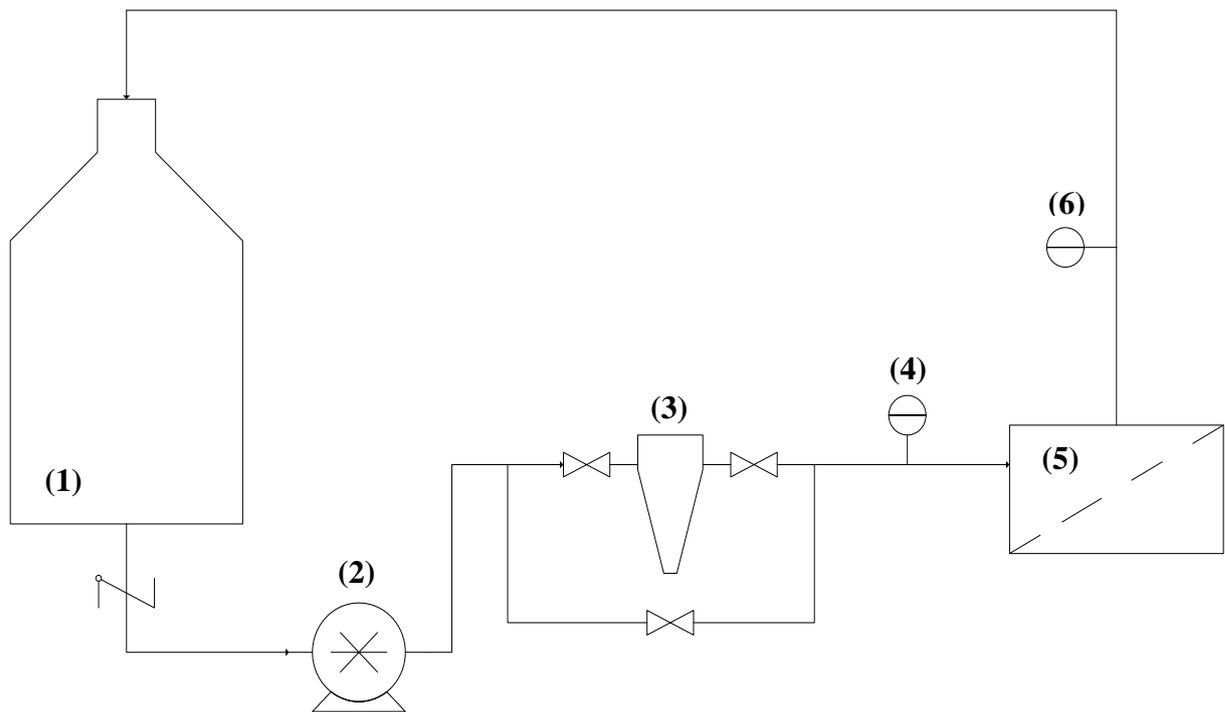


Figura 3.2 Representação esquemática da unidade piloto de UF.

A unidade piloto possui os seguintes equipamentos, conforme a Figura 3.2.

- Tanque de alimentação (1) de aço inoxidável com capacidade de 12 L; possui uma serpentina de aquecimento ligada a um banho termostático, marca HAAKE, modelo DC 30. Uma fotografia do tanque com o banho termostático acoplado está apresentada na Figura 3.3.



Figura 3.3 Fotografia do tanque de alimentação com o banho termostático acoplado.

- Bomba de deslocamento positivo (2), que transporta o fluido através da tubulação, marca FLUID-O-TECH, conforme a Figura 3.4.

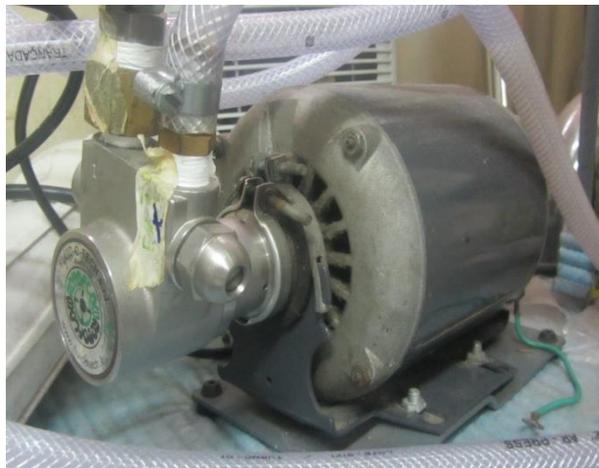


Figura 3.4 Fotografia da bomba de deslocamento positivo.

- Pré-filtro de cartucho (3), fabricado pela CUNO, constituído de uma carcaça de PVC e elemento filtrante de polipropileno com tamanho de poro nominal de 1 μm , conforme a Figura 3.5; tem o objetivo de reter as impurezas em suspensão da corrente de alimentação, evitando o entupimento da membrana de UF e, conseqüentemente, aumentando a sua durabilidade.



Figura 3.5 Fotografia do pré-filtro de cartucho.

- Manômetros (4) e (6) de aço inoxidável 316, que estão instalados em um tê Sanitech com uma câmara com diafragma, que evita contato do manômetro com o fluido de processo. Os manômetros possuem escala de 0 a $10,5 \text{ kgf.cm}^{-2}$;
- Carcaça para módulo de membrana espiral (5), com 30 cm de comprimento e 5,8 cm de diâmetro, feita em aço inoxidável 316, conforme a Figura 3.6.



Figura 3.6 Fotografia da carcaça do módulo de membrana espiral.

3.3.3 Metodologia experimental

Previamente aos experimentos de ultrafiltração com o soro lácteo, realizou-se a compactação da membrana para que não ocorressem variações do fluxo permeado durante o processo. A compactação foi realizada através da recirculação de água destilada com pressão transmembrana de 3 bar e temperatura de 25 °C e o fluxo permeado foi medido a cada 15

minutos. Considera-se que a membrana está compactada quando as medidas de fluxo permeado de água se tornam constantes com o tempo.

Em seguida, foi determinada a permeabilidade hidráulica da membrana, através da medição do fluxo permeado de água destilada para diferentes pressões transmembrana (entre 1 e 5 bar). A permeabilidade hidráulica corresponde ao coeficiente angular da equação da reta obtida no gráfico do fluxo permeado versus a pressão de operação. O teste de permeação com água também é útil para a avaliação do estado das membranas após a passagem da corrente de alimentação, no caso o soro de leite.

As medidas de fluxo permeado foram realizadas através do método volumétrico direto. O método consiste em calcular os dados de fluxo a partir da medida do tempo que o permeado leva para preencher o volume fixo de uma proveta, de acordo com a Equação 2.1.

Após compactação e determinação da permeabilidade hidráulica da membrana, foram realizados testes de permeação com o soro, da mesma forma que com a água, em diferentes pressões transmembrana. Antes de cada experimento de ultrafiltração, o soro foi filtrado em peneira para a retirada de partículas em suspensão e pequenos blocos de caseína. Mediu-se o fluxo permeado em função da pressão e, a partir destes dados, determinou-se o valor do fluxo crítico, do fluxo limite e da pressão de operação para todos os futuros experimentos de UF.

Nos experimentos de concentração das proteínas do soro através do processo de UF, a pressão transmembrana foi mantida em 3 bar, condição determinada a partir do teste de permeação com o soro, e a temperatura em 50 °C, abaixo da temperatura máxima suportada pela membrana.

A temperatura de operação escolhida foi a mesma utilizada em experimentos de trabalhos anteriores (BALDASSO, 2011), tendo em vista a temperatura de saída do soro do processo de fabricação do queijo (60 °C) e a temperatura máxima admissível pela membrana (55 °C). Além do mais, esta temperatura é adequada para o processamento do soro de leite, onde a viscosidade dos solutos apresenta um baixo valor. Temperaturas superiores não são indicadas, pois podem ocasionar crescimento de microrganismos e desnaturação das proteínas, além de danos ao material da membrana (ATRA *et al.*, 2005).

Foram realizados três experimentos, com repetição, conforme descritos a seguir.

Experimento 1: primeiramente foram adicionados ao tanque de alimentação aproximadamente 2,3 L de soro para retirada da água e preenchimento do volume morto do sistema. A seguir, foram adicionados 12 L de soro e a solução foi concentrada até um volume final de 1,3 L no tanque (FCV=4); ao final da etapa de UF, 2 DF foram realizadas com volume de 1,3 L em cada etapa.

Experimento 2: em adição ao volume morto do sistema de 2,3 L preenchidos com água foram adicionados ao tanque de alimentação 4,9 L de água e 7,2 L de soro, totalizando 14,3 L, e a solução foi concentrada até um volume final de 1,3 L no tanque (FCV=4).

Experimento 3: primeiramente foram adicionados ao tanque de alimentação aproximadamente 2,3 L de soro para retirada da água e preenchimento do volume morto do sistema. A seguir, foram adicionados 12 L de soro e 0,5 L de uma solução de 60 g.L^{-1} de cloreto de cálcio (CaCl_2), para alterar a força iônica do meio, de modo a aumentar em aproximadamente 20% o valor da condutividade elétrica, e a solução foi concentrada até um volume final de 1,4 L no tanque (FCV=4); ao final da etapa de UF, 2 DF foram realizadas com volume de 1,4 L em cada etapa.

Nos primeiros 10 minutos o sistema operou em reciclo total, ou seja, as correntes permeado e concentrado retornavam ao tanque de alimentação, para homogeneizar a solução. A seguir, apenas a corrente concentrado retornava ao tanque e a corrente permeado era recolhida até o que o fator de concentração desejado ou permitido pelo equipamento fosse atingido. O fluxo permeado e o volume de permeado foram medidos a cada 15 min. Durante a etapa de UF, amostras de 20 mL de concentrado e permeado foram recolhidas em tubos *falcon* a cada 30 minutos para análises de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteínas e lactose. Nos experimentos que fizeram uso da DF, amostras de 20 mL de concentrado e permeado foram recolhidas apenas ao final de cada etapa de DF.

As retenções de sólidos totais, proteínas e lactose foram calculadas ao longo de todos os três experimentos, conforme a Equação 2.3.

Ao final de cada experimento, antes do procedimento de limpeza, foram realizados testes de permeação com água destilada no sistema para pressões variando entre 1 e 5 bar, para avaliação da redução de fluxo permeado e a consequente diminuição do desempenho da membrana.

A tendência ao *fouling* do sistema foi calculada comparando a permeabilidade à água destilada antes e depois da UF, como sugerido por WU *et al.* (2007) e utilizando a Equação 2.5.

3.3.4 Limpeza da membrana

Um procedimento de limpeza, adaptado de BALDASSO (2011), foi utilizado para reconstituir as características de fluxo e retenção da membrana e impedir o desenvolvimento de microrganismos no sistema. A limpeza química realizada ao final de cada experimento constituiu-se nas seguintes etapas, conforme descrito a seguir.

1. **Enxágue do sistema com água destilada:** após a remoção do concentrado do sistema, água destilada entre 45 e 50 °C e 0,5 bar na entrada, em pequenos volumes, foi adicionada e rapidamente recirculada. Este procedimento foi efetuado de 6 a 7 vezes com o objetivo de remover a solução residual do processo de concentração de uma maneira rápida e eficiente. A seguir foi adicionada água destilada, nas mesmas condições descritas acima, porém com intervalos maiores de recirculação. Este procedimento é realizado até o momento em que o permeado se apresente visualmente limpo.
2. **Limpeza alcalina:** o sistema é preenchido com água destilada ajustando-se o pH entre 10 e 10,5 com hidróxido de sódio (NaOH) na temperatura de aproximadamente 50 °C; esta solução é recirculada no sistema na ausência de pressão manométrica por 15 a 20 minutos.
3. **Enxágue com água destilada:** água é recirculada no sistema por 20 minutos para remoção da solução alcalina, mantendo-se a temperatura de 50 °C e na ausência de pressão manométrica.
4. **Limpeza cloro-alcalina:** o sistema é preenchido com água destilada, ajustando-se o pH entre 10 e 10,5 com hidróxido de sódio (NaOH) e adicionando-se de modo controlado hipoclorito de sódio (NaOCl) até, no máximo, 200 ppm de cloro.
5. **Enxágue com água destilada:** água é recirculada no sistema por 20 minutos para remoção da solução cloro-alcalina, mantendo-se a temperatura de 50 °C e na ausência de pressão manométrica.

6. **Limpeza ácida:** o sistema é preenchido com água destilada, adicionando-se ácido cítrico até atingir pH 2. Esta solução é mantida no sistema por 10 minutos na temperatura de 50 °C a uma pressão de 0,5 a 1,5 bar.
7. **Enxágue com água destilada:** recirculação por 20 minutos de água para remoção da solução ácida.

Ao final da limpeza foram realizadas medidas do fluxo permeado através da circulação de água destilada no sistema em pressões variando entre 1 e 5 bar, com o objetivo de verificar se as condições iniciais haviam sido restituídas.

3.4 Liofilização dos concentrados obtidos pelo processo de UF

Os concentrados obtidos nas etapas de ultrafiltração foram submetidos ao processo de liofilização; estes experimentos foram realizados em liofilizador (marca TERRONI, modelo LS 3000-B), localizado no Laboratório de Tecnologia e Processamento de Alimentos (LATEPA) do Departamento de Engenharia Química (DEQUI). Previamente à liofilização, os concentrados proteicos foram congelados em ultrafreezer (marca TERRONI, modelo MVF 374) a -40 °C e colocados nos compartimentos do equipamento sob vácuo. O processo de liofilização levou, em média, 72 horas para cada amostra.

3.5 Métodos analíticos

As características do soro *in natura* e das amostras de concentrado e permeado do processo de UF de cada um dos experimentos foram analisadas conforme descrito nos procedimentos a seguir. As análises foram realizadas em triplicata, exceto a quantificação de sólidos totais em função da pequena quantidade de amostra de concentrado e permeado. Maiores detalhes de cada método estão apresentados no APÊNDICE A.

3.5.1 Condutividade elétrica

As medidas de condutividade elétrica foram realizadas em condutivímetro DIGIMED DM-32, realizando-se leituras diretamente na amostra. O eletrodo utilizado é do tipo DMC-010M e $K=1 \text{ cm}^{-1}$. O equipamento foi calibrado a cada operação com solução padrão de condutividade elétrica de $1412 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a 25 °C, conforme instruções do fabricante.

3.5.2 pH

As medidas de pH foram determinadas em pHmetro DIGIMED DM-22, realizando-se leituras diretamente na amostra, a uma temperatura de 25 °C. O eletrodo utilizado é do tipo DME-CV1. O equipamento foi calibrado a cada operação com soluções padrão de pH 4 e 6,86, conforme instruções do fabricante.

3.5.3 Sólidos totais

A quantidade de sólidos totais (ST) das amostras foi determinada pelo método gravimétrico, conforme apresentado pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA, 1981), através de secagem em estufa marca DE LEO, a 85 °C. O princípio deste método é a determinação do material obtido após a evaporação da água e das substâncias voláteis da amostra analisada.

3.5.4 Lactose

O método DNS (MILLER, 1959) é um método colorimétrico indicado para a determinação de açúcares redutores; baseia-se na redução do ácido 3,5-dinitrosalicílico a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico resultando em um complexo de coloração laranja e máxima absorção da luz visível no comprimento de onda de 570 nm.

A determinação da concentração de lactose através do método do ácido dinitrosalicílico (DNS) foi realizada em espectrofotômetro PRÓ-ANÁLISE UV-1600, em comprimento de onda de 570 nm, utilizando uma curva padrão de lactose monohidratada, em concentrações variando entre 0,5 e 5,0 g.L⁻¹.

3.5.5 Proteína

O método de Lowry (LOWRY *et al.*, 1951) é um método colorimétrico para estimativa quantitativa de proteínas totais, sendo a metodologia mais utilizada com este fim. O método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin-Ciocalteu), que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador cobre (II), e produz um composto com absorção máxima em 750 nm, de coloração azul.

A quantificação das proteínas através do método de Lowry foi realizada em espectrofotômetro PRÓ-ANÁLISE UV-1600, em comprimento de onda de 750 nm, utilizando

uma curva padrão de albumina de soro bovina (BSA), em concentrações variando entre 0,05 e 0,5 g.L⁻¹.

3.6 Propriedades funcionais

Depois de liofilizados, os concentrados proteicos foram submetidos à análise de suas propriedades funcionais, em triplicata. Maiores detalhes de cada método estão apresentados no APÊNDICE B.

3.6.1 Solubilidade proteica

A solubilidade proteica foi determinada através do método de MORR *et al.* (1985), em valores de pH entre 2 e 10 e temperatura ambiente. Uma quantidade de 500 mg de concentrado foi agitada em uma solução de NaCl 0,1 M, o pH foi ajustado utilizando HCl 0,1 N ou NaOH 0,1 N e, em seguida, as amostras foram centrifugadas a 6.000 rpm em centrífuga marca CIENTEC, modelo CT-5000R. O sobrenadante foi filtrado e a concentração de proteínas foi determinada pelo método de Lowry.

3.6.2 Índice de atividade emulsificante

O método proposto por PEARCE & KINSELLA (1978) foi utilizado para a determinação do índice de atividade emulsificante dos concentrados proteicos. Os concentrados e o óleo de soja foram homogeneizados em liquidificador e a uma alíquota da emulsão foi adicionado a um determinado volume de dodecil sulfato de sódio (SDS) 0,1%. A absorvância da solução foi medida em espectrofotômetro PRÓ-ANÁLISE UV-1600, em comprimento de onda de 500 nm.

3.6.3 Expansão e estabilidade espumante

A expansão e estabilidade de espuma foram calculadas pelo método proposto por PATEL *et al.* (1988) através da agitação em liquidificador de uma solução de concentrado proteico e a medida do volume de espuma formado.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados da caracterização do soro de leite de ovelha, dos experimentos de concentração e purificação das suas proteínas por ultrafiltração, onde foram avaliadas a tendência ao *fouling* e a eficiência da limpeza química. Além disso, também são apresentados os resultados da determinação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos obtidos em cada etapa.

4.1 Caracterização do soro de leite de ovelha

Em cada amostra de soro de leite de ovelha *in natura* de queijo do tipo Feta utilizada nos experimentos de UF foram feitas análises de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, lactose e proteína. Os valores médios encontrados para cada um destes parâmetros são mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, lactose e proteína do soro de leite de ovelha *in natura* utilizado nos experimentos.

Amostra	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
1	5,60 ± 0,03	5,72 ± 0,02	73,4 ± 0,1	47,9 ± 0,4	18,4 ± 0,1
2	5,89 ± 0,01	5,16 ± 0,01	71,8 ± 0,2	48,3 ± 0,3	11,5 ± 0,3
3	5,09 ± 0,03	6,23 ± 0,02	76,0 ± 0,1	52,2 ± 0,6	14,8 ± 0,4
4	6,92 ± 0,02	5,07 ± 0,03	75,6 ± 0,2	46,3 ± 0,6	19,1 ± 0,1
5	6,43 ± 0,04	5,92 ± 0,04	73,9 ± 0,1	49,4 ± 0,4	14,5 ± 0,2
Valor médio	5,99 ± 0,55	5,62 ± 0,40	74,1 ± 1,3	48,8 ± 1,6	15,7 ± 2,5

Comparando com os dados referentes à caracterização de soro de leite bovino para o soro de queijo Mozzarella (REKTOR & VATAI, 2004), para o soro de queijo Edam (DIBLÍKOVÁ *et al.*, 2013) e para o soro de queijo Cottage (NGUYEN *et al.*, 2003), o soro de leite ovino utilizado neste trabalho apresenta maior concentração de proteínas e lactose.

Dados de caracterização de soro de leite de ovelha são escassos na literatura; as análises realizadas no trabalho de PHILIPPOPOULOS & PAPADAKIS (2001) com soro de leite de queijo Feta apresentaram valores de sólidos totais de $69,8 \text{ g.L}^{-1}$, 13 g.L^{-1} de proteínas, $50,7 \text{ g.L}^{-1}$ de lactose e pH de 6,32, ressaltando, assim, variações físico-químicas encontradas nas diversas amostras de soro e nos dados citados na literatura. O valor médio de pH encontrado indica que podemos classificar o soro de leite de queijo Feta como soro doce.

A caracterização do teor de proteínas apresentou um desvio alto, mostrando diferenças de composição em cada lote de soro utilizado. Foi possível observar que algumas amostras possuíam alguns pequenos blocos e partículas insolúveis de caseína, resultando em uma concentração de proteínas maior e, conseqüentemente, alterando também a composição de sólidos totais. E, também, a composição do leite e, conseqüentemente, do soro de leite de ovelha varia fortemente com a estação do ano, estágio de lactação, idade e alimentação do animal; devido a estes fatores e ao fato de que o soro foi recolhido em diferentes épocas do ano, ocorreram diferenças de composição entre as amostras de soro utilizadas em cada experimento.

4.2 Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha

Nesta seção são discutidos os resultados do teste de avaliação do fluxo permeado em função da pressão transmembrana para a água destilada e o soro de leite de ovelha pelo processo de ultrafiltração utilizando uma membrana de módulo espiral com MMC de 10 kDa. Em seguida, são apresentados os resultados dos três experimentos de concentração do soro de leite por UF.

4.2.1 Fluxo permeado em função da pressão transmembrana

A Figura 4.1 apresenta os valores de fluxo permeado em função da pressão transmembrana para o teste de permeação com a água destilada e o soro de leite de ovelha *in natura* pelo processo de UF, na temperatura de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ e taxa de escoamento de 490 L.h^{-1} . Foram testados valores de pressão entre 1 e 5 bar.

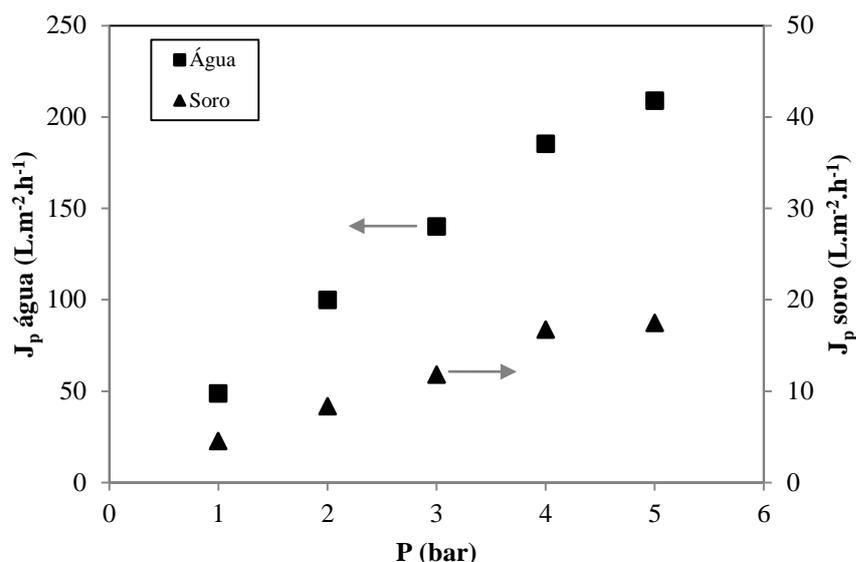


Figura 4.1 Fluxos permeados com água destilada e soro de leite de ovelha *in natura* em função da pressão transmembrana na temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h⁻¹.

Conforme os resultados apresentados em referência ao teste de permeação com água é possível observar que o fluxo permeado de água aumenta linearmente com o aumento da pressão. Com base no experimento representado na Figura 4.1, a permeabilidade hidráulica, representada pelo coeficiente angular da reta, é 40,5 L.m⁻².h⁻¹.bar⁻¹, sendo que a curva apresenta um comportamento linear.

Segundo o fabricante, para a pressão de 2 bar, o valor do fluxo permeado de água deve ser em torno de 80 L.m⁻².h⁻¹. De acordo com os dados da Figura 4.1, as medições mostram que o fluxo está dentro do valor previsto para essa pressão (99,8 L.m⁻².h⁻¹), apontando que a membrana não sofreu alterações significativas na sua estrutura após uso em outras aplicações.

O teste de permeação com o soro em diferentes pressões transmembrana (de 1 a 5 bar) foi realizado com o intuito de determinar o valor do fluxo crítico e do fluxo limite, para posterior determinação da pressão de operação dos experimentos de concentração do soro de leite.

Através da análise dos dados da Figura 4.1, observa-se que, assim como nos experimentos com água, o fluxo permeado do soro aumenta com o aumento da pressão. Porém, diferentemente do que ocorre com a água, o comportamento do fluxo permeado com o soro não é linear; acima da pressão de 4 bar, este parâmetro não influencia mais no fluxo, e este atinge seu valor limite e torna-se praticamente constante (16,7 L.m⁻².h⁻¹ para a pressão de 4 bar e 17,4 L.m⁻².h⁻¹ para a pressão de 5 bar).

Em pressões de até 3 bar, o fluxo permeado ainda encontra-se linear, ou seja, nessa região está o valor do fluxo crítico, equivalente a $11,8 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$. Além disso, o experimento com o soro resulta em valores de fluxo permeado mais baixos em comparação com a água, para mesmos valores de pressão.

Estes resultados estão de acordo com os apresentados nos trabalhos de MACEDO *et al.* (2011) para soro de leite ovino, REKTOR & VATAI (2004), ATRA *et al.* (2005), CHOLLANGI & HOSSAIN (2007), ALMÉCIIA *et al.* (2009) e BALDASSO *et al.* (2011a) para soro de leite bovino, CATARINO *et al.* (2013) para leite ovino e ATRA *et al.* (2005) para leite bovino. De acordo com ATRA *et al.* (2005), o fluxo torna-se independente da pressão, pois as moléculas de proteínas se depositam na superfície da membrana, formando uma camada gel, causando os fenômenos de *fouling* e polarização por concentração; essa camada causa uma resistência adicional ao fluxo permeado.

A partir dos resultados obtidos e avaliados neste teste, para todos os experimentos de concentração escolheu-se a pressão de operação de 3 bar, já que essa condição proporciona valores de fluxo permeado abaixo do fluxo limite e o seu comportamento ainda apresenta-se linear (abaixo do fluxo crítico).

4.2.2 Experimentos de concentração do soro de leite de ovelha

Os experimentos de concentração do soro de leite de ovelha foram conduzidos até que o processo atingisse o fator de concentração volumétrico de 4, na temperatura de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ e taxa de escoamento de $490 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$. Na Figura 4.2 está apresentada uma fotografia para fins de comparação entre o soro de leite de ovelha *in natura*, o concentrado e o permeado após o experimento de concentração.

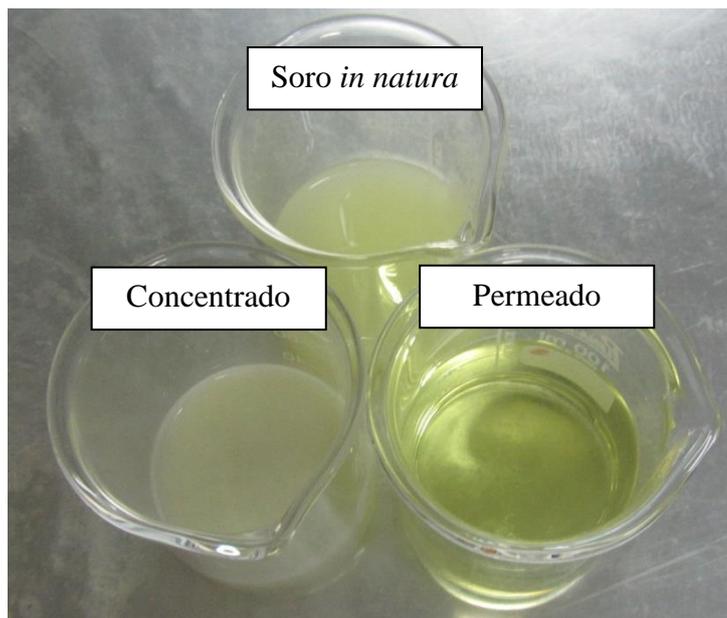


Figura 4.2 Fotografia das amostras de soro de leite de ovelha *in natura*, concentrado e permeado após o experimento de concentração.

Na Figura 4.2 é possível notar a diferença na cor das três amostras. O soro *in natura* apresenta-se mais amarelo em comparação ao concentrado, enquanto que este se apresenta mais branco. Este fato é devido à remoção de lactose do concentrado, comprovado pela cor amarela do permeado.

Os dados de fluxo permeado referentes ao experimento 1 durante a etapa de UF podem ser observados na Figura 4.3.

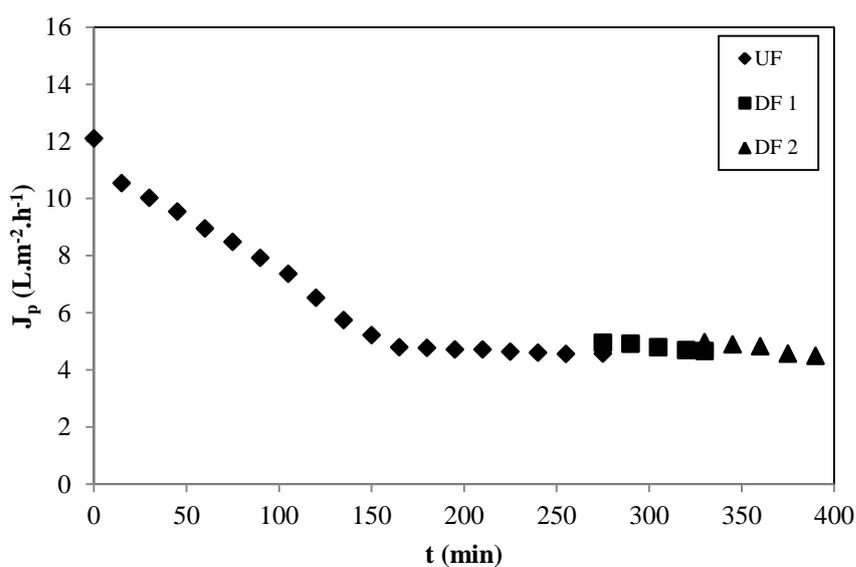


Figura 4.3 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 1. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h⁻¹.

Conforme apresentado na Figura 4.3, ao iniciar o processo de UF, o fluxo permeado do experimento 1 é de $12,1 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$; ao final, esse valor cai para $4,5 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, onde o processo de UF teve duração de 275 minutos. Com o acréscimo de água para a primeira DF, o fluxo aumentou para $4,9 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ e ao encerrar o processo em 55 minutos o fluxo havia diminuído para $4,6 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. Após o acréscimo de água para a segunda DF, o fluxo subiu novamente para $5,0 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ e ao final desta etapa, após 60 minutos, o fluxo se encontra em $4,5 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$. O tempo total do experimento 1 foi de 390 minutos.

Os dados de fluxo permeado referentes ao experimento 2 durante a etapa de UF podem ser observados na Figura 4.4.

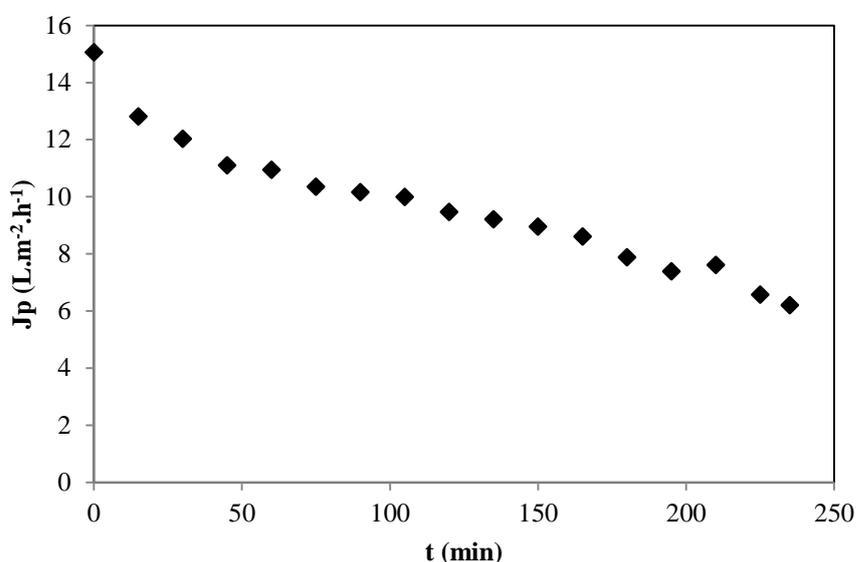


Figura 4.4 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 2. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e taxa de escoamento de 490 L.h^{-1} .

Observa-se na Figura 4.4 que em comparação com o fluxo permeado inicial do primeiro experimento (Figura 4.3), o fluxo para o experimento 2 é um pouco maior, sendo $15,0 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$; o aumento desse valor é devido à diluição do soro em 50 %. O tempo total do processo foi de 235 minutos, onde o fluxo permeado chegou a $6,2 \text{ L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$.

A diluição do soro de leite ocasiona maiores fluxos, já que concentrações menores de proteínas levam a depósitos de partículas menores e alteram as interações entre a solução e a membrana. NIGAM *et al.* (2008) realizaram testes de fluxo permeado e *fouling* em soluções de proteínas com diferentes concentrações (1 e 2%) e perceberam que o aumento da concentração resultou em redução significativa do fluxo, além de causar maior formação de depósitos sobre a membrana. De acordo com CHOLLANGI & HOSSAIN (2007), a presença de

proteínas diminui a força motriz do processo, aumentando o potencial de *fouling* e diminuindo o fluxo permeado.

Os dados de fluxo permeado referentes ao experimento 3 durante a etapa de UF podem ser observados na Figura 4.5.

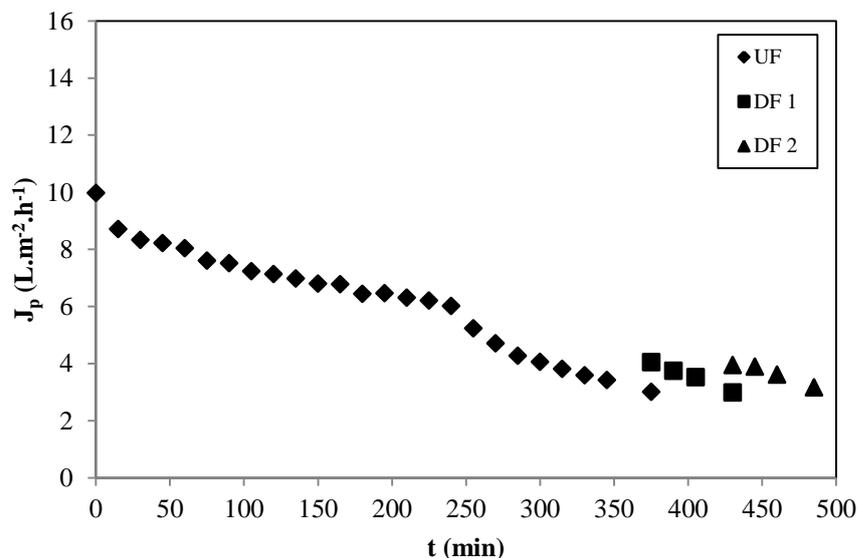


Figura 4.5 Fluxo permeado médio em função do tempo para o experimento 3. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e taxa de escoamento de 490 L.h⁻¹.

Em relação ao experimento 3, cujos resultados estão apresentados na Figura 4.5, observa-se que o fluxo permeado inicial se encontra na faixa de 10,0 L.m⁻².h⁻¹, sendo menor do que no experimento 1, sem a adição de CaCl₂, e após 375 minutos, ao final da UF, esse valor diminui para 3,0 L.m⁻².h⁻¹. Assim como no primeiro experimento, ao adicionar água para a etapa de DF, o fluxo permeado aumenta. Na primeira DF, o fluxo permeado passa a ser 4,1 L.m⁻².h⁻¹ e após 55 minutos cai para 3,0 L.m⁻².h⁻¹; na segunda DF, esse valor aumenta para 3,9 L.m⁻².h⁻¹ e após 55 minutos diminui para 3,2 L.m⁻².h⁻¹. O tempo total do experimento 3 foi de 485 minutos.

Em todos os experimentos ocorreu queda do fluxo permeado ao longo do tempo de operação do processo; este fato já era esperado, uma vez que os componentes do soro lácteo, principalmente as proteínas que são retidas, se acumulam na superfície da membrana e, como consequência, alteram as características de permeabilidade e retenção a diferentes moléculas. Resultados semelhantes foram encontrados por REKTOR & VATAI (2004), ALMÉCIJA *et al.* (2007), CHOLLANGI & HOSSAIN (2007) e BALDASSO *et al.* (2011a).

No entanto, observou-se que com a adição de solução salina este decaimento foi maior que nos demais casos. Resultados encontrados na literatura confirmam que ao acrescentar uma solução salina ao soro de leite, leite ou soluções de proteínas ocasiona um aumento da força iônica da solução e conseqüente queda do fluxo permeado durante o processamento por ultrafiltração (POULIOT *et al.*, 1999; RABILLER-BAUDRY *et al.*, 2005; ZULKALI *et al.*, 2005).

De acordo com os estudos de POULIOT *et al.* (1999), a adição de sal e posterior aumento da força iônica do meio leva a uma maior pressão osmótica da solução e conseqüente diminuição do fluxo permeado.

Segundo CHERYAN (1986), a presença de sais altera a força iônica da solução, afetando a conformação e a dispersão das proteínas e, conseqüentemente, a ocorrência de *fouling*. Uma maneira de controlar o *fouling* é através do ajuste de pH, pois este parâmetro controla a solubilidade dos sais. Conforme LIM & MOHAMMAD (2010), a adição de sais em soluções proteicas aumenta o fluxo permeado em pH próximo ao ponto isoelétrico das proteínas, porém tem um efeito contrário em pH abaixo ou acima do ponto isoelétrico.

O declínio do fluxo permeado ao longo do tempo de processo é causado por diversos fatores, tais como polarização por concentração, bloqueio de poros, adsorção e formação de camada gel, que ocasionam resistências extras ao transporte da solução pela membrana. A extensão destes fatores depende da corrente de alimentação e do tipo de membrana empregada. Conforme NOBLE & STERN (1995), a presença de *fouling* é um fator limitante dos processos de separação com membranas, afetando fortemente o seu desempenho. Economicamente, este fenômeno acarreta em perdas de produtividade em virtude da menor eficiência do processo, além de representar custos com materiais de limpeza.

O fluxo permeado apresenta uma queda bastante acentuada nos primeiros minutos de operação e com o passar do tempo, ainda ocorre diminuição do fluxo, porém em dimensões menores. Em determinado período de operação, o fluxo torna-se praticamente constante. NIGAM *et al.* (2008) expõem que a diminuição inicial do fluxo é decorrente da polarização por concentração, geralmente inevitável nos processos com membranas, e após um determinado período de tempo, a queda do fluxo deve-se ao depósito de partículas sobre a membrana.

A Figura 4.6 mostra uma comparação do comportamento do fluxo permeado em função do fator de concentração volumétrico (FCV) na etapa de UF para os três experimentos realizados.

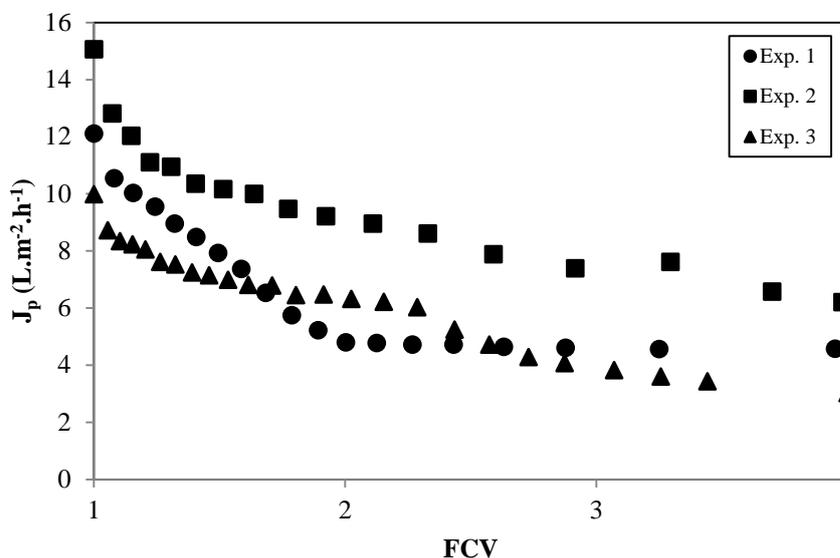


Figura 4.6 Fluxo permeado médio em função do fator de concentração volumétrico para os experimentos 1, 2 e 3 na etapa de UF. Condições de operação: pressão de 3 bar, temperatura de 50 °C e vazão de alimentação de 490 L.h⁻¹.

É possível observar que o fluxo permeado diminui com o fator de concentração volumétrico nos 3 experimentos, devido à ação combinada do aumento da viscosidade da solução e dos fenômenos de *fouling* e polarização por concentração (ROMÁN *et al.*, 2009). A queda é mais acentuada em FCV menores e, em determinado ponto, em FCV maiores, o fluxo torna-se praticamente constante. Segundo ATRA *et al.* (2005), em FCV maiores há um depósito mais denso da camada que reduz o fluxo permeado até que ele alcance a condição de estado quase estacionário.

4.2.3 pH e condutividade elétrica

A medição do pH tem como objetivo avaliar possíveis degradações do soro de leite ao longo do processamento e também se a separação de componentes causa mudanças de pH (BALDASSO *et al.*, 2011a). Através da análise da Figura 4.7, onde estão apresentados os valores de pH das amostras de concentrado e permeado dos experimentos 1, 2 e 3. Percebe-se que o soro não sofreu alterações durante os experimentos, uma vez que o pH permaneceu constante tanto no concentrado quanto no permeado para os três experimentos.

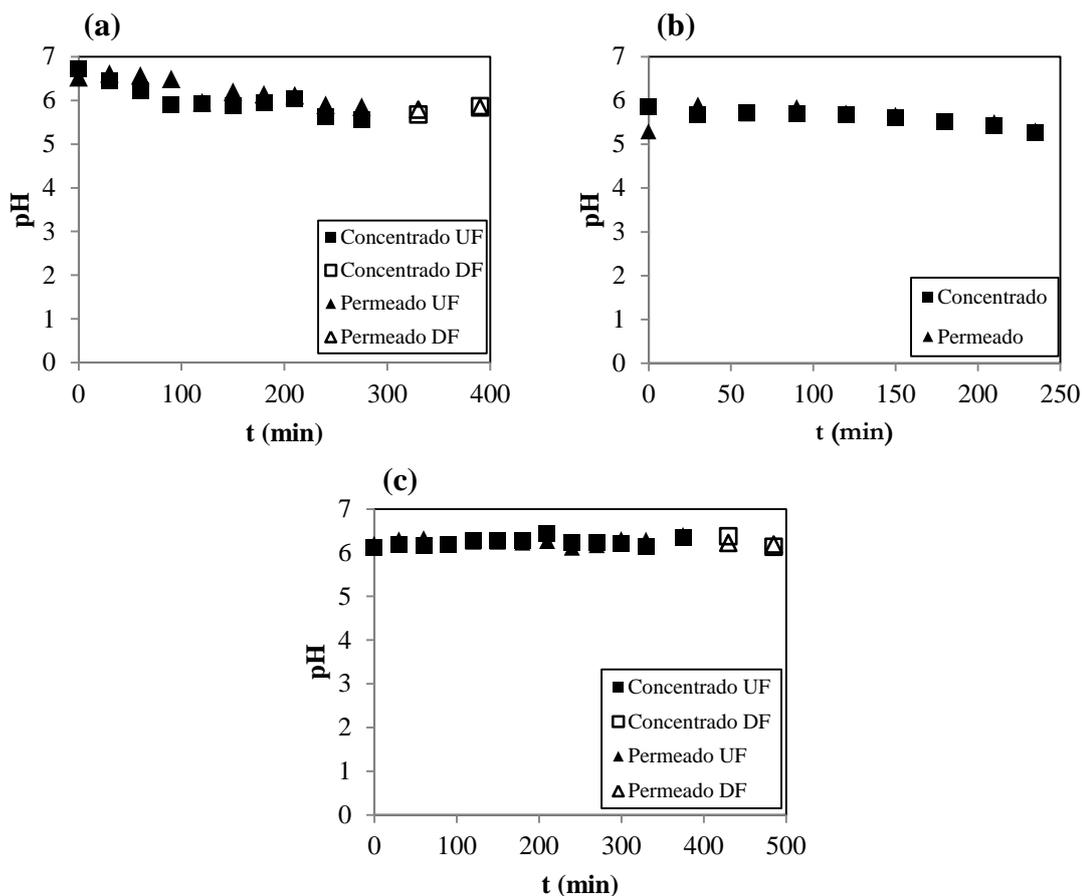


Figura 4.7 Valores de pH das amostras de concentrado e permeado: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.

A medida de condutividade elétrica é uma medida indireta da concentração de íons na solução; a maioria dos sais compreende frações de sódio e cálcio dissolvidos. À medida que o processo avança, a condutividade elétrica do concentrado diminui devido à passagem de sais para o permeado, uma vez que estes são completamente permeáveis pela membrana. Nas etapas de DF, a condutividade elétrica diminui em função do acréscimo de água e consequente diluição das amostras. Os valores de condutividade elétrica referentes a cada um dos experimentos estão apresentados na Figura 4.8.

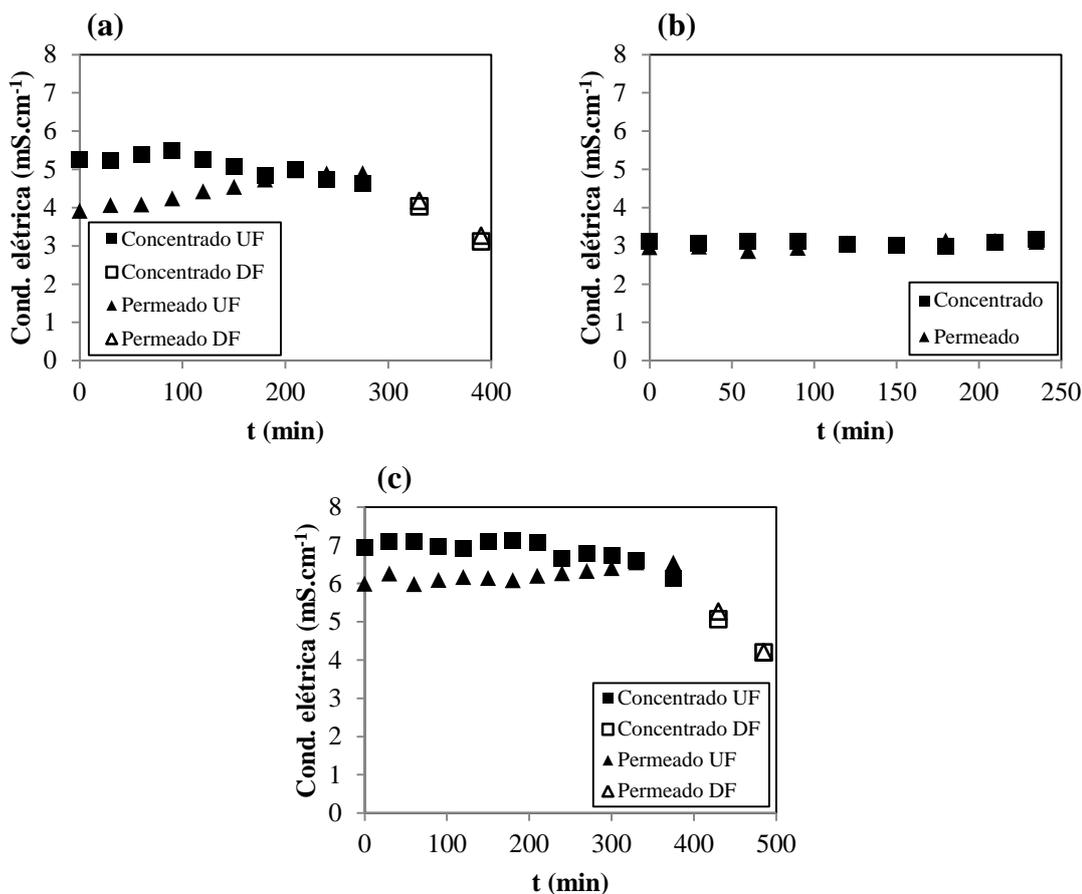


Figura 4.8 Valores de condutividade elétrica das amostras de concentrado e permeado: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.

Vale ressaltar que a condutividade elétrica inicial das amostras é mais elevada no experimento 3 em função do acréscimo da solução de CaCl₂ que aumentou este parâmetro em aproximadamente 20% em relação ao experimento 1. No experimento 2, a condutividade elétrica é menor devido à diluição inicial do soro.

4.2.4 Teor de sólidos totais

A concentração de sólidos totais aumentou com o tempo em todos os experimentos durante a UF, tanto na corrente concentrado quanto na corrente permeado. Os valores referentes a cada experimento são apresentados a seguir.

Conforme mostra a Figura 4.9, durante a UF do experimento 1, o teor de sólidos totais no concentrado aumenta de 82,0 g.L⁻¹ para 128,1 g.L⁻¹. Ao final da primeira etapa de DF, a concentração é reduzida para 115,1 g.L⁻¹ e, ao final da segunda etapa de DF, para 104,0 g.L⁻¹. O teor de ST é reduzido na DF devido à remoção de lactose e sais para o permeado. No

permeado também ocorre o aumento da concentração de ST durante a UF (49,9 g.L⁻¹ para 60,1 g.L⁻¹) e ao final da segunda DF esse valor cai para 43,0 g.L⁻¹ em função da diluição.

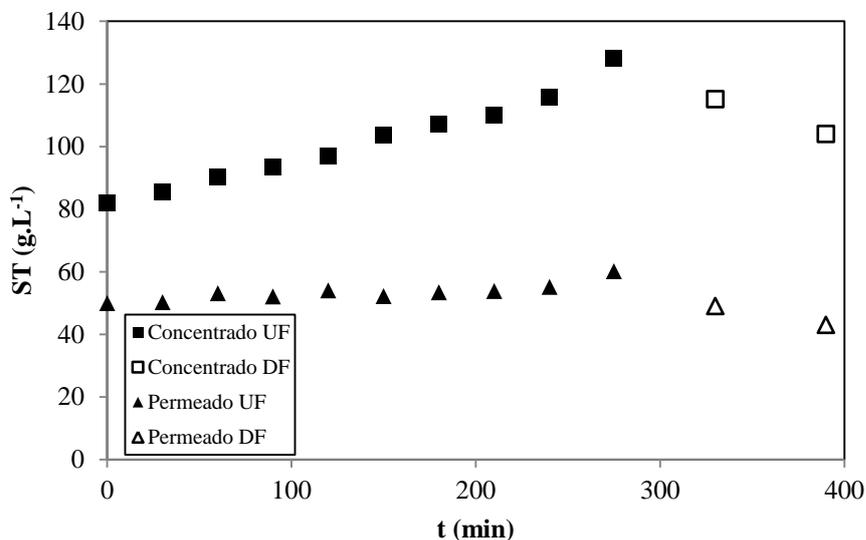


Figura 4.9 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.

A Figura 4.10 apresenta os valores de ST referentes ao segundo experimento. O teor de sólidos totais inicial é mais baixo em comparação ao experimento anterior (33,5 g.L⁻¹) devido à diluição em 50 % do soro de leite e sua concentração final é de 91,0 g.L⁻¹. Em relação ao permeado, a concentração também aumenta, de 21,7 g.L⁻¹ para 46,2 g.L⁻¹.

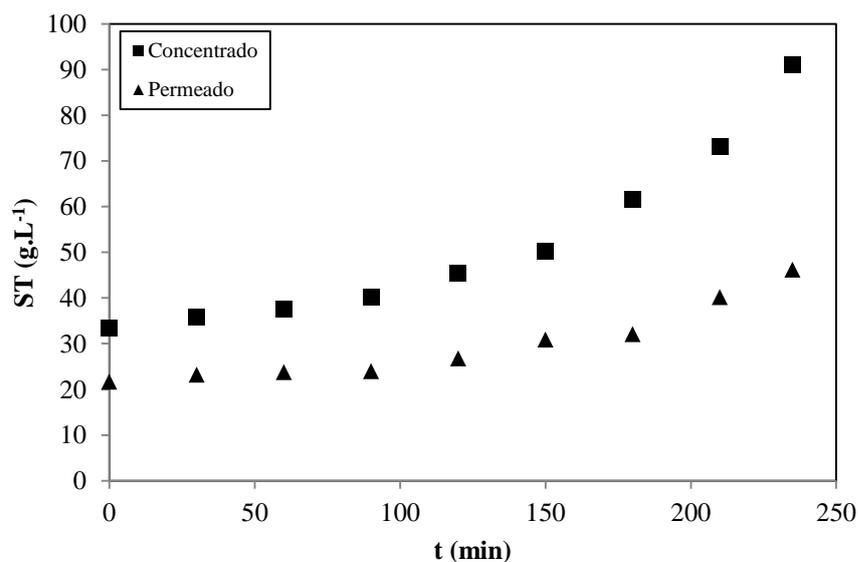


Figura 4.10 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.

A concentração de ST referente ao terceiro experimento está apresentada na Figura 4.11.

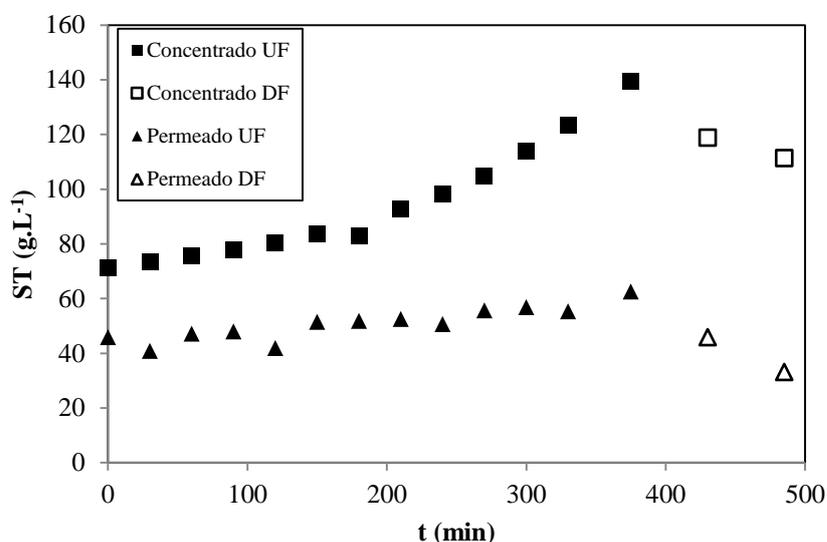


Figura 4.11 Concentração de sólidos totais das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.

Assim como no experimento 1, o teor de sólidos totais no concentrado aumenta ao longo da UF, de 71,3 g.L⁻¹ para 139,3 g.L⁻¹ e diminui durante a DF, sendo que a concentração de ST da amostra final é de 111,4 g.L⁻¹. O mesmo ocorre com o permeado, onde o teor de ST aumenta durante a UF e cai nas etapas de DF, e, ao final, esse valor é de 33,1 g.L⁻¹.

A aplicação da DF nos experimentos 1 e 3 diminuiu o teor de sólidos totais na corrente concentrado em função da remoção de lactose e sais, enquanto que a diminuição desse valor na corrente permeado é devida à diluição.

4.2.5 Teor de proteína

Nos três experimentos de UF houve aumento da concentração de proteínas das amostras de concentrado; em relação ao permeado, o teor proteico ficou próximo à zero, evidenciando a eficiência da membrana utilizada para reter as proteínas. Os valores de concentração de proteína são apresentados a seguir.

A Figura 4.12 mostra os dados referentes à concentração de proteína com o tempo nas correntes concentrado e permeado do experimento 1.

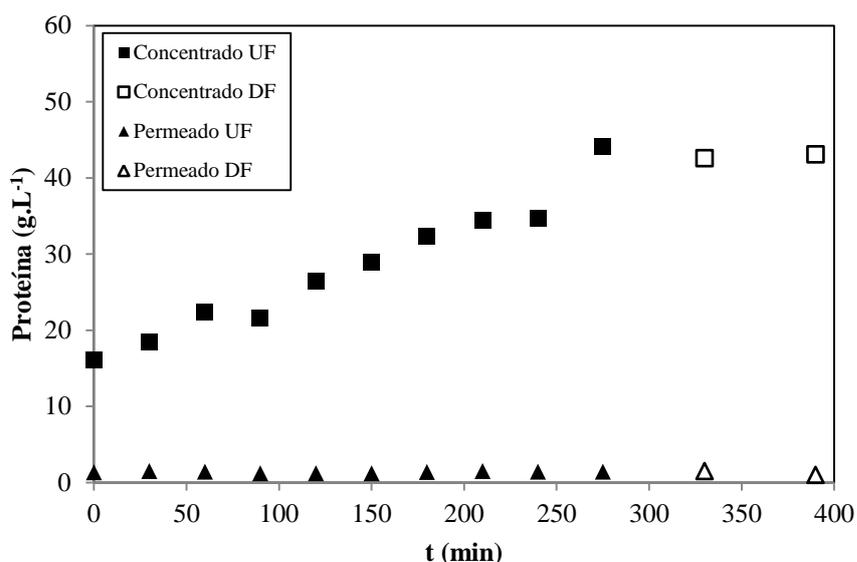


Figura 4.12 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.

Em relação ao experimento 1, durante a UF a concentração de proteínas do concentrado aumenta de $16,1 \text{ g.L}^{-1}$ para $44,2 \text{ g.L}^{-1}$. Nas duas etapas de DF, o conteúdo proteico permanece praticamente constante ($43,1 \text{ g.L}^{-1}$ ao final da segunda DF).

No experimento 2, conforme mostra a Figura 4.13, a concentração de proteínas do concentrado passou de $3,9 \text{ g.L}^{-1}$ no início do processo para $26,0 \text{ g.L}^{-1}$ ao final da UF.

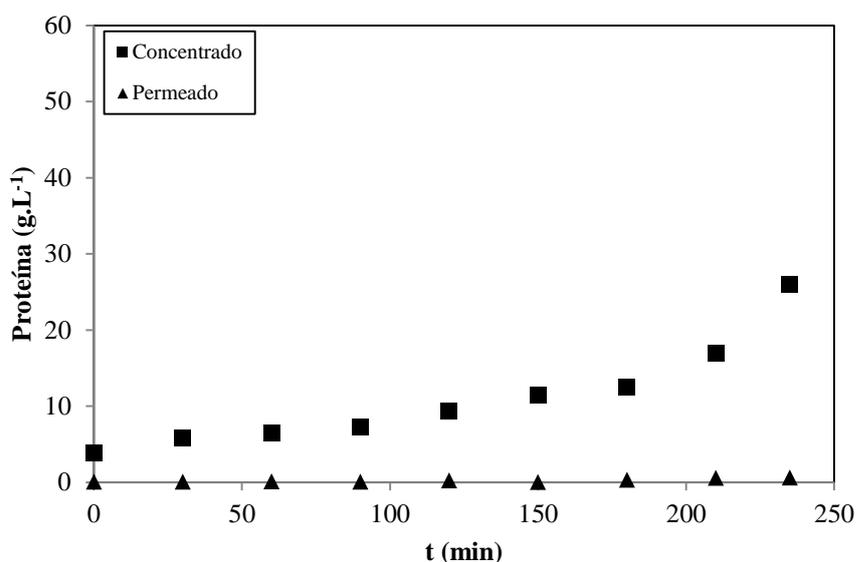


Figura 4.13 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.

No experimento 3, o teor de proteínas do concentrado aumenta de $13,4 \text{ g.L}^{-1}$ para $54,3 \text{ g.L}^{-1}$ e, assim como no primeiro experimento, a DF não altera este valor ($54,2 \text{ g.L}^{-1}$ ao final da segunda DF). Estes dados podem ser visualizados na Figura 4.14.

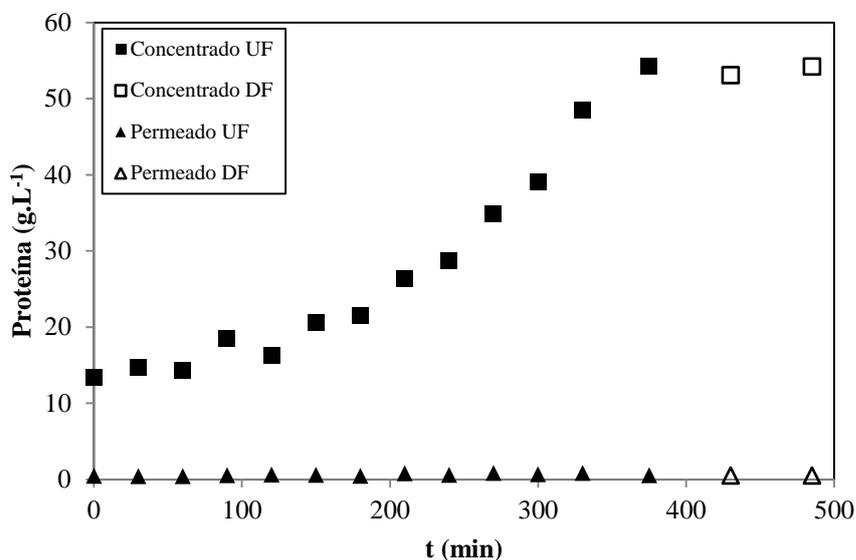


Figura 4.14 Concentração de proteína das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.

Em ambos os experimentos que fizeram uso da DF, a concentração de proteína nessa etapa não apresentou variações. A DF remove apenas os componentes indesejados do concentrado, aumentando a purificação das proteínas.

4.2.6 Teor de lactose

Nesta seção são apresentados os valores referentes ao teor de lactose das amostras de concentrado e permeado durante os três experimentos de concentração do soro de leite.

No experimento 1, conforme mostra a Figura 4.15, o teor inicial de lactose do concentrado é de $55,5 \text{ g.L}^{-1}$ e, ao final da UF, $68,8 \text{ g.L}^{-1}$. O emprego da DF 1 diminui esse valor para $60,2 \text{ g.L}^{-1}$ e da DF 2 para $50,6 \text{ g.L}^{-1}$. No permeado, a concentração inicial de lactose é de $45,4 \text{ g.L}^{-1}$, ao final da UF é de $56,0 \text{ g.L}^{-1}$ e, ao terminar o processo, se encontra em $40,3 \text{ g.L}^{-1}$.

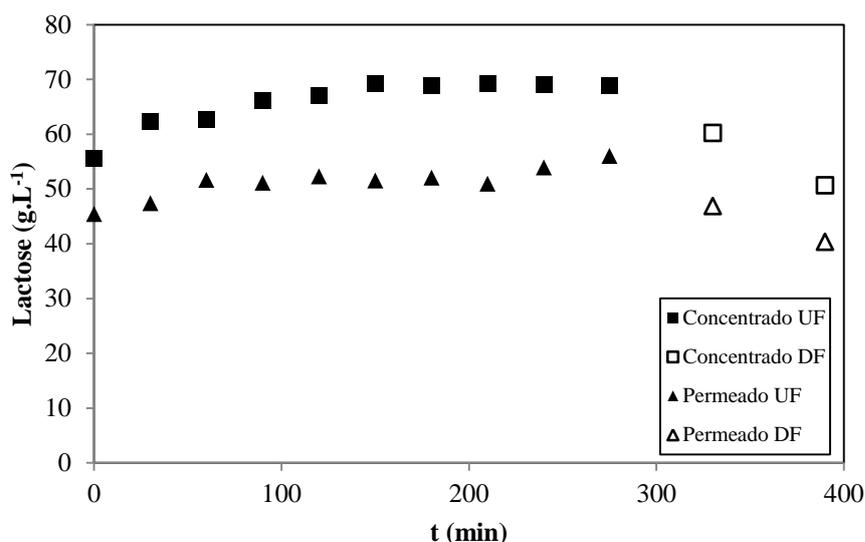


Figura 4.15 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 1.

De acordo com a Figura 4.16, referente ao experimento 2, a concentração inicial de lactose do concentrado é de 25,3 g.L⁻¹ e ao final da UF é de 56,6 g.L⁻¹. No permeado, a concentração aumenta de 20,9 g.L⁻¹ para 42,9 g.L⁻¹.

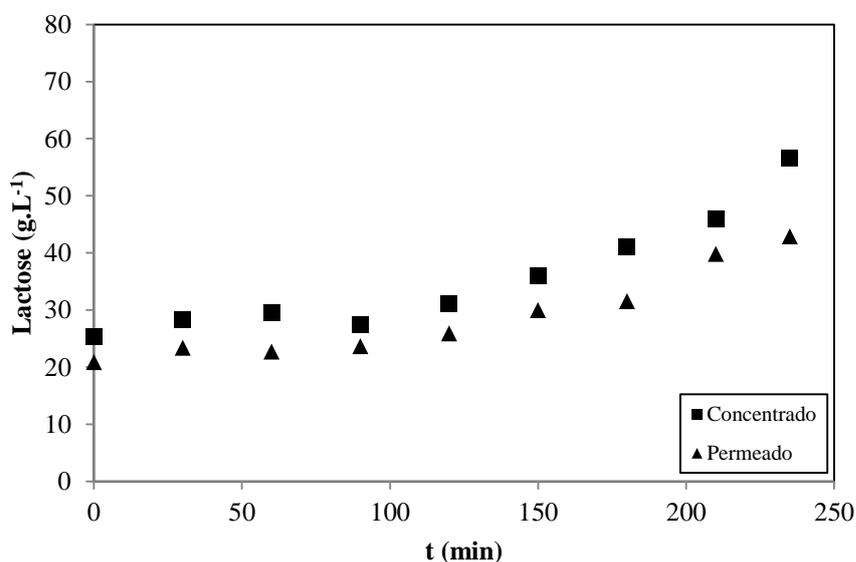


Figura 4.16 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 2.

Os valores da concentração de lactose do experimento 3 podem ser visualizados na Figura 4.17. Em relação ao concentrado, a concentração de lactose aumenta de 47,4 g.L⁻¹ para 72,3 g.L⁻¹ ao final da UF. Após a DF 1, esse valor diminui para 54,5 g.L⁻¹ e após a DF 2, o valor final é de 46,6 g.L⁻¹. A concentração inicial de lactose do permeado é de 27,9 g.L⁻¹, aumenta para 55,0 g.L⁻¹ ao terminar a etapa de UF e cai para 32,0 g.L⁻¹ ao fim da DF 2.

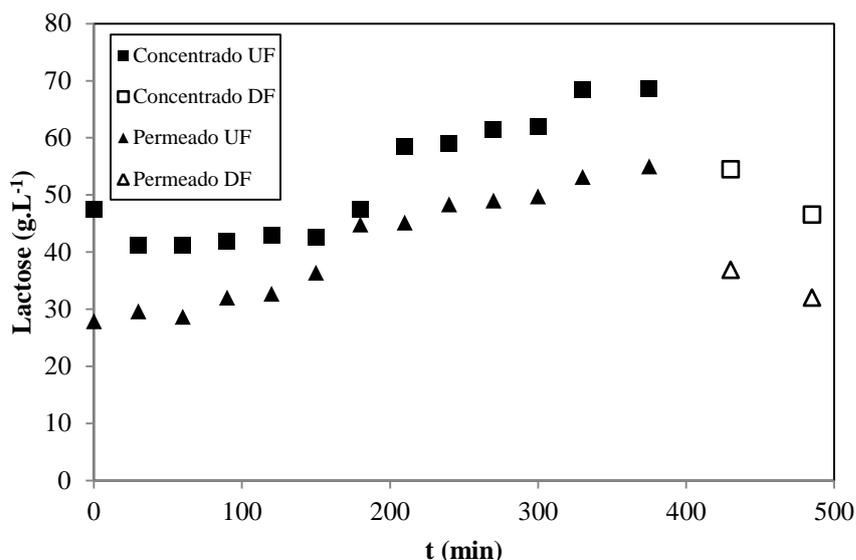


Figura 4.17 Concentração de lactose das amostras de concentrado e permeado em função do tempo para o experimento 3.

4.2.7 Teor de proteína e de lactose em base seca

Como a composição das amostras de soro de leite de ovelha apresenta diferenças entre si, foi analisado o teor de proteína em base seca (massa de proteínas/massa de sólidos totais) e o teor de lactose em base seca (massa de lactose/massa de sólidos totais) nos concentrados ao longo dos experimentos. Na Tabela 4.2 estão apresentados estes valores em cada etapa do processo: início da ultrafiltração (UF i), final da ultrafiltração (UF f), final da primeira diafiltração (DF 1) e final da segunda diafiltração (DF 2).

Tabela 4.2 Teor de proteína e de lactose em base seca (%) nos concentrados ao longo dos experimentos 1, 2 e 3.

Experimento	Proteína (%)				Lactose (%)			
	UF i	UF f	DF 1	DF 2	UF i	UF f	DF 1	DF 2
1	20	35	37	41	68	54	52	49
2	12	29	-	-	76	62	-	-
3	19	39	45	49	58	52	46	42

Em função dos resultados apresentados na Tabela 4.2, é possível observar que a diafiltração remove os componentes de baixa massa molar, aumentando o teor de proteína e diminuindo o teor de lactose no concentrado. Os dados confirmam os resultados encontrados na literatura. Após concentrar as proteínas do soro por meio da UF, BALDASSO *et al.* (2011a) aplicaram a DF e conseguiram reduzir o teor de lactose e aumentar o conteúdo proteico do

concentrado. ROMÁN *et al.* (2009) e PAN *et al.* (2011) estudaram a desmineralização do soro por NF e o teor de sais diminuiu após a aplicação da DF. CUARTAS-URIBE *et al.* (2009) aplicaram a NF associada a DF para a recuperação da lactose do permeado obtido em um processo de concentração do soro por UF. Os autores relatam que a combinação NF/DF foi eficiente na remoção de sais.

Os experimentos 1 e 3 apresentaram os maiores teores de proteínas, de acordo com a Tabela 4.2. Em relação ao experimento 2, o teor de proteína é inferior a 34% e o teor de lactose é superior a 52%, indicando que o produto obtido neste experimento não é considerado um concentrado proteico, conforme classificação de USDEC (1997) e YADA (2004). Conclui-se que este experimento deveria ter sido conduzido até que atingisse um maior fator de concentração volumétrico, aumentando o teor de proteína e diminuindo o teor de lactose.

4.2.8 Massas de proteína e de lactose

Os experimentos 1 e 3 representaram as melhores alternativas para a concentração das proteínas do soro de leite de ovelha. A Tabela 4.3 apresenta um comparativo entre o aumento da concentração de proteína e a diminuição da concentração de lactose nos concentrados proteicos obtidos nestes experimentos.

Tabela 4.3 Comparação entre o aumento da concentração de proteína e a diminuição da concentração de lactose nos concentrados no início e no final dos experimentos 1 e 3.

Experimento	Proteína			Lactose		
	C. inicial (g.L ⁻¹)	C. final (g.L ⁻¹)	Aumento (%)	C. inicial (g.L ⁻¹)	C. final (g.L ⁻¹)	Diminuição (%)
1	16,1	43,1	169	55,5	50,6	9
3	13,4	54,2	315	47,4	46,6	2

De acordo com os dados da Tabela 4.3, observa-se que o aumento da concentração de proteínas foi mais acentuado no experimento 3. Com o intuito de estudar a influência da força iônica na concentração das proteínas do soro de leite de ovelha, foram analisadas as massas de proteína e de lactose nos concentrados ao longo de cada etapa dos experimentos 1 e 3.

A Figura 4.18 apresenta a massa de proteína dos concentrados obtidos nos experimentos 1 e 3 em função de cada etapa do processo: início da ultrafiltração (1), final da ultrafiltração (2), final da primeira diafiltração (3) e final da segunda diafiltração (4).

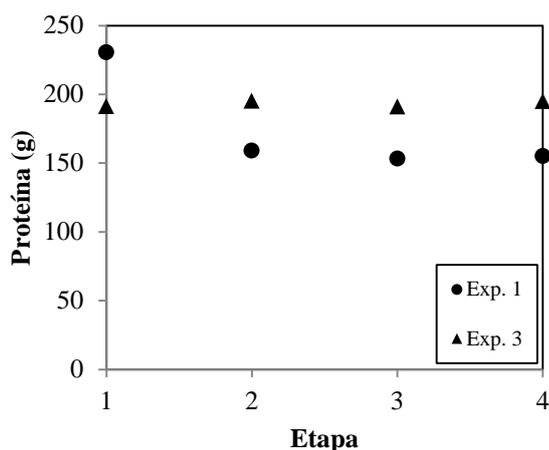


Figura 4.18 Massa de proteínas dos concentrados em cada etapa dos experimentos 1 e 3.

Conforme mostra a Figura 4.18, ao final do processo, a massa de proteínas referente ao experimento 3 é maior do que a massa de proteínas referente ao experimento 1. Além disso, a massa de proteínas permaneceu praticamente constante ao longo do experimento 3, enquanto que no experimento 1, algumas proteínas de massa molar menor permearam pela membrana, diminuindo a sua massa no concentrado. Segundo ZULKALI *et al.* (2005), DE LA CASA *et al.* (2007) e LIM & MOHAMMAD (2010), o acréscimo de uma solução salina altera as interações entre as proteínas, agregando-as. Este fato impede a permeação das proteínas com menores massas molares, sendo retidas pela membrana.

A Figura 4.19 apresenta a massa de lactose nos concentrados em função de cada etapa do processo para os experimentos 1 e 3.

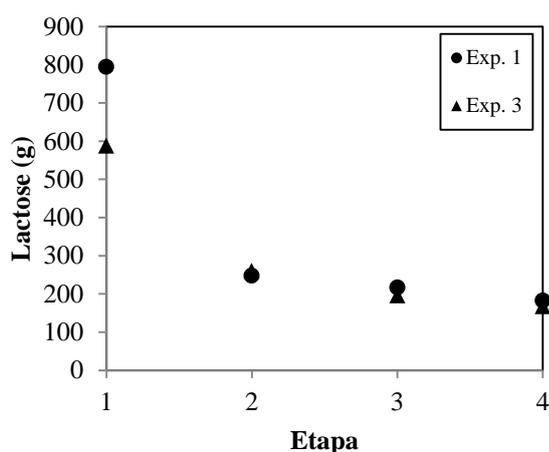


Figura 4.19 Massa de lactose dos concentrados em cada etapa dos experimentos 1 e 3.

Através da Figura 4.19, percebe-se que a massa de lactose nos concentrados diminuiu com o decorrer do processo. Porém, essa diminuição foi mais acentuada no experimento 1. O

acréscimo da solução de CaCl_2 no experimento 3 altera a conformação e a agregação das proteínas, impedindo a permeação das moléculas menores, como a lactose, onde são retidas em maior quantidade pela membrana.

4.2.9 Retenção de sólidos totais, proteína e lactose

Na Figura 4.20 estão representados os valores de retenção observada de sólidos totais, proteínas e lactose em função do tempo para os experimentos 1, 2 e 3.

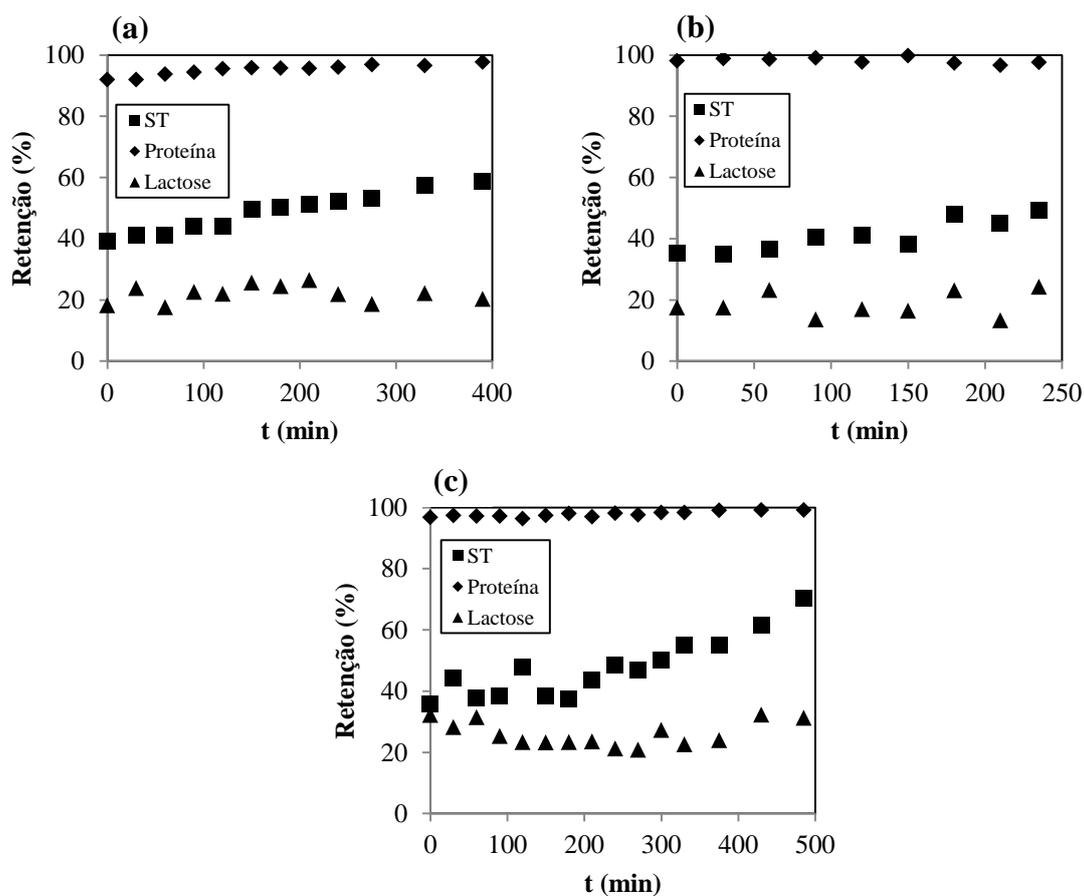


Figura 4.20 Retenção observada de sólidos totais, proteínas e lactose em função do tempo: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.

Em todos os experimentos a retenção de proteínas foi próxima de 100%, indicando que a membrana escolhida é eficiente para concentrar estes compostos. A retenção de sólidos totais aumenta com o tempo do processo, em função do aumento da retenção das proteínas, que são as maiores partículas presentes no soro. A retenção de lactose oscila bastante com o tempo; as mudanças na seletividade da membrana são devidas aos fenômenos de *fouling* e polarização por concentração, uma vez que alguns componentes do soro de leite se depositam

sobre a membrana, especialmente as proteínas, criando uma resistência adicional e impedindo a permeação das moléculas de lactose.

Muitos estudos apontam que as proteínas são um grande causador de *fouling* em membranas (CHOLLANGI & HOSSAIN, 2007; LIM & MOHAMMAD, 2010; BALDASSO *et al.*, 2011a; MACEDO *et al.*, 2011). Como as proteínas são retidas, esses compostos tendem a acumular-se em grande quantidade na superfície da membrana. Geralmente, a concentração de proteínas é alta suficientemente para formar uma camada gel. Os sais também exercem influência na formação de *fouling*, onde podem precipitar sobre a membrana e formar uma camada de depósitos salinos. O *fouling* modifica a seletividade e a retenção de certos compostos pela membrana (CHERYAN, 1986).

Segundo VAN OERS *et al.* (1995) e BRANS *et al.* (2004), a formação de camadas de depósitos durante a ultrafiltração não apenas diminui o fluxo permeado, como também exerce influência na retenção de diferentes moléculas pela membrana, uma vez que esses depósitos retêm as pequenas partículas que deveriam passar pela membrana.

4.2.10 Avaliação da tendência ao *fouling* e eficiência da limpeza da membrana

Para avaliar se o sistema de limpeza da membrana foi eficiente, foi medido o fluxo permeado de água antes e depois da operação do sistema com o soro de leite em função da pressão transmembrana. A Figura 4.21 ilustra este comportamento do fluxo para os experimentos 1, 2 e 3.

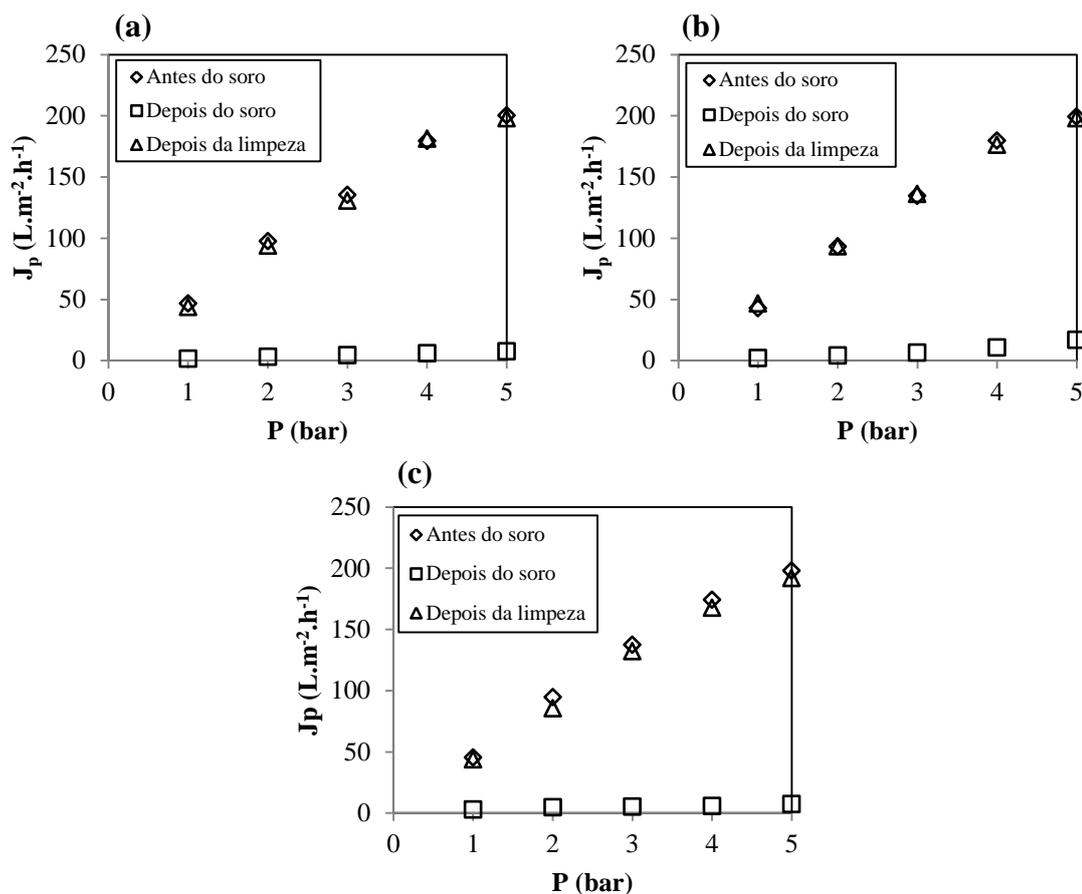


Figura 4.21 Fluxo permeado de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema: (a) experimento 1, (b) experimento 2 e (c) experimento 3.

Como representado na Figura 4.21, na pressão de 3 bar, o fluxo permeado com água antes da passagem do soro estava em torno de $135,2 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ para o experimento 1, $134,6 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ para o experimento 2 e $137,4 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ para o experimento 3; depois do processo, esses valores caíram para $4,3 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ (experimento 1), $6,6 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ (experimento 2) e $5,2 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ (experimento 3). Também é possível perceber que a limpeza do sistema foi adequada para a recuperação do fluxo permeado inicial, onde, na mesma condição de pressão, esses valores aumentaram para $130,5 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ no experimento 1, $136,2 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ no experimento 2 e $132,2 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$ no experimento 3, próximos aos valores iniciais.

A tendência ao *fouling* dos experimentos de UF foi obtida a partir da inclinação das curvas de fluxo permeado com água destilada *versus* pressão transmembrana antes e após a operação da membrana com o soro de leite e através da Equação 2.5. Os resultados encontrados estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Valores de permeabilidade hidráulica antes e depois da concentração do soro de leite de ovelha e determinação da tendência ao *fouling* para os experimentos 1, 2 e 3.

Experimento	W_{Pa} ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$)	W_{Pd} ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$)	Fouling (%)
1	38,8	1,5	96,2
2	39,9	3,6	90,9
3	38,5	1,0	97,4

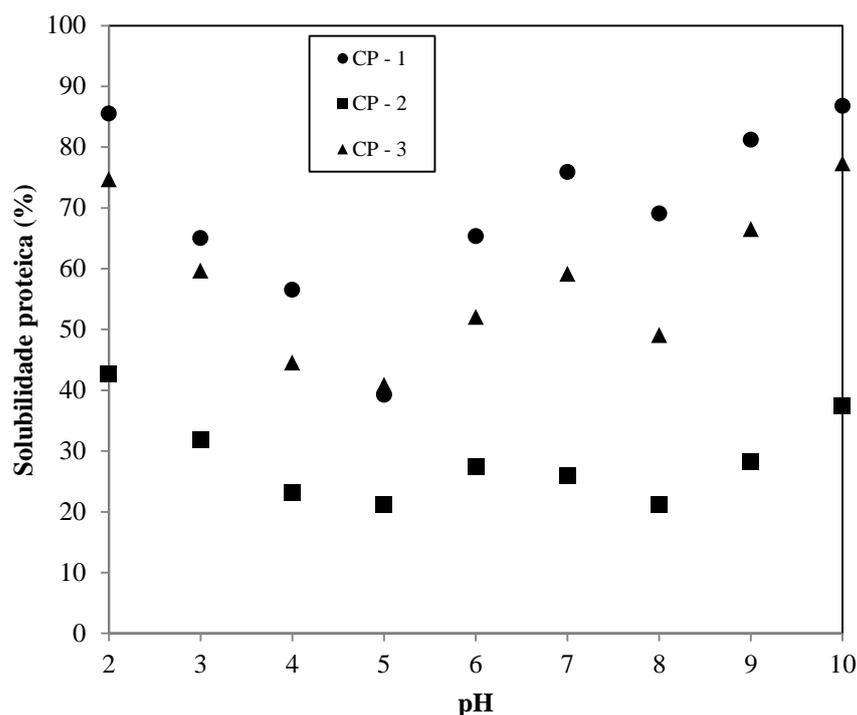
Conforme mostrado na Tabela 4.4, os experimentos de concentração do soro de leite por UF apresentaram alta tendência ao *fouling*, com valores superiores a 90%. É possível identificar que a menor tendência ao *fouling* foi encontrada no experimento 2, provavelmente devido à prévia diluição do soro de leite. Os experimentos 1 e 3 apresentaram valores de tendência ao *fouling* semelhantes, sendo o experimento 3 levemente superior devido ao acréscimo de $CaCl_2$ ao soro e posterior aumento da força iônica e da pressão osmótica da solução.

4.3 Análise das propriedades funcionais dos concentrados proteicos

Nesta seção são abordados e discutidos os resultados da determinação das propriedades funcionais dos concentrados obtidos nos experimentos de UF e submetidos ao processo de secagem por liofilização. Cada propriedade foi avaliada em triplicata. Os concentrados foram denominados CP – 1, CP – 2 e CP – 3, referentes aos experimentos 1, 2 e 3, respectivamente.

4.3.1 Solubilidade proteica

A solubilidade proteica é a propriedade funcional mais importante das proteínas para a sua utilização em alimentos, pois também afeta outras propriedades como emulsificação e formação de espuma. As curvas de solubilidade proteica obtidas para cada um dos três concentrados na faixa de pH variando entre 2 e 10 podem ser observadas na Figura 4.22.



*Desvio padrão menor do que 4%.

Figura 4.22 Curvas de solubilidade proteica para os três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3 sob diferentes valores de pH.

Os valores de solubilidade proteica ficaram entre 39,2% e 86,8% para o CP – 1; 21,1% e 42,7% para o CP – 2; e 40,9% e 77,3% para o CP – 3. A diferença nos valores de solubilidade proteica entre os concentrados de cada experimento pode ser explicada pelas suas diferentes composições, em relação aos compostos não proteicos. O CP – 1 e CP – 3 apresentaram solubilidade proteica mais elevada devido à maior concentração de proteínas em comparação ao CP – 2. Segundo ANTUNES (2003), os componentes não proteicos como lactose, sais e gordura podem diminuir a solubilidade proteica.

Na determinação das propriedades funcionais de concentrados proteicos de soro de leite obtidos pelo processo de UF/DF, PAGNO *et al.* (2009) também perceberam queda da solubilidade nos produtos com menor teor de proteína e maior teor de lactose.

Conforme mostra a Figura 4.22, a solubilidade proteica é fortemente afetada pelo pH. Os valores de solubilidade foram menores em pH 4 e 5, pois essas condições são próximas aos pontos isoelétricos da maioria das proteínas presentes no soro. Segundo FENNEMA (1996) e WIT (1984), a solubilidade nestes pontos é mínima devido ao aumento das interações proteína-proteína, afetando a interação da água com as moléculas de proteína, condição favorável para que estas se aproximem, agreguem e precipitem. Em pH 8, a solubilidade

também é um pouco mais baixa, pois esse valor representa o ponto isoelétrico da proteína lactoferrina.

Embora a proteína seja eletricamente neutra em seu pI, ela ainda tem um número igual de cargas positivas e negativas na superfície, as quais contribuem para a hidrofiliabilidade proteica. Se a hidrofiliabilidade e as forças de repulsão da hidratação que surgem dos resíduos carregados forem maiores que as interações hidrofóbicas proteína-proteína, então a proteína ainda será solúvel no pI (FENNEMA, 1996).

A solubilidade dos concentrados foi maior em pH ácido ou básico devido ao excesso de cargas positivas ou negativas nesses valores de pH. Excesso de cargas de mesmo sinal produz repulsão das moléculas, diminuindo as interações proteína-proteína e aumentando as interações água-proteína, que contribui para sua maior solubilidade (FENNEMA, 1996; SGARBIERI, 1996).

MACHADO *et al.* (2007) realizaram estudos de solubilidade proteica da clara de ovo e também perceberam alterações desta propriedade em função do pH da solução, ou seja, em pH ácido ou básico, os valores de solubilidade foram mais elevados. A máxima solubilidade proteica encontrada pelos autores foi de 72,6% em pH 8, enquanto que em pH 4,5 foi encontrada a mínima solubilidade, pois este é o ponto isoelétrico da proteína ovoalbumina.

PELEGRINE & GASPARETTO (2005) estudaram a influência do pH na solubilidade proteica de isolado proteico de soro. Os resultados mostraram que a solubilidade é menor em pH 4,5, ou seja, em torno do ponto isoelétrico da maioria das proteínas presentes no isolado.

DÍAZ *et al.* (2004) obtiveram um concentrado proteico de soro de leite de ovelha pelo processo de ultrafiltração e determinaram a sua solubilidade proteica. Os autores encontraram máxima solubilidade de 90%, semelhante ao encontrado neste trabalho.

MONDOR *et al.* (2010) utilizaram a UF combinada com a DF para a produção de isolado proteico de soja e avaliaram a sua solubilidade proteica. A máxima solubilidade encontrada foi próxima a 100%, em valores de pH ácido e básico, além de solubilidade mínima em torno do pI das proteínas da soja.

O mesmo perfil de solubilidade proteica também foi encontrado por LIANG & TANG (2013) para um isolado proteico de ervilha: máxima solubilidade de 70% e 80% em pH ácido

e básico, respectivamente, e menor solubilidade próxima ao ponto isoelétrico das proteínas da ervilha (pH 5).

Ao comparar a solubilidade proteica do CP – 1 e do CP – 3 é possível perceber que os valores são menores para o CP – 3 em toda a faixa de pH. O experimento de UF utilizado para a obtenção do CP – 3 utilizou uma solução de CaCl_2 , que pode ter ocasionado a queda na solubilidade em comparação com o CP – 1, que não foi acrescido de uma solução salina.

Os resultados de MU *et al.* (2009), ao comparar a solubilidade das proteínas da batata doce sob a presença de sais, foram semelhantes aos encontrados neste trabalho. Os autores verificaram uma queda na solubilidade proteica quando NaCl e CaCl_2 foram adicionados às soluções de proteínas.

Segundo SGARBIERI (1996), a concentração salina exerce influência sobre a solubilidade das proteínas. Em baixas concentrações de sais a solubilidade aumenta, pois os íons salinos tendem a se associar às proteínas contribuindo para uma maior hidratação e/ou repulsão das moléculas proteicas de forma a aumentar a solubilidade da proteína. Ao contrário, em elevada concentração salina, os íons salinos formam uma camada de hidratação e assim competem com as proteínas pelas moléculas de água presentes no meio, ocasionando a perda de água de hidratação das moléculas proteicas, que leva à formação de precipitado.

4.3.2 Índice de atividade emulsificante

O índice de atividade emulsificante está relacionado com a capacidade da proteína em ser adsorvida na superfície dos glóbulos de gordura e à sua capacidade de se espalhar sobre a interface, estabilizando a nova área criada (PEARCE & KINSELLA, 1978). A Tabela 4.5 mostra os valores de atividade emulsificante (IAE) dos três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3.

Tabela 4.5 Valores de índice de atividade emulsificante (IAE) dos três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3.

Concentrado	IAE ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)
CP – 1	$33,4 \pm 0,2$
CP – 2	$7,2 \pm 0,1$
CP – 3	$31,1 \pm 0,3$

Conforme a Tabela 4.5, o CP – 1 apresentou o maior valor de IAE, seguido pelo CP – 3, enquanto que o CP – 2 obteve o menor valor de IAE. Os valores de IAE encontrados neste

trabalho refletem a influência da solubilidade proteica em outras propriedades. Os concentrados com solubilidade mais elevada também apresentaram maiores valores de índice de atividade emulsificante.

As propriedades das emulsões são afetadas por diversos fatores, como pH, força iônica, temperatura, açúcares, tipo e volume da fase de óleo. Outro fator que afeta as emulsões é a composição proteica. O soro de leite apresenta diversos tipos de proteínas e, durante a emulsificação, os componentes proteicos da mistura competem entre si pela adsorção à interface. A composição da película proteica formada na interface depende das atividades de superfícies relativas de várias proteínas da solução (FENEMMA, 1996; SGARBIERI, 1996).

O IAE do CP – 2 é menor em função da sua concentração de lactose ser maior em comparação ao CP – 1 e ao CP – 3. Segundo HERCEG *et al.* (2007), a presença de lactose em produtos a base de proteínas evita a propagação destas na interface água-óleo, resultando em menores valores de índice de atividade emulsificante.

PAGNO *et al.* (2009) obtiveram concentrados proteicos de soro por UF/DF e determinaram seus valores de IAE. Os resultados variaram entre 12 e 30 m².g⁻¹, onde o IAE foi maior para o produto com maior concentração de proteínas e menor concentração de lactose.

FACHIN & VIOTTO (2005) encontraram IAE semelhantes aos encontrados neste trabalho, variando de 22 a 39 m².g⁻¹ para concentrados proteicos de soro obtidos a partir da ultrafiltração e submetidos a diferentes tratamentos térmicos.

Embora esse método seja simples e prático, sua principal desvantagem é que ele se baseia na mensuração da turbidez em um único comprimento de onda, 500 nm, além de não haver uma padronização da metodologia. Como a turbidez de emulsões alimentícias é dependente do comprimento de onda, a área interfacial obtida a partir da turbidez em 500 nm não é muito acurada. Entretanto, esse método pode ser usado para comparação qualitativa de atividades emulsificantes de diferentes proteínas (FENNEMA, 1996).

4.3.3 Expansão e estabilidade de espuma

As propriedades espumantes são comumente medidas por dois parâmetros: a expansão de espuma (FE) e a estabilidade de espuma (FS). A Tabela 4.6 apresenta os valores desses parâmetros dos concentrados obtidos no processo de UF.

Tabela 4.6 Valores de expansão de espuma (FE) e estabilidade de espuma (FS) dos três concentrados CP – 1, CP – 2 e CP – 3.

Concentrado	FE (%)	FS (%)
CP – 1	25,1 ± 0,1	97,6 ± 0,3
CP – 2	15,8 ± 0,2	98,1 ± 0,3
CP – 3	23,5 ± 0,2	97,1 ± 0,3

Através da Tabela 4.6 é possível constatar que o CP – 1 apresentou o maior valor de expansão de espuma, equivalente a 25,1%, e o CP – 2 apresentou o menor valor (15,8%). MISHRA *et al.* (2001) avaliaram as propriedades espumantes de um concentrado proteico de soro comercial e obtiveram resultados semelhantes ao deste trabalho, em torno de 24% de expansão de espuma.

Segundo KINSELLA (1987), inúmeros fatores influenciam as propriedades espumantes das proteínas, como a natureza da proteína, solubilidade, concentração, pH, temperatura, presença de sais, açúcares e lipídios.

Os concentrados com maior teor proteico (CP – 1 e CP – 3) apresentaram os melhores resultados de expansão de espuma. De acordo com FENNEMA (1996), na maioria dos produtos do tipo espuma como sorvetes, cremes e merengues, as proteínas são os principais agentes ativos de superfície que ajudam na formação e na estabilização da fase dispersa gasosa e as propriedades espumantes geralmente aumentam com a concentração proteica.

Os valores encontrados de expansão de espuma do CP – 1 e do CP – 3 são semelhantes, indicando que o acréscimo de CaCl₂ ao terceiro experimento de UF não exerceu influência na formação de espuma. Ao estudar as propriedades espumantes da albumina do ovo na presença de íons de cálcio, LIANG & KRISTINSSON (2007) notaram que o cálcio não alterou essas propriedades, porém melhorou as propriedades reológicas da espuma formada, tornando-a mais rígida e firme.

Os valores de estabilidade de espuma foram semelhantes para os três concentrados, aproximadamente 97%. CASPER *et al.* (1999) estudaram a estabilidade de espuma de concentrados proteicos de soro de leite ovino e encontraram um valor de 99,4%, próximo ao encontrado neste trabalho. Os autores também concluíram que o concentrado proteico derivado do soro de leite ovino apresenta melhores propriedades espumantes em comparação com os concentrados proteicos derivados do soro de leite bovino e caprino.

Os três concentrados apresentam valores elevados de estabilidade de espuma, devido à presença de lactose. A presença de açúcares em soluções proteicas costuma prejudicar a formação de espuma, porém aumenta a estabilidade espumante (FENNEMA, 1996). Ao estudar as propriedades espumantes da clara de ovo, RAIKOS *et al.* (2007) perceberam que a presença de sacarose inibiu a formação de espuma, porém esta apresentou boa estabilidade.

Segundo CASPER *et al.* (1999), a lactose melhora a estabilidade de espuma, porque aumenta a viscosidade da fase contínua desta. Conforme HERCEG *et al.* (2007), açúcares aumentam a interação proteína-proteína, levando ao desenvolvimento de uma camada coesiva na interface ar-água que previne o colapso da espuma e permite a formação de espumas mais estáveis.

JAMBRAK *et al.* (2008) determinaram as propriedades espumantes de um isolado proteico de soro e de um concentrado proteico de soro, este com maior teor de lactose. A formação de espuma do isolado foi superior ao concentrado, enquanto que o efeito oposto foi observado no valor de estabilidade de espuma. Estes resultados confirmam os dados obtidos neste trabalho, uma vez que o CP – 2 apresenta o maior teor de lactose, bem como valor de expansão de espuma menor.

Proteínas que apresentam boa espumabilidade não precisam ser bons estabilizadores de espuma. No geral, as proteínas que apresentam bom poder de espumabilidade não têm capacidade de estabilizar a espuma, enquanto as que produzem espumas estáveis costumam exibir baixo poder de formação de espuma (FENNEMA, 1996).

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalho analisou três diferentes protocolos experimentais para a concentração das proteínas do soro de leite de ovelha pelo processo de UF e, posteriormente, foram avaliadas as propriedades funcionais de solubilidade proteica, emulsificação e formação de espuma dos concentrados proteicos obtidos.

Em todos os experimentos de concentração do soro de leite de ovelha por UF, o fluxo permeado diminui com o tempo de operação devido aos fenômenos de polarização por concentração e *fouling*. No entanto, o fluxo permeado do experimento 2 é maior em comparação aos outros experimentos devido à diluição do soro de leite de ovelha, enquanto que o fluxo permeado do experimento 3 é menor em função do acréscimo de CaCl_2 , que aumenta a força iônica e a pressão osmótica da solução.

O teor de lactose em base seca nos concentrados foi reduzido de 68 para 49% no experimento 1, de 76 para 62% no experimento 2 e de 58 para 42% no experimento 3. O teor de proteína em base seca nos concentrados aumentou de 20 para 41% no experimento 1, de 12 para 29% no experimento 2 e de 19 para 49% no experimento 3. O acréscimo da solução salina no terceiro experimento agrega as proteínas, impedindo a permeação das proteínas com menores massas molares.

A solubilidade proteica dos concentrados obtidos no experimento 1 e 3 é maior do que a solubilidade proteica do concentrado obtido no experimento 2, por apresentarem maior concentração de proteínas. Em pH ácido ou alcalino a solubilidade proteica dos concentrados é maior, enquanto que em pH 4 e 5, próximo ao ponto isoelétrico das proteínas do soro, a solubilidade proteica é mínima. O CP – 1 apresentou o maior valor de IAE, seguido pelo CP – 3, enquanto que o CP – 2 obteve o menor valor de IAE; o IAE é menor no concentrado obtido no experimento 2 em função do maior teor de lactose. A lactose presente nos concentrados proteicos diminui a sua capacidade de expansão de espuma, porém melhora a sua estabilidade.

Assim, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, verifica-se que a UF representa uma promissora alternativa para o aproveitamento do soro de leite de ovelha e a concentração das suas proteínas. Ainda, os concentrados proteicos obtidos por este processo apresentam excelentes propriedades funcionais que viabilizam o seu uso em uma vasta gama de alimentos.

As sugestões para trabalhos futuros que visem à otimização da concentração das proteínas do soro lácteo e da avaliação das suas propriedades funcionais, além de processos para o total aproveitamento do soro estão listadas a seguir.

- Estudo de um tratamento preliminar do soro de leite de ovelha para reduzir o teor de partículas insolúveis.
- Estudo da utilização da OI para tratamento do permeado da UF para reaproveitamento da água.
- Utilização da NF e da ED para recuperação da lactose e dos sais do permeado resultante do processo de UF.
- Fracionamento das principais proteínas dos concentrados obtidos na etapa de UF do soro de leite de ovelha.
- Experimentos de concentração por UF variando o pH do soro de leite de ovelha.
- Experimentos de concentração por UF utilizando diferentes sais em diferentes concentrações como forma de alterar a força iônica da solução.
- Experimentos de concentração do soro por UF combinando o pH e a força iônica de modo a obter menores quedas de fluxo permeado e maior teor de proteínas.
- Estudo da concentração do soro de leite diluído atingindo maiores fatores de concentração volumétrica.
- Utilização de técnicas como backpulse e ultrassom com o intuito de diminuir o depósito de partículas sobre a membrana e evitar a queda do fluxo permeado.
- Testes utilizando maior número de DF e com diferentes volumes.

-
- Testes de concentração utilizando outras membranas, fabricadas com diferentes materiais (cerâmicos e poliméricos).
 - Utilização da NF e da ED para desmineralizar o soro de leite de ovelha, viabilizando o seu consumo *in natura*.
 - Associação dos processos de separação com membranas e tecnologias convencionais para obtenção de concentrados proteicos com maior pureza.
 - Estudo da solubilidade proteica dos concentrados proteicos em diferentes temperaturas.
 - Estudo das propriedades funcionais de emulsificação e formação de espuma em função da variação do pH e da temperatura.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. São Paulo. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/>. Acesso em abril de 2012.

ALMÉCJA, M.C.; GUADIX, A.; MARTINEZ-FEREZ, A.; GONZÁLEZ-TELLO, P.; GUADIX, E.M. *A flux enhancing pretreatment for the ultrafiltration of acid whey*. Desalination, v. 245, p. 737-742, 2009.

ALMÉCJA, M.C.; IBÁÑEZ, R.; GUADIX, A.; GUADIX, E.M. *Effect of pH on the fractionation of whey proteins with a ceramic ultrafiltration membrane*. Journal of Membrane Science, v. 288, p. 28-35, 2007.

ANTUNES, A.J. *Funcionalidade das proteínas do soro de leite bovino*. São Paulo: Ed. Manole, 2003.

ATRA, R.; VATAI, G.; BEKASSY-MOLNAR, E.; BALINT, A. *Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose*. Journal of Food Engineering, v. 67, p. 325-332, 2005.

BALDASSO, C. *Fracionamento dos componentes do soro de leite através da tecnologia de separação por membranas*. Tese de Doutorado, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BALDASSO, C.; BARROS, T.C.; TESSARO, I.C. *Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration*. Desalination, v. 278, p. 381-386, 2011a.

BALDASSO, C.; KANAN, J.H.C.; TESSARO, I.C. *An investigation of the fractionation of whey proteins by two microfiltration membranes with nominal pore size of 0,1 μm* . International Journal of Dairy Technology, v. 64, p. 343-349, 2011b.

BERGER, Y.; BILLON, P.; BOCQUIER, F.; CAJA, G.; CANNAS, A.; MCKUSICK, B.; MARNET, P.; THOMAS, D. *Principles of sheep dairying in North America*. Cooperative Extension Publishing: University of Wisconsin, 156 p., 2004.

BRANS, G.; SCHROËN, C.G.P.H.; VAN DER SMAN, R.G.M.; BOOM, R.M. *Membrane fractionation of milk: state of art and challenges*. Journal of Membrane Science, v. 243, p. 263-272, 2004.

BRITO, M.A.; GONZÁLEZ, F.D.; RIBEIRO, L.A.; CAMPOS, R.; LACERDA, L.; BARBOSA, P.R.; BERGMANN, G. *Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação*. Ciência Rural, v.36, n.3, p. 942-948, 2006.

BRITZ, T.J.; ROBINSON, R.K. *Advanced dairy science and technology*. UK: Blackwell Publishing, 312 p., 2008.

BYLUND, G. *Dairy processing handbook*. Tetra Pak Processing Systems, 427 p., 1995.

CASPER, J.L.; WENDORFF, L.W.; THOMAS, D.L. *Functional properties of whey protein concentrates from caprine and ovine specialty cheese wheys*. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 265-271, 1999.

CATARINO, I.; MARTINS, A.P.L.; DUARTE, E.; PRUDENCIO, E.S.; PINHO, M.N. *Rennet coagulation of sheep milk processed by ultrafiltration at low concentration factors*. *Journal of Food Engineering*, v. 114, p. 249-254, 2013.

CHERYAN, M. *Ultrafiltration handbook*. Technomic Publishing Company, 375 p., 1986.

CHOLLANGI, A.; HOSSAIN, M. *Separation of proteins and lactose from dairy wastewater*. *Chemical Engineering and Processing*, v.46, p. 398-404, 2007.

CUARTAS-URIBE, B.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E.; MENDOZA-ROCA, J.A.; IBORRA-CLAR, M.I.; LORA-GARCÍA, J. *A study of the separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration*. *Desalination*, v. 241, p. 244-255, 2009.

DE LA CASA, E.J.; GUADIX, A.; IBÁÑEZ, R.; GUADIX, E.M. *Influence of pH and salt concentration on the cross-flow microfiltration of BSA through a ceramic membrane*. *Biochemical Engineering Journal*, v. 33, p. 110-115, 2005.

DE WIT, J.N. *Lecturer's handbook of whey and whey products*. European Whey Products Association, 91 p., 2001.

DÍAZ, O.; PEREIRA, C.D.; COBOS, A. *Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture byproducts*. *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 601-610, 2004.

DIBLÍKOVÁ, L.; CURDA, L.; KINCL, J. *The effect of dry matter and salt addition on cheese whey demineralization*. *International Dairy Journal*, v. 31, p. 29-33, 2013.

FACHIN, L.; VIOTTO, W.H. *Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration*. *International Dairy Journal*, v. 15, p. 325-332, 2005.

FAO – FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations – Statistics Division. Disponível em <http://faostat.fao.org/>. Acesso em julho de 2012.

FENNEMA, O.R. *Food chemistry*. Madison: University of Wisconsin, Marcel Dekker Inc., 1262 p., 1996.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. *Dairy chemistry and biochemistry*. London: Thomson Science, 396 p., 1998.

GIRALDO-ZUÑIGA, A.D.; COIMBRA, J.S.R.; GOMES, J.C.; MINIM, L.A.; ROJAS, E.E.G. *Propriedades funcionais e nutricionais das proteínas do soro de leite*. *Rev. Inst. Latic. "Cândido Tostes"*, n. 325, v. 57, p. 35-46, 2002.

GIRALDO-ZUÑIGA, A.D.; COIMBRA, J.S.R.; GOMES, J.C.; MINIM, L.A.; ROJAS, E.E.G.; GADE, A.D. *Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo*. Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, n. 340-341, v. 59, p. 53-66, 2004.

GIROTO, J.M.; PAWLOWSKY. *O soro de leite e as alternativas para o seu beneficiamento*. Brasil Alimentos, n. 10, 2001.

GREITER, M.; NOVALIN, D.; WENDLAND, M.; KULBE, K.D.; FISHER, J. *Electrodialysis versus ion exchange comparison of the cumulative energy by means of two applications*. Journal of Membrane Science, v. 233, p. 11-19, 2004.

GUADIX, A.; SORENSEN, E.; PAPAGEORGIOUS, L.G.; GUADIX, E. *Optimal design and operation ultrafiltration plants*. Journal of Membrane Science, v. 235, p. 131-138, 2004.

HABERT, A.C.; BORGES, C.P.; NOBREGA, R. *Processos de separação por membranas*. Rio de Janeiro: E – papers, 180 p., 2006.

HENRIQUES, M.; GOMES, D.; RODRIGUES, D.; PEREIRA, C.; GIL, M. *Performance of bovine and ovine liquid whey protein concentrate on functional properties of set yoghurts*. Procedia Food Science, v. 1, p. 2007-2014, 2011.

HERCEG, Z.; REZEK, A.; LELAS, V.; KRESIC, G.; FRANETOVIC, M. *Effect of carbohydrates on the emulsifying, foaming and freezing properties of whey protein suspensions*. Journal of Food Engineering, v. 79, p. 279-286, 2007.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GÓMEZ-RUIZ, J.A. *Bioactive components of ovine and caprine cheese whey*. Small Ruminant Research, v. 101, p. 196-204, 2011.

HUFFMAN, L.M. *Processing whey protein for use as a food ingredient*. Food Technology, v. 50, n. 2, p. 49-52, 1996.

JAMBRAK, A.R.; MASON, T.J.; LELAS, V.; HERCEG, Z.; HERCEG, I.L. *Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions*. Journal of Food Engineering, v. 86, p. 281-287, 2008.

JÖNSSON, A.S.; TRÄGARDH, G. *Ultrafiltration applications*. Desalination, v. 77, p. 135-179, 1990.

KINSELLA, J.E. *Physical properties of food and milk components: research needs to expand uses*. Journal of Dairy Science, v.70, p. 2419-2428, 1987.

LANARA. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes – II métodos físicos e químicos*. LANARA – Laboratório Nacional de Referência Animal, Ministério da Agricultura – Secretaria de Defesa Agropecuária, Portaria 001/81 de 07/10/1981.

LEITE, Z.T.C., VAITSMAN, D.S., DUTRA, P.B. *Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade*. Química Nova, v. 29, n. 4, p. 876-880, 2006.

LIANG, Y.; KRISTINSSON, H.G. *Structural and foaming properties of egg albumen subjected to different pH-treatments in the presence of calcium ions*. Food Research International, v. 40, p. 668-678, 2007.

LIANG, H.N.; TANG, C.H. *pH-dependent emulsifying properties of pea (Pisum sativum L.) proteins*. Food Hydrocolloids, v. 33, p. 309-319, 2013.

LIM, Y.P.; MOHAMMAD, A.W. *Effect of solution chemistry on flux decline during high concentration protein ultrafiltration through a hydrophilic membrane*. Chemical Engineering Journal, v. 159, p. 91-97, 2010.

LOWRY, O.W.; ROSEBROUGH, H.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. *Protein measurements with the Folin phenol reagent*. J. Biol. Chem., v. 193, p. 265-275, 1951.

MACEDO, A.; DUARTE, E.; PINHO, M. *The role of concentration polarization in ultrafiltration of ovine cheese whey*. Journal of Membrane Science, v. 381, p. 34-40, 2011.

MACHADO, F.F.; COIMBRA, J.S.R.; ROJAS, E.E.G.; MINIM, L.A.; OLIVEIRA, F.C.; SOUSA, R.C.S. *Solubility and density of egg white proteins: Effect of pH and saline concentration*. LWT – Lebensm.-Wiss. u.-Technol., v. 40, p. 1304-1307, 2007.

MADRONA, G.S.; ZOTARELLI, M.F.; BERGAMASCO, R.; BRANCO, I.G. *Estudo do efeito da adição de soro de queijo na qualidade sensorial do doce de leite pastoso*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, p. 826-833, 2009.

MAWSON, A.J. *Bioconversions for whey utilization and waste abatement*. Bioresource Technology, v. 47, p. 195-203, 1994.

MILLER, G.D.; MCBEAN, L.; JARVIS, J.K. *Handbook of dairy foods and nutrition*. CRC Press LLC, 2000.

MILLER, G.L. *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*. Analytical Chemistry, v. 31, n. 3, p. 426 - 428, 1959.

MINHALMA, M.; MAGUEIJO, V.; QUEIROZ, D.P.; PINHO, M.N. *Optimization of “Serpa” cheese whey nanofiltration for effluent minimization and by-products recovery*. Journal of Environmental Management, v. 82, p. 200-206, 2007.

MISHRA, S.; MANN, B.; JOSHI, V.K. *Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin*. Food Hydrocolloids, v. 15, p. 9-15, 2001.

MIZUBUTI, I.Y. *Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação*. Semina: Ci. Agr., Londrina, v. 15, p. 80-94, 1994.

MONDOR, M.; ALI, F.; IPPERSIEL, D.; LAMARCHE, F. *Impact of ultrafiltration/diafiltration sequence on the production of soy protein isolate by membrane technologies*. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v. 11, p. 491-497, 2010.

MORR, C.V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A.; LEWIS, B.A.; MANGINO, M.E. *A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure*. Journal of Food Science, v. 50, p. 1715-1718, 1985.

MU, T.H.; TAN, S.S.; XUE, Y.L. *The amino acid composition, solubility and emulsifying properties of sweet potato protein*. Food Chemistry, v. 112, p. 1002-1005, 2009.

MULDER, M. *Basic principles of membrane technology*. 2. ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 564 p., 1996.

NGUYEN, M.; REYNOLDS, N.; VIGNESWARAN, S. *By-product recovery from Cottage cheese production by nanofiltration*. Journal of Cleaner Production, v. 11, p. 803-807, 2003.

NIGAM, M.O.; BANSAL, B.; CHEN, X.D. *Fouling and cleaning of whey protein concentrate fouled ultrafiltration membranes*. Desalination, v. 218, p. 313-322, 2008.

NIKAEDO, P.H.L.; AMARAL, F.F.; PENNA, A.L.B. *Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado proteico de soro e misturas de gomas carragena e guar*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 40, n. 3, p. 397-404, 2004.

NOBLE, R.D.; STERN, S.A. *Membrane separations technology: principles and applications*. Elsevier Science B.V., 731 p., 1995.

OIKONOMOPOULOU, V.P.; KROKIDA, M.K.; KARATHANOS, V.T. *The influence of freeze drying conditions on microstructural changes of food products*. Procedia Food Science, v. 1, p. 647-654, 2011.

PAGNO, C.H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I.C.; FLORES, S.H.; JONG, E.V. *Obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas*. Alim. Nutr. Araraquara, v. 20, n. 2, p. 231-239, 2009.

PAN, K.; SONG, Q.; WANG, L.; CAO, B. *A study of demineralization of whey by nanofiltration membrane*. Desalination, v. 267, p. 217-221, 2011.

PARK, Y.W.; JUAREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G.F.W. *Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk*. Small Ruminant Research, v. 68, p. 88-113, 2007.

PATEL, P.D.; STRIPP, A.M.; FRY, J.C. *Whipping test for the determination of foaming capacity of protein: a collaborative study*. International Journal of Food Science and Technology, v. 23, p. 57-63, 1988.

PEARCE, K.N.; KINSELLA, J.E. *Emulsifying properties of proteins: evaluation of turbidimetric technique*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 26, p. 716-722, 1978.

PELEGRINE, D.H.G.; CARRASQUEIRA, R.L. *Aproveitamento do soro de leite no enriquecimento nutricional de bebidas*. Brazilian Journal of Food Technology, VII BMCFB, p. 145-151, 2008.

PELEGRINE, D.H.G.; GASPARETTO, C.A. *Whey proteins solubility as function of temperature and pH*. LWT – Lebensm.-Wiss. u.-Technol., v. 38, p. 77-80, 2005.

PERRONE, I.T.; PEREIRA, J.P.F.; CARVALHO, A.F. *Aspectos tecnológicos da fabricação de soro em pó: uma revisão*. Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”, n. 380, v. 66, p. 23-30, 2011.

PHILIPPOPOULOS, C.D.; PAPADAKIS, M.T. *Current trends in whey processing and utilization in Greece*. International Journal of Dairy Technology, v. 54, p. 14-19, 2001.

- PORTER, M.C. *Handbook of industrial membrane technology*. Noyes Publications, 619 p., 1990.
- POULIOT, Y. *Membrane process in dairy technology – from a simple idea to worldwide panacea*. International Dairy Journal, v. 18, p. 735-740, 2008.
- POULIOT, Y.; WIJERS, M.C.; GAUTHIER, S.F.; NADEAU, L. *Fractionation of whey protein hydrolysates using charged UF/NF membranes*. Journal of Membrane Science, v. 158, p. 105-114, 1999.
- RABILLER-BAUDRY, M.; GESAN-GUIZIOU, G.; ROLDAN-CALBO, D.; BEAULIEU, S.; MICHEL, F. *Limiting flux in skimmed milk ultrafiltration: impact of electrostatic repulsion due to casein micelles*. Desalination, v. 175, p. 49-59, 2005.
- RAIKOS, V.; CAMPBELL, L.; EUSTON, S.R. *Effects of sucrose and sodium chloride on foaming properties of egg white proteins*. Food Research International, v. 40, p. 347-355, 2007.
- REKTOR, A.; VATAI, G. *Membrane filtration of Mozzarella whey*. Desalination, v. 162, p. 279-286, 2004.
- ROHENKOHL, J.E.; CORRÊA, G.F.; AZAMBUJA, D.F.; FERREIRA, F.R. *O agronegócio de leite de ovinos e caprinos*. Indic. Econ. FEE Porto Alegre, v. 39, n. 2, p. 97-114, 2011.
- ROMÁN, A.; WANG, J.; CSANÁDI, J.; HODÚR, C.; VATAI, G. *Partial demineralization and concentration of acid whey by nanofiltration combined with diafiltration*. Desalination, v. 241, p. 288-295, 2009.
- ROSENBERG, M. *Current and future applications for membrane processes in the dairy industry*. Trends in Food Science and Technology, v. 6, p. 12-19, 1995.
- SECCHI, N.; STARA, G.; ANEDDA, R.; CAMPUS, M.; PIGA, A.; ROGGIO, T.; CATZEDDU, P. *Effectiveness of sweet ovine whey powder in increasing the shelf life of Amaretti cookies*. LWT – Food Science and Technology, v. 44, p. 1073-1078, 2011.
- SGARBIERI, V.C. *Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite*. Brazilian Journal of Food Technology, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2005.
- SGARBIERI, V.C. *Proteínas em alimentos proteicos*. São Paulo: Varela, 517 p., 1996.
- SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. *Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation*. Food Chemistry, v. 101, p. 1484-1491, 2007.
- SISO, M.I.G. *The biotechnological utilization of cheese whey: a review*. Bioresource Technology, v. 57, p. 1-11, 1996.
- SONG, C.S.; NAM, J.H.; KIM, C.J.; RO, S.T. *Temperature distribution in a vial during freeze-drying of skim milk*. Journal of Food Engineering, v. 67, p. 467-475, 2005.
- THOMPSON, A.; BOLAND, M.; SINGH, H. *Milk proteins: from expression to food*. New Zealand: Massey University, 561 p., 2009.

USDEC – U.S. Dairy Export Council. Disponível em <http://www.usdec.org>. Acesso em março de 2013.

USDEC – U.S. Dairy Export Council. *Manual de referência para produtos de soro dos Estados Unidos*, 1997.

VAN OERS, C.W.; VORSTMAN, M.A.G.; KERKHOF, P.J.A.M. *Solute rejection in the presence of a deposited layer during ultrafiltration*. Journal of Membrane Science, v. 107, p. 173-192, 1995.

VAN REIS, R.; BRAKE, J.M.; CHARKOUDIAN, J.; BURNS, D.B.; ZYDNEY, A.L. *High-performance tangential flow filtration using charged membranes*. Journal of Membrane Science, v. 159, p. 133-142, 1999.

WIT, J. N.; KLARENBECK, G. *Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins*. Journal of Dairy Science. v.7, p.2701-2710, 1984.

WU, T.Y.; MOHAMMAD, A.W.; JAHIM, J.M.; ANUAR, N. *Pall oil mill effluent (POME) treatment and bioresources recovery using ultrafiltration membrane: effect of pressure on membrane fouling*. Biochemical Engineering Journal, v. 35, p. 309-317, 2007.

YADA, R.Y. *Proteins in food processing*. England: Woodhead Publishing, 2004.

ZAVARESE, E.R.; MORAES, K.S.; SALAS-MELLADO, M.M. *Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite*. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, p. 100-105, 2010.

ZULKALI, M.M.D.; AHMAD, A.L.; DEREK, C.J.C. *Membrane application in proteomic studies: preliminary studies on the effect of pH, ionic strength and pressure on protein fractionation*. Desalination, v. 179, p. 381-390, 2005.

ZYDNEY, A.L. *Protein separations using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation*. International Dairy Journal, v. 8, p. 243-250, 1998.

APÊNDICE A – MÉTODOS ANALÍTICOS

Este apêndice contém a descrição dos métodos analíticos utilizados para a determinação de proteínas, lactose e sólidos totais.

A.1 Análise de proteína – Método de Lowry

Reagentes

- Reagente A: Dissolver 0,5 g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 1,0 g de citrato de sódio (citrato de Na_3) em 100 mL de água destilada. Solução estável e pode ser preparada com antecedência.
- Reagente B: Dissolver 20,0 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3) e 4,0 g de hidróxido de sódio (NaOH) em 1,0 L de água destilada. Solução não estável e deve ser preparada na hora da análise.
- Reagente C: Misturar 1,0 mL do reagente A e 50,0 mL do reagente B.
- Reagente D: Reagente Folin-Ciocalteus 1 N.
- Solução padrão de BSA $0,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Procedimento

1. Construir uma curva padrão de calibração com cinco concentrações diferentes de proteína BSA – 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; $0,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.
2. Adicionar 2,5 mL do reagente C a um tubo de ensaio contendo 500 μL de amostra diluída apropriadamente e misturar bem. Incubar por 5 a 10 minutos.
3. Adicionar 250 μL do reagente D, misturar bem e incubar por 30 minutos.
4. Ler a absorvância à 750 nm.

Obs.: A curva de calibração deve ser feita sempre que a metodologia for utilizada, já que alguns reagentes não são estáveis e devem ser preparados no momento da análise.

A.2 Análise de lactose – Método do ácido dinitrossalicílico (DNS)

Reagentes

- Tartarato duplo de sódio e potássio
- DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico)

- Hidróxido de sódio
- Solução de lactose 5 g.L⁻¹

Procedimento

1. Preparar uma solução de DNS: 0,25 g de ácido 3,5-dinitrossalicílico, 75 g de tartarato duplo de sódio e potássio dissolvidos em 50 mL de NaOH 2 M e 250 mL de água.
2. Preparar uma solução de lactose 5 g.L⁻¹.
3. Diluir a solução de lactose – 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 g.L⁻¹.
4. Colocar em tubos de ensaio 200 µL de solução de lactose e 2 mL do reagente DNS.
5. Deixar em banho-maria a 100°C por 10 minutos.
6. Esperar esfriar até atingir a temperatura ambiente.
7. Ler a absorvância a 570 nm.

A.3 Análise de sólidos totais – Método gravimétrico

Procedimento

1. Cobrir as cápsulas de fundo chato com 10 g de areia tratada.
2. Levar a estufa a 105 °C por 1 hora.
3. Esfriar em dessecador por 45 minutos e pesar.
4. Pipetar 10 mL de amostra distribuindo a solução em toda a superfície da areia.
5. Levar ao banho-maria por 30 minutos.
6. Secar em estufa a 85 °C por 2 horas.
7. Esfriar em dessecador e pesar.
8. Repetir os procedimentos 6 e 7 até peso constante ou mínimo.

Obs.: quando a quantidade de sólidos totais é muito pequena aconselha-se tomar 20 mL da amostra.

Cálculo

$$ST = \frac{\Delta m}{V} \quad (\text{A.1})$$

onde: ST é o conteúdo de sólidos totais [g.L⁻¹], Δm é a diferença de massa antes e após a secagem [g], e V é o volume da amostra [L].

APÊNDICE B – PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Este apêndice contém a descrição dos métodos utilizados para a determinação das propriedades funcionais de solubilidade proteica, emulsificação e formação de espuma.

B.1 Solubilidade proteica

Reagentes

- Cloreto de sódio 0,1 M
- Hidróxido de sódio 0,1 N
- Ácido clorídrico 0,1 N

Procedimento

1. Pesar aproximadamente 500 mg de amostra em um béquer de 100 mL e anotar.
2. Adicionar um pequeno volume de NaCl 0,1 M até formar uma pasta homogênea.
3. Adicionar NaCl 0,1 M até o volume de 40 mL do béquer.
4. Ajustar o pH desejado com NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N sob agitação.
5. Deixar agitando por 1 hora, conferir o pH a cada 20 minutos e corrigi-lo quando necessário.
6. Transferir a dispersão para um balão volumétrico de 50 mL completando o volume com NaCl 0,1 M.
7. Transferir a solução para tubos de centrífuga de 50 mL. Centrifugar a 6.000 rpm por 30 minutos a 4 °C.
8. Filtrar o sobrenadante.
9. Tomar uma alíquota e dosar o conteúdo de proteína.

Cálculo

$$PS = \frac{C_s \times 50}{W \times S / 100} \times 100 \quad (\text{B.1})$$

onde: PS é o teor de proteínas solúveis presente na amostra [%], C_s é a concentração proteica no sobrenadante [$\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$], W é o peso da amostra [mg], e S é a concentração de proteína na amostra [%].

B.2 Índice de atividade emulsificante

Reagentes

- Solução de SDS (dodecil sulfato de sódio) 0,1%
- Óleo de soja

Procedimento

1. Preparar 75 mL de uma solução de proteína 0,1% (m.v⁻¹) e adicionar 25 mL de óleo de soja.
2. Homogeneizar em liquidificador (velocidade máxima) por 1 minuto.
3. Diluir uma alíquota da amostra (1/100) em solução de SDS 0,1%.
4. Ler a absorbância a 500 nm. Branco: solução de SDS 0,1%.

Obs.: se a absorbância exceder 0,8 deve-se diluir a amostra novamente e acrescentar o fator de diluição nos cálculos.

Cálculo

A turbidez da amostra (T) é dada pela Equação B.2.

$$T = \frac{2,303 \times Ab \times FD}{d} \quad (\text{B.2})$$

onde: Ab é a absorbância, FD é o fator de diluição (100), e d é o diâmetro da cubeta, ou seja é o comprimento de luz que atravessa a amostra (0,01 m).

O índice de atividade emulsificante (IAE) é calculado conforme a Equação B.3.

$$IAE = \frac{2 \times T}{(1 - \phi) \times C} \quad (\text{B.3})$$

onde: T é a turbidez, ϕ é a fração de óleo gasto para formar a emulsão (0,25), e C é a concentração inicial de proteína [g.m⁻³].

Obs.: o IAE tem unidade de área da interface estabilidade por unidade de massa de proteína (m².g⁻¹).

B.3 Expansão e estabilidade de espuma

Procedimento

1. Preparar 250 mL de uma solução 1% de proteína.
2. Manter a solução sob agitação por 5 minutos em liquidificador (velocidade máxima) e transferi-la para uma proveta graduada de 500 mL.
3. Deixar a espuma em repouso por 30 minutos.

Cálculo

A expansão de espuma (FE) é dada pela Equação B.4.

$$FE = \frac{(FV - 250)}{250} \times 100 \quad (\text{B.4})$$

onde: FE é a expansão de espuma [%], e FV é o volume inicial da espuma [mL].

A estabilidade de espuma (FS) é dada pela Equação B.5.

$$FS = \frac{V_{30}}{FV} \times 100 \quad (\text{B.5})$$

onde: FS é a estabilidade de espuma [%], e V_{30} é o volume final de espuma após 30 minutos [mL].

APÊNDICE C – DADOS EXPERIMENTAIS

Neste apêndice estão apresentadas as tabelas referentes aos dados experimentais.

Tabela C.1 Dados de fluxo permeado médio de água destilada e soro de leite de ovelha *in natura* para diferentes pressões na temperatura de 50 °C.

P (bar)	Fluxo permeado água (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Fluxo permeado soro (L.m ⁻² .h ⁻¹)
1	48,7	4,5
2	99,8	8,3
3	140,1	11,8
4	185,3	16,7
5	208,7	17,5

Tabela C.2 Dados de fluxo permeado médio do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	UF	12,1	150	UF	5,2	290	DF 1	4,9
15	UF	10,5	165	UF	4,8	305	DF 1	4,8
30	UF	10,0	180	UF	4,8	320	DF 1	4,7
45	UF	9,5	195	UF	4,7	330	DF 1	4,7
60	UF	8,9	210	UF	4,7	330	DF 2	5,0
75	UF	8,5	225	UF	4,6	345	DF 2	4,9
90	UF	7,9	240	UF	4,6	360	DF 2	4,8
105	UF	7,4	255	UF	4,6	375	DF 2	4,6
120	UF	6,5	275	UF	4,6	390	DF 2	4,5
135	UF	5,7	275	DF 1	4,9			

Tabela C.3 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	UF	12,5	150	UF	6,0	270	DF 1	4,8
15	UF	11,5	165	UF	5,7	285	DF 1	4,8
30	UF	11,5	180	UF	5,4	300	DF 1	4,6
45	UF	10,5	195	UF	5,0	325	DF 1	4,6
60	UF	10,0	210	UF	4,8	325	DF 2	4,9
75	UF	9,7	225	UF	4,6	340	DF 2	4,9
90	UF	9,0	240	UF	4,6	355	DF 2	4,7
105	UF	8,5	225	UF	4,7	370	DF 2	4,6
120	UF	7,9	255	UF	4,5	395	DF 2	4,5
135	UF	6,9	255	DF 1	4,9			

Tabela C.4 Dados de fluxo permeado médio do experimento 2 durante a UF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	15,1	135	9,2
15	12,8	150	8,9
30	12,0	165	8,6
45	11,1	180	7,9
60	10,9	195	7,4
75	10,3	210	7,6
90	10,2	225	6,6
105	10,0	235	6,2
120	9,5		

Tabela C.5 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 2 durante a UF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	13,7	135	7,9
15	11,5	150	8,0
30	11,9	165	8,1
45	9,5	180	7,3
60	9,8	195	7,2
75	9,2	210	7,1
90	9,1	225	7,2
105	9,0	240	6,3
120	8,5	250	5,4

Tabela C.6 Dados de fluxo permeado médio do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	UF	10,0	165	UF	6,8	330	UF	3,6
15	UF	8,7	180	UF	6,5	345	UF	3,4
30	UF	8,3	195	UF	6,5	375	UF	3,0
45	UF	8,2	210	UF	6,3	375	DF 1	4,1
60	UF	8,0	225	UF	6,2	390	DF 1	3,8
75	UF	7,6	240	UF	6,0	405	DF 1	3,5
90	UF	7,5	255	UF	5,2	430	DF 1	3,0
105	UF	7,2	270	UF	4,7	430	DF 2	3,9
120	UF	7,1	285	UF	4,3	445	DF 2	3,9
135	UF	7,0	300	UF	4,1	460	DF 2	3,6
150	UF	6,8	315	UF	3,8	485	DF 2	3,2

Tabela C.7 Dados de fluxo permeado médio da duplicata do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF. Condições de operação: temperatura de 50 °C e pressão de 3 bar.

Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)	Tempo (min)	Etapa	Fluxo permeado (L.m ⁻² .h ⁻¹)
0	UF	9,3	180	UF	6,3	365	UF	3,4
15	UF	8,5	195	UF	6,0	365	DF 1	4,2
30	UF	8,2	210	UF	5,8	380	DF 1	4,0
45	UF	8,2	225	UF	5,8	395	DF 1	3,7
60	UF	7,9	240	UF	5,5	410	DF 1	3,3
75	UF	7,8	255	UF	5,2	420	DF 1	3,0
90	UF	7,7	270	UF	4,9	420	DF 2	4,0
105	UF	7,6	285	UF	4,6	435	DF 2	3,8
120	UF	7,4	300	UF	4,3	450	DF 2	3,5
135	UF	7,2	315	UF	4,1	470	DF 2	3,2
150	UF	6,9	330	UF	3,9			
165	UF	6,6	345	UF	3,6			

Tabela C.8 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	6,72	5,24	82,0	55,5	16,1	6,52	3,91	49,9	45,4	1,3
30	6,43	5,21	85,3	62,3	18,5	6,61	4,06	50,3	47,4	1,5
60	6,22	5,37	90,1	62,6	22,4	6,56	4,08	53,1	51,6	1,4
90	5,90	5,48	93,3	66,1	21,5	6,48	4,24	52,0	51,1	1,2
120	5,93	5,24	96,9	67,0	26,4	5,95	4,42	54,1	52,3	1,2
150	5,88	5,07	103,5	69,3	28,8	6,19	4,54	52,2	51,5	1,2
180	5,95	4,82	107,2	68,9	32,3	6,13	4,73	53,3	52,0	1,4
210	6,04	4,98	110,0	69,3	34,4	6,11	4,97	53,8	50,9	1,5
240	5,62	4,72	115,6	69,0	34,7	5,89	4,89	55,1	53,9	1,4
275	5,55	4,64	128,1	68,8	44,2	5,85	4,90	60,1	56,0	1,4
330	5,67	4,03	115,1	60,2	42,6	5,78	4,17	49,0	46,8	1,5
390	5,86	3,11	104,0	50,6	43,1	5,83	3,26	43,0	40,3	1,0

Tabela C.9 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 1 durante a UF e as duas etapas de DF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	6,08	5,32	75,8	54,7	14,5	6,34	5,18	49,9	41,8	1,3
30	6,02	5,21	80,5	54,8	13,8	6,38	5,19	52,5	42,9	1,6
60	6,40	5,15	84,3	57,1	17,1	6,35	5,21	54,6	44,5	1,6
90	6,42	5,16	89,2	61,8	20,1	6,36	5,26	55,3	47,3	1,5
120	6,30	5,10	94,4	65,5	21,2	6,40	5,25	57,2	49,2	1,4
150	6,30	5,17	102,5	67,2	24,0	6,40	5,27	58,6	50,6	1,3
180	6,22	5,05	110,8	68,1	29,4	6,29	5,01	61,3	51,2	1,4
210	6,17	5,02	117,2	70,6	35,4	6,31	5,15	63,2	53,9	1,5
255	6,25	4,95	133,2	71,2	43,3	6,23	5,19	64,4	57,0	1,6
325	6,28	4,14	117,0	66,7	41,6	6,35	4,74	51,4	48,8	1,4
395	6,09	2,97	105,7	48,9	45,1	6,28	3,32	46,8	41,5	1,1

Tabela C.10 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 2 durante a UF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	5,86	3,11	33,5	25,3	3,9	5,29	2,96	21,7	20,9	0,1
30	5,66	3,05	35,7	28,3	5,8	5,90	2,98	23,2	23,4	0,1
60	5,71	3,12	37,6	29,6	6,5	5,70	2,86	23,8	22,7	0,1
90	5,68	3,10	40,3	27,4	7,2	5,84	2,94	24,0	23,6	0,1
120	5,67	3,03	45,5	31,2	9,4	5,72	3,06	26,8	25,9	0,2
150	5,60	3,01	50,1	35,9	11,4	5,67	3,01	30,9	30,0	0,0
180	5,52	2,99	61,5	41,0	12,5	5,51	3,14	32,1	31,5	0,3
210	5,41	3,09	73,2	45,9	16,9	5,50	3,13	40,2	39,8	0,6
235	5,25	3,16	91,0	56,6	26,0	5,31	3,10	46,2	42,9	0,6

Tabela C.11 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 2 durante a UF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	5,66	3,38	36,6	17,6	5,5	6,04	3,24	25,9	15,4	0,2
30	5,63	3,58	40,4	19,4	6,9	6,13	3,29	25,4	18,6	0,1
60	5,81	3,54	41,7	29,2	8,7	6,17	3,37	26,1	14,4	0,2
90	5,79	3,54	44,4	28,4	5,7	5,85	3,42	26,8	14,9	0,2
120	5,72	3,54	47,3	25,0	11,9	5,87	3,44	27,3	21,5	0,7
150	5,64	3,56	51,0	34,9	12,3	5,68	3,49	28,4	27,0	0,3
180	5,49	3,60	59,3	40,5	16,3	5,53	3,55	34,1	33,5	0,4
210	5,46	3,63	70,6	40,2	22,0	5,51	3,55	37,7	37,1	0,5
250	5,29	3,63	89,5	55,4	22,9	5,33	3,66	44,2	43,8	0,3

Tabela C.12 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	6,11	6,95	71,3	41,1	13,4	6,20	5,99	45,9	27,9	0,4
30	6,19	7,09	73,4	41,2	14,6	6,30	6,26	40,8	29,6	0,4
60	6,16	7,09	75,7	41,8	14,2	6,33	5,98	47,2	28,6	0,4
90	6,18	6,97	78,0	42,7	18,5	6,20	6,09	48,0	32,0	0,5
120	6,28	6,91	80,4	42,6	16,2	6,25	6,16	41,9	32,7	0,6
150	6,26	7,10	83,6	47,3	20,6	6,25	6,14	51,5	36,3	0,5
180	6,26	7,12	83,0	58,4	21,4	6,23	6,09	51,8	44,8	0,4
210	6,44	7,06	92,9	59,0	26,3	6,26	6,20	52,5	45,1	0,8
240	6,23	6,66	98,0	61,4	28,7	6,11	6,27	50,6	48,3	0,5
270	6,22	6,78	104,8	61,9	34,9	6,17	6,32	55,7	49,0	0,8
300	6,21	6,74	114,1	68,3	39,0	6,31	6,40	56,8	49,7	0,7
330	6,14	6,61	123,4	68,7	48,4	6,29	6,55	55,4	53,1	0,8
375	6,35	6,14	139,3	72,3	54,3	6,40	6,54	62,6	55,0	0,5
430	6,37	5,06	118,8	54,5	53,1	6,22	5,26	45,8	36,9	0,5
485	6,13	4,20	111,4	46,6	50,5	6,18	4,20	33,1	32,0	0,5

Tabela C.13 Valores médios de pH, condutividade elétrica, sólidos totais, proteína e lactose do concentrado e permeado da duplicata do experimento 3 durante a UF e as duas etapas de DF.

Tempo (min)	CONCENTRADO					PERMEADO				
	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)	pH	C. elétrica (mS.cm ⁻¹)	ST (g.L ⁻¹)	Lactose (g.L ⁻¹)	Proteína (g.L ⁻¹)
0	6,30	6,92	73,3	46,0	13,7	6,55	6,59	46,2	29,2	0,9
30	6,14	6,44	76,3	46,7	14,2	6,18	6,56	45,8	31,8	0,7
60	6,08	6,65	79,6	48,6	14,2	6,03	6,50	46,6	33,7	0,6
90	6,08	6,26	81,4	49,5	16,9	6,08	6,43	47,9	38,4	0,6
120	6,05	6,29	82,7	50,1	18,3	6,18	6,48	49,2	41,2	0,7
150	6,25	6,32	83,3	53,1	20,7	6,02	6,49	49,4	43,7	0,7
180	6,18	6,30	84,7	57,0	22,8	6,02	6,51	51,1	45,1	0,8
210	6,21	6,21	88,5	58,2	25,3	6,21	6,32	50,2	47,3	0,7
240	6,14	6,33	92,1	62,6	27,5	6,12	6,23	51,2	49,9	0,9
270	6,15	6,30	100,4	65,2	31,7	6,23	6,30	53,9	52,1	0,8
300	6,09	6,29	112,6	66,9	36,4	6,24	6,28	56,0	55,5	0,7
330	6,20	6,27	126,1	72,7	44,2	6,17	6,39	58,3	55,9	0,7
365	6,26	6,19	136,6	79,5	52,1	6,25	6,46	61,5	56,6	0,7
420	6,23	4,98	116,8	62,3	53,9	6,15	5,13	45,5	39,3	0,7
470	6,17	4,11	112,3	51,8	51,1	6,19	4,18	37,2	33,4	0,7

Tabela C.14 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 1.

Tempo (min)	ST (%)	Lactose (%)	Proteína (%)
0	39,2	18,3	92,0
30	41,1	23,9	91,9
60	41,1	17,6	93,8
90	44,2	22,6	94,4
120	44,2	22,0	95,5
150	49,6	25,6	95,9
180	50,2	24,5	95,8
210	51,1	26,5	95,7
240	52,3	21,9	96,0
275	53,1	18,7	96,9
330	57,4	22,2	96,6
390	58,7	20,3	97,8

Tabela C.15 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 2.

Tempo (min)	ST (%)	Lactose (%)	Proteína (%)
0	35,4	17,5	98,2
30	35,0	17,5	98,8
60	36,6	23,2	98,7
90	40,4	13,7	99,1
120	41,1	17,0	97,7
150	38,3	16,4	99,8
180	47,9	23,1	97,4
210	45,1	13,3	96,7
235	49,2	24,3	97,6

Tabela C.16 Dados de retenção de sólidos totais, lactose e proteína para o experimento 3.

Tempo (min)	ST (%)	Lactose (%)	Proteína (%)
0	35,6	32,2	96,8
30	44,4	28,3	97,4
60	37,6	31,5	97,2
90	38,5	25,3	97,2
120	47,9	23,3	96,3
150	38,4	23,2	97,4
180	37,6	23,3	98,0
210	43,5	23,5	97,0
240	48,3	21,2	98,1
270	46,8	20,8	97,7
300	50,2	27,3	98,3
330	55,1	22,6	98,3
375	55,1	24,0	99,1
430	61,4	32,3	99,1
485	70,3	31,3	99,2

Tabela C.17 Fluxo permeado médio ($L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 1.

P (bar)	Antes do soro	Depois do soro	Depois da limpeza
1	46,7	1,6	43,9
2	97,6	3,1	93,9
3	135,2	4,3	130,5
4	179,3	6,0	181,1
5	200,3	7,6	197,8

Tabela C.18 Fluxo permeado médio ($L.m^{-2}.h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 2.

P (bar)	Antes do soro	Depois do soro	Depois da limpeza
1	42,7	2,0	46,5
2	93,2	4,2	93,3
3	134,6	6,6	136,2
4	179,6	10,8	176,1
5	199,2	16,8	197,8

Tabela C.19 Fluxo permeado médio ($L.m^{-2}.h^{-1}$) de água destilada em função da pressão transmembrana antes e depois da operação com o soro e após a limpeza química do sistema para o experimento 3.

P (bar)	Antes do soro	Depois do soro	Depois da limpeza
1	45,2	2,8	43,9
2	94,7	4,8	85,6
3	137,4	5,2	132,2
4	174,2	5,8	167,5
5	197,8	7,3	191,9

Tabela C.20 Valores médios de solubilidade proteica (%) dos concentrados obtidos nos experimentos 1, 2 e 3.

pH	CP – 1	CP – 2	CP – 3
2	85,5	42,7	74,7
3	65,0	31,8	59,7
4	56,5	23,2	44,5
5	39,2	21,1	40,9
6	65,3	27,3	52,0
7	75,9	25,9	59,1
8	69,1	21,1	49,1
9	81,2	28,1	66,5
10	86,8	37,4	77,3