

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Priscilla Celestino Almeida de Souza

**RECUPERAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE BUBALINO ATRAVÉS DA
COAGULAÇÃO COM QUITOSANA E POR PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR
MEMBRANAS**

Belo Horizonte

2017

Priscilla Celestino Almeida de Souza

**RECUPERAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE BUBALINO ATRAVÉS DA
COAGULAÇÃO COM QUITOSANA E POR PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR
MEMBRANAS**

Manuscrito de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais.

Orientadora: Profa. Dra. Viviane Santos
Birchal

Belo Horizonte

2017

S729r	<p>Souza, Priscilla Celestino Almeida de.</p> <p>Recuperação de proteínas do soro de leite bubalino através da coagulação com quitosana e por processo de separação por membranas [recurso eletrônico] / Priscilla Celestino Almeida de Souza. - 2017.</p> <p>1 recurso online (107 f. : il., color.) : pdf.</p> <p>Orientadora: Viviane Santos Birchal.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.</p> <p>Anexos: f. 96-107.</p> <p>Bibliografia: f. 88-95.</p> <p>Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.</p> <p>1. Engenharia química - Teses. 2. Búfalo - Teses. 3. Soro de leite - Teses. 4. Proteínas - Teses. 5. Coagulação - Teses. 6. Membranas (Tecnologia) - Teses. I. Birchal, Viviane Santos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 66.0(043)</p>
-------	--



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

“Recuperação de proteínas do soro de leite bubalino através da coagulação com quitosana e por processo de separação por membranas”

Priscilla Celestino Almeida de Souza

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos à obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA QUÍMICA.

219ª DISSERTAÇÃO APROVADA EM 14 DE FEVEREIRO DE 2017 POR:

Prof. Dra. Lucia Peret de Almeida
UNI-BH

Prof. Dra. Sônia Denise Ferreira Rocha
DEMIN/UFMG

Prof. Dra. Viviane Santos Birchal
Orientadora - DEQ/UFMG

AGRADECIMENTO

O mestrado foi uma etapa fundamental para o meu conhecimento. Deixo meus agradecimentos a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse trabalho. Por ter certeza do apoio desta conquista, venho agradecer:

Primeiramente a Deus por ter me escolhido e ter me capacitado para concluir este trabalho.

Aos meus pais, irmãos e ao Cleidemar pela compreensão, afeto e apoio e a toda minha família pelo apoio incondicional.

À Profa. Dra. Viviane Santos Birchal pela orientação deste trabalho e pela amizade. Muito obrigado pelas conversas, orientações e apoio.

Ao Laticínio Bom Destino, principalmente ao Albano pelo fornecimento do soro utilizado no trabalho.

À empresa Invita Nutrição especializada, nas figuras de Wendel Cardoso e Viviane Silva que deram suporte essencial no Processo de Separação por Membranas e Secagem por *Spray Dryer*.

Às Profas. Dras. Lucia Péret de Almeida e Sônia Denise Ferreira Rocha por terem aceitado o convite para participar da minha banca de mestrado e por todas as contribuições valiosas para o engrandecimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Cardoso, que me acompanhou durante o mestrado.

Às Profas. Dras. Cláudia Penna, Elizete Lange pelo auxílio nos experimentos.

À todos professores, técnicos principalmente o Marco do Laboratório de físico-química e alunos do DEQ-UFMG pelo carinho e presteza de sempre.

Aos amigos de mestrado e do Laboratório de Processos Industriais, que foram imprescindíveis durante essa caminhada.

À FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro.

RESUMO

O soro é um co-produto produzido indiretamente em laticínios, proveniente da fabricação de queijo e caseína, e possui em sua composição água, proteínas, gorduras, lactose e minerais. Apesar de seu expressivo volume gerado, alguns laticínios destinam o soro como efluente, que, quando não tratado, pode gerar problemas ambientais. O soro proveniente de derivados de leite bubalino é pouco difundido no Brasil, porém por possui maior conteúdo de matéria seca quando comparado ao soro bovino, torna-se interessante para produção de derivados lácteos. O presente trabalho objetiva concentrar e produzir um material em pó do soro de leite bubalino, recuperando a proteína visando um produto de maior valor agregado e a consequente redução do valor poluente do efluente da indústria de derivados deste leite. Para alcançar esse objetivo avaliam-se o processo de concentração através de quitosana e o processo de separação por membranas empregando-se a ultrafiltração e diafiltração e a combinação de ambos os processos. Após avaliação, o melhor processo de recuperação de proteínas do soro, determinado foi o processo de separação por membranas, realizou-se o processo de secagem em *spray* do material obtido. Posteriormente avaliaram-se as propriedades tecnológicas do produto em pó, como solubilidade proteica e estabilidade na formação de espuma.

Palavras-chave: *soro de leite bubalino, proteínas, processo de separação por membranas, coagulação e propriedades tecnológicas.*

SUMMARY

Whey is a co-product produced indirectly in dairy products, from the manufacture of cheese and casein, and has water, proteins, fats, lactose and minerals in its composition. Despite its expressive generated volume, some dairy products use whey as effluent, which, if not treated, can cause environmental problems. Whey from buffalo milk derivatives is not widespread in Brazil, but because it has a higher dry matter content when compared to bovine whey, it is interesting for the production of dairy products. The present work aims to concentrate and produce a powdered material of buffalo whey, recovering the protein aiming at a product with greater added value and the consequent reduction of the pollutant value of the effluent from the industry of derivatives of this milk. To achieve this objective, the concentration process using chitosan and the membrane separation process using ultrafiltration and diafiltration and the combination of both processes are evaluated. After evaluation, the best whey protein recovery process was determined by the membrane separation process, and the obtained material was spray-dried. Subsequently, the technological properties of the powdered product were evaluated, such as protein solubility and foaming stability.

Keywords: buffalo whey, proteins, membrane separation process, coagulation and technological properties.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fluxograma do processo de produção de queijo muçarela de Búfala	19
Figura 2- A aproximação entre as partículas.....	29
Figura 3 - Configuração esquemática da dupla camada elétrica.....	30
Figura 4- Teste de Jarros (<i>Jar Test</i>).....	31
Figura 5-Estrutura química da quitina, quitosana e celulose, com destaque para os grupos funcionais que se diferenciam.	32
Figura 6-Eschema do Processo de separação por membranas.	35
Figura 7- Curva de secagem.....	41
Figura 8-Processo de secagem pelo spray drying.	43
Figura 9-Etapas de formação do microencapsulado no <i>spray drying</i>	44
Figura 10 - Curvas de isotermas de sorção.....	47
Figura 11- Módulo de membrana de ultrafiltração.....	49
Figura 12- Diagrama de blocos da metodologia.....	52
Figura 13-Sistema de Ultrafiltração por módulo de membrana de fibra oca de 10 kDa.	56
Figura 14 - Esquema do processo de ultrafiltração.	57
Figura 15 - Esquema do processo de diafiltração.	57
Figura 16-Mini Spray Drying.....	59
Figura 17 - Diagrama de blocos da metodologia.	61
Figura 18- Análise de resíduos do ensaio de coagulação.....	65
Figura 19- Efeito dos fatores sobre a concentração de proteína no ensaio de coagulação.	65
Figura 20 - Compactação da membrana de 10 KDA fibra oca fluxo permeado x tempo.	70
Figura 21- Ultrafiltração e diafiltração com utilização da membrana de 10 KDA fibra oca fluxo permeado x tempo	71
Figura 22 - Fator de retenção da proteína do soro de leite bubalino durante a ultrafiltração.....	72
Figura 23 – Sólidos totais x tempo	73
Figura 24 - Lactose x tempo.....	74
Figura 25- Concentração proteína x tempo	75
Figura 26- Condutividade elétrica x tempo.	76

Figura 27-Concentrado de soro de leite ultrafiltrado seco por Spray Drying.	79
Figura 28 - Curvas de secagem do coagulado em diferentes temperaturas	80
Figura 29 - Resultado da variação da taxa de secagem X tempo.	81
Figura 30- Resultado da variação do teor de umidade X atividade de água, para temperatura de 55°C.	82
Figura 31- Curvas de Solubilidade para as proteínas do soro de leite bubalino em diferentes processos.	83
Figura 32- Curvas de carácter de de formação de espumas para as proteínas do soro de leite bubalino em diferentes processos.	84

Listas de Tabelas

Tabela 1- Composição química do leite bovino e bubalino.	16
Tabela 2- Rendimento dos derivados do leite bubalino e do leite bovino.....	18
Tabela 3- Composição química do soro doce bovino e bubalino.	22
Tabela 4- Massa molar e ponto isoelétrico das proteínas do soro bubalino.....	23
Tabela 5- Tamanho de poros e limites de pressão do PSM.....	37
Tabela 6- Características dos atomizadores.	45
Tabela 7- Níveis das variáveis avaliadas nos experimentos.	53
Tabela 8 - Delineamento composto central rotacional	53
Tabela 9- Variação da vazão de alimentação de água destilada a 50°C.	54
Tabela 10- Valores médios e desvio padrão dos resultados obtidos para o soro de leite bubalino.....	62
Tabela 12- Análise de variância segundo ensaio	66
Tabela 13 - Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do filtrado e coagulado do soro de leite bubalino.....	66
Tabela 14 - Comparações dos resultados de diferentes referências.	69
Tabela 15- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do concentrado e permeado do ultrafiltrado e diafiltrado do soro de leite bubalino	73
Tabela 16- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do concentrado ultrafiltrado do soro de leite bubalino seco.	76
Tabela 17- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do coagulado por quitosana seco, concentrado ultrafiltrado seco e a combinação dos fatores.	77

SUMÁRIO

1. 1. INTRODUÇÃO	12
1.1 <i>Objetivo geral</i>	13
1.2 <i>Objetivos Específicos.....</i>	14
<i>Para atingir o objetivo geral proposto, objetiva-se especificamente:.....</i>	14
• <i>Caracterizar o soro de leite bubalino;</i>	14
• <i>Investigar as condições de coagulação com quitosana;</i>	14
• <i>Avaliar o processo de separação por membranas (PSM) por ultrafiltração e diafiltração; ...</i>	14
• <i>Avaliar a combinação de ambos os processos;</i>	14
• <i>Caracterizar o coagulado e o concentrado obtido;</i>	14
• <i>Avaliar os resultados da ultrafiltração e da diafiltração;</i>	14
• <i>Obter um produto em pó através da secagem por Spray;</i>	14
• <i>Verificar a propriedade de estabilidade e formação e estabilidade da espuma do concentrado do soro de leite bubalino.</i>	14
2. 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 <i>Leite Bubalino.....</i>	15
2.1.1 <i>Derivados do leite Bubalino.....</i>	18
2.2 <i>Soro Lácteo</i>	20
2.2.1 <i>Componentes do Soro Lácteo</i>	21
2.2.1.1 <i>Proteínas do Soro</i>	22
2.2.2 <i>Concentrado de soro de leite</i>	24
2.2.3 <i>Benefícios do soro lácteo.....</i>	25
2.3 <i>Propriedades funcionais e tecnológicas das proteínas.....</i>	25
2.3.1 <i>Solubilidade.....</i>	27
2.3.2 <i>Propriedades Espumantes.....</i>	27
2.4 <i>Processos de Obtenção do concentrado proteico</i>	28
2.4.1 <i>Coagulação e floculação.....</i>	28
2.4.1.1 <i>Aspectos gerais.....</i>	28
2.4.1.2 <i>O sistema de teste de Jarros (Jartest).....</i>	30
2.4.1.3 <i>Quitosana</i>	32
2.4.2 <i>Processo de Separação por membranas PSM.....</i>	33
2.4.2.1 <i>Ultrafiltração (UF).....</i>	37
2.4.2.2 <i>Fluxo permeado e seletividade</i>	38
2.4.2.3 <i>Fenômenos que afetam o desempenho da UF.....</i>	38
2.4.2.4 <i>Aplicações PSM nas indústrias de laticínios.....</i>	39
2.5 <i>Secagem de sólidos</i>	40
2.5.1 <i>Curvas de secagem</i>	40
2.5.2 <i>Secagem por Atomização</i>	42
2.5.3 <i>Atomização.....</i>	44
2.6 <i>Atividade de água.....</i>	45
2.6.1 <i>Curvas de sorção</i>	46
3. 3. MATERIAIS E MÉTODOS	48
3.1 <i>Matéria-prima</i>	49
3.2 <i>Material.....</i>	49
3.3 <i>Equipamentos e acessórios</i>	50
3.4 <i>Caracterização do soro de leite bubalino.....</i>	50
3.5 <i>Ensaio de Coagulação</i>	51

<i>Para verificação da concentração pelo uso de centrifuga foi realizado um segundo ensaio variando-se a temperatura de 6 °C a 34 °C com a utilização de centrifuga a 5000 rpm por 10 minutos.</i>	53
3.6 <i>Caracterização físico-química do coagulado e filtrado</i>	54
3.7 <i>Ensaio do Processo de Separação por Membranas - PSM.....</i>	54
3.7.1 <i>Estudo do comportamento da membrana.....</i>	54
3.7.2 <i>PSM por Ultrafiltração</i>	56
3.7.3 <i>PSM Diafiltração.....</i>	57
3.7.4 <i>Análises da caracterização do concentrado e permeado</i>	58
<i>Permeado ultrafiltrado e diafiltrado: pH, acidez, turbidez, DQO, condutividade elétrica, extrato seco total, lactose, proteína.</i>	58
<i>Concentrado ultrafiltrado e diafiltrado: pH, acidez, condutividade elétrica, extrato seco total, lactose, proteína.</i>	58
3.8 <i>Processo combinado de coagulação com quitosana e separação por membranas</i>	58
3.9 <i>Ensaio de secagem</i>	58
3.9.1 <i>Ensaio de secagem do concentrado.....</i>	58
3.9.3 <i>Isoterma de Sorção.....</i>	60
3.9. <i>Propriedades tecnológicas e funcionais.....</i>	60
4. 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
5. SÃO APRESENTADOS OS RESULTADOS E UMA DISCUSSÃO DESTES A CERCA DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO SORO DE LEITE BUBALINO E SUAS CONSIDERAÇÕES, ALÉM DO RESULTADO DA COAGULAÇÃO QUÍMICA POR QUITOSANA E SEPARAÇÃO POR MEMBRANASE DA SECAGEM.....	62
4.1 <i>Análises da caracterização do soro de leite bubalino.....</i>	62
<i>Os resultados dos parâmetros avaliados como pH, acidez, turbidez, DQO, extrato seco total, lactose, proteínas, cinzas, lipídios, bem como suas médias e desvios padrão obtidos na caracterização da amostra de soro seguem apresentados na Tabela 10.</i>	62
<i>Tabela 10- Valores médios e desvio padrão dos resultados obtidos para o soro de leite bubalino.....</i>	62
<i>Fonte: Autor (2106)</i>	63
<i>O resultado das proteínas no soro de leite bubalino neste trabalho foi de 0,89% ± 0,08 mostrando-se próxima ao relatado por LIMA et al (2014), que citam 0,91%, já LIRA et al.(2009) e SOARES et al. (2012) citam 1,19% e 1,08%.</i>	64
<i>O soro de leite bubalino é um produto muito susceptível a variações em sua composição química devido a diversos fatores como questões relacionadas ao animal, clima, método de fabricação, acidez onde relaciona o soro ácido com maiores concentrações de sais de cálcio e fósforo, o que explica as pequenas divergências de valores na composição quando comparado a com a literatura.</i>	64
4.2 <i>Ensaio de coagulação</i>	64
4.2.1 <i>Delineamento Rotacional Composto (DCCR).....</i>	64
4.2.2 <i>Análises da caracterização do coagulado e filtrado.....</i>	66
<i>Os resultados dos parâmetros avaliados como pH, turbidez, acidez, extrato seco, cinzas, umidade, DQO, lactose, proteínas e lipídios do sobrenadante do coagulado secobem como suas médias e desvios padrão obtidos na caracterização da amostra de soro seguem apresentados na Tabela 13.</i>	66
4.3 <i>Ensaio de PSM.....</i>	70
4.3.1 <i>Caracterização do comportamento da membrana.....</i>	70
4.3.1.1 <i>Compactação das membranas</i>	70
4.3.1.2 <i>Fator de retenção</i>	72
4.3.2 <i>Análises da caracterização do concentrado e permeado</i>	72
4.3.3 <i>Análises da caracterização do concentrado seco.....</i>	76
<i>O concentrado ultrafiltrado obteve maiores concentrações de proteína, após esse resultado foi realizado a secagem por spray drying e estão descritos na Tabela 16.....</i>	76

<i>De acordo com os resultados da Tabela 16 verifica-se que a concentração de proteínas e lactose alcançaram maiores valores comparados com coagulação por quitosana 13% e 25% respectivamente, porém obteve menor concentração de lipídeos.</i>	<i>77</i>
<i>4.4 Combinação dos métodos de coagulação por quitosana e PSM</i>	<i>77</i>
<i>4.5 Secagem</i>	<i>78</i>
<i>4.5.1 Ensaio de secagem</i>	<i>78</i>
<i>4.5.2 Atividade de água</i>	<i>81</i>
<i>4.6 Propriedades Funcionais e tecnológicas das proteínas</i>	<i>82</i>
6. 5. CONCLUSÃO	86
<i>5.1 Sugestões para trabalhos futuros</i>	<i>88</i>
7. 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
8. 7. ANEXOS	97

1. INTRODUÇÃO

As indústrias de laticínios contribuem significativamente no contexto econômico do Brasil, dentre as indústrias alimentícias. Na fabricação de derivados como queijos e caseína é gerado o soro, que, se bem aproveitado, pode gerar um produto de grande valor agregado.

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a industrialização de leite no 1º trimestre de 2016 foi 5,86 bilhões de litros, registrando um aumento de 4,5% frente ao 1º trimestre de 2015 (IBGE, 2016). Porém, o processamento do soro de leite ainda é incipiente, mas tem-se observado o crescente interesse em métodos para aprimorar a concentração de proteínas presentes no soro de leite e o seu emprego no enriquecimento de produtos alimentícios tem aumentado consideravelmente (BÁGUENA *et al.*, 2015; 2012; KOH *et al.*, 2014; PALATNIK *et al.* 2015 e STEINHAEUER *et al.*, 2015). Essas tecnologias devem ser capazes de reaproveitar seus nutrientes e, preferencialmente, serem acessíveis a pequenos e médios produtores.

O intuito de concentrar as soro proteínas é justificável, pois constituem mais uma fonte de proteína na alimentação humana, além de levar à diminuição da carga poluidora gerada nos laticínios. Dessa forma, o conteúdo proteico do soro de leite pode ser utilizado em diversas indústrias, passando da categoria de um material altamente poluidor para um produto valorizado e de aplicação adequada.

Existem diversos estudos realizados com o soro de leite bovino, porém não ocorre o mesmo com o soro de leite bubalino. Ressalta-se que há poucos estudos reportados na literatura referentes ao processamento de soro de leite bubalino, o que justifica este estudo.

O leite bubalino possui maior concentração de matéria seca quando comprado ao leite bovino, o que influi no maior rendimento de proteínas, além disso, possui superioridade de 25% de aminoácidos essenciais (VERUMA e SALGADO, 1994). Apresenta também uma maior quantidade de ácidos graxos comparado ao leite bovino (VERUMA e SALGADO, 1994), além de seu menor conteúdo de colesterol total (275 mg/100g e 330mg/100g, respectivamente) (AMARAL *et al.*, 2005; PITACAS e MOITINHO, 2013).

Uma alternativa para obter um melhor rendimento do soro de leite é através da coagulação. Pesquisas com o soro bovino apresentaram bons resultados empregando-se a quitosana, um polímero natural, utilizado para coagulação e floculação das proteínas (JERÔNIMO e SOUZA, 2012), o que estimula a investigação de seu emprego no processamento do soro de leite bubalino.

Outro processo utilizado para concentrar as proteínas é o processo de separação por membranas, técnica com boa eficiência que consegue separar os componentes do soro por diferença de tamanho molecular. A ultrafiltração é um processo de separação por membranas, sendo um dos principais processos para separar os constituintes do soro, utiliza-se a diferença de pressão como força motriz. Parâmetros operacionais tais como fluxo e pressão são importantes e podem ser modificados para melhor efetividade do processo, possui como produto o material retido (concentrado) e o material filtrado (permeado) (BAKER, 2004).

O concentrado produzido se torna efetivamente viável se reduzido a pó, diminuindo a umidade e propiciando sua utilização por um maior período. A opção utilizada neste trabalho foi a secagem em *spray*, que produz partículas geralmente ocas com uma distribuição granulométrica relativamente estreita. A secagem por *spray* ocorre rapidamente devido ao aumento da área superficial do material atomizado, facilitando os mecanismos de transferência de massa e calor. Devido ao curto tempo de exposição da matéria, é indicada para secagem do soro de leite por ser este um produto termolábil (MUJUMDAR, 2014).

Os concentrados proteicos também são utilizados nas indústrias de alimentos e bebidas com intuito de fornecerem melhores propriedades tecnológicas como solubilidade proteica e estabilidade de espuma o que justifica a sua aplicação.

Este trabalho apresenta, no item 2 uma revisão bibliográfica sobre soro de leite bubalino, coagulação, processo de separação por membranas, secagem de sólidos e propriedades tecnológicas; no item 3a metodologia, empregada nos ensaios; no item 4os resultados e discussão e no item 5as conclusões.

1.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo geral desenvolver um concentrado proteico utilizando os processos de coagulação por quitosana e separação por membranas através da ultrafiltração e diafiltração e a combinação dos mesmos, além da secagem através do processo de *spray*.

1.2 Objetivos Específicos

Para atingir o objetivo geral proposto, objetiva-se especificamente:

- Caracterizar o soro de leite bubalino;
- Investigar as condições de coagulação com quitosana;
- Avaliar o processo de separação por membranas (PSM) por ultrafiltração e diafiltração;
- Avaliar a combinação de ambos os processos;
- Caracterizar o coagulado e o concentrado obtido;
- Avaliar os resultados da ultrafiltração e da diafiltração;
- Obter um produto em pó através da secagem por *Spray*;
- Verificar a propriedade de estabilidade e formação e estabilidade da espuma do concentrado do soro de leite bubalino.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Serão apresentados conceitos concernentes ao soro de leite de búfala, aos métodos de recuperação de proteínas e à secagem por *spray*, além de considerações importantes para o entendimento do desenvolvimento experimental deste trabalho e para discussão dos resultados analisados.

2.1 Leite Bubalino

A introdução de búfalas no Brasil aconteceu em 1890 na Ilha de Marajó, no Pará. Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil possui a maior população bubalina da América Latina, com um rebanho estimado em 1,15 milhão, sendo a região Norte a mais representativa com 720 mil animais, com destaque para o Pará, que responde por 39% do rebanho nacional. Em seguida aparecem o Nordeste e o Sudeste, com 135 e 104 mil cabeças, respectivamente (MAPA, 2016; ROSA *et al.*, 2007). É considerado um animal de excelente adaptabilidade inclusive em áreas impróprias para bovinos (OLIVEIRA, 2005; BASTIANETTO, 2009; JORGE, GOMES e HALT, 2002).

Segundo PITACAS e MOITINHO (2013), a Itália é o país europeu com maior número de búfalas, além disso, possui a maior linha de produção especializada em derivados do leite bubalino, sendo que, sua maior contribuição refere-se à produção do queijo muçarela

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a produção mundial de leite de búfalas superou 92 bilhões de litros apresentando participação de 10,5% na produção total de leite mundial, sendo inferior somente ao leite bovino. A Índia e o continente asiático, incluindo Paquistão, China e Turquia fornecem a maior contribuição dessa totalidade (FAO, 2013).

Apesar do aumento da produção de leite de búfalas no Brasil, ainda não existe uma legislação específica para determinar padrão de qualidade e identidade do leite de búfalas. É usualmente utilizada uma resolução da Secretaria de N.º 24, de 01 agosto de 1994 do estado de São Paulo (SÃO PAULO, 1994). Essa resolução possui normas técnicas de produção e classificação de produtos de origem animal e as relativas atividades de fiscalização e inspeção dos produtos, determinando alguns parâmetros de qualidade do leite bubalino, estabelecendo valores mínimos de 4,5% para o teor de gordura, mas não faz referências para lactose, proteína e sólidos totais.

Além destes requisitos, a resolução estabelece a proibição de adição de leite de outras espécies de animais ao leite de búfala (SÃO PAULO, 1994, AMARAL et. al, 2005).

Para aumentar o consumo de derivados lácteos bubalinos no Brasil, algumas mudanças devem ser inseridas. E é possível, por exemplo: destinar maiores investimentos para o setor, na divulgação dos produtos e informações sobre seus benefícios, além da criação de uma legislação específica de qualidade.

O leite de búfala possui algumas características físico-químicas e organolépticas peculiares como a coloração totalmente branca, devido ao constituinte β -caroteno ser completamente transformado em retinol, o que também confere cor branca característica em seus derivados e sabor levemente adocicado. É mais concentrado que o leite bovino, apresentando assim menor teor de água e maiores valores de sólidos totais (TEIXEIRA; BASTIANETTO e OLIVEIRA, 2005; ANDRIGHETTO, 2011). A composição química do leite bubalino pode sofrer oscilações em função dos efeitos genéticos e ambientais como estação do ano, ordem de partos, idade, influenciando consideravelmente a produção e composição do leite de búfalas (AMARAL *et al.*, 2005; JORGE, GOMES e HALT, 2002).

Em estudo feito por AMARAL *et al.*, 2005, observou-se a diferença da composição do leite bubalino de acordo com as estações do ano, onde os maiores percentuais de extrato seco foram observados na primavera e os menores no outono/inverno.

Existem diferenças entre a composição química dos leites bubalino e bovino. A Tabela 1 mostra um comparativo entre os dois tipos de leites.

Tabela 1- Composição química do leite bovino e bubalino.

Parâmetros	Leites	
	Búfala	Vaca
Umidade (%)	82,05 - 83,00	87,25 - 88,00
Gordura (%)	6,85 - 8,16	3,68 - 4,77
Proteína (%)	3,68 - 4,50	2,70 - 3,70
Lactose (%)	3,83 - 5,18	3,74 - 4,85
Cinzas (%)	0,70 - 0,73	0,70 - 0,82
Extrato seco total (%)	17,00 - 17,95	12,00 - 12,19
Calorias por 100 ml	104,29	62,83

Fonte: Adaptado de Amaralet *al.* (2005); Verruma e Salgado(1994); Huhnet *al.*(1982).

De acordo com a Tabela 1, o leite bubalino possui maiores teores de proteína, gordura e lactose quando comparados ao leite bovino.

As proteínas são moléculas orgânicas formadas por aminoácidos que se unem através de ligações polipeptídicas, geralmente de forma helicoidal. São constituídas basicamente por aminoácidos essenciais e não essenciais (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

Os aminoácidos essenciais devem ser obtidos através da alimentação, uma vez que o organismo humano não é capaz de sintetizá-los. Esse grupo é formado pelos seguintes aminoácidos: Metionina, Histidina, Valina, Leucina, Isoleucina, Lisina, Fenilalanina, Treonina, Triptofano, Arginina. A Histidina e Arginina são essenciais nos primeiros momentos da vida, depois passam a ser sintetizados pelo organismo (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010). Os aminoácidos essenciais são facilmente digeridos gerando um interesse para indústria de alimentos. O leite bubalino possui superioridade de 25% de aminoácidos essenciais comparado ao leite bovino (VERUMA e SALGADO, 1994).

Já os aminoácidos não essenciais que o organismo humano pode sintetizar, nomeadamente: Alanina, Cisteína, Asparagina, Glutamina, Glicina, Prolina, Serina, Tirosina, ácido aspártico, ácido glutâmico (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

As proteínas do leite bubalino, igualmente as proteínas do leite bovino se dividem em 80% de caseína e 20% de soroproteínas (AMARAL *et al.*, 2005; ALVES *et al.*, 2014).

A caseína é base para elaboração de derivados do leite, como o queijo. Quando as caseínas se apresentam na forma de partículas com tamanho reduzido junto com sais de cálcio, fósforo e outros são chamadas de micelas sua dispersão no leite é conhecida como suspensão coloidal, que precipita a temperatura de 20°C e pH 4. Se a temperatura for inferior a esse valor a precipitação não ocorre completamente. Quando ocorre a precipitação aproximadamente 96% da caseína permanece no coalho, ou seja, parte da caseína pode não coagular, ficando presente no soro lácteo (ANTUNES, 2003). As caseínas do leite bubalino possuem diâmetro de 110 a 150 nm, enquanto que do leite bovino varia de 70 a 110 nm (ANTUNES, 2003; BONFATTI *et al.*, 2012).

SHEEHAN e PHIPATANAKUL (2009) relatam em seus estudos que algumas crianças que possuem restrição ao leite bovino não apresentam essa intolerância

quando se alimentam do leite bubalino sugerindo que existem proteínas alergênicas no leite de vaca que não estão contidas no leite de búfala e vice-versa.

A gordura do leite está presente na forma de glóbulos, em sua composição encontram-se os triglicerídeos que são protegidos por uma membrana lipoprotéica. A composição e estrutura da membrana pode ter influência de diversos fatores, mas, em geral, ela é constituída, por aproximadamente, 25% de proteínas, principalmente glicoproteínas, e 75% de lipídios. A massa molar da gordura varia de 100 a 15000 kDa (MILLER *et al.*, 2000 COSTA *et al.*, 2009). O colesterol total do leite bubalino é menor quando comparado ao leite de vaca (275 mg/100g e 330mg/100 g) (AMARAL *et al.*, 2005; PITACAS e MOITINHO, 2013).

Em relação aos minerais, o leite bubalino possui entre 0,79 e 0,83 %, sendo até 25% deste conteúdo de cálcio, maior do que no leite bovino. O elevado teor de cálcio no leite de búfala é de grande importância pelo seu valor nutricional e tecnológico, na elaboração de produtos lácteos (TEIXEIRA, BASTIANETTO e OLIVEIRA, 2005; VERUMA e SALGADO, 1994).

2.1.1 Derivados do leite Bubalino

Atualmente são comercializados diversos produtos a base de leite bubalino, além de diversos queijos já são fabricados iogurtes, coalhada, requeijão e manteiga. O menor teor de água e os maiores teores de gordura e proteína tornam o leite de búfala de 20 a 40 % mais rentável para seus produtos conforme exemplifica a Tabela 2 (PITACAS E MOITINHO, 2013; ANDRIGHETTO, 2011).

Tabela 2- Rendimento dos derivados do leite bubalino e do leite bovino.

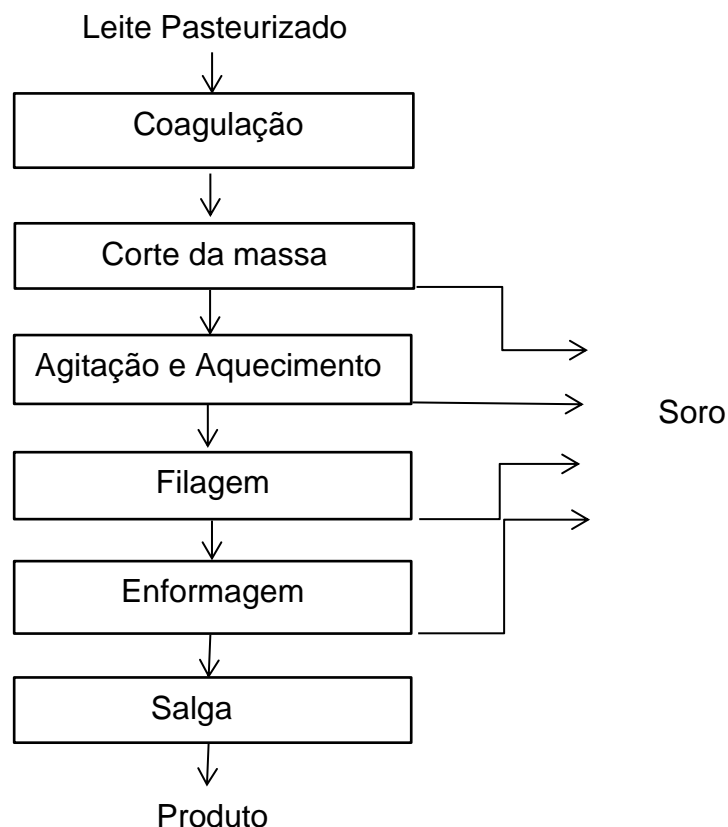
Derivado	Volume de leite/ Kg de produto	
	Búfala	Vaca
Iogurte	1,2	2,0
Muçarela	5,5	8,0-10,0
Provolone	7,43	8,0-10,0
Queijo de massa fresca	6,00	10,0-12,0
Doce de leite	2,56	3,5

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2003)

Existem diversos queijos fabricados a partir do leite bubalino específicos do país de origem. A muçarela é um queijo de ótima aceitação no mercado brasileiro produzido a partir do leite integral com alto teor de gordura. Esse queijo fresco de massa filada é originário do sul da Itália (região de Campana), região detentora do selo de origem da autêntica “*Mozzarella di Bufala Campana*”(TEXEIRA, BASTIANETTO e OLIVEIRA, 2005; PITACAS e MOITINHO, 2013).O consumo de *mozzarella* de qualidade na Itália e no resto do mundo contribui para melhoria das técnicas de produção deste queijo (PITACAS E MOITINHO, 2013).

Existem variações específicas entre os processos de fabricação dos diferentes tipos de queijos. As etapas de produção da mussarela de búfala estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1- Fluxograma do processo de produção de queijo muçarela de Búfala



Fonte: Autor, (2016).

Na fabricação da muçarela de búfala a pasteurização ocorre a temperatura de 72 a 74 °C por 15 segundos, essa etapa concentra as proteínas do leite e elimina as bactérias patogênicas.

Após a pasteurização ocorre a coagulação para precipitação das caseínas. Na coagulação adiciona-se o fermento láctico ou ácido orgânico. O fermento láctico é formado por bactérias que fermentam a lactose auxiliando a coagulação. Adiciona-se também nessa etapa o coalho microbiano com o intuito de facilitar a coagulação. Quando o coágulo se encontra na consistência desejada, realiza-se o corte para remoção do soro. Para acelerar o processo de sinérese (desidratação intensa do coágulo para obter uma pasta eliminando água e elementos do lactosoro), utiliza-se aquecimento e agitação. Na próxima etapa, o queijo é colocado em formas e prensado para remover o restante do soro. Para finalizar procedem-se as etapas de salga, embalagem e armazenamento (BALDASSO, 2008).

Outros queijos são produzidos a partir do leite Búfala, como o queijo do Marajó, que é um produto artesanal típico dessa região. Obtido pela fusão da massa da coalhada, dessorada de leite de búfala e/ou leite de búfala misturado com leite bovino na proporção máxima de 40 %, e adicionado de creme de leite ou manteiga (PINTO *et al.*, 2016). Enquanto no queijo Pannero processo de fabricação é semelhante ao da muçarela, porém não é adicionado sal. Esse queijo é usado como base para preparação de diversas preparações indianas. Na composição do Panner o leite deve conter 6% de gordura, geralmente consumido com legumes e pode ser armazenado por até 3 dias (PANDA, 2011). Na produção de queijos maturados encontra-se uma dificuldade na utilização do leite de búfala, pois, devido ao alto teor de gordura, há necessidade de um tempo maior de maturação do produto (TEXEIRA, BASTIANETTO e OLIVEIRA, 2005).

2.2 Soro Lácteo

O soro de leite, também conhecido como lactosoro, soro de queijo ou soro lácteo é um líquido amarelo-esverdeado que é separado do coágulo durante a fabricação de queijos ou extração da caseína, representa 90% do volume do leite na produção de queijos e possui cerca de 55% de seus nutrientes (KOSIKOWSKI, 1979; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2002, SINHA *et al.*, 2007). O soro de leite pode ser obtido de qualquer tipo de leite sendo o de vaca o mais popular em países ocidentais. Mesmo que incipiente em alguns países existe produção de outros produtos lácteos a base de leite de cabra, camelo e búfala, gerando soro destes produtos (SMITHERS, 2008).

O soro possui elevada Demanda Química de Oxigênio (DQO) em média de 30.000 a 50.000 mg. L⁻¹ o que corresponde a 100 vezes mais poluente do que o lixo doméstico (MIZUBUITI, 1984). Devido à alta DQO, a legislação ambiental exige disposição adequada de soro de leite, gerando um problema crítico para indústrias de laticínios (KOSIKOWSKI, 1979; SMITHERS, 2008).

De acordo com BANASZEWSKA *et al.*,(2014),o lucro de subprodutos de processamento do soro de leite soma 24,3% ao lucro obtido com a produção à base de produtos lácteos.

Em vista do exposto, o soro de leite não deve ser tratado apenas como efluente das indústrias de laticínios, mas devem ser verificadas alternativas para produção de novos alimentos para o consumo humano principalmente considerando-se as propriedades dos seus componentes.

2.2.1 Componentes do Soro Lácteo

O lactosoro contém considerável quantidade de proteína, gordura, cinzas e lactose, sendo que esses componentes podem variar de acordo com as técnicas de processamento usada para a remoção de caseína a partir do leite líquido. Devido à maior concentração de sólidos totais no leite bubalino,espera-se uma maior concentração destes componentes no soro(AMARAL *et al.*, 2005).

O soro pode ser classificado como soro doce ou soro ácido, essa classificação é dependente do tipo de coagulação e o do processo de fabricação dos queijos (ALVES, *et al.*, 2014). O soro doce é proveniente da fabricação de queijos duros como o cheddar com valores de pH entre (6,0-7,0). A coagulação da caseína é realizada por meio de adição de enzimas, como, por exemplo, a quimosina e a renina(ANTUNES, 2003; CAPITANI *et al.*, 2005, ALVES, *et al.*, 2014).

Em contra partida,no soro ácido a coagulação da caseína é proveniente da adição de ácidos em pH<5, sendo que a precipitação das caseínas ocorre no ponto isoelétrico (pH=4,6), ou pela fermentação da lactose em ácido láctico (ANTUNES, 2003; CAPITANI *et al.*, 2005).Existe uma diferença em relação à composição deste coproduto, geralmente o soro ácido possui maior teor de cinzas devido à maior concentração de cálcio e fósforo, pois no soro doce, a ação das enzimas não provocam a redução do pH, logo os íons de cálcio são retidos, associados às caseínas. Enquanto o soro doce é mais rico em lactose, pois no soro ácido parte da

lactose é transformada em ácido láctico durante a coagulação (ANTUNES, 2003, ALVES *et.al.*, 2014).

Em relação às proteínas a composição é semelhante em ambos os soros (ALVES *et.al.*, 2014).

A Tabela 3 identifica as diferenças entre composição do soro bovino e o soro bubalino.

Tabela 3- Composição química do soro doce bovino e bubalino.

Parâmetros determinados	Soro Bovino	Soro Bubalino
Sólidos totais (%)	6,4	9,30-10,4
Proteína (%)	0,8	0,8-1,19
Gordura (%)	0,5	1,20-1,51
Lactose (%)	4,6	4,07-5,84
Cinzas (%)	0,5	0,45
DQO(mg.L ⁻¹)	70.956	-

Fonte: Adaptado de Lira *et al.* (2009); Lima *et al.* (2014); Antunes (2003), Vogelar (1997_).

2.2.1.1 Proteínas do Soro

As proteínas de soro possuem estrutura globular e estrutura terciária, além de serem mais solúveis em água do que a caseína e possuem diversas ligações dissulfeto o que fornece uma estabilidade estrutural (JOAVANOVIC *et al.*, 2005). Em sua constituição encontra-se alto teor de aminoácidos essenciais, sulfurados e com cadeia ramificada, apresentam boa digestibilidade, o que torna seu valor biológico elevado quando comparado a outras proteínas alimentares (SINHA *et al.*, 2007).

As principais proteínas do soro são: α -Lactoalbumina (α -la) e a β -Lactoglobulina (β -lg) que correspondem a cerca de 70 a 80 % da composição proteica do soro de leite (SALINAS, 2002; HARAGUCHI *et al.*, 2006). As outras proteínas presentes em menores proporções são: albumina do soro bovino (BSA), imunoglobulinas (Ig), lisosima, lactoferrina e peptídeos derivados de caseína denominados “proteoses-peptonas” (SALINAS 2002; HARAGUCHI *et al.*, 2006).

A Beta lactoglobulina (β -lg) é o maior componente das proteínas do soro de leite com representação de 57,1% da massa de proteínas totais (BONFATTI *et al.*, 2012). A elevada quantidade de aminoácidos sulfurados gera um alto valor biológico,

além de possuir elevada concentração de aminoácidos de cadeia ramificada. A desnaturação desta proteína é dependente do tempo de exposição. Em temperaturas superiores a 70°C ocorrem transições conformacionais com exposição de -SH, além de desnaturação irreversível. É uma proteína termolábil, conseqüentemente, o processamento térmico aumenta sua digestibilidade. A β -lg não está presente no leite humano (ANTUNES, 2003; HARAGUCHI *et al.* 2006).

Alfa-Lactoalbumina (α -la) constitui a fração proteica do soro com média de 13%, e é formada por 123 resíduos de aminoácidos. Apresenta alta concentração de aminoácidos essenciais, como a cistina, lisina, leucina, treonina, triptofano e possui alta capacidade de ligar-se ao cálcio e zinco tornando fator importante durante sua absorção (JOVANOVIĆ *et al.*, 2005). A desnaturação ocorre em 65°C e pH 6,7 (ANTUNES, 2003; SGARBIERI, 2004).

A Albumina do Soro (BSA) constitui cerca de 10% do conteúdo proteico do soro de leite. Possui bom perfil de aminoácidos essenciais principalmente em cistina (aproximadamente 6%). Formada pela cadeia polipeptídica de 582 aminoácidos (BUFFONI *et al.*, 2011), é uma proteína solúvel em água (ANTUNES, 2003).

As Imunoglobulinas (Ig) possuem elevado peso molecular, são classificadas como IgA, IgM, IgE e IgG, sendo a IgG a principal, constituindo cerca de 80% do total, e são termolábeis. A presença de imunoglobulinas presentes no leite é proveniente do soro (ANTUNES, 2003; SGARBIERI, 2004).

As proteínas do soro de leite bubalino, podem se precipitar no pH onde as proteínas possuem carga global nula, no ponto isoelétrico (P.I.) (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010). Além do ponto isoelétrico (P.I.), para realizar a separação das proteínas do soro de leite bubalino, é imprescindível o conhecimento da massa molar de seus componentes, o que está apresentado na Tabela 4.

Tabela 4- Massa molar e ponto isoelétrico das proteínas do soro bubalino.

Proteína	Massa Molar (kDa)	Ponto isoelétrico
Beta-Lactoglobulina (β -lg)	18,2-19,9	4,8-5,1
Alfa-Lactoalbumina (α -la)	14,2 -18,4	4,7-5,1
Albumina do Soro (BSA)	66,397	5,6-5,5
Imunoglobulinas (Ig)	15 -1000	-

Fonte: Adaptado: Hinz, *et al.* (2012) ; Buffoni, *et al.* (2011)

2.2.2 Concentrado de soro de leite

A utilização do soro in natura é limitada, devido ao fato deste ser perecível e da alta diluição dos seus componentes, além da alta concentração de lactose. Para agregar valor a esta matéria prima, diferentes métodos podem ser empregados, como a filtração, processos de separação por membranas (que englobam a osmose inversa, microfiltração e nanofiltração), tratamento térmico, fermentação, desmineralização, cristalização e secagem (especialmente por *spray drying*), entre outros. As tecnologias de separação por membranas também, são utilizadas para a obtenção de ingredientes proteicos a partir do soro de leite (BRANS *et al.*, 2004).

Existem muitos tipos de soro em pó como: os concentrados proteicos do soro de leite (WPC) e isolados proteicos (WPI). Suas características estão relacionadas com a técnica de processamento, tais como desmineralização, remoção de lactose, concentração de proteína de soro de leite ou secagem (GONZÁLEZ-MARTÍNEZ *et al.*, 2002).

Os soros podem originar diferentes tipos de produtos tais como:

- Soros deslactosados, obtidos quando parte da lactose é eliminada;
- Soros de leite em pó desmineralizados, que possuem de 25% a 90% dos seus minerais extraídos;
- Concentrados proteicos de soro (CPS) ou *Whey Protein Concentrate* (WPC), que possuem no mínimo 35% de concentração de proteínas;
- Isolados proteicos de soro (IPS) ou *Whey Protein Isolate* (WPI), que apresentam a partir de 80% de concentração de proteína de soro (ANTUNES, 2003; PAGNO *et al.*, 2009 e BRANS *et al.*, 2004).

A análise de qualidade dos compostos produzidos a partir do soro de leite seco como desnaturação proteica, concentração de lactose e a quantidade de lipídeos são de fundamental importância. Em temperaturas maiores que 65 °C as soroproteínas sofrem desnaturação e especialmente na ausência de caseínas, podem ocasionar a precipitação e coagulação (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

A reação mais importante durante o tratamento térmico é a desnaturação das soroproteínas. Essa desnaturação afeta a conformação tridimensional e as principais

características funcionais das proteínas do soro. O grau de desnaturação é variável depende do tratamento térmico aplicado. (SOUZA, 2013).

2.2.3 Benefícios do soro lácteo

Devido ao alto nível de concentração de proteínas e rico perfil de aminoácidos sulfurados, o soro de leite em pó pode ser utilizado para redução de peso corporal e aumento da massa magra podendo ser comparado com proteínas vegetais tais como a soja (AIRES, 2010; DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

Para pessoas que realizam atividades físicas frequentes, os aminoácidos de cadeia ramificada, presentes na proteína do soro de leite, aumentam a síntese proteica e o crescimento muscular durante o período de repouso, além de suprirem a demanda durante a realização dos exercícios (AIRES, 2010).

Em relação aos idosos, as proteínas e aminoácidos auxiliam na imunização de doenças e na minimização de sintomas de sarcopenia, perda de massa muscular associada ao envelhecimento (AIRES, 2010). MADUREIRA *et al.*, (2007) relatam utilização do soro para auxiliar o sistema imunológico, devido ao fato de possuir alta atividade microbiana.

2.3 Propriedades funcionais e tecnológicas das proteínas

Além das propriedades nutricionais, as proteínas possuem propriedades funcionais tecnológicas. Propriedades funcionais tecnológicas são definidas como qualquer propriedade que não esteja classificada como capacidade nutricional, e que influencia características organolépticas, principalmente a textura dos alimentos (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010). As características organolépticas de um alimento são ocasionadas pelas interações dos componentes dos alimentos. As proteínas possuem grande influência sobre as características organolépticas de um produto. Dentre as propriedades encontra-se a capacidade estabilizante e espessante, apreciáveis em diversas indústrias como de alimentos, fármacos, química, entre outras (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

Essas propriedades são afetadas por fatores inerentes à natureza das proteínas, como sua estrutura, tamanho molecular e composição em aminoácidos, além de fatores extrínsecos, como, pH e presença de outros componentes. O pH afeta a distribuição de cargas uma proteína. Geralmente, as proteínas são mais solúveis

em pHs baixos (ácidos) ou elevados (alcalinos) por causa do excesso de cargas do mesmo sinal, produzindo repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade (XAVIER, 2012, BOYE e BARBANA, 2012).

As propriedades funcionais e tecnológicas são responsáveis pelas diversificadas aplicações industriais do soro de leite em pó, dentre elas podem-se citar a: utilização nos queijos processados e requeijão, o que resulta, numa melhora durante os processos de moldagem e laminação além de potencializar a derretibilidade e produzir boas propriedades de *flavor* (sabor e aroma). Nas bebidas lácteas ao adicionar às proteínas do soro e menor a probabilidade de alterar sabores que as caseínas. O WPC *Whey Protein Concentrate* adicionado em drinques propicia estabilidade coloidal e viscosidade, podendo ser incorporado como suplemento esportivo em bebidas aromatizadas. As proteínas do soro possuem boa interação com os derivados cárneos sendo utilizados na injeção de salmoura, do presunto com o intuito de aumentar o rendimento.

Segundo GONZÁLEZ-MARTÍNEZ *et al.* (2002), a substituição parcial de leite em pó por soro de leite pó resulta em aumento da taxa de acidificação apresentando melhores propriedades de escoamento (mais fluida, sem grumos) e texturas de gel mais suave comparado a produtos preparados com leite em pó desnatado.

Logo o soro de leite, além de reduzir os custos, pode apresentar diversos benefícios a indústria de alimentos, tais como o enriquecimento do valor nutricional, ação estabilizante, ação emulsificante e formação de espumas. Essas características tornam viáveis sua utilização em indústrias de bebidas, carnes, massas, sorvetes, sobremesas e preparações infantis (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010; ANTUNES, 2003).

As propriedades funcionais tecnológicas ligadas às proteínas podem ser divididas de acordo com a função que desempenham no produto final (REGITANO-D'ARCE, 2006):

- Propriedades de hidratação que engloba interações proteínas-água e incluem: a absorção e retenção de água, molhabilidade, solubilidade e viscosidade. As proteínas do soro de leite podem atuar como agente surfactante, ou seja, atua na tensão interfacial em óleo/ água atuando como estabilizante de emulsão evitando a coalescência (ANTUNES, 2003).

- Propriedades relacionadas à interação proteína-proteína, importantes na formação de gel, precipitação de proteínas, e viscosidade.

- Propriedades de superfície, como tensão superficial, capacidade de emulsificação e formação de espuma.

As principais características desejadas pela indústria de alimentos ao utilizarem o soro de leite estão detalhadas a seguir:

2.3.1 Solubilidade

De acordo com DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN(2010), a solubilidade proteica é uma manifestação termodinâmica entre interações entre proteína-solvente e proteína-proteína.

A solubilidade representa a quantidade de proteína passível de ser extraída da matriz sólida, empregando água ou outro solvente, em condições específicas de pH, temperatura, concentração de sais e tempo (BOYE E BARBANA, 2012).A sequência dos aminoácidos nas proteínas determina grande parte de suas propriedades, por isso, as proteínas possuem caráter anfotérico, pois grupos laterais e terminais presentes nos aminoácidos que compõem as proteínas podem apresentar caráter ácido ou básico.A temperatura pode provocar a desnaturação das proteínas quando ultrapassa a faixa de 55 a 66 °C. Em temperaturas entre 0 e 40 °C o aumento da solubilidade das proteínas é proporcional ao aumento da temperatura, para a maioria dos casos, porém, mesmo empregando-se temperaturas moderadas, abaixo de 50 °C, por longos períodos a desnaturação das proteínas pode ocorrer (BOYE E BARBARA, 2012; DAMODARAN *et al.*,2010)

Além das propriedades intrínsecas a solubilidade é afetada por diversos fatores como massa molar, conformação das moléculas, força iônica e presença de solventes orgânicos (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

2.3.2Propriedades Espumantes

A formação de espuma consiste em uma fase contínua aquosa e uma fase dispersa (ar).Essa propriedade fornece sensação bucal devido àsminúsculas bolhas de ar dispersas. Nesses produtos as proteínas são agentes ativos de superfície ajudando na formação e na estabilização da fase dispersa gasosa (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

A propriedade de uma proteína de formar espuma é relativo à capacidade de formação de uma película fina e resistente na interface gás líquido de modo que as

grandes quantidades de bolhas possam ser incorporadas e estabilizadas (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

A quantificação dessa propriedade é realizada através da avaliação de espuma e da estabilidade espumante.

2.4 Processos de Obtenção do concentrado proteico

Para obtenção do concentrado proteico com suas propriedades desejadas, são necessárias etapas de concentração. Descrevem-se, a seguir, processos de concentração por coagulação e por utilização de membranas.

2.4.1 Coagulação e floculação

2.4.1.1 Aspectos gerais

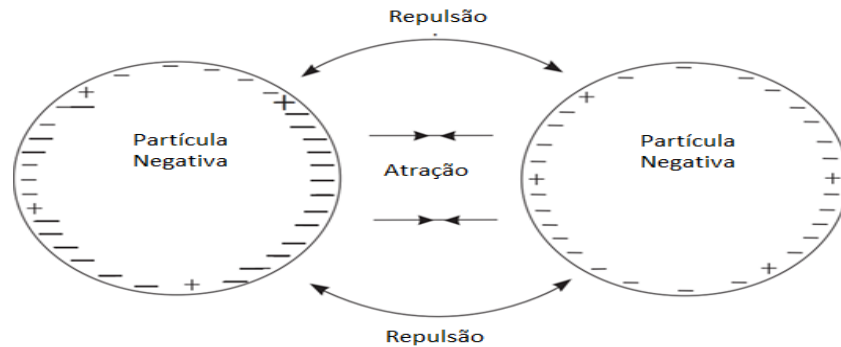
Os sólidos podem ser separados dos líquidos através da diferença de tamanho, morfologia e composição química. O termocolóide é utilizado para partículas de dimensões entre 1nm e 10 µm, que possuem propriedades elétricas e são responsáveis por fornecer a turbidez a água. A dissolução de partículas maiores é denominada suspensão. No sólido particulado, a área superficial aumenta conforme diminui o tamanho das partículas e, como consequência, as cargas elétricas superficiais se tornam maiores (CHAVES e LEAL FILHO, 2000; SILVA, 2010, SVAROVSKY, 1981).

As partículas podem apresentar características hidrofílicas ou hidrofóbicas. A partícula hidrofílica possui afinidade pela água ou em outro meio de dispersão enquanto a partícula hidrofóbica apresenta baixa afinidade pela água. As partículas hidrofílicas são mais sensíveis à adição de eletrólitos sendo mais fácil a precipitação do que nas partículas hidrofóbicas. Ambas as partículas são afetadas pelo movimento browniano devido ao seu baixo peso, mantendo-as em constante movimento (SVAROVSKY, 1981).

A coagulação e a floculação são termos usados para descrever o processo de agregação de colóides e partículas para alcançar uma melhor estabilidade. Por consequência são facilmente sedimentadas e removidas do meio (AHMADE, BATHIA e ISMAIL, 2005; SVAROVSKY, 1981). O baixo custo da técnica torna a coagulação química uma alternativa interessante.

A partícula maior se forma através da união de pequenas partículas. Geralmente as partículas são carregadas negativamente, porém possuem cargas residuais positivas conforme a Figura 2. As forças de atração como as de London e de Van der Walls atuam nas partículas.

Figura 2-A aproximação entre as partículas.



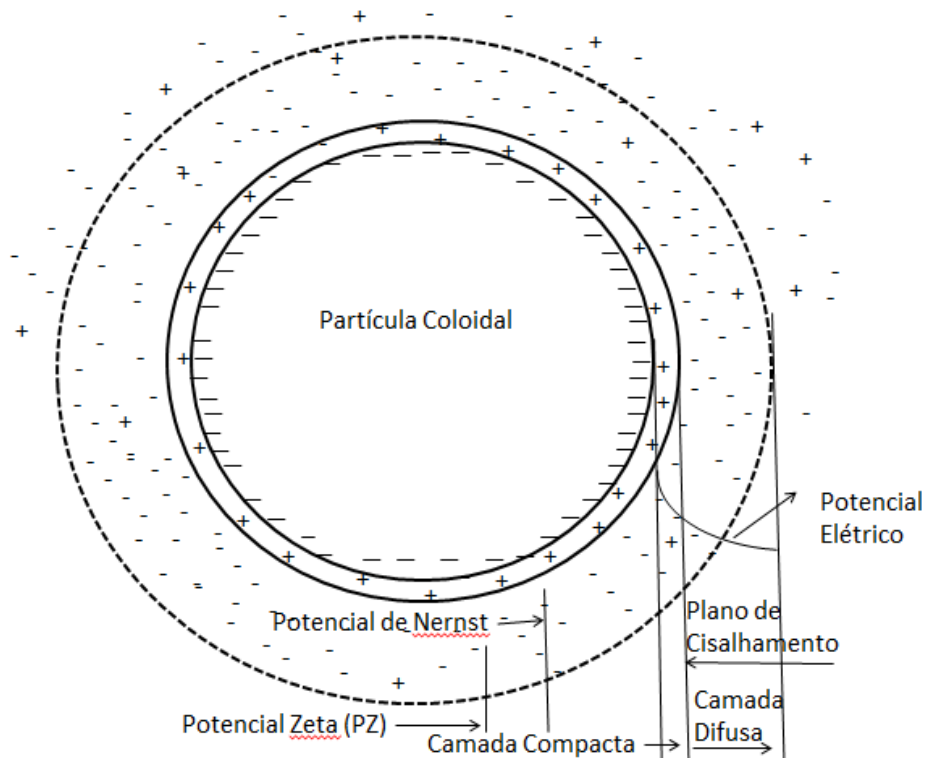
Fonte: Svarovsky(1981).

Quando as partículas se aproximam, surgem as forças de repulsão (devido à força eletrostática ou da dupla camada) impedindo a coagulação de partículas e a formação posterior de flocos (CHAVES e LEAL FILHO, 2000;SVAROVSKY, 1981).

Acontece o inverso quando as partículas se unem e conseguem permanecer juntas. Para coagular as partículas devem-se reduzir as forças que tendem a manter as partículas afastadas. As dispersões coloidais podem ser alteradas pela adição de um eletrólito (CHAVES e LEAL FILHO, 2000; SVAROVSKY, 1981).

As partículas negativas atraem íons positivos e formam junto com a carga negativa uma camada denominada camada compacta que envolve a partícula. Os íons negativos aproximam-se da camada compacta e atraem íons positivos formando a camada difusa, que engloba a primeira. A concentração de íons na camada difusa, conforme a Figura 3, é menor do que na camada compacta. O potencial elétrico é máximo na superfície da partícula e diminui com a distância até que a concentração de cátions e ânions se iguale e a partícula deixe de interferir no meio líquido(SVAROVSKY, 1981).

Figura 3 - Configuração esquemática da dupla camada elétrica.



Fonte: Adaptado de Svarovsky(1981).

O plano de cisalhamento é o plano entre a dupla camada e o material em massa onde ocorre o rompimento da dupla camada, e o potencial Nernst existe entre o plano de cisalhamento e a superfície sólida (SVAROVSKY, 1981).

O potencial zeta, presente na Figura 3, consiste ao potencial medido após a aplicação da diferença de potencial em uma amostra de água contendo colóides negativos, no ponto em certa porção do meio, em torno da partícula, caminha junto com esta em direção ao eletrodo positivo, caracterizando o plano de cisalhamento (GIRARD, 1996; PAVANELLI, 2001).

A adição de eletrólito não muda a carga da superfície, mas comprime a dupla camada abaixando o potencial zeta, promovendo uma aproximação das partículas e a consequente agregação (SVAROVSKY, 1981).

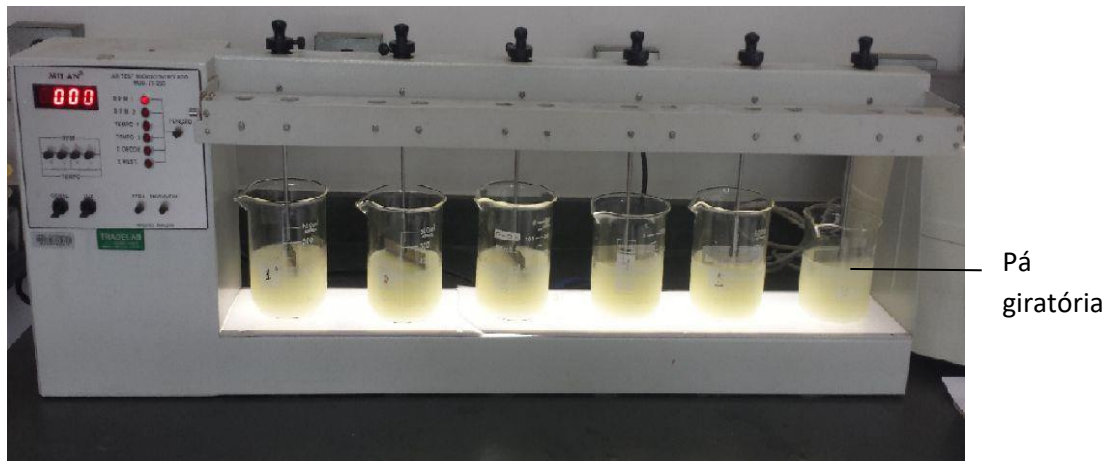
Para minimizar ou eliminar as forças de repulsão entre as partículas, a literatura apresenta quatro principais formas: compressão da dupla camada, adsorção e neutralização de cargas, varredura e adsorção e formação de pontes poliméricas (GIRARD, 1996; PAVANELLI, 2001).

2.4.1.2 O sistema de teste de Jarros (Jartest)

O processo da coagulação ocorre sob condições de agitação em curto intervalo de tempo. Nesta etapa as formações de partículas de tamanho submicroscópico estarão propícias a realizar a etapa seguinte de floculação.

Para realização da coagulação e floculação pode-se utilizar o sistema de Teste de Jarros (*Jartest*) conforme ilustrado na Figura 4.

Figura 4- Teste de Jarros (*Jar Test*).



Fonte: Autor (2016)

As fases de ensaio do (*Jartest*) são: dispersão rápida do coagulante (coagulação), floculação e decantação. A quantidade exata de coagulante a ser determinada e o pH ótimo para que ocorra esta sedimentação será determinada pela adição de quantidades crescentes do coagulante num pH pré-determinado (SOARES, 2007).

A etapa da floculação das partículas é feita após a coagulação na fase de mistura rápida. O tempo normal da floculação é de 3 a 15 minutos com agitação lenta. No entanto, pode haver situações nas quais é preciso ter de 20 a 60 minutos de floculação.

A última etapa é a sedimentação. No teste dos jarros, esta etapa é feita sem agitação, onde se espera de 10 a 20 minutos para que os flocos formados sedimentem sem haver o seu rompimento devido ao cisalhamento.

A variável-resposta que é obtida nos ensaios de *Jartest* é a turbidez. A turbidez é a expressão dessa propriedade óptica e é indicada em termos de unidades de turbidez (NTU – *Nephelometric Turbidity Unit*). A presença destes materiais em suspensão num solvente causa a dispersão e a absorção da luz que atravessa a amostra, em lugar da sua transmissão em linha reta (SVAROVSKY, 1981).

Como o agente coagulante utilizado neste trabalho é a quitosana, descrevem-se detalhadamente as características deste a seguir.

2.4.1.3 Quitosana

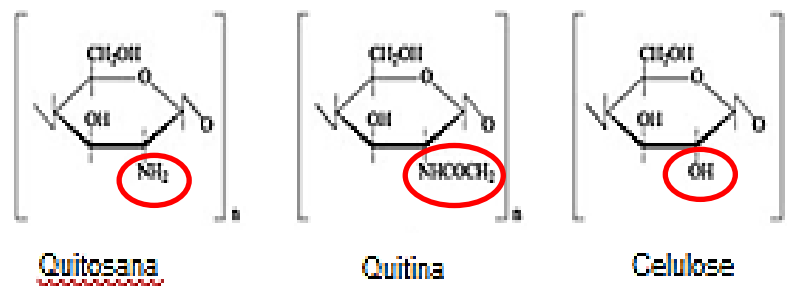
A quitosana é um polímero linear considerado o derivado mais importante da quitina, resultante da desacetilação dessa substância em solução de NaOH, o que provoca a substituição dos agrupamentos acetamida por amino.

Já a quitina é um polissacarídeo encontrado na estrutura de exoesqueleto de invertebrados e animais marinhos, além de fungos e leveduras (DUTTA, DUTTA E TRIPATHI, 2004; DAMIAN *et al.*, 2005; RINAUDO, 2006).

A estrutura da quitosana é semelhante à celulose, sendo que o que diferencia são os grupos funcionais: $-NH_2$ no lugar dos grupos $-OH$ da celulose (DUTTA, DUTTA E TRIPATHI, 2004).

A Figura 5 caracteriza a estrutura química da quitosana, quitina e celulose identificando os grupos funcionais que se diferenciam.

Figura 5-Estrutura química da quitina, quitosana e celulose, com destaque para os grupos funcionais que se diferenciam.



Fonte: Adaptado Mendes *et. al*(2011).

A produção de quitosana é advinda principalmente do processamento de camarão. Durante seu processamento, na etapa de descasque, são geradas grandes quantidades de resíduo sólido, tendo em vista que cabeça e cascas do animal correspondem a aproximadamente 40% de seu peso. Esse resíduo é, em geral, clandestinamente enterrado ou jogado no mar ou em rios, causando problemas ambientais, principalmente em países que são grandes produtores de camarão e onde não há rigor na fiscalização ambiental. Tendo em vista que tal resíduo é constituído por quitina, proteínas, carbonato de cálcio e pigmentos, tem havido grande interesse

em seu reaproveitamento, no qual a produção de quitina tem papel de destaque (RINAUDO, 2006).

A quitosana possui propriedades físico-químicas em função da massa molecular e do grau de acetilação. A massa molecular pode atingir 1.200.000 Daltons. A quitosana é insolúvel em água, mas é solúvel em ácidos como fórmico e acético, porém a solubilidade ocorre devido à protonação do grupo amino funcionando como polieletrólito catiônico. Assim, é a ocorrência de cargas positivas devido à presença de um número suficiente de grupos amino protonados ($-NH_3^+$) que confere solubilidade à quitosana nesses meios (DUTTA, DUTTA e TRIPATHI, 2004).

Como a quitosana é um produto natural, abundante, de baixo custo, atóxico, renovável e biodegradável, ganhou grande importância econômica e ambiental. A quitosana também possui a capacidade de interagir com diferentes substâncias, tais como lipídeos, proteínas, corantes, íons metálicos, herbicidas e pesticidas, o que indica potenciais aplicações voltadas para a concentração, recuperação, análise e separação dessas substâncias bem como para a descontaminação de efluentes industriais (SANTOS *et al.*, 2003; DUTTA, DUTTA e TRIPATHI, 2004; RINAUDO, 2006).

Algumas das principais áreas de aplicações da quitosana são, a biomedicina, a agricultura, o tratamento de água, o processamento de alimentos, a indústria de cosméticos e a área farmacêutica. Outra possibilidade interessante e muito divulgada é o emprego da quitosana para controle do colesterol plasmático e absorção de gordura proveniente dos alimentos (SANTOS *et al.*, 2003; DUTTA, DUTTA e TRIPATHI, 2004).

Devido ao seu comportamento como polieletrólito catiônico, a quitosana também tem sido utilizada como coagulante/floculante em sistemas aquosos e como polieletrólito para auxiliar a agentes coagulantes convencionais. Na indústria de alimentos, a quitosana é utilizada no processamento de peixes, vegetais, ovos, carnes, sucos, camarões, tofu, queijos e outros materiais (SANTOS *et al.*, 2003; DUTTA, DUTTA e TRIPATHI, 2004).

2.4.2 Processo de Separação por membranas PSM

No processo de separação por membrana, PSM, utiliza-se a membrana com o intuito de separar, concentrar ou purificar soluções e suspensões de espécie, tamanho

e/ou natureza química diferente (MULDER, 1996; VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997). Este processo é dependente de algumas variáveis tais como: a constituição do material, existência de poros, tamanho e distribuição dos poros.

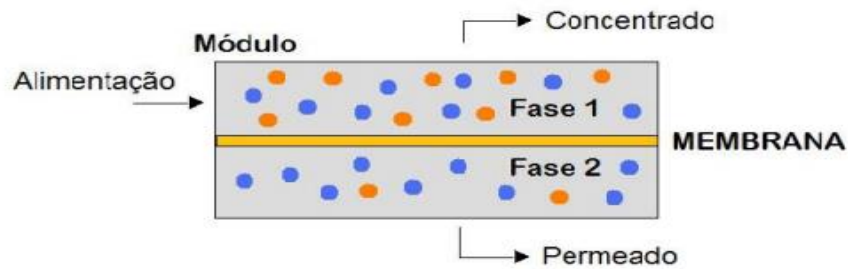
O PSM está sendo utilizado amplamente para diversas aplicações como uma alternativa de processos convencionais em decorrência das vantagens do processo. Dentre elas, podem-se citar: a promoção da separação sem que ocorra mudança de fase, tornando-se um processo mais econômico devido ao baixo consumo energético; o funcionamento do sistema acontece em temperatura ambiente, o que é uma vantagem envolvendo substâncias termolábeis; compatibilidade ambiental; facilidade de escalonamento; alta seletividade e permeabilidade para transporte de componentes específicos; simplicidade de operação e flexibilidade que oferecem opções interessantes para racionalização de processos industriais (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006; DRIOLI e CURCIO, 2007).

O processo de concentração do soro pode ser realizado através de microfiltração e ultrafiltração, que proporcionam desenvolvimento de produtos com alto valor proteico e baixo teor de gordura (SMITHERS, 2008; PAGNO *et al.* 2009).

2.4.2.1 Membranas

A Membrana é uma interface discreta, fina, que modera a permeação da espécie química quando entra em contato com a mesma separando as fases. Esta interface pode ser molecularmente homogênea, isto é, completamente uniforme em composição e estrutura, ou pode ser quimicamente ou fisicamente heterogênea (BAKER, 2004). O funcionamento do sistema ocorre com a aplicação de uma força motriz de uma pressão, concentração, ou gradiente de potencial elétrico, a corrente é separada em: concentrado (retido na membrana) e permeado (passante) conforme ilustra a Figura 6 (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006; VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997).

Figura 6-Esquema do Processo de separação por membranas.



Fonte: Adaptado HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006.

As membranas podem ser produzidas de diferentes materiais. As membranas podem ser classificadas como sintéticas que são obtidas através de materiais orgânicos (polímeros sintéticos ou materiais orgânicos) ou inorgânicos (cerâmicos e metais) (VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997).

A membrana cerâmica quando comparada com a polimérica, possui a menor probabilidade de incrustações permitindo limpeza mais eficiente. Os cerâmicos possuem maior resistência térmica, porém possuem custo elevado. Devido ao baixo custo, disponibilidade e diversidade, a membrana polimérica domina o mercado. Os polímeros mais utilizados são polietersulfona, acetato de celulose, polissulfona, polipropileno, poliamida e poliacrilonitrila (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006; BAKER, 2004).

Outra classificação das membranas é de acordo com a superfície da membrana que está em contato com a solução a ser separada podem ser porosas ou densas (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006; BAKER, 2004).

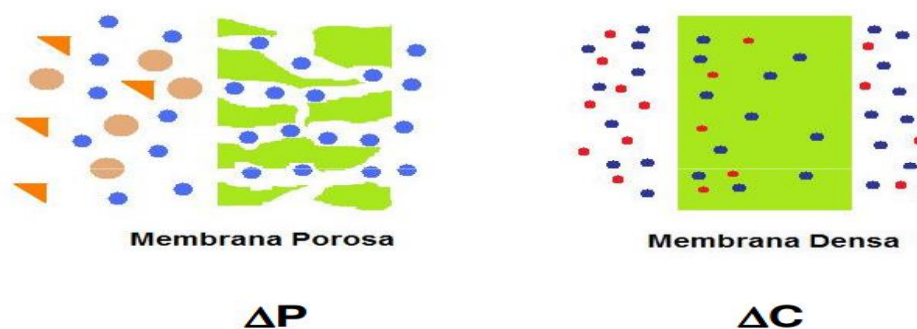
A membrana é denominada porosa quando o transporte ocorre devido à diferença de tamanho entre as partículas e os poros da membrana. Essa membrana possui estrutura e função semelhante a um filtro convencional. Composta por uma estrutura rígida com poros interconectados distribuídos aleatoriamente, os poros são extremamente pequenos da ordem de 0,01 a 10 μm de diâmetro. Todas as partículas maiores do que os poros são completamente retidas pela membrana. Assim, a separação de solutos por membranas porosas é principalmente em função de tamanho molecular e distribuição dos tamanhos de poros. Em geral, apenas moléculas que diferem consideravelmente de tamanho podem ser separadas eficazmente por membranas porosas na ultrafiltração (MULDER, 1996; BAKER, 2004).

As membranas densas não possuem poros e o transporte dos componentes envolve a sorção e a difusão através do material que constitui a membrana. Consistem de uma película densa através da qual os permeantes são transportados por difusão sob a força motriz de uma pressão, concentração, ou gradiente de potencial elétrico. A separação dos vários componentes de uma mistura está diretamente relacionada com a sua taxa relativa de transporte no interior da membrana, que é determinada pela sua solubilidade e difusividade no material da membrana. Assim, membranas densas podem separar o permeado de tamanho semelhante, se a sua concentração no material da membrana (isto é, a sua solubilidade) difere significativamente. Essas membranas são utilizadas para separações de gás, pervaporação e osmose inversa (MULDER, 1996; BAKER, 2004).

As membranas densas ou porosas podem ser classificadas como simétricas ou assimétricas podendo apresentar morfologias diferentes ou semelhantes na sua espessura. A membrana assimétrica possui uma região superior muito fina (espessura de 1 μm) com a presença ou ausência de poros (LEIDENS, 2010; HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006).

A escolha adequada da membrana implica no conhecimento do processo para obtenção de um melhor desempenho. Para acontecer o funcionamento adequado da membrana é necessário que tenha ação de uma força motriz. A Figura 7 exemplifica os processos que utilizam o gradiente de potencial químico e/ ou o gradiente de potencial elétrico que podem ser expressos em termos do gradiente de pressão (P) e de concentração (C) (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006).

Figura 7- Diferença de permeação entre a membrana porosa e densa.



Fonte: Habert, Borges e Nobrega, (2006).

O PSM é dependente do mecanismo de transporte e da força motriz. A microfiltração (MF), ultrafiltração (UF) e a nanofiltração (NF), utilizam a diferença entre o tamanho dos poros e o tamanho dos solutos, sendo a força motriz expressa em gradiente de pressão, enquanto a osmose inversa (OI) a diálise (D) e a permeação de gases têm como força motriz o gradiente de pressão e/ou concentração, fazendo uso da diferença de afinidade entre os componentes da alimentação com a membrana. Já a eletrodiálise utiliza como força motriz o gradiente de potencial elétrico para separar as moléculas carregadas (LEIDENS, 2013).

A Tabela 5 identifica a diferença entre os tamanhos de poros e limites de pressão dos PSM.

Tabela 5- Tamanho de poros e limites de pressão do PSM.

PSM	Tamanho de poros (nm)	Limites 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: MULDER (1996)

2.4.2.1 Ultrafiltração (UF)

Na ultrafiltração (UF) a força motriz é o gradiente de pressão, onde o fluxo do permeado é fundamentalmente convectivo. As membranas de UF são comercializadas através de sua massa molar de corte e a unidade utilizada é Dalton (Da). A massa molar de corte é definida através da retenção igual a 95% (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006; VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997, BALDASSO, 2011).

Esse processo é utilizado para separação de moléculas que possuem massa molar entre 0.3 a 500kDa. O material que permeia é água e sais de baixa massa molar. Este método é indicado para fracionamento/concentração de proteínas, polímeros e partículas coloidais e tratamento de efluentes (VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997; BALDASSO, 2011).

No processo de ultrafiltração o escoamento pode ser transversal ou tangencial. Na filtração transversal conforme o tempo de filtração ocorre um acúmulo de partículas

formando uma torta que dificulta a filtração, pois o escoamento é paralelo a área da membrana. Já na filtração tangencial a pressão conduz o processo, a mistura entre sólidos e líquidos são colocados em contato com uma membrana onde as partículas são forçadas a escoar, o que dificulta a concentração e melhora a ultrafiltração (VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997).

2.4.2.2 Fluxo permeado e seletividade

O fluxo permeado representa a vazão (volumétrica, mássica ou molar) de permeado por unidade de área da membrana (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006). Esses podem ser descritos pela seguinte equação de fluxo do permeado:

$$J_p = \frac{m}{A.t} \quad (\text{Eq.1})$$

em que J_p é o fluxo do permeado do sistema ($\text{kg.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$), A é a área da membrana (m^2); m é a massa do permeado recolhido (kg); e t é o tempo (h) necessário para coletar o permeado. O fluxo do permeado é dependente do produto a ser separado, velocidade de escoamento, temperatura, pH e força iônica (VALENTAS, ROTSTEIN e SINGH, 1997).

A seletividade pode ser estipulada de diferentes formas pois é dependente do PSM. Em processos onde a força motriz é o gradiente de pressão estima-se o Coeficiente de Rejeição (R) definido por uma relação entre a (C_o) que é a concentração de soluto na alimentação (g.L^{-1}) e (C_p) é a concentração de soluto no permeado (g.L^{-1}) (MULDER, 1996; HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006). Essa fração do soluto retida pela membrana pode ser calculada conforme mostra equação 2:

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_o} \quad (\text{Eq. 2})$$

O valor de R pode variar entre 0 (soluto e solvente passam pela membrana livremente) e 1 (completa retenção do soluto) (HABERT, BORGES e NOBREGA, 2006).

2.4.2.3 Fenômenos que afetam o desempenho da UF

O entupimento da membrana, que é o acúmulo de partículas na superfície da membrana e dentro dos seus poros, reduz o desempenho da ultrafiltração, reduzindo o fluxo de permeado e um aumento da pressão através da membrana durante a filtração, ocasionando incrustações e polarização por concentração (BAKER, 2004; LEIDENS, 2014).

Na polarização por concentração ocorre um entupimento na superfície da membrana o que leva a um aumento da concentração de soluto e diminuição do fluxo em segundos, aumenta-se o gradiente de concentração, atingindo o estado estacionário no escoamento da solução. Por isso é considerado um processo reversível (BALDASSO, 2011; BAKER, 2004).

Já a incrustação ocorre em conjunto bloqueando os poros, que diminui o fluxo e por consequência modifica a composição da solução. Qualquer material particulado em suspensão na solução de alimentação é facilmente preso na área de estagnação conduzindo a incrustações irreversíveis na membrana (BAKER, 2004).

A incrustação pode ser evitada através do controle da qualidade da água de alimentação, limpeza regular da membrana, e aumento da velocidade de escoamento ao longo da membrana (MULDER, 1996).

2.4.2.4 Aplicações PSM nas indústrias de laticínios

Em estudo realizado por ATRA *et al.*, 2004, verificou-se a aplicação de ultrafiltração e concentração de proteína de soro de leite, utilizando-se nanofiltração para remoção da lactose. Avaliou-se o desempenho deste processo pelo fluxo de permeado, retenção da membrana e rendimento, cujos parâmetros são determinados pela pressão, fluxo e temperatura.

Modificações nos processos de ultrafiltração têm sido propostas para aumentar o desempenho e reduzir os fenômenos que afetam o entupimento da membrana.

KOH *et al.* (2014), investigaram a utilização de ultra-sons como pré-tratamento para melhorar a ultrafiltração.

LIRA *et al.* (2009), em estudo sobre Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização, obtiveram uma redução de carga microbiana em média de 50% ao utilizar a ultrafiltração.

STEINHAEUER *et al.* (2015) estudaram a ultrafiltração e microfiltração do soro de leite focando na influência da temperatura no depósito nos poros e concluíram que temperaturas entre 10°C e 35°C facilitaram a microfiltração. Acima de 40°C, observou-se um declínio contínuo do fluxo devido às incrustações na membrana.

BÁGUENA, BLANCO e VELA (2015) investigaram concentrado de proteína de soro de leite com três tipos de ultrafiltrações com membranas de 5, 15 e 30 kDa.

PALATNIK *et al.* (2015) estudaram a recuperação de proteínas a partir de soro de queijo caprino, atingindo 91,4 g / 100 g de concentração de proteína.

Para o processo de obtenção do concentrado proteico, é necessário a redução de umidade, o que geralmente é feito por secagem, e o que será abordado no próximo tópico.

2.5 Secagem de sólidos

A secagem é uma operação unitária de remoção de solventes, normalmente água de um material obtendo-se um produto com menor porcentagem de umidade. Esta operação unitária é uma das mais antigas e complexas, devido às dificuldades e deficiências em descrições matemáticas dos fenômenos associados à transferência de calor e massa (MUJUMDAR, 2014; LAND, 1991).

Na secagem de alimentos a finalidade principal é a conservação do produto, aumentando o seu tempo de vida útil, dificultando a ação de enzimas e microrganismos degradadores. Além disso, a secagem facilita o transporte e manuseio dos alimentos, já que há a redução do seu volume. Para ocorrer a secagem é necessário fornecer calor para evaporação do solvente do material e também deve haver um sorvedor de umidade para remover o vapor de água, formado a partir da superfície do material a ser seco (MUJUMDAR, 2014; PARK *et al.*, 2007).

Os processos de secagem podem acarretar diversas mudanças químicas e físicas nos alimentos como degradação de pigmentos e substâncias voláteis, mudança de texturas, escurecimentos enzimáticos e não enzimáticos (Reação de Maillard e caramelização) e oxidação de lipídios (FELLOWS, 2000).

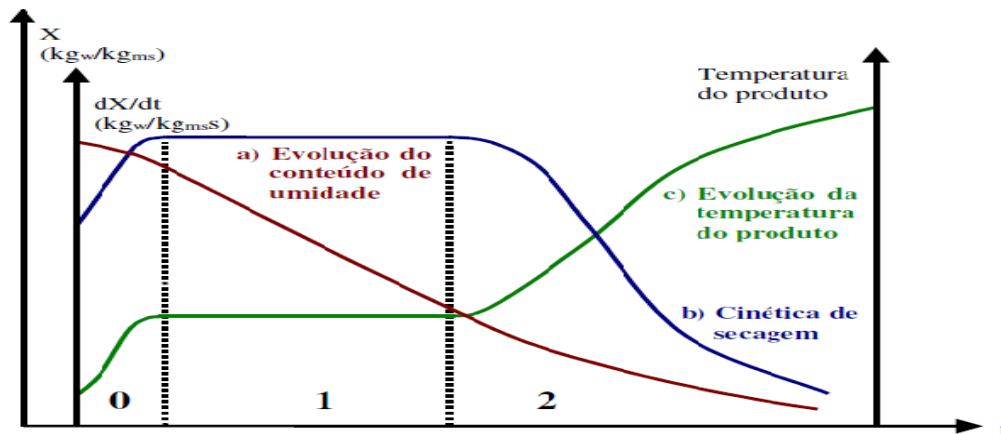
2.5.1 Curvas de secagem

As condições de secagem são distintas e devem englobar além da transferência de calor e massa, o conhecimento da taxa de secagem do material. O

processo de secagem pode ser descrito por 3 curvas que representam a umidade ao longo do tempo, além da taxa de secagem que diz respeito à velocidade com a qual ocorre a migração da umidade do interior do produto até a superfície e da superfície para o meio secante (BERTELI, 2005).

A evolução das transferências simultâneas de calor e de massa no processo de secagem é caracterizada por três períodos distintos. Na Figura 8 são mostradas as curvas de evolução do conteúdo de água do produto (X), de sua temperatura (T) e da taxa de secagem (dX/dt) ao longo do tempo, para um experimento utilizando ar com propriedades constantes (PARK *et al.*, 2007).

Figura 8-Curva de secagem



Fonte: Park *et al.* (2007)

A curva (a) representa a diminuição do teor de água do produto durante a secagem. A curva (b) representa a velocidade (taxa) de secagem do produto (variação do conteúdo de umidade do produto por tempo, dX/dt diferenciando (a)). A curva (c) representa a variação da temperatura do produto durante a secagem. (PARK *et al.*, 2007).

No período 0, ocorre adequação do material à secagem. No início, geralmente, o produto é mais frio que o ar, a pressão da água na superfície do produto é pequena por isso a transferência de calor e a velocidade possui a mesma característica. Quando o calor está em excesso ocorre um aumento da temperatura do produto ocasionando aumento na pressão e velocidade de secagem. Este fenômeno continua até que a transferência de calor compense exatamente a transferência de massa. A duração deste período é insignificante em relação ao período total de secagem (PARK *et al.*, 2007).

No período 1, observa-se taxa constante de velocidade, e a água logo é evaporada. A pressão de vapor da água na superfície é constante e igual à pressão de vapor de água pura à temperatura do produto. A temperatura do produto também é constante e é igual à temperatura de bulbo úmido. A velocidade de secagem é constante. Este período continua enquanto a migração de água do interior até a superfície do produto seja suficiente para acompanhar a perda por evaporação de água na superfície (PARK *et al.*, 2007).

No período 2, a água começa a ser deficiente na superfície e a velocidade de secagem diminui. A troca de calor não é mais compensada, conseqüentemente, a temperatura do produto aumenta e tende assintoticamente à temperatura do ar. Durante todo este período a resistência interna ao transporte de umidade torna-se maior que a resistência externa. Esta redução da taxa de secagem é devido ao abaixamento da pressão parcial de vapor de água na superfície do sólido. O teor de umidade do sólido no início deste período é chamado de umidade crítica (PARK *et al.*, 2007).

2.5.2 Secagem por Atomização

A técnica de secagem por atomização (*spray drying*) é uma operação unitária utilizada para obter-se pós a partir de materiais em suspensão, solução, dispersão ou emulsão e é realizada de modo contínuo em meio convectivo. Essa operação unitária é indicada para materiais termicamente sensíveis, devido o tempo de residência do material no equipamento ser relativamente menor que outras técnicas de secagem, além da maior parte do processo se dar no período de secagem constante, sob condições de temperatura controladas (MUNJUMDAR, 2014; BIRCHAL, 2003).

São utilizados em diversos setores industriais, como o farmacêutico, detergentes, pigmentos, biotecnologia e cerâmica, sendo o mais importante processo de secagem utilizado na indústria de alimentos (CHEN e MUNJUMDAR, 2003).

As vantagens da utilização do *spray drying* incluem: a qualidade do produto seco; a alta capacidade de processamento por massa de água evaporada; o controle efetivo das propriedades e da qualidade do produto; a possibilidade de secagem de produtos termicamente sensíveis, a formação de um produto em pó que apresenta fluidez; a formação de produtos que se dispersam prontamente (BIRCHAL, 2003).

Ocorre a atomização da solução aumentando sua área de contato, conseguindo, conseqüentemente, maiores taxas de evaporação, em condições adiabáticas. A evaporação rápida que ocorre neste caso mantém a temperatura relativamente menor nas gotas formadas o que permite a temperatura do ar de secagem seja alta e que o produto não seja afetado (MUJUNDAR, 2014; BIRCHAL, 2003).

Entre as indústrias de alimentos, a indústria de laticínios é a que mais utiliza a secagem por atomização, convertendo leite líquido e outros produtos à base de leite em forma de pó.

A capacidade de produção do secador por pulverização pode ser baixa como algumas centenas de gramas de pó por hora ou várias toneladas por hora. O produto final pode ser pó de partículas individuais, ou grânulos aglomerados de fluxo livre (MUJUNDAR, 2014).

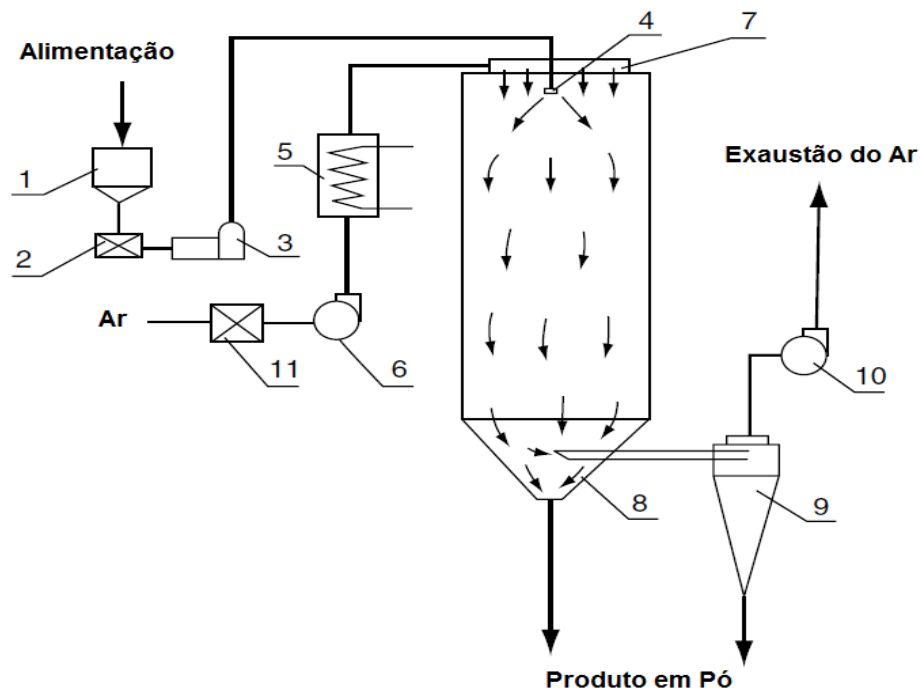
O processo de secagem por atomização pode ser dividido nas seguintes etapas (PATEL, PATEL e SUTHAR, 2009):

- (i) Concentração da matéria prima;
- (ii) Alimentação na câmara de secagem e aspersão das gotas formadas pelo bico atomizador;
- (iii) Exposição ao gás quente (geralmente ar) ocorrendo formação de uma camada fina de material de parede (precipitado), e absorção da umidade pela fase aquosa;
- (iv) Formação de uma crosta e a diminuição do tamanho da gota, devido à evaporação da água e separação da fase sólida.

As partículas podem ser ocas ou maciças e partículas pequenas (finos) geralmente são recuperadas a partir dos ciclones. A Figura 8 ilustra o processo de secagem.

Figura 7-Processo de secagem pelo spray drying.

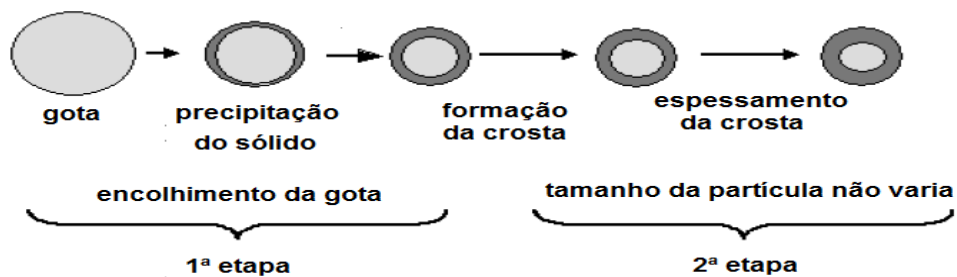
Tanque de alimentação (1), filtro (2), bomba alimentadora (3), atomizador (4), aquecimento do ar (5), ventilador (6), entrada do ar (7), câmara de secagem (8), ciclone (9) e sistema de exaustão do ar (10).



Fonte: FILKOVÁ, HUANG e MUJUMDAR (2006).

A Figura 9 ilustra o processo de secagem com formação de crosta, segundo o modelo de núcleo em diminuição.

Figura 8-Etapas de formação do microencapsulado no *spray drying*.



Fonte: PASSOS e BIRCHAL (2010)

2.5.3 Atomização

A atomização é a operação mais importante durante o processo de secagem. O tipo do atomizador definirá a energia necessária para formar o spray e a distribuição do tamanho, trajetória e velocidade das gotas formadas. A atomização produz uma grande área de superfície entre as gotículas e o meio de secagem (CHEN e MUJUMDAR, 2003).

O processo de atomização caracteriza o tamanho da gotícula, a velocidade da operação, a qualidade geral do produto, o desenho da câmara de secagem, bem como na demanda energética para formação do nevoeiro de gotículas (CHEN e MUJUMDAR, 2003).

Os atomizadores são geralmente classificados em quatro tipos diferentes: rotativo, pressão, pneumático e ultrassônico. A escolha do atomizador depende da natureza e viscosidade do material de alimentação (CHEN e MUJUMDAR, 2003). A Tabela 6 abaixo descreve algumas características desses atomizadores:

Tabela 6- Características dos atomizadores.

Atomizadores	Consumo de energia	Tamanho das partículas	Padrão de atomização (ângulo)	Aplicações mais frequentes
Rotativo	Consumo mediano	1 – 600 μ m	> 120°	Alimentos
Pressão	Baixo consumo	10 – 800 μ m	40 – 140°	Não utilizado para materiais viscosos e abrasivos
Pneumático	Alto consumo	5 – 300 μ m	5 – 140°	Alimentos
Ultrassônico	Baixo consumo	5 – 1000 μ m		Em desenvolvimento.

Fonte: Adaptado de MASTERS (1972), FILKOVÁ, HUANG e MUJUMDAR (2006).

2.6 Atividade de água

O conteúdo de água exerce importante influência nas propriedades físico-químicas dos alimentos, podendo ser encontrada no alimento na forma de água ligada ou não ligada. O teor de umidade de um alimento corresponde à medida de toda água presente.

A água livre necessita de energia para sua evaporação ao nível de calor latente de vaporização, enquanto a água ligada necessita de nível maior de energia para a sua evaporação (PARK *et al.*, 2008).

Entretanto, ao se analisar a deterioração dos alimentos, a medida de umidade não é suficiente, uma vez que parte da água está ligada ao produto e, dessa forma,

não é utilizada para reações e para o crescimento de microrganismos. Sob este aspecto, a atividade de água destaca-se como importante indicador para a conservação dos alimentos e seu controle da vida de prateleira, sendo a medida da água disponível suscetível às reações químicas, reações físicas de transformação e microbiológicas (FENEMMA, 2010; CHEN e MUJUMDAR, 2003).

O termo atividade de água (a_w) foi desenvolvido para indicar a intensidade com a qual a água associa-se a constituintes não aquosos. A atividade de água é definida como a razão da fugacidade de um solvente contendo partículas do soluto e a fugacidade do solvente puro, ou, para sistemas ideais, é definida como a razão entre a pressão de vapor exercida por uma amostra de alimentos em relação à pressão de vapor exercida pela água pura à mesma temperatura (FENEMMA, 2010; CHEN e MUJUMDAR).

Segundo BELLE LABUZA, (2000), a forma como cada componente do alimento interage com a água define o valor da atividade de água ao longo do tempo e o seu perfil a cada temperatura. Existem três efeitos que afetam negativamente a atividade de água nos alimentos:

- (i) O efeito coligativo: a interação da água com solutos diminui a pressão de vapor da água. Quanto maiores as moléculas do soluto, como no caso de proteínas presentes na água, maior será a diminuição da atividade de água;
- (ii) O efeito de capilaridade: os alimentos possuem uma quantidade grande de poros e de capilares que retêm água. Por causa da curvatura nessas superfícies dos poros, tem-se uma maior interação entre as moléculas de água, causando uma diminuição da pressão de vapor da água e, conseqüentemente, da atividade de água;
- (iii) O efeito de interação: a interação das moléculas de água com grupos funcionais dos componentes podem resultar em interações fortes, o que requer energia extra para a água passar para o estado de vapor, resultando em um abaixamento da atividade de água.

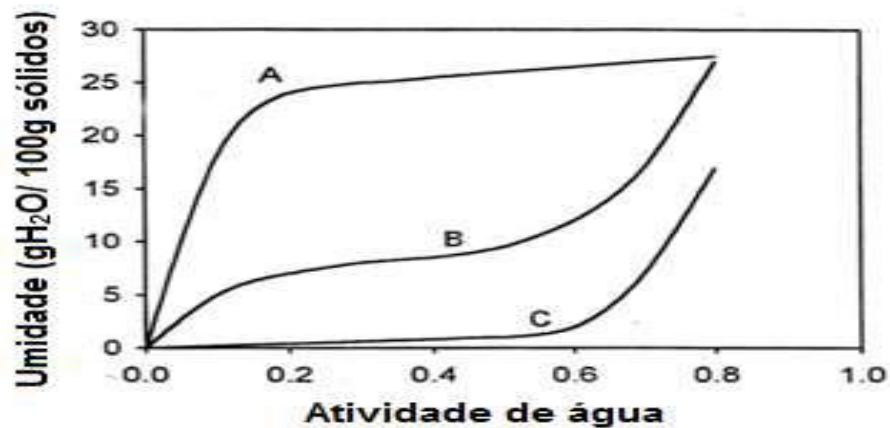
2.6.1 Curvas de sorção

Os efeitos coligativos, efeitos de capilaridade e de interação podem ser observados a partir das curvas de isoterma de sorção, que relaciona a atividade de

água com a umidade relativa de equilíbrio a temperatura constante, sendo característica para cada produto, pois existem diferenças na estrutura física, composição química e da ligação da água no interior do alimento. O comportamento dessas isotermas pode ser previsto por modelos de ajustes empíricos (BEL e LABUZA; 2000). A Figura 10 apresenta alguns modelos de curvas de isoterma de sorção.

Figura 9 - Curvas de isotermas de sorção.

Classificação das isotermas de sorção (A) tipo I – agentes anticoagulantes; (B) tipo II – perfil da maioria dos alimentos; (C) Tipo III – compostos cristalinos.



Fonte: Bel e Labuza (2000).

A isoterma A representada na Figura 9 é típica para casos em que há a adsorção de água em sítios com alta energia de ligação, o que resulta na retenção de grandes quantidades de água mesmo a baixas pressões de vapor ou baixas atividades. Já a curva C representa casos em que a água adicionada possui interação com a superfície do material e com outras camadas de água por ligação de hidrogênio. Como é uma quantidade de água que não está retida na extensão do composto, já atinge níveis muito baixos de umidade a valores relativamente altos de atividade de água. Os alimentos possuem um comportamento típico intermediário, conforme representado, por serem materiais porosos em sua maioria e apresentarem estruturas cristalinas para alguns de seus componentes (BEL e LABUZA; 2000).

Geralmente a curva de sorção de diversos alimentos segue o formato da curva (B) sigmoide. Ressalta-se que pequenas variações nas isotermas também podem ocorrer para o mesmo produto. O comportamento dessas isotermas pode ser previsto por modelos de ajustes empíricos e são importantes no âmbito da ciência e tecnologia dos alimentos, tais como cálculo de propriedades termodinâmicas, informações

técnicas para armazenamento e embalagem do produto, entre outros (PARK, BIN e BROAD 2001).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Será descrito a metodologia e os equipamentos utilizados nos ensaios de recuperação de proteínas com quitosana e concentração pelo método de separação por membranas e secagem do concentrado.

3.1. Matéria-prima

As amostras de soro de leite bubalino foram cedidas pelo Laticínio Bom Destino (Distrito de Morro do Ferro, Oliveira, MG), proveniente da fabricação de queijo tipo muçarela. A cidade localiza-se a uma latitude 20°41'45" sul e a uma longitude 44°49'37" oeste, a uma altitude média de 982 metros, no circuito regional conhecido como Campos das Vertentes. O material foi transportado em caminhão refrigerado do próprio estabelecimento ou em caixa de isopor, mantido abaixo de 10°C, e armazenado também abaixo de 10°C. As amostras foram coletadas durante os anos de 2015 e 2016.

As análises foram realizadas no Laboratório de Engenharia Química e na Escola de Veterinária no Laboratório de físico química de leite e derivados, ambos na UFMG e na Empresa de Desenvolvimento tecnológico EDETEC.

3.2 Material

A quitosana utilizada é proveniente do fabricante *Sigma Aldrich*, e possui peso molecular médio e grau de desacetilação maior ou igual a 75%.

As membranas de microfiltração e ultrafiltração utilizadas para processo de concentração de proteínas são da marca *GE Healthcare Bio-Sciences Corp.* Modelo de microfiltração CFP-1-E-4X2MA, área de 850 cm², comprimento de 60 cm, diâmetro de 1,9 cm. O modelo de ultrafiltração foi UFP-10-E-4X2MA com área de 850 cm², poros de 10 Kda, comprimento de 60 cm e diâmetro de 1,9 cm. Ambos os módulos são utilizados para obter um fluxo transversal à escala laboratorial com volumes típicos que vão desde mililitros até 10 litros de solução. A Figura 11 é uma imagem do módulo de membrana utilizado para realização deste trabalho.

Figura 10- Módulo de membrana de ultrafiltração.



Fonte: Autor, (2016).

3.3 Equipamentos e acessórios

- Balança (Bel Engineering, modelo M210);
- Banho termostático;
- Bloco digestor (Tecnal, TE-008/50-04);
- Bloco digestor DQO – ThermoDigest (Policontrol);
- Bomba de vácuo (Fanem, modelo 089/CAL);
- Bomba peristáltica (Monostaticvaristalticpump A series);
- Centrifuga;
- Destilador de nitrogênio (Tecnal, modelo TE 036/1);
- Estufa Microprocessada 200° (Sterilifer digital time);
- Espectrofotômetro (HelX, modelo DR2800);
- Jartest (MILAN, modelo JT-203);
- Mufla (Fornos Lavoisier);
- pHmetro (Phtek, modelo PHS-3B);
- Analisador de atividade de água (AquaLab Série 3TE – DECAGON);

3.4 Caracterização do soro de leite bubalino

As análises de caracterização do soro de leite foram realizadas em triplicatas, para determinação do erro experimental, e de acordo com os procedimentos apresentados por INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005), pelo APHA (*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 1998) e pela AOAC (*Official Method*, 2005)

Foram realizadas diversas análises para caracterização do soro e do concentrado, quais sejam: pH, acidez em ácido láctico, turbidez, demanda química de oxigênio (DQO), extrato seco total, cinzas, lactose, proteínas, lipídeos e cinzas.

Os métodos utilizados para os ensaios estão discriminados seguem a metodologia está detalhada nos anexos A-H:

- pH: pela determinação eletrométrica com pHmetro.
- Acidez em ácido láctico, por: titulação da solução com hidróxido de sódio.
- Turbidez: através leitura em espectrofotômetro.
- DQO: leitura em espectrofotômetro.
- Extrato seco: pela medição da massa do sólido seco a 105°C, após 24 horas.
- Lactose: pela titulação com solução de Fehling.
- Proteínas: por determinação de nitrogênio pelo método de Kjeldahl.
- Lipídeos: extração com éter de petróleo.
- Cinzas: através da medição da massa do sólido incinerado a 550°C.

3.5 Ensaio de Coagulação

Os ensaios de coagulação foram realizados no laboratório de Engenharia de Alimentos no Departamento de Engenharia Química/UFMG.

Esses ensaios dependem de diversos fatores dentre eles: agitação da solução, pH, temperatura, dose de concentração e seleção adequada de coagulante.

Os ensaios foram definidos de acordo com estudos realizados por XAVIER (2012) e SOARES *et al.* (2012). Em ambos os estudos, a faixa de concentração de quitosana foi entre 25mg/L a 400mg/L e a remoção de proteínas do soro foi avaliada, com diferentes valores de temperaturas e pH.

O soro foi filtrado em algodão para a remoção dos sólidos resultantes da fabricação de queijo.

As soluções de quitosana foram obtidas a partir da diluição de soluções-mães previamente preparadas para cada conjunto de ensaios. Para o preparo das soluções-

mães, dissolveu-se a quitosana em ácido acético 1 % v/v através de agitação magnética por 2h.

O soro com quitosana foi centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos na mesma condição utilizada por VOGELAAR (1997).

Considerando-se a praticidade, economia e aplicação do processo para o produtor optou-se, por trabalhar com o soro em sua faixa próxima ao pH natural (pH~6,0). A coagulação foi realizada a partir da adição e mistura de quitosana ao soro de leite, sendo utilizado um sistema de teste de jarros (*Jartest*). Esse equipamento proporciona dosagem mais eficiente e econômica de coagulante para uma determinada intensidade e duração de mistura.

Os ensaios foram conduzidos adicionando-se 285 mL de amostra de soro de leite bubalino aos béqueres concomitante ao início da rotação das pás, agitação de 15 ml da solução de quitosana aos béqueres, agitação do material por 2 minutos a 120 rpm (etapa rápida); depois por 5 minutos a 10 rpm (etapa lenta); o material ficou 2 horas em repouso para ocorrer a flotação, a Figura 12 resume esse método.

Figura 11- Diagrama de blocos da metodologia

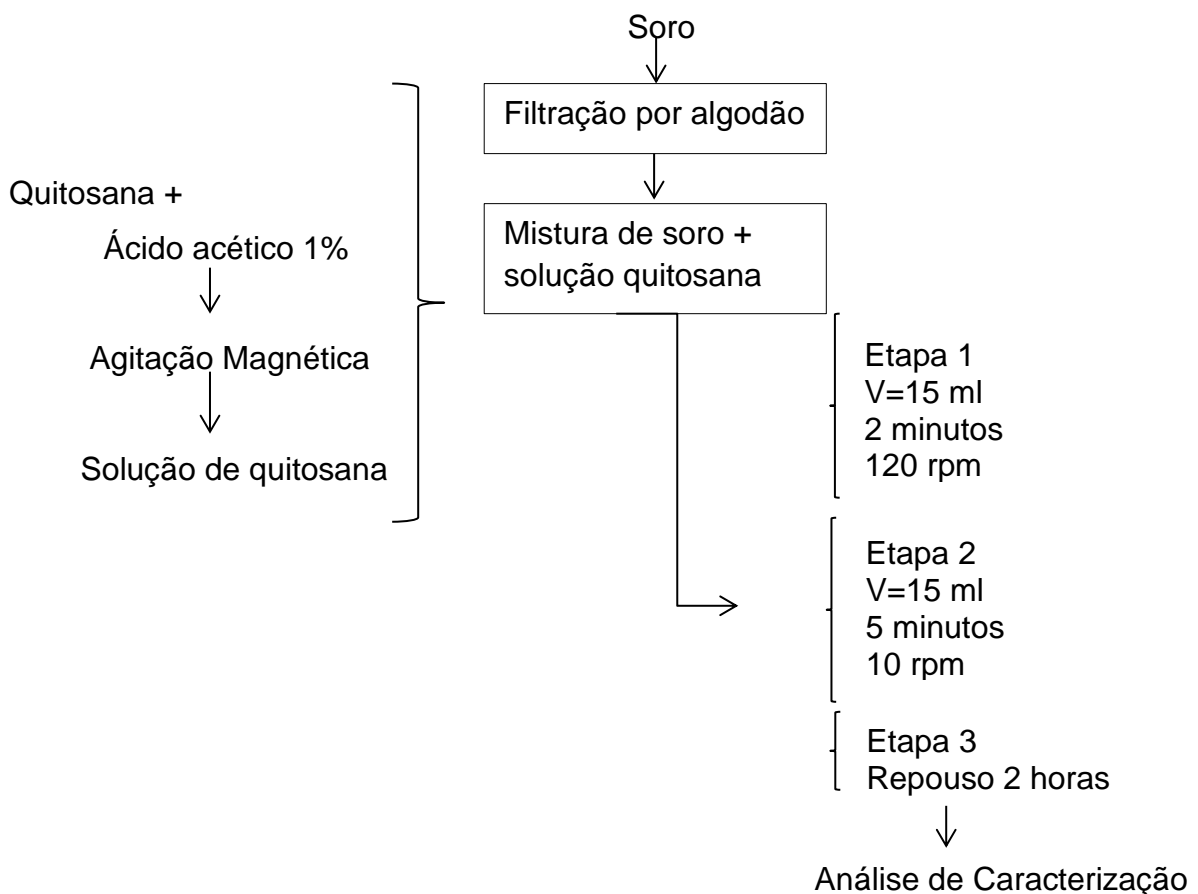


Tabela 7 e Tabela 8 respectivamente para se avaliar a influência de concentração de

quitosana, temperatura e pH na eficiência do processo, a qual foi mensurada pela concentração de proteína, variável resposta.

Para tal, o pH variou entre 5 e 6, temperatura de 6°C a 34°C e diferentes concentrações da solução de quitosana: 200 a 400 mg/L. O planejamento fatorial completo 2^3 , totalizando 20 ensaios, aleatorizado e em um bloco, foi realizado acrescido de seis pontos axiais e seis réplicas no ponto central.

Tabela 7- Níveis das variáveis avaliadas nos experimentos.

Variáveis		-1,68	-1	0	-1	1,68
Concentração (mg/L)	x1	200	240,55	300	359,45	400
Temperatura (°C)	x2	6	8,45	14	20,35	34
pH	x3	5	4,66	5,5	5,84	6

Fonte: Autor (2017)

Tabela 8 -Delineamento composto central rotacional

Ensaio	Concentração (mg/L)	Temperatura(°C)	pH
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1
9	-1,68	0	0
10	+1,68	0	0
11	0	-1,68	0
12	0	+1,68	0
13	0	0	-1,68
14	0	0	+1,68
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0

Para verificação da concentração pelo uso de centrifuga foi realizado um segundo ensaio variando-se a temperatura de 6 °C a 34 °C com a utilização de centrifuga a 5000 rpm por 10 minutos.

3.6 Caracterização físico-química do coagulado e filtrado

As análises de caracterização do concentrado foram realizadas em triplicatas, para determinação do erro experimental, e de acordo com os procedimentos apresentados por INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005), pelo APHA (*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 1998) e pela AOAC (*Official Method*, 2005). A descrição dos métodos está no anexo A-H. A caracterização foi constituída por:

Filtrado: pH, acidez, turbidez, DQO, extrato seco total, lactose, proteína, lipídios e cinzas.

Coagulado seco: lactose, proteína, lipídeos e cinzas.

3.7 Ensaios do Processo de Separação por Membranas - PSM

Os ensaios utilizando o Processo de Separação por Membranas foram realizados no laboratório de Físico/ Química da Escola de Veterinária/UFMG. Os ensaios foram realizados em 3 etapas: processo de microfiltração, processo de ultrafiltração e processo de diafiltração.

3.7.1 Estudo do comportamento da membrana

Para realizar o ensaio foi necessário um estudo do comportamento da membrana. Realizaram-se testes para realização com a máxima eficiência do equipamento sem ocorrer extravasamento da matéria-prima. A vazão de alimentação da bomba foi determinada através da condição de operação máxima do equipamento, sem extravasamento do soro. Verificou-se qual seria a vazão com maior eficácia em relação ao fluxo do permeado. A vazão de alimentação foi realizada entre a variação do nível da bomba de 1 a 10 onde os fluxos foram de 50 ml/min e 300 ml/min. A compactação das membranas foi realizada através da circulação de água destilada a temperatura de 50°C. A Tabela 9 apresenta esses valores.

Tabela 9- Variação da vazão de alimentação de água destilada a 50°C.

Nível	Vazão de alimentação (ml/min)
1	50
2	70
3	150

4	180
5	220
6	265
7	285
8	295
9	300
10	300

Fonte: Autor (2016)

Dentre estes valores o que apresentou melhores resultados foi o correspondente a uma vazão de 150 ml/min a pressão constante de 1 Bar. Ao aumentar o nível da bomba ocorreu dificuldade de escoamento devido à maior viscosidade do concentrado, ocasionado pelo aumento da concentração de proteínas.

PRUDENCIO *et al.* (2006) utilizaram a mesma pressão de 1 bar em seu estudo sobre o comportamento de leite de búfala durante o processo de ultrafiltração a vazão ótima encontrada foi de 15.000ml/min volume superior devido à PSM ser realizado em uma planta piloto, de maior capacidade.

PAGNO *et al.* (2009) utilizou pressão mantida em 2 bar, com vazão de alimentação de soro de aproximadamente 14.000ml/min para obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas.

Todos os processos citados foram realizados a temperatura de 50°C. Essa foi a temperatura utilizada por BALDASSO *et al.* (2011), que atribuíram esse valor devido à menor viscosidade da solução e, como consequência, um maior fluxo de permeado.

STEINHAEUER (2015) relata uma degradação da membrana em temperaturas superiores a 50°C, citando ainda que em temperaturas próximas a 50°C existe o menor crescimento de microrganismos.

A pressão da membrana foi mantida em 1 bar e a vazão de alimentação a 150 mL/min. A compactação foi utilizada para que sua estrutura mecânica fosse compatível com a pressão do sistema, ocorrendo estabilização do mesmo, para posterior utilização para concentração das proteínas do soro de leite.

Foi realizado o cálculo do fluxo permeado (L/m².h) do soro de leite bubalino com o processo de ultrafiltração e diafiltração em função do tempo (min). O fluxo do permeado foi calculado no período de 8 horas.

O coeficiente de retenção da proteína foi calculado durante a ultrafiltração por 8 horas, ou seja, até o ponto em que o fluxo de permeado fosse quase nulo, conforme PRUDENCIO *et al.*, (2006).

3.7.2 PSM por Ultrafiltração

Previamente ao PSM, o soro foi filtrado em algodão para a remoção dos sólidos resultantes da fabricação de queijo, evitando a entupimento das membranas. Após foi realizado o processo de microfiltração, utilizando 10 litros de soro bubalino, em alíquotas de 2 litros de soro que ficaram imersas em banho termostático, com agitação constante e temperatura de 50°C, a pressão de 1 Bar. Já as outras etapas objetivaram a concentração de proteínas e purificação da mesma.

No PSM por ultrafiltração o soro de leite aquecido foi conduzido até a bomba peristáltica através de mangueiras que alimentam o sistema e conectam-se ao módulo de membrana. Todo processo foi monitorado por dois manômetros de capacidade de 50 psi ou 4 kg/cm², e a temperatura do soro controlada por banho termostático. A Figura 13 representao processo de ultrafiltração.

Figura 12- Sistema de Ultrafiltração por módulo de membrana de fibra oca de 10 kDa.

(1) Módulo de membrana de ultrafiltração; (2) Bomba peristáltica; (3) Banho termostático.

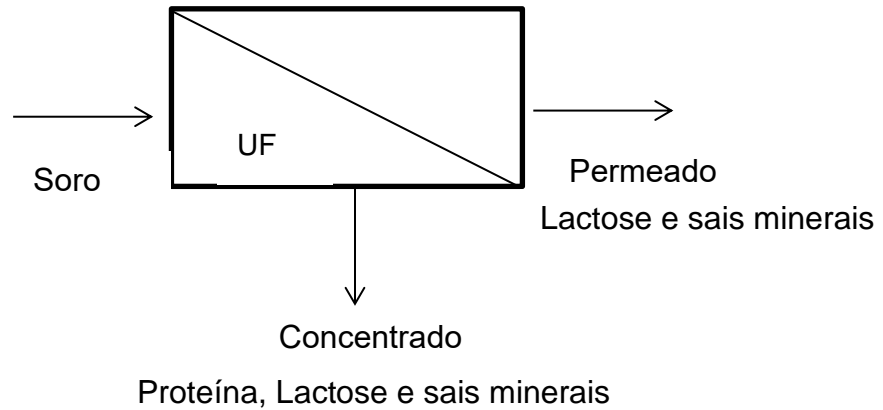


Nos 15 minutos iniciais, o processo ocorreu com retorno total da alimentação, com o intuito de estabilizar o sistema e manter o equilíbrio térmico. No processo de ultrafiltração foram utilizados 8 litros de soro bubalino previamente microfiltrado, em alíquotas de 2 litros de soro que ficaram imersos em banho termostático com agitação constante e temperatura de 50°C a pressão de 1 Bar.

No PSM por ultrafiltração o soro bubalino entra em contato com a membrana, logo a corrente concentrada retorna a alimentação e a corrente permeada é removida por outra saída. Durante a ultrafiltração a membrana é permeada pela água, sais e lactose, pois as partículas possuem menor tamanho que os poros das membranas

enquanto as proteínas que possuem tamanho superior serão concentradas conforme representa esquematicamente a Figura 13.

Figura 13 - Esquema do processo de ultrafiltração.

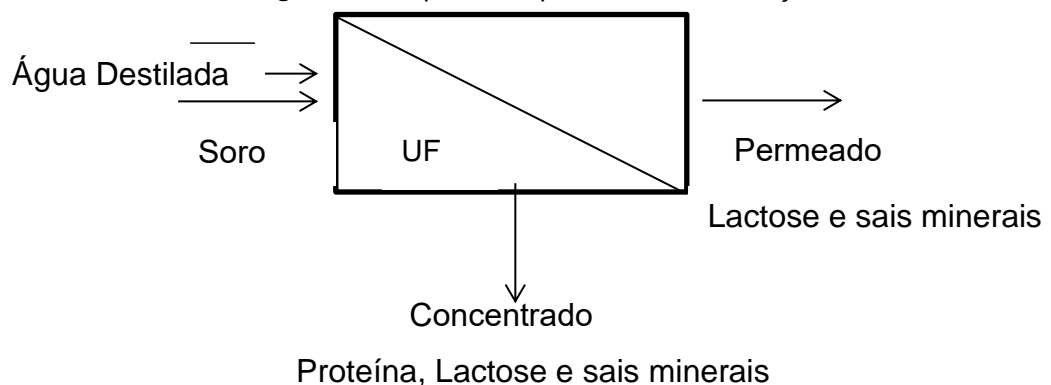


O fluxo do permeado foi calculado a cada 15 minutos utilizando-se uma proveta graduada. A cada 30 minutos foram retiradas alíquotas do concentrado e do permeado que foram verificadas: pH, condutividade elétrica, proteína, extrato seco total e lactose.

3.7.3PSM Diafiltração

No processo de diafiltração soro bubalino foi previamente microfiltrado, adicionou-se água destilada no mesmo volume do permeado cerca 500 ml em 1.500ml do concentrado, resultando no volume final de 2.000 ml. Este processo retira parte do composto de menor massa molar (lactose e sais). A Figura 14 representa esquematicamente o processo de diafiltração.

Figura 14 - Esquema do processo de diafiltração.



A cada 30 minutos foram retiradas alíquotas do concentrado e do permeado das quais foram verificados: pH, condutividade elétrica, proteína, extrato seco total e lactose.

O procedimento de limpeza foi realizado antes e após todo teste de concentração. A limpeza foi realizada de acordo com as especificações do fabricante sendo utilizado NaOH 0,1 N preenchendo todo o sistema em circulação a 50°C durante 30 minutos. Para verificação de eficiência do processo o fluxo de água destilada foi medido antes e após o procedimento de limpeza.

3.7.4 Análises da caracterização do concentrado e permeado

As análises de caracterização do permeado e concentrados foram realizadas em triplicatas, para determinação do erro experimental, e de acordo com os procedimentos apresentados por INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005), pelo APHA (*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 1998) e pela AOAC (*Official Method*, 2005). A descrição dos métodos está no anexo A-H. A caracterização foi constituída por:

Permeado ultrafiltrado e diafiltrado: pH, acidez, turbidez, DQO, condutividade elétrica, extrato seco total, lactose, proteína.

Concentrado ultrafiltrado e diafiltrado: pH, acidez, condutividade elétrica, extrato seco total, lactose, proteína.

Concentrado seco: lactose, proteína e lipídios.

3.8 Processo combinado de coagulação com quitosana e separação por membranas

Os processos foram combinados e realizados através da coagulação por quitosana e pelo processo de ultrafiltração. A combinação foi realizada com o a melhor condição de concentração de proteínas pelo método de coagulação e o resultado mais eficaz do PSM. No concentrado seco foram realizadas análises de lactose, proteína e lipídios com os mesmos métodos de análise utilizados no concentrado seco.

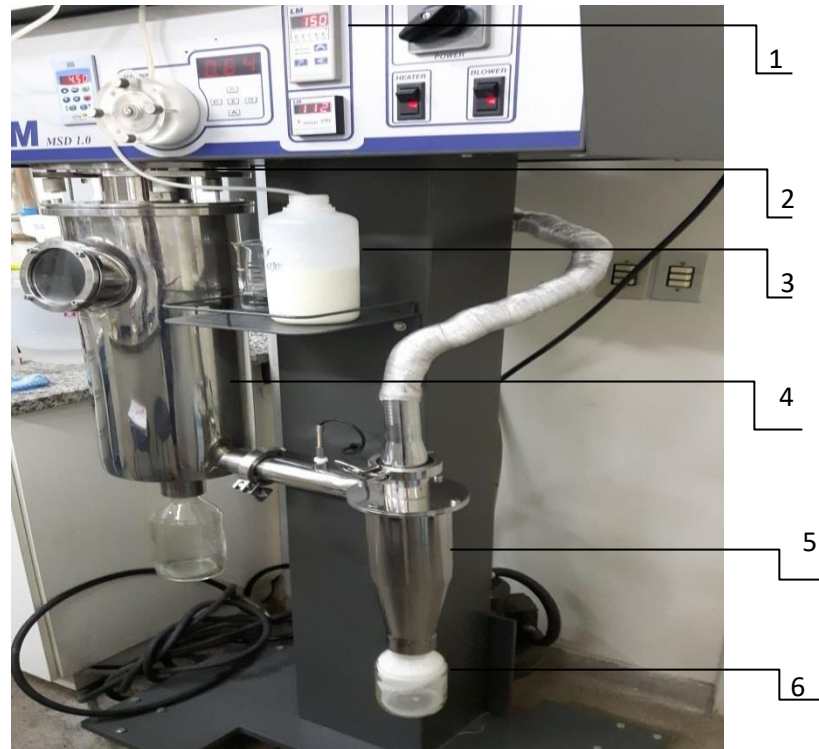
3.9 Ensaios de secagem

3.9.1 Ensaio de secagem do concentrado

A secagem foi realizada em secador *spray*, o mini *Spray Dryer* modelo MSDi 1.0 da LM Equipamentos, existente no laboratório 24 da empresa Invita no CETEC. O secador *Spray Dryer* é visualizado na Figura 16.

Figura 15-Mini *Spray Drying*.

- (1) Controlador de temperatura; (2) Atomizador; (3) Recipiente do Soro de leite bubalino; (4) Câmara de secagem; (5) Ciclone; (6) Soro de leite bubalino em pó.



Fonte: Autor (2016)

A vazão de ar de secagem é de $0,60 \text{ m}^3/\text{min}$, a temperatura máxima de operação é $190 \text{ }^\circ\text{C}$, a vazão máxima da bomba peristáltica é de $17 \text{ ml}/\text{min}$.

3.9.2 Determinação de umidade do concentrado

A determinação da umidade inicial foi realizada por método gravimétrico através da medição da massa por um período de 24 horas a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ segundo a norma de Adolfo Lutz. A amostra foi seca no papel de filtro e transferida para placas de petri. A secagem foi realizada em estufa nas temperaturas de 55 , 60 e $65 \text{ }^\circ\text{C}$, sob a vazão do ar de secagem constante.

As curvas de secagem foram obtidas através do método gravimétrico seguindo as etapas: Medição da massa inicial, secagem das amostras por 5 minutos e pesagem do material e repetir nos primeiros 30 minutos e depois a cada 10 minutos ou até obter o peso constante da amostra.

3.9.3 Isoterma de Sorção

A isoterma de sorção possibilita a avaliação da condição de equilíbrio entre a umidade do produto e sua atividade de água. A análise de atividade de água é muito utilizada em alimentos para verificar o teor de umidade que o alimento deve conter para não perder suas características, as isotermas de sorção foram utilizadas para avaliar este requisito neste trabalho.

Determinou-se a atividade de água utilizando o aparelho de marca *AQUA LAB*, na temperatura ambiente (28,2 °C) e umidade relativa de 60,4%. As amostras foram colocadas no porta-amostra do equipamento.

A temperatura ambiente foi a escolhida devido ao fato dos alimentos serem embalados nessa condição. Utilizou-se o procedimento recomendado pelo fabricante do aparelho: pesagem de 1,5 g de amostra; medida da atividade de água inicial; secagem do sólido por 10 minutos em estufa a temperatura que obteve melhor resultado de secagem cada 10 minutos de secagem foram coletadas uma nova medida da massa (novo valor de umidade) e da sua atividade de água. O procedimento foi repetido durante 1 hora de secagem do material.

3.9. Propriedades tecnológicas e funcionais

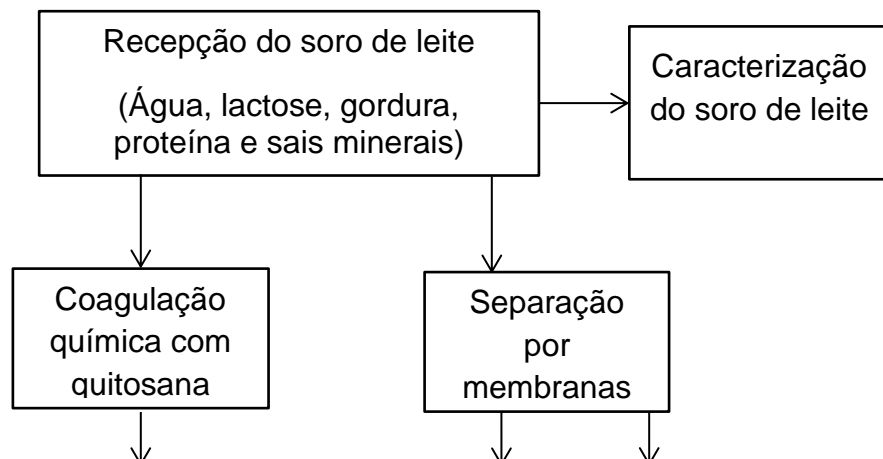
As propriedades tecnológicas de solubilidade proteica e propriedade espumante esta de acordo com os anexos I, J.

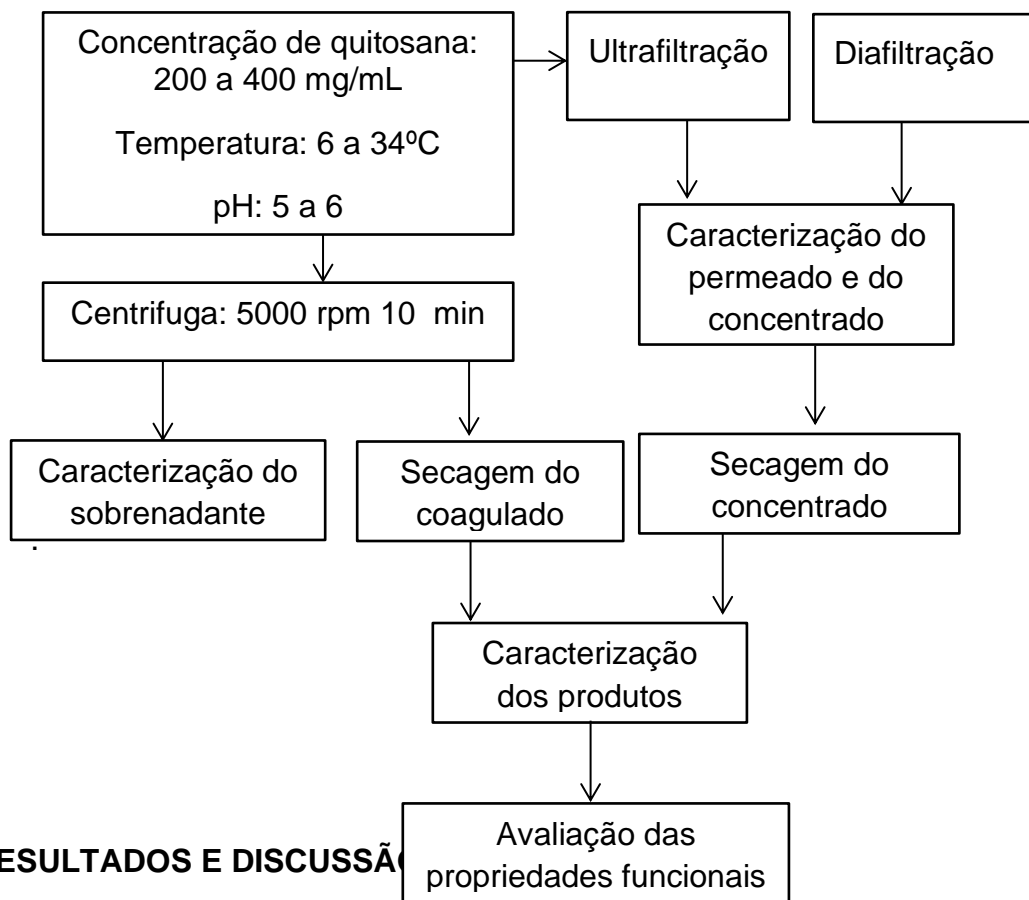
O método de MORR *et al.* (1985), se baseia no percentual de proteína em condições específicas de pH. A solubilidade da amostra foi determinada seguindo ajuste do pH com soluções de NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N, agitação à temperatura ambiente por 1 hora e centrifugação a 6.000 rpm por 30 minutos. Aferido o volume do sobrenadante, alíquotas foram tomadas para determinação do nitrogênio solúvel, expresso em porcentagem em relação ao nitrogênio total da amostra (MORR *et al.*, 1985).

A estabilidade da espuma foi realizada de acordo com PATEL *et al* (1988) que relaciona em termos percentuais o volume remanescente da espuma com o volume produzido no tempo zero (0) após o batimento. O procedimento foi realizado através da agitação da solução 1% de proteína no liquidificador na velocidade máxima durante 5 minutos e quantificação do volume da espuma através de uma proveta de 250 mL. A estabilidade da espuma foi observada durante 12 minutos após o batimento em intervalos de 1 minuto.

Os métodos utilizados neste trabalho para alcançar os objetivos propostos, estão apresentados no diagrama de blocos na Figura 17.

Figura 16 - Diagrama de blocos da metodologia.





São apresentados os resultados e uma discussão destes a cerca da composição química do soro de leite bubalino e suas considerações, além do resultado da coagulação química por quitosana e separação por membranas e da secagem.

4.1 Análises da caracterização do soro de leite bubalino

Os resultados dos parâmetros avaliados como pH, acidez, turbidez, DQO, extrato seco total, lactose, proteínas, cinzas, lipídios, bem como suas médias e desvios padrão obtidos na caracterização da amostra de soro seguem apresentados na Tabela 10.

Tabela 10- Valores médios e desvio padrão dos resultados obtidos para o soro de leite bubalino.

Parâmetro	Amostra de soro
pH	6,00 ± 0,05
Acidez láctica (°D)	10,98 ± 0,35
Turbidez (NTU)	2230 ± 69

DQO (mg/L)	76.596 ± 5,687
Extrato seco total (%)	7,9 ± 0,2
Lactose (%)	4,78 ± 0,35
Proteínas (%)	0,89 ± 0,08
Lipídios (%)	0,7 ± 0,2
Cinzas (%)	0,63 ± 0,08

Fonte: Autor (2106)

A análise dopH auxilia na previsão do comportamento das proteínas, visto que sua concentração e funcionalidade são dependentes do ponto isoelétrico sendo o pH o fator determinante deste ponto. LIRA *et al.* (2009), relata em seu trabalho pH 6,31 e acidez láctica de 10°D. Em relação à acidez láctica os resultados encontrados apresentam-se de acordo com a legislação, que considera valores de 8 a 14°D (Brasil, 2013).As diferenças encontradas podem ser devido a diferentes métodos de produção. Este é um soro proveniente de coagulação enzimática então possui maior concentração de lactose.

A turbidez encontrada neste trabalho foi de 2230± 69 NTU enquanto VOGELAAR (1997) relata 878 NTU, essa diferença pode ser correspondente ao processo de fabricação de queijo e a quantidade de sólidos encontrados no soro, além da diferente origem do soro de fonte bubalino possuir maior concentração de sólidos solúveis.

A demanda química de oxigênio (DQO) indica o soro como potencial poluidor ao meio ambiente. O resultado obtido para a DQO para o soro de leite foi de 76.596mg/L, valores correspondentes ao relatado por VOGELAAR (1997), que foi 70.956mg/L.

O extrato seco total indica a quantidade total de substâncias sólidas presentes em relação á amostra analisada o resultadofoi 7,9 %± 0,2, enquanto LIMA *et al.* (2014) relatam 14,39 a 15,63%, o resultado experimental obtido demonstra que o soro analisado contém metade das substâncias sólidas totais que o valor encontrado na

referência citada. Tal diferença pode ser devida à utilização de rebanhos de raças diferentes.

Em relação à lactose um dos principais componentes do soro os valores encontrados por LIMA *et al.* (2014) é de 4,61 a 4,92 %, valores correspondentes ao determinados neste trabalho e LIRA *et al.* (2009) é 5,84%, valor ainda próximo.

O resultado das proteínas no soro de leite bubalino neste trabalho foi de 0,89% \pm 0,08 mostrando-se próxima ao relatado por LIMA *et al.* (2014), que citam 0,91%, já LIRA *et al.* (2009) e SOARES *et al.* (2012) citam 1,19% e 1,08%.

Nos bubalinos, a gordura é o componente com maior variação do leite e do soro, segundo DUARTE (2001). O valor encontrado nesse trabalho 0,7% \pm 0,2 e menor do que os valores relatados por LIRA *et al.* (2009) é 1,20 %, e LIMA *et al.* (2014) que relatam 1,51%.

As cinzas de um alimento é o resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica, que é transformada em CO₂, H₂O e NO₂. A cinza é constituída principalmente por grandes quantidades de K, Na, Ca e Mg; pequenas quantidades de Al, Fe, Cu, Mn e Zn; e traços de Ar, I, F e outros elementos. LIMA *et al.* (2014), cita o resultado do teor de cinzas foi de 0,45%, valor menor do que o encontrado neste trabalho de 0,63% \pm 0,08. Segundo Rocha (2008), o leite de búfala possui teor de minerais, como cálcio e magnésio, maior do que o leite bovino, o que pode interferir no teor de cinzas do soro, aumentando seu valor.

O soro de leite bubalino é um produto muito susceptível a variações em sua composição química devido a diversos fatores como questões relacionadas ao animal, clima, método de fabricação, acidez onde relaciona o soro ácido com maiores concentrações de sais de cálcio e fósforo, o que explica as pequenas divergências de valores na composição quando comparado a com a literatura.

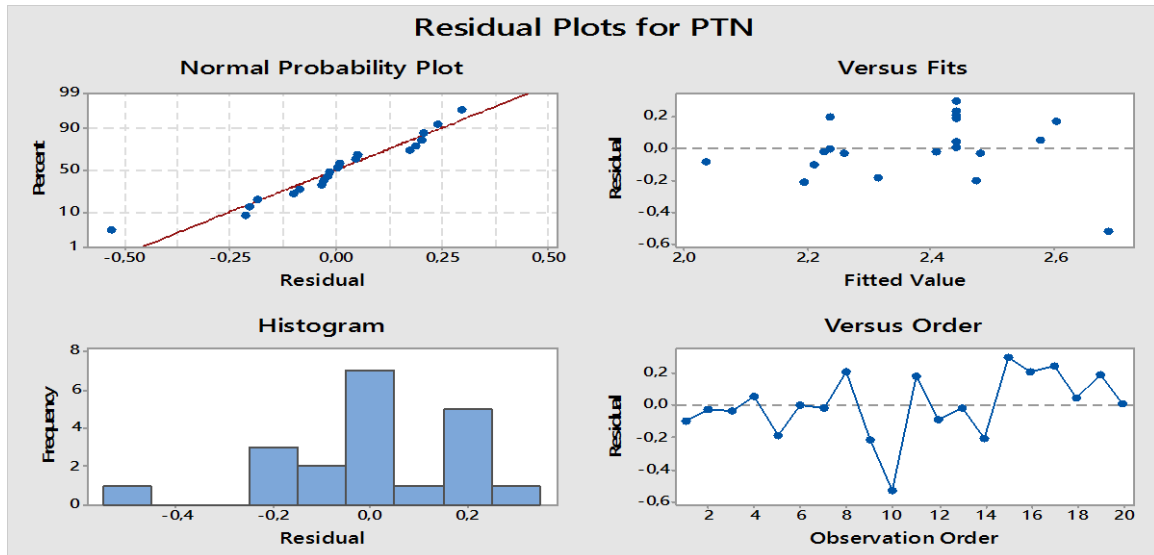
4.2 Ensaio de coagulação

4.2.1 Delineamento Rotacional Composto (DCCR)

Os resultados do primeiro ensaio de coagulação passaram por um tratamento estatístico utilizando-se o programa Minitab® com o intuito de verificar a influência de cada um dos fatores analisados no resultado obtido. A Figura 18 mostra a análise dos resíduos do ensaio de coagulação.

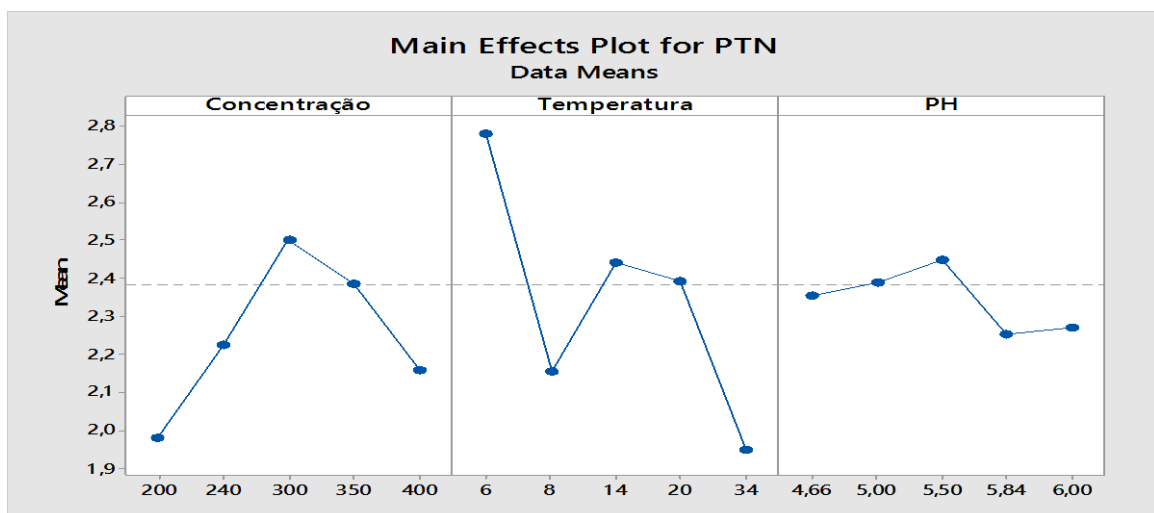
Os resultados apresentados na Tabela ANOVA revelam a não rejeição de nenhuma hipótese nula no intervalo de confiança de 95%, ou seja, nenhum dos fatores analisados tem influência sobre a concentração de proteínas nas condições trabalhadas.

Figura 17- Análise de resíduos do ensaio de coagulação.



A Figura 19 ajuda a visualizar a independência dos fatores na concentração de proteína entre os níveis -1 e +1, analisados no ensaio de coagulação. Observa-se, uma oscilação entre os valores encontrados e um pico de concentração máxima de todos os fatores onde a variável resposta é a concentração de proteínas.

Figura 18- Efeito dos fatores sobre a concentração de proteína no ensaio de coagulação.



Com base nesses resultados, o ponto ótimo para a coagulação foi definido como o melhor ponto de concentração de proteínas: concentração de quitosana de 300 mg/L e pH de 5,5 – condições nas quais obteve-se maior concentração de

proteínas. De acordo com o resultado do primeiro ensaio foi realizado o segundo ensaio verificando a utilização de centrífugas.

Os resultados do ensaio de coagulação passaram por um tratamento estatístico utilizando-se o programa Minitab® com o intuito de verificar a influência da utilização da centrífuga e da temperatura. A Tabela 12 referencia o resultado de uma análise por vez, apresentando a concentração de proteínas para temperaturas investigadas.

Tabela 11- Análise de variância segundo ensaio

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Temperatura	4	1,33133	0,332833	1248,13	0,000
Error	100	0,00267	0,000267		
Total	141	1,33400			

De acordo com a Tabela 12 observa-se que a temperatura teve influência sobre a recuperação de proteínas com a diferença de 75% entre a temperatura de 6°C e 34°C. A linha do perfil de recuperação com centrífuga mostra um notório efeito da temperatura. Como resultado final para a faixa investigada, a melhor recuperação foi a temperatura a 6°C com a utilização de centrífuga. Essas condições foram consideradas ótimas e a caracterização do coagulado e do filtrado, foram realizadas, conforme será apresentado posteriormente.

4.2.2 Análises da caracterização do coagulado e filtrado

Os resultados dos parâmetros avaliados como pH, turbidez, acidez, extrato seco, cinzas, umidade, DQO, lactose, proteínas e lipídios do sobrenadante do coagulado seco bem como suas médias e desvios padrão obtidos na caracterização da amostra de soro seguem apresentados na Tabela 13.

Tabela 12 - Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do filtrado e coagulado do soro de leite bubalino.

Parâmetro	Amostra de soro	Filtrado após coagulação	Coagulado Seco
pH	6,00 ± 0,05	5,73 ± 0,03	-
Acidez láctica (°D)	10,98 ± 0,35	12,02 ± 0,47	-
Turbidez (NTU)	2230 ± 69	37 ± 4	-
DQO (mg/L)	76.596 ± 5,687	65.897 ± 6,698	-
Extrato seco total (%)	7,9 ± 0,2	6,62 ± 0,2	-
Lactose (%)	4,78 ± 0,35	4,41 ± 0,43	25,90 ± 0,33

Proteínas (%)	0,89 ± 0,08	0,78 ± 0,05	13 ± 0,2
Lipídios (%)	0,7 ± 0,2	-	52 ± 0,3
Cinzas (%)	0,63 ± 0,08	0,62 ± 0,1	6,79 ± 0,7

Após a coagulação observa-se uma redução no pH. Esse dado pode ser explicado devido à adição do ácido acético durante a preparação da solução de quitosana fazendo com que ocorra uma redução no pH e também pelo maior tempo decorrido para realizar a aferição, que aumenta a acidez da amostra.

Para o filtrado após coagulação, o valor encontrado de acidez láctica ($12,02^{\circ}\text{D} \pm 0,47$) foi superior ao valor obtido para o soro de leite *in natura*. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que os filtrados obtidos são provenientes de soros que tiveram acerto de pH para a realização da coagulação, de forma a influenciar, mesmo que de forma pequena, a análise de acidez.

A turbidez no filtrado indica elevada remoção de gordura com eficiência de 98,53%, ou seja, a concentração de 300mg/L foi efetiva para este parâmetro.

A DQO representa a matéria orgânica, podendo ser bastante variável. A elevada concentração de DQO no filtrado é justificada pela quantidade de lactose que ainda permanece no mesmo, pois a lactose não é removida pela quitosana.

A lactose é importante contribuinte de efluente da indústria de processamento de queijo. No filtrado obtido após a etapa de coagulação a DQO foi de $65.897\text{mg/L} \pm 6,698$, evidenciando que houve uma redução no valor desse parâmetro com a realização da coagulação. Esse resultado é importante nas considerações ambientais, pois elevados valores de DQO indicam efluentes que apresentam grande potencial poluidor ao meio ambiente.

O resultado do extrato seco total encontrado para o filtrado após a coagulação ($6,62 \pm 0,2$ %) revela uma diminuição da quantidade de sólidos totais presentes em solução, evidenciando que houve transferência de parte dessas substâncias do soro para o material coagulado, importante para a caracterização do processo de coagulação.

A concentração de lactose no filtrado após coagulação (4,41%) demonstra que houve uma parcela da lactose do soro retida no coagulado. XAVIER (2012) cita concentração de 4,59 % de lactose no coagulado.

A concentração de proteínas no filtrado obteve o valor de 0,78% o que indica que parte das proteínas não coagulou ficando presente no filtrado.

Para o sólido coagulado obtido, a concentração de proteínas foi de 13%, o coagulado alcançou esse valor, pois de acordo com VOGGELAR (1997) e AUSAR *et al.* (2001), o grau de desacetilização, peso molecular e pureza da quitosana interferem diretamente na concentração de proteína do soro de leite, inclusive na concentração de caseína no coagulado e de soroproteínas no filtrado. Porém prediz que se aumentado o grau de desacetilização da quitosana aumenta de concentração de β -lactoglobulina e da caseína.

Sabe-se que a presença de pequenas quantidades de quitosana não tem efeitos adversos sobre o valor nutricional das proteínas a partir de resíduos alimentícios (DAMIAN *et al.*, 2005).

A eficiência média de remoção da turbidez, extrato seco total, cinzas e DQO foram, respectivamente, 98,34%, 13%, 1,58%, 13,96%.

Em relação aos lipídeos, análise do coagulado sólido obtido demonstra uma elevada concentração (52%). Pode-se dizer que houve arraste de gordura para o material sólido, pois a quitosana possui elevada carga positiva que atrai e se liga aos lipídios, que por sua vez, possui moléculas de natureza negativa como consequência uma maior remoção de gordura.

A maior parte dos demais componentes, lactose (4,41%), proteínas (0,78%) e minerais, permaneceram dissolvidos no sobrenadante da coagulação.

Nos experimentos de VOGELAAR (1997), utilizando 400 mg/L de quitosana em pH 6.0 com utilização de centrifuga para recuperar as proteínas do soro de leite obteve uma redução de 91,69% da turbidez, 7,57% da DQO, 86,77% dos sólidos em suspensão, e um coagulado com 65,70% de proteínas.

JERONIMO e SOUZA (2012) em suas análises utilizando como agente de coagulação, a quitosana, resultou em níveis de eficiência na remoção de proteínas superiores a 88%. Os níveis ótimos obtidos no trabalho flocação de proteínas estão em níveis de pH da ordem de 5,25 e dosagem de quitosana de 400 mg/L de soro, sendo o tempo de 2 horas suficiente para a remoção eficaz desse material.

XAVIER (2012) em seus estudos sobre proteínas do soro bovino utilizou pH 6,0, obteve um coagulado com 67% de gordura, 15% de proteínas, 2,43 % lactose e a eficiência de remoção de turbidez foi 99,21%.

SOARES *et al.* (2012) em estudo da recuperação de proteínas do soro de leite bubalino nas condições de pH 6,5 concentração de quitosana de 250 mg/L e

temperatura de 15°C obtiveram 94,7% de remoção de turbidez, 23% na redução de DQO, mas somente 11,23% e concentrado proteico e 81% de gordura.

AUSAR *et al.* (2001) realizou um importante trabalho com quitosana de diferentes pesos moleculares para precipitar as micelas de caseínas do leite. No coagulado ele obteve uma recuperação usando a quitosana de alto peso molecular de 85% de proteína e 99,6% de gordura, com a quitosana de médio peso molecular.

A Tabela 14 possui um resumo das referencias que utilizam quitosana como agente coagulante de proteínas.

Tabela 13 - Comparações dos resultados de diferentes referências.

Referência	Concentração Quitosana	Proteína (%)	Remoção Turbidez (NTU)
Vogelaar (1997)	400 mg/L	65,7	91,69
Xavier (2012)	350 mg/L	15	99,21
Soares et al. (2012)	250 mg/L	11,23	94,7
Autor (2017)	300 mg/L	13	98,53

Apesar de todos esses trabalhos serem realizados com quitosana sabe-se que este polímero possui diferentes propriedades o que diferencia os resultados dos trabalhos por isso é necessário que se faça uma análise preliminar com as diferentes quitosanas disponível no mercado a fim de determinar a ideal para a recuperação de proteínas.

Após a secagem por estufa o valor encontrado para lactose foi de $25,90 \pm 0,33$, proteína de $13\% \pm 0,1$, cinzas $6,79 \pm 0,71$ e lipídeos $52,1 \pm 0,3$. Os resultados indicam maior concentração de lipídeos comparados às proteínas, esse fato pode ter influenciado a concentração final.

Este concentrado de lipídeos, pode agregar valor à outros produtos, além de, parcialmente, diminuir os custos de tratamentos das águas residuais.

De acordo com COSTA *et al.*(2009), existem diversos trabalhos realizados com as proteínas presentes na membrana do glóbulo de gordura do leite MGGL. Devido a suas propriedades emulsificantes, podem ser usados em aditivos ao chocolate para reduzir a viscosidade e impedir a cristalização, em panificação para melhorar a dispersão da gordura, em produtos instantâneos para melhorar a capacidade de hidratação, e como estabilizantes em margarinas.

Apesar de considerar que ocorreu uma significativa recuperação de proteínas, porém não o suficiente para ser considerado um concentrado proteico, pois a porcentagem mínima é de 35%.

4.3 Ensaios de PSM

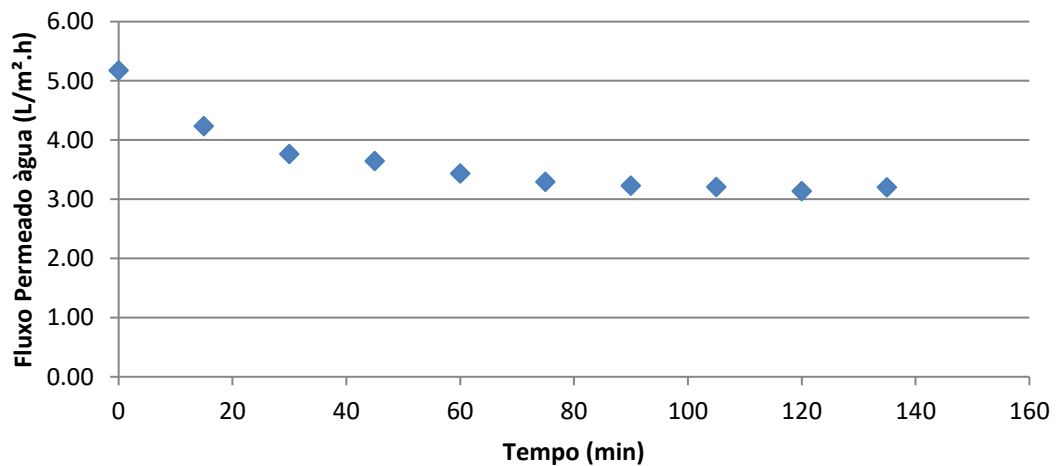
4.3.1 Caracterização do comportamento da membrana

Segue os resultados obtidos para caracterização das membranas como compactação das membranas, fluxo permeado e capacidade de retenção.

4.3.1.1 Compactação das membranas

Com o objetivo de compactar as membranas foi realizado um ensaio com água destilada a vazão constante de 150 mL/min a pressão de 1 Bar. A compactação é importante para estabilização do processo antes da ultrafiltração e diafiltração. A eficiência do processo foi verificada pela variação do fluxo permeado da água destilada durante 140 minutos conforme indica a Figura 20.

Figura 19 - Compactação da membrana de 10 KDA fibra oca fluxo permeado x tempo.

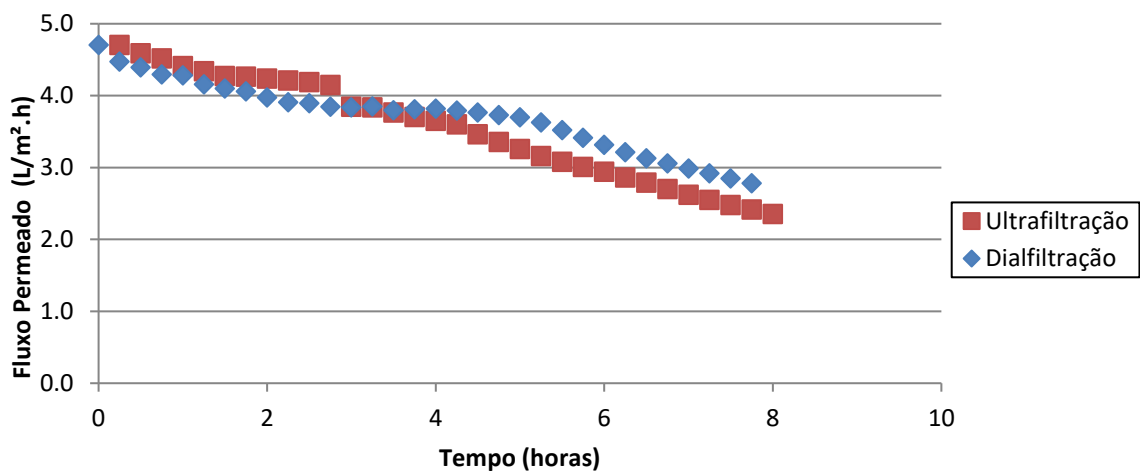


De acordo com a Figura 20, percebe-se que antes de 80 minutos de operação o fluxo diminuiu ao decorrer do tempo até 80 minutos iniciais, após esse período o fluxo torna-se constante, indicando que é o tempo suficiente para compactação das membranas. Por isso foi determinado esse parâmetro de minutos antes de toda realização da ultrafiltração/ diafiltração, garantindo-se a compactação das membranas no início do PSM.

Comportamento similar foi relatado por RODRIGUES *et al.* (2003) ao estudarem parâmetros de ultrafiltração de suco de banana, através da recirculação de água deionizada com pressão de entrada a 5 atm e vazão de 40 ml/h, em que definiram o tempo de compactação após 70 minutos de operação.

Na Figura 21 observa-se o resultado do cálculo do fluxo permeado ($L/m^2.h$) do soro de leite bubalino com o tratamento de ultrafiltração e diafiltração em função do tempo (min).

Figura 20- Ultrafiltração e Diafiltração com utilização da membrana de 10 KDA fibra oca fluxo permeado x tempo



De acordo com o gráfico da Figura 21, percebe-se uma redução do fluxo permeado em relação ao tempo em ambos os experimentos. Essa diminuição do fluxo pode ser proveniente da polarização por concentração de proteína ocasionando o entupimento na superfície da membrana o que leva a um aumento da concentração de soluto e diminuição do fluxo ao decorrer do processo ou ainda devido o aumento da viscosidade.

Nota-se que na diafiltração ocorreu uma inversão em relação a ultrafiltração isso pode ser explicado devido à adição de água no sistema diminui a concentração de solutos resultando em maior fluxo permeado.

O fluxo do permeado encontrado por PRUDENCIO *et al.*, (2006) foi igual a 35 $L/m^2.h$, valor referente a estudo na planta piloto. Esses autores relatam declínio contínuo após 30 minutos de operação no caso deste trabalho observa-se um maior declínio após 60 minutos de operação.

Na diafiltração, ao se adicionar água no sistema aumenta-se o fluxo até o final da operação. Este valor mantém-se mais elevado em relação ao fluxo de concentração da ultrafiltração. Comportamento diferente também é evidenciado

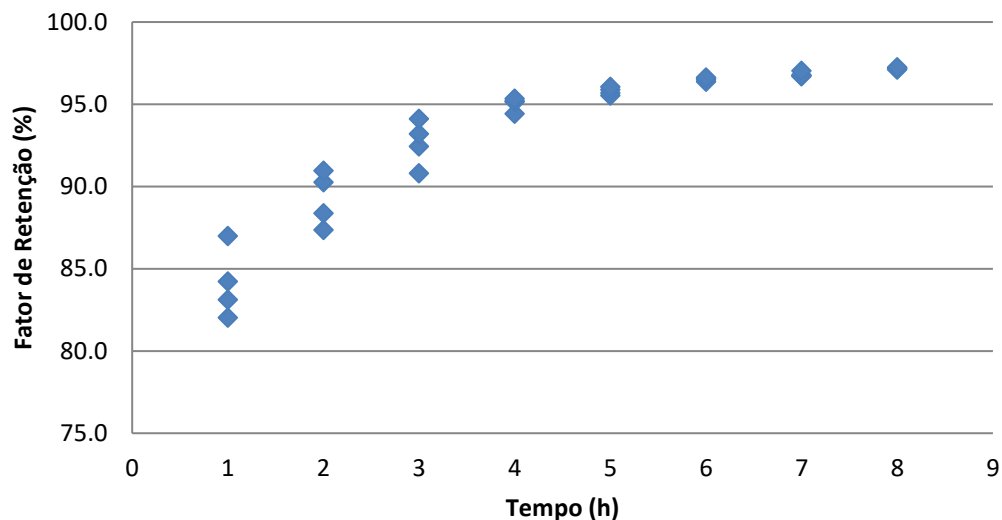
comparando-se os processos com a água que logo após 65 minutos de operação observa-se um fluxo mais contínuo enquanto que com o soro de leite bubalino observa-se um declínio linear.

Esse efeito pode ser ocasionado pelo aumento da camada polarizada. Por esse motivo optou-se por concentrar em pressões mais baixas, pois com o aumento ocasiona maior concentração de solutos, levando a formação mais rápida de incrustações na membrana.

4.3.1.2 Fator de retenção

O resultado do coeficiente de retenção da proteína em relação ao tempo de operação é apresentado na Figura 22.

Figura 21 - Fator de retenção da proteína do soro de leite bubalino durante a ultrafiltração.



O coeficiente de retenção foi calculado até o ponto em que o fluxo de permeado fosse quase nulo, conforme PRUDENCIO *et al.*, (2006). O resultado do fator de retenção de proteína indica que houve aumento com o decorrer da concentração, mas o máximo retido foi de 97%, indicando que houve principalmente no início do processo, migração da proteína para o permeado.

4.3.2 Análises da caracterização do concentrado e permeado

Durante o processo de ultrafiltração foram utilizados 16 litros de soro de leite bubalino. Ao final do processo o permeado obteve 11 litros e o concentrado 5 litros.

As médias e os desvios padrão dos resultados das análises de caracterização realizadas do permeado e do ultrafiltrado estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 14- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do concentrado e permeado do ultrafiltrado e diafiltrado do soro de leite bubalino

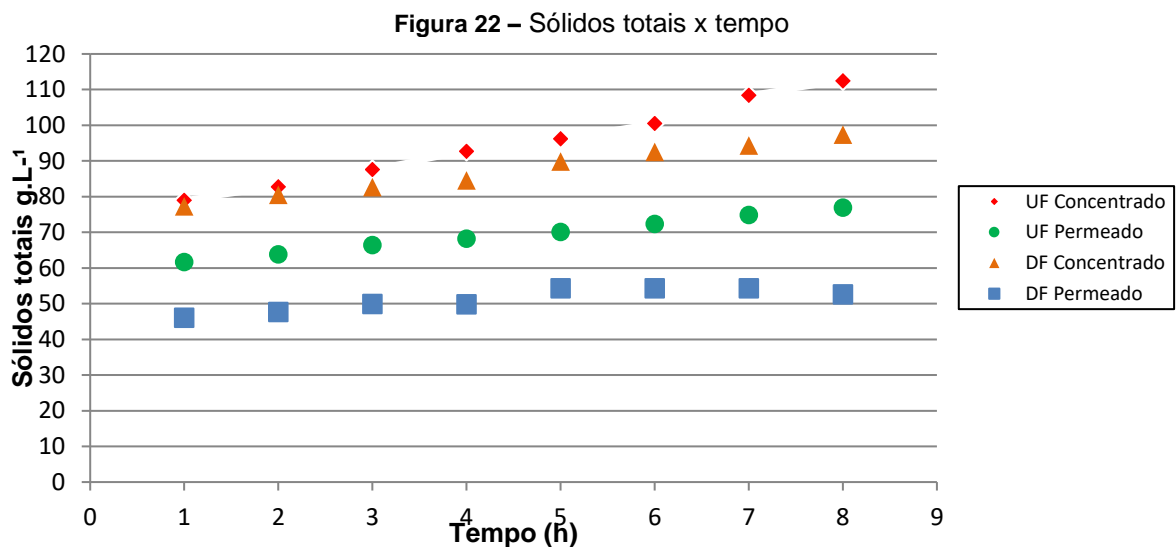
Parâmetro	Ultrafiltrado	Ultrafiltrado	Diafiltração	Diafiltração
	Concentrado	Permeado	Concentrado	Permeado
pH	5,90 ± 0,01	5,80± 0,01	6,01± 0,01	5,97± 0,01
Acidez láctica (°D)	12,28 ± 0,01	11,58 ± 0,01	12,45 ± 0,01	11, 25± 0,01
Turbidez (NTU)	-	33 ± 9	-	25± 6
DQO (mg/L)	-	34.836 ± 7.41	-	32.348± 6321
Condutividade (mS.cm ⁻²)	6,03 ± 0,25	5,84± 0,37	4,65±0,28	4,02±0,43

Nos dois processos de concentração ocorreu pequena diminuição do pH provavelmente devido ao tempo de exposição do soro de leite em contato com o oxigênio, podendo levar a amostra a degradação com o tempo de concentração.

A acidez láctica teve uma pequena variação e diminuiu no permeado em ambos os processos.

A DQO e turbidez do permeado do diafiltrado e ultrafiltrado diminuíram em relação ao valor inicial do soro, em consequência da concentração de sólidos no concentrado.

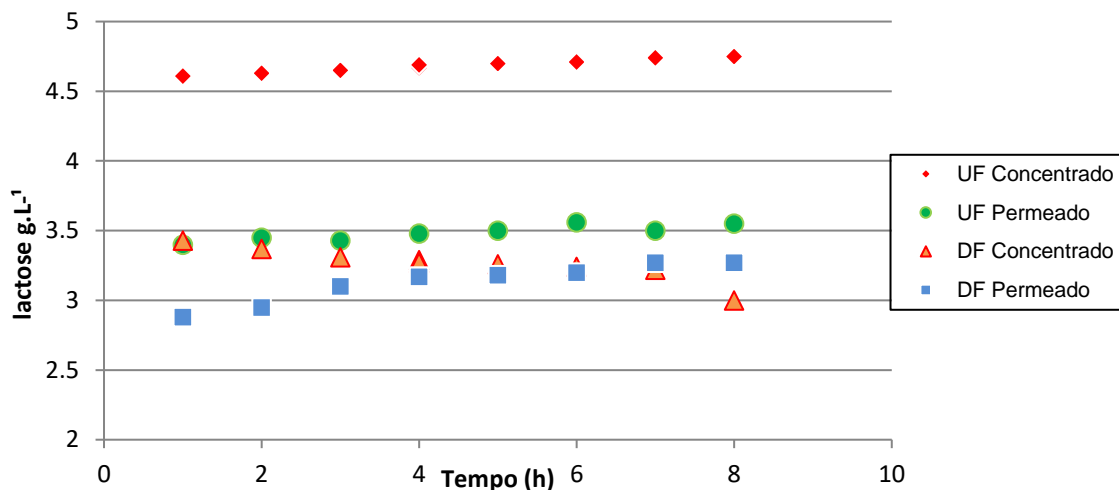
Os dados referente a variação de sólidos totais em função do tempo de ultrafiltração e diafiltração podem ser observados na Figura 23.



Considerando-se a Figura 23, é verificado o aumento do ultrafiltrado concentrado principalmente pelo aumento de proteínas neste composto. Também ocorreu um aumento no concentrado diafiltrado. O valor de sólidos totais do concentrado UF apresentou um valor de $79,01 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$ após uma hora e no final de $114,65 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$. Já os sólidos totais do permeado UF $49,07 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$ para $74,87 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$. No DF concentrado $61,67 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$ para $76,21 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$, já o permeado DF também os resultados $46,07 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$ para $59,56 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$, ou seja os permeados tiveram um aumento inferior comparado ao concentrado.

A figura 24 mostra o comportamento da concentração de lactose em função do tempo.

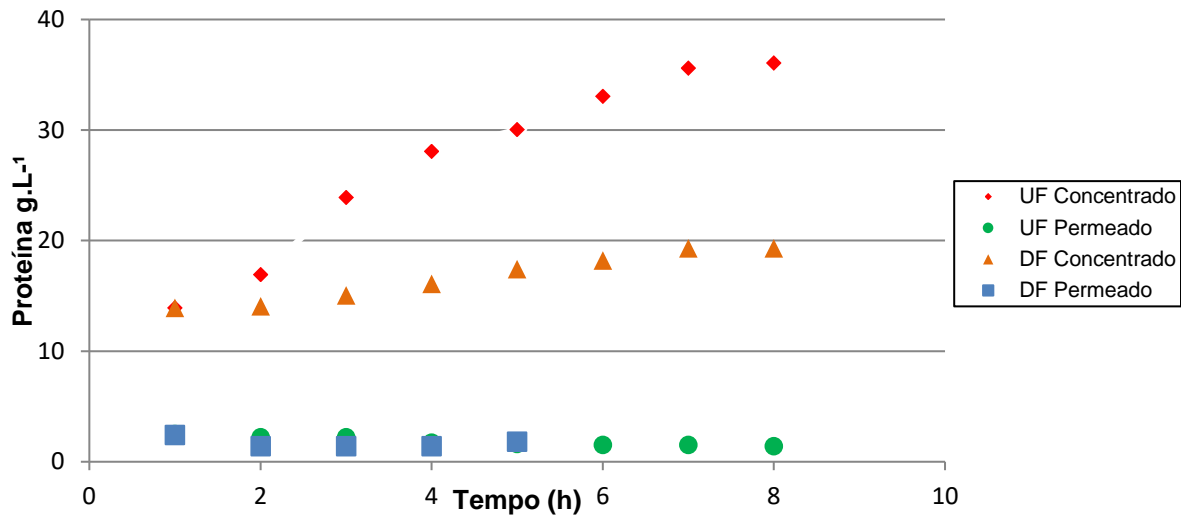
Figura 23- Lactose x tempo.



Comparando os processos em relação à concentração de lactose verifica-se uma maior quantidade no concentrado do ultrafiltrado $47,05 \text{ (g/L}^{-1}\text{)}$. Os valores obtidos são condizentes ao trabalho de PAGNO *et al.*, (2009) que, ao compararem os concentrados proteicos com diferentes quantidades de água durante a diafiltração do soro de leite bovino, observaram que a composição centesimal do concentrado diafiltrado com menor quantidade de lactose tinha maior concentração de proteína. A menor concentração de lactose encontra-se no diafiltrado permeado. Logo, o sistema de diafiltração se torna mais eficiente para retirada da lactose no concentrado final. LIRA *et al.*, (2009) encontraram no permeado mais de 80% do total de lactose do soro após a pausterização e utilização de PSM.

A Figura 25 apresenta concentração da proteína em função do tempo de processamento.

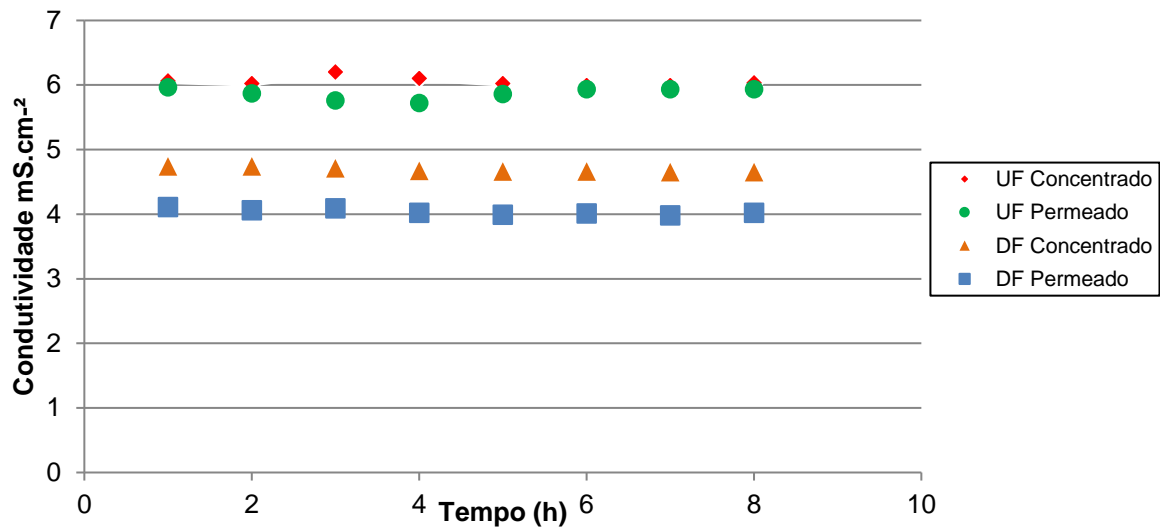
Figura 24- Concentração proteína x tempo



Percebe-se uma maior concentração de proteínas no ultrafiltrado concentrado onde o valor inicial (após 1 hora de processamento) da ultrafiltração foi de 13,95 (g/L⁻¹) atingindo 36,5 (g/L⁻¹) enquanto o concentrado diafiltrado obteve 19,6 (g/L⁻¹). Logo se observa que o processo de diafiltração não é o mais eficiente para o processo de concentração de proteína, porém o seu concentrado possui menor concentração de lactose. O comportamento da proteína no concentrado ultrafiltrado obteve a mesma característica em relação aos sólidos totais.

Porém nota-se presença de proteína no ultrafiltrado 1,4 (g/L⁻¹) e no diafiltrado 1,3 (g/L⁻¹), valores condizentes com a capacidade de retenção, ou seja, o processo não separou totalmente a proteína, fazendo com que parte da mesma seja encontrada no permeado. LIRA *et al*, (2009) citam que seu permeado obteve 0,91% de proteínas mostrando que seu PSM não foi eficiente para concentração total de proteínas. A condutividade elétrica em função do tempo é mostrada na Figura 26.

Figura 25- Condutividade elétrica x tempo.



A condutividade elétrica foi realizada para verificar espécies eletricamente ativas, geralmente sais. Devido ao fato que a membrana não faz seleção de sais, o valor de a condutividade elétrica permaneceu constante para todos os experimentos. Teve diferença entre os processos indicado menor condutividade em ambos os processos de diafiltração devido o acréscimo de água. A condutividade elétrica do permeado alterou de 6,06 mS.cm⁻² para 6,03 mS.cm⁻².

4.3.3 Análises da caracterização do concentrado seco

O concentrado ultrafiltrado obteve maiores concentrações de proteína, após esse resultado foi realizado a secagem por spray drying e estão descritos na Tabela 16.

Tabela 15- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do concentrado ultrafiltrado do soro de leite bubalino seco.

Parâmetro (%)	Concentrado Ultrafiltrado
Lactose	48,42 ± 0,97
Proteínas	37,95 ± 0,76
Lipídios	8,68 ± 0,21

De acordo com os resultados da Tabela 16 verifica-se que a concentração de proteínas e lactose alcançaram maiores valores comparados com coagulação por quitosana 13% e 25% respectivamente, porém obteve menor concentração de lipídeos.

Borges *et al.*, (2001) relatam que a utilização de ultrafiltração/diafiltração e liofilização para obtenção do concentrado protéico de soro ácido obteve-se resultado de 80% de proteína, 8,88% de lactose, 4,48% de lipídeos.

Pagnoet *al* (2009) citam que a variação dos teores de proteína, obtendo-se ao final 56% a 80% e a lactose 61%-65%.

Em comparação ao encontrado na Tabela 16 verificam-se menores concentrações em todos os parâmetros esse fato pode ser explicado devido ao tipo de membrana e do processo utilizado, o processo ser realizado em planta piloto e apesar de utilizar à membrana de corte de 10 Kda a pressão de entrada utilizada foi de 5,88 Bar e temperaturas constantes a 40°C, que indica diferentes condições de operação.

4.4 Combinação dos métodos de coagulação por quitosana e PSM

Foi realizada uma combinação dos melhores resultados dos métodos de coagulação por quitosana e pelo processo de separação por membranas, sendo assim foi realizado o método de coagulação por 300 mg/L de quitosana, juntamente com o método de ultrafiltração. Os resultados estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 16- Resultado da análise química das médias e do desvio padrão do coagulado por quitosana seco, concentrado ultrafiltrado seco e a combinação dos fatores.

Parâmetro (%)	Coagulado por quitosana seco	Concentrado seco por PSM/Ultrafiltrado seco	Coagulado por quitosana + Ultrafiltrado concentrado seco
Lactose	25,90 ± 0,33	48,42 ± 0,97	33,97 ± 0,79

Proteínas	13 ± 0,2	37,95 ± 0,76	29 ± 0,35
Lipídeos	52 ± 0,3	8,68 ± 0,21	15 ± 0,49

Ao comparar os resultados obtidos, observa-se menor concentração de proteína no coagulado por quitosana do que nos outros processos, provavelmente parte da proteína não foi totalmente coagulada. O processo de PSM/ultrafiltração apresentou o maior valor mostrando-se eficiente para concentração de proteínas. De com ANTUNES, 2003; PAGNO *et al.*, 2009 e BRANS *et al.*, 2004, (*CPS-Concentrado Proteico de Soro*) é o produto obtido pela remoção de constituintes não proteicos do soro de forma que o produto final seco contenha, a partir de 35% de proteína, ou seja o único concentrado que obteve a concentração de proteína desejável foi o PSM/ultrafiltrado. Enquanto no método combinado de coagulação com ultrafiltração, provavelmente devido parte das proteínas permanecerem no filtrado durante o processo de coagulação e no permeado no processo de ultrafiltração. Resultando em maior perda de proteínas na combinação dos processos.

Observa-se ao combinar os processos a redução de lactose, comparada ao processo de ultrafiltração, ou seja, provavelmente parte da lactose fica no filtrado.

. A porcentagem de lipídeos dos processos combinados foram maiores comparados ao processo de ultrafiltração, porém diminuíram em relação a coagulação por quitosana indicando que o processo de ultrafiltração se mostrou eficiente para remoção dos lipídeos, enquanto o processo de coagulação obteve um concentrado lipídico.

4.5 Secagem

4.5.1 Ensaios de secagem

Na secagem do concentrado utilizando-se o *Spray dryer* obteve-se um material visualmente seco como pode ser observado na Figura 27, o que indica a eficiência do *spray dryer* para secagem e uma potencial aplicação deste. Os ensaios de secagem foram conduzidos nas seguintes condições: temperatura de entrada 150°C e temperatura de saída 112°C; vazão de alimentação 830 mL/h e pressão de 4 Kg/cm².

Figura 26-Concentrado de soro de leite ultrafiltrado seco por Spray Drying.



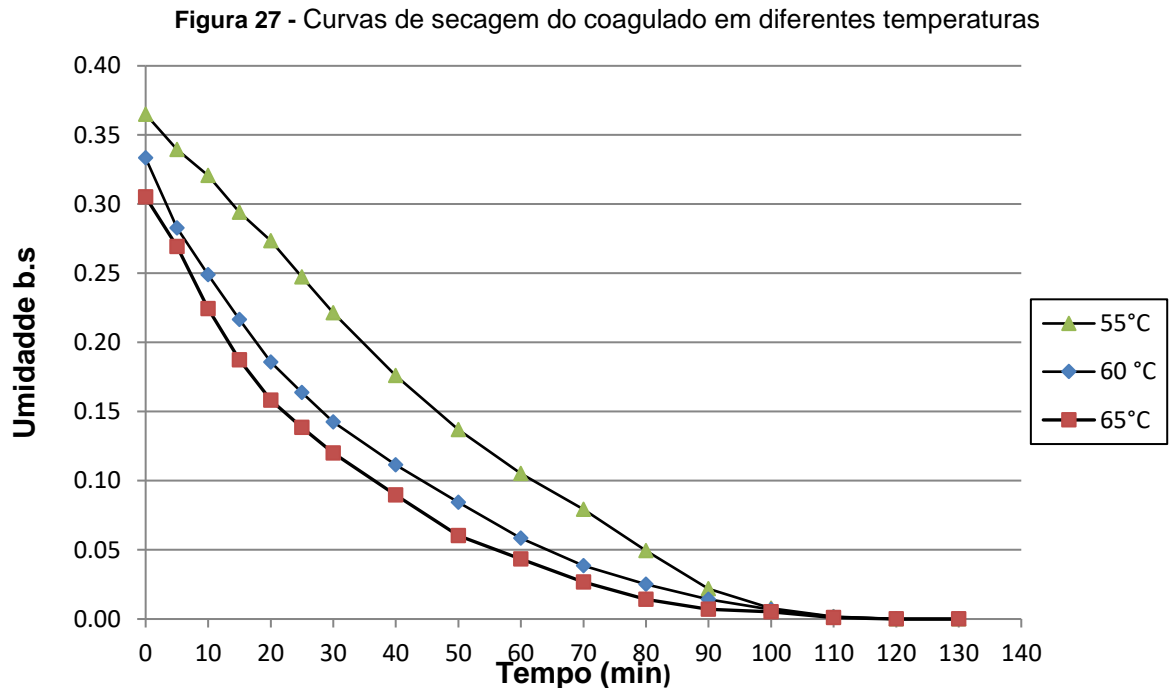
Fonte: Autor (2016)

Foi possível observar que a técnica apresenta um elevado potencial e mostrou-se eficaz para a secagem do soro concentrado. A umidade final foi de 1,97%. Este resultado está de acordo com BRASIL (1996) que possui como requisito 3,5% a umidade máxima do leite em pó.

É apresentado na Figura 28 os valores médios de umidade (base seca) em função do tempo de secagem obtidos nas diferentes temperaturas (55°C, 60°C e 65°C).

Observa-se que, no início da secagem um período curto de ajuste inicial correspondente a um período transiente da operação as umidades iniciais eram 36,5%, 33,3% e 30,5% respectivamente nas temperaturas 55°C, 60°C e 65°C. Logo se observa um período de taxa de secagem constante, em que a redução da umidade ocorre de maneira acelerada correspondendo à perda da umidade não ligada.

Nesse período observa-se aos 60 minutos de experimentos umidades de 10,5%, 5,8% e 4,3% respectivamente nas temperaturas de 55°C, 60°C e 65°C, verifica-se a alteração na inclinação da curva, em que se torna mais difícil a retirada da umidade devido à diminuição da taxa de secagem, atingindo o valor constante na massa do sólido após cerca de 100 minutos, para as três temperaturas.



De acordo a umidade base seca, a temperatura de 65°C apresentou tempo inferior de secagem, considerando-se mesmos valores de umidade. Porém é reportado pela literatura que altas temperaturas podem formar uma crosta no sólido seco dificultando a transferência de água do interior da partícula para vapor. No entanto, isto não foi observado nestes ensaios.

O período maior observado nas três curvas corresponde à taxa constante de secagem, em que se tem uma massa líquida superficial passando para o estado de vapor sem influência do sólido.

A diminuição da taxa de secagem que se segue deve-se ao fato de se diminuir a área de transferência de massa, uma vez que há o surgimento de pontos secos na amostra. Já o período em que se tem uma diminuição rápida da taxa de secagem, corresponde à diminuição da difusão da umidade no interior do sólido.

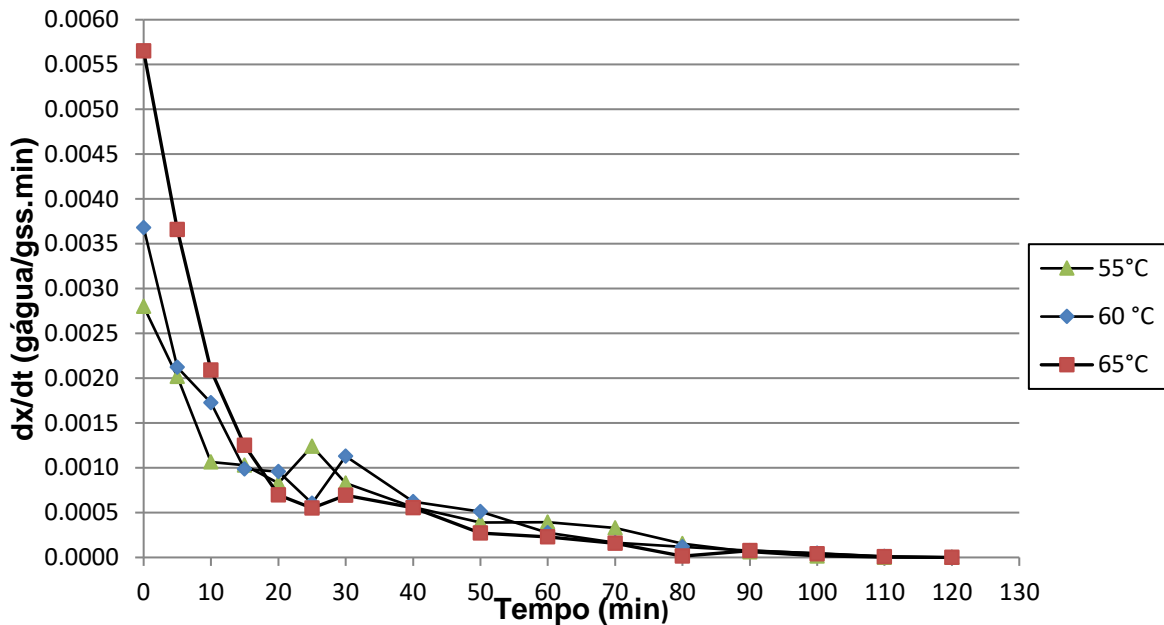
Em relação à umidade pode-se observar que ocorreu um decréscimo e todas as curvas aproximaram do zero. Além de apresentar as menores taxas de secagem a curva de 65°C apresenta menor umidade de equilíbrio 0,0010 seguida pela curva de 60°C que apresenta umidade de equilíbrio 0,0015 e por ultimo a de 55°C que apresenta umidade de equilíbrio 0,0016. No entanto, estes valores estão muito próximos, podendo-se considerar que não há diferença entre eles.

Considerando-se um produto com umidade final de 2% corresponderia ao valor desejável para sua comercialização, seria necessário 70 minutos para a secagem a 65 °C, 80 min a 60 °C e 90 min a 55 °C. Uma análise energética pode ser realizada

para definição do menor custo de produção (balanço entre o custo de aquecimento e tempo de processamento).

A Figura 29 mostra as curva da taxa de secagem versus o tempo

Figura 28 - Resultado da variação da taxa de secagem X tempo.



A taxa de secagem decrescente é predominante em todas as temperaturas. Nesta etapa, a taxa com que a água migra do interior do sólido para a superfície é menor do que a taxa com que a massa de água é retirada da superfície. A secagem dos produtos, então, é controlada pelo processo difusivo.

O sólido não possui uma secagem homogênea, as pequenas variações de comportamento apresentadas entre as temperaturas de 55°C, 60 °C e 65°C podem ser justificadas pelo aparecimento de pontos secos observados que dificultam a migração da água contida no interior do sólido para o ar de secagem.

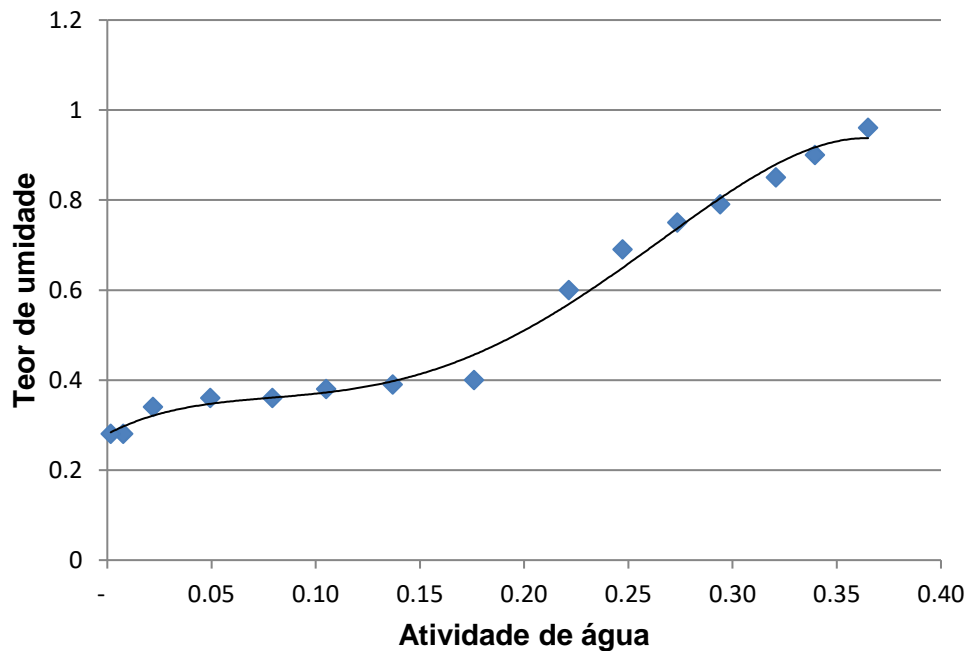
4.5.2 Atividade de água

A isoterma de desorção foi construída através da atividade de água versus a umidade em base seca a temperatura ambiente de 28,2°C na secagem do soro de leite a 55°C.

Conforme a Figura 30, a curva apresenta formato sigmoide, característica dos alimentos. Pelo comportamento da isoterma obtida, é possível confirmar que o coagulado seco impede o crescimento de microrganismos, pois em atividades de água

<0,3 pode-se dizer que praticamente não existe atividade enzimática, não podendo ser utilizada para dissolver os componentes do alimento, e ainda verifica-se que o produto pode ser armazenado em temperatura ambiente (28,2°C) (CELESTINO, 2010)

Figura 29 - Resultado da variação do teor de umidade X atividade de água, para temperatura de 55°C.



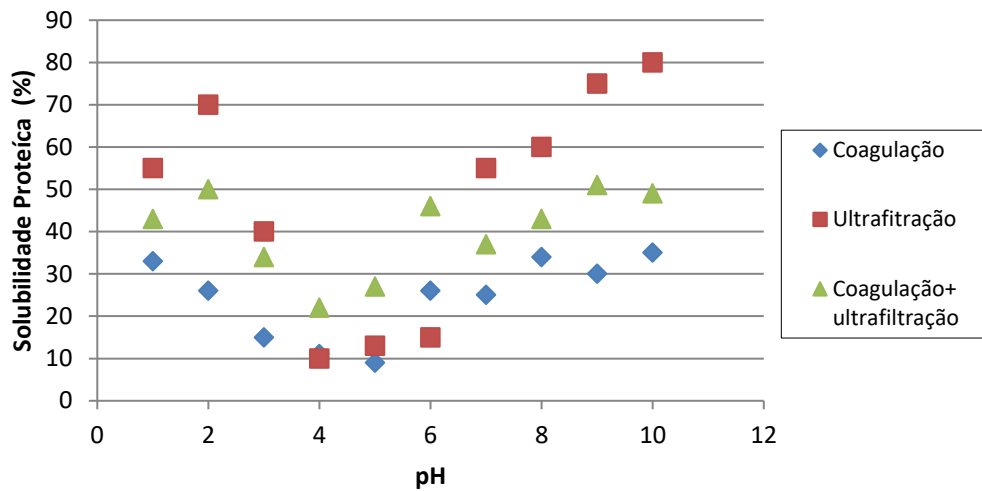
4.6 Propriedades Funcionais e tecnológicas das proteínas

As análises de propriedade estabilizante e de formação/estabilidade da espuma foram realizadas com o coagulado por quitosana, o concentrado ultrafiltrado e pelo experimento da combinação dos fatores de coagulação por quitosana e ultrafiltrado.

4.7.1 Propriedade estabilizante

A Figura 31 mostra os resultados obtidos para a solubilidade proteica do concentrado do soro de leite bubalino realizados nos 3 processos:

Figura 30- Curvas de Solubilidade para as proteínas do soro de leite bubalino em diferentes processos.



Observa-se na Figura 31, o ponto mínimo, que se situa na faixa de pH entre 4 e 6, na curva é identificado como o ponto isoelétrico das proteínas (p.I.) da Beta-Lactoglobulina (β -lg) e da Alfa-Lactoalbumina (α -la), ocorre menor solubilidade, resultado que também foi encontrado por (PELEGRINE e GASPARETTO, 2003).

Nas curvas da Figura 31 nota-se também a solubilidade foi maior em pHs acima de 9, quando observa-se solubilidade das proteínas de atingiu valores maiores que 80% de solubilidade. Quando em pH ácido a solubilidade não passou de 70% de solubilidade. O uso de concentrados com maior solubilidade facilita a dispersão além de simplificar o processo para fabricação dos produtos por isso é indicado a utilização dos concentrados em pH alcalino.

Nota-se de um modo geral, que a faixa de mínima solubilidade para as proteínas é estreita, entre pH 4 e 6 (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN (2010).

Os valores da Figura 30 são condizentes ao relatado em estudo realizado por MACHADO (2005) que relatam menores índices de solubilidade entre 4,0 e 5,0.

Em comparação com as curvas observa-se a maior solubilidade de proteínas no processo de ultrafiltração onde obteve-se maior concentração de proteínas, esse resultado pode ser devido a temperatura do processo ser mantida a 50°C, pois segundo ANTUNES (2003) a solubilidade dos concentrados é proporcional ao aumento da temperatura, porém se a temperatura elevada permanecer por um período prolongado, pode mudar a formação das proteínas, atuando sobre as ligações não covalentes de estruturas secundária e terciária tais como ligações de hidrogênio, a proteína sofre desnaturação, com isso diminuindo sua solubilidade.

O menor valor de solubilidade proteica foi observado para o coagulado por quitosana esse pode ser justificado pela maior concentração de gordura pois, de acordo com PATEL e KILARA (1990) , esta dificulta a interação da proteína com a água podendo ocasionar uma diminuição da solubilidade proteica. De acordo com PAGNO *et al* (2009) a diferença de solubilidade entre os concentrados pode ser explicada pela diferença na sua composição em relação aos compostos não proteicos.

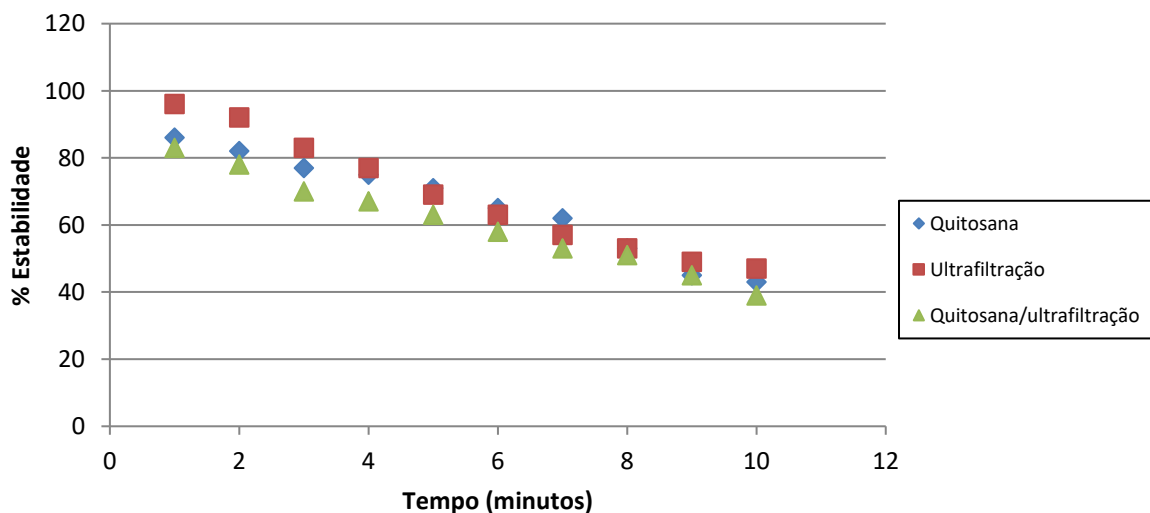
PAGNO *et al* (2009) relatam em seus experimentos resultados em seus concentrados proteicos valores de 77% e 85%.

Para PELEGRINE e GASPARETTO(2003) em seu estudo com solubilidade em soro de leite bovino obtiveram 88% de solubilidade e verificaram que tanto a temperatura, quanto o pH influenciaram na solubilidade proteica, havendo evidência da interação entre essas duas propriedades; e também os valores de solubilidade foram mínimos no pH próximo ao ponto isoelétrico das proteínas.

4.7.2 Propriedade de estabilidade da espuma

Esta propriedade é indicada para diversos alimentos como cremes, pudins e sorvetes, sendo as proteínas os principais agentes ativos para essa característica (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010) Desta forma é indicado um maior tempo decorrido durante a formação de espuma. A Figura 32 refere-se a estabilidade da espuma em relação ao tempo nos diferentes processos.

Figura 31- Curvas de carácter de de formação de espumas para as proteínas do soro de leite bubalino em diferentes processos.



Observa-se comportamento similar nas curvas, porém o processo ultrafiltrado produziu um melhor comportamento na estabilidade da formação de espuma, provavelmente se deve ao fato de possuir maior quantidade de proteínas contendo peptídeos com maior peso molecular.

Todos os processos obtiveram valores significativos de estabilidade de formação de espuma esse fato pode estar associado a presença da lactose em todos os processos, condição que aumenta a estabilidade espumante (DAMODARAN, FENNEMA e PARKIN, 2010).

A espuma que obteve menor estabilidade foi a combinação entre processo de quitosana juntamente com o PSM, isso mostra que a solubilidade não teve correlação com o resultado da estabilidade da espuma.

MACHADO (2005) cita a importância da formação de espuma como indicadores das condições de processamento, sendo assim dentre os processos avaliados o mais indicado para formação de espuma PSM por ultrafiltração.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se verificar que os nutrientes do soro de leite bubalino possuem diversas variáveis que interferem na recuperação e concentração das proteínas do soro de leite bubalino. Os valores encontrados na caracterização do soro de leite bubalino estão de acordo com os valores da literatura mostrando que possui maiores valores de concentração de proteínas em relação ao soro de leite bovino. Seu valor nutricional justifica a utilização desse produto para destinação mais rentável e menos agressiva ao meio ambiente.

O uso da quitosana como coagulante a 300 mg/L, pH 5,5, temperatura de 6°C e utilização de centrífuga mostrou-se eficaz para separação e consequente concentração de proteínas, além da elevada remoção de turbidez da amostra do soro bubalino com resultado de 98,53% mostrando um alto desempenho. A redução de DQO foi de 13,96%, o que indicando que o filtrado ainda necessita de outra técnica de tratamento para redução da concentração de matéria orgânica.

O PSM que se mostrou mais adequado ao processo foi com a vazão de 150 mL/min e pressão a 1 Bar, obteve-se um fator de retenção da ordem de 97%. A ultrafiltração obteve maior conteúdo proteico, 36,05 (g/L⁻¹), porém obteve elevada concentração de lactose. Obteve-se a redução da lactose no concentrado por meio de processo de diafiltração. Os permeados da ultrafiltração e diafiltração, também apresentaram concentrações de proteína, indicando que a membrana não foi totalmente eficaz para o processo de separação.

Em relação à secagem, observou-se que o processo difusivo controla o processo, pois o período da taxa de secagem decrescente foi predominante em todas as temperaturas. A curva de umidade e equilíbrio apresentou formato sigmoide, característica dos alimentos.

Para o coagulado por quitosana após secagem, o resultado foi de 52% de gordura, 25,09% de lactose enquanto a concentração final de proteína foi de 13%. Devido à baixa concentração de proteínas, tornam-se interessantes técnicas que propicie melhor recuperação da mesma como a utilização de membranas. O concentrado ultrafiltrado seco resultou em 48,42% de lactose, 37,95% de proteínas e 8,68% de lipídeos, o que caracteriza um concentrado (concentração de proteína maior que 35%).

As proteínas do soro de leite bubalino, contidas no concentrado proteico apresentaram perfis de solubilidade distintos, o ponto mínimo de solubilidade foi condizente com o ponto isoelétrico; e situaram-se entre o pH 4 e 5, para todos os processos. As máximas solubilidades foram identificadas em pHs alcalinos, acima de 10, e o processo de ultrafiltração mostrou-se com os maiores valores de solubilidade.

O ultrafiltrado concentrado produziu a maior estabilidade na formação de espuma mostrando o mais eficiente dos processos.

A partir do exposto conclui-se que o objetivo do trabalho foi alcançado ao ser desenvolvido um concentrado proteico a partir do soro de leite bubalino, que possui propriedades funcionais e tecnológicas de estabilidade e formação de espuma, criando uma subsequente alternativa do efluente gerado.

5.1 Sugestões para trabalhos futuros

Depois de atingidos os objetivos deste trabalho, algumas sugestões são levantadas para trabalhos futuros de modo a melhorar a concentração de proteínas do soro de leite bubalino. Sugere-se:

- Utilização da quitosana de maior grau de desacetilação;
- Avaliar a interferência dos sais na coagulação do soro com quitosana;
- Estudar alternativas para separação da lactose do permeado, de modo a se obter um resíduo de baixo DQO que possa ser melhor destinado ao meio ambiente;
- Verificação dos aminoácidos no concentrado proteico;
- Utilização de outros tipos de membranas de ultrafiltração;
- Maior pressão no PSM;
- Quantificar os custos envolvidos no processo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, A. L.; ISMAIL, S.; BHATI A, S. Optimization of coagulation—flocculation process for palm oil mill effluent using response surface methodology. **Environmental science and technology**, v. 39, n.8, p.06-10, 2005.
- AIRES, A. G. *O soro de leite como suplemento para atletas*. 2010. 52 f. Monografia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2010.
- ALVES, M.P; MOREIRA, R.O.; JÚNIOR, P.H.R.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Rev. inst. laticínios cândido tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.
- AMARAL, F. R.; CARVALHO, L. B. de.; SILVA, N. da.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite de búfalas: composição. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.19, n.02, p. 106-110, 2005.
- ANDRIGHETTO, C. Cadeia Produtiva do Leite de Búfala – Visão da Universidade. In: II SIMPÓSIO DA CADEIA PRODUTIVA DA BUBALINOCULTURA, 19 f., 2011, Botucatu. Anais...Botucatu, 2011.
- ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. 1 ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 133.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists. 18 ed. **Gaithersburg**. Maryland, 2005.
- APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st ed, American Public Health Association/American Water Works/Water Environment Federation, Washington, 1998.
- ATRA, R.; VATAI, G.; MOLNAR, E. B.; BALINT, A. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of food engineering**, v.67, n.03, p.325–332, 2004.
- AUSAR, S. F. , BIANCO, I. D., BADINI, R. G., CASTAGNA, L. F., MODESTI, N. M., LANDA, C. A., BELTRAMO, D. M. Characterization of casein micelle precipitation by chitosans. **J. Dairy Sci**, v.84, n.01, p 361–369, 2001.
- BÁGUENA, M.J.C.; BLANCO, S.A.; VELA, M.C.V. Fouling mechanisms of ultrafiltration membranes fouled with whey model solutions. **Desalination**, v.360, n. 01, p. 87–96, 2015.
- BAKER, R.W. **Membrane technology and Applications**. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, 2004. 545p.
- BALDASSO, C. *Concentração, purificação e fracionamento das proteínas de soro lácteo através do processo de separação por membranas*. 2008. 179 f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.
- BALDASSO, C.; T.C. BARROS, I.C. TESSARO. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v.278, p.381–386, 2011.
- BANASZEWSKA, A. ; CRUIJSSSEN, F.; CLAASSEN, G. D. H.; VAN DER VORST, G. A. J. Effect and key factors of byproducts valorization: The case of dairy industry. **Journal of Dairy Science**. v. 97, n.04, p.1893-1908, 2014.

BASTIANETTO, E. Criação de búfalos no Brasil: situação e perspectiva. **Revista Bras Reprodução Animal Supl**, n.6, p.98-103, 2009.

BELL, N.L.; LABUZA, T.P. **Moisture sorption practical aspects of isotherm measurement and use**. 2 ed, USA, 2000.

BERTELI, M.N. *Estudo Comparativo de Processos de Secagem de Sólidos Granulados com e Sem Assistência de Microondas*. 2005. 114f. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

BIRCHAL, V. S. *Modelagem e simulação da secagem de leite em secadores spray*. 2003. 228 f. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

BOYE, J. I.; BARBANA, C. Protein Processing in Food and Bioproduct Manufacturing and Techniques for Analysis. **In Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing**. Edited by Nurhan Turgut Dunford. Cap 3, A John Wiley & Sons, 2012.

BONFATTI, V.; GERVASO, M.; COLETTA, A.; CARNIER, P. Effect of parity, days in milk, and milk yield on detailed milk protein composition in mediterranean water buffalo. **Journal of dairy science**, v. 95, n.08, p.4224-4229, 2012.

BORGES P. F. Z. ; SGARBIERI, V.C.; DIAS, N.F.G.D.; JACOBUCCI, H.B. , PACHECO, M.T.B.; BALDINI, V.M.S. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Braz. J. Food Technol.**, n.4, p.1-8, 2001

BRANS, G.; SCHROËN, C.G.P.H.; VAN DER SMAN, R.G.M.; BOOM, R.M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **Journal of Membrane Science**, v.243, n.01-02, p. 263-272, 2004.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2013). Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de leite. (Instrução Normativa nº de 2013). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (1996). Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite em pó. (Portaria nº 146 de 07 de março de 1996). Diário Oficial da República Federativa do Brasil.

BUFFONI, J. A.; BONIZZI I.; PAUCIULLO, A.; RAMUNNO, L.; FELIGINI, M. Characterization of the major whey proteins from milk of Mediterranean water buffalo (*Bubalus bubalis*). **Food Chemistry**, v.127, n.04, p.1515–1520, 2011.

CAPITANI, C.D.; PACHECO, M.T.B.; GUMERATO, H.F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F.L. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesq. Agropec. Bras.**, v. 40, n. 11, p. 1123-1128, 2005.

CELESTINO, S.M.A Princípio de secagem de alimentos. Embrapa Cerrados. Brasília, 2010.

CHAVES, A.P.; LEAL, L.S, 2000. **Teoria e prática do tratamento de minérios**. São Paulo: Signus, v.2, 2000, 200 p.

CHEN, X.D.; MUJUMDAR, A.S. **Drying technologies in food processing**, Blackwell Publishing, India, 1 ed, 351 p, 2008.

COSTA, M. de R.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; GIGANTE, M. L. Propriedades da membrana do glóbulo de gordura do leite. **Alim. Nutr., Araraquara** v.20, n.3, p. 507-514, 2009.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L.H.; FRANCISCO, A.; ESPÍRITO SANTO, M.L.P.; TEIXEIRA, E. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alim.Nutr.**,v. 16, n.02, p. 195-205, 2005.

DAMORARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENEMMA, O.R. **Química de alimentos de Fenemma**, 4ed, p.900, Porto Alegre: Artmed, 2010.

DRIOLI, E.; CURCIO, E. Perspective Membrane engineering for process intensification: a perspective. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v.82, n.03, p.223–227, 2007.

DUARTE, J.M.C. Efeitos ambientais sobre a produção no dia do controle e características físico-químicas do leite em um rebanho bubalino no Estado de São Paulo, Brasil. Revista Instituto de Laticínios Candido Tostes, v. 56, n.5, p. 16-19, 2001.

DUTTA, P.K.; DUTTA, J.; TRIPATHI, V.S. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Journal of scientific e industrial research**.v.63, n.07, p. 20-31, 2004.

FAO.ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃOFAO STAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**.Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?Version=ext&hasbulk=0>>. Acessoem: 02/03/2015.

FILKOVÁ, I., HUANG, L. X., MUJUMDAR, A. S. Industrial spray drying systems. In: MUJUMDAR, A.S. **Handbook os Industrial Drying**. CRC Press.London, 2006. 1334p.

FELLOWS, P. **Food processing technology**. 2 ed. New York: CRC Press, 2000, p.579.

GIRARD, L. Tratamento de Águas de Abastecimento. Faculdade de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal do Pará, (Apostila), p.1-6, 1996.

GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; BECERRA, M.; CHÁFER,M.; ALBORS , A.; CAROT, J.M.; CHIRALT, A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n.09, p. 334–340, 2002.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU W.C.; DE PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev. Nutr.**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

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

HINZ, K.; O'CONNOR, P.M.; HUPPERTZ, H.; ROSS P.P.; KELLY, A. L. Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk.**Journal of Dairy Research**, v.79, n. 01, p.185-191, 2012.

HÜHN S, GUIMARÃES MCF, NASCIMENTO CNB, CARVALHO LODM, MOREIRA ED, LOURENÇO JÚNIOR JB. *Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos*. Boletim de pesquisa, 36, p.14, EMBRAPA/CPATU, 1982.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- **Estatística da produção pecuária junho, 2016**. Disponível na internet via WWW

URL:<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=5&z=t&o=24&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>. Acesso em 16/09/2106

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v1: Métodos Químicos e Físicos para análise de alimentos. **IMESP, 4. ed.** São Paulo, 2005.

JERÔNIMO, C.M.; SOUSA, J.F. Valorização e aproveitamento de subprodutos lácticos: extração de proteínas e hidrogenação catalítica da lactose. **Tecno-lógica**, v. 16, n. 1, p. 11-18, 2012.

JORGE, A. M.; GOMES, M.I.F.V; HALT, R.C. Efeito da utilização da somatotropina bovina recombinante (BST) sobre a produção de leite de búfalas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.3, p.1230-1234, 2002.

JOVANOVIĆ, S.; BARAC, M.; MACEJ, O. Whey proteins-properties and possibility of application. **Mljedarstvo**, v. 55, n.03, p. 215-233, 2005.

KOH, L.L.; NGNGUYEN, H.T.H.; CHANDRAPALA, J.; ZISU, B.; ASHOKKUMAR, M.; KENTISH, S.E. The use of ultrasonic feed pre-treatment to reduce membrane fouling in whey ultrafiltration. **Journal of Membrane Science**.v.453, n.01, p. 230–239, 2014.

KOSIKOWSKI, F.V. Whey utilization and whey products. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 01, p.1149-1160, 1979.

LAND, C.M. VAN'T. Industrial Drying Equipment – **Selection and Application. Chemical Industries**. v.45, n 01, p 19, 1991.

LEIDNS, N. *Concentração de proteínas do soro de leite de ovelha por ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos*. p.134. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013.

LIMA, T.C.C.; RANGEL, A.H.D.; MACÊDO, C.S.; ARAÚJO, T.P.M.; ARAÚJO, V.M.; LIMA, D.M.; MURMANN, L.; NOVAES, L.P. Composição e qualidade do leite e do soro do leite de búfalas no estado do rio grande do norte. **Acta veterinária brasileira**, v.8, n.01, p.25-30, 2014.

LIRA, H. L.; SILVA, M.C.D.; VASCONCELOS, M.R.S.; LIRA, H. L.L.; LOPEZ, A.M.Q. Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membranas cerâmicas como alternativa ao processo de pasteurização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.01, p. 33-37, 2009.

MACHADO, Getúlio Costa. *Utilização de óleo de coco babaçu, concentrado protéico de soro lácteo e leite em pó desnatado na produção de sorvetes*. 2005. 91f. Tese de doutorado- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2005.

MADUREIRA, A. R; PEREIRA, C. I.; GOMES, M.P.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Bovine whey proteins – Overview on their main biological properties. **Science Direct**, v.40, n.10, p. 1197-1211, 2007.

MAPA. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Dados de rebanho bovino e bubalino no Brasil-2016**. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>. Acesso em: 01/10/2017

MASTERS, K. **Spray Drying: An introduction to principles, operation practice and application.** Leonard Hill Books, London, 1972.

MENDES, Adriano A. et al . Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011.

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

MCINTOSH, G.H.; ROYLE P.J.; RICHARD K.L.L.; REGESTER G.O.; JOHNSON, M. A, GRINSTED R. L.; KENWARD, R. S.; SMITHERS G. W. Whey Proteins as Functional Food Ingredients. **DairyJournal**, v.08. n.05-06, p. 425- 434,1998.

MIZUBUIT, I. Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. Semina: **CiênciasAgrárias**, v. 15, n. 1, p. 80-94, 1994.

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 produce. **Journal of food science**, v.50, p 1714-1718, 1985.

MUJUMDAR, A. S. **Handbook of Industrial Drying.** 4. ed. New York: CRC Press, 2014, 1334 p.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology.** 2 ed. London: Kluwer Academic Publishers.1996. 565p.

OLIVEIRA, A. de L. Búfalos: produção, qualidade de carcaça de carne. Alguns aspectos quantitativos, qualitativos e nutricionais para promoção do melhoramento genético. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.29, n.2, p. 122-134, 2005.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; FLORES, S. H.; JONG, E. V. Obtention of whey protein and characterization of its technological functional properties. **AlimentaçãoNutriçãoAraraquara**, v. 20, n. 2, p. 231-239,2009.

PALATNIK, D.R.; PORCEL, M.V.O.; GONZALEZ, U.; ZARITZKY, N.;CAMPDERROS M.E. Recovery of caprine whey protein and its application in a food protein Formulation, **Food Science and Technology**, v.63, n.1, p.331-338, 2015.

PANDA, H. **Handbook on milk and milk proteins.**Asia pacific business pres, p-106, 2011.

PAVANELLI, G. *Eficiência de diferentes tipos de coagulantes na coagulação, floculação e sedimentação de água com cor ou turbidez elevada.* 2011. 233 f. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PARK, K. J.; BIN, A.; BROD, F.P. R. Obtenção das isotermas de sorção e modelagem matemática para a perabartlett, com e sem desidratação osmótica. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.73-77, 2001.

PARK, K,J.;ANTONIO, G.C.; OLIVEIRA, R.A.; PARK, K.J.B. *Conceitos de processo e equipamentos de secagem.* Campinas, p.127, 2007.

PARK.; K. J. B., PARK, K. J.;CORNEJO, F. E. P., FABBRO, I. M. D. Considerações termodinâmicas das isotermas.**Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**,Campina Grande, v.10, n.1, p.83-94, 2008.

PASSOS, M. L.; BIRCHAL, V. S. Manipulating physical properties of powder. In: WOO, M. W.; MUJUMDAR, A. S.; DAUD, W. R. W. **Spray Drying Technology**. Singapore, 2010.

PATEL, M. T.; KILARA, A. Studies on whey protein concentrates. 2. Foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 73, p. 2731-2740, 1990.

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

PATEL, R. P.; PATEL, M. P.; SUTHAR, A. M. Spray drying technology: an overview, **Indian Journal of Science and Technology**, v.2, n.10, p.44-47, 2009.

PELEGRINE, D. H, GASPARETTO C.A. Estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande v.5, n.1, p.57-65, 2003.

PITACAS, F.I.; MOITINHO, A.R. Produção de búfalos de leite na Europa Buffalo milk raising in Europe. **Agroforum**, v.31, n.21, p.7-14, 2013.

PINTO, M.R.M ; TEIXEIRA, M.F ; SARMENTO, R.C ; MAGALHÃES NETO, G; FIGUEIREDO, E.L. Avaliação microbiológica de Queijo do Marajó tipo creme, de leite de búfala, elaborado em queijarias da Ilha do Marajó, Pará. **Scientia Plena**, v. 12, n.6, p.1-6, 2016.

PRUDÊNCIO, E.S.; MAGENIS, R.B; FALCÃO, L.D.; BORDIGNON-LUIZ, M.T. Comportamento do leite de búfala (*bubalus bubalis*) desnatado e pasteurizado durante o processo de ultrafiltração. **B.ceppa**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 99-114, jan./jun. 2006.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Produtos Proteicos de Soja. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Oetterer, M; Regitano-d'Arce, M. A. B, Spoto, M. H. F. 2006.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v.31, n.07, p. 603–632, 2006.

ROCHA, L. A. C. *Qualidade do Leite de Búfala e Desenvolvimento de Bebida Láctea com Diferentes Níveis de logurte e Soro de Queijo*. 2008. 82f. **Dissertação Mestrado**, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga – Bahia, 2008.

RODRIGUES, S.L.C.; MOREIRA, R.L.S.; CARDOSO M.H, MERÇON, F. Avaliação de parâmetros de ultrafiltração de suco de banana. **Ciência e tecnologia de Alimentos**. n. 23. p. 98-101, 2003.

ROSA, B.R.T; FERREIRA, M.M.G; AVANTE, M.L; FILHO, D.Z; MARTINS, I.S. Introdução de búfalos no Brasil e sua aptidão leiteira. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. V. 01, n.01, p. 01- 05, 2007.

SALINAS, R.D. Alimentos e nutrição: introdução à bromatologia. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANTOS, J. E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, E.R.; FILHO, S.P.C.; CAVALHEIRO., E.T.G.; FILHO, S.C.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n.04, p. 242-249, 2003.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado dos Negócios de Agricultura e Abastecimento Resolução N.º 24, de 01 agosto de 1994. São Paulo, 1994. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=33>>. Acesso em: 10 de Set2014.

SCOTT, R. **Fabricación de queso**. 2ª edição. Zaragoza. Editorial Acribia, ,1991, 520 p.

SILVA, M.M.M. *Ensaio de coagulação floculação da água residual afluyente à Etar de Avis*. 2010. 120f. Dissertação de mestrado, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2010.

SILVA, M.S.T; LOURENÇO, Jr.J.B.; MIRANDA, H.A.; ERCHESEN, R.; FONSECA R.F.S.R.; MELO, J.A.; COSTA, J. M. **Programa de incentivo a criação de búfalos por pequenos produtores**. PRONAF.Belém.CPATU, 2003.

SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **FoodChem.**,v. 101, n.04, p. 1501-1508, 2007.

SGARBIERI, V.C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite.**Rev. Nutr.**, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.

SHEEHAN, W. J.; PHIPATANAKUL, W. Tolerance to water buffalo milk in a Child with cow milk allergy.**Annals of allergy, asthma & immunology**, v. 102, n.04,p. 350-351, 2009.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins-From 'gutter-to-gold'.**International Dairy Journal**, v.18, n.07, p. 695-704, 2008.

SOARES, G.A.; ANDRADE, K. S.; SANTOS, L. F.C.R.; CASTRO, V.G.; SOUZA, V.M.G.; PINTO, Y. N. *Estudo da recuperação de proteínas do soro de leite bubalino por emprego de quitosana*.Monografia.2012. Universidade Federal de Minas Gerais 109f. Belo Horizonte, 2012.

SOUZA, G. I. M. H. *Heterocoagulação de proteínas do soro de leite em quitosana: Avaliação do potencial hipolipidêmico em camundongos*.**Dissertação de mestrado**, Universidade de Mogi das Cruzes. 2009.

SOUZA, A.B. *Avaliação da influência tecnológica da relação soroproteína/caseínas durante condições simuladas de processamento térmico*. Dissertação de mestrado. 2013. Universidade federal de Juiz de Fora. 80 f. Juiz de Fora,2013.

STEINHAUER, T.; HANÉLY S.; BOGENDÖRFER, K.; KULOZIK, U. Temperature dependent membrane fouling during filtration of whey and whey proteins.**JournalofMembrane Science**, v.492, n.01, p.364-370, 2015.

SVAROVSKY, LADISLAV.**Solid-liquidseparation**.2 ed.LinacreHouse, Jordan Hill, Oxford: Butterworth-Heinemann. f.554, 1981.

TEIXEIRA L.V.; BASTIANETTO E.; OLIVEIRA, D.A.A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. Revista Brasileira de vaca. **ScientiaAgricola**, v. 51, n.02,p. 131-137, 2005.

TERRA NATIVA. Regulamento técnico de identidade e qualidade de soro de leite. Disponível em: <http://www.terraviva.com.br/cliq/ minuta.html>. Acessado em: julho de 2014.

VALENTAS, K.J.; ROSTITEN, H.; SINGH R.P. **Handbook of food engineering practicing**. New York: CRC press. f.209, 1997.

VERRUMA, M.; SALGADO, J.M. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. **Sci agricultura**, v.51, n.01, p. 131-137, 1994.

VOGELAAR, R.C.B., PAWLOWSKY, U., Reaproveitamento do Soro do Queijo por Coagulação com Quitosana, Anais, 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Foz do Iguaçu, Brasil p.370-378, 1997.

XAVIER, A.M.P. *Estudo do processamento de Soro de Leite Bovino através da coagulação com quitosana e secagem*. 2012. 93 f. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012.

ZENEBON, O., PASCUET, N.S., TIGLEA, P., Métodos físico-químicos para análises de alimentos. Edição IV, 1ª edição digital. Secretaria de Estado da Saúde Coordenadoria de Controle de Doenças - Instituto Adolfo Lutz, 2008.

7. ANEXOS

ANEXO A

DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ EM ÁCIDO LÁCTICO.

ZENEBON, PASCUET, TIGLEA (2008).

A acidez indica o estado de conservação do leite. Uma acidez alta e o resultado da acidificação da lactose, provocada por microrganismos em multiplicação no leite. A acidez tende, portanto, a aumentar à medida que o leite vai envelhecendo.

Materiais

- Pipeta volumétrica de 10 mL;
- Béquer de 100 mL;
- Bureta de 10 mL.

Reagentes

- Solução de hidróxido de sódio 0,1 M;
- Solução de fenolftaleína a 1%.

Procedimento

Transfira, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 mL da amostra para um béquer de 100 mL (pipete previamente uma porção de soro e despreze-o). Adicione 5 gotas da solução de fenolftaleína. Titule com solução de hidróxido de sódio 0,1 M, utilizando bureta de 10 mL, até o aparecimento de uma coloração rósea.

Cálculo

$$\frac{v.f.0,9}{A} = \text{ácido láctico por centom/v} \quad (\text{Eq.3})$$

Onde:

V = nº de mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 M gasto na titulação;

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio 0,1 M;

A = nº de mL da amostra;

0,9 = fator de conversão para ácido láctico.

ANEXO B
DETERMINAÇÃO DO RESÍDUO POR INCINERAÇÃO (CINZAS)
ZENE BON, PASCUET, TIGLEA (2008).

O resíduo por incineração (cinzas) do soro é constituído principalmente por óxidos de potássio, sódio, cálcio, magnésio, fosforo e por cloretos.

Material

- Balança analítica;
- Capsula de porcelana;
- Pipeta volumétrica de 20 mL;
- Banho-maria;
- Chapa aquecedora;
- Mufla;
- Dessecador com sílica-gel;
- Pinça de metal.

Procedimento

Transfira, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 20 mL da amostra para uma cápsula de porcelana, previamente aquecida em mufla a $(550 \pm 10)^\circ\text{C}$, por 2 horas, resfriada em dessecador e pesada (a cápsula deverá ser aquecida até que a mesma não apresente variação de massa). Evapore em banho-maria até a secagem. Carbonize em chapa aquecedora na capela e incinere em mufla a $(550 \pm 10)^\circ\text{C}$, pelo período aproximado de 4 horas.

O resíduo devera ficar branco ou ligeiramente acinzentado, caso contrário, resfrie, adicione 0,5 mL de água, seque em banho-maria e incinere novamente.

Resfrie em dessecador e pese.

Cálculo

$$\frac{(100.P)}{A} = \text{resíduo por incineração (cinzas) por cento m/v} \quad (\text{Eq.4})$$

Onde:

P = n° de g de resíduo;

A = n° de mL da amostra.

ANEXO C
DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO – DQO MÉTODO COLORIMÉTRICO,
REFLUXO FECHADO.

STANDARD METHODS , 2005.

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) foi feita de acordo com o método colorimétrico de refluxo fechado, descrito em APHA (1998).

O protocolo para a análise de DQO consistia em adicionar, nesta ordem, 3,5mL da solução ácida de ácido sulfúrico, 1,5mL da solução de dicromato de potássio 0,03mol/L e 2,5mL da amostra (diluída de 25 vezes para as amostras afluentes e efluentes) em frascos de vidro próprios para esta análise. Os frascos eram, então, cuidadosamente fechados e seu conteúdo agitado apropriadamente. Em seguida, as misturas eram aquecidas em termoreator por 2 horas, à temperatura de 148°C. Após seu completo resfriamento, as amostras eram decantadas ou centrifugadas para eliminação de sólidos em suspensão e, posteriormente, encaminhadas para análise em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 585nm. As análises de DQO foram feitas sempre em triplicata. Solução estoque de biftalato de potássio 1.000mg/L, cuja DQO pode ser calculada, foi usada para preparação dos padrões para a curva analítica.

ANEXO D
DETERMINAÇÃO DO EXTRATO SECO TOTAL (RESÍDUO SECO A 105°C)
ZENEON, PASCUET, TIGLEA (2008).

O extrato seco total ou resíduo seco é obtido após a evaporação da água e substâncias voláteis.

Materiais

- Balança analítica;
- Estufa;
- Cápsula de porcelana;
- Banho-maria;
- Dessecador com sílica-gel;
- Pipeta volumétrica de 5mL;
- Pinça metálica.

Procedimento

Seque em estufa a capsula de porcelana a $(105\pm 2)^{\circ}\text{C}$ por 2 horas resfrie em dessecador e pese. Retorne a cápsula de porcelana para a estufa por mais 30 minutos e pese novamente. Esse procedimento deverá ser feito até que a massa da capsula esteja constante. Transfira, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 5mL da amostra. Deixe em estufa a $(105\pm 2)^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Resfrie em dessecador e pese. Retorne a estufa por 30 minutos, resfrie em dessecador e pese. Repita as operações de aquecimento e resfriamento até peso constante.

Cálculo: $(100 \times P) \div A$ (Eq. 6)

Onde:

P = n° de g de resíduo seco;

A = n° de mL da amostra.

ANEXO E

DETERMINAÇÃO DE GORDURA

A gordura é determinada gravimetricamente através da extração com éter de petróleo e posterior secagem.

Materiais

- Balança analítica;
- Espátula;
- Béqueres de 100, 600 e 1000 mL;
- Estufa;
- Pérolas de vidro ou cacos de porcelana;
- Vidro de relógio;
- Papel de filtro;
- Balão de fundo chato com boca esmerilhada de 250 mL;
- Aparelho extrator de Soxhlet;
- Dessecador

Reagentes

- Éter de petróleo

Procedimento

Pese cerca de 2 g da amostra em papel de filtro e embale-o neste. Insira o papel de filtro dentro da corneta do extrator de Soxhlet, o qual deve conter algumas pérolas de vidro ou cacos de porcelana.

Acrescente éter de petróleo até que o mesmo preencha parcialmente a altura do papel de filtro contendo a amostra. Extraia sob aquecimento por aproximadamente 3 horas. Após a extração, seque o balão contendo a gordura em estufa a 130°C por duas horas. Resfrie em dessecador e pese.

Cálculo

% Lipídeos= (Massa do balão com óleo extraído)-(massa balão vazio)x 100/ Massa da amostra pesada

ANEXO F
DETERMINAÇÃO DE GLICÍDIOS REDUTORES EM LACTOSE
 ZENEBON, PASCUET, TIGLEA (2008).

Materiais

- Balão volumétrico; Pipetas volumétricas de 10 mL; Pipeta graduada de 2mL
- Frasco Erlenmeyer de 300 mL;
- Funil de vidro;
- Papel de filtro;
- Bureta de 25 mL;
- Chapa aquecedora;

Reagentes

- Solução de sulfato de zinco a 30% m/v;
- Solução de ferrocianeto de potássio a 15% m/v;

Procedimento

Transfira, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 mL da amostra para um balão volumétrico de 100 mL, adicione 50 mL de água, 2 mL da solução de sulfato de zinco a 30% e 2 mL da solução de ferrocianeto de potássio a 15%, misturando bem após cada adição. Deixe sedimentar durante 5 minutos, complete o volume com água e agite. Filtre em papel de filtro, recebendo o filtrado, que deverá estar límpido, em um frasco Erlenmeyer de 300 mL. Em um balão de fundo chato de 300 mL, transfira 10 mL de cada uma das soluções de Fehling e adicione 40 mL de água, aquecendo até a ebulição em chapa aquecedora. Transfira o filtrado para uma bureta de 25 mL e adicione, as gotas, sobre a solução do balão em ebulição, agitando sempre, utilizando garra de madeira, até que esta solução mude de coloração azul a incolor (no fundo do balão devesse ficar um resíduo vermelho-tijolo).

Cálculo

$$\frac{v \cdot 0,068 \cdot 100}{L \cdot V} = \text{Glicideos redutores em lactose (Eq.8)}$$

Onde:

0,068 = nº de g de lactose que corresponde a 10 mL da solução de Fehling;

v = nº de mL da solução da amostra, gasto na titulação;

L = nº de mL da amostra;

V = nº de mL da diluição da amostra (100 mL).

Preparo das soluções de Fehling

Solução A

Pese 34,639g de sulfato de cobre - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, transfira para um balão volumétrico de 1000 mL e complete o volume com água.

Solução B

Pese 173 g de tartarato de sódio e potássio - $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e dissolva em 250 mL de água. Adicione 250 mL de solução de NaOH a 20%, recém-preparada.

Titulação

Transfira, para balão de titulação, 10 mL de cada uma das soluções, A e B. Adicione 40 mL de água. Aqueça até a ebulição e adicione, com auxílio de bureta, solução-padrão de glicose a 1%, m/v, mantendo a fervura, sob agitação, até a solução se tornar incolor (no fundo do balão deverá aparecer um resíduo avermelhado).

Cálculo do fator (f) das soluções (g de glicose correspondente a 10 mL de cada uma das soluções A e B).

$$v. 0.01 = f(\text{Eq.9})$$

Onde:

V = mL da solução de glicose gastos;

P = título da solução de glicose (g%);

f = fator da solução.

Nota: o valor de f deverá ser da ordem de 0,05 g.

DETERMINAÇÃO DE PROTÍDEOS

ZENEON, PASCUET, TIGLEA (2008).

A determinação de protídeos baseia-se na determinação de nitrogênio, geralmente feita pelo processo de digestão Kjeldahl. Este método, idealizado em 1883, tem sofrido numerosas modificações e adaptações, porém sempre se baseia em três etapas: digestão, destilação e titulação. A matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é finalmente transformado em amônia. Sendo o conteúdo de nitrogênio das diferentes proteínas aproximadamente 16%, introduz-se o fator empírico 6,25 para transformar o número de g de nitrogênio encontrado em número de g de protídeos. Em alguns casos, emprega-se um fator diferenciado de 6,25. Amostras contendo nitratos podem perdê-los durante a digestão. Nestes casos, deve-se adicionar ácido salicílico ou fenol (cerca de 1 g), os quais retêm os nitratos, como nitro-derivados. Procede-se então a digestão.

A proteína bruta foi calculada em função dos teores de nitrogênio total determinado pelo método de *Kjeldahl* modificado, multiplicado pelo fator 6,38 segundo o procedimento descrito no Instituto Adolfo Lutz (2005).

Para a análise, pesou-se aproximadamente 1,0g de amostra que foi colocada em um digestor com ácido sulfúrico concentrado utilizando os catalisadores de sulfato de potássio e de cobre. Após digestão da amostra, realizou-se destilação com hidróxido de sódio, utilizando o aparelho de *Kjedahl*, sendo o NH₃ recolhido em erlenmeyer contendo ácido bórico 2% e indicador vermelho de metila e verde bromocresol. Ao obter 150 mL de destilado, titulou-se utilizando solução de ácido clorídrico 0,1N. Anotaram-se os volumes de ácido gasto para tornar a coloração de azul à laranja, indicando assim o ponto final da titulação. O teor de proteínas é obtido através do cálculo da porcentagem de nitrogênio da amostra, segundo a equação 10:.

Cálculo

$$\frac{V_{hcl.0,14.f}}{p} \times 100 = \text{protídeos por cento } m/m \text{ (Eq.10)}$$

Onde:

V = volume gasto na titulação;

P = nº de g da amostra;

f = fator de conversão (6,38).

ANEXO H
DETERMINAÇÃO DA TURBIDEZ PELO MÉTODO TURBIDIMÉTRICO
ZENEON, PASCUET, TIGLEA (2008).

Equipamento

- Espectrofotômetro (CELM, modelo E-225D)

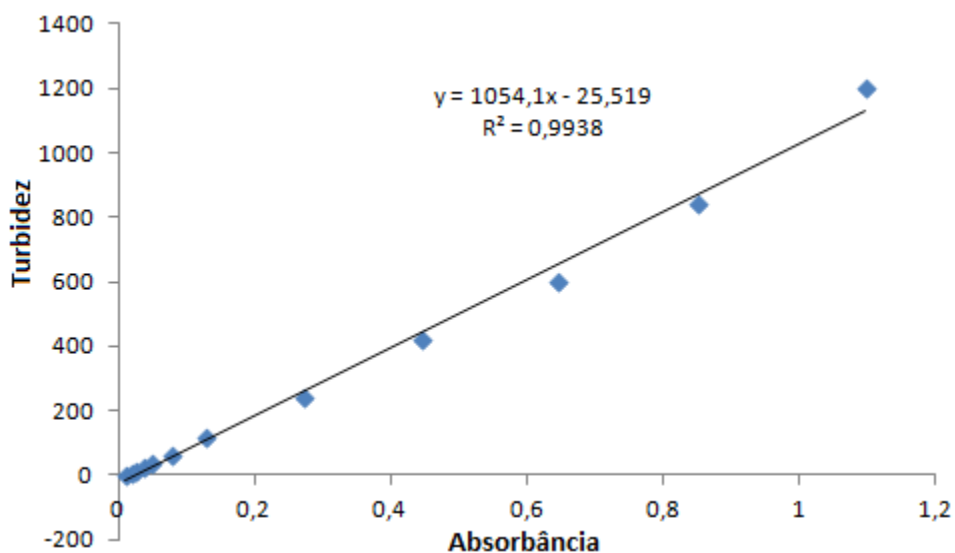
Procedimento

Escolha a faixa de turbidez apropriada. Defina como valor a ser lido absorvância. Limpe e seque cuidadosamente a cubeta do turbidímetro. Encha a cubeta com o branco (água destilada). Limpe o exterior da cubeta e insira no turbidímetro, garantindo que a abertura esteja devidamente vedada, impedindo a entrada de luz. Ajuste o turbidímetro para que o valor apresentado seja zero. Retire o branco da cubeta e transfira um volume da sua amostra. Insira a cubeta no turbidímetro. Por meio da curva de calibração, o valor da absorvância encontrado corresponde a um valor de turbidez da amostra.

Curva-padrão

A curva a seguir é utilizada para a correspondência da turbidez com a absorvância.

Figura 10- Curva de calibração para a Turbidez



ANEXO I

DETERMINAÇÃO DE SOLUBILIDADE PROTEÍCA

MORR *et al.* (1985)

Reagentes

- Ácido clorídrico
- Cloreto de sódio
- Hidróxido de sódio

Procedimento

- Pesar 500 mg de amostra;
- Coloca NaCl 0,1 M até uma massa homogênea, completar até 40 ml;
- Ajustar o pH entre 2,0 e 10,0 com NaOH 0,1 N ou HCl 0,1 N;
- Agitar por 1 hora conferir o pH a cada 20 minutos;
- Adicionar a mistura NaCl 0,1 M em um balão volumétrico de 50 ml;
- Colocar em tubos e centrifugar 6.000 rpm por 30 minutos;
- Filtrar o sobrenadante;
- Dosar a proteína

Cálculo

$$\%S = \left(Cps \times 50 \div P \times \frac{Cpa}{100} \right) \times 100 \quad (\text{Eq 11})$$

Onde: S é o teor de proteína solúveis na amostra (%), Cps é a concentração de proteína a do sobrenadante (mg.mL⁻¹); P peso da amostra (mg), Cpa concentração de proteína na amostra (%).

ANEXO J
DETERMINAÇÃO DE ESTABILIDADE DA ESPUMA

PATEL *et al* (1988)

Equipamento

- Liquidificador

Procedimento

- Fazer 250 mL de uma solução contendo 1% de proteína;
- Adicionar ao liquidificador e agitar na velocidade máxima por 5 minutos;
- Transferir para proveta de 500 mL
- Deixar a espuma em repouso por 30 minutos.

Cálculo:

$$EE = \left(\frac{VE - 250}{250} \right) \times 100 \text{ (Eq12)}$$

Onde: EE é expansão da espuma (%) e VE é o volume inicial da espuma (mL)

ANEXO K

ENEMP (Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados) é atualmente o mais importante evento nacional para interação, comunicação e divulgação de trabalhos de pesquisa e desenvolvimento tecnológico na área de sistemas particulados. O trabalho intitulado “Avaliação do comportamento da secagem em spray a partir de simulação do modelo de leite integral e desnatado” foi apresentado na trigésima sétima edição deste congresso no dia 19 de outubro de 2015, em São Carlos, São Paulo.

