



UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E MISSÕES - URI
ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO AMANTEIGADO DE
LEITE OVINO CONCENTRADO POR ULTRAFILTRAÇÃO

Andréia Maria Faion

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, como pré-requisito ao Título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

ERECHIM, RS - BRASIL
SETEMBRO DE 2015

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA TESE DE
DOUTORADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES
DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS
DE ERECHIM.

Andréia Maria Faion

Tese de Doutorado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, URI Erechim, como parte dos requisitos necessários a obtenção do grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof. Juliana Steffens, D. Sc
Orientadora

Prof. Eunice Valduga, D. Sc
Orientadora

Prof. Isabel Cristina Tessaro, PhD
Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul- UFRGS

Leonardo Souza Da Rosa, D. Sc
IFRS – Campus de Erechim

Márcia Santin Trentini, D. Sc
URI- Erechim

Clarice Steffens, D. Sc
URI- Erechim

Erechim, 04 de setembro de 2015.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho especialmente ao meu filho Artur Morgan, o qual deu um sentido especial há minha existência, mostrando-me a cada dia o real sentido da vida.

Ao meu esposo Fausto Morgan, companheiro de todas as horas, que contribuiu decisivamente para a conclusão desta tese.

Aos meus pais Rosa Inês Faion e Irineu Faion pelo carinho e dedicação durante todos os momentos de minha vida

A minha irmã, Adriane pelo imenso apoio, incentivo e carinho. Pelas longas conversas, pelos sorrisos e lágrimas compartilhadas e pela força nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais esta conquista.

A minha querida família por fazerem parte da minha vida e estarem sempre me apoiando em todos os momentos, um agradecimento muito especial a todos pelo carinho, incentivo e apoio.

Aos meus orientadores, Professora Dr^a. Eunice Valduga e a Professora Dr^a Juliana Steffens, pela disponibilidade, oportunidade, compreensão, apoio, paciência e dedicação em todas as fases deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho através das correções e sugestões apresentadas para a redação final deste trabalho.

Ao meu amado esposo Fausto Morgan pelo apoio, carinho e incentivo durante todo o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu aluno Jaime França, pela ajuda no desenvolvimento das análises, pelas horas de convívio, pelas alegrias compartilhadas e pelo incentivo nos momentos difíceis. Muito obrigado.

Aos provadores da análise sensorial, que se dispuseram a colaborar.

Ao Senai de Chapecó, colegas e funcionários pela ajuda prestada durante o desenvolvimentos dos queijos e das análises realizadas.

A Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, colegas, professores, e funcionários. A Engenharia de Alimentos pela oportunidade.

A todos que de alguma forma me ajudaram a superar os obstáculos e por estarem ao meu lado nessa caminhada.

Muito Obrigada!

Resumo da Tese de Doutorado submetido ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Campus de Erechim, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia de Alimentos.

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO AMANTEIGADO DE LEITE OVINO CONCENTRADO POR ULTRAFILTRAÇÃO

Andréia Maria Faion

Orientadores: Juliana Steffens e Eunice Valduga.

O uso de leite ovino concentrado para elaboração de queijos permite a obtenção de produtos diferenciados e representa uma alternativa tecnológica para agregar valor a esta matéria prima. Um dos processos para concentração de proteínas é o método de separação por membranas, a ultrafiltração. Neste sentido, o presente trabalho visou à caracterização do leite de ovelha, estudo das condições operacionais do processo de ultrafiltração em escalas laboratorial e piloto, para obtenção de concentrado proteico e elaboração de formulações de queijo amanteigado com concentrado, empregando como coagulante a flor do cardo (*cardunculus*spp. *Flavescens*), bem como o acompanhamento das características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas dos queijos durante o período de armazenamento (30 dias). Para a avaliação de tendência ao *fouling* do leite de ovelha utilizou-se membrana de polietersulfona de 100 kDa, onde os valores variam de 90,5 a 93,6 %, e 43,9 % para a escala laboratorial e piloto, respectivamente. O processo de concentração do leite de ovelha em escala piloto foi realizado em uma unidade contendo membrana de fibra oca, de massa molar de corte de 10 kDa e área de 4,4 m² e composição de polietersulfona. A composição química do leite encontrada neste estudo está de acordo com o esperado para o leite ovino utilizado para elaboração de queijos. Para o leite concentrado em escala piloto obteve-se teor de proteína de 17,9% ao final de 30 min de concentração utilizando pressão de 2 bar a 25°C.

As análises físico-químicas revelaram que os queijos elaborados com leite concentrado classificaram-se como queijos de alta umidade (46 a 54,9 %). Os menores valores de pH (5,54 queijo elaborado leite concentrado e coagulante enzimático e 5,53 queijo elaborado leite

concentrado e coagulante vegetal) foram observados nos tratamentos elaborados com leite concentrado, consequentemente para os mesmos tratamentos foram obtidos os maiores valores de acidez (1,60 e 1,62 g de ácido láctico/100g). Para os teores de proteínas houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos 1 (elaborado com leite integral com coagulante enzimático), 2 (leite integral e coagulante vegetal) com os tratamentos 3 (leite concentrado e coagulante enzimático) e 4 (leite concentrado e coagulante vegetal), sendo que os maiores valores foram encontrados nos tratamentos 3 e 4 (queijos produzidos com leite concentrado). Para o perfil de aminoácidos no 1º dia de maturação o ácido aspártico foi o que apresentou maiores teores (de 4,28 a 6,88) entre todos os tratamentos, já no 30º dia houve destaque para o aminoácido prolina (de 2,02 a 3,17). O crescimento de bactérias lácticas foi mais expressivo no 15º dia de armazenamento, sendo as maiores contagens observados nos tratamentos 3 (queijo elaborado com leite concentrado e coagulante enzimático) e 4 (queijo elaborado com leite concentrado e coagulante vegetal), sendo que a contagem observada em ambos foi de $5,9 \times 10^9$ UFC. O índice de extensão e profundidade de proteólise revelaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no decorrer da maturação, sendo que aos 30º dia obteve-se 12,7 e 13,2 para o índice de extensão de proteólise e 8,1 e 8,9 para os índices de profundidade para os tratamentos 3 e 4, respectivamente. Na avaliação sensorial os tratamentos 3 (queijo elaborado com leite concentrado e coagulante enzimático) e 4 (queijo elaborado com leite concentrado e coagulante vegetal) obtiveram as maiores médias (8) para os atributos de aceitação geral, sabor e textura correspondendo ao “gostei muito” na escala hedônica. O processo de Ultrafiltração mostrou-se eficiente para a obtenção de um queijo com alto valor proteico, no aumento do rendimento e na redução da produção de soro.

Palavras-Chave: leite ovino, Ultrafiltração, coagulante vegetal, queijo amanteigado.

Abstract of Thesis presented to Food Engineering Program from Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões as a partial fulfillment of the requirements for obtaining the Degree of Doctor in Food Engineering

Preparation and characterization milk cheese buttered sheep concentrated by ultrafiltration

Andréia Maria Faion

2015

Advisors: Prof. Dr. Eunice Valduga, Prof. Dr. Juliana Steffens.

The use of concentrated sheep milk for preparation of cheeses allows obtaining differentiated products and is an alternative technology to add value to this raw material. One of processes for concentration of proteins is the membranes ultrafiltration. In this sense, this study aimed to characterize the sheep's milk, the study of the operating conditions of the ultrafiltration process in laboratory and pilot, to obtain protein concentrate and preparation of buttery cheese with concentrated formulations, using thistle flower a coagulant (*cardunculu sspp. Flavescens*) as well as characterizing physical-chemical, sensory and microbiological cheeses during the storage (30 days). The sheep's milk is basically constituted by 6% protein, 7.5% fat, 4% lactose and 0.9% ash. To evaluate the tendency of fouling sheep milk was used membrane Polyethersulfone 100 kDa, where the values range from 90.5 to 93,6%, and 43,9% for laboratory and pilot scale, respectively. The sheep milk concentration process was performed in a pilot scale, in a unit containing hollow fiber membrane, tubular, molecular weight of 10 kDa cutting area of 4.4 m² and polietersulfona composition. The chemical composition of the milk found in this study are in agreement with that expected for sheep milk used for the preparation of cheeses. The concentrated milk at pilot scale present 17.9% protein content after 30 min concentration using 2 bar pressure at 25 ° C.

The physicochemical analyzes revealed that the cheeses made with concentrate milk were classified as high-moisture cheese (46 to 54.9%). The lowest pH values (5.54 concentrated milk and cheese produced by enzymatic coagulant and 5.53 concentrated milk and cheese produced by vegetable coagulant) were observed in treatments designed with concentrated milk, thus same treatments showed the highest values of acidity (1.60 and 1.62 g lactic acid / 100 g). For protein levels were no significant differences ($p < 0.05$) between treatments 1 (prepared with whole milk

with animals coagulant), 2 (whole milk and vegetable coagulant) with treatments 3 (concentrated milk and feed coagulant) and 4 (concentrated milk and vegetable coagulant), and the highest values were found in treatments 3 and 4 (cheeses made from concentrated milk). For aminonoacids profile in the first day of the maturation aspartic acid showed the highest levels (4.28 to 6.88) among all treatments already, at 30th day there was emphasis for proline amino acid (2.02 to 3.17). The growing lactic acid bacteria was more significant at 15th day of storage, with higher scores observed for the treatments 3 (cheese prepared concentrated milk and enzymatic coagulant) and 4 (concentrated milk and cheese produced by vegetable coagulant), and the count observed in both cheese was of 5.9×10^9 UFU. The extension rate and depth of proteolysis showed a significant increase ($p < 0.05$) during maturation, and 30 day yielded 12.7 and 13.2 for proteolysis extension ratio and 8, 1 and 8.9 for treatments 3 and 4 respectively. In sensory evaluation the treatments 3 (cheese made concentrated milk or enzymatic coagulant) and 4 (cheese made concentrated milk and vegetable rennet) had the highest average (8) for the attributes of overall acceptance, flavor and texture corresponding to "enjoyed" in hedonic scale.

Keywords: sheep milk, Ultrafiltration, vegetable coagulant, buttery cheese

Sumário

1	INTRODUÇÃO	20
2	Objetivo geral	23
2.1.1	Objetivos Específicos	23
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
3.1	Produção de leite de ovelha e suas características	24
3.2	Composição do leite de ovelha	25
3.3		27
3.4	Queijos a base de leite de ovelha	27
3.4.1	Coagulantes	30
3.5	Concentrados proteicos de leite	33
3.6	Processos de separação com membranas	35
3.6.1	Parâmetros relevantes aos processos de PSM.....	42
3.7	Considerações Finais	47
4	MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1	Coleta e preparo da matéria prima	49
4.2	Sistemas de UF	49
4.2.1	Descrição do processo de UF em escala laboratorial.....	49
4.3	Estudo da tendência ao <i>fouling</i>	52
4.3.1	Descrição do processo de UF em escala Piloto	52
4.5	Elaboração de formulações de queijo Tipo Amanteigado	55
4.6	Determinações físico-químicas do leite, leite concentrado, permeado e queijo amanteigado	58
4.6.1	Determinação da gordura.....	58
4.6.2	Minerais totais	58
4.6.3	Determinação da Umidade	59
4.6.4	Determinação do pH.....	59
4.6.5	Determinação da acidez total	59
4.6.6	Determinação de açúcares redutores (lactose)	59
4.6.7	Nitrogênio total e/ou proteína total	59
4.6.8	Perfil de aminoácidos	61
4.7	Viscosidade	61
4.8	Análises Físicas	62
4.8.1	Rendimento dos queijos.....	62
4.9	Determinações microbiológicas do leite, leite concentrado, permeado e queijo amanteigado.	62
4.9.1	Contagem de bactérias lácticas	62
4.9.2	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	63
4.9.3	Contagem de coliformes fecais e termotolerantes	63

4.10	Análise sensorial	63
4.11	Análise estatística	64
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	<i>Erro! Indicador não definido.</i>
5.1	Sistema de UF em escala laboratorial	65
5.1.1	Estudos de fluxos e de tendência ao <i>fouling</i>	65
5.2	Sistema de UF em escala piloto	76
5.2.1	Estudos de fluxos e de tendência ao <i>fouling</i>	76
5.2.2	Obtenção de concentrado de leite de ovelha	79
5.2.3	Tendência ao <i>fouling</i>	83
5.3	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE E DOS CONCENTRADOS	84
5.3.1	Comportamento reológico	84
5.3.2	Características físico-químicas do leite e frações concentradas por UF	88
5.4	Rendimento dos queijos	91
5.5	Caracterização do queijo amanteigado	92
5.5.1	Umidade e voláteis - sólidos totais	92
5.5.2	Minerais Totais	94
5.5.3	pH e acidez	96
5.5.4	Lipídeos	97
5.5.5	Frações nitrogenadas	99
5.6	Características microbiológicas dos queijos amanteigados	104
5.6.1	Contagem de Coliformes	105
	A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para a contagem de coliformes termotolerantes, para as amostras de queijo no 1°, 15° e 30° de maturação.	105
5.6.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	105
5.6.3	Contagem de bactérias lácticas	106
5.7	Análise Sensorial	107
6	Conclusões	111
7	Sugestões para trabalhos futuros	112
	REFERÊNCIAS	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – (a) Planta Flor cardo e (b) Aspecto da flor do cardo.....	32
Figura 2 - Representação esquemática de um sistema de membranas.	36
Figura 3 – Principais características dos processos que utilizam diferença de pressão como força motriz.....	37
Figura 4 – Diagrama esquemático do sistema de Ultrafiltração em batelada	39
Figura 5 – Aspecto visual do aparato experimental de Ultrafiltração em escala laboratorial a) banho ultratermostato, b) cilindro de nitrogênio, c) módulo com membrana e d) agitador magnético	50
Figura 6 – Esquema do módulo com membrana plana detalhada.	50
Figura 7 – Unidade de UF em escala piloto	53
Figura 8 – Representação esquemática do processo de Ultrafiltração em fluxo cruzado e do contra fluxo da retrolavagem da membrana em escala piloto	54
Figura 9 – Fluxograma de elaboração do queijo amanteigado.....	56
Figura 10 – Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 25°C nas pressões de 1, 2 e 3 bar.....	65
Figura 11 – Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 30 °C nas pressões de 1, 2 e 3 bar.....	66
Figura 12- Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 35 °C nas pressões de 1, 2 e 3 bar.....	66
Figura 13 – Volume acumulado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa na pressão de 2 bar e temperatura de 25 °C.....	68
Figura 14 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 25 °C.....	70
Figura 15 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 30 °C.	70

Figura 16- Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 35 °C.....	71
Figura 17 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa na pressão de 2 bar e temperatura de 25 °C.....	72
Figura 18- Relação de t/v com o volume acumulado em relação ao tempo do processo de Ultrafiltração do leite de ovelha para membrana plana de 100 kDa.	73
Figura 19- Fluxo de permeado de água em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar.	77
Figura 20 – Volume acumulado de Ultrafiltração de água em relação ao tempo para membrana de fibra oca 10 kDa.	78
Figura 21- Fluxo de permeado de leite de ovelha, em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1 e 2 bar e temperatura de 25°C.....	79
Figura 22 – Fluxo de permeado de leite de ovelha em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa na pressão de 2 bar.....	80
Figura 23 – Relação de t/v com o volume acumulado em relação ao tempo na Ultrafiltração de leite de ovelha para membrana de fibra oca de 10 kDa.....	82
Figura 24 – Gráfico da resistência da membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1 e 2 bar durante o processo de Ultrafiltração (30 min).....	83
Figura 25- Variação da viscosidade nas amostras de leite ovino em relação ao tempo de Ultrafiltração para membrana de fibra oca de 10 kDa (a) leite integral (b) leite desnatado (c) leite concentrado 10 min/2bar (d) leite concentrado 20 min/2bar (e) leite concentrado 30 min/2bar.....	85
Figura 26 - Evolução do índice de extensão de proteólise nos queijos amanteigados durante o período armazenamento.....	101
Figura 27 - Evolução do índice de profundidade de proteólise para os queijos amantei; durante o período de armazenamento.....	102
Figura 28- Histograma de frequência para Aceitação geral para o 30° dia de armazenamento (9 - gostei muitíssimo, 8 - gostei muito, 7 - gostei moderadamente, 6 - gostei ligeiramente, 5 - nem	

gostei / nem desgostei, 4 - desgostei ligeiramente, 3 - desgostei moderadamente, 2 - desgostei muito, 1 - desgostei muitíssimo). 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição média dos nutrientes básicos do leite de cabra, ovelha, vaca e humano. .	25
Tabela 2 - Valores de permeabilidade hidráulica antes e depois da concentração do leite ovino e porcentagem da tendência ao <i>fouling</i> para as temperaturas de 25, 30 e 35°C a 2 bar.....	75
Tabela 3 – Porcentagem de tendência ao <i>fouling</i> escala piloto a 25 °C e 2 bar. Erro! Indicador não definido.	
Tabela 4- Teor de pH, acidez, lactose, gordura, proteína e minerais totais para as amostras de leite integral, desnatado, concentrado e permeado nas pressões de 1 e 2 bar obtidos no processo de Ultrafiltração com membrana de fibra oca.	89
Tabela 5- Valores de rendimentos para as amostras de queijo tipo amanteigado de leite ovino. .	91
Tabela 6- Teor de umidade para o queijo amanteigado de leite de ovelha no 1°, 15° e 30° de armazenamento.	92
Tabela 7- Teor médio dos minerais totais (% b.u) para as formulações de queijo amanteigado de leite de ovelha no 1°, 15° e 30° dias de maturação.	95
Tabela 8 - Valores médios de pH e acidez dos queijos de leite de ovelha amanteigado no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento.	96
Tabela 9 - Teores de gordura para as formulações de queijo ovino amanteigado no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento.	98
Tabela 10 - Teores de proteína total para o queijo amanteigado ovino no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento.	99
Tabela 11 - Perfil de aminoácidos das formulações de queijo amanteigado durante a maturação.	103
Tabela 12 - Contagem de Coliformes termotolerantes no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento nas amostras de queijo ovino amanteigado	105
Tabela 13 - Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento nas amostras de queijo ovino amanteigado.....	106

Tabela 14 - Contagem de Bactérias Lácticas para as amostras de queijo ovino amanteigado durante a maturação.....	106
Tabela 15 - Atributos sensoriais de aceitação geral, sabor e textura do queijo Amanteigado para o 30 ° de armazenamento a 6 °C e 95% UR.	108

LISTA DE ABREVIATURAS

A	Área
A	Coeficiente angular
B	Coeficiente linear
Bar	Unidade de pressão
C	Concentração
°C	Graus Celsius
cP	Centipoise
CPL	Concentrado proteico de leite
Co	Concentração da espécie na alimentação
CLA	Ácido linoleico conjugado
C_p	Concentração da espécie no permeado
cm²	Centímetro quadrado
Cs	Concentração do sólido
D	Diálise
Da	Dalton
DF	Dia filtração
DOP	Denominação de origem protegida
G	Gramas
H	Hora
J	Fluxo permeado
J'	Fluxo permeado linha
kDa	Quilodalton
Kg	Quilograma

Kgf	Quilograma força
L	Litros
M	Molar
m²	Metro quadrado
m³	Metro cúbico
MF	Microfiltração
Mg	Miligramas
Nm	Nanometro
N	Nanofiltração
N₂	Nitrogênio
NP	Nitrogênio total
NNP	Nitrogênio não proteico
NST	Nitrogênio solúvel total
OI	Osmose Inversa
Pa	Pascal
P	Gradiente de pressão
PAs	Proteinases aspárticas
PSM	Processos de separação por membranas
R_i	Coeficiente de rejeição
R_d	Resistência do depósito
R_g	Resistência da camada em gel
R_m	Resistência da membrana
R_p	Resistência da zona de polarização
R_t	Resistência total
ST	Sólidos Totais

STS	Sólidos Solúveis Totais
T	Tempo
TCA	Ácido tricloacético
TCM	Triglicérides de cadeia média
V	Volume
W	Massa do depósito
%	Porcentagem
$\Delta\mu$	Diferença de potencial químico
Δp	Diferença de pressão
ΔC	Diferença de concentração
W_{pa}	Permeabilidade hidráulica antes da Ultrafiltração
W_{pd}	Permeabilidade hidráulica depois da Ultrafiltração
μ	Viscosidade
μm	Micrometro
μ_1	Gradiente de potencial químico

1 INTRODUÇÃO

A produção de leite de ovinos tem sido vista como uma alternativa sustentável, de baixo investimento inicial e de fácil adoção, podendo melhorar a qualidade de vida dos pequenos e médios produtores rurais. A produção de leite ovino corresponde hoje a 1,3 % da produção mundial, com destaque da sua utilização para a produção de queijos finos principalmente na Europa. O rebanho ovino é o quarto no Brasil sendo o Rio Grande do Sul o principal produtor processando em torno de 158.000 litros por ano (FAO, 2014).

O leite de ovelha é fonte essencial de cálcio, de proteína e gordura. Apresenta alto teor de ácidos graxos, em especial os de cadeia curta e média, como o caprótico, o caprílico e o cáprico, que são favoráveis para indivíduos que possuem dificuldade em digerir e absorver triacilgliceróis de cadeia longa, e/ou portadores de enfermidades relacionadas à dificuldade de digestão e absorção de nutrientes. Com relação ao teor de proteínas, o leite ovino apresenta três vezes mais caseína em relação ao leite de cabra e vaca. As proteínas do leite ovino são consideradas proteínas de alto valor biológico (PAVB), contribuindo para uma melhor digestibilidade, sendo que seus peptídeos bioativos possuem atividades antioxidantes, antimicrobianas e anti-hipertensivas (GUTIERREZ et al., 2004; PELLEGRINI et al., 2012).

Quando comparado ao leite bovino, o leite de ovelha ganha destaque, pois além de possuir alta concentração de sólidos totais, esta matéria prima apresenta elevados níveis de gordura e de caseína, o que proporciona maior rendimento na elaboração de queijos. Para cada 10 L de leite bovino obtém-se 1 kg de queijo, quando utilizada a mesma proporção de leite ovino obtém-se 2 kg de queijo. Outra característica importante é que por possuir maior teor de caseína, o leite de ovelha permite a redução do tempo de coagulação, bem como a obtenção de uma coalhada mais firme.

Com exceção de algumas situações de economias de subsistência em que o leite é consumido *in natura*, a maior parte do leite de ovelha obtido, é transformado em queijo e, em menor escala, em iogurte. Devido a maior concentração de sólidos que o leite de vaca e cabra, o leite de ovelha é indicado para a fabricação de queijos com aromas e sabores especiais e de alto valor comercial no mundo inteiro, como o Roquefort e o Gorgonzola.

Na produção de derivados de leite ovino, Portugal é um país de destaque, principalmente na produção de queijos de excelência com alto valor agregado. Os portugueses atribuem este

sucesso as suas belas pastagens que fornecem o alimento essencial para os animais contribuindo para a obtenção de matérias primas de qualidade. Os queijos mais famosos de Portugal são os produzidos com leite de ovelha cru e coagulante vegetal extraído da flor do cardo.

Os queijos produzidos a partir de coagulantes vegetais apresentam sabores mais acentuados e agradáveis e textura mais macia, permitindo a obtenção de produtos de alto valor agregado. O uso de coagulantes vegetais como a flor do cardo são, hoje limitados principalmente à produção artesanal, porém nos últimos anos vem aumentando o interesse da indústria pela viabilidade do uso destes coagulantes em escala industrial. Outro aspecto importante na crescente demanda pelos coagulantes vegetais é o mercado de alimentos destinados aos consumidores lactovegetarianos.

Assim como a aplicação de ingredientes com apelo mais “natural”, a incrementação de alimentos com novos ingredientes tornando mais saudáveis e com apelo nutricional e funcional vem despertando o interesse das indústrias alimentícia e dos consumidores. Neste caso pode-se destacar a concentração de proteínas lácteas para elaboração de novos produtos com alto valor nutricional. O uso de leite concentrado para elaboração de queijos permite a obtenção de produtos com maior retenção de proteínas e outros compostos, além de promover um aumento no rendimento, redução dos ingredientes e produção de soro com menor poder poluente (redução de 20 % da demanda biológica de oxigênio). Desta forma, uma das alternativas para concentração de proteínas é o uso do processo de membranas.

Os processos de separação com membranas vêm ganhando destaque na indústria de alimentos para separação e/ou concentração de compostos de interesse biológico como as proteínas. Entre os processos de separação com membranas, a Ultrafiltração vem despertando o interesse principalmente na indústria de leites e derivados para a obtenção de produtos com características sensoriais e nutricionais diferenciadas. Este processo permite o aproveitamento total do leite. Dentre as principais vantagens da Ultrafiltração pode-se citar a economia de energia quando comparado aos processos convencionais de evaporação, redução do volume de leite a ser transportando, desenvolvimento de novos produtos com características nutritivas e sensoriais diferenciadas, aumento do rendimento, principalmente na elaboração de queijos e aproveitamento seletivo do soro. Na elaboração de queijos, o uso da Ultrafiltração permite o aumento do rendimento e uma redução na produção de soro.

A Ultrafiltração é utilizada principalmente para a retenção de macromoléculas do leite, o que permite uma variação na concentração e padronização do leite principalmente em relação ao teor de proteínas. Hoje na literatura existem diversos estudos referentes à aplicação dos processos de separação por membranas para a concentração e fracionamento de leite bovino, porém quando se trata da matéria ovina, os estudos são escassos.

Os estudos com leite de ovelha concentrado, bem como a aplicação de coagulantes vegetais ainda são escassos, principalmente no Brasil. Neste sentido há necessidade de se conhecer as características de composição do leite de ovelha, do processo de concentração de nutrientes e aplicação do concentrado em produtos lácteos. Assim, o presente trabalho visou a caracterização do leite de ovelha, o estudo das condições operacionais do processo de Ultrafiltração para obtenção de concentrado proteico e a elaboração de formulações de queijo amanteigado com concentrado, empregando como coagulante a flor do cardo (*cardunculus* spp. *Flavescens*), bem como o acompanhamento das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dos queijos durante o período de 30 dias de armazenamento.

2 Objetivo geral

Avaliar a potencialidade do uso de leite ovino concentrado pelo processo de Ultrafiltração e coagulante vegetal Flor do cardo (*cardunculus* spp. *Flavescens*) para a elaboração de queijo ovino Tipo amanteigado.

2.1.1 Objetivos Específicos

- Caracterização matéria prima (leite ovino)
- Otimização do processo de Ultrafiltração em escala laboratorial e escala piloto e estudo de tendência ao *fouling*
- Cálculo de fluxo de permeado e resistências das membranas em escala laboratorial e piloto
- Caracterização concentrado proteico e permeado
- Elaboração de queijo amanteigado com leite ultrafiltrado e coagulante vegetal
- Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial dos queijos amanteigados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item, são apresentados aspectos de produção e composição do leite de ovelha, os principais fatores envolvidos nos processos de separação por membranas, obtenção de concentrados proteicos por Ultrafiltração, fabricação de queijo Tipo amanteigado e aplicação dos processos de separação por membranas nas indústrias alimentícias.

3.1 Produção de leite de ovelha e suas características

A produção de leite é uma atividade significativa para a indústria ovina no mundo. Em regiões menos favorecidas, o leite de ovinos, por seu alto valor nutritivo, é um componente importante no sustento da família, para milhões de pessoas (BRITO, 2004).

A criação de ovinos de leite é uma parte vital da economia nacional em muitos países, especialmente no Mediterrâneo e Região do oriente Médio, e são particularmente bem organizada na França, Itália, Espanha, e Grécia. No entanto, a industrialização em larga escala de ovelhas leiteiras em muitos países é limitada pelo baixo volume de leite produzido, cerca de 50 kg por ano (PARK et al., 2006).

Aproximadamente 3,5 % de todo o leite produzido mundialmente é proveniente de leite de ovinos e de caprinos. Este tipo de leite é uma importante fonte de proteínas para países em desenvolvimento. No Brasil, a produção de ovelhas é a quarta maior atividade agropecuária, sendo que o rebanho nacional esta concentrado nas regiões Nordeste, seguida pela região sul, na qual o estado do Rio Grande do Sul detém a maior parte do efetivo ovino (CAMPOS, 2011).

A produção e o processamento industrial de leite ovino ainda são pequenos em nosso país. A cadeia produtiva de ovinos no Brasil esta focada principalmente na produção de carne e lã. A criação de ovinos para produção de leite no Brasil tem chamado à atenção nos últimos anos, principalmente após experiências bem sucedidas de produtores da Serra Gaúcha, demonstrando o grande potencial da atividade. (SOUZA et al., 2005, CAMPOS, 2011).

A produção do leite de ovelha tem sido apontada como uma alternativa sustentável, pois apresenta baixo custo inicial e fácil adoção da mão de obra familiar, podendo melhorar a qualidade dos pequenos e médios produtores (SOUZA et al., 2005).

3.2 Composição do leite de ovelha

A composição química do leite ovino é o principal fator de importância da utilização desta matéria-prima, tanto para o consumo do leite fluido bem como de seus derivados. A Tabela 1 apresenta a composição dos principais nutrientes do leite de ovelha, cabra, bovino e leite humano (PARK et al., 2007). A composição do leite de ovelha pode variar com a dieta, raça, estágio de lactação, sazonalidade, nutrição, condições de manipulação e ambientais e/ou localização.

A composição média do leite de ovelha é de 7,6 % de gordura, 5,6 % de proteína, 10% de sólidos desengordurados, 4,7 % de lactose, 4,6 % de caseína e 19 % de sólidos totais. Este fato, explica o elevado rendimento na fabricação de queijos, ou seja, com 100 litros de leite de ovelha pode-se produzir até 22 Kg de queijo. O leite de ovelha apresenta ainda a peculiaridade de não apresentar caroteno em sua gordura, o que é responsável pela brancura típica deste leite (RIBEIRO et al., 2007).

Tabela 1- Composição média dos nutrientes básicos do leite de cabra, ovelha, vaca e humano.

Composição	Cabra	Ovelha	Vaca	Humano
Gordura (%)	3,8	7,9	3,6	4,0
Sólidos não gordurosos (%)	8,9	10,0	9,0	8,9
Lactose (%)	4,1	4,7	4,7	6,9
Proteína (%)	3,4	6,2	3,2	1,2
Caseína (%)	2,4	4,6	2,6	0,4
Albumina e globulina (%)	0,6	1,0	0,6	0,7
N não protéico (%)	0,4	0,8	0,2	0,5
Cinzas (%)	0,8	0,9	0,7	0,3
Calorias (100 ml)	70	10,5	69	68

Fonte: PARK et al (2007)

O leite ovino é uma excelente fonte de cálcio, fósforo e lipídios de alta qualidade. A maior proporção de gordura promove maior rendimento na fabricação de queijos, aproximadamente 15 % em leite de ovelha comparado com 10 % em leite de bovino. O teor de gordura é duas vezes maior que outros leites e o teor de proteínas 40 % maior que o leite de vaca ou cabra. A resposta do leite à fabricação de queijos também é diferente, sendo que é mais sensível ao coalho,

coagulando mais rápido, produzindo um coágulo mais firme e apresentando melhor rendimento de fabricação de queijo por unidade de leite do que os demais leites (HAENLEIN, 2001; CAMPOS, 2011).

Dentre os compostos orgânicos presentes no leite de ovelha, a gordura é um dos componentes mais importantes, pois tem função nutricional e influencia as características físicas e organolépticas. Os glóbulos são menores que os do leite de vaca, propiciando em proporção volumétrica, maior superfície para o ataque enzimático. Isto permite que o leite de ovelha seja quebrado (lisado) e digerido mais facilmente (CAMPOS, 2011).

A gordura do leite de ovelha apresenta maior quantidade de certos ácidos graxos, como o capríco (hexanóico), o caprílico (octanóico) e o cáprico (decanóico), de cadeia mais curta. Outra particularidade importante do leite de ovelha é a maior proporção de triglicérides de cadeia média (TCM) ao se comparar com o leite de vaca. As lipases atacam os ésteres das ligações das cadeias curtas dos ácidos graxos mais prontamente, possibilitando digestão mais rápida. Os TCM são únicos em questão metabólica, de maneira que são absorvidos por um mecanismo mais simples que outros ácidos graxos. Os TCM apresentam capacidade única em fornecer energia ao metabolismo humano, diminuir, inibir e dissolver os depósitos de colesterol. Acredita-se que o consumo em larga escala do leite de ovelha induz à longevidade (FURTADO, 2003).

Teores médios de ácido linoleico conjugado (CLA) mostraram-se maiores no leite de ovelhas (1,08 %), seguido do leite de vaca (1,01 %) e do leite de cabra (0,65 %) (JARHEIS et al., 1999, citado por PARK et al, 2007). Considerando os vários benefícios nutricionais associados a estes ácidos graxos, o leite de ovelha se mostra bastante interessante no ponto de vista nutricional. Além disso, pesquisas têm demonstrado a existência de certa facilidade de manipulação da dieta visando aumentos do CLA no leite de ovelhas e tornando-o ainda mais adequado para a dieta dos humanos. Por sua vez, o leite de ovelha tem maiores teores de ácidos graxos *trans* do que o leite de vaca e o de cabra, respectivamente, mas a quantidade observada nestes leites não é suficiente para oferecer riscos de doenças coronarianas associadas à sua ingestão (PARK et al., 2007).

Na fabricação de queijos, a coalhada formada a partir do leite de ovelha é mais firme e mais maleável que a obtida de leite de vaca, isto significa que as enzimas digestivas podem quebrá-la mais rapidamente. Este fato pode ser explicado pelas diferenças de composição ao nível da riqueza em matéria coagulável, essencialmente proteína e matéria gorda, e também

devido à composição e características da fração proteica, mais precisamente a fração caseínica, mais determinante no fabrico de queijo. A caseína alfa-S1 é a principal caseína do leite de vaca e contribuinte para a obtenção de coalho mais firme (BARROS, 2012).

A lactose representa, normalmente, 49 % dos sólidos do leite de ovelha, sendo o principal carboidrato dos leites. Os demais carboidratos são diversos oligossacarídeos, como resíduos de três a dez monossacarídeos, que podem ter características ácidas (ácido siálico) ou neutras. Estes elementos são importantes substratos para as bifidobactérias e podem desempenhar importante papel na proteção da mucosa intestinal contra agentes patogênicos, além de serem importantes para o desenvolvimento cerebral neonatal. (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2008).

Os produtos queijeiros derivados do leite de ovelha não têm, geralmente, sabores amargos, característica que está relacionada com baixa concentração de caseína α S em relação às caseínas totais (BARROS, 2012).

3.4 Queijos a base de leite de ovelha

Os principais produtos processados a partir de leite de ovelha são queijo e iogurte. Estima-se que até 60 % da renda dos produtores de leite ovino deriva da produção de iogurte e queijo (HILALI et al., 2006; SOUZA et al., 2012), principalmente pelo fato do leite de ovelha possuir elevados níveis de gordura e caseína, características importantes na elaboração de queijos duros e macios, agregando valor a este produto.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade de Queijos – Portaria nº. 146198 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, “Entende-se por queijo, o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 2013).

Na elaboração dos queijos com leite de ovelha, o rendimento industrial chega a 18 a 25 %, ou seja, são necessários apenas 4 a 5 kg de leite de ovelha para a produção de 1 kg de queijo. Os maiores conteúdos (80 % da proteína total) e variedade de frações de caseína favorecem esse

maior rendimento, pois reduzem o tempo de coagulação da massa e aumentam a firmeza do coágulo quando comparado à produção de queijo com leite de vaca (WENDORFF, 2002; FURTADO, 2003; BERGER, 2005). Como matéria-prima de qualidade diferenciada, o leite de ovelha proporciona aos queijos o *status* de iguaria da gastronomia mundial, permitindo que atinjam os mais elevados preços de mercado (RIBEIRO et al., 2007).

Portugal é um país produtor de queijos de excelência, sejam eles de vaca, cabra ou ovelha, ou até mesmo de mistura, consequência direta de um território nacional fértil em boas pastagens, fato que implicou, desde cedo, a sua inclusão nas Denominações de Origem Protegida (DOP). Hoje no país existem dois tipos de queijos produzidos com leite ovino comumente fabricados em Portugal que se caracterizaram por sua textura cremosa e/ou amanteigada que são o queijo Serra da Estrela e o Queijo Azeitão (FERREIRA, 2010).

O queijo Serra da Estrela foi o primeiro queijo tradicional de ovelha produzido em Portugal. O queijo Serra da Estrela (ou simplesmente Serra) é provavelmente a variedade mais popular de queijo tradicional em Portugal. Ele é fabricado apenas em fazendas, a partir de leite cru de rebanhos ovinos locais. Sabe-se que a origem do queijo Serra da Estrela data dos tempos da ocupação Romana da Península Ibérica. Os conhecimentos relativos ao processo de fabrico foram obtidos empiricamente e passados de geração em geração em famílias de pastores, mantendo as técnicas de fabrico praticamente inalteradas. Foi o primeiro queijo tradicional de ovelha português com Região Demarcada (em 1985), tendo conquistado o estatuto de Denominação de Origem Protegida - DOP em 1994 (RODRIGUES et al., 2000; FREITAS et al., 2000).

O queijo Serra da Estrela pode ser definido como um queijo de ovelha curado, de pasta semi-mole, amanteigada, branca ou ligeiramente amarelada, com poucos ou nenhuma "olhadura", obtido por dessoramento lento da coalhada, depois da coagulação do leite de ovelha cru pela flor do cardo (*Cynara cardunculus* var., L), de fabricação artesanal e proveniente da Região Demarcada/Área Geográfica de Produção "Serra da Estrela". A duração da coagulação é de aproximadamente 2 h a uma temperatura constante de 30 °C. Em seguida, a coalhada é cortada em pedaços pequenos e moldada em cilíndricos (20 cm de largura e 10 cm de altura), submetendo-se a massa a prensagem ou não. O sal é adicionado ao leite antes da coagulação e/ou distribuído na superfície do queijo fresco (MARTINS, 2006).

A maturação, na forma artesanal, é frequentemente realizada por pelo menos 35 dias em locais submetidos à temperatura ambiente com variações sazonais, a depender da região e época do ano; no entanto, o queijo Serra não é normalmente consumido antes de 45 dias (DORES e FERREIRA, 2012).

O processo de maturação do queijo compreende um conjunto de modificações químicas, bioquímicas e microbiológicas, entre as quais se destacam a fermentação da lactose, a hidrólise das proteínas e gorduras e a síntese de compostos aromáticos. A degradação da proteína modifica principalmente a textura, enquanto as hidrólises das gorduras liberam ácidos graxos livres, intensificando o aroma e a fermentação da lactose modifica o pH (acidez) e, conseqüentemente o sabor (DORES e FERREIRA, 2012; CUNHA et al., 2012).

A lipólise ou degradação da fração lipídica é produzida principalmente pela ação das lipases, que transformam os triacilglicerídeos em acilglicerídeos parciais e ácidos graxos livres. Estes podem permanecer no queijo, ou se transformarem em compostos como álcoois secundários, substâncias que contribuem intensamente na exaltação do aroma do queijo (ROSA, 2005; DIAMANTINO, 2011).

A proteólise é o principal e o mais complexo evento bioquímico que ocorre durante a maturação da maioria das variedades de queijos, dando origem a numerosos produtos, como peptídeos, cetonas e aminoácidos livres (GARDE et al., 2002; DIAMANTINO, 2011). Estes compostos responsáveis pelo sabor são liberados durante a mastigação. A proteólise contribui também para mudanças na textura pela quebra da cadeia de proteínas, aumento do pH (via formação de NH_3) e aumento na capacidade de ligar água pela formação de novos grupos amínicos e carboxílicos. A proteólise em queijos é afetada por inúmeros fatores, incluindo atividade residual do coagulante, proteases naturais do leite (como plasmina), proteinases e peptidases liberadas pelos microrganismos do fermento láctico, enzimas de micro-organismos presentes no queijo, como contaminantes e/ou sobreviventes à pasteurização (DIAMANTINO 2011).

As mudanças microbiológicas durante a maturação incluem a morte e a lise das células da cultura láctica e o crescimento da microbiota secundária (DIAMANTINO, 2011). As bactérias lácticas, responsáveis pela proteólise secundária, possuem um sistema proteinase/peptidase capaz de hidrolisar oligopeptídeos a peptídeos pequenos e aminoácidos que contribuem diretamente para o sabor. Os aminoácidos podem também servir como substratos para a formação de

compostos de sabor adicionais. Outra importante consequência da proteólise é a liberação de compostos de sabor que podem estar aprisionados no coágulo (BARROS, 2005).

Em termos nutricionais, o queijo Serra da Estrela poderá ser inserido no contexto de uma alimentação saudável considerando que, por um lado, possui características semelhantes aos demais queijos, no que diz respeito à alta digestibilidade, biodisponibilidade e alto valor biológico da proteína; aos níveis de cálcio, fósforo, vitamina A e D (FREITAS et al., 2000).

Outro queijo cremoso produzido em Portugal é o queijo Azeitão. O processo de fabricação deste queijo iniciou-se no ano de 1830, por Gaspar Henriques de Paiva, que se fixou da região de Azeitão e com ele trouxe a origem e o segredo para produção deste queijo. Este trouxe ovelhas leiteiras e todos os anos mandava vir um queijeiro para que produzisse o tão famoso Queijo Serra da Estrela com o leite do seu rebanho. Assim daria origem a um dos mais apreciados queijos de ovelha nacional (FERREIRA, 2010).

O Queijo Azeitão é produzido a partir de leite de ovelha cru, sendo que a flor do cardo seca juntamente com o sal, são responsáveis pela coagulação da caseína. Este queijo é curado por no mínimo 20 dias, apresenta-se na forma cilíndrica com um peso que varia entre 100 e 250 g e crosta amarelada. A pasta é amanteigada e untuosa (BARROS et al., 2012; ARCOLSA, 2013;). O queijo Azeitão apresenta sabor e aroma característicos, sendo seu sabor peculiar oriundo da flor do cardo, um misto de ácido, salgado e picante (FERNANDES, 2013).

3.4.1 Coagulantes

No processo de elaboração de diferentes tipos de queijos, as enzimas responsáveis pela coagulação são utilizadas em pequenas quantidades e sua origem (animal, vegetal ou microbiana) tem influência direta no produto final desempenhando papel fundamental nas características organolépticas principalmente em queijos maturados.

O coagulante mais utilizado pela indústria de queijos é o de origem animal, sendo este obtido a partir de extratos do quarto do estômago de ruminantes jovens. Este coagulante contém as enzimas quimiosina (85-95 %) e em menor quantidade a enzima pepsina (5 – 15 %). Com o aumento da produção de queijos e uma redução na disponibilidade de animais jovens para abate, a produção deste coagulante vem aumentando seus custos de produção nos últimos anos, despertando assim, o interesse pelo uso de coagulantes de origem vegetal e/ou microbiana.

Os coagulantes vegetais mais utilizados são derivados da *Cynara Cardunculus* mais conhecida como flor do cardo. A aplicação deste coagulante permite a obtenção de um queijo amanteigado com características organolépticas diferenciadas devido a sua maior capacidade proteolíticas, que proporcionam aos queijos características inigualáveis amplamente aceitas pelos consumidores (SILES, 2005; GARCIA et al., 2011).

Além da flor do cardo outros coagulantes vegetais vêm sendo testados para substituição ao coagulante animal como: sementes de girassol (PEREIRA et al., 2010), extrato de kiwi, melão, extrato de gengibre (MANZANO et al., 2013), mamão papaia (*Carica papaya*) e extrato de abacaxi (*Ananas sativa*) (SILES, 2005). Existem relatos que a alcachofra (*Cynara humillis*) planta pertencente à mesma espécie da flor do cardo também apresente propriedades coagulantes para o leite (ROSEIRO et al., 2003).

No Brasil não há relatos de produção da flor do cardo. Já a alcachofra é produzida no Sul e Sudeste do Brasil em regiões de clima ameno. Há plantios de alcachofra no Estado do Rio Grande do Sul (80 ha), em Santa Catarina (9,5 ha) e em Minas Gerais (7,5 ha) (FILHO et al., 2009). A alcachofra é a uma planta que assim como a flor do cardo pertence à família Asteraceae, *Cynara scolymus* L. É uma espécie de cultivo doméstica, proveniente das espécies selvagens *Cynara cardunculus* e *Cynara horrida*, próprias da flora mediterrânea europeia (GUIMARÃES, 2007). Há poucos evidencias científicas referentes à utilização da flor de alcachofra como coagulante, desse modo à necessidade de maiores estudos que comprovem esta atuação.

A Figura 1 apresenta a planta da flor do cardo (a) e o aspecto da flor do cardo (b) (*Cynara cardunculus*).

Figura 1 – (a) Planta Flor cardo e (b) Aspecto da flor do cardo.



Fonte: ALMEIDA et al (2010).

A flor do cardo possui forma tubular e cor violácea, que contem a enzima cinarase, também conhecida como cardosina, responsável pela coagulação do leite. A adição da flor do cardo pode ser feita por adição direta da flor seca ao leite quente, seguida de agitação vigorosa e filtração do leite; maceração da flor do cardo seca com pequenas quantidades de água e sal até se formar uma pasta, que é dissolvida com mais água (de modo a facilitar a extração das enzimas), filtrada e adicionada diretamente no leite; ou por maceração da flor de cardo seca com água e sal, colocando a pasta em embalagem porosa e submersa no leite (MACEDO et al., 1996).

Em Portugal, as flores de cardo são economicamente importantes visto serem o coagulante vegetal utilizadas na manufatura de queijos de ovelha internacionalmente reconhecidos, como os queijos da Serra, Serpa e Azeitão. Existem muitas espécies do género *Cynara*, mas apenas *C. cardunculus* spp. *Flavescens* (cardo) é utilizada no fabrico de queijo (ALMEIDA et al., 2009).

O cardo pertence à família das *Asteraceae*, pode ser encontrado na forma selvagem ou cultivada e cresce em locais rochosos (ALMEIDA et al., 2010). Planta herbácea vivaz (planta perene que apresenta crescimento anual), com um caule ereto, podendo atingir ciclos de metro e meio de altura, densamente coberto por folhas basais grandes. Tem uma grande capacidade de adaptação climática e apresenta vários ciclos ao longo da sua existência. O cardo cresce espontaneamente, a germinação de suas sementes começa no final do verão, as plantas desenvolvem-se formando uma roseta de folhas, e passando o inverno no estado vegetativo (SAPIENTIA, 2013).

A espécie *Cynaracardunculus L.* apresenta agentes coagulantes na parte azul-violeta. A substância coagulante está na parte superior do estiole, estando a atividade coagulante restrita as pétalas e os pistilos (SAPIENTIA, 2013). Esta apresenta forma tubular e cor violácea e grande concentração da substância coagulante, chamada enzima cinarase. A infusão de flor de cardo, previamente preparada, é lançada no leite morno após a pasteurização (QUEIJOS DO BRASIL, 2013).

A capacidade coagulante da flor do cardo resulta da presença de proteinases aspárticas no seu pistilo (MACEDO, 2005). As Proteases são enzimas que catalisam a clivagem hidrolítica de ligações peptídicas específicas em proteínas alvo. As proteinases aspárticas (PAs) constituem uma classe de endopeptidases amplamente distribuída na natureza, nomeadamente em vertebrados, plantas, leveduras, parasitas, bactérias, fungos e vírus. As PAs caracterizam-se por terem um pH ótimo ácido e clivarem, preferencialmente, ligações peptídicas entre resíduos hidrofóbicos e com cadeia lateral volumosa (HANDEM, 2013). As duas formas isoladas de cardosinas que encontramos que são encontradas nos estigmas da florescência de *Cynara cardunculus* são do tipo A e B (MACEDO, 2005). A cardosina A e a cardosina B apresentam características comuns às proteinases: são inibidas pela pepstatina, requerem pH baixo para ótimo funcionamento e clivam preferencialmente ligações estabelecidas entre aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas (HANDEM, 2013).

Em Portugal o cardo apresenta sua flor nos meses de junho, julho e agosto, após a colheita das flores as mesmas devem ser secadas a sombra e armazenadas em locais secos, para posteriormente serem utilizadas para coagulação do leite nos outros períodos do ano. Contudo, o cardo vai perdendo qualidade com o passar do tempo (ALMEIDA et al., 2010).

3.5 Concentrados proteicos de leite

As tecnologias de separação por membrana apresentam-se como uma escolha lógica para o fracionamento de leite bovino, porque muitos dos seus componentes podem ser separados pela diferença de tamanho. Os processos de separação com membranas já são bem estabelecidos no tratamento do soro de leite e estão ganhando popularidade em aplicações de outros produtos lácteos. No entanto, o fracionamento de leite através de membranas é pouco descrito na literatura (BRANS, 2004).

A concentração de proteínas totais do leite por Ultrafiltração (UF) tem sido utilizada extensivamente na indústria de laticínios para a produção de queijo a base de leite bovino, de massa mole, como o queijo feta, camembert e outros. As vantagens de UF sobre o processo tradicional são bem conhecidas e descritas. A membrana pode ser selecionada de modo a reter completamente as proteínas do soro, que constituem 20 % das proteínas totais do leite e isto promove o aumento da massa de proteína recuperada a partir de um litro de leite. Este aumento de sólidos proporciona a diminuição da quantidade de coalho necessário para a produção de diversos queijos, gerando assim uma maior economia para a indústria queijeira (AKOUM et al., 2005). Durante a ultrafiltração de leite, as macromoléculas, por exemplo, a caseína, proteínas do soro de leite e gordura, por se apresentarem maiores que os poros da membrana acabam sendo retidas na fase superior da membrana enquanto que as pequenas moléculas em fase solúvel do leite, tais como lactose e minerais são removidos através da membrana no permeado da solução. Os concentrados proteicos de leite com diferentes teores de proteínas tem sido produzidos por ultrafiltração seguidos pela diafiltração, sendo estes utilizados para diferentes fins (DOMAGALA e KUPIEC, 2003).

Os concentrados de proteína do leite bovino contêm altos níveis de proteína e baixos teores de lactose, além de ser altamente solúvel, sem sabor e é estável à temperatura de pasteurização. O CPL é considerado um ingrediente lácteo recente empregado em formulações de produtos lácteos. O concentrado de proteína de leite é classificado pelo teor de proteína, que pode variar de 40 a 85 %, dependendo da utilização final (DIAS, 2004).

As proteínas possuem propriedades de interesse tais como solubilidade, capacidade de retenção de água e gordura, capacidade de emulsificação e estabilidade de emulsões, capacidade de formação de espuma e estabilidade de espuma, capacidade de geleificação e propriedades dos géis, formação de filmes comestíveis e/ou biodegradáveis, microparticulação de proteínas e interações proteína-hidrocolóides (LEGAWO et al., 1996; VAGHELA e KILARA, 1996).

As propriedades funcionais do CPL incluem a estabilidade em emulsões e resistência ao calor, e aumento das propriedades nutricionais e organolépticas como na retenção de água, na viscosidade, na cor, no sabor e textura dos alimentos. Além destas características os concentrados proteicos de caseínas podem ser utilizados na formulação de produtos cárneos, lácteos, produtos de panificação, chocolates e confeitados, coberturas comestíveis, bebidas lácteas e achocolatados, salgadinhos e “snacks” (DIAS, 2004).

Na composição do leite encontram-se duas frações proteicas principais. A caseína representa 80 % das proteínas do leite, sendo que os 20 % restantes se encontram no soro (DIAS, 2004).

As caseínas são compostas pelas seguintes frações: α 1, α 2, β e κ e as suas percentagens no leite variam de acordo com a espécie, já que é uma característica genética devida aos diferentes níveis de fosforilação, substituições de aminoácidos, diferenças de glicosilação, alteração da carga elétrica, peso molecular e hidrofobicidade das proteínas (HAENLEIN, 2004; BERGER, 2005). A concentração das α 1 e α 2-caseínas no leite de ovelha é maior que no leite de cabra, mas menor do que no leite da vaca. A β caseína representa cerca de 50 % do total de caseínas desse leite, contra 2/3 do total no leite de cabra e 1/3 no leite de vaca. Estas diferenças nas quantidades de caseína presentes no leite de ovelha explicam diferenças na estrutura da micela, que determinam variações na sua estabilidade e coagulação, e a ocorrência de menor sabor amargo nos queijos obtidos com esse leite, comparado ao leite de cabra (BERGER, 2005).

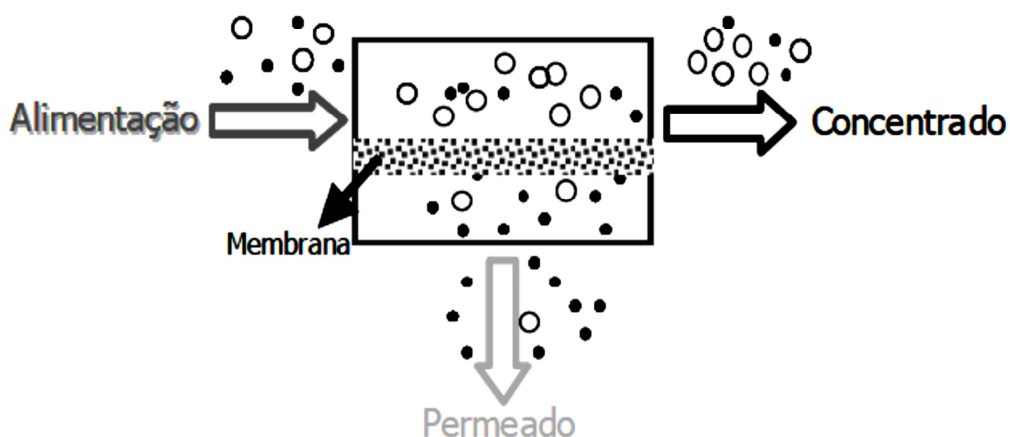
3.6 Processos de separação com membranas

Os processos de separação com membranas surgiram na década de 1970, para complementar os processos clássicos de separação como destilação, filtração, absorção, troca iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização entre outros. Esta nova classe de processos passou a utilizar membranas sintéticas como barreira seletiva. As membranas sintéticas surgiram como uma tentativa de se imitar as membranas naturais, em particular quanto às suas características únicas de seletividade e permeabilidade. De uma maneira geral, uma membrana é uma barreira que separa duas fases e que restringe total ou parcialmente o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nas fases (HABERT et al., 2006).

Os processos de separação por membranas (PSM) amplificam a definição de filtração convencional para separações onde os solutos estão dissolvidos na corrente líquida ou gasosa. Estes processos apresentam operações destinadas à separação, concentração ou purificação de substâncias. Os principais PSM compreendem Microfiltração (MF), Ultrafiltração (UF), Nanofiltração (NF), Osmose Inversa (OI), Diálise, Eletrodiálise, Pervaporação e separação de gases (HO e SARKAR, 1992; HUISMAN e HERNÁNDEZ, 2000; DEKKER et al, 2003). Neste tipo de processo de separação são geradas duas correntes, uma denominada “concentrado”, mais

rica na espécie e menos permeável, e outra, chamada “permeado”, mais diluída em relação a esta mesma espécie, como ilustrado na Figura 2.

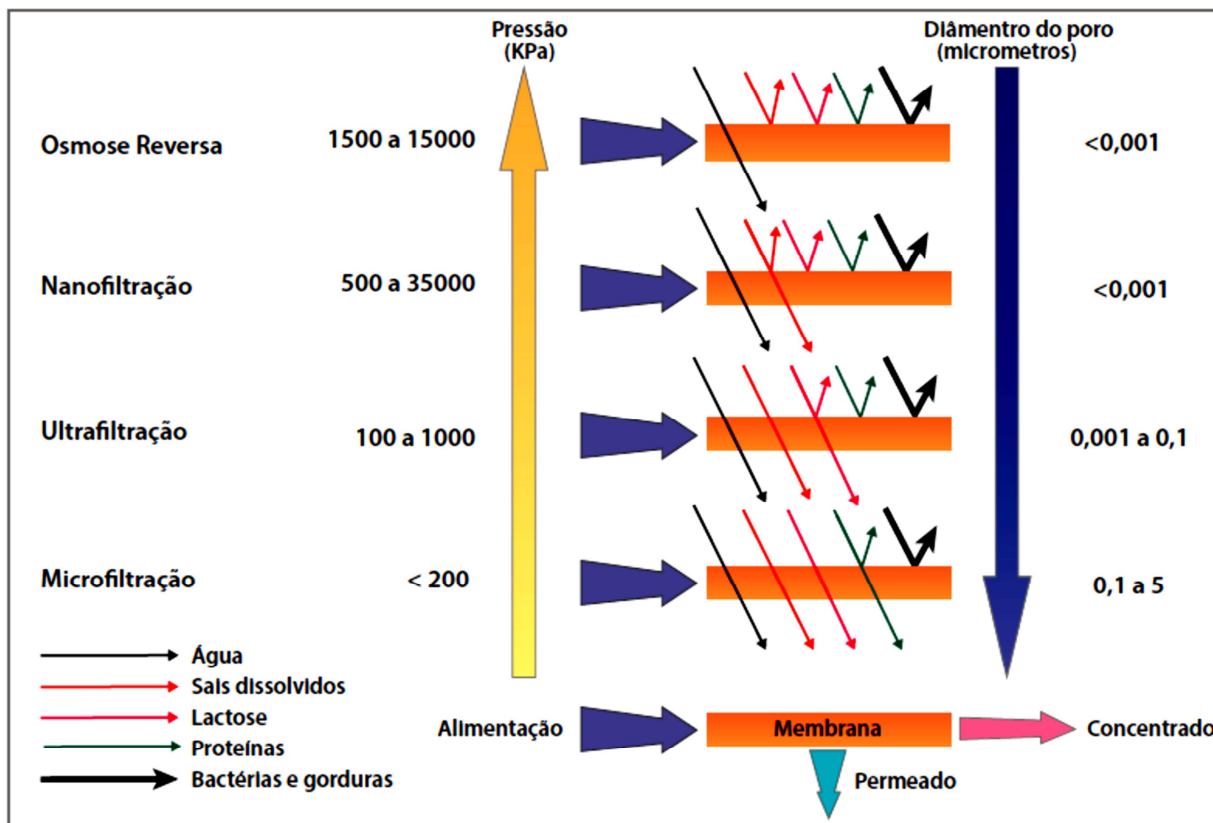
Figura 2 - Representação esquemática de um sistema de membranas.



Fonte: DEKKER et al. (2003).

Estes processos (PSM) que utilizam gradiente de pressão como força motriz são classificados de acordo com o tamanho das partículas ou moléculas a serem separadas. Quanto menor o tamanho destas espécies, menor deve ser o tamanho de poro da membrana e, conseqüentemente, maior deve ser a diferença de pressão aplicada (BORGES et al., 1997). A Figura 3 apresenta as diferenças entre os processos de separação com membranas (GIRARD; FUKUMOTO, 2000).

Figura 3 – Principais características dos processos que utilizam diferença de pressão como força motriz.



Fonte: MIERZWA et al., 2008.

Os processos de separação por membranas se baseiam no princípio de que uma mistura pode ser fracionada parcialmente através da passagem por uma estrutura porosa (SCHNEIDER e TISUTIYA, 2001), permitindo que um ou mais solutos passem mais facilmente do que outros, sendo a pressão a força de condução (LI et al., 2009), ou seja, permitem o fracionamento de solutos dissolvidos em correntes líquidas e a separação de misturas gasosas, que se dá pelo grau de afinidade de certos componentes com a membrana. Os elementos com maior afinidade permeiam e passam com o nome de permeado. Já a corrente que não permeia a membrana é conhecida como retido, não permeado ou concentrado.

Nos processos de separação por membranas podem ser utilizados dois tipos de configurações hidrodinâmicas que são: o método de filtração convencional, denominado “*dead-end*”, e a filtração tangencial “*crossflow*”. (HABERT et al., 2006).

Na filtração convencional uma solução ou suspensão é pressionada contra a membrana. O solvente passa pela membrana e soluto ou materiais em suspensão são retidos, acumulando-se próximo a superfície da membrana, no fenômeno chamado de polarização de concentração. Trata-se de um modo de operação fundamentalmente transiente, uma vez que a polarização aumenta sempre. No caso particular da microfiltração, de maneira análoga ao que ocorre na filtração clássica, essa polarização se traduz na formação de uma torta (PORTER, 1990).

Na filtração tangencial, a solução de alimentação escoar em paralelo à superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado tangencialmente a esta. A polarização de concentração continua presente, mas é possível minimizar seu efeito, em particular alterando a velocidade de escoamento da corrente de alimentação (aumento do número de Reynolds). Neste caso é possível operar o sistema nas condições de regime estabelecido de transferência de massa (RIPPERGER e ALTMANN, 2002).

Os sistemas com membranas podem ser operados de modo contínuo, semicontínuo ou descontínuo. As operações em modo descontínuo fornecem informações rápidas, mas o regime de transferência de massa é transiente. Normalmente são usadas em laboratórios, para processar pequenas quantidades. Aplica-se um diferencial de pressão entre os lados da membrana, forçando a solução a passar pela membrana (PESSOA JR. e VAHANKILIKIAN, 2005).

A transferência do soluto através da membrana depende da estrutura física da membrana, que geralmente é um polímero sintético ou um material cerâmico poroso (DEKKER et al., 2003).

Os processos de separação por membranas podem ser caracterizados em função de dois parâmetros: a) o fluxo permeado, que representa a vazão (volumétrica, mássica ou molar) de permeado por unidade de área da membrana; b) a capacidade seletiva da membrana, a qual, dependendo do tipo de processo em questão, pode ser definida de diferentes formas (PETRUS, 1997).

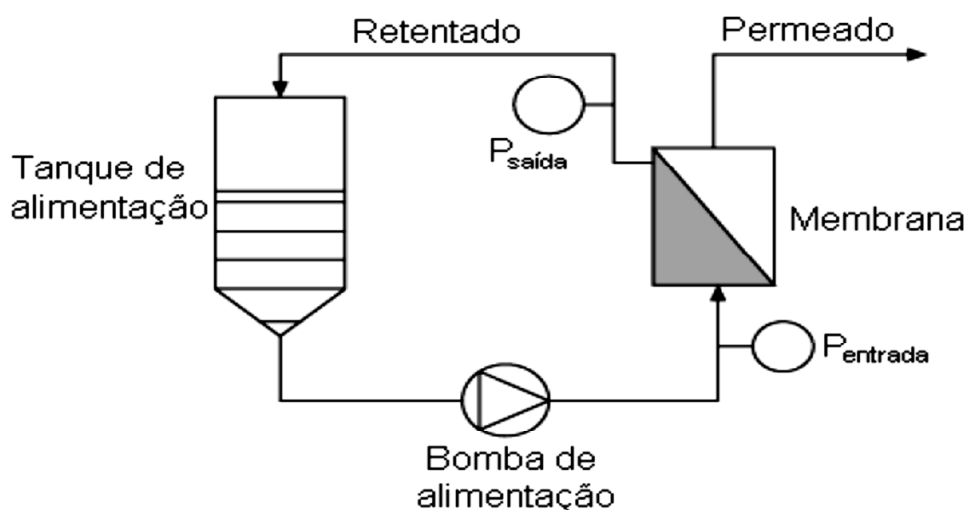
Os PSM apresentam diversas vantagens em relação aos processos de separação convencionais. Estes processos apresentam baixo custo energético e podem ser empregados na separação de substâncias termolábeis, como na concentração de sucos, concentração de leite, onde o uso de processos térmicos pode alterar as características organolépticas do produto final. Além das vantagens já mencionadas estes processos apresentam simplicidade de operação, os equipamentos compactos, facilidade de acoplá-los com outros processos, e facilidade no aumento de escala de produção. As principais desvantagens destes processos são relacionadas à redução

do fluxo de permeado que as membranas podem sofrer com o tempo (devido às incrustações) e as limitações de temperatura e resistência química que reduzem sua vida útil (HABERT et al., 2005).

Para a concentração de leite o processo mais utilizado é a Ultrafiltração que é empregado quando se deseja purificar e fracionar soluções contendo macromoléculas. As membranas de UF apresentam poros na faixa entre 1 a 100 nm. Soluções contendo solutos numa ampla faixa de massa molar ($10^3 - 10^6$ Da) podem ser tratadas por este processo. As membranas orgânicas de UF são geralmente fabricadas com polímeros (polietersulfona, polisulfona, acetato de celulose, etc), enquanto que membranas inorgânicas são feitas de óxido de titânio, óxido de zircônio, alumínio, óxido, etc (VELA et al., 2008). A força motriz utilizada é a pressão hidrostática em que um líquido flui contra uma membrana semipermeável. Os sólidos suspensos e solutos de alta massa molar são retidos, enquanto a água de baixa massa molar passa através da membrana (SU et al., 2009).

A Figura 4 mostra um esquema de um sistema de ultrafiltração. O sistema é constituído de uma bomba para impulsionar a alimentação do sistema, um tanque de alimentação, módulo de membranas e um sistema de controle de pressão de entrada e saída e termômetro.

Figura 4 – Diagrama esquemático do sistema de Ultrafiltração em batelada



Fonte: Adpatado GIRARD e FUKUMOTO (2000).

O processamento de fluidos lácteos através de membranas pode reduzir as despesas operacionais provenientes do consumo de energia, melhorar a capacidade da planta de processamento e eficiência e, aumentar qualidade do produto (SARGOLZAEI, 2008).

A viscosidade do concentrado determinará o grau de concentração, sendo que existe um limite de concentração. Este limite está diretamente relacionado ao um volume mínimo de retido, necessário para a alimentação do sistema, sendo este definido pelo tipo de sistema utilizado e das condições de processamento utilizadas (HUFFMAN, 1999).

A tecnologia de membranas permite agregar valor ao leite, por meio da produção de ingredientes proteicos para usos específicos na indústria de alimentos. As principais aplicações da UF são a clarificação, concentração e fracionamento de solutos. A separação é eficiente quando existe uma diferença de pelo menos 10 vezes no tamanho das espécies envolvidas. A UF é largamente utilizada na indústria de alimentos, bebidas e laticínios, assim como em aplicações na biotecnologia e na área médica. Outra aplicação importante da UF na indústria de leite é a padronização de proteína, e as concentrações especialmente de caseína, que é necessária na fabricação de queijo industrial com a produção automatizada. Para este efeito, uma fração da fonte de leite é concentrada e misturada com o resto do leite para ajustar a concentração de proteína para o nível desejado, que se situa entre 36 e 45 g/L. Uma maior concentração de proteína facilita a moldagem e requer a adição de menos coalho (AKOUM et al., 2005).

Na indústria de laticínios, as aplicações mais comuns dos sistemas de UF são a concentração do leite antes da fabricação de derivados lácteos, concentração de soro até 20 % de sólidos ou para a remoção seletiva da lactose e sais. Na fabricação de queijo, a UF apresenta vantagens como o aumento do rendimento e do valor nutritivo dos queijos; possibilita a padronização do teor de sólidos; reduz o consumo de renina tornando o processamento mais fácil.

O uso de Ultrafiltração na fabricação de queijos macios promove um aumento no rendimento da produção através da incorporação das proteínas do soro do retido, na ordem de 16 a 19 %. Para os queijos ultrafiltrados, as proteínas do soro correspondem aproximadamente a 18 % do total de proteínas, enquanto que nos tradicionais correspondem a apenas 1 %. Este fator promove um aumento do valor nutricional em consequência da nova proporção caseína/proteína do soro que passa a ser de 4:1. Ao se incorporar essas proteínas no queijo, ocorre não apenas o aumento significativo do rendimento do processo, como também a melhoria nutricional do

produto, além de minimizar o problema de controle ambiental, associado ao eventual descarte do soro de queijo produzido pelo processo tradicional (ANTONIOU, 1995).

Em 2010 ESPINA et al., testaram a eficiência do processos de separação com membranas para a separação das proteínas do leite pasteurizado desnatado usando filtração dinâmica com membranas cerâmicas e obtiveram resultados positivos para o uso destas membranas para separar as micelas de caseína por MF de leite pasteurizado. A membrana testada de 50 kDa reteve cerca de 90 % da caseína. CASSINI et al., (2009) ao compararem membranas de 5, 20 e 50 kDa na Ultrafiltração de efluentes provenientes da produção de proteína isolada de soja concluíram que a membrana de 5 kDa apresentou os melhores resultados pois a mesma apresentou menor redução do fluxo de permeado ao longo do tempo (indicando uma menor ocorrência de compactação, fenômenos de polarização por concentração e *fouling*). Com relação às percentagens de retenção a membrana de 5 kDa apresentou o maior grau de retenção (34 % de demanda química do oxigênio, 52 % de proteína, 21 % de ST e 86 % de STS) obtendo assim melhor qualidade final das águas residuais, demonstrando que o uso de membranas de UF no pré- tratamento de águas residuais de proteínas isoladas da soja é muito promissor para a redução da carga orgânica e recuperação de proteínas.

BALDASSO et al., (2011) avaliou a eficiência de duas membranas, uma plana e outra espiral, em processo de microfiltração para obtenção duas frações, uma rica em β -lactoglobulina (-Lg) e outra rica em α -lactalbumina (-L α) de um concentrado proteico de soro do leite. Com a membrana plana os autores obtiveram um retido com 78 % das proteínas em solução, sendo que esta membrana mostrou-se permeável a ambas as proteínas, β -Lg e α -L α . Já com a membrana espiral obtiveram 65 %, e houve retenção parcial de lactose. BALDOSSO et al., (2011) também testaram a concentração e purificação de proteínas do soro usando UF em associação com o diafiltração (DF). Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a UF é o processo mais adequado para a produção de concentrados proteicos. A DF mostrou-se eficaz quando realizada com pequenos volumes concentrados por diversas vezes. O processo de DF mostrou-se eficiente para a remoção de sais, pois todo o sal foi removido do concentrado na UF.

Outras aplicações incluem a concentração de extrato de tomate e de sacarose; tratamento de efluentes nas destilarias e cervejarias; separação e concentração de enzimas, outras proteínas ou pectina; remoção de precipitados proteicos de mel e xaropes; tratamento de água de processamento para remoção de bactérias e contaminantes e pré-tratamento de membranas de OI

para evitar a saturação oriunda de materiais orgânicos e coloides em suspensão (BALDASSO, 2008).

3.6.1 Parâmetros relevantes aos processos de PSM

Nos processos de separação por membranas a produtividade pode ser avaliada através da quantidade de permeado que passa pela membrana em um determinado período de tempo, já a eficiência está diretamente relacionada com o grau de retenção de determinado composto (HOWWELL, 1990).

O fluxo permeado (J) representa o volume ou a massa da espécie que permeia a membrana, por unidade de tempo e por unidade de área, sendo determinado por meio do volume de permeado (L) em relação à área de permeação (m²) e o tempo (h), sendo este uma variável crítica na determinação da eficiência do processo de Ultrafiltração (VEIGA & VIOTTO, 2001). O Fluxo volumétrico pode ser calculado através da Equação 1.

$$J_p = \frac{V_p}{A \times t} \quad (1)$$

Onde J_p é o fluxo de permeado (L.m².h⁻¹), V_p é o volume de permeado (L), A é área permeável do módulo da membrana (m²) e t o tempo (h).

Os fluxos de permeados nos processos de UF, geralmente apresentam-se na faixa de 150 a 250 (L/h.m²). Fluxos permeados bem menores podem ser obtidos em função da camada de polarização por concentração e da incrustação, em função da natureza da solução a ser tratada e das condições operacionais do sistema. Durante a UF, com a retirada do permeado através da membrana, ocorre à formação de uma camada secundaria dos componentes retidos sobre a superfície da membrana.

A redução do fluxo de permeado ao longo do processo de UF pode ocorrer devido a dois fatores: o *fouling* e a polarização por concentração. A polarização por concentração ocorre devido ao acúmulo de soluto retido próximo a superfície da membrana. Esta camada provoca uma resistência adicional no transporte do soluto através da membrana, ocasionando uma redução no fluxo de permeado. O *fouling* ocorre devido ao acúmulo de sólidos na superfície e/ou na matriz da membrana, causando a redução do fluxo de permeado e permeabilidade da membrana. Este

fenômeno pode ocorrer devido a diversos processos como: adsorção de partículas na superfície da membrana, bloqueio de poros, formação de camada em gel e formação de torta. Proteínas e gorduras são os principais componentes que causam o *fouling* nas indústrias de laticínios. Alguns fatores são relevantes para a redução do *fouling* como a escolha adequada da membrana, do módulo, bem como as condições de operação do sistema, além da realização de limpezas periódicas do sistema (PESSOA JR. e VAHANKILIKIAN, 2005)

Os principais fenômenos que podem contribuir para as incrustações estão apresentados a seguir:

- **Adsorção na membrana das espécies presentes:** As interações físico-químicas entre o material da membrana e os compostos presentes na corrente a ser processada podem provocar a adsorção dessas espécies, tanto na superfície das membranas quanto no interior de seus poros;
- **Entupimento de poros por moléculas ou partículas em suspensão:** Este fenômeno é caracterizado pela ação mecânica do bloqueio de poros, podendo ocorrer tanto na superfície da membrana bem como em seu interior, dependendo da sua morfologia. Em membranas assimétricas esse fenômeno é superficial, uma vez que as menores dimensões de poros estão na superfície, já nas membranas simétricas é possível que o bloqueio ocorra no interior da membrana.
- **Depósito na superfície da membrana de espécies presente:** Ocorre devido à presença de material em suspensão, formando uma torta na superfície da membrana. No caso de soluções de macromoléculas pode-se atingir na interface membrana/solução, uma concentração suficientemente elevada, de modo a ocorrer geleificação da solução nessa região ou mesmo precipitação dessas macromoléculas. Solutos de baixo peso molecular, como sais, também podem atingir o limite de solubilidade e precipitar na superfície da membrana.

Além dos fenômenos de incrustações, outros fenômenos podem influenciar no fluxo de permeado, como a resistências da membrana. Segundo LAUTENSCHLAGER (2013), existem cinco mecanismos que influenciam na resistência total das membranas: resistência da própria membrana (R_m); resistência da camada de gel (R_g); resistência da zona de polarização (R_p) e resistência devida à colmatção. O somatório destas resistências indicará a resistência total (R_t).

Tendo em vista que as membranas de UF apresentam uma distribuição de tamanho de poros elas podem reter de maneira distinta, solutos de pesos moleculares diferentes.

A capacidade seletiva da membrana, em relação a uma dada espécie, é medida pelo Coeficiente de Rejeição (R), definido pela relação entre concentração da espécie no permeado e a sua concentração na alimentação, que pode ser aplicada para UF Equação 2. Assim, quando a concentração da espécie em questão, no permeado, é igual à concentração na alimentação, $R=0$, ou seja, a membrana não apresenta nenhuma capacidade seletiva para esta espécie. Por outro lado, $R=1$ significa que a espécie em questão não está presente no permeado, ou seja, a membrana foi capaz de rejeitá-la completamente.

O coeficiente de Retenção R_j , de uma membrana para um dado soluto é definido pela Equação 2 (HABERT et al. 1997).

$$R_j = 1 - \frac{C_p}{C_0} \quad (2)$$

Onde C_p e C_0 , representam a concentração do soluto no permeado e na alimentação, respectivamente.

Neste sentido, torna-se interessante o estudo da resistência da membrana e do depósito. A Equação 3 indica fatores que influenciam a taxa de filtração. Através da combinação das equações torna-se possível obter a resistência da membrana.

$$J = A\Delta P \cdot \frac{1}{(R_m + R_d)\mu} \quad (3)$$

Onde, J é o fluxo permeado (L/m^2h), A é área da membrana (m^2), ΔP é diferença de pressão através da membrana (Pa), μ é viscosidade cinemática do permeado (m^2/s), R_m é resistência da membrana e R_d é resistência da camada de sólidos na membrana (camada de gel), devido à polarização de concentração e depósito.

A Equação binária da UF (Equação 4) consiste em uma modificação da Equação 1 usada por SVAROVSKY (1981), onde na constante da Equação é incluída as resistências, R_m e R_d .

$$J' = \frac{A\Delta P}{\mu(R_m + R_d)} \quad (4)$$

A vazão de permeado acumulado, ao operar com diferença de pressão constante, torna-se uma função do tempo, devido ao escoamento do mesmo acontecer através de duas resistências em série. Uma das resistências é a da membrana (R_m) e a outra é a resistência do depósito sobre a membrana (R_d), ou seja, da polarização, a qual varia com o tempo de UF, conforme descrita na Equação 5.

$$R_d = \alpha W \quad (5)$$

Onde, W é massa de depósito por unidade de área (kg/m^2) e α é a resistência específica do depósito (m/kg).

Substituindo a Equação 5 na Equação 4, tem-se:

$$J' = \frac{A \Delta P}{\mu(R_m + \alpha W)} \quad (6)$$

A massa de torta depositada por unidade de área é função do tempo em processos de UF em batelada, podendo ser relacionada com o volume acumulativo de permeado (v) como indicado na Equação 7.

$$WA = C_s V \quad (7)$$

Onde, C_s é concentração de sólidos na suspensão (Kg/m^3).

Substituindo -se a Equação 7 na Equação 6, tem-se:

$$J' = \frac{A \Delta P}{a \mu C_s (V / A) + \mu R_m} \quad (8)$$

A vazão de permeado é expressa por:

$$J' = \frac{dV}{dt} \quad (9)$$

Substituindo a Equação 9 na Equação 8 e escrevendo-a na forma inversa, tem-se:

$$\frac{dt}{dV} = \frac{\alpha C_{s1} V}{A^2 \Delta P} + \frac{R_m \mu}{A \Delta p} \quad (10)$$

Definindo os parâmetros a_1 e b_1 :

$$a_1 = \alpha \mu C_s \quad (11)$$

$$b_1 = \mu R_m \quad (12)$$

Tem-se:

$$t = \frac{a_1 V^2}{2 A^2 \Delta P} + \frac{b_1 V}{A \Delta p} \quad (13)$$

Com esta Equação “t” ou “V” podem ser calculados se uma das variáveis for conhecida. Logo a Equação 13 pode ser escrita:

$$\frac{t}{V} = aV + b \quad (14)$$

Onde:

$$a = \frac{a_1}{2 A^2 \Delta P} \quad (15)$$

$$b = \frac{b_1}{A \Delta P} \quad (16)$$

A Equação 14 consiste na Equação de uma linha reta, sendo t/V , cujo coeficiente angular é “a” e o coeficiente linear é “b”.

A seletividade é outra variável importante para fracionamento de leite através dos processos de separação com membrana. Vários fatores são importantes na obtenção de uma boa combinação de retenção e transmissão de componentes na alimentação. O primeiro fator é a uniformidade no tamanho dos poros da membrana. Devido ao tamanho dos poros, componentes maiores serão retidos enquanto que os componentes menores como, por exemplo, a lactose atravessará a membrana através dos poros. Em segundo lugar, é importante que as condições do processo sejam semelhantes ao longo da área da membrana inteira. Em terceiro lugar, as incrustações afetam a seletividade e reduzem a eficiência do processo (BRANS et al., 2004).

Os efeitos do poro da membrana, a distribuição e suas propriedades químicas determinam o fluxo e a seletividade da membrana escolhida. (MENG et al., 2009).

3.7 Considerações Finais

Conforme demonstrado na literatura verifica-se que ainda são poucos os estudos relacionados à aplicação do sistema de UF em leite de ovelha, bem como a aplicação dos concentrados em produtos alimentícios e o emprego de coagulantes vegetais em queijo.

O uso de coagulantes vegetais na elaboração de queijos favorece a obtenção de produtos com características físico-químicas e sensoriais diferenciadas, devido a sua maior capacidade proteolítica. A utilização deste tipo de coagulante na elaboração de queijos de leite de ovelha concentrado pode significar um fator de diferenciação e diversificação agregando maior valor a estes produtos.

Além das características organolépticas peculiares, muito apreciadas pelo consumidor, os queijos elaborados com coagulantes vegetais apresentam a vantagem de serem elaborados com proteinases vegetais obtidas de forma natural, podendo ser destinados ao mercado de produtos vegetarianos.

Os concentrados proteicos de leite são considerados ingredientes funcionais apresentando excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais. Estas propriedades derivam da composição em aminoácidos que atendem à maioria das exigências fisiológicas do ser humano.

A tecnologia de membranas é uma excelente ferramenta para o fracionamento das proteínas de leite e soro de leite. O uso desta tecnologia nos laticínios vem permitindo a criação de novos produtos de alto valor agregado

Desta forma este estudo contribuirá no conhecimento dos aspectos tecnológicos e nutricionais do queijo tipo amanteigado elaborado com leite de ovelha e coagulante vegetal (flor do cardo), e o comportamento das membranas e das características dos concentrados obtidos por UF em escala laboratorial e piloto. O conhecimento dos aspectos tecnológicos de elaboração deste novo produto a base de leite de ovelha e a aplicação da tecnologia de membranas tornam-se alternativas de aumento no rendimento dos queijos e consequentemente da redução de constituintes no soro, proporcionando assim menor carga poluente, além disso, proporciona-se agregação de valor aos produtos elaborados com esta matéria prima.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Neste item serão apresentadas as metodologias referentes ao preparo da matéria prima, ao processo de Ultrafiltração em escala laboratorial e piloto, caracterização dos concentrados proteicos e permeados de UF obtidos na escala piloto, elaboração das formulações de queijo amanteigado obtidos dos concentrados de UF da escala piloto e a caracterização físico-química, microbiológica e sensorial dos queijos.

4.1 Coleta e preparo da matéria prima

O leite de ovelha (raça Lacaune) pasteurizado foi adquirido em uma cabanha no município de Chapecó - SC, onde foi resfriado a 4 °C e transportado sob refrigeração até Usina Piloto de leite e derivados, localizada na URI- Erechim, município de Erechim – RS e até o SENAI – Chapecó – SC, onde foram realizados os ensaios de UF do leite em escala laboratorial e escala piloto, respectivamente. Para a realização dos testes em escala laboratorial e escala piloto o leite de ovelha foi padronizado com 0,5 % de gordura, utilizando centrífuga (Suck Milk).

4.2 Sistemas de UF

4.2.1 Descrição do processo de UF em escala laboratorial

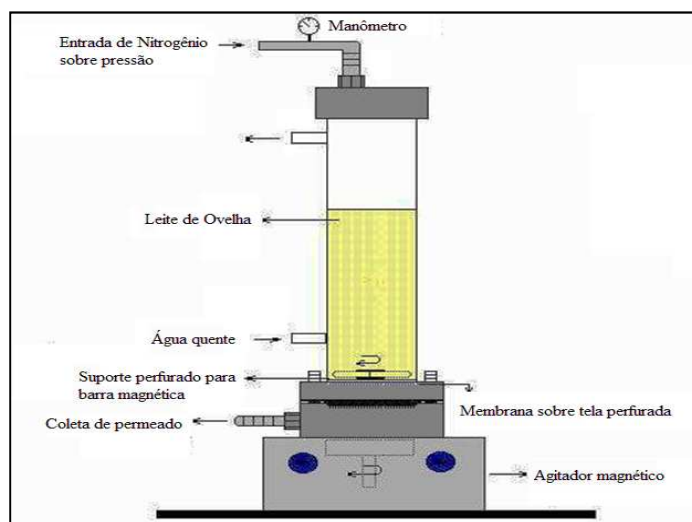
As Figuras 5 e 6 mostram o sistema de Ultrafiltração e a Figura 6 o esquema do módulo de Ultrafiltração utilizado nos experimentos em escala laboratorial, respectivamente. O sistema era composto por: (a) Banho ultratermostato (Servilab, SE- 100AG) utilizado para manter a temperatura constante do sistema, através do encamisamento do módulo da membrana, nas temperaturas definidas experimentalmente; (b) Cilindro de nitrogênio (N₂ analítico 5.0- White Martins) de 25 Kg com a função de pressurizar o sistema; (c) Agitador magnético (ARE Heating Magnetic Stirrer- Velp científica) para manter o sistema sob agitação; (d) Módulo de separação com membrana - Ultrafiltração, o sistema em batelada com volume de 200 mL, de aço, dividido em 3 sessões, a inferior era composta pela base e com um suporte perfurado para a membrana, na qual, era acoplado à parte central por 2 anéis de vedação e 4 parafusos para promover vedação

necessária ao sistema, onde foi fechado com a parte superior que possuía mais um anel de vedação com uma conexão para fazer a alimentação do sistema com o gás nitrogênio.

Figura 5 – Sistema de Ultrafiltração em escala laboratorial a) banho ultratermostato, b) cilindro de nitrogênio, c) módulo com membrana e d) agitador magnético.



Figura 6 – Esquema do módulo com membrana plana detalhada.



Fonte: adaptado PETRUS, 1998.

As pressões utilizadas no presente trabalho foram inicialmente baseados em estudos realizados por STEFFENS et al., (2003) que empregaram pressão de 5 bar na Ultrafiltração do leite bovino. RINALDONI et al., (2009) indicam que para ultrafiltração de leite desnatado, as temperaturas adequadas para o processamento devem estar compreendido entre 20 e 40 °C, pois entre este intervalo de temperatura em um período curto de tempo (30 minutos) as chances de proliferação de microorganismos são pequenas. Para definição das melhores condições operacionais utilizaram-se temperaturas de 25, 30 e 35 °C e pressões de 1, 2 e 3 bar.

Inicialmente, os ensaios foram realizados com água destilada para verificar o fluxo de permeado e o comportamento das membranas e na sequência com o leite de ovelha desnatado.

A membrana polimérica de polissulfona amida (Ultrafilic) de 100 kDa utilizada foi adquirida da GE- Osmonics (Sepa MW). As membranas foram cortadas em discos planos com diâmetro de 9,62 cm². O condicionamento foi realizado por imersão das membranas em etanol (Vetec 99,8 %) por 12 h e posteriormente por 2 h em água mili-Q.

Após a montagem e ajuste do sistema de ultrafiltração alimentou-se a unidade com o volume inicial de 200 mL de amostra, com agitação (agitador magnético) para evitar incrustações na superfície da membrana. Com o módulo montado, conectava-se no mesmo as mangueiras do banho ultratermostato, uma de entrada e outra de saída para manter a temperatura desejada no sistema e também o gás nitrogênio na parte superior, controlando por um manômetro a pressão requerida no experimento.

A partir do momento que obtinha-se permeado, mantinha-se a estabilização do fluxo por 10 min. Posteriormente, coletavam-se amostras de permeado de água a cada 2 min e do leite a cada 10 min e media-se o volume de permeado. Para cada ensaio de diferentes pressões e temperaturas, o sistema de UF era higienizada com água a 45 °C e detergente neutro, seguido de sucessivas lavagens com água destilada e etanol (70 %) e empregava-se uma nova membrana. Ressalta-se, que as membranas não foram reutilizadas devido a grande incrustação do leite de ovelha, sendo inviável a utilização de solventes e métodos de lavagem. Porém, as mesmas após os experimentos eram dessecadas em estufa a 105 °C (Quimis) até peso constante, para quantificação do extrato seco segundo ROBINSON (1994), para determinar a resistência do depósito da membrana (*fouling*).

4.3 Estudo da tendência ao *fouling*

Os processos de separação por membranas com escoamento perpendicular (dead-end) apresentam a tendência em acumular sólidos na superfície da membrana (formação de torta). Este tipo de configuração permite o uso de elevadas áreas de filtração usando pequenos volumes, porém é limitado com relação ao teor e tamanhos dos sólidos da alimentação.

Com o intuito de verificar a tendência de formação de *fouling* nos processos de UF com leite de ovelha em sistema dead-end e no sistema tangencial (cross flow), realizou-se testes de filtração em um sistema de bancada em membrana de 100 kDa (de polietersulfona marca GE) e em escala piloto com membrana de 10 kDa .

A tendência ao *fouling* foi calculada segundo Equação 17 descrita por WU et al 2007)

$$Fouling(\%) = \left(1 - \frac{W_{pd}}{W_{pa}}\right) \quad (17)$$

Onde W_{pa} é a permeabilidade hidráulica antes da UF ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$), e W_{pd} é a permeabilidade hidráulica depois da UF ($L.m^{-2}.h^{-1}.bar^{-1}$). Os valores de W_{pa} e W_{pd} foram obtidos da inclinação das curvas relativas à diferença de pressão aplicada e o fluxo de permeado destilado da água antes e após da Ultrafiltração do leite ovino.

4.3.1 Descrição do processo de UF em escala Piloto

O processo de UF em escala piloto foi realizado em um sistema em batelada contínua como pode ser observado na Figura 7.

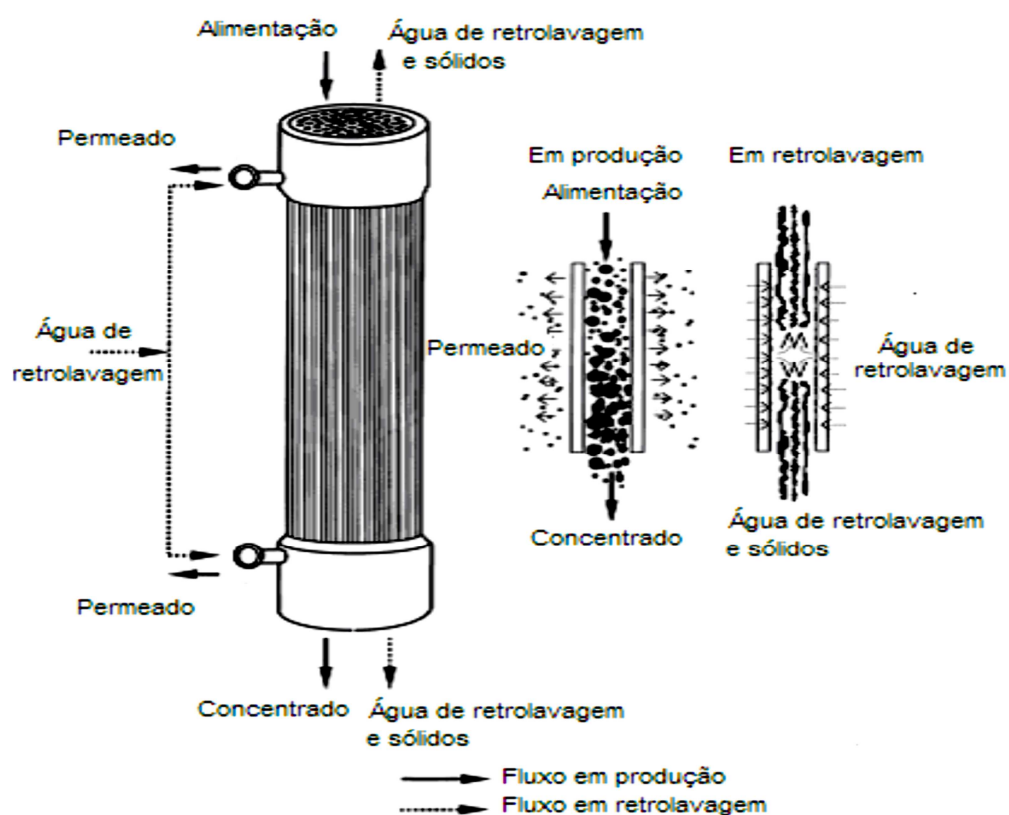
Figura 7 – Unidade de UF em escala piloto processo em batelada e escoamento tangencial



O processo de UF em escala piloto, (Figura 7), era constituída de um módulo de fibra oca (A) contendo uma de membrana de polissulfona (GE) amida, de massa molar de corte de 10 kDa e área filtrante de 4,4 m². Tanque de concentrado (B) com capacidade de 50 L (volume de trabalho de 30 L), um tanque de aquecimento (C), válvula de coleta de concentrado (D) e uma bomba de alimentação com vazão 1,7 a 5,2 m³/h, pressão de 0,5 a 3 bar e potência de 3,0 KW (E). Inicialmente, foram realizados testes preliminares, com água destilada a 20 °C ± 5, avaliando-se os fluxos de permeados nas pressões de 1 e 2 bar (ressalta-se que o sistema não suportava pressões maiores). Posteriormente, foram realizados ensaios com leite. Antes e após cada etapa de UF, o sistema foi higienizado de acordo com as instruções do fabricante. Em ambos os ensaios, foram medidos volumetricamente os permeados de água a cada minuto até passagem de todo o volume de água, e os permeados de leite foram medidos a cada minuto até 25 minutos (sendo que neste tempo praticamente não havia mais passagem de permeado). Na Figura 10, é mostrado um esquema do processo de UF em fluxo cruzado e em contra fluxo a retrolavagem da membrana de 10 kDa fibra oca.

Ao final de cada experimento, realizou-se um procedimento de limpeza para recuperação do fluxo inicial ($76,20 \text{ l/m}^2\cdot\text{h}$), e para evitar a contaminação da membrana, como pode ser observada na Figura 8.

Figura 8 – Representação esquemática do processo de Ultrafiltração em fluxo cruzado e do contra fluxo da retrolavagem da membrana em escala piloto



Fonte: INNOVATIVE GAS SYSTEMS (2013).

Para a limpeza do sistema de membranas, foi recirculada a água destilada (30°C) para remoção do residual de concentrado proteico, até o momento em que o permeado se apresentou visivelmente limpo. Na etapa seguinte, realizou-se a lavagem com uma solução de hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol/L}$ por um período de 1h a 30°C . Após a lavagem alcalina, o sistema foi recirculado com solução de ácido fosfórico (indicado pelo fabricante) $0,1 \text{ N}$ por 1 h. Para finalização da etapa de higienização utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol/L}$ que foi recirculada no

sistema por 20 min, em seguida se adicionou 3 L de etanol qual permaneceu no sistema até o próximo experimento.

4.5 Elaboração de formulações de queijo Tipo Amanteigado

O processamento dos queijos foi realizado na usina piloto de leite e derivados do Senai de Chapecó (SC). O leite de ovelha utilizado na elaboração dos queijos foi pasteurizado na Cabanha Chapecó, a 73 °C por 15 s e padronizado com 0,5 % de gordura. Foi transportado até a instituição em tarros plásticos, e ao chegar à instituição foi imediatamente armazenado em tanque de resfriamento de aço inoxidável de parede dupla com sistema de refrigeração (Equilati) à temperatura de 4 °C, para em seguida ser concentrado no sistema piloto e utilizado na fabricação dos queijos.

Para elaborar as formulações de queijo tipo amanteigado empregaram-se diferentes matérias primas (leite integral pasteurizado e leite concentrados) e coagulantes (enzimático e/ou vegetal: Flor do cardo), conforme descrito a seguir.

Tratamento 01 - Controle: Queijo tipo amanteigado com leite integral pasteurizado e coagulante enzimático (quimiosina)

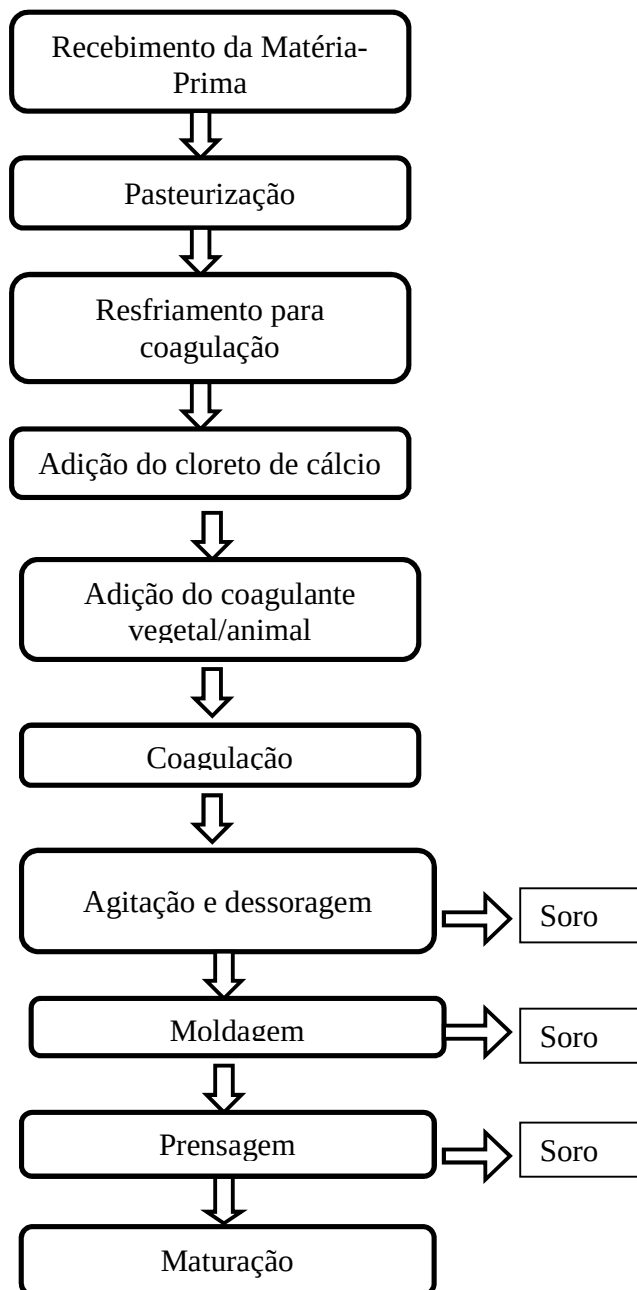
Tratamento 02: Queijo tipo amanteigado com leite integral pasteurizado e coagulante vegetal - flor do cardo (cardosina);

Tratamento 03: Queijo amanteigado com leite concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina)

Tratamento 04: Queijo amanteigado com leite concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal - flor do cardo (cardosina);

Os queijos amanteigados foram fabricados pelo método tradicional (ALMEIDA et al, 2010) modificado, conforme fluxograma apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Fluxograma de elaboração do queijo amanteigado



Na elaboração das formulações, utilizou-se tanque de inoxidável (Equilati) com capacidade para 50 L de leite, onde se colocou 30 L de leite, sendo que o mesmo foi aquecido a 32 °C através da injeção de vapor na camisa do tanque. Em seguida, adicionou-se 12 mL de

solução de cloreto de cálcio (40 %) (Chr Hansen), 50 ml de cultura láctea mesofílica (*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* e *L. lactis* ssp. *Lactis*) para queijos, 27 mL de coagulante enzimático quimosina (Chymax, Chr Hansen) e/ou coagulante vegetal (flor do cardo). As amostras de flor do cardo utilizadas para a obtenção dos extratos coagulantes utilizadas para a elaboração dos queijos foram obtidas de uma plantação localizada na região da Serra em Portugal. As flores foram secas a sombra para posterior obtenção do extrato coagulante. Para a preparação do coagulante vegetal, empregou-se 3,5 g de flor do cardo e 25 g de sal, os quais foram macerados e esta fração foi utilizada na proporção de 1 L de leite padronizado e/ou concentrado.

A temperatura de coagulação foi de 32 °C e (o tempo de coagulação foi de 30 minutos para queijos elaborados com leite integral com coagulante enzimático e 50 minutos para os queijos elaborados com leite concentrado adicionados de coagulante vegetal - flor do cardo) o corte do gel foi efetuado com as liras (vertical e horizontal), em cubos de aproximadamente 0,5 cm de aresta. Iniciou-se a agitação, 5 min após o corte e foi do tipo lenta. Ao atingir o ponto da massa efetuou-se a primeira dessoragem, com a retirada de aproximadamente 80 % do soro. A salga dos queijos elaborados com coagulante tradicional foi realizada na massa, com cloreto de sódio (Cisne) na razão de 1,2 % sobre o peso da massa coagulada. Para os queijos elaborados com coagulante vegetal não houve adição de sal, sendo este obtido da infusão da flor do cardo e sal (conforme descrito anteriormente).

Posteriormente, realizou-se a enformagem em formas cilíndricas de 0,400 kg, que foram submetidas a prensagem. A primeira etapa ocorreu a 2 lbf/pol² durante 90 min, enquanto que a segunda etapa de prensagem ocorreu a 3 lbf/pol² por 90 min, com posição invertida dos queijos dentro das formas e das formas na prensa. Após a prensagem, os queijos foram embalados a vácuo (690 mmHg, selovac - Sistemas de vácuo 200 B) em embalagens plásticas termoencolhíveis (Supravac VC2 - 55 micras, estruturas coextrusadas de poliamidas - Nylon e etileno vinil acetato - EVA) e armazenados em câmara fria (Cia do Aço) a 6°C durante 30 dias.

4.6 Determinações físico-químicas do leite, leite concentrado, permeado e queijo amanteigado

As determinações físico-químicas de pH, acidez, gordura, minerais totais e proteína foram realizadas nas amostras de leite, leite concentrado, permeado e queijos amanteigados obtidos pelo processo de UF em escala piloto. Para as amostras de leite integral e leite concentrado também se realizou a análise de viscosidade.

Para as análises físico-químicas das formulações de queijo tipo amanteigado, inicialmente, as amostras foram aleatoriamente escolhidas e trituradas em multiprocessador, homogeneizadas e quarteadas manualmente, constituindo-se assim uma amostra representativa. Além das análises mencionadas anteriormente para as amostras de queijo foram realizadas as análises de frações nitrogenadas (nitrogênio total - NP, nitrogênio solúvel total - NST e nitrogênio não protéico - NNP), perfil de aminoácidos. As análises físico-químicas e microbiológicas nos queijos foram realizadas no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.6.1 Determinação da gordura

A gordura foi determinada conforme metodologia descrita por CHECCHI (2003). A amostra foi tratada com ácido sulfúrico densidade 1,84 g/cm³ (SYNTH) e álcool isoamílico P.A. (SYNTH). As proteínas que se encontram ligadas à gordura são digeridas pelo ácido, onde a viscosidade do meio diminui e aumenta a densidade da fase aquosa, fundindo a gordura, proveniente da liberação de calor da reação, favorecendo a separação de gordura pelo álcool isoamílico. A leitura de gordura é feita diretamente na escala graduada do butirômetro.

4.6.2 Minerais totais

O conteúdo de cinzas das amostras de leite e permeado e queijo, foi determinado conforme metodologia descrita por FOSCHIERA (2004). Inicialmente, a amostra (~2 g) foi pré-carbonizada em chapa aquecimento (VELP modelo RC), de modo a se evitar o espalhamento e a perda da gordura. Finalmente, a amostra foi carbonizada em mufla (Quimis) a 550 °C por 10 h. A quantificação realizada pelo método gravimétrico, até peso constante.

4.6.3 Determinação da Umidade

A determinação da umidade das amostras de leite e permeado foram realizadas pelo método gravimétrico em estufa de recirculação (Fanem – 320 - SE) a 105 °C por aproximadamente 4 h e/ou até peso constante, segundo metodologia descrita pela AOAC (2000).

4.6.4 Determinação do pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico, utilizando-se pHmetro (Marconi PA - 200) previamente calibrado em solução tampão pH 4 e 7. Para a leitura utilizou-se 100 mL da amostra (20 °C), conforme metodologia descrita pela AOAC (2000).

4.6.5 Determinação da acidez total

A acidez total foi determinada por titulação da amostra com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), em presença do indicador fenolftaleína, segundo AOAC (2000). O resultado foi expresso em g de ácido láctico por 100 mL de amostra.

4.6.6 Determinação de açúcares redutores (lactose)

Os teores de lactose foram determinados pelo método de Lane – Eynon segundo metodologia descrita pela AOAC (2000), a qual fundamenta-se na redução dos íons cúpricos a íons cuprosos pelo açúcar redutor em meio alcalino.

4.6.7 Nitrogênio total e/ou proteína total

O nitrogênio total nas amostras de queijo foi determinado, pelo método de Kjeldahl, utilizando sistema digestor-destilador (VELP- UDK 126 A), segundo metodologia nº 920.123 da AOAC (2000). A proteína total foi quantificada, utilizando-se o teor de nitrogênio total multiplicando pelo fator de correção 6,38.

Além das análises mencionadas anteriormente para as amostras de queijo foram realizadas as análises de frações nitrogenadas (nitrogênio total - NP, nitrogênio solúvel total - NST e nitrogênio não protéico - NNP), perfil de aminoácidos. As análises nos queijos foram realizadas no 1 °, 15 ° e 30 ° dia de armazenamento.

4.6.7.1 Nitrogênio Solúvel a pH 4,6

O teor de nitrogênio solúvel (NS) do queijo foi determinado após precipitação isoelétrica das caseínas com solução de ácido clorídrico (SYNTH) 1,41 N até pH 4,6, em uma amostra de queijo, previamente solubilizada em citrato de sódio 0,5 M. A quantificação dessas substâncias solúveis foram obtidas segundo metodologia descrita por Linchstein Oginsky (1965).

4.6.7.2 Nitrogênio não proteico solúvel em TCA 12%

As amostras de queijo previamente solubilizadas em citrato de sódio 0,5 M foram precipitadas em solução final (12 %) com ácido tricloroacético (TCA) e filtradas em papel de filtro Whatman n.º3 (F1- 88 ± 4 g/m², 12,5 ± 0,1 cm) coletando-se uma solução límpida com peptídeos de baixa massa molecular e aminoácidos. O nitrogênio total contido na solução foi quantificado pelo método Kjeldahl, de acordo com Vakaleris e Price (1959).

4.6.7.3 Índices de extensão e profundidade da proteólise do queijo

Para cálculo dos índices de extensão da maturação e da profundidade da proteólise durante a maturação nos queijos, empregou-se as fórmulas citadas por Wolfschoon-Pombo (1983).

O índice de extensão da maturação foi calculado levando em consideração a relação entre a porcentagem de nitrogênio total e a porcentagem de nitrogênio solúvel a pH 4,6 porcentagem de nitrogênio total (Equação 18), que foram relatados nos itens 4.6.8 e 4.6.8.1

$$\text{Índice de Extensão} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel a pH 4,6} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (18)$$

O índice da profundidade da maturação foi calculado levando em consideração a relação entre a nitrogênio total e a porcentagem de nitrogênio não protéico, que foram relatados nos itens 3.6.8 e 3.6.8.2

$$\text{Índice de Profundidade} = \frac{\text{Nitrogênio solúvel em TCA 12\%} \times 100}{\text{Nitrogênio total}} \quad (19)$$

4.6.8 Perfil de aminoácidos

O perfil de aminoácidos dos queijos amanteigados (1° e 30° dia de maturação) foi determinando pelo método de cromatografia líquida segundo metodologia nº 983.15 da AOAC (2000), utilizando detector UV/VIS, operando em vazão de 1 mL/min, e a detecção na faixa do UV em comprimento de onda de 205 nm.

A corrida cromatográfica foi realizada em aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência, com sistema isocrático (GILSON 306), com injetor automático ASTED – XL da marca GILSON e looping de 20 µL e coluna Zorbax GF-250 Bioséries da Agilent de 9 mm de diâmetro interno por 250 mm de comprimento. A fase estacionária da coluna era composta por partículas esféricas de sílica, modificadas na superfície por zircônio estabilizado, enquanto que a fase ligada era composta por monocamada molecular hidrofílica com diâmetro de poro de 150 Å. A solução da fase móvel usada foi um tampão fosfato com pH 6 (1,74 g de fosfato de potássio dibásico (K₂HPO₄) P.A., 12,37 g de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) P.A. e 21,41 g de sulfato de sódio (Na₂SO₄) dissolvido em 1000 mL de água milli-Q ultra purificada.

4.7 Viscosidade

A viscosidade foi determinada utilizando BROOKFIELD - RVDVI + com spindles tipo ULA. Os parâmetros reológicos foram obtidos em triplicata usando-se um reômetro de cone e placa Brookfield (Stoughton, USA), modelo RVDV III, através da relação entre a taxa de deformação e tensão de cisalhamento das amostras (CUNHA, et al 2008).

O aumento da tensão de cisalhamento foi obtido pelo aumento da rotação, a partir da variação contínua da velocidade angular do cone. Foram utilizadas rotações de 200 a 250 rpm, com acréscimos de 2,5 rpm a cada 10 s 0,5 mL de amostra e cone CP 40.

4.8 Análises Físicas

4.8.1 Rendimento dos queijos

A avaliação do rendimento dos queijos foi calculada através da equação 20 descrita por EMMONS (1993):

$$\text{Rendimento (kg queijo/kg de leite)} = \frac{\text{massa de queijo obtido}}{\text{massa de leite utilizada}} \quad (20)$$

4.9 Determinações microbiológicas do leite, leite concentrado, permeado e queijo amanteigado.

As análises microbiológicas (contagem de bactérias lácticas, coliformes totais e *staphylococcus aureus*) foram realizadas nas amostras de leite, leite concentrado e permeado antes da utilização do mesmo para elaboração dos queijos e nas amostras de queijos amanteigados. Para a caracterização microbiológica dos queijos de leite de ovelha observou-se a RDC nº12 (ANVISA, 2001), que preconiza o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. As análises microbiológicas (contagem de bactérias lácticas, coliformes totais e *staphylococcus aureus*) nos queijos foram realizadas no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento. Para a análise microbiológica (contagem de bactérias lácticas), os queijos foram aleatoriamente escolhidos, retirando-se três fatias (com aproximadamente 1 cm de espessura representativas do queijo).

4.9.1 Contagem de bactérias lácticas

Inicialmente, uma alíquota de 25 mL foi adicionada em embalagem plástica para *Stomacher* (Sward – Laboratory Blender - *Stomacher* 400), juntamente com 225 mL de citrato de sódio 2 %. Homogeneizou-se a mistura durante 60 s, obtendo-se assim a diluição na 10^{-1} . A partir

desta diluição foram preparadas as diluições subsequentes necessárias para a análise. A inoculação foi realizada em meio Agar De Man, Rogosa & Sharpe (MRS) pelo método de plaqueamento em profundidade, onde foi adicionada 1 mL da diluição da amostra, e uma sobre camada com meio Agar-Agar. As placas foram incubadas durante 48 h a 30 °C (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

4.9.2 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Para contagem de *Staphylococcus aureus*, foram inoculadas as diluições seriadas das amostras em suas respectivas placas de Petri estéreis onde foi realizado o plaqueamento em superfície no Ágar Baird-Parker (Acumedia), espalhando cuidadosamente o inóculo por toda a superfície da placa com a alça de Drigalski, incubou-se as placas invertidas em estufa (Binder) a temperatura de $37\pm1^{\circ}\text{C}$ por 48 h. O resultado expressa-se em Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC/g), (ANVISA, 2001).

4.9.3 Contagem de coliformes fecais e termotolerantes

Para contagem de coliformes totais, selecionou-se cinco colônias consideradas típicas e 5 colônias consideradas atípicas. Inoculou-se as colônias em tubos com 10 mL de caldo verde brilhante bile 2 % lactose. Posteriormente, incubaram-se os tubos em estufa a $36^{\circ}\text{C} \pm 1$ por 24 a 48 h.

Na confirmação de Coliformes termotolerantes, pipetou-se 1 mL de cada tubo confirmativo com caldo VB(verde brilhante) e inoculou-se em tubos contendo caldo (EC) (*Escherichia Coli*) . Incubaram-se os tubos em banho-maria (Quimis) a $45^{\circ}\text{C} \pm 0,2$, por 24 a 48 h (ANVISA, 2001).

4.10 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada no 30º dia de maturação das formulações de queijo. A análise sensorial foi realizada em escala laboratorial, com equipe de provadores não treinados (~

50 julgadores) de ambos os sexos, de diferentes faixas etárias (20 a 50 anos), que apresentaram interesse e hábito de consumo regular variável do produto.

As amostras (~ 2 cm de arestas) foram distribuídas em pratos plásticos codificados com números aleatórios de 3 dígitos, distribuição balanceada, juntamente com amostra do branco (água potável e biscoito salgado). Foi realizado um teste de aceitação de consumidor, com escala hedônica estruturada (Apêndice nº 1) de 9 pontos (1 - desgostei muitíssimo e 9 - gostei muitíssimo), onde foram avaliados, separadamente, os seguintes atributos: sabor, textura e aceitação geral, segundo metodologia descrita por FARIA et al. (2002). Os avaliadores preencheram uma ficha de avaliação (Apêndice nº1) dos atributos durante o desenvolvimento do teste. As avaliações foram realizadas em cabines individuais, empregando luz natural e fluorescente.

4.11 Análise estatística

Os dados obtidos nas análises físico- químicas e microbiológicas das amostras de leite, leite concentrado e queijos amanteigados foram tratados estatisticamente para comparação entre as médias através do teste de Tukey, utilizando o programa *Statistic* 8.0. Para as análises foi considerado um nível de significância de 95 % ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos em cada uma das etapas do presente trabalho no seguinte formato: caracterização da matéria prima (leite de ovelha pasteurizado), testes preliminares de Ultrafiltração em escala laboratorial e escala piloto; resultados obtidos nos experimentos de ultrafiltração, cálculos de fluxos de permeado e resistência de membranas; caracterização dos concentrados proteicos, permeado e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial do queijo amanteigado.

Durante os experimentos de ultrafiltração em cada membrana, ficou constatada redução do fluxo com o tempo de uso. Esse fato está diretamente ligado ao *fouling* da membrana. Os resultados da diminuição do fluxo permeado com o passar do tempo estão especificados para a escala laboratorial e escala piloto.

5.1 Sistema de UF em escala laboratorial

5.1.1 Estudos de fluxos e de tendência ao *fouling*

O fluxo de água foi calculado pela vazão de permeado em relação à área da membrana. Nas Figuras 10 a 21 mostram-se os fluxos de permeado da membrana de UF plana de 100 kDa para água e para o leite, utilizando pressões de 1, 2 e 3 bar, nas temperaturas de 25, 30 e 35 °C.

Figura 10 – Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 25°C nas pressões de 1, 2 e 3 bar

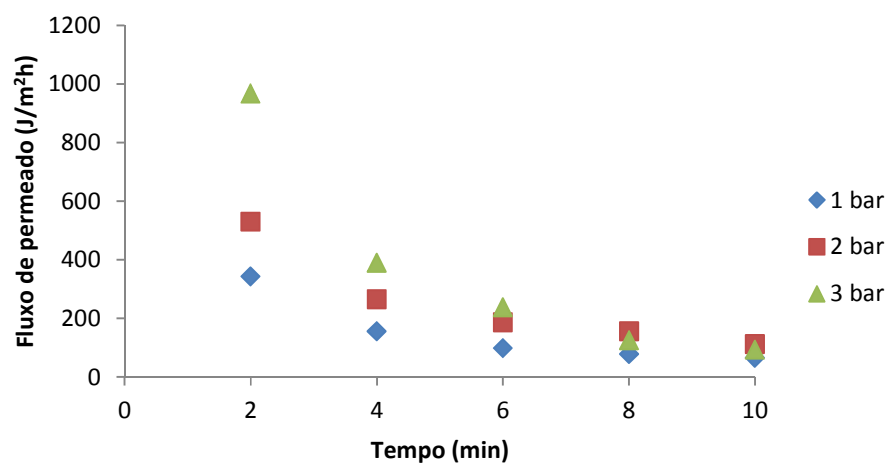


Figura 11 – Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 30 °C nas pressões de 1, 2 e 3 bar.

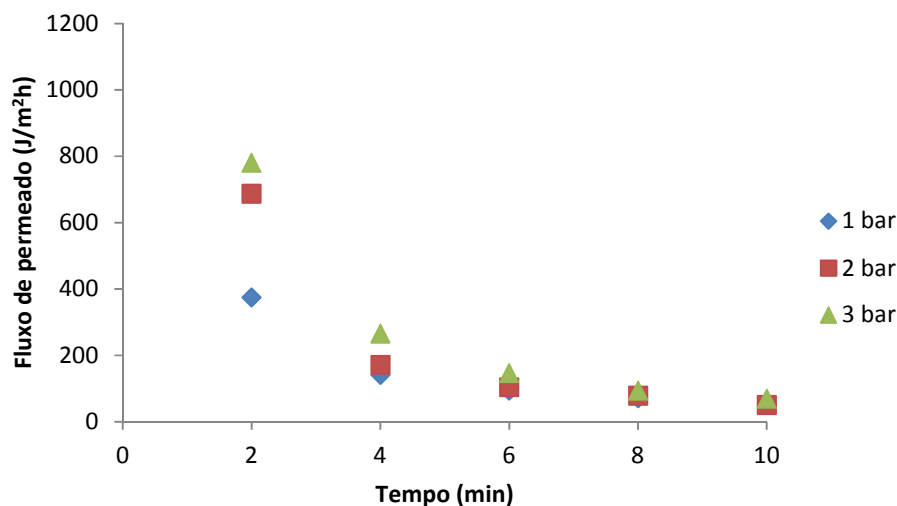
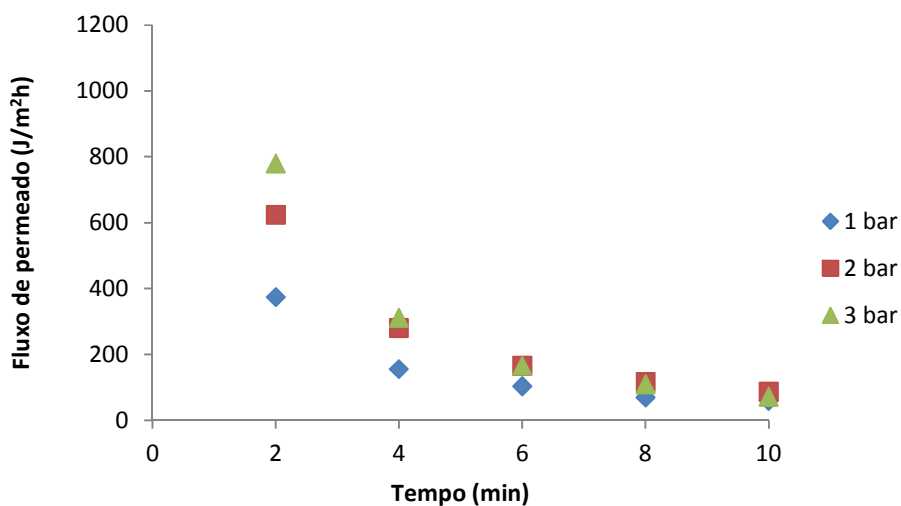


Figura 12- Fluxo de permeado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa à 35 °C nas pressões de 1, 2 e 3 bar.



Como pode ser observado nas Figuras 10, 11 e 12 os fluxos de permeado para água seguiram a mesma tendência para as condições de operações avaliadas. Pode-se verificar que na maior pressão utilizada (3 bar) em ambas as temperaturas o sistema apresentou maior fluxo

inicial, seguidas pelas pressões de 2 e 1 bar. O fluxo de permeado em ambas as temperaturas e pressões tenderam a zero, pois o sistema era operado em batelada e, portanto o volume contido no sistema se esgotava. Os dados utilizados para os cálculos dos fluxos estão disponíveis nas Tabelas 1, 2 e 3 do Apêndice 02.

A utilização da pressão, em processos utilizando membranas resulta em uma maior taxa convectiva de transporte de soluto para a superfície da membrana, aumentando a concentração do mesmo na interface o que vem a provocar um aumento da difusividade do soluto em sentido oposto ao qual a pressão do processo atua, diminuindo o fluxo de permeado (PORTER, 1990).

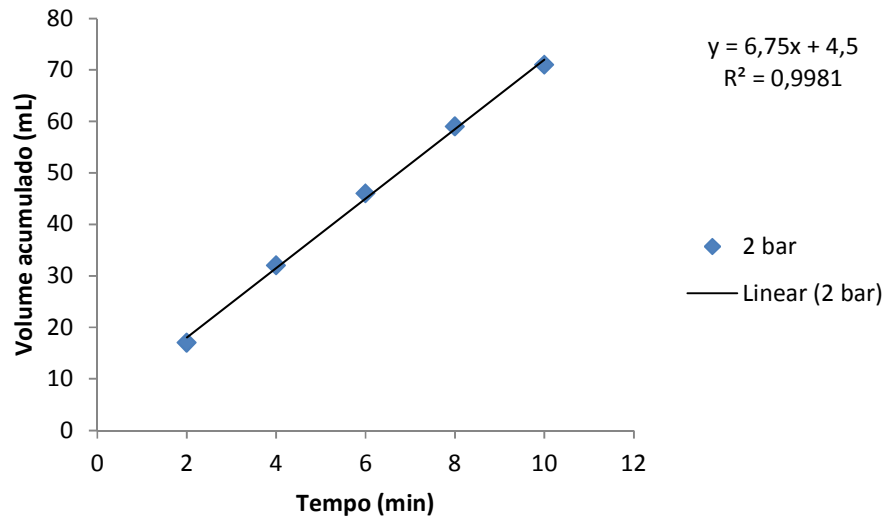
Os fluxos de permeados variaram de 500 a 1100 L/m²h para a água nos instantes iniciais do processo nas diferentes pressões avaliadas. Fluxos permeados bem menores podem ser obtidos em função do nível de polarização de concentração de depósito “*fouling*” a que fica submetida à membrana, em função da natureza da solução a ser tratada e das condições de operação do sistema.

O fluxo do permeado é a variável crítica na determinação da eficiência do processo de ultrafiltração, sendo a formação da camada de gel polarizada o “*fouling*” a responsável pela redução da taxa de permeação da membrana (VEIGA; VIOTTO, 2001).

Para obter parâmetros de Ultrafiltração da membrana de polímero ultrafilic, efetuou-se um ensaio de com água a temperatura de 25°C com pressão mínima de 2 bar, já que o comportamento em outras condições foram similares e assim reduzindo o gasto energético. Para esta situação, a resistência do depósito R_d foi nula, pois não se forma depósito sobre a membrana ao passar água pura.

Após o ensaio, em que a membrana permanecia disposta no interior do dispositivo de Ultrafiltração, quantificou-se o volume do permeado obtido. Os resultados são mostrados na Tabela 4 do Apêndice 2 e foram utilizados para a elaboração da Figura 13 onde se verifica que os pontos experimentais situam-se em torno de uma linha reta, apresentando um coeficiente de correlação de 0,99.

Figura 13 – Volume acumulado de água com relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa na pressão de 2 bar e temperatura de 25 °C.



Os parâmetros físicos operacionais que afetam a taxa de fluxo de permeado são: pressão, temperatura, viscosidade e densidade do fluido de alimentação e velocidade tangencial (COUTINHO et al., 2008).

A configuração (placas, conexões, anéis de vedação, parafusos, válvulas) também afeta o desempenho da membrana. O bom desempenho da membrana em relação à taxa de fluxo de permeado e retenção do soluto desejado deve ser equilibrado no que se diz respeito às suas características tais como a propensão para sujar, custo e facilidade de limpeza.

Para a Equação (4) se simplifica, resultando em:

$$J' = \frac{A\Delta P}{\mu R_m} \quad (21)$$

Substituindo $J'=dV/dt$ e integrando, tem-se:

$$V = \frac{A\Delta P}{\mu R_m} t \quad (22)$$

Os dados experimentais foram correlacionados utilizando os métodos dos mínimos quadrados, obtendo-se a Equação (23):

$$V = 6,75t + 4,5 \quad (23)$$

O tempo linear desta Equação não possui significado físico e o mesmo é proveniente de ajuste estatístico. Ao passar a reta pelo ponto zero não se observa variação do coeficiente não ocorrendo modificação da resistência da membrana.

Então, comparando com a Equação (21), tem-se:

$$\frac{A \cdot \Delta P}{\mu \cdot R_m} = 6,75 \quad (24)$$

Usando os valores conhecidos de A , ΔP e μ , pode-se calcular a resistência da membrana de Ultrafiltração. A membrana de Ultrafiltração na escala laboratorial apresentava área de $0,000962 \text{ m}^2$, diferença de pressão de 200000 Pa (equivalente a 2 bar), viscosidade da água na temperatura de 25°C é de $0,65 \text{ cP}$ ($0,65 \cdot 10^{-3} \text{ kg/m.s}$). Neste caso a R_m foi de $1,84 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$.

STEFFENS (2003) também encontrou valor semelhante para a resistência da membrana ($8,43 \times 10^{12} \text{ m}^{-1}$) para água, em um sistema de filtração semelhante.

Para verificar o comportamento da membrana utilizando leite de ovelha, foram processados 200 mL de leite desnatado, operado nas pressões de 1 e 2 bar nas temperaturas de 25 , 30 e 35°C . Nas Figuras 14, 15 e 16 (Apêndice 2 Tabelas 5, 6 e 7) são apresentados os fluxos de permeados para as diferentes pressões e temperaturas.

Figura 14 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 25 °C.

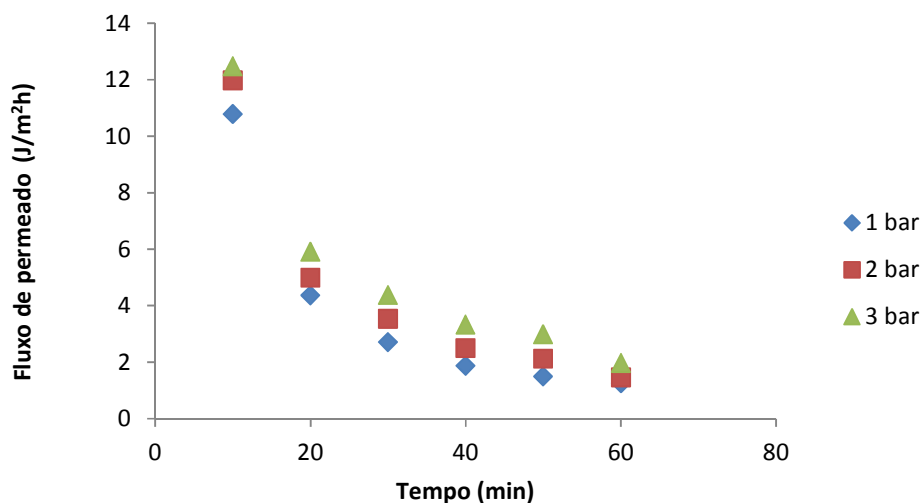


Figura 15 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 30 °C.

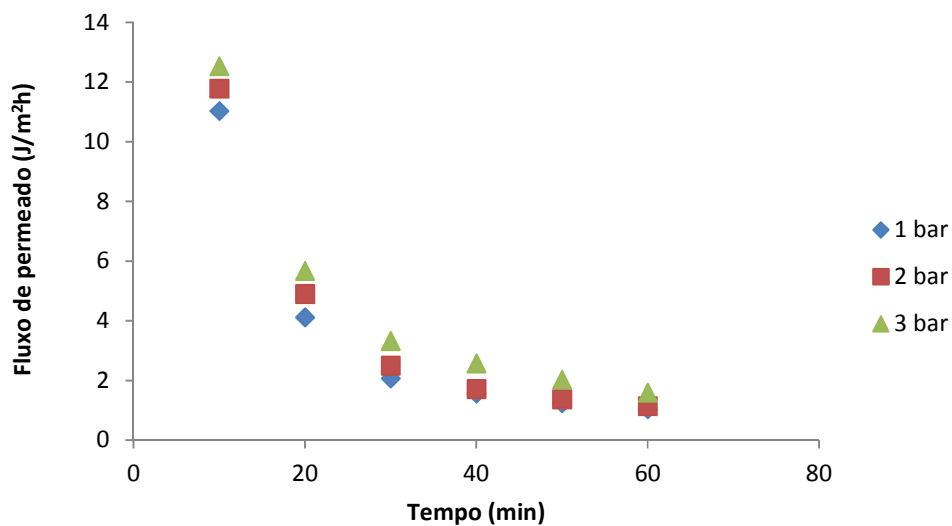
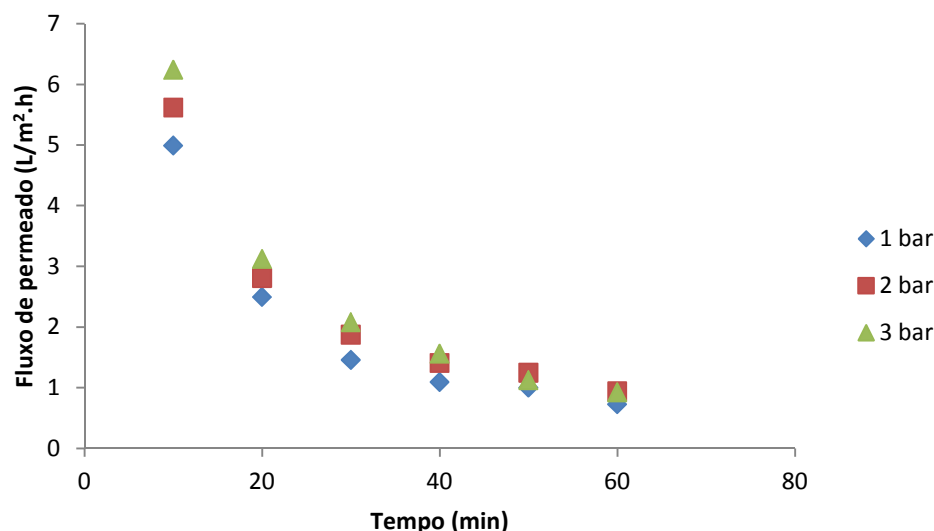


Figura 16- Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar e temperatura de 35 °C.



Pode-se observar nas Figuras 14, 15 e 16 que as diferentes temperaturas aplicadas ao sistema de Ultrafiltração em diferentes pressões apresentaram resultados diferentes para o fluxo de permeado, sendo que ao usar a menor temperatura (25 °C) obtivemos o maior fluxo inicial de 12 L/m².h para as pressões de 3 e 2 bar. Isto indica que não se faz necessário o aumento de temperatura para obter maiores fluxos. Pode-se verificar também que com a elevação da pressão houve influencia significativa nos fluxos de permeado.

Comparando-se os fluxos de água (Figuras 10, 11 e 12 com as Figuras 14, 15 e 16) com os fluxos de leite, verifica-se que os fluxos de leite são menores que os fluxos de água, indicando que o leite apresenta mais dificuldades para atravessar a membrana, devido a presença de sólidos em sua constituição.

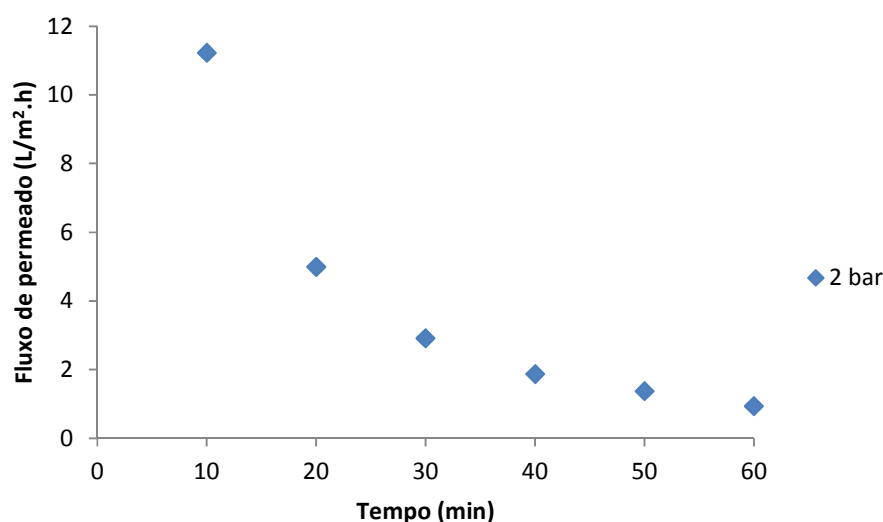
YUNOS E FIELD (2008) enfatizam que a utilização de uma pressão e temperaturas mais baixas nos processos de UF de leite minimiza a desnaturação ou a degradação de produtos biológicos altamente lábeis, o que justifica o uso de temperaturas e pressões mais brandas. A partir dos resultados demonstrados nas Figuras (14, 15 e 16) pode-se verificar que ao aumentar a temperatura não houve aumento significativo ($p < 0,05$) do fluxo de permeado. Diante destes resultados optou-se em utilizar a temperatura de 25 °C na pressão de 2 bar para realizar os cálculos de resistências do processo de Ultrafiltração, pois esta temperatura e pressão não

dispendem de alto custo energético do sistema e podem servir de base para os ensaios em escala piloto.

RINALDONI et al., (2009) ao avaliarem o desempenho de UF de leite bovino desnatado com membrana de 10 kDa indicam que as temperaturas adequadas para o processamento deste tipo de matéria-prima deve ser compreendido entre 20 e 40 °C. Neste intervalo de temperatura em um período curto de tempo (30 minutos) as chances de proliferação de micro-organismos são pequenas, além disso, ao operar sistema de ultrafiltração em temperaturas abaixo de 20 °C o fluxo de permeado ficará baixo e ao utilizarmos temperaturas superiores a 40 °C pode-se afetar o tempo de vida da membrana polimérica. Os mesmos autores ao definirem os parâmetros de eficiência energética, demonstraram que a maior eficiência no processo ultrafiltração de leite bovino, foi obtida quando se operava a temperatura ambiente e a baixa pressão (2 bar) .

A Figura 17 apresenta o fluxo de permeado em relação ao tempo de Ultrafiltração na escala de bancada para a membrana plana de 100 kDa, onde pode-se verificar o decréscimo do fluxo de permeado em relação ao tempo da UF.

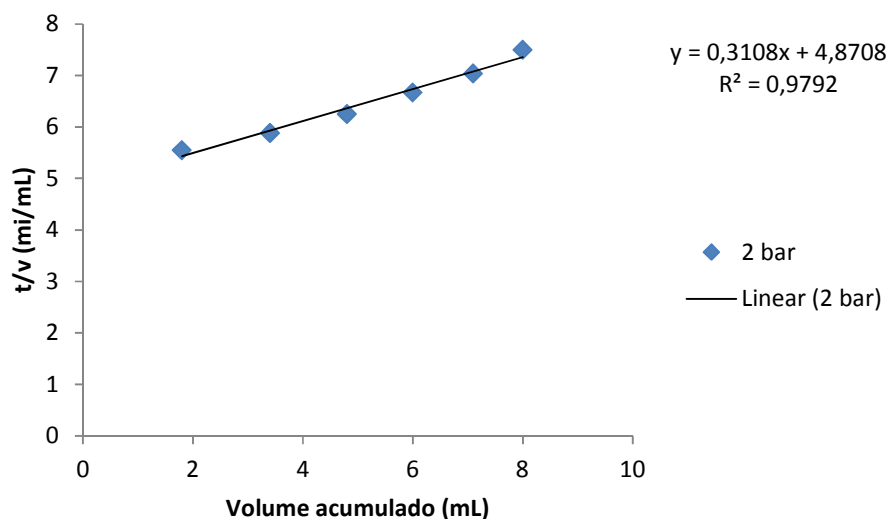
Figura 17 – Fluxo de permeado com leite de ovelha em relação ao tempo para membrana plana de Ultrafiltração de 100 kDa na pressão de 2 bar e temperatura de 25 °C



Considerando-se que o depósito sobre a membrana de Ultrafiltração seja incompressível, com a Equação (14) pode-se calcular R_m - resistência da membrana e comparar com o obtido no experimento de Ultrafiltração de água. E com a Equação (4) pode-se calcular a R_d - resistência do depósito.

Os dados de volume acumulado de permeado em função do tempo de Ultrafiltração do leite de ovelha concentrado são apresentados na Tabela 9 do Apêndice 2, os quais foram utilizados para elaborar o gráfico de t/V , conforme mostrado na Figura 18, onde foi obtido um coeficiente de correlação de 0,98 com os dados experimentais obtidos.

Figura 18- Relação de t/v com o volume acumulado em relação ao tempo do processo de Ultrafiltração do leite de ovelha para membrana plana de 100 kDa.



Pode-se verificar que a Equação obtida fornece os parâmetros correspondentes comparando com a Equação (13), obtendo-se a Equação (25):

$$t/V = 0,31V + 4,876 \quad (25)$$

Então, comparando com a Equação (21), tem-se:

$$\frac{A \cdot \Delta P}{\mu \cdot R_m} = 0,31 \quad (26)$$

Usando os valores conhecidos de A, ΔP e μ , pode-se calcular a resistência da membrana de Ultrafiltração. A membrana de Ultrafiltração apresentava área de $0,000962 \text{ m}^2$, a diferença de pressão de 200000 Pa (equivalente a 2 bar), a viscosidade do leite integral de ovelha a 25°C foi de $2,64$ ($2,64 \cdot 10^{-3} \text{ kg/m.s}$), obtida por (FAVA et al., 2012), sendo que o valor de 0,31 é dado em mL/min.

$$R_m = 1,41 \times 10^{13} \text{ m}^{-1}$$

A resistência do meio de Ultrafiltração utilizando leite apresentou um valor cerca de 7 vezes superior a obtida na Ultrafiltração da água, valor semelhante ao obtido por STEFFENS (2003). Isto, provavelmente, reflete a influência sólidos presentes no leite, influenciando no escoamento da mesma, ou seja, dificultando seu escoamento.

Agora podemos avaliar a resistência do depósito através da equação (27)

$$R_d = \frac{0,31 \cdot 2A^2 W \Delta P}{\mu C_s} \quad (27)$$

A massa de depósito (W) ao final da Ultrafiltração foi quantificada em $5,2 \times 10^{-3} \text{ kg}$. Assim W pode ser calculado em relação à área ($0,000962 \text{ m}^2$) onde tem-se a massa final de depósito de $5,405 \text{ kg/m}^2$.

A concentração de sólidos (C_s) no leite após a Ultrafiltração foi de 95 kg/m^3 obtida pelo método de ROBINSON (1994). Finalmente, utilizando a Equação (27) tem-se R_d de $2,7 \times 10^{10} \text{ m}^{-1}$. Esta resistência corresponde ao depósito sobre a membrana. Assim a resistência do depósito variou de zero (no início do processo) até $2,7 \cdot 10^{10} \text{ m}^{-1}$, após ocorrer à polarização da membrana. Comparando os valores das resistências, a resistência da membrana é que domina o

processo. No decorrer da Ultrafiltração o volume de permeado, em um intervalo de tempo, foi se reduzindo gradativamente, devido às incrustações e a resistência da membrana.

Para avaliação da tendência ao *Fouling* no processo de Ultrafiltração de leite ovino em escala laboratorial foi realizado o cálculo da permeabilidade hidráulica antes e depois do processo de concentração do leite. A Tabela 02 apresenta estes valores e a porcentagem de tendência ao *fouling*.

Tabela 2 - Valores de permeabilidade hidráulica antes e depois da concentração do leite ovino em escala laboratorial e porcentagem da tendência ao *fouling* para as temperaturas de 25, 30 e 35°C a 2 bar.

Temperatura (°C)	W_{Pa} (L.m².h⁻¹.bar⁻¹)	W_{Pd} (L.m².h⁻¹.bar⁻¹)	Fouling (%)
25	276, 1	26,1	90,5
30	343,04	31,7	90,8
35	311,6	19,9	93,6

Conforme apresentado na Tabela 02 pode-se observar que os experimentos de concentração do leite ovino nas diferentes temperaturas durante o processo de UF em escala laboratorial apresentaram alta tendência ao *fouling* com valores superiores a 90. O aumento da temperatura não apresentou influencia na redução a tendência ao *fouling*. Na maior temperatura utilizada (35 °C) houve maior tendência ao *fouling* (93,6%) quando comparada aos experimentos conduzidos nas temperaturas de 25 e 30 °C. Este comportamento pode estar associado à solubilidade do cálcio presente no leite. O leite ovino apresenta maior teor de cálcio quando comparado com o leite de vaca e cabra.

Durante o processo de Ultrafiltração do leite os sais de cálcio e potássio tentem a aumentar as incrustações, além disso, o aumento da temperatura promove uma redução na solubilidade do cálcio, o que pode estar associado a maior tendência ao *fouling* com o aumento da temperatura. O aumento da temperatura favorece a agregação proteína-Ca⁺², formando uma rede em gel a qual é responsável pelo aumento da viscosidade o que pode ocasionar maior dificuldade

na passagem do leite através das membranas ocasionando, consequentemente um aumento da camada de depósito sobre a membrana aumento assim o fenômeno de *fouling*.

VEIGA E VIOTTO (2001) ao analisarem tratamento térmico prévio em temperatura de 75°C por 15 segundos em leite no processo de Ultrafiltração visando fator de concentração de 3,5, utilizando pressão de 1 kgf/cm², em membranas com tamanho de poro de 0,08 µm, obtiveram fluxos de permeados de até 9,73 kg/h.m². Porém, ao aquecer o leite a 85°C por 30 minutos, houve uma redução do fluxo para 3,4 Kg/h.m². Os autores atribuíram esta redução à desnaturação protéica e a formação de micelas o que gerou maior aderência protéica à membrana e um aumento significativo do *fouling*, diminuindo significativamente o fluxo de permeado. Os dois ensaios, obtiveram uma redução de 70% no fluxo de permeado nos primeiros 50 minutos de concentração. Este resultado mostra que a redução da temperatura nos processos de Ultrafiltração com a presença de proteínas lácteas, esta diretamente ligada ao aumento de fluxo de permeado.

O processo de Ultrafiltração do leite ovino em escala laboratorial com o uso da membrana plana apresentou tendência ao *fouling* elevada não sendo adequada para a obtenção dos concentrados proteicos para posterior elaboração dos queijos Tipo amanteigado.

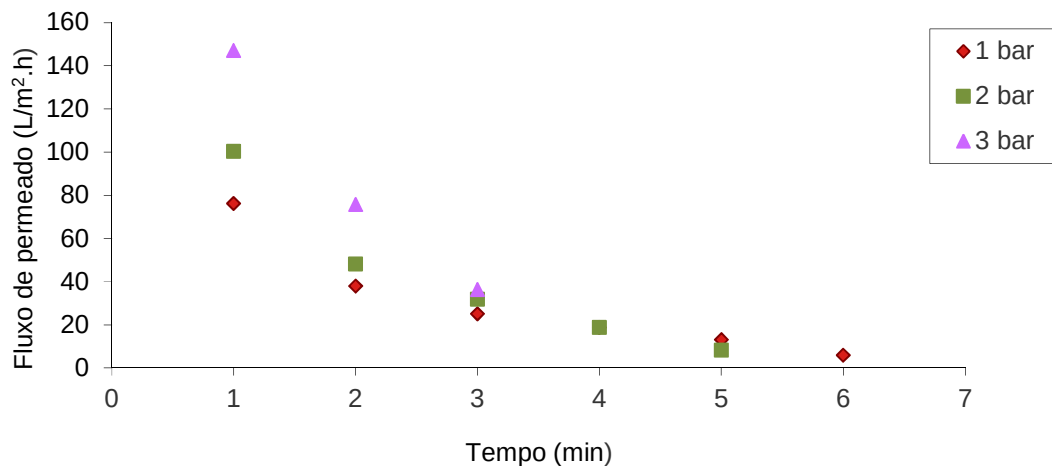
O comportamento da matéria prima (leite ovino) no processo de Ultrafiltração em escala laboratorial permite o conhecimento prévio das condições ideais para o aumento de escala (escala piloto).

5.2 Sistema de UF em escala piloto

5.2.1 Estudos de fluxos e de tendência ao fouling

A Figura 19 apresenta o fluxo de permeado de água com a membrana de UF de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar.

Figura 19- Fluxo de permeado de água em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1, 2 e 3 bar.



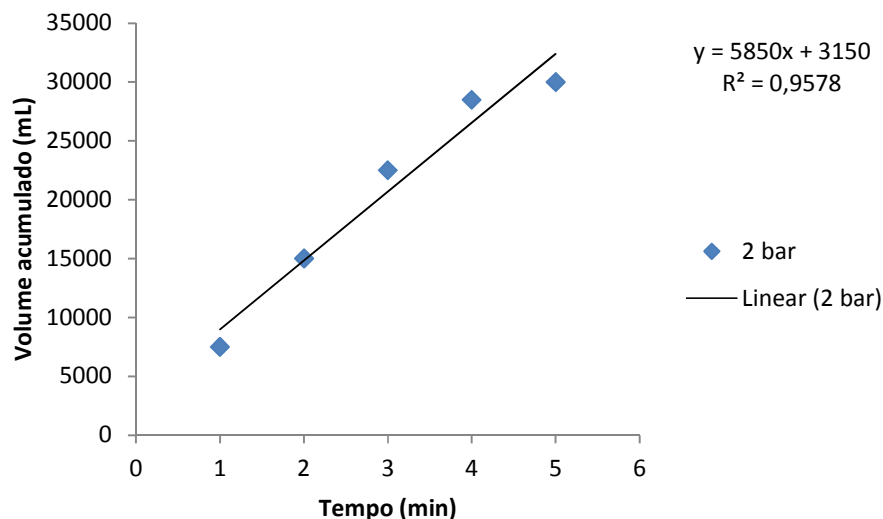
Conforme observa-se na Figura 19 o fluxo permeado para água apresenta comportamento similar com tendência de decréscimo em função do tempo, sendo maior o fluxo inicial ($147,06 \text{ L/m}^2.\text{h}$) na pressão de 3 bar. Para pressão de 1 e 2 bar obteve-se fluxos iniciais de 76,20 e $100,27 \text{ L/m}^2.\text{h}$, respectivamente. Pode-se verificar que os fluxos tenderam a zero, pois o sistema era contínuo, mas com alimentação inicial fixa, de 30 L, e, portanto o volume contido no sistema se esgotava. No entanto no ensaio com 3 bar, não foi possível monitorar o fluxo até o esgotamento da água por motivo de cavitação da bomba. Além disto, em altas pressões poderá ocorrer a compactação da membrana e diminuição da taxa de permeação, pois segundo BASSETI (2002) a compactação da membrana caracteriza-se pela deformação mecânica e/ou compressão, levando a um aumento em sua massa específica, e conseqüentemente, a uma diminuição no tamanho dos poros, aumento na resistência hidráulica e diminuição na taxa de permeação. A compactação da membrana e a deterioração química desta, também causam um declínio de fluxo permeado com o tempo de filtração, levando a uma diminuição da vida da membrana.

A Equação 14 consiste na Equação de uma linha reta, sendo t/V , para obter parâmetros de Ultrafiltração da membrana de polímero (ultrafilic), neste caso, selecionou-se a pressão de 2 bar e temperatura de 25°C para verificar o comportamento da membrana utilizando água, já que o comportamento em outras condições foram similares. Para esta situação, a resistência do depósito R_d foi nula, pois não se forma depósito sobre a membrana ao passar água pura.

Após o ensaio, em que a membrana permanecia disposta no interior do dispositivo de ultrafiltração, quantificou-se o volume do permeado obtido. Os resultados da Figura 20 (Apêndice 2- Tabela 11) mostram o volume acumulado de permeado em relação ao tempo, onde os dados experimentais foram correlacionados utilizando os métodos dos mínimos quadrados (coeficiente de correlação 0,95), obtendo-se a Equação (28):

$$y = 5850x + 3150 \quad (28)$$

Figura 20 – Volume acumulado de Ultrafiltração de água em relação ao tempo para membrana de fibra oca 10 kDa.



O tempo linear da Equação 28 não possui significado físico e o mesmo é proveniente de ajuste estatístico. Então, comparando com a Equação (22), tem-se:

$$\frac{A \cdot \Delta P}{\mu \cdot R_m} = 5850 \quad (29)$$

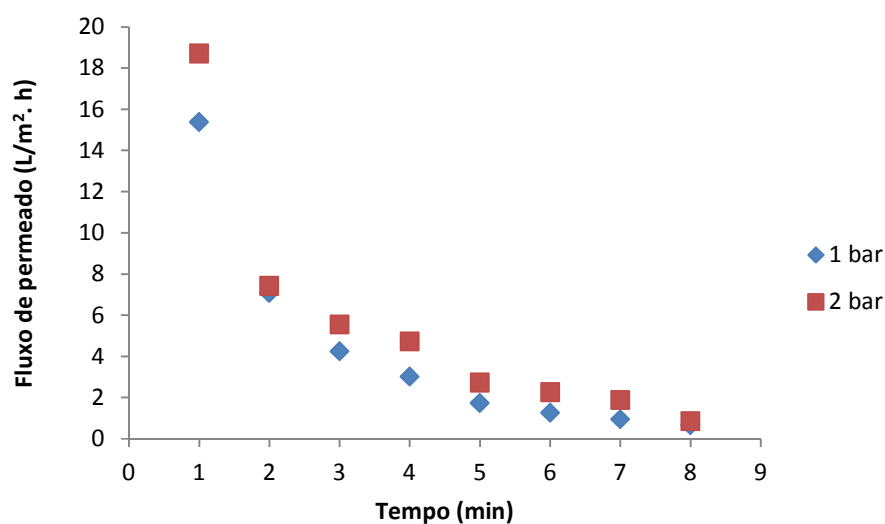
Usando os valores conhecidos de A , ΔP e μ , pode-se calcular a resistência da membrana de Ultrafiltração. A membrana de Ultrafiltração em escala piloto apresentava área de $4,4 \text{ m}^2$,

diferença de pressão de 200000 Pa (equivalente a 2 bar), viscosidade da água a 25°C é de 0,65cP ($0,65 \times 10^{-3}$ kg/m.s). Neste caso a R_m foi de $1,38 \times 10^{12}$ m⁻¹. A ordem de grandeza da membrana de ultrafiltração de fibra oca para a água foi semelhante a obtida para a membrana da escala de laboratorial ($1,84 \times 10^{12}$ m⁻¹), indicando que em relação a passagem da água os dois sistemas comportam-se de forma semelhante.

5.2.2 Obtenção de concentrado de leite de ovelha

Para os teste em escala piloto foram processados 30 L de leite de ovelha, operado nas condições de pressão (1 e 2 bar) e temperatura (25°C), sendo os valores dos fluxos mostrados na Figura 21 (Apêndice 2 -Tabela 12).

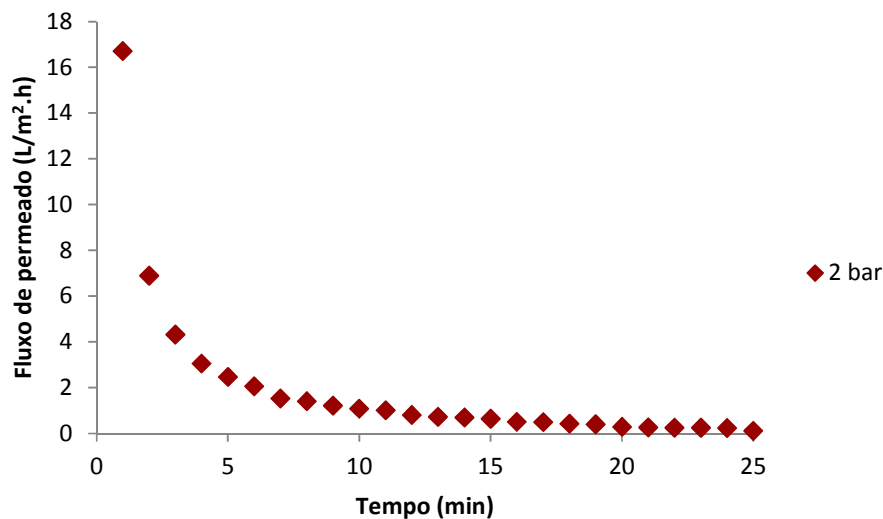
Figura 21- Fluxo de permeado de leite de ovelha, em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1 e 2 bar e temperatura de 25°C.



De acordo com a Figura 21, verifica-se que os fluxos iniciais de permeado foram de 15,38 e 18,71 L/m²h para as pressões de 1 e 2 bar, respectivamente. Na pressão 2 bar obteve-se os maiores valores para o fluxo de permeado ao longo da ultrafiltração, o que também foi verificado quando empregado a UF com água. O fluxo diminui com o tempo devido a dificuldade do leite

atravessar a membrana sendo este fluxos menores aos obtidos para a ultrafiltração com água (Figura 19). Este comportamento é associado a presença de sólidos do leite o que dificulta sua passagem pela membrana. Devido aos maiores fluxos de permeado obtidos na pressão de 2 bar, efetuou-se a concentração de leite de ovelha nesta pressão a 25°C por 30 min. Os dados do volume acumulado de leite de ovelha com o tempo para pressão de 2 bar são apresentados na Figura 22 (Apendice 2 -Tabela 13).

Figura 22 – Fluxo de permeado de leite de ovelha em relação ao tempo para membrana de fibra oca de 10 kDa na pressão de 2 bar.



De acordo com a Figura 22 verifica-se que o fluxo de permeado diminuiu com o tempo de operação, onde inicialmente era de 17,9 L/m².h e passou para 0,85 L/m².h, aos 14 minutos da Ultrafiltração, mantendo o mesmo comportamento até o fim da etapa de UF (30 min). A redução do fluxo de permeado deve-se principalmente à incrustação e fenômenos de polarização de concentração. Este resultado é esperado, porque quando a pressão transmembrana atinge um valor crítico (2-4 bar) o fluxo torna-se independente sobre a pressão e o potencial de incrustação tende a estabilizar.

A razão deste comportamento é atribuído as moléculas de proteína depositada sobre a superfície membrana o que causa a polarização de concentração e consolidação da camada de incrustação. NETO (2006) ao realizar a Ultrafiltração de leite bovino para

produção de queijo minas frescal observou o mesmo comportamento de redução linear no fluxo de permeado durante o processo de ultrafiltração. O autor atribuiu esta redução de fluxo a colmatagem progressiva da membrana em função do tempo de processo. Este fenômeno pode ser agravado pelo aumento da viscosidade do leite devido à concentração de sólidos que aumentam proporcionalmente com o aumento do fator de concentração.

Para melhor compreensão do efeito de polarização realizou-se o cálculo de resistência da membrana e os cálculos de resistência total ao longo de todo o período do processo de Ultrafiltração.

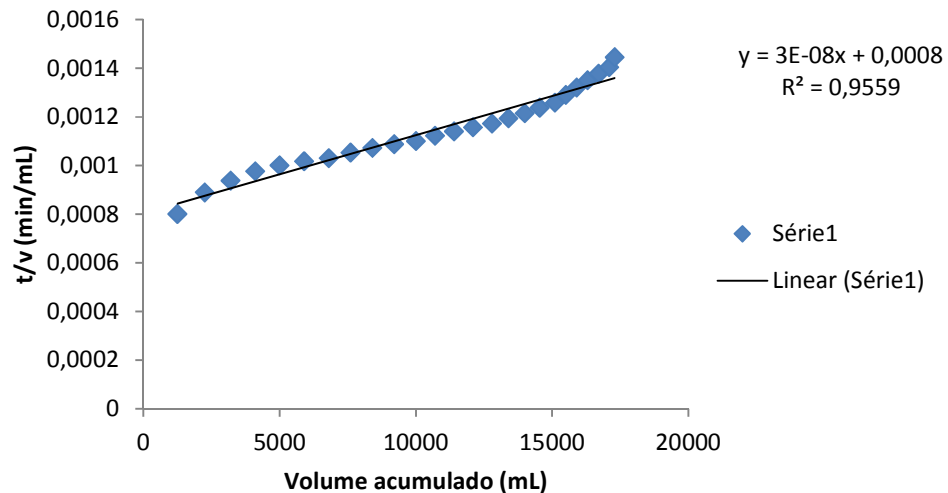
5.2.2.1 Resistência das membranas

Durante o processo de separação por membranas, geralmente ocorre declínio do fluxo de permeado (a pressão constante) com o tempo. Este fenômeno é conhecido como polarização por concentração (CHERYAN, 1998). Tal fenômeno se estabelece rapidamente, provocando uma queda acentuada do fluxo de permeado nos instantes iniciais da Ultrafiltração (BASSETTI, 2002). Para verificação de tal fenômeno nos processos de Ultrafiltração utilizados neste trabalho, calculou-se a resistência da membrana através do acompanhamento do fluxo de permeado obtido com o tempo e através do aumento da resistência total durante o processo de Ultrafiltração.

A Figura 23 (Apêndice 2- Tabela 14) apresentam os resultados da relação t/V em função do volume acumulado de permeado, onde os dados experimentais foram correlacionados utilizando os métodos dos mínimos quadrados (coeficiente de correlação 0,96), obtendo-se a Equação 30:

$$t/V = 3.10^{-8}V + 0,0008 \quad (30)$$

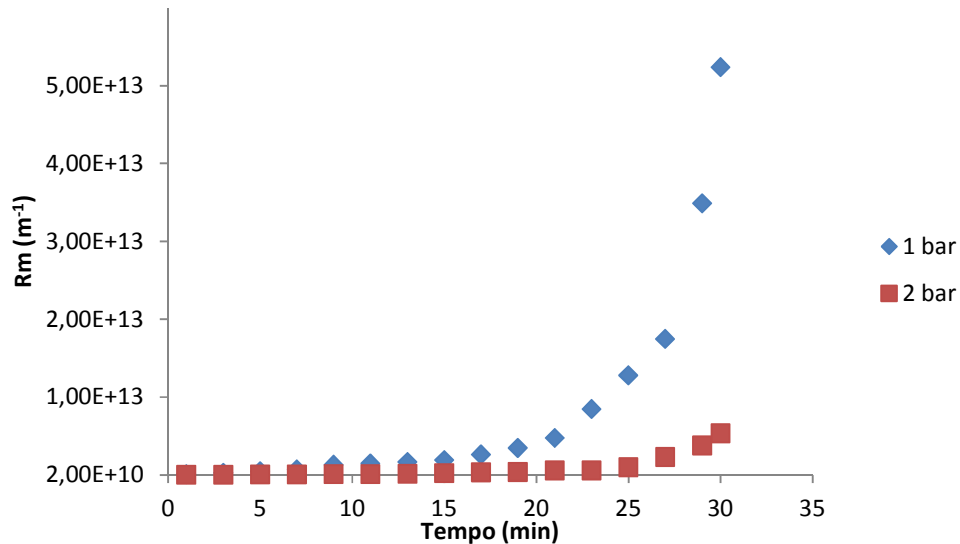
Figura 23 – Relação de t/v com o volume acumulado em relação ao tempo na Ultrafiltração de leite de ovelha para membrana de fibra oca de 10 kDa.



Usando os valores conhecidos de A , ΔP e μ , pode-se calcular a resistência da membrana de Ultrafiltração. A membra de Ultrafiltração em escala piloto apresentava área de $4,4 \text{ m}^2$, diferença de pressão de 200000 Pa (equivalente a 2 bar), viscosidade do leite de ovelha na temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ de $2,64 \text{ cP}$ ($2,64 \times 10^{-3} \text{ kg/m.s}$). Desta forma, a R_m foi de $1,32 \times 10^{23} \text{ m}^{-1}$, sendo este valor superior ao da água devido principalmente a presença de sólidos do leite.

Para verificar o comportamento da resistência da membrana nas pressões 1 e 2 bar em função do tempo, foram realizados ensaios de Ultrafiltração do leite durante 30 minutos sendo os resultados apresentados na Figura 24 onde pode-se verificar que a resistência da membrana tornou-se constante aos 15 e 25 min para a pressão de 1 e 2 bar, respectivamente. No entanto para pressão de 2 bar a resistência é menor. Este comportamento era esperado, pois segundo BASSETI (2002) o aumento da pressão pode reduzir os efeitos dos fenômenos de polarização por concentração, formação da camada de gel e colmatagem, promovendo um aumento no fluxo de permeado em sistemas tangenciais.

Figura 24 – Gráfico da resistência da membrana de fibra oca de 10 kDa nas pressões de 1 e 2 bar durante o processo de Ultrafiltração (30 min)



Segundo STRAMTHMANN (2001) o aumento da concentração de alimentação afeta a viscosidade, a densidade e a difusividade mássica da solução de alimentação, ocasionando decréscimo no fluxo de permeado. Em geral, temperaturas mais elevadas proporcionam maiores fluxos de permeados em regiões em que existe controle de pressão e de transferência de massa. O efeito da temperatura decorre da redução ocasionada na viscosidade do fluido e na mobilidade das moléculas, ou seja, na difusividade.

Em síntese, verificou-se que o sistema em escala piloto pode ser usado para concentrar leite de ovelha para elaboração de derivados, sendo que este processo é ainda pouco estudado para este tipo de matéria prima. A elaboração de produtos com o leite concentrado proporcionaria incremento no rendimento, além de produtos com características nutricionais diferenciadas.

5.2.3 Tendência ao *fouling*

A Tabela 3 apresenta os resultados da porcentagem de tendência ao *fouling* para o teste realizado no sistema em escala piloto filtração tangencial na pressão de 2 bar a 25°C.

Tabela 3 – Valores de permeabilidade hidráulica e porcentagem de tendência ao *fouling* para a escala piloto de filtração tangencial a 2 bar e temperatura de 25 °C.

Temperatura (°C)	W_{Pa} (L.m ² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)	W_{Pd} (L.m ² .h ⁻¹ .bar ⁻¹)	Fouling (%)
25	100,27	56,2	43,9

Conforme observa-se na Tabela 3, a tendência ao *fouling* para a escala piloto a 25°C na pressão 2 bar foi de 43,9%. A eficiência dos sistemas de Ultrafiltração tem ligação direta com a configuração utilizada no sistema. Na configuração em escala piloto a membrana utilizada apresenta-se na configuração fibra oca. Esta membrana apresenta maior área de membrana por volume do modulo, além de apresentar maior grau de turbulência o que promove maior transferência de massa e menor tendência ao *fouling* quando comparada a escala laboratorial.

5.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE E DOS CONCENTRADOS

Neste item serão apresentados os resultados das análises físicas e físico ‘químicas do leite de ovelha e dos concentrados proteicos obtidos no processo de Ultrafiltração em escala piloto.

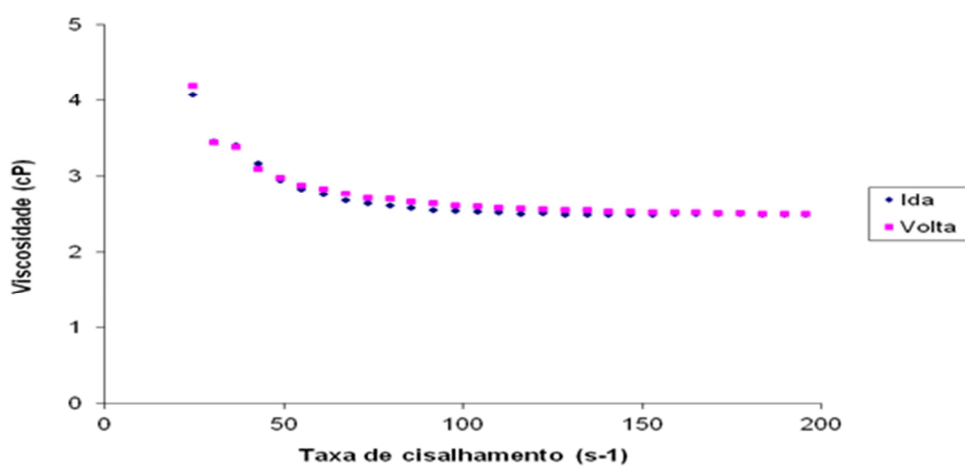
5.3.1 Comportamento reológico

A viscosidade é a resistência do alimento a sofrer deslocamento quando submetido a uma força externa, como a agitação, ou seja, quanto mais denso for o líquido, maior será sua viscosidade ou sua resistência ao fluxo (PARK, 2007).

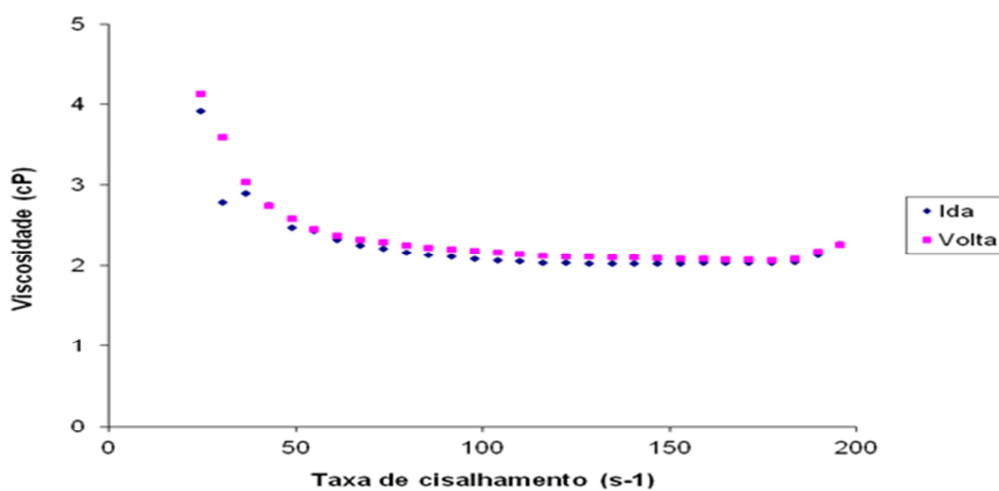
A Figura 25 apresenta o comportamento reológico (viscosidade x taxa de cisalhamento) do leite integral (a): 7,2 % gordura e 4,4 % de proteína; desnatado (b): 0,5 % gordura e 4,2 % de proteína; concentrado por 10 min/2bar (c): 2,2 % gordura e 8,9 % de proteína; concentrado por 20 min/2bar (d): 2,2 % gordura e 11,8 % proteína e concentrado por 30 min/2bar (e): 2,3 % gordura e 17,9 % de proteína. As frações de concentrado apresentaram comportamento de fluido não newtoniano, durante todo o processo de concentração. Este comportamento está ligado à

relação não linear entre a taxa de deformação (*shear rate*) e a tensão de cisalhamento (*shear stress*), ou seja, com o aumento da taxa de cisalhamento ocorreu redução da viscosidade, em todas as amostras analisadas.

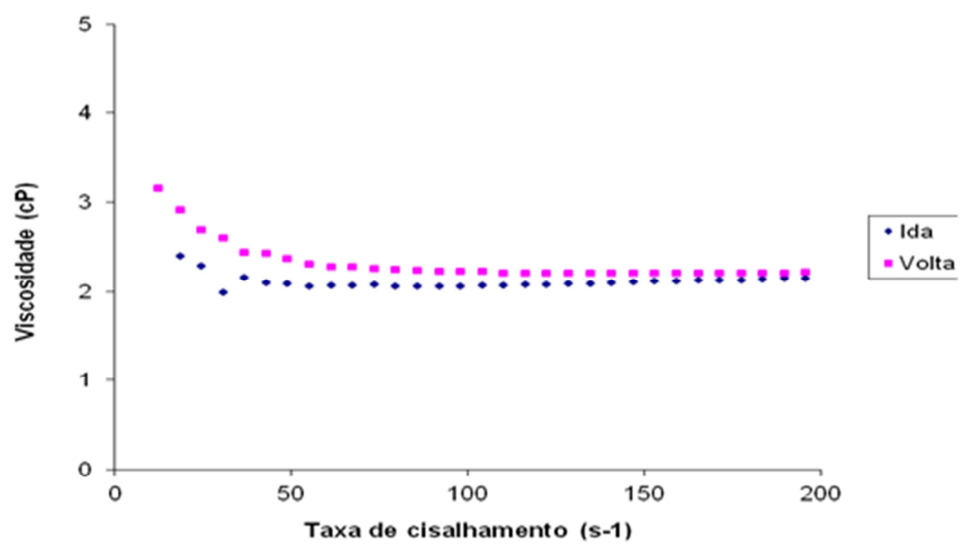
Figura 25- Variação da viscosidade nas amostras de leite ovino em relação ao tempo de Ultrafiltração para membrana de fibra oca de 10 kDa (a) leite integral (b) leite desnatado (c) leite concentrado 10 min/2bar (d) leite concentrado 20 min/2bar (e) leite concentrado 30 min/2bar.



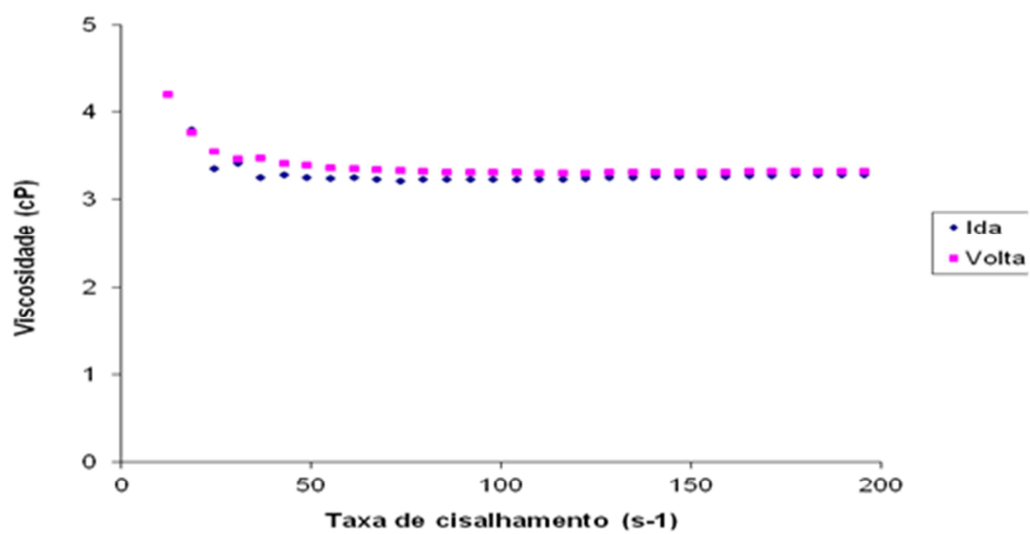
(a)



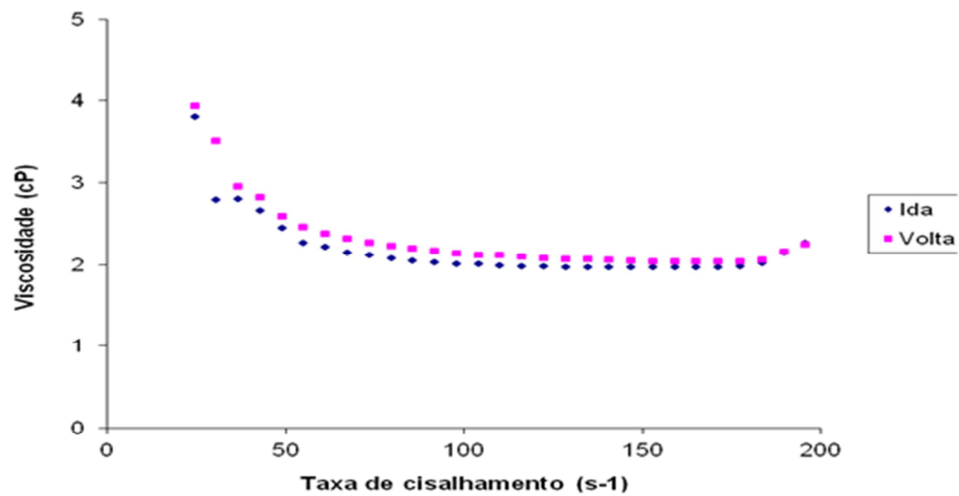
(b)



(c)



(d)



(e)

Com o aumento da concentração de sólidos totais ocorre aumento linear da viscosidade, segundo BIENVENUE et al. (2003), este comportamento é devido à diminuição do conteúdo de água, causando aumento da interação entre as micelas de caseína e diminuição da distância entre estas. Devido a este fato, o leite de ovelha apresenta maior viscosidade quando comparado ao leite de outras espécies, pois segundo RAMOS e JUAREZ (2011), a viscosidade do leite de ovelha situa-se na faixa de 2,86 a 3,93 cP, semelhante ao valor encontrado no presente estudo para o leite de ovelha integral de 2,86 cP.

Segundo MISTRY e MAUBOIS (2004) o processo de UF, promove mudanças na composição do leite, aumentando o teor de proteínas e minerais coloidais no retido, diminuindo o conteúdo de água, minerais, lactose, os quais são transmitidos através da membrana e encontrados no permeado. Estas mudanças promovem alteração nas propriedades reológicas do leite, promovendo aumento significativo nos valores de viscosidade, aumento do teor de gordura, proteína e minerais. Fato que foi observado para as amostras concentradas por 10, 20 e 30 min (Figura 25c, 25d e 25e).

Em estudo realizado por SANDRA et al., (2011), ao testar as propriedades reológicas de leite bovino ultrafiltrado, foi observado que para todas as amostras de leite (com fator de concentração de 1, 3 e 5 x), as amostras comportaram-se como fluidos newtonianos, ocorrendo um aumento de viscosidade com o aumento da percentagem, em volume, do teor de proteínas. No presente trabalho também ocorreu aumento da viscosidade com o aumento do teor de proteínas,

porém todas as amostras apresentaram comportamento de fluido não newtoniano. Este comportamento pode estar ligado ao fato do leite de ovelha apresentar maior teor de sólidos quando comparado ao de outras espécies (RAMOS e JUAREZ, 2011).

A viscosidade do leite e o seu comportamento reológico dependem principalmente do seu conteúdo de caseína e gordura. Outros constituintes do leite como a lactose e as proteínas do soro influenciam de forma relativamente pequena nas propriedades reológicas, sendo a viscosidade influenciada principalmente pelo estado e concentração de micelas de caseína, seguida pela gordura do leite (MCCARTHY, 2011). Comprovando esta afirmação, houve correlação expressiva entre a viscosidade e o teor de proteínas para as amostras de leite concentrado pelo processo de Ultrafiltração, sendo que o fator de concentração de proteína foi de 2,0; 2,7 e 4,0 para o tempo de concentração de 10, 20 e 30 min a 2 bar, respectivamente.

A análise de viscosidade em leite e produtos lácteos é importante para a determinação da taxa de transferência de calor e das condições de escoamento (DIMASSI et al., 2005). As propriedades reológicas são determinantes no *design* de equipamentos e operações unitárias das indústrias, tais como o bombeamento do leite, homogeneização, mistura, resfriamento, pasteurização, esterilização, entre outras (VÉLEZ-RUIZ; BARBOSA-CÁNOVAS, 1998). Além destes fatores o comportamento reológico de um alimento, esta diretamente ligado as propriedades sensoriais, as quais determinam a aceitabilidade do produto pelos consumidores (ZIMMERMANN et al, 2007).

5.3.2 Características físico-químicas do leite e frações concentradas por UF

A Tabela 4 apresenta os resultados de pH, acidez, lactose, gordura, proteína e minerais totais para as amostras leite desnatado, concentrado e permeado nas pressões de 1 bar e 2 bar (30 min).

Tabela 4- Teor de pH, acidez, lactose, gordura, proteína e minerais totais para as amostras de leite integral, desnatado, concentrado e permeado nas pressões de 1 e 2 bar obtidos no processo de Ultrafiltração com membrana de fibra oca.

	pH	Acidez	Lactose	Gordura	Proteína	Minerais
		(% m/v)	(% m/v)	(% m/v)	(% m/v)	(% m/v)
Leite	6,49 ^b	0,19 ^b	3,80 ^a	0,5 ^b	4,42 ^c	0,85 ^{bc}
desnatado	(±0,21)	(±0,21)	(±0,21)	(±0,21)	(±0,22)	(±0,32)
Concentrado	6,38 ^c	0,22 ^a	3,14 ^b	2,28 ^a	8,00 ^b	1,01 ^b
(1 bar)	(±0,30)	(±0,12)	(±0,11)	(±0,21)	(±0,33)	(±0,22)
Concentrado	6,33 ^c	0,25 ^a	3,12 ^b	2,23 ^a	17,86 ^a	1,15 ^a
(2 bar)	(±0,22)	(±0,41)	(±0,33)	(±0,23)	(±0,47)	(±0,23)
Permeado	6,65 ^a	0,05 ^c	1,57 ^c	0,08 ^c	0,21 ^e	0,29 ^d
(1 bar)	(±0,27)	(±0,22)	(±0,22)	(±0,33)	(±0,21)	(±0,21)
Permeado	6,62 ^a	0,06 ^c	1,70 ^d	0,03 ^e	0,12 ^f	0,30 ^d
(2 bar)	(±0,22)	(±0,31)	(±0,12)	(±0,17)	(±0,21)	(±0,22)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey).

Os valores de pH do leite ovino desnatado foi de 6,5, no entanto diferindo do leite concentrado nas pressões de 1 e 2 bar, onde obteve-se valores próximos a 6,3, indicando uma leve acidificação após o tratamento por UF. No processo de UF, devido ao leite permanecer a temperatura ambiente (22±2°C) por 30 min no sistema, ocorre maior retenção de caseína, fosfatos e outros componentes ácidos da matéria seca, o que favoreceu a leve acidificação do leite. O pH serve com indicador de fermentação do leite, esta ocorre devido a atividade metabólica dos micro-organismos, levando a diminuição do pH (NESPOLO, 2009).

Para o leite de ovelha SOUZA et al., (2005) obtiveram em um estudo realizado com ovelhas da raça Lacaune, na região de Roquefort, um pH de 6,6 para o leite integral, valor próximo ao encontrado para as diferentes amostras de leite (leite integral, leite desnatado e leite concentrado).

A porcentagem de acidez titulável aumentou significativamente com o processo de UF do leite, porém não diferindo entre os concentrados obtidos para as diferentes pressões (1bar e 2bar), fato que também está correlacionado com o pH. Os permeados apresentaram teores de acidez em torno de 0,05%. Segundo NARIMATSU et al., (2003) o leite ultrafiltrado é um meio o qual favorece o crescimento de cultura láctica, com a concentração do leite e o crescimento de bactérias lácticas ocorre um aumento da produção de ácido láctico ocasionando um aumento significativo nos teores de acidez .

Pode-se verificar na Tabela 4 que os teores de sólidos totais, principalmente, gordura e proteína são maiores no retido do que no permeado. Este comportamento é esperado durante o processo de UF. Segundo LEITE et al., (2006) nos processos de separação por membranas os componentes de baixa massa molar como lactose e minerais permeiam a membrana, já compostos de alta massa molar como proteínas e gorduras são retidas pela membrana aumentando assim a concentração de sólidos no retido.

A gordura é um componente muito importante do leite ovino, pois tem função nutricional e influencia nas características físicas e organolépticas. De acordo com SOUZA et al., (2005) estudos realizados com leite ovino da raça Corriedale obtiveram a média de 7,45 % de gordura para o leite, resultados este próximo ao encontrado no presente estudo (7,19 %) (valores não mostrados) para leite de ovelha antes da padronização. O leite desnatado inicialmente possuía 0,5 % de gordura e após a UF apresentou teores de gordura de 2,28% e 2,23% para as pressões de 1 e 2 bar, respectivamente , não apresentando diferença significativa. Nas amostras de permeado os valores de gordura ficaram na faixa de 0,08 e 0,03 %, diferindo estatisticamente entre si. Este resultado é esperado, pois durante a concentração do leite em um sistema de Ultrafiltração a gordura permanece retida no concentrado diminuindo assim os teores no permeado.

Com relação aos teores de lactose verifica-se que ocorreu uma redução significativa dos concentrados quando comparado ao leite desnatado. Este comportamento indica que a membrana de 10 kDa é permeável a esta molécula. Verifica-se que a passagem de lactose pela membrana ficou em torno de 50 % dos teores encontrados no leite ovino antes do processo de concentração. Segundo REKTOR E VATAI (2004) a retenção da lactose durante o processo de UF ocorre devido à formação da camada gel formada pela deposição de componentes retidos na superfície da membrana, principalmente, proteínas e sais, que ao longo do processo de ultrafiltração

exercem resistência hidráulica à passagem de água e de solutos com baixo peso molecular como a lactose.

Os teores de minerais variaram de 0,29 a 1,15%, sendo os maiores valores observados nas amostras de leite concentrado apresentando diferenças significativas das amostras de leite desnatado. Este comportamento está associado ao processo de ultrafiltração, o qual tende a aumentar os teores de minerais, pois minerais ligados a proteína, como por exemplo o fosfato de cálcio micelar, são retidos no processo de Ultrafiltração.

O teor de proteína variou de 4,4 (leite integral) a 17,9 % (concentrado pressão de 2 bar). Este comportamento está relacionado com a massa molar desta molécula. CATARINO et al., (2013) ao concentrarem de leite ovino desnatado por ultrafiltração usando temperatura de 32°C e pressão de 3 bar, obtiveram teores de proteínas que variaram de 50 a 100 g/kg. Estes valores são superiores aos obtidos neste estudo. Este comportamento pode estar relacionado a maior pressão (3 bar) e ao maior tempo de processo (3h) utilizado pelos autores.

Os concentrados proteicos obtidos por UF possuem características que contribuem para a elaboração de produtos tais como queijos e iogurtes, com alto teor proteico, maior rendimento e funcionalidade nutricional, além de promover melhorias nas características sensoriais.

5.4 Rendimento dos queijos

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para a avaliação do rendimento (kg de queijo/100kg de leite) para os diferentes tratamentos de queijo Tipo amanteigado de leite ovino

Tabela 5- Valores de rendimentos para os diferentes tratamentos de queijo Tipo amanteigado.

Tratamento	Rendimento (kg de queijo/100kg de leite)
1	15 ^b
2	14,8 ^b
3	17,7 ^a
4	18,2 ^a

* média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúscula na coluna não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey), **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Verifica-se na Tabela 5 que houve diferenças significativas para o rendimento nas amostras de queijo Tipo amanteigado, sendo os maiores valores observados nos tratamentos 3 e 4 elaborados a partir do leite ovino concentrado. O processo de ultrafiltração pode aumentar o rendimento na ordem de 7 a 20% devido aos maiores teores de gordura e proteínas que ficam retidas no leite concentrado. O processo de incorporação de soroproteínas para na fabricação de queijos proporciona uma maior retenção de água, o que torna o queijo mais macio, além de promoverem um aumento no rendimento e uma redução na produção de soro. Estes resultados indicam a possibilidade do uso do processo de ultrafiltração para a elaboração de queijos com maior rendimento além de um aumento do valor nutricional.

Em estudo realizado por ROSA et al., (2010) ao avaliarem o efeito da pré-fermentação e ultrafiltração nas características físico-químicas do queijo Tipo Prato, obtiveram maior rendimento nas amostras de queijo elaborado com leite concentrado (14,93%) em relação ao queijo Tipo Prato controle (12,96%). Os autores atribuem este maior valor devido ao processo de ultrafiltração o qual apresenta ligação direta com o aumento do rendimento de queijos.

5.5 Caracterização do queijo amanteigado

Neste item serão apresentados os resultados obtidos nas análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dos diferentes tratamentos de queijo amanteigado de leite ovino.

5.5.1 Umidade e voláteis - sólidos totais

A Tabela 6 apresenta os resultados do teor de umidade média para os queijos amanteigados de leite de ovelha no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento a 6 °C e 95 % UR.

Tabela 6- Teor de umidade para o queijo amanteigado de leite de ovelha no 1º, 15º e 30º de armazenamento.

Tratamento**	Umidade (% m/m)*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	56,80 ^{Ab} (±0,37)	47,18 ^{Bb} (±1,02)	44,94 ^{Cb} (±0,67)
2	56,19 ^{Ab} (±0,33)	48,91 ^{Bb} (±0,76)	45,08 ^{Cb} (±1,6)
3	57,91 ^{Aa} (±0,53)	56,73 ^{Ba} (±0,97)	52,45 ^{Ca} (±1,03)
4	57,72 ^{Aa} (±0,60)	56,80 ^{Ba} (±0,57)	52,23 ^{Ca} (±0,51)

* média ± desvio padrão seguida de letras iguais maiúsculas/minúscula nas linhas/colunas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey), **1 - Controle: coagulante enzimático (quimosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Verifica-se na Tabela 6 que houve variação nos teores de umidade ao longo do período de maturação, e consequentemente todos os tratamentos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos teores de umidade durante a maturação por 30 dias. Ressalta-se que os tratamentos 3 e 4 (com leite concentrado com 17,9% de proteína) apresentaram os maiores teores de umidade, ou seja, o aumento do teor de proteínas também promoveu um aumento no teor de umidade. Possivelmente este maior teor de umidade seja devido à absorção de água pelas soroproteínas retidas na membrana do sistema de Ultrafiltração, o que também foi relatado por CASTRO (2003) em amostras de queijos minas frescal produzidos com leite bovino ultrafiltrado. Consequentemente a incorporação de proteínas no queijo reduz a dessoragem da massa, o que também pode acarretar em um maior teor de umidade. Verifica-se que o uso de diferentes coagulantes (enzimático e vegetal) não apresentaram influencia significativa nos teores de umidade para os diferentes tratamentos de queijo amanteigado de leite de ovelha indicando que o coagulante vegetal (flor do cardo) possui potencial coagulante similar ao coagulante enzimático.

De acordo com o conteúdo de umidade (%) no 1º dia de armazenamento, todos os tratamentos apresentaram teores de umidade de 56,2 a 57,9%, classificando-se como queijo de muita alta umidade (superior a 55%) de acordo com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, Portaria n º 146, de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a). No 15º dia de armazenamento, os tratamentos 1 e 2 apresentaram teores de umidade entre 47,18 e 48,91% se enquadrando como queijo de alta umidade (46 a 54,9 %), já os tratamentos 3 e 4 apresentaram teor de umidade de 56,73 a 56,80 % classificando-se como queijo de muita alta umidade (acima de 55%). Aos 30 dias de armazenamento os tratamentos 1 e 2 apresentaram teores de umidade de 44,94 e 45,08 %, classificando-se como queijos de média umidade (36 a 45,9%) e os tratamentos 3 e 4 apresentaram teores de umidade de 52,45 e 52,23% de umidade, classificando-se como queijos de alta umidade (acima de 46 a 54,9%).

GUINÉ et al (2015), ao avaliarem as propriedades físico- químicas de amostras de queijo Serra da Estrela produzidos com 6 diferentes ecotipos de extrato de flor do cardo, obtiveram teores de umidade entre 40,15 % a 48,25 % no 30º dia de maturação. Segundo os autores a umidade, na maioria dos queijos é condicionada pela taxa e duração da sinérese e pela compactação da estrutura da caseína durante o processo de coagulação. Após a etapa de coagulação, os seguintes processos podem exercer influenciar nos teores de umidade: a

moldagem da massa, a prensagem, a salga e a redução do pH. Estes processos podem provocar uma considerável perda de umidade ao longo do período de maturação. Ao comparar os resultados de umidade (Tabela 4) nos tratamentos (2 e 4) elaborados com o coagualnte vegetal (flor do cardo), pode-se verificar que o tratamento 2 ao final do período de maturação apresentou teor de 45,18 %, valor este próximo ao obtido por GUINÉ et al (2015).

A umidade é necessária para as atividades metabólicas dos micro-organismos. Diminuindo o teor de umidade do queijo diminui também a fermentação da lactose (FEREIRA, 2004). O teor de umidade é um fator que afeta a fermentação aromática, além de afetar a consistência, e ter grande influência sobre as modificações físico-químicas que ocorrem ao longo do período de armazenamento e consequentemente afetam a maturação (FURTADO 2002).

PELLEGRINI et al (2012) obtiveram em queijo Pecorino fresco, Labneh e Feta teores de umidade de 33,62, 39,33 e 44, 93 % respectivamente sendo estes classificados de alta umidade, valores estes, inferiores aos encontrados neste estudo. Os valores encontrados para umidade nos tratamentos 3 e 4 também podem estar associados com o tamanho dos grãos da massa obtida de caseína, além do processo de concentração do leite por Ultrafiltração, o qual promove um aumento no teor de umidade devido a maior absorção de água pelas soroproteínas.

NESPOLO (2009) ao analisarem o teor de umidade em queijo fascal produzido com leite de ovelha integral encontraram valores de 57,3 % no primeiro dia de fabricação, valores próximos aos obtidos no primeiro dia das formulações.

BARROS E VIOTTO (2005) apresentaram em seu estudo um teor de 52,6 % de umidade para um queijo prato produzido com leite ultrafiltrado (no 30º dia de maturação). Sendo um percentual próximo aos obtidos nos tratamentos 3 e 4 aos 30 dias de maturação.

5.5.2 Minerais Totais

A Tabela 7 apresenta o teor médio dos minerais totais para as formulações de queijo amanteigado de leite de ovelha no 1º, 15º e 30º dia de maturação.

Tabela 7- Teor médio dos minerais totais (%_{b.u.}) para as formulações de queijo amanteigado de leite de ovelha no 1º, 15º e 30º dias de maturação.

Tratamento**	Minerais totais *		
	(% _{b.s.} m/m)		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	1,91 ^{Ab} (±0,27)	1,94 ^{Ab} (±0,53)	1,93 ^{Ab} (±0,26)
2	1,85 ^{Ac} (±0,32)	1,97 ^{Ab} (±0,22)	1,91 ^{Ab} (±0,33)
3	2,95 ^{Aa} (±0,52)	2,94 ^{Aa} (±0,32)	2,94 ^{Aa} (±0,42)
4	2,91 ^{Aa} (±0,34)	2,88 ^{Aa} (±0,22)	2,93 ^{Aa} (±0,41)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey); ** 1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo). b.u. – base úmida

Pode-se observar na Tabela 7 que a adição de coagulante vegetal não interferiu no conteúdo de minerais totais, pois não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos 1 e 2 e entre os tratamentos 3 e 4. Os maiores percentuais de minerais totais foram obtidos nos tratamentos 3 e 4, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos tratamentos 1 e 2, porém entre os dias maturação não foi verificado diferença significativa ($p > 0,05$). Isto demonstra que o processo de concentração do leite ovino através da UF ocasiona um incremento, também, no teor de minerais. Este resultado esta de acordo com estudo realizado por BARROS E VIOTTO (2005), que atribuíram o aumento no teor de minerais devido ao processo de UF, o qual influenciou no aumento do teor de sólidos pelo processo de concentração.

De acordo com NESPOLO et al., (2009) o teor de minerais totais observado em queijo Fascal foi de 2,33 % (base seca), no primeiro dia de fabricação. Observa-se que o teor de minerais do queijo em estudo é maior, principalmente do queijo produzido com leite concentrado. Este comportamento é esperado devido à etapa de Ultrafiltração que promove um aumento nos teores de cinzas. PELLEGRINI et al., (2013) ao analisarem o teor de minerais em queijo tipo Pecorino toscano encontraram um valor de 4,15 no primeiro dia de maturação, apresentando um índice menor aos queijos amanteigados produzidos com leite concentrado no 30º dia de maturação analisados neste estudo.

5.5.3 pH e acidez

Na Tabela 8 apresentam-se os valores de pH e acidez para as amostras de queijo amanteigado de leite de ovelha durante a o período de maturação.

Tabela 8 - Valores médios de pH e acidez dos queijos de leite de ovelha amanteigado no 1°, 15° e 30° dia de armazenamento.

Tratamento	pH			Acidez (% m/m)		
	1° dia	15° dia	30° dia	1° dia	15° dia	30° dia
1	6,82 ^{Aa} (±0,92)	5,74 ^{Ba} (±0,82)	5,73 ^{Ba} (±0,67)	0,40 ^{Bd} (±0,21)	1,05 ^{Ac} (±0,31)	1,03 ^{Ab} (±0,43)
2	6,13 ^{Ab} (±0,61)	5,63 ^{Bab} (±0,73)	5,62 ^{Bab} (±1,69)	0,67 ^{Bc} (±0,25)	1,29 ^{Ab} (±0,63)	1,22 ^{Ab} (±0,28)
3	6,00 ^{Ac} (±1,4)	5,53 ^{Bb} (±1,19)	5,54 ^{Bb} (±1,16)	1,17 ^{Bb} (±0,37)	1,61 ^{Aa} (±0,27)	1,60 ^{Aa} (±0,38)
4	5,71 ^{Ac} (±0,93)	5,55 ^{Bb} (±1,02)	5,53 ^{Bb} (±1,07)	1,50 ^{Ba} (±0,52)	1,64 ^{Aa} (±0,37)	1,62 ^{Aa} (±0,31)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey), **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

De acordo com a Tabela 8 verifica-se que as amostras de queijo fabricadas com o leite concentrado (tratamentos 3 e 4) apresentaram os menores valores de pH durante todo o período de armazenamento (30 dias), porém apresentando diferença significativa dos demais tratamentos somente no primeiro dia de maturação. Este comportamento pode ser explicado pelo tempo (30 min) e a temperatura (25°C) que o leite de ovelha permaneceu na membrana durante a concentração, o que proporcionou a maior acidificação do leite concentrado (Tabela 4) e também maior desenvolvimento de bactérias lácticas nos queijos (Tabela 14), sendo que as bactérias lácticas são responsáveis pela conversão da lactose em ácido láctico promovendo aumento da acidez e redução do pH, tanto do leite concentrado quanto do queijo. Este comportamento também foi verificado por NARIMATSU et al., (2003) em leite bovino ultrafiltrado. Para os teores de acidez houve um aumento significativo em todas as amostras do 1° para o 15° dia de armazenamento, ocorrendo uma pequena redução no 30° dia de armazenamento, indicando a ocorrência de proteólise pela ação das enzimas provenientes do coalho residual e as produzidas pelas bactérias lácticas.

Ao analisar os tratamentos 2 e 4, com a adição de coagulante vegetal, verifica-se que pH no 1º dia é menor, demonstrando que a flor do cardo proporciona uma leve acidificação no queijo, consequentemente estes tratamentos apresentaram os maiores valores de acidez. Este comportamento pode estar relacionado com o pH ácido apresentado pelo extrato da flor do cardo de 4,5. A porcentagem de acidez total titulável aumentou com a Ultrafiltração do leite. Como mencionado anteriormente o leite ultrafiltrado é um meio no qual favorece o crescimento das culturas lácticas, o que promove um aumento na quebra da lactose em ácido láctico tendo como consequência o aumento da acidez.

Em todos os tratamentos no 15º dia houve diferença significativa quando comparado ao primeiro dia, comportamento esperado já que as bactérias lácticas convertem a lactose (Tabela 13) em ácido láctico, e consequentemente diminuem o pH e a acidez aumenta.

Em queijo Serra da estrela produzido com diferentes ecotipos de flor do cardo, os valores de pH variaram de 4,82 a 5,43 (30º dia de armazenamento) (GUINÈ et al., 2015). Estes valores são similares ao encontrado no referido estudo para os tratamentos 2 e 4 coagulados pela flor do cardo onde os valores de pH encontrados no 30º dia de maturação, foram de 5,62 e 5,53 respectivamente.

MACEDO et al., (1994) destacam que o pH do queijo ovino é em torno de 5 a 5,8 e PELLEGRINI et al., (2013) ao estudaram queijo Pecorino toscano no seu primeiro dia de maturação obtiveram um pH de 5,89. Ao compará-lo com os queijos deste estudo pode-se observar comportamento similar.

5.5.4 Lipídeos

A Tabela 9 mostra a média da porcentagem de gordura presente nos queijos amanteigado de leite ovino durante a maturação.

Tabela 9 - Teores de gordura para as formulações de queijo ovino amanteigado no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento.

Tratamento**	Gordura (% b.u. m/m)*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	25,02 ^{Ab} (±1,17)	25,04 ^{Ab} (±1,11)	25,17 ^{Ab} (±1,02)
2	25,09 ^{Ab} (±0,94)	25,16 ^{Ab} (±0,82)	25,43 ^{Ab} (±1,07)
3	28,95 ^{Aa} (±0,97)	28,91 ^{Aa} (±1,08)	29,01 ^{Aa} (±1,01)
4	28,52 ^{Aa} (±0,68)	28,37 ^{Aa} (±0,43)	28,86 ^{Aa} (±0,81)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey). **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo). b.u- base úmida

Observa-se na Tabela 9 que houve diferença significativa no percentual de gordura entre as amostras de queijo amanteigados elaborados com o concentrado proteico (Tratamentos 3 e 4) em relação aos elaborados com leite integral (Tratamentos 1 e 2). Fato esperado, devido a etapa de Ultrafiltração o qual também retém moléculas de gordura. Para queijos elaborados com leite de ovelha coagulados por coagulante vegetal (Serra da Estrela e Mondegueira) os teores de gordura podem variar de 25 a 60 %. Todas as amostras analisadas apresentaram valores dentro do esperado para queijos amanteigados produzidos com leite ovino.

A gordura é um componente muito importante do leite ovino, pois tem função nutricional e influencia nas características físicas e organolépticas (SOUZA et al 2005).

NESPOLO et al., (2009) ao analisarem queijo do Tipo Fascal, observaram que o teor de gordura foi de 23% no primeiro dia de fabricação. Resultado semelhante aos obtidos para as amostras de queijos elaborados com leite integral (Tratamentos 1 e 2). Porém ao comparar com o queijo tipo Pecorino Toscano analisado por PELLEGRINI et al., (2013) que observaram um teor de gordura de 33,5 % no primeiro dia de maturação, observa-se valores superiores ao encontrado para as amostras de queijos amanteigados avaliados neste estudo (25,02 a 29,01%).

De acordo com o conteúdo de gordura dos queijos amanteigados de leite ovino (Tabela 8) são classificados em semi-gordos, pois o teor de gordura está na faixa de 25,0 a 44,9 %, classificação preconizada segundo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, Portaria n º 146, de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a).

5.5.5 Frações nitrogenadas

Neste item serão apresentados resultados de proteína total, frações da proteína na proteólise (Nitrogênio Solúvel Total -NST, expressos em índice de extensão e Nitrogênio Não Proteico – NNP expressos em índice de profundidade) e perfil de aminoácidos.

5.5.5.1 Proteína Total

A Tabela 10 apresenta os resultados para os teores de nitrogênio solúvel para as formulações de queijo ovino no primeiro dia de maturação.

Tabela 10 - Teores de proteína total para o queijo amanteigado ovino no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento.

Tratamento**	Proteína (% b.u)*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	18,67 ^{Bb} (±0,15)	19,48 ^{Ab} (±0,12)	19,73 ^{Ab} (±0,14)
2	18,87 ^{Ab} (±0,11)	18,34 ^{Bbc} (±0,16)	19,67 ^{Ab} (±0,12)
3	36,45 ^{Ba} (±0,04)	37,14 ^{Aa} (±0,10)	37,39 ^{Aa} (±0,04)
4	36,02 ^{Ba} (±0,31)	37,15 ^{Aa} (±0,22)	37,71 ^{Aa} (±0,23)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente a nível de 5% (Teste de Tukey). **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Observa-se na Tabela 10 que há diferenças nos percentuais quando comparados às amostras de queijos concentrados com as amostras de queijos produzidos com leite integral sem processo de concentração (Tratamentos 1 e 2). Este resultado era esperado devido à etapa de Ultrafiltração que retém compostos de alta massa molecular como gorduras e proteínas. Ao longo do período de armazenamento não foi verificada diferença significativa ($p > 0,05$) para os teores de proteína nos dias analisados.

GALAN et al., (2008) ao analisarem as características físico-químicas de queijo fabricado com leite de ovelha coagulado por coagulante enzimático e vegetal, observaram um maior teor de nitrogênio solúvel nas amostras de queijos elaborados com o coagulante vegetal (flor do cardo), os autores atribuíram este maior valor ao aumento da atividade proteolítica promovida pelas enzimas presentes no coagulantes vegetal. Nos resultados obtidos no presente

estudo pode-se verificar que além do processo de Ultrafiltração, as amostras de queijos coagulados pelo coagulante vegetal também apresentaram teores de nitrogênio solúvel ligeiramente maiores das amostras de queijo coaguladas pelo coagulante enzimático (quimiosina). Este comportamento pode estar associado ao poder coagulante da flor do cardo.

AGBOOLA et al., (2009), ao compararem queijo produzidos com leite ultrafiltrado coagulados com coagulante enzimático e coagulante vegetal (flor do cardo) também obtiveram valores maiores nos teores de proteínas e de nitrogênio solúvel para amostras de queijo coaguladas pelo coagulante vegetal, indicando assim influencia deste coagulante no aumento dos teores de proteína.

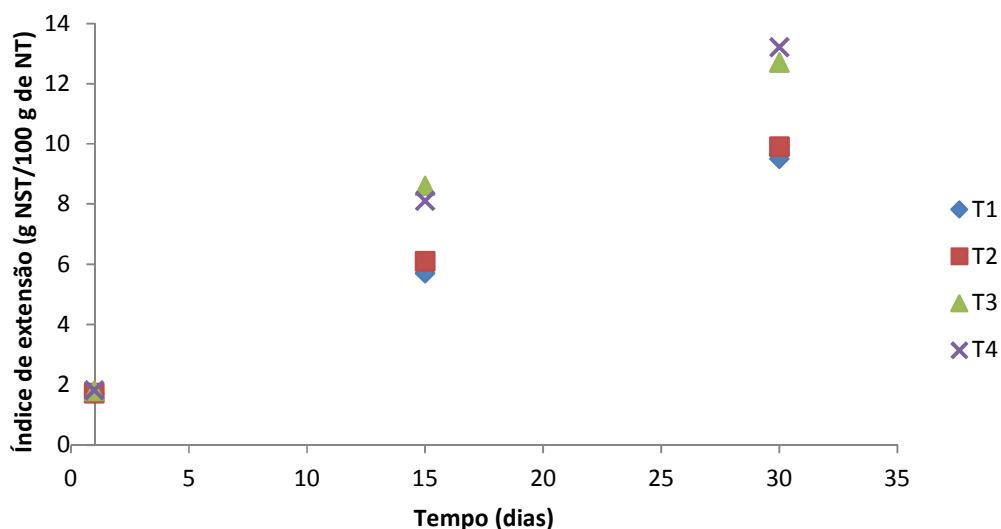
5.5.5.2 Índice de extensão e profundidade de Proteólise

Entre as reações bioquímicas que ocorrem durante a maturação de queijos, a proteólise é uma das mais importantes, a qual está diretamente relacionada com a ação de enzimas proteolíticas presentes de forma natural no leite e no agente coagulante que atua sobre a α 1-caseína e, em menor escala, sobre a β -caseína, dando origem a peptídeos de alta e média massa molar, sendo um fator indicativo da proteólise primária. Os principais fatores que influenciam a proteólise são a qualidade do leite, a relação umidade e sal no queijo, pH e a temperatura de maturação, quanto maior o tempo de maturação, mais intensa a proteólise (DE RENSIS et al, 2009; MOREIRA, 2011).

A extensão da proteólise esta diretamente relacionada com a ação de enzimas proteolíticas presentes de forma natural no leite e no agente coagulante que atua sobre a α 1-caseína e, em menor escala, sobre a β -caseína, dando origem a peptídeos de alto e médio peso molecular, sendo um fator indicativo da proteólise primária. Os principais fatores que influenciam a proteólise são a qualidade do leite, a relação umidade e sal no queijo, pH e a temperatura de maturação, quanto maior o tempo de maturação, mais intensa a proteólise (DE RENSIS et al, 2009; MOREIRA, 2011).

A Figura 26 (Apêndice 02 Tabela 15) apresenta a evolução do índice de extensão de proteólise para os queijos amanteigados durante o período de armazenamento.

Figura 26 - Evolução do índice de extensão de proteólise nos queijos amanteigados durante o período armazenamento



Verifica-se na Figura 26 que para os tratamentos 3 e 4 o índice de extensão de proteólise foi superior ao obtido nos tratamentos 1 e 2, ocorrendo um aumento com a evolução do período de maturação, onde os valores foram de aproximadamente de 12,7, 13,2 e 9,5 ; 9,9 g NST/100 g NT no 30º de armazenamento para os tratamentos 3-4 e 1 e 2, respectivamente.

O processo de incorporação de soroproteínas pode afetar a proteólise primária, que tende a diminuir com o aumento do fator de concentração devido à inibição das enzimas proteolíticas presentes no coalho. Neste estudo, observa-se que a concentração das proteínas do leite não inibiu a ação do coalho, pois os maiores índices de proteólise primária foram observados nos tratamentos elaborados com leite ovino concentrado. Este comportamento pode estar associado com os maiores índices de umidade obtidos nos referidos tratamentos. Os maiores teores de umidade promovem um aumento nos índices de glicólise e proteólise.

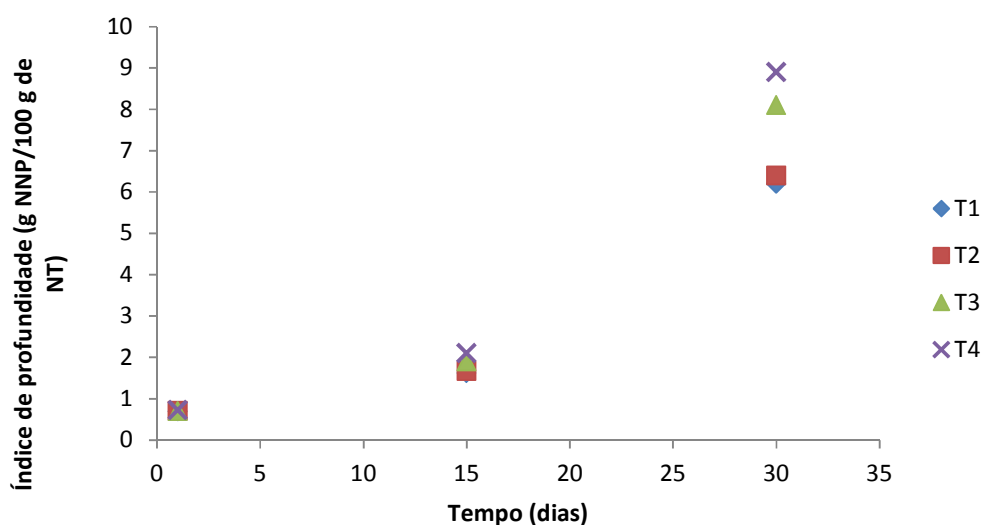
CARDOSO (2011) ao avaliar as características físico-químicas e da maturação em Queijo Amarelo e Queijo Picante da Beira Baixa DOP (queijo típico de Portugal produzido a partir de leite de ovelha cru) obteve valores superiores para o índice de proteólise. No 30º dia de armazenamento o referido autor obteve valor de 23 g NST/100 g de NT, valor este superior aos obtidos nos tratamentos 3 e 4, no 30º dia de armazenamento. Um dos fatores que os autores atribuem à proteólise em queijo amarelo e picante de Beira Baixa DOP é devido a estes queijos

serem elaborados com leite cru de ovelha, que dependendo da qualidade e quantidade de microrganismos e enzimas nativas podem promover uma baixa ou alta atividade microbiana no queijo, influenciando no desenvolvimento da proteólise dos mesmos.

O índice de profundidade da proteólise está ligado diretamente com a presença de enzimas proteolíticas provenientes de microrganismos resultantes das culturas lácteas empregadas e as presentes no próprio leite, que hidrolisam os peptídeos de alta massa molar resultando em peptídeos de baixa massa molar, sendo este um fator indicativo de proteólise secundária (DE RENSIS et al, 2009; MOREIRA, 2011).

A Figura 27 (Apêndice 02 TABELA 16) apresenta o perfil de evolução do índice de proteólise durante o período de maturação (1º, 15º e 30º dia) dos queijos amanteigados. O índice de profundidade da proteólise está ligado diretamente com a presença de enzimas proteolíticas provenientes de microrganismos resultantes das culturas lácteas empregadas e as presentes no próprio leite, que hidrolisam os peptídeos de alto peso molecular resultando em peptídeos de baixo peso molecular, sendo este um fator indicativo de proteólise secundária (DE RENSIS et al., 2009; MOREIRA, 2011), fato que é verificado no presente estudo no 30º dia de maturação (Figura 27).

Figura 27 - Evolução do índice de profundidade de proteólise para os queijos amanteigados durante o período de armazenamento.



O maior valor obtido para o índice de profundidade de proteólise foi de 8,9 g NNp/100 g de NT no tratamento 4. Este comportamento pode estar relacionado ao alto teor de umidade e o maior desenvolvimento das bactérias lácticas (Tabela 14) obtidos no referido tratamento, que liberaram enzimas proteolíticas que, atuando junto com o coalho vegetal, podem atuar no aumento da proteólise.

5.5.5.3 Perfil de aminoácidos

O perfil dos aminoácidos livres para os tratamentos de queijo amanteigado durante o período de maturação são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Perfil de aminoácidos das formulações de queijo amanteigado durante a maturação.

Aminoácidos (mg)	Tratamento 1		Tratamento 2		Tratamento 3		Tratamento 4	
	1º dia	30º dia	1º dia	30º dia	1º dia	30º dia	1º dia	30º dia
Arginina	1,55	1,67	1,25	1,52	0,80	1,41	0,70	1,47
Serina	2,85	3,11	2,41	3,02	1,28	4,57	1,85	4,33
Ácido Aspártico	6,88	4,41	5,71	3,11	2,94	2,37	4,28	3,41
Ácido Glutâmico	2,28	2,98	2,05	2,87	1,07	3,06	1,56	3,11
Treonina	1,58	0,91	1,36	0,89	0,70	-	0,99	-
Alanina	4,38		3,65		1,92		2,85	
Prolina	1,05	2,21	0,91	2,02	0,28	3,17	0,60	3,11
Metionina	3,06	3,31	2,63	3,12	1,37	3,91	2,01	4,02
Valina	2,42	2,97	2,01	3,13	0,95	3,12	1,44	3,17
Leucina	7,71	3,01	-	-	-	-	-	-
Fenilalanina	-	1,03	-	1,07	-	2,11	-	3,07
Lisina	4,00	-	-	-	-	-	2,28	-

Tratamento 1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); Tratamento 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); Tratamento 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); Tratamento 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo). b.u- base úmida

Verifica-se na Tabela 11 que houve grande variação nos teores de aminoácidos nas diferentes amostras de queijo ovino amanteigado. Os principais aminoácidos livres encontrados no primeiro dia de fabricação dos queijos amanteigado foram o ácido aspártico, a leucina

(somente para queijo integral elaborado com coagulante enzimático no tratamento 1) e alanina (presente em todas as amostras). Observa-se que no 1º dia de armazenamento o aminoácido fenilalanina não foi identificado nos tratamentos. No 30º dia de armazenamento, ocorreu um aumento no teor dos aminoácidos ácido glutâmico, prolina, metionina, valina e serina, sendo os maiores valores observados nos tratamentos 3 e 4. Esta tendência pode estar correlacionada a UF, e ao fato de se ter verificado maior índice de proteólise primária no 30º de maturação, sendo esta responsável por um aumento do teor de peptídeos favorecendo a ação das aminopeptídeos e exopeptídeos de origem microbiana (RODRIGUES, 2009).

CURTIS et al (2000) ao analisarem o perfil de aminoácidos de queijo tipo Grana Padano durante a maturação (6 a 18 meses) verificaram um aumento nos teores de serina, metionina e fenilalanina, enquanto que os teores de glutamato, leucina e valina diminuíram.

Pode-se verificar nas Figuras 26 e 27 que os tratamentos 3 e 4 apresentaram os maiores índices de proteólise, sendo que os referidos tratamentos também apresentaram os maiores teores de prolina e serina. Estes aminoácidos são responsáveis pelo desenvolvimento de doçura em queijos. Este fato pode estar relacionado às maiores notas atribuídas a estes tratamentos na análise sensorial (Tabela 15), onde pode-se observar as maiores notas atribuídas no requisito aceitação, sabor e textura nos referidos tratamentos.

TAVARIA et al (2003) ao avaliarem o teor de aminoácidos livres de queijo serra da estrela no primeiro dia de maturação, encontraram os maiores teores tirosina (12,86 mg), Leucina (12,75 mg), valina (8,44 mg) e triptofano (8,10 mg) e os menores valores de histidina (0,18 mg), serina (0,19 mg) e ácido aspártico (0,95 mg).

A concentração dos diferentes aminoácidos num queijo está relacionada com a tecnologia de fabricação (tipo de coagulação, a adição de proteases, condições de maturação entre outros), a duração da maturação e da extensão e tipo de proteólise.

5.6 Características microbiológicas dos queijos amanteigados

Para avaliar as condições higiênicas de processamento e as Boas Práticas de Fabricação das amostras de queijo, foram realizadas as análises de contagem de Coliformes a 45°C e *Staphylococcus aureus* no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento. A análise de contagem de bactérias lácticas foi

realizada para avaliar a evolução do crescimento das bactérias láticas ao longo do processo de maturação.

5.6.1 Contagem de Coliformes

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos para a contagem de coliformes termotolerantes, para as amostras de queijo no 1º, 15º e 30º de maturação.

Tabela 12 - Contagem de Coliformes termotolerantes no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento nas amostras de queijo ovino amanteigado

Tratamento**	Coliformes termotolerantes*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	1,30 ^{Aa} (±0,22)	1,30 ^{Aa} (±0,11)	1,0 ^{Aa} (±0,12)
2	1,48 ^{Aa} (±0,11)	1,30 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,21)
3	1,30 ^{Aa} (±0,23)	1,0 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,21)
4	1,30 ^{Aa} (±0,27)	1,0 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,11)

média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey), **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Os Coliformes totais são indicadores da qualidade sanitária no processamento. Segundo a ANVISA, de acordo com a resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001, o limite máximo permitido para coliformes 45°C em queijos de alta umidade é de $5,0 \times 10^3$ UFC/g (10^4 log UFC/g). Verifica-se na Tabela 12 que para a contagem de Coliformes termotolerantes todas as amostras apresentaram contagens dentro dos padrões preconizados pela legislação vigente.

5.6.2 *Staphylococcus aureus*

A Tabela 13 apresenta a contagem de *Staphylococcus aureus* o queijo ovino amanteigado durante o período de maturação.

Tabela 13 - Contagem de *Staphylococcus aureus* no 1º, 15º e 30º dia de armazenamento nas amostras de queijo ovino amanteigado.

Tratamento**	<i>Staphylococcus aureus</i> (log/UFC)*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	1,0 ^{Aa} (±0,11)	1,0 ^{Aa} (±0,22)	1,0 ^{Aa} (±0,11)
2	1,0 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,11)	1,0 ^{Aa} (±0,33)
3	1,0 ^{Aa} (±0,11)	1,0 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,11)
4	1,0 ^{Aa} (±0,23)	1,0 ^{Aa} (±0,17)	1,0 ^{Aa} (±0,22)

média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey). **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Para contagem *Staphylococcus aureus* não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos tratamentos analisados durante o período de armazenamento, sendo que todas as amostras apresentaram contagens de 10^1 log UFC/g. Estes resultados estão de acordo com a resolução RDC 12 que apresenta como limite máximo permitido 10^3 log UFC/g.

5.6.3 Contagem de bactérias lácticas

A Tabela 14 apresenta a contagem de bactérias lácticas para os diferentes tratamentos de queijo amanteigado ovino durante o período de armazenamento.

Tabela 14 - Contagem de Bactérias Lácticas para as amostras de queijo ovino amanteigado durante a maturação.

Tratamento**	Bactérias Lácticas (log UFC/g)*		
	1º dia	15º dia	30º dia
1	8,64 ^{Aa} (±0,61)	8,71 ^{Ab} (±0,33)	8,67 ^{Ab} (±0,21)
2	8,62 ^{Aa} (±0,77)	8,72 ^{Ab} (±0,42)	8,72 ^{Ab} (±0,65)
3	8,70 ^{Ba} (±0,97)	9,77 ^{Aa} (±0,91)	9,72 ^{Aa} (±0,91)
4	8,76 ^{Ba} (±0,47)	9,77 ^{Aa} (±0,11)	9,76 ^{Aa} (±0,83)

média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas/maiúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey). **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Observa-se na Tabela 14 que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na contagem de bactérias lácticas do 1º para o 15º dia em todos os tratamentos mantendo-se constantes no 30º dia de armazenamento, sendo que as maiores contagens foram observadas nos tratamentos 3 e 4. Os quais apresentaram diferenças significativas quando comparadas aos tratamentos 1 e 2 com exceção ao 1º dia de armazenamento. As bactérias presentes no leite, sobreviventes do tratamento térmico, podem ser retidas pelas membranas durante o processo de Ultrafiltração, sendo concentradas na mesma proporção da redução do volume obtido no processo, além disso, o leite ultrafiltrado é um meio que favorece o crescimento de cultura láctica (tempo de 30 min e temperatura de 25°C), com a concentração do leite o crescimento e a produção de ácido aumentaram (Tabela 8). Além do maior teor de proteínas (Tabela 10), os tratamentos 3 e 4 apresentaram os maiores teores de umidade (Tabela 6), possivelmente estes fatores podem ter favorecido o crescimento das bactérias lácticas.

SILES (2005) avaliando amostras de queijo tipo Manchego produzido com coagulante animal e coagulante vegetal, verificaram que não houve diferenças significativas nas contagens de bactérias lácticas, sendo que os maiores valores foram observados no 30º dia de armazenamento ($\sim 10^9$ log UFC/g). Este comportamento foi similar ao observado no presente trabalho, onde não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas amostras de queijo elaborado com coagulante animal e coagulante vegetal.

A presença das bactérias lácticas pode ter sua origem no leite destinado à produção do queijo ou pela adição de cultura láctica durante o processamento do produto. O seu crescimento ocasiona o aumento da acidez pelo fato de fermentarem a lactose e formarem ácido láctico. As bactérias lácticas são responsáveis pelas transformações bioquímicas de lipídios e proteínas em diferentes compostos desenvolvendo *flavor*, caracterizando o produto final quanto ao sabor, aroma e textura (ESKIN, 1990; PERRY, 2004; MEIRA, 2011).

5.7 Análise Sensorial

A Tabela 15 apresenta os resultados para os atributos sensoriais (aceitação geral, sabor e textura) queijo ovino amanteigado, no 30º dia de armazenamento a 6°C e 95% UR.

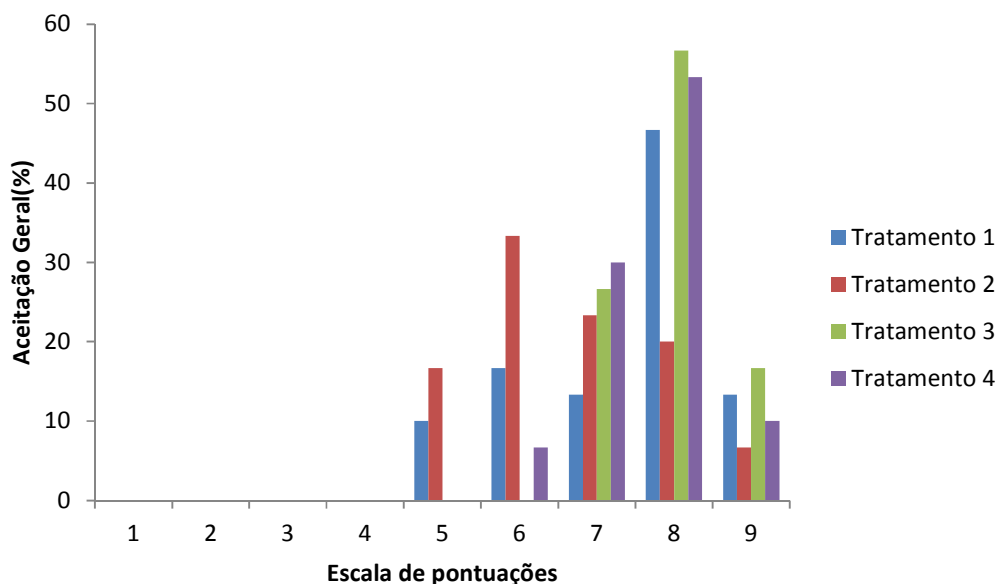
Tabela 15 - Atributos sensoriais de aceitação geral, sabor e textura do queijo Amanteigado para o 30 ° de armazenamento a 6 °C e 95% UR.

Tratamento**	Atributos*		
	Aceitação	Sabor	Textura
1	7,03 ^c (±1,03)	7,13 ^b (±1,04)	7,47 ^b (±0,91)
2	7,30 ^b (±1,04)	7,17 ^b (±0,82)	7,73 ^b (±0,76)
3	8,17 ^a (±1,07)	8,13 ^a (±0,67)	8,43 ^a (±1,15)
4	8,27 ^a (±1,03)	8,33 ^a (±1,03)	8,63 ^a (±1,07)

*média ± desvio padrão seguida de letras iguais minúsculas nas colunas/linhas não diferem estatisticamente á nível de 5% (Teste de Tukey). **1 - Controle: coagulante enzimático (quimiosina); 2 - Coagulante vegetal (flor do cardo); 3- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante enzimático (quimiosina); 4- Concentrado (17,9 % de proteína) e coagulante vegetal (flor do cardo).

Verifica-se na Tabela 15 que a aceitação geral, sabor e textura dos queijos ovino amanteigados aos 30 dias de armazenamento, nos tratamentos 3 e 4 apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) dos tratamentos 1 e 2, com médias de pontuação em torno de 8,1, e 8,5 respectivamente), correspondendo na escala de pontuação (hedônica) ao gostei muito. Estes resultados podem ser melhores visualizados pelo histograma de frequência (Figura 28), onde observa-se que os tratamentos 4 (queijo amanteigado produzido com leite concentrado e flor do cardo) e 3 (queijo amanteigado produzido com leite concentrado e quimiosina) apresentaram as maiores pontuações para a aceitação geral, com índices de aceitação de 92 e 91 %, respectivamente.

Figura 28- Histograma de frequência para Aceitação geral para o 30º dia de armazenamento (9 - gostei muitíssimo, 8 - gostei muito, 7 - gostei moderadamente, 6 - gostei ligeiramente, 5 - nem gostei / nem desgostei, 4 - desgostei ligeiramente, 3 -desgostei moderadamente, 2 - desgostei muito, 1 - desgostei muitíssimo).



Este comportamento pode estar relacionado à maior capacidade proteolítica das enzimas e da concentração das proteínas, que promove um aumento na produção de aminoácidos, tais como ácido glutâmico, prolina, metionina, valina, serina e outros, (Tabela 11), característicos no desenvolvimento do sabor dos queijos. Alguns aminoácidos são responsáveis pelo desenvolvimento do sabor, como por exemplo, a arginina que proporciona amargura e, a prolina e serina proporcionam doçura. A prolina é um dos principais aminoácidos presentes na β -caseína, onde foi verificado um aumento no 30º dia de maturação para os tratamentos 3 e 4 (Tabela 10).

Além disso, os maiores valores obtidos para o quesito sabor nos tratamentos elaborados com o leite concentrado podem ser atribuídos ao maior índice de proteólise (Figuras 26 e 27) que promove um aumento na produção de aminoácidos ligados ao desenvolvimento de sabor nos queijos.

Em relação à textura, um dos fatores que podem ter influenciado nas maiores pontuações aos tratamentos 3 e 4 podem estar associados aos maiores teores de umidade, proteína e proteólise. A umidade promove a diluição e redução das ligações na matriz proteica favorecendo a redução da dureza nos queijos. E há uma relação direta entre a proteólise e cremosidade, devido

à desintegração da rede de caseínica numa estrutura mais homogênea promovendo maciês no produto (SILES, 2005).

A textura é considerada uma característica importante usada principalmente para diferenciar e classificar as variedades de queijos e é considerada pelos consumidores como uma referência na qualidade e preferência (KEALY, 2006).

O emprego da flor do cardo não afetou as características sensoriais do queijo quando comparado aos elaborados com coagulante de origem enzimático (quimiosina). Desta forma, este coagulante apresenta potencial de aplicação para elaboração de queijos à base de leite de ovelha concentrado.

A Ultrafiltração proporcionou a concentração principalmente de proteínas e gorduras do leite, e desta forma favorecendo a proteólise e possivelmente, também, a lipólise do queijo. Estas características proporcionaram incrementos detectáveis sensorialmente (aceitação, sabor e textura) pelos provadores.

6 Conclusões

A seguir apresentam-se as principais conclusões obtidas no presente estudo:

- A tendência ao *fouling* a 2 bar para membrana de fibra oca (escala piloto) foi de aproximadamente 43,9% sendo que o aumento da temperatura não apresentou influência significativa na redução do fenômeno de *fouling*.
- A Ultrafiltração em membrana de fibra oca a 2 bar e 25°C, utilizando leite de ovelha desnatado proporcionou uma concentração de proteínas e de gordura de aproximadamente 4 vezes maior ao obtido para o leite integral.
- Os queijos amanteigados, elaborados com leite ovino concentrado (18% de proteína e 2,2% de gordura), no 30º dia de maturação, foram classificados como queijos de alta umidade (~52%) e semi-gordos (25% de gordura), além disso, apresentaram maior proteólise (9 - 13g NST/100 g NT e 7-9 g NNp/100 g de NT) e características sensoriais (aceitação, sabor e textura) superiores.
- O processo de Ultrafiltração promoveu um aumento no rendimento dos queijos Tipo amanteigado de aproximadamente de 15% quando comparado às amostras de queijo elaboradas com leite integral e redução na produção do soro de aproximadamente 17%.
- O coagulante vegetal (flor do cardo) não afetou as características sensoriais do queijo quando comparado aos elaborados com coagulante quimosina. Assim, o extrato de flor do cardo torna-se um coagulante alternativo e com potencial de aplicação para elaboração de queijos.
- A partir dos resultados obtidos na caracterização físico-química, microbiológica e sensorial dos queijos produzidos com leite ovino concentrado, pode-se concluir que o processo de ultrafiltração e o uso de coagulante vegetal podem ser utilizados para a elaboração de queijo ovino tipo amanteigado, sem a perda do seu padrão de qualidade.

7 Sugestões para trabalhos futuros

- Caracterização físico- química dos extratos da flor do cardo
- Estudo do poder coagulante de diferentes concentrações da flor do cardo
- Elaboração de queijos leite ultrafiltrado com diferentes fatores de concentração
- Avaliar de forma mais aprofundada a evolução da proteólise e as diferentes frações nitrogenados
- Realizar análise sensorial com provadores treinados
- Realizar análise de custo/benefício na utilização da Ultrafiltração na elaboração de derivados de leite.
- Avaliar as características físico-químicas do soro obtido do queijos elaborados com o leite concentrado.

REFERÊNCIAS

AGBOOLA, S O; CHAN, H. H; ZHAO, J; REHMAN, A. Can the use of Australian cardoon (*Cynara cardunculus* L.) coagulant overcome the quality problems associated with cheese made from ultrafiltered milk? **Food Science and Technology**, v 42, p.1352–1359, 2009

ALMEIDA, D.; VENTURA,D.; PEREIRA, D.;LAGES, S. Produção de queijo serra da estrela. Processamento Geral de Alimentos. Escola Superior Agrária. Instituto Politécnico de Coimbra, 2010.

AKOUM, O., JAFFRIN, M.Y., DING, L.U. Concentration of total milk proteins by high shear ultrafiltration in a vibrating membrane module. **Journal of Membrane Science**, n. 247, p. 211–220, 2005.

ANTONIOU, D; KIOULAFI,P ; SAKELLAROPOULOS, G. Studies on the application of ultrafiltration for the manufacture of Teleme cheese. **Milchwissenschaft**, v. 50, n. 10, p. 560-565, 1995.

ANVISA. Agência Nacional de vigilância Sanitária, Ministério da Saúde, Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

ARCOLSA. **Queijo de azeitão**. Disponível em <http://www.arcolsa.pt/home.htm>. Acessado dia 08/10/2013.

BALDASSO, C. Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas. Dissertação de Mestrado apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de engenharia- departamento de engenharia química. Porto Alegre, 2008

BALDASSO, C.; BARROS, T.C.; TESSARO, I.C. **Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration**. Desalintion, 2011.

BASSETI, F. J. Preparação, caracterização e aplicação de membranas poliméricas microporosas assimétricas. Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Química. Campinas- SP, 2002.

BARROS, C. M. V. Uso de culturas adjuntas e ultrafiltração para melhoria de sabor e textura de queijo prato com reduzido teor de gordura. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos. Campinas- SP, 2005.

BARROS, A. C. B. B; MARTINS, A. P. L. **Avaliação da aptidão tecnológica do leite de ovelha para o fabrico de Queijo de Azeitão DOP.** Lisboa, 2012.

BENFELDT, C. Ultrafiltration of cheese milk: Effect on plasmin activity and proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 600–608, 2006.

BIENVENUE, A., JIMÉNEZ-FLORES, R., SINGH, H. Rheological properties of concentrated skim milk: importance of soluble minerals in the changes in viscosity during storage. *Journal of Dairy Science* 86:3813–3821, 2003.

BORGES, C.P., NOBREGA, R., HABERT, A. C. Escola Piloto em Engenharia Química, **Processos de Separação com Membranas**, 1997.

BRANS G.,SCHRO“EN 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*, n. 243. p. 263–272, 2004.

BRASIL. Portaria n º 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos lácteos. O Ministério de Estado da Agricultura e Abastecimento e da Reforma Agrária institui: **Regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos**. Diário Oficial da União, Brasília, 11 março, 1996. Seção 1.

Disponível em <http://www.agricultura.gov.br>. Acessado em 12/11/2013.

BRITO, M. A. **Variação dos perfis metabólico, hematológico e lácteo de ovinos leiteiros em confinamento..** Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2004.

BURITI, F. C. A; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1279-1288, 2005

CAMPOS, L. Aspectos benéficos do leite de ovelha e seus derivados. **Pesquisa técnico científica, Casa da Ovelha, janeiro de 2011.**

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

CASTRO, C. C. S. Utilização de concentrado proteico do leite na fabricação de queijo Minas Frescal. Tese apresentada à universidade Federal de Viçosa como requisito parcial para obtenção do grau de *Magister Scientiae*. Viçosa- Minas Gerais, 2003.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. Lancaster, 1998. Technomic Publishing Company, Inc. 527 p.

CICHOSKI, A. J.; STEFFENS, C. BERTOLDI, C. Bactérias lácticas e mesófilas, lactose, acidez, pH, atividade de água, umidade e cloretos em queijo prato elaborado com leite semidesnatado concentrado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.62, n. 355, p. 12-19, 2007.

CUNHA,C. R; VIOTTO,W. H; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat‘Minas Frescal’ cheese manufacture: Effect on composition,proteolysis,

viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, n. 16, p. 215–224, 2006.

CUNHA,T.M; CASTRO,F.P; BARRETO, P. L. M; BENEDET, H. D; PRUDÊNCIO, E.S. Avaliação físico-química, microbiológica e reológica de bebida láctea e leite fermentado adicionados de probióticos. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 29, n. 1, p. 103-116, jan./mar. 2008.

CUNHA, FERNANDA LIMA; CONTE JUNIOR, CARLOS ADAM; LAZARO CÉSAR AQUILES; SANTOS,LUCAS RABAÇA; MÁRSICO, ELIANE TEIXEIRA; MANO, SÉRGIO BORGES. Determinação de aminas biogênicas em diferentes tipos de queijos por cromatografia líquida de alta eficiência. *Rev Inst Adolfo Lutz*; 71(1):69-75, 2012.

CURTIS,S.A.; CUINIR, M.; BROSIO, E.; D’ASCENZO F.;BOCCA, B. Amino acid profile in the ripening of Grana Padano cheese: a NMR study. **Food Chemistry**, V. 71, p. 495- 502, 2000.

DEBON, J. Emprego da microfiltração tangencial na obtenção de leite fermentado prebiótico. Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, SC, 2009.

DEKKER, M.; MAROULIS, Z.B.; SARAVACOS, G.D. **Food Process Design**. New York, Cap. 10. 2003.

DE RENSIS, C. M. V. B; PETENATE, A. J; VIOTTO, W. H. Caracterização físico-química, reológica e sensorial de queijos tipo Prato com teor reduzido de gordura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(3): p. 488-494, jul.-set. 2009.

DIAS, N, F, G, P. Propriedades imunoestimulatórias e antitumoral de concentrados protéicos de soro de leite bovino, de caseína e de um isolado protéico de soja. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Alimentos e Nutrição. Campinas- SP, 2004.

Dores, M. A; FERREIRA, C. L. L. F. QUEIJO MINAS ARTESANAL, TRADIÇÃO CENTENÁRIA: AMEAÇAS E DESAFIOS. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v.2, n.2., p.26-34, Dezembro, 2012.

DIAMANTINO, Íris Martins. Efeito de substitutos de gordura na qualidade de queijo Prato com reduzido teor de gordura. 2011. 68 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/99044>>. Acessado em 25/08/2015.

DOMAGALA,J., KUPIEC, B.E. Changes in texture of yoghurt from ultrafiltrated goat's milk as influenced by different membrane types. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities**, Food Science and Technology, Volume 6, Issue 1, 2003.

DUTCOSKY, Silvia Deboni. **Análise sensorial de alimentos**. 3 ed. Curitiba: Champagnat, 2011

EMMONS, D. B. Definition and expression of cheese yield. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Factors affecting the yield of cheese**. Brussels, 1993.cap. 2, p.12-25. (International Dairy Federation, Special Issue n.9301).

ESPINA, V.; JAFFRIN, M.Y.; DING, L.; CANCINO, B. **Fractionation of pasteurized skim milk proteins by dynamic filtration**. Food Research International, 2010. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/doodres>. Acesso em 22/05/2013.

ESKIN, M. N. A. Biochemistry of foods. 2 ed. London: Academic Press, p.557, 1990.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2014. Site:<http://www.fao.org/corp/statistics/es/>

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos São Paulo, Editora Atheneu, p. 187, 2005.

FREITAS C, MALCATA FX. Microbiology and biochemistry of cheeses with Appellation d'Origine Protegee and manufactured in the Iberian Peninsula from ovine and caprine milks. **Journal of Dairy Science**. 2000; 83:584-602.

FEREIRA, C. L. L. F. Fatores que afetam o crescimento de microrganismos em queijo. **Revista leite e derivados**, n. 76, p. 90-96, 2004.

FERREIRA, E. S. V. Implementação da norma ISO 22000:2005 numa Indústria de produção de queijo de Azeitão – DOP. Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia Alimentar e Qualidade. Lisboa, 2010.

FILHO, W. P. C; CAMARGO, A. M. M .P; CAMARGO, F. P. Mercado de alcachofra no estado de são paulo e viabilidade da produção orgânica. **Informações Econômicas**, SP, v.39, n.4, abr. 2009.

FOX, P. F.; LUCEY, J. A.; COGAN, T. M. Glycolysis and related reactions during manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food in Science and Nutrition*,v.29, n.4,p.237-253, 1990.

FOX, P. F., GUINEE, T. P., COGAN, T. M., MCSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of Cheese Science**. Gaithersburg Maryland: An Aspen Publication, Inc. 587p. 2000.

FOX. P.F; MCSWEENEY. P.L.H. Cheese: An Overview. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, Third edition - Volume 1: General Aspects. Department of Food and Nutritional Sciences, University College, Cork, Ireland, 2004.

FURTADO, M. M. A formação de olhaduras em queijos semiduros através da fermentação de citratos. **Revista indústria de laticínios, São Paulo**, p. 32-39, jul./ago. 2002.

FURTADO, M. M. **Queijos finos maturados por fungos**. São Paulo: Milkbizz, 2003. 128 p.

GARCÍA, V; ROVIRA, S; TERUEL, R; ROA, I; LÓPEZ, M.B. Empleo de coagulantes vegetales en leche de cabra. *AN. VET. (MURCIA)* 27: 73-84 (2011).

GARDE, S; TOMILLO,J; GAYA, P; MEDINA,M AND NUÑEZ, MANUEL. Proteolysis in Hispánico Cheese Manufactured Using a Mesophilic Starter, a Thermophilic Starter, and Bacteriocin-Producing *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* INIA 415 Adjunct Culture. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 3479-3485, 2002.

GIRARD, B.; FUKUMOTO, L. R. Membrane Processing of Fruit Juices and Beverages: A Review. **Critical Reviews in Biotechnology**, 20 (2): 109-175, 2000.

GUIMARÃES, E. C. B. T. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para o controle químico da qualidade de fitoterápicos à base de extrato seco de alcachofra. Dissertação submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre. Rio de Janeiro, 2007.

GUINÉ, R. P.F; TENREIRO, M. I; CORREIA, A. C; BARRACOSA, P; CORREIA, P. M. R. Effect of Thistle Ecotype in the Physical-Chemical and Sensorial Properties of Serra da Estrela Cheese. *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering* Vol:9, No:4, 2015

GUTIERREZ, E.M.R.; DOMARCO, R.E.; SPOTO, M.H.F. BLUMER, L.; MATRAIA, C. Efeito da radiação gama nas características físico-químicas e microbiológicas do queijo prato durante a maturação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, nº4, Campinas, out./dez., 2004.

HAENLEIN, G. F. W. Past, present and future perspectives on small ruminant dairy research. **J. Dairy Sci.**, v.84, n. 9, p.2097-2115, 2001.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v. 51, n. 1, p. 155-163, 2004.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NOBREGA R, Introdução aos Processos de Separação por Membranas, Curso Ministrado na Escola Piloto em Engenharia Química, COPPE/UFRJ, 1997.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NOBREGA R., COSTA, A. C. M., OLIVEIRA, D. R., RAMOS, G. M., BERTOLDO, L. C., Fundamentos e Operação dos Processos Bibliografia 182 de Osmose Inversa e Nanofiltração, Apostila do curso ministrado para CENPES/PETROBRÁS, 2005.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NOBREGA R, Processos de Separação por Membranas, Série Escola Piloto em Engenharia Química, COPPE/UFRJ, Editora E-papers, 2006.

HANDEM, S. A. Inibidores de Proteinases Aspárticas com Actividade Antimicrobiana. Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Bioquímica. FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA UNIVERSIDADE DE COIMBRA. Coimbra, 2013.

HENRIQUE, V.S. M. Comportamento da fase aquosa e efeito do pH sobre a proteólise e propriedades funcionais do queijo prato. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos. Campinas-SP, 2004.

HILALI, M., IÑIGUEZ, L., ZAKLOUTA, M., 2006. Improving value addition: simple technological changes in the processing of milk in northern Syria. In: **EAAP Annual Meeting**, Antalya, Turkey, p. 207.

HUFFMAN e HARPER, J. Symposium: marketing dairy value through technology. Maximizing the value of milk through separation technologies. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n. 82, p. 2238-2244, 1999.

HUISMAN, J. H., HERNÁNDEZ, P. P. A. The effect of protein–protein and protein–membrane interactions on membrane fouling in ultrafiltration. **Journal of Membrane Science** n. 179 , p. 79–90, 2000.

KEALY, T. Application of liquid and solid rheological technologies to the textural characterization of semi-solid foods. **Food Research International**, v. 39, p. 265– 276, 2006.

LAUTENSCHLAGER, S. R. OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO NO TRATAMENTO AVANÇADO DE EFLUENTES E ÁGUAS SUPERFICIAIS. Tese apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Engenharia. Área de Concentração: Engenharia Hidráulica e Sanitária. São Paulo, 2013.

LI, Z.; H-HITTIKUN, A.; YOURAVONG, W. Purification of protease from pretreated tuna spleen extract by ultrafiltration: An altered operational mode involving critical flux condition and diafiltration. **Separation and Purification Technology**, New York, v. 66, p. 368-374, 2009

LINCHSTEIN, H. C. Y.; OGINSKY, E.L. Experimental microbial physiology. W.H, Freeman and Company, San Francisco and London, v. 142, p. 2, 1965.

MACEDO, A.C.; MALCATA, F.X. Changes in the Major Free Fatty Acids in Serra heese troughout Ripening, **Dairy Journal**, N 6, p. 1087- 1097, Porto- Portugal, 1996.

MACEDO, P. C. J. D. Biogénese da cardosina A: estudo da expressão e do trajecto biossintético. Tese submetida à Vaciude de Ciências da universidade do <Porto para obtenção do grau de Doutor em Biologia. Departamento de Botânica Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 2005.

MAPA. Caprinos e ovinos. Disponível em www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos. Acessado em 24/06/2012.

MARTINS, Z. E. S. V. Avaliação da atividade proteolítica de bactérias lácticas isoladas de queijo Serra da Estrela. Trabalho de investigação. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação universidade do Porto. Porto, 2006.

MCSWEENEY, P L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy technology**, v. 57, n. 2 3, p. 127-144, 2004.

MCCARTHY, O.J. Rheology of liquid and semi-solid milk products. In: Fuquay, J.W.; Fox, P.F.; Mcsweeney, P.L.H. Encyclopedia of Dairy Sciences. 2 ed. Elsevier. Vol. 4, p. 520 – 531, 2011.

MENG, F.; et al. Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. **Water Research**, New York, v. 43, p. 1489-1512, 2009.

MELLO, J. R. M. Separação de misturas de óleo de soja e solventes orgânicos por membranas cerâmicas. Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós – Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos. Erechim, fevereiro de 2013.

MANZANO, M. A.M ; GUTIÉRREZ, T.C .P ; SÁNCHEZ, M. E. L; SUAREZ, J. C. R; LLANEZ, M. J. T; CORDOVA, A. F. G; CORDOBA, B. V. Comparison of the milk-clotting properties of three plant extracts. **Food Chemistry** 141 , P. 1902–1907, 2013.

MIERZWA, J. C; SILVA, M. C. C; RODRIGUES, L. D. B; HESPANHOL, I. Tratamento de água para abastecimento público por ultrafiltração: avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com carvão ativado. **Engenharia sanitária ambiental**, V. 13, n. 1, p. 78 -87, 2008.

MOREIRA, C. P. M. Desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos estudo de caso : queijos da beira interior. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar

– Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, Portugal, 2011.

NARIMATSU, Agnes; DORNELLAS, José Raimundo F.; SPADOTI, Leila M.; PIZAIA, Patrícia D.; ROIG, Salvador M. **Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.23. Campinas Dec. 2003

NESPOLO, Cássia Regina. **Características físico-químicas e microbiológicas durante o processamento de queijos de leite de ovelha.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de ciência básica de saúde. Porto Alegre. Agosto de 2009.

NETO, R. J. Avaliação tecnológica e físico-química de queijo tipo minas frescal obtido a partir de leite concentrado por ultrafiltração. Dissertação apresentada pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, 2006.

PARK, Y.W. Rheological characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research** n. 68, pag 73- 87, 2006.

PARK, Y.W , JU´AREZ ,M, RAMOS , HAENLEIN ,M, G.F.W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research** n. 68, pag 88–113, 2007.

PELLEGRINI, L. G; PELLEGRIN, A. C. R. S; GUSSO, A. P; MATTANNA, P; PELEGRINI FILHO, L. F. V. Caracterização físico-química dos queijos pecorino frescal, labneh e feta produzidos com leite ovino. **Synergismus scyentifica**, UTFPR , Pato Branco, 0 7 (1) . 2 0 1 2

PELLEGRINI, L. G; PELLEGRIN, A. C. R. S; GUSSO, A. P; MATTANNA, P; PELEGRINI FILHO, L. F. V. ANALISE DO PERFIL DE ACIDOS GRAXOS DO LEITE BOVINO CAPRINO E OVINO. **Synergismus scyentifica** UTFPR , Pato Branco , 0 7 (1) . 2 0 1 2

PEREIRA, S. C.; SANTOS, K. M. O.; BASTOS, M. S. R.; MORAES, I. V. M.; PAULA, C. M.; EGITO, A. S. Utilização de proteases vegetais na fabricação de queijos coalho com leite de cabra. Anais II Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos e I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais. Aracaju, Sergipe, 2010.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v.27, n.2, São Paulo, mar/abr,2004.

PESSOA JR, A. e VAHANKINLIKIAN, B. **Purificação de Produtos Biotecnológicos**. Ed. Manole, 1 ed. Barueri, SP, 2005.

PETRUS, J.C.C. **Preparação, modificação e caracterização de membranas assimétricas para clarificação de suco de frutas**. (Doutorado). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997. 139 p.

POVEDA, J. M.; CABEZAS. L.; MCSWEENEY, P. L.H. .Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening. **Food Chemistry**, V. 84, p. 213–218, 2004

RAMOS, M., JUAREZ, M. Sheep Milk. In: Fuquay, J.W.; Fox, P.F.; Mcsweeney, P.L.H. Encyclopedia of Dairy Sciences. 2 ed. Elsevier. Vol. 3, p. 494 – 502, 2011

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P. GUILLET, I.; CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: an update. **Small Ruminant Research**, v.79, n.1, p.57-72, 2008.

RIBEIRO, L. C.; PÉREZ, J. R. O.; CARVALHO, P. H. A.; SILVA, F. F.; MUNIZ, J. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, G. M.; SOUZA, N. V. Produção, composição e rendimento em queijo do leite de ovelhas Santa Inês tratadas com ocitocina. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.36, n.2, p.438-444, 2007.

RINALDONI, A. N; CARLOS C. TARAZAGA, C. C; CAMPDERRÓS, M. E; PADILLA, A. P. Assessing performance of skim milk ultrafiltration by using technical parameters. **Journal of Food Engineering**, V. 92, p. 226–232, 2009.

ROBINSON, R. K.; SAMONA, A. **Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks**. Journal of Society of Dairy Technology, v. 47, n. 2, p. 58-60, 1994.

RODRIGUES R, DE ALMEIDA J, PEREIRA C, GOMES D, MADANELO J, OLIVEIRA M, et al. Queijo Serra da Estrela processos tradicionais e inovações tecnológicas [Cadernos de divulgação]. Coimbra: DRABL- Direção Regional de Agricultura da Beira Litoral; 2000. p. 7-84

ROSA, T.D. Atividades proteolíticas e microrganismos envolvidos na maturação do queijo serrano. Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Biologia celular e molecular da Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul para obtenção do título de Doutor em Biologia celular e molecular, Porto Alegre, 2005.

ROSA, L. S; QUEIROZ, M. I; AUGUSTO, M. M. M. Efeito da pré-fermentação e ultrafiltração nas características físico-químicas do queijo tipo prato. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.21, n.1, p. 119-128, jan./mar. 2010.

ROSEIRO, L., BARBOSA, M., AMES, J., & WILBEY, R. Cheesemaking with vegetable coagulants—the use of Cynara L. for the production of ovine milk cheeses. International Journal of Dairy Technology, 76–85, 2003.

SANDRA, S; COOPER, C; ALEXANDER, M; CORREDIG, M. Coagulation properties of ultrafiltered milk retentates measured using rheology and diffusing wave spectroscopy. **Food Research International** v. 44, p. 951–956, 2011.

SAPIENTIA. **Enzimas coagulantes do leite. Origem vegetal – Cynara Cardunculus L. – cardo**. Disponível em

<https://sapientia.ualg.pt/bitstream/10400.1/629/18/4%C2%BA%20Cap%C3%ADtulo%20II-%20def..pdf>. Acessado em 21/04/2014.

SAPIENTIA. Capítulo II – O estudo da cinética de reações enzimáticas na forma livre e imobilizada. Disponível em <https://sapientia.ualg.pt>. Acessado em 21/04/2014.

SARGOLZAEI, J., KHOSHNOODI, M., SAGHATOLESLAMI, N., MOUSAVI, M. Fuzzy inference system to modeling of crossflow milk ultrafiltration. **Applied Soft Computing**, n. 8, p.456–465, 2008.

SCHNEIDER, R.P.; TSUTIYA, M.T. **Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reuso**. São Paulo: ABES, 2001.

SCOTT, R. **Fabricación de Queso**. 2.ed. Espanha: Editora Acríbia S.A, 1991. 520 p.

SILES, F. P. Estudio de las características bioquímicas, físicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de quesos tipo manchego elaborados con diversos tipos de coagulante. Memoria presentada por el Licenciado D. Francisco Prados Siles para optar al grado de Doctor en Veterinaria. Universidad de Córdoba Facultad de Veterinaria Departamento de Bromatología y Tecnología de Los Alimentos. Córdoba, 2005.

SOUZA, A. C. K. O; OSÓRIO, M. T. M; OSÓRIO, J. C. da S; OLIVEIRA, N. M; VAZ, C.M. S; SOUZA, M; CORRÊA, G. F. Produção, composição química e características físicas do leite de ovinos da raça corriedale. **Revista brasileira de Agrociência**, v.11, n. 1, p. 73-77, jan-mar, 2005.

STEFFENS, J. **Estudo reológico do queijo tipo prato proveniente de leite de diversas concentrações**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, fev. 2003.

SU ,YAN-LEI,WEI, CHENG ,C. L., JIANG , Z. Preparation of antifouling ultrafiltration membranes with poly(ethylene glycol)-*graft*-polyacrylonitrile copolymers. **Journal of Membrane Science**, 329, p. 246–252, 2009.

TAVARIA, F, K; FRENI K. ; FRANCO, I; CARBALLO, F. J; MALCATA, F. X. Amino acid and soluble nitrogen evolution throughout ripening of Serra da Estrela cheese. **International Dairy Journal**, n. 13, p. 537–545, 2003.

VACLAVIK, V.A., CHRISTIAN, E.W. Essentials of Food Science. 3 ed. Springer Science. 565 p, 2008.

VASCONCELOS, C. M. Caracterização físico-química e sensorial de iogurte “light” com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos apresentada ao programa de pós-graduação da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 2010.

VELA, M. C. V., URIBE, B. C., BLANCO, S. Á., GARCÍA , J. L. Analysis of an ultrafiltration model: Influence of operational conditions. **Desalination**, 284, p. 14–21, 2008.

VEIGA, P. G.; VIOTTO, W. H. Fabricação de queijo petit suisse por ultrafiltração de leite coagulado, efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. **Ciência e tecnologia de alimentos** , v 21, pp. 267-272. 2001.

VIOTTO, W.H; CUNHA, C.R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: MESQUITA, A.J; DURR, J.W; COELHO, K. O. Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia, TALENTO, V.1, p. 241-258, 2006.

WATSON, R. & PREEDY R.V. **Os alimentos bioativos na promoção da saúde- probióticos e prebióticos**. Academic Press, 2010.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros, Boletim do Leite e seus Derivados, v.51, n.661, p.1-8, nov. Rio de Janeiro, 1983.

WONG, D.W.S.; CARMIRAND, W.M.; PAVLAT, A.E. Structures and functionalities of milk proteins. **Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.** 36(8):807-844, 1996.

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

YUNOS , K.F. Md., FIELD R.W. Rejection amplification in the ultrafiltration of binary protein mixtures using sandwich configurations. **Chemical Engineering and Processing**, 47, p. 1053–1060, 2008.

ZIMMERMANN, J.V; GRIS1, E. F; CHAVES, E. S; PRUDÊNCIO, E. S; BARRETO, P. L; AMBONI, R. D. M. C; BORDIGNON-LUIZ, M. Physicochemical, sensorial and rheological properties of *doce de leite* with xanthan gum and whey protein concentrate. Publ. **UEPG Ci. Exatas Terra**, Ci. Agr. Eng., Ponta Grossa, **13** (3): 53-59, dez. 2007

Apêndice 01

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE QUEIJO AMANTEIGADO

Nome: _____ **Data:** ____/____/____

Avalie cada uma das amostras codificadas de QUEIJO e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra, em relação à aceitação geral, sabor e textura.

- 9 gostei muitíssimo
- 8 gostei muito
- 7 gostei moderadamente
- 6 gostei ligeiramente
- 5 não gostei / nem desgostei
- 4 desgostei ligeiramente
- 3 desgostei moderadamente
- 2 desgostei muito
- 1 desgostei muitíssimo

Amostras	Aceitação geral	Sabor	Textura

Comentários: _____

Apêndice 02

Tabela 1: Dados do fluxo de água para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo de água 25°C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
2	343,03	530,14	966,73
4	155,92	233,88	389,81
6	98,75	145,53	197,50
8	77,96	101,35	124,74
10	65,49	74,84	93,55

Tabela 2: Dados do fluxo de água para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 bar e na temperatura de 30°C.

Fluxo de água 30 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
2	374,22	686,07	779,62
4	140,33	171,51	265,07
6	93,55	103,95	145,53
8	70,16	77,96	93,55
10	49,89	49,89	68,60

Tabela 3: Dados do fluxo de água para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 Bar e na temperatura de 35°C.

Fluxo de água 35 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
2	374,22	623,70	779,62
4	155,92	280,66	311,85
6	103,95	166,32	166,32
8	70,16	116,94	109,14
10	59,25	87,318	71,72

Tabela 4: Dados do volume acumulado de água com o tempo na pressão de 2 Bar e temperatura de 25°C.

Tempo(min.)	Volume Acumulado (ml)
2	17
4	32
6	46
8	59
10	71

Tabela 5: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 Bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo do leite de ovelha 25 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
10	10,22	11,11	11,73
20	3,98	4,38	4,98
30	2,01	2,91	3,53
40	1,27	1,87	2,65
50	1,01	1,37	2,12
60	0,81	0,93	1,55

Tabela 6: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 Bar e na temperatura de 30°C.

Fluxo do leite de ovelha 30 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
10	10,73	11,48	12,23
20	3,99	4,76	6,11
30	2,49	2,91	3,87
40	1,37	1,95	2,69
50	1,19	1,44	2,17
60	1,03	1,23	1,74

Tabela 7: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 1, 2 e 3 Bar e na temperatura de 35°C.

Fluxo do leite de ovelha 35 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
10	4,98	5,61	6,23
20	2,49	2,80	3,11
30	1,45	1,87	2,07
40	1,09	1,40	1,55
50	0,99	1,24	1,12
60	0,72	0,93	0,72

Tabela 8: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração plana nas pressões de 2 Bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo do leite de ovelha 25 °C	
Tempo(min.)	2 Bar
10	11,22
20	4,98
30	2,91
40	1,87
50	1,37
60	0,93

Tabela 9: Dados do volume acumulado de leite de ovelha com o tempo na pressão de 2 Bar e temperatura de 25°C.

Tempo(min.)	Volume Acumulado (ml)	t/V (min./ml)
10	1,8	5,55
20	3,4	5,88
30	4,8	6,25
40	6	6,67
50	7,1	7,04
60	8	7,5

Tabela 10: Dados do fluxo de água para membrana de ultrafiltração fibra oca nas pressões de 1, 2 e 3 Bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo de água 25 °C			
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar	3 Bar
1	76,2	100,27	147,06
2	37,88	48,21	75,76
3	25	31,82	36,36
4	18,66	18,66	
5	13,14	8,21	
6	5,91		

Tabela 11: Dados do volume acumulado de água da membrana de ultrafiltração fibra oca com o tempo na pressão de 2 Bar e temperatura de 25°C.

Tempo(min.)	Volume Acumulado (ml)
1	750
2	1500
3	2250
4	2850
5	3000
6	0

Tabela 12: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração fibra oca nas pressões de 1 e 2 Bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo do leite de ovelha 25 °C		
Tempo(min.)	1 Bar	2 Bar
1	17,38	16,71
2	7,58	7,23
3	5	4,55
4	4,07	3,73
5	2,74	2,74
6	2,27	2,27
7	0,95	1,89
8		0,87

Tabela 13: Dados dos fluxos do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração fibra oca nas pressões de 1 e 2 Bar e na temperatura de 25°C.

Fluxo do leite de ovelha 25 °C	
Tempo(min.)	2 Bar
1	16,71
2	6,89
3	4,32
4	3,05
5	2,46
6	2,05
7	1,52
8	1,4
9	1,21
10	1,07
11	1,01
12	0,8
13	0,72
14	0,69
15	0,64
16	0,51
17	0,49
18	0,42
19	0,39
20	0,28
21	0,26
22	0,25
23	0,24
24	0,23
25	0,11

Tabela 14: Dados do fluxo do leite de ovelha para membrana de ultrafiltração fibra oca na pressão de 2 Bar e na temperatura de 25°C.

Tempo(min.)	Volume Acumulado (ml)	t/V (min./ml)
1	1250	0,0008
2	2250	0,0009
3	3200	0,0009
4	4100	0,0009
5	5000	0,001
6	5900	0,001
7	6800	0,001
8	7600	0,0011
9	8400	0,0011
10	9200	0,0011
11	10000	0,0011
12	10700	0,0011
13	11400	0,0011
14	12100	0,0012
15	12800	0,0012
16	13400	0,0012
17	14000	0,0012
18	14550	0,0012
19	15100	0,0013
20	15500	0,0013
21	15900	0,0013
22	16300	0,0013
23	16700	0,0014
24	17100	0,0014
25	17300	0,0014

Tabela 15- Dados índice de extensão de proteólise para as amostras de queijo amanteigado

	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
1° dia	1,7	1,72	1,79	1,81
15° dia	5,7	6,1	8,6	8,1
30° dia	9,5	9,9	12,7	13,2

Tabela 16 - Dados índice de profundidade de proteólise para as amostras de queijo amanteigado

	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4
1° dia	0,69	0,71	0,7	0,72
15° dia	1,62	1,67	1,9	2,1
30° dia	6,2	6,4	8,1	8,9



**UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E MISSÕES - URI
ERECHIM**

**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO AMANTEIGADO DE
LEITE OVINO CONCENTRADO POR ULTRAFILTRAÇÃO**

Andréia Maria Faion

**ERECHIM, RS - BRASIL
SETEMBRO DE 2015**