

**UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS  
MISSÕES  
PRÓ-REITORIA DE ENSINO, PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
CÂMPUS DE ERECHIM  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

**JOSIANE KILIAN**

**RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE  
LEITE OBTIDAS POR ULTRAFILTRAÇÃO E APLICAÇÃO EM SORVETES**

**ERECHIM, RS  
2018**

**JOSIANE KILIAN**

**RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DO  
SORO DE LEITE OBTIDAS POR ULTRAFILTRAÇÃO E  
APLICAÇÃO EM SORVETES**

**Tese apresentada como requisito  
parcial à obtenção do grau de  
Doutora, pelo Curso de Pós-  
Graduação em Engenharia de  
Alimentos, Departamento de  
Ciências Agrárias da Universidade  
Regional Integrada do Alto Uruguai  
e das Missões URI - Erechim.**

**Orientadoras:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eunice Valduga**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Juliana Steffens**

**ERECHIM, RS**

**2018**

**JOSIANE KILIAN**

**RECUPERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE  
LEITE OBTIDAS POR ULTRAFILTRAÇÃO E APLICAÇÃO EM SORVETES**

**Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora, pelo Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI - Erechim.**

Erechim, 04 de Junho de 2018

Banca examinadora:

---

Profa. Dra. Juliana Steffens  
Orientadora (URI Erechim)

---

Prof. Dr. Vandr e Barbosa Bri o  
Membro da banca (UPF)

---

Profa. Dra. Eunice Valduga  
Orientadora (URI Erechim)

---

Prof. Dra. Valeria Borszcz  
Membro da banca (IFRS-Campus  
Erechim)

---

Profa. Dra. Cecilia Abirached Alonzo  
Orientadora (UDeLaR- Montevideo/UY)

---

Dra. Ilizandra Aparecida Fernandes  
Membro da banca (URI Erechim)

---

Profa. Dra. Clarice Steffens  
Membro da banca (URI Erechim)

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

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me ouvir tantas e tantas vezes, iluminando meus pensamentos, direcionando-me para escolhas melhores e por sempre ter colocado em meu caminho pessoas especiais.

A meus pais pela vida e em especial a minha mãe Neiva (*in memoriam*) que sempre me motivou e mostrou o quanto era importante estudar, mesmo ela não tendo a mesma oportunidade.

Aos meus irmãos Joel e Cristiane, por estarem sempre presentes, alegrando-se com minhas conquistas, ajudando-me a levantar nos tropeços e sempre torcendo pelo meu sucesso.

Minha gratidão e amor ao meu marido Daniel e ao meu filho Bernardo sem vocês a minha vida não teria sentido.

Ao Senai-Chapécó, por possibilitar o desenvolvimento da parte experimental da tese em suas dependências e pela ajuda financeira.

Ao laticínio Tirol, unidade de Chapécó-SC, pela disponibilidade e por cederem a matéria-prima para o desenvolvimento dos estudos.

A universidade da Republica em Montevideo (UDELAR), na pessoa da Dra Cecilia Abirached pelo auxílio na realização das análises das propriedades funcionais dos concentrados proteicos de soro.

À Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), em especial aos professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, fundamentais para o meu aprendizado durante o curso. Em especial às minhas orientadoras Eunice Valduga e Juliana Steffens, cada uma contribuindo com suas experiências pessoais e profissionais nas diferentes etapas do trabalho. Obrigada pela amizade, incentivo e por não desistirem de mim.

Aos professores da banca de qualificação Ilizandra Aparecida Fernandes, Clarice Steffens e Vandr e Barbosa Bri o pelas sugest es e orienta es que me direcionaram nesta fase de conclus o do trabalho.

As minhas amigas Elisa, Cris, Fabi e Sinara, voc es s o muito especiais para mim.

A minha colega de doutorado Daiane Preci, por estar sempre presente me encorajando e me auxiliando nos momentos de d vidas.

As meninas do laboratório de prestação de serviços da Uri, em especial a Debora Cristina Ferasso por estar sempre disponível.

Agradeço novamente à minha irmã Cristiane pelo auxílio no desenvolvimento das formulações ela foi minha “estagiária”, e também pelo seu auxílio na correção do Abstract.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o meu crescimento científico e pessoal, meu muito obrigado!

## RESUMO

O queijo é o principal derivado da indústria de laticínios, do qual gera-se uma quantidade considerável de soro lácteo, sendo considerado um subproduto que apresenta grande potencial, pois somente 50% do volume produzido é reutilizado. Apesar da sua inclusão em diversos produtos alimentícios, o soro líquido possui baixo valor comercial. No entanto, contém cerca de 20% do teor de proteínas presentes no leite, apresentando elevado valor nutricional e funcional. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi a recuperação de constituintes de soro de leite por meio do processo de separação por membranas, avaliar as propriedades tecnológicas e funcionais do concentrado proteico e aplicar em formulações de sorvetes. A concentração das proteínas do soro de leite foi realizada em sistema de filtração por membrana, utilizando membrana de ultrafiltração polimérica, de fibra oca (10 kDa) e área de permeação de 4,4 m<sup>2</sup>. Para avaliar os efeitos da temperatura (10 a 20°C) e pressão (0,5 a 1,5 bar) na concentração das proteínas empregou-se metodologia de planejamento de experimentos. A máxima recuperação de constituintes de soro foram obtidas a 10°C e 1,5 bar, com teores de proteína, gordura, lactose, sólidos totais e viscosidade de 3,67%, 0,68%, 3,40%, 7,47% e 2,34 cP, respectivamente. A eletroforese indicou a predominância das proteínas,  $\beta$ -lactoglobulina (18 kDa) e  $\alpha$ -lactoalbumina (14 kDa). O concentrado proteico apresentou índice de solubilidade média de 94% (34% de solubilidade) em pH 5,7 e 7,0. As proteínas não apresentaram diferença na estabilidade de emulsão nos pH estudados. Nas formulações de sorvete sabor creme foram adicionados 21, 28 e 42% de concentrado proteico. A análise dos componentes principais mostrou correlação positiva ( $p < 0,05$ ) do *overrun* em relação ao teor de sólidos (0,603), textura (0,662), sabor (0,733) e impressão global (0,608) e negativa ( $p < 0,05$ ) com proteína (-0,890), gordura (-0,978), viscosidade (-0,977). A formulação com 21% de concentrado proteico apresentou maior *overrun* (34,33%) e aceitabilidade (85%) e menor viscosidade (82 cP), com teores de proteína, lactose, gordura, sólidos totais e velocidade de derretimento de 3,6%, 8,19%, 3,8%, 33% e 0,95g/min, respectivamente. A incorporação de concentrado de soro de leite como substituto parcial de leite em sorvetes é recomendável, uma vez que, confere melhoria das propriedades funcionais (viscosidade, solubilidade, emulsificação e estabilidade), reduzindo custos do produto final.

**Palavras-chave:** Propriedades funcionais, membranas, soro de leite e concentração.

## ABSTRACT

Cheese is the main derivative of the dairy industry, a large amount of whey is made, being considered a byproduct that presents great potential, because only 50% of the volume produced is reused. Despite their origin, food products, liquid whey has low commercial value. However, it has 20% of the protein content in milk, presenting high nutritional and functional value. In this sense, the objective of this study was the recovery of whey ingredients through a process of membrane separation and research of technological substances and of long duration and the application in formulations of ice cream. The concentration of the whey proteins was carried out in a membrane filtration system using a hollow fiber (10 kDa) polymer ultrafiltration membrane and a permeation area of 4.4 m<sup>2</sup>. For the evaluation of temperature (10 to 20 ° C) and pressure (0.5 to 1.5 bar) in protein concentration, it is an experimental planning process. Serum protein recovery was found at 10 ° C and 1.5 bar, with protein, fat, lactose, total solids and viscosity were 3.67%, 0.68%, 3.40%, 7.47% and 2,34 cP, respectively. Electrophoresis indicated a predominance of proteins,  $\beta$ -lactoglobulin (18 kDa) and  $\alpha$ -lactalbumin (14 kDa). Protein protein found in the mean solubilization was 94% (34% soluble protein) at pH 5.7 and 7.0. One protein showed more advanced emulsion at pH 7.0. In the formulations of the flavor seeds have been 21,28 and 42% proteomics. The analysis of the main components showed a positive correlation ( $p < 0.05$ ) of *overrun* in relation to the solids content (0.603), texture (0.662), taste (0.733) and overall impression (0.608) and negative ( $p < 0,05$ ) with protein (-0,890), fat (-0,978), viscosity (-0,977). The formulation with 21% protein has been *overrun* (34,33%) and acceptability (85%) and lower viscosity (82 cP), with protein, lactose, fat, and solids proteins and melt speed of 3,6%, 8,6, 3,8, 33% and 0,95 g/min, respectively. Na incorporation of whey as a partial substitute of milk into ice creams once it confers the fixation of the properties (purpose, solubility, emulsification and stability), reducing costs of the final product.

**Key-words:** Functional properties, membranes, whey and concentration.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Diagrama de obtenção do soro de leite.....	24
<b>Figura 2</b> - Classificação das proteínas do leite. ....	25
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática do processo formação de emulsão óleo/ água. .....	32
<b>Figura 4</b> – Fenômenos causados pela instabilidade física das emulsões. ....	33
<b>Figura 5</b> – Transformação do glóbulo de gordura no sorvete. ....	47
<b>Figura 6</b> - Fluxograma de processamento dos sorvetes.....	49
<b>Figura 7</b> - Etapas realizadas nesse trabalho. ....	53
<b>Figura 8</b> - Unidade de separação por membrana de ultrafiltração (a) Unidade piloto e (b) esquema dos componentes do sistema.....	55
<b>Figura 9</b> - Descrição do processo de obtenção do perfil de retrodisposição, em função da altura da célula. ....	61
<b>Figura 10</b> - Representação esquemática (a) e foto do Tensiómetro de gota dinâmica (b) (Tracker). 1: base de fibra óptica 2: fonte luminosa 3: seringa 4: Motor 5: Câmara, 6: computador e 7: display. ....	62
<b>Figura 11</b> - Fluxograma das etapas do processo de elaboração do Sorvete. ....	65
<b>Figura 12</b> - Gráfico de pareto com os efeitos estimados para o fluxo médio do soro para o planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> .....	71
<b>Figura 13</b> - Fluxos permeados de água (a) e de soro de leite (b), em função do tempo de acordo com a matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> para membrana de fibra oca de 10 kDa. Sendo: F1 (10°C e 0,5 bar); F2 (10°C e 1,5 bar); F3 (20°C e 0,5 bar); F4 (20°C e 1,5 bar); F5, F6 e F7 (15°C e 1,0 bar). ....	74
<b>Figura 14</b> - Gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) para concentração de proteína na fração concentrada obtida após UF de 10 kDa.....	79
<b>Figura 15</b> – Aspecto visual das amostras de permeado (a), concentrado (b) e soro (c) obtida na condição de 10°C e 1,5 bar. ....	82
<b>Figura 16</b> - Perfil eletroforético das amostras de concentrado e permeado da UF...	85
<b>Figura 17</b> – Reogramas para as frações de soro, concentrado e permeado obtidas à 10°C, (a) tensão em função da taxa de cisalhamento.....	87
<b>Figura 18</b> – Distribuição de tamanho de partícula para o concentrado de soro de leite em membrana UF 10 kDa em pH 5,7 e 7,0.....	90

<b>Figura 19</b> - Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas nas formulações de sorvete em relação ao overrun. ....	94
<b>Figura 20</b> – Ponto de derretimento das formulações de sorvetes com CPS ao longo do tempo .....	99
<b>Figura 21</b> - Perfil comportamental dos avaliadores. ....	103
<b>Figura 22</b> - Análise dos Componentes Principais (ACP) para as variáveis proteína total, gordura, minerais, sólidos totais, lactose ponto de derretimento, overrun, viscosidade, textura, sabor e impressão global das formulações de Sorvete (1 – 21% de CPS, 2 – 28% de CPS e 3 – 42% de CPS). ....	109

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Propriedades funcionais e nutricionais de frações do soro de leite. ....	28
<b>Tabela 2</b> - Classificação das proteínas quanto a sua funcionalidade. ....	30
<b>Tabela 3</b> - Vantagens e desvantagens dos tipos de membranas. ....	38
<b>Tabela 4</b> - Principais configurações das membranas. ....	39
<b>Tabela 5</b> – Estudos utilizando membranas para fracionar, recuperar e concentrar CPS. .....	40
<b>Tabela 6</b> - Funções dos principais componentes utilizados na produção de sorvetes. .....	48
<b>Tabela 7</b> - Variáveis e níveis utilizados no planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> com ponto central para o processo de concentração do soro de leite. ....	54
<b>Tabela 8</b> – Níveis do planejamento fatorial completo 2 <sup>2</sup> utilizados nas formulações de sorvete. ....	64
<b>Tabela 9</b> – Ingredientes utilizados no delineamento aleatório das formulações de sorvete. ....	66
<b>Tabela 10</b> - Matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em termos de fluxo de permeado médio (L/m <sup>2</sup> h) para água e soro de leite, obtidos após UF. ....	70
<b>Tabela 11</b> - Matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em termos de pH e acidez para do soro in natura, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa. ....	77
<b>Tabela 12</b> - Matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em proteína total e concentração de proteínas. ....	78
<b>Tabela 13</b> - Matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em condutividade elétrica do soro, permeados e concentrados. ....	80
<b>Tabela 14</b> - Matriz do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em termos de bactérias ácido lácticas (BAL) do soro in natura, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa. ....	81
<b>Tabela 15</b> – Caracterização das frações de soro, concentrado e permeado de UF 10 kDa, 10°C e 1,5 bar. ....	83
<b>Tabela 16</b> – Viscosidade aparente para as frações dos concentrados. ....	86
<b>Tabela 17</b> - RD0, K1, RD1, K2 e RD2 para os diferentes pHs estudados. ....	91

<b>Tabela 18</b> - Constante de adsorção ( $Ka$ ) e rearranjo ( $Kr$ ) na interface, modulo de dilatação ( $E$ ), elástico ( $Ed$ ) e viscoso ( $Ev$ ) para os pH estudados.....	92
<b>Tabela 19</b> - Matriz do planejamento fatorial completo $2^2$ (valores codificados e reais) e resposta overrun para os sorvetes. ....	94
<b>Tabela 20</b> - Caracterização média das formulações de sorvete desenvolvidas utilizando experimentos aleatórios com diferentes concentrações de CPS. ....	96
<b>Tabela 21</b> - Tempo inicial, velocidade e equações do comportamento de derretimento dos sorvetes. ....	99
<b>Tabela 22</b> - Viscosidade das formulações de sorvete com CPS avaliadas à 10°C.	100
<b>Tabela 23</b> - Resultados das análises microbiológicas dos sorvetes. ....	101
<b>Tabela 24</b> - Pontuações médias obtidas pelos consumidores para os atributos sabor, textura e aceitação geral das formulações de sorvete com CPS. ....	105
<b>Tabela 25</b> - Matriz de correlação de Pearson ( $n-1$ ) com variáveis avaliadas nas formulações de Sorvete elaborado com concentrado proteico de soro.....	108

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

<b>L</b>	Litros
<b>kg</b>	Quilograma
<b>ton</b>	Toneladas
<b>min</b>	Minutos
<b>Bar</b>	Unidade de pressão
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>ABIQ</b>	Associação Brasileira das Indústria de Queijos
<b>ABIS</b>	Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvetes
<b>ABIA</b>	Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação
<b><math>\beta</math>-LG</b>	Lactoglobulina
<b><math>\alpha</math>-LA</b>	Lactoalbumina
<b>I-g</b>	Imunoglobulina
<b>BSA</b>	Albumina sérica
<b>Jp</b>	Fluxo de permeado
<b>KDa</b>	Quilo Dalton
<b>UF</b>	Ultrafiltração
<b>MF</b>	Microfiltração
<b>PSM</b>	Processo de Separação por Membranas
<b>CPS</b>	Concentrado Proteico de Soro
<b>SNGL</b>	Sólidos Não Gordurosos do Leite
<b>m<sup>2</sup></b>	Metro quadrado
<b>M</b>	Molaridade
<b>V</b>	Volume
<b>A</b>	Área
<b>t</b>	Tempo
<b>T</b>	Temperatura
<b>R</b>	Rejeição
<b>Ca</b>	Concentração de soluto na alimentação
<b>Cp</b>	Concentração de soluto no permeado
<b>Fc</b>	Fator de concentração
<b>V<sub>0</sub></b>	Volume inicial da solução
<b>V<sub>R</sub></b>	Volume de retido/ concentrado
<b>V<sub>F</sub></b>	Volume da solução permeada
<b>IS</b>	Índice de solubilidade
<b>RD</b>	Dispersão das partículas
<b>K<sub>1</sub> K<sub>2</sub></b>	Constantes de desinstabilização
<b>RD<sub>1</sub></b>	Relacionado a Formação de partículas pequenas
<b>RD<sub>2</sub></b>	Relacionado a Formação de partículas grandes

<b>E</b>	Módulo de dilatação Superficial
<b>Ed</b>	Elástico
<b>Ev</b>	Componentes viscosos
<b><math>\omega</math></b>	Frequência
<b>GF</b>	Grau de Floculação
<b>D</b>	Diâmetro médio
<b><math>\gamma</math></b>	Tensão Superficial
<b><math>\gamma_e</math></b>	Tensão Superficial de equilíbrio
<b><math>A_r</math></b>	Parâmetro de amplitude da tensão superficial e interfacial
<b><math>K_r</math></b>	Constante de velocidade de 1ª ordem processo de reordenamento na interface
<b><math>K_a</math></b>	Constante de velocidade de 1ª ordem processo de adsorção das proteínas na interface

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2 OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
1.2.1 Objetivo Geral.....	19
1.2.2 Objetivos Específicos .....	20
1.2.3 Estrutura do Trabalho.....	20
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1 PRODUÇÃO DE QUEIJO E SORO DE LEITE .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2 SORO DE LEITE E PROPRIEDADES DAS PROTEÍNAS .....</b>	<b>23</b>
2.2.1 Características do soro de leite .....	23
2.2.2 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite .....	26
2.2.2.1 Solubilidade.....	31
2.2.2.2 Emulsões.....	32
2.2.2.3 Tensão superficial interfacial.....	34
2.2.2.4 Tamanho de partícula .....	35
<b>2.3 SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SORO.....</b>	<b>36</b>
2.3.1 Variáveis do PSM .....	42
2.3.2 Limitações de desempenho dos PSM.....	43
<b>2.4 POTENCIALIDADES DE APLICAÇÕES DE CONCENTRADOS DE SORO DE LEITE.....</b>	<b>45</b>
<b>2.5 SORVETES.....</b>	<b>46</b>
2.5.1 Etapas de fabricação do Sorvete .....	49
2.5.2 Principais parâmetros de qualidade do sorvete .....	50
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>53</b>
<b>3.1 AMOSTRA .....</b>	<b>54</b>
<b>3.2 ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE.....</b>	<b>54</b>
3.2.1 Limpeza das membranas .....	56
<b>3.3 METODOLOGIAS ANALÍTICAS.....</b>	<b>56</b>
3.3.1 Proteína Total .....	56
3.3.2 Acidez total .....	57
3.3.3 pH.....	57
3.3.4 Condutividade elétrica .....	57

3.3.5 Bactérias ácido lácticas – BAL .....	57
3.3.6 Lactose .....	58
3.3.7 Gordura.....	58
3.3.8 Sólidos Totais .....	58
3.3.9 Frações proteicas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	58
3.3.10 Cor .....	59
3.3.11 Viscosidade .....	59
3.3.12 Turbidez.....	59
<b>3. 4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....</b>	<b>59</b>
3.4.1 Solubilidade (proteína solúvel) .....	60
3.4.2 Emulsificante .....	60
<b>3.5 ELABORAÇÃO DO SORVETE.....</b>	<b>64</b>
3.4.1 Caracterização físico-química e reológicas dos sorvetes .....	66
3.4.1.1 <i>Proteína total</i> .....	66
3.4.1.2 <i>Gordura</i> .....	67
3.4.1.3 <i>Lactose</i> .....	67
3.4.1.4 Overrun.....	67
3.4.1.5 Taxa de derretimento .....	67
3.4.1.6 Viscosidade .....	67
3.4.2 Análises Microbiológicas dos sorvetes.....	67
3.4.3 Análise sensorial dos sorvetes .....	68
<b>3.6 TRATAMENTO DOS DADOS .....</b>	<b>68</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>4.1 PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO.....</b>	<b>70</b>
4.1.1 Efeitos da pressão e temperatura sob os fluxos de permeado .....	70
4.1.2 Efeitos da pressão e temperatura sob os constituintes dos concentrados e permeados...	75
<b>4.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SORO DE LEITE .....</b>	<b>88</b>
<b>4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DO SORVETE .....</b>	<b>93</b>
4.3.1 Características físicas, químicas e reológicas .....	93
4.2.2 Características microbiológicas.....	101
4.3.3 Análise Sensorial .....	101
4.3.4 Análise multivariada das características físico-químicas e sensoriais.....	105
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>110</b>

<b>6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>111</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>112</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>126</b>
<b>ANEXO B .....</b>	<b>127</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Indústria de laticínios é um importante segmento e está em ascensão no Brasil. Todavia, o uso dessa matéria-prima se dá sob a forma de industrializados. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, 35% do leite utilizado pelos laticínios é transformado em queijo (ABIQ, 2017), um método de conservação que permite uma série de benefícios tais como melhoria do sabor, alta digestibilidade, valor nutritivo, redução de volume e facilidade na conservação do produto. Nesse processo para cada quilograma do produto gera-se em torno de 9 L de soro. Devido a quantidade produzida esse é considerado um problema, pois seu aproveitamento é oneroso e limitado.

Este subproduto retém cerca de 50-55% dos sólidos totais presentes no leite. Os componentes de interesse no soro apresentam-se solubilizados contendo 6% de extrato seco, assim um dos limitantes do uso deste produto é sua composição rica em água, além do odor e sabor bastante característico. O soro é composto por uma variedade de proteínas ricas em aminoácidos essenciais. Além disso, o seu alto valor nutricional pode ser uma opção para aumentar esta característica em outros alimentos. O uso de concentrado proteico se justifica pelo consumo da proteína soro de leite pode ter efeitos benéficos à saúde. Outro fator positivo que esta pesquisa terá como contribuição aos indivíduos que buscam produtos com maior densidade nutricional, ou seja, rico em proteína, assim o soro é responsável pelo incremento de propriedades funcionais no setor de alimentos.

Uma alternativa para recuperar os constituintes do soro de leite é o emprego da tecnologia de separação por membranas a qual é baseada em mecanismos físicos, não envolvendo processos químicos, biológicos ou trocas térmicas. Os processos de separação por membranas têm sido vinculados à valorização e ao aumento da rentabilidade do soro. A indústria de alimentos é responsável pelo uso de cerca 30 % das membranas fabricados no mundo. O segmento lácteo é o pioneiro no uso e desenvolvimento deste processo, sendo a ultrafiltração a principal técnica utilizada para o fracionamento do soro em virtude do tamanho dos poros, permitindo a retenção das proteínas de interesse e a permeação de constituintes como a lactose e sais minerais.

Esse processo apresenta como vantagens a economia de energia quando comparado aos processos convencionais de concentração. Além de proporcionar

redução do volume, desenvolvimento de novos produtos com características nutritivas e sensoriais diferenciadas, aumento do rendimento, devido à retenção seletiva de proteína e outros materiais coloidais, retenção de compostos nitrogenados mais simples e da permeação da lactose, sais minerais e outros compostos com menor massa molar. A concentração de proteínas usando a ultrafiltração tem como principais limitações a não eliminação total da água, o que impossibilita a concentração total do soluto em virtude da deposição desses na membrana reduzindo as taxas de transferência de massa do processo, fenômeno chamado de colmatação, o qual é uma das responsáveis pela redução da vida útil da membrana, caso os procedimentos de limpeza dessa não sejam realizados de maneira adequada.

A fração do soro concentrado obtidas via processos de separação por membranas podem apresentar propriedades funcionais, tais como: emulsificação, gelatinização, estabilização e solubilidade, as quais possibilitam a utilização como ingredientes em produtos alimentícios, pois a tendência para o consumo de produtos naturais abrange também os aditivos, dessa forma, justifica-se a relevância do tema.

Os sorvetes são produtos consolidados e reconhecidos em nível mundial. Sua estrutura é bastante complexa, pois trata-se de uma mistura heterogênea. A principal restrição que o mercado de sorvetes vem enfrentando, está atrelada a quantidade de açúcar e gorduras, e baixos teores de sólidos lácteos no sorvete, assim o uso do concentrado proteico de soro seria uma alternativa para estabilizar e melhorar as características deste produto.

Nesse contexto, propõem-se com este trabalho o aproveitamento e recuperação de proteínas do soro de leite utilizando os processos de separação por membranas, sua caracterização e aplicação do concentrado de soro obtido em sorvetes.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 *Objetivo Geral*

O objetivo geral deste estudo foi propor uma nova abordagem na recuperação de constituintes de soro de leite por meio do processo de separação por membranas e investigar propriedades tecnológicas e funcionais do concentrado proteico e aplicação em formulações de sorvetes.

### 1.2.2 *Objetivos Específicos*

A partir do objetivo geral, os objetivos específicos foram assim delineados:

- a) Avaliar os efeitos das variáveis temperatura (°C) e pressão (bar) utilizando membrana de ultrafiltração de 10 kDa sob os fluxos de permeado de água e soro de leite, proteína total, pH, acidez, condutividade elétrica e bactérias ácido lácticas dos permeados e concentrados, empregando metodologia de planejamento de experimentos.
- b) Caracterizar o concentrado proteico obtido da condição maximizada no planejamento de experimentos com relação aos seguintes parâmetros: proteína, lactose, gordura, sólidos totais e densidade.
- c) Identificar as frações proteicas por eletroforese e as propriedades funcionais (solubilidade, emulsificante e desestabilização) da condição maximizada no planejamento de experimentos.
- d) Analisar as propriedades reológicas (viscosidade e taxa de cisalhamento) e de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) do concentrado proteico maximizado no planejamento de experimentos.
- e) Aplicar o concentrado proteico em formulações de sorvete sabor creme.
- f) Caracterizar as formulações de sorvetes desenvolvidas com relação aos aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais.

### 1.2.3 *Estrutura do Trabalho*

Esta tese está dividida em cinco capítulos. O presente capítulo apresentou uma introdução ao assunto e citou os objetivos gerais e específicos estabelecidos nesta pesquisa. O capítulo II mostra uma revisão bibliográfica sobre o assunto, apresentando o estado da arte sobre as principais características do soro lácteo e dos processos de separação por membranas, propriedades funcionais das proteínas, ao final deste capítulo abordou as particularidades da produção de sorvetes. A metodologia empregada está descrita no capítulo III e, os resultados e discussões são apresentados no capítulo IV. Conclusões e sugestões são apresentadas no capítulo V e VI.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada uma revisão da literatura sobre a produção, características e particularidades do soro de leite, bem como das proteínas derivadas deste, suas funcionalidades tecnológicas e nutricionais de interesse para aplicações industriais. Bem como o processo de concentração de proteínas a partir do soro de leite via processos de separação por membranas em especial os que utilizam a ultrafiltração. Ao final deste capítulo são apresentados os fundamentos sobre a produção de sorvetes, visando a aplicação do concentrado de soro obtido.

### 2.1 PRODUÇÃO DE QUEIJO E SORO DE LEITE

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) as indústrias do segmento de lácteos que operam sob algum tipo de inspeção (federal, estadual ou municipal) receberam em 2015 cerca de 25,731 bilhões de litros de leite cru. Sendo que deste montante 42,1% foi produzido na região sudeste, 35,5% no Sul e os demais estados representam 22,4% da produção de leite cru no Brasil (IBGE, 2017).

Atualmente o Brasil é o quarto no ranking de produção mundial de leite, porém basicamente a produção é voltada para o mercado interno. Esse fato pode ser associado a falta de homogeneidade na produção e as condições sanitárias, várias ações já foram adotadas para melhorar a qualidade do leite no Brasil principalmente com a implantação da IN nº 62 em 2011 (BRASIL, 2011). A indústria de produtos lácteos é a quarta em faturamento na área de alimentos (ABIA, 2016).

As proteínas lácteas apresentam a vantagem de serem as proteínas animais mais baratas e apresentam alto valor biológico (SILVA et al., 2017). O leite é um dos mais antigos alimentos funcionais disponíveis para o homem (MILKPOINT, 2014; RUBIO; HUERTAS; ORTIZ, 2013)

Grande parte do leite processado pelas indústrias que operam sob algum tipo de inspeção é transformado em queijos, acredita-se que 35% deste montante seja transformado neste derivado (ABIQ, 2017; COSTA et al., 2017; PALATNIK et al., 2015). Em 2014 foram produzidos em torno de 1.092.647 ton de queijo. Os principais tipos de queijos comercializados são o queijo mussarela, requeijão e prato, os quais

correspondem por cerca de 70% da produção de queijos no país. Cabe destacar que o mercado de queijos especiais tem ganhado cada vez mais destaque chegando próximo dos 7% da produção. O mercado de queijos está em constante expansão, sendo que o consumo médio per capita brasileiro é em torno de 5,1 Kg/hab (ABIQ, 2017; MILKPOINT, 2014).

A manufatura de queijos implica na geração de soro lácteo. Ao se fazer uma projeção considerando os dados da produção de queijo no ano de 2014 e que para cada quilo de queijo produzido são gerados em torno de 8,5 a 9 litros de soro, pode ser estimado uma produção de 10 bilhões ton/ano de soro, referente a esse período no Brasil (HERNÁNDEZ-ROJASF; VÉLEZ-RUIZ, 2014; NATH et al., 2015; BRANDELLI et al., 2015).

Segundo Antunes (2003) o soro apresenta 6% de sólidos totais, desses 13% em base seca é de proteínas. Considerando os 10 bilhões ton/ano de soro produzidas, equivale dizer que 76.674 ton/ano de proteínas do soro de leite foram geradas. Considerando uma ingestão de 200g de proteína diariamente que é mais de 3 vezes o recomendada pelos profissionais de saúde segundo Campbell-Platt (2015), esse montante de soro poderia atender a necessidade de proteína de cerca de 1000 pessoas/ano. Assim investimentos neste segmento iriam corroborar no suprimento de necessidades proteicas da população, desta forma, justificando ainda o interesse comercial deste co-produto.

Entretanto, um dado bastante relevante é que segundo Gajo et al. (2016), Baldasso; Barros; Tessaro, (2011), Magalhães et al., (2011), apenas 50% do soro lácteo é aproveitado no Brasil. Outro fator a ser destacado é que o país importa soro em pó para atender as demandas do mercado interno (ALMEIDA et al., 2014).

Um levantamento realizado considerando apenas os dados dos produtores da Associação das Pequenas Indústrias de Laticínios do Rio Grande do Sul- Apil/RS estima-se que são descartados mais de 1,5 milhão de litros de soro todos os dias nesse estado. Este estudo destaca ainda que em torno de 25% de todo o soro de queijo gerado no país vem de grandes produtores, os 75% restantes são oriundos de pequenos produtores de leite e queijo (SOUZA, 2017).

Historicamente, o soro era visto pelos laticínios como um problema, possuindo um baixo valor comercial e pouco interesse pela sua utilização. A partir da década de 70 por intermédio dos avanços na área de ciência e tecnologia, o soro tem sido

considerado como um dos maiores reservatórios de proteína disponíveis mundialmente, sendo um dos ingredientes lácteos mais valiosos devido a sua grande versatilidade (BANSAL; BHANDARI, 2016; POVEDA, 2013).

O soro é considerado um subproduto do queijo (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011; HERNÁNDEZ-ROJASF; VÉLEZ-RUIZ, 2014; OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012; PAGNO et al., 2009; POPPI et al., 2010). No entanto, sabe-se que este subproduto possui elevado valor comercial se for industrializado. Muitos estudos vêm sendo realizados com o objetivo de agregar valor a esta matéria-prima, tornando-o um co-produto, pois é rico em proteínas de alto valor biológico. Os laticínios que conseguem vender apenas o soro líquido gerado podem obter rendimentos que representam até 10% no faturamento total da empresa, o que é bastante promissor (SOUZA, 2017).

Comercialmente produtos derivados do soro são denominados de concentrado proteico de soro (*Whey protein concentrate - WPC*), sendo que o teor de proteína pode variar entre 35 e 80 % ou ainda no caso de isolados proteicos esse percentual pode ser de até 95 % (BANSAL; BHANDARI, 2016; SMITHERS, 2015; ALVES et al., 2014; PERREIRA, 2009).

Segundo Yadav et al. (2015), os avanços tecnológicos permitiram o aumento da utilização do soro em cerca de 50% do total produzido, sendo transformado em produtos de valor agregado, como proteína de soro de leite, soro permeado, bioetanol, biopolímeros, hidrogênio, metano, bioproteína e probióticos. Entre vários produtos de valor agregado, a transformação de soro em produtos proteicos é atraente e exigente. Alimentos ricos em proteínas estão cada vez mais consolidadas no Brasil. O exemplo disso é o sucesso de produtos lácteos como o iogurte tipo grego, o qual tem aberto caminho para novos produtos com alto teor de proteína.

## 2.2 SORO DE LEITE E PROPRIEDADES DAS PROTEÍNAS

### 2.2.1 Características do soro de leite

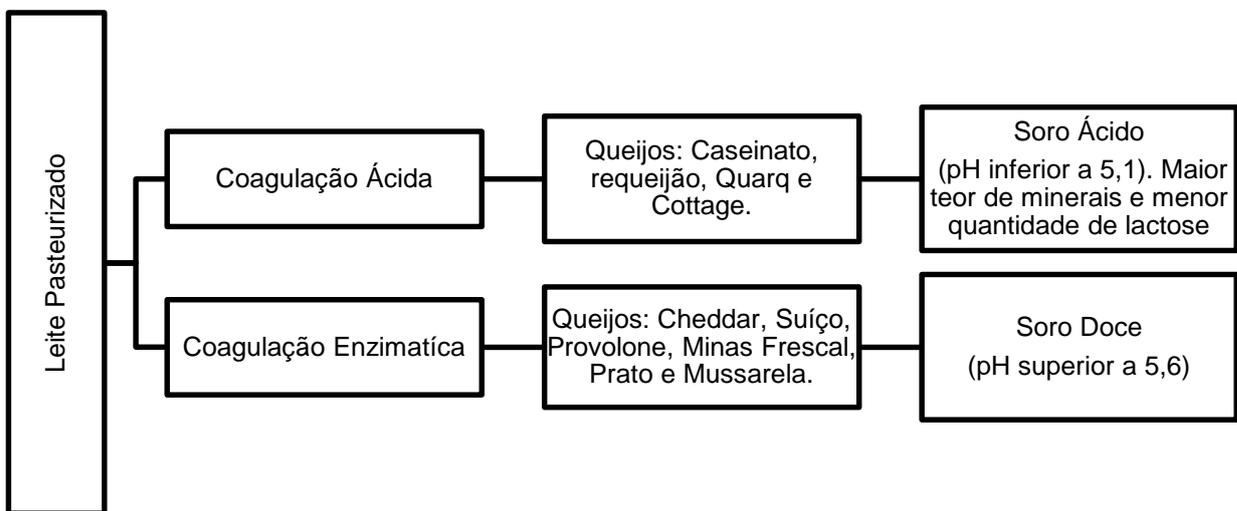
O soro de leite é um líquido opaco de coloração amarelo-esverdeada devido a presença de riboflavina (vitamina B2), e que apresenta sabor e odor bastante marcantes resultante da coagulação do leite (ORDÓÑEZ, 2005; POPPI et al., 2010; SMITHERS 2008). O soro de leite é o produto lácteo extraído da coagulação do leite

utilizado no processo fabricação de queijos, de caseína e de produtos similares (BRASIL, 2017).

Até o momento não foi publicado nenhuma portaria estabelecendo os padrões de identidade e qualidade para o soro lácteo e seus derivados. Esse tema já foi tratado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA em consulta pública, tratando de definições e parâmetros de qualidade. Diante da grande variedade de produtos à base de soro a delimitação desses parâmetros é de grande valia para a indústria láctea.

Existem dois tipos de soro produzidos em nível industrial, que diferem em função do tipo de queijo produzido e do método de coagulação empregado. Na Figura 1 é apresentada a relação entre o tipo de queijo e a característica do soro gerado em função do método de coagulação utilizado. Vale destacar que o soro doce possui uma ampla aplicação para a indústria de alimentos em relação ao soro ácido fato este atribuído ao sabor característico do mesmo (KILARA; VAGHELA, 2018; MADUREIRA et al., 2007; SMITHERS, 2008).

**Figura 1** - Diagrama de obtenção do soro de leite.

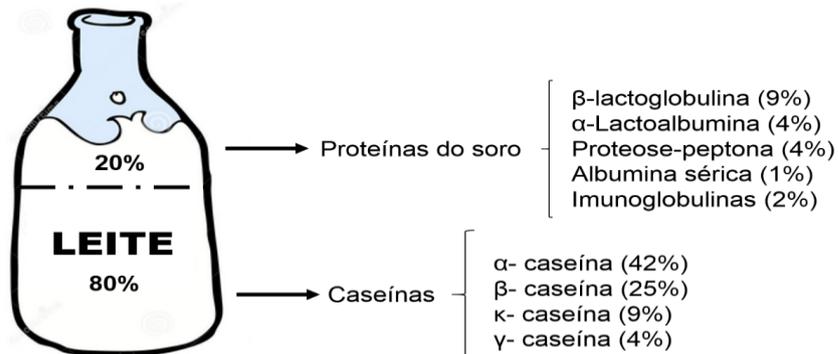


Fonte: Adaptado de ANTUNES (2003), SGARBIERI (2004) e SILVA et al. (2015)

O leite contém de 30 a 36 g/L de proteína total, com alta qualidade nutritiva, sendo essas proteínas classificadas como caseínas (representam 80 %) ou proteínas do soro. As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação com outras fontes de proteínas (ESKIN E SHAHIDI, 2015;

FENNEMA; DAMODARAN, PARKIN, 2010; PATEL, 2015). Este bioproduto contém cerca de 50 % dos sólidos totais do leite, 94 % da lactose e cerca de 20 % da proteína total (PAGNO et al., 2009). Na Figura 2 está ilustrada a distribuição das proteínas do leite, podendo ainda serem classificadas como solúveis e insolúveis.

**Figura 2 - Classificação das proteínas do leite.**



Fonte: Adaptado de FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN (2010) e VIEIRA (2014).

No soro líquido as proteínas se encontram em baixas concentrações. A partir da década de 70, com o advento de tecnologias não térmicas, como o processo de separação por membrana, tornou-se possível as etapas de concentração, separação e purificação das proteínas do soro seguidas pela etapa final que consiste na operação unitária de secagem, utilizando *spray dryer*. A partir de então as propriedades funcionais passaram a ser melhor compreendidas e exploradas com diferentes potencialidades para uso na tecnologia de alimentos. Dentre as propriedades funcionais podemos destacar a: solubilidade, emulsificação e formação de espuma (PAGNO et al., 2009; ALVES et al., 2014).

Silva et al. (2017), dividem os produtos lácteos em pó em 4 gerações, produção de produtos lácteos em pó (leite integral e desnatado em pó e soro em pó). Fabricação de concentrados proteicos (caseinatos e proteínas do soro). A indústria nacional está atenta a este segmento, contudo o país ainda não é autossuficiente na produção destes insumos. Inclusão das proteínas lácteas como ingredientes tecno-funcionais, as quais destacam-se por conferir propriedades emulsificantes, agentes de textura e formação de espuma. Estudo dos compostos bioativos presentes nos produtos lácteos.

O Brasil se encontra na primeira geração de produtos lácteos desidratados, pois o país ainda é um grande importador desses itens. Atualmente algumas indústrias estão caminhando para atender o mercado, com relação aos concentrados proteicos de soro. No estado do Rio Grande do Sul a empresa Relat<sup>®</sup> está se destacando e caminhando para atender o mercado com relação aos produtos concentrados de proteína de soro, sendo pioneira neste segmento (SILVA et al., 2017).

O principal fator limitante para o aumento da produção de concentrados proteicos, a partir do soro, é que as unidades que realizam esse processo estão fisicamente distantes das que beneficiam o queijo. Bacenetti et al. (2018) sugerem, como alternativa viável, a realização de uma pré-concentração do soro, para depois encaminha-ló para as unidades que disponham da tecnologia de separação por membrana.

Segundo Das et al. (2016) com o uso do processo de separação por membrana a recuperação de proteínas do soro e lactose na indústria de laticíneos está a um passo para a gestão verde de resíduos complementando o conceito de refinaria para o soro de leite.

Portanto o estudo proposto enquadra-se na terceira geração de produtos, ou seja, busca-se entender como o uso do concentrado proteico em sorvetes poderia auxiliar na estabilidade e aeração da emulsão obtida.

### *2.2.2 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite*

A qualidade nutricional de uma proteína depende da sua composição, digestibilidade, absorção, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e de nitrogênios totais. A digestibilidade é o fator que mais reflete na eficiência da utilização proteica na dieta, sendo considerada um condicionante de qualidade (OLIVEIRA; BRAVO; TONIAL, 2012; SGARBIERI, 2005).

Oetterer; Regitano-D'arce; Spoto (2006) e Sgarbieri, (1996) definem o termo funcionalidade como qualquer propriedade que não seja os atributos nutritivos que influenciam a utilidade de um ingrediente em um alimento. O soro pode ser considerado uma solução rica e heterogênea de proteínas, com propriedades nutricionais e funcionais (PERREIRA et al., 2016).

As propriedades tecno-funcionais dos sistemas proteicos são fortemente influenciados pelo tratamento térmico devido a desnaturação proteica interferindo diretamente nas características reológicas do produto a ser desenvolvido (SILVA et al., 2017).

Zacarchenco et al. (2013) relatam que, diferentemente das caseínas, as proteínas do soro não precipitam quando o pH é reduzido para 4,6, porém este tipo de proteína é termossensível, ou seja, são completamente desnaturadas a 90°C por 10 min.

Na Tabela 1 são apresentadas as propriedades funcionais e nutricionais de frações do soro de leite. Os valores apresentados podem variar em função de fatores extrínsecos como: raça do rebanho, alimentação, sazonalidade e tipo de tratamento térmico empregado na produção do queijo.

**Tabela 1** - Propriedades funcionais e nutricionais de frações do soro de leite.

Biomoléculas	Características	Propriedades funcionais e nutricionais	Referências
<b><math>\beta</math>-lactoglobulina (<math>\beta</math>-LG)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massa Molecular 18,3 kDa.</li> <li>- Ponto isoelétrico de 5,1 – 3,8.</li> <li>- Desnatura em temperaturas entre 70 e 75°C.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rica em aminoácidos essenciais (162), cadeia ramificada.</li> <li>- Efeito antioxidante, hipocolesterolêmico, anti-hipertensiva, antimicrobiana e imunoestimulante.</li> <li>- Não está presente no leite humano.</li> <li>- Regulador do metabolismo do fósforo na glândula mamária, transportador de vitamina D, colesterol e retinol (hidrofóbica).</li> <li>- Ação geleificante e estabilizante de espumas, responsável pelo sabor cozido do leite.</li> </ul>	<p>ALMEIDA et al. (2013); NATH et al., (2015); YADAV et al., (2015).</p>
<b><math>\alpha</math>-lactoalbumina (<math>\alpha</math>-LA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massa Molecular 14,1 kDa.</li> <li>- Ponto isoelétrico de 5,1</li> <li>- Resistentes termicamente, pois conseguem restaurar-se a baixas temperaturas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rica em aminoácidos essenciais (123), cadeia ramificada principalmente em triptofano.</li> <li>- Imunomodulação, ação anticancerígena, efeito hipocolesterolêmico.</li> <li>- Auxilia na absorção de minerais.</li> <li>- O perfil de aminoácido da <math>\alpha</math>-LA se assemelha ao do presente no leite humano, permite a recomendação na formulação de produtos para nutrição infantil.</li> <li>- É a única capaz de se ligar ao cálcio.</li> </ul>	<p>SGARBIERI, (2005); YADAV et al., (2015).</p>
<b>Lactoperoxidase</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massa Molecular 77 kDa.</li> <li>- Ponto isoelétrico de 9,6.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ação antimicrobiana.</li> <li>- Pode ser utilizada para preservar a qualidade do leite cru.</li> </ul>	<p>SGARBIERI, (2004); VIEIRA, (2014).</p>

**Tabela 1** - Composição geral do soro de Leite (... continuação)

<b>Biomoléculas</b>	<b>Características</b>	<b>Propriedades funcionais e nutricionais</b>	<b>Referências</b>
<b>Imunoglobulina (Ig)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Compreendem três classes principais: IgG, IgA e IgM.</li> <li>- IgG Massa Molecular de 150 kDa e ponto isoelétrico de 6.5–9.5.</li> <li>- IgA Massa Molecular 320 kDa e ponto isoelétrico de 4.5–6.5;</li> <li>- IgM Massa Molecular 900 kDa e ponto isoelétrico de 4.5–6.5;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Modulação do sistema imunológico, atua como agente antibacteriano.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>NATH et al. (2015)</li> <li>VIEIRA (2014)</li> </ul>
<b>Lactoferrina</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massa Molecular 80 kDa.</li> <li>- Ponto isoelétrico de 8,0.</li> <li>- Estáveis ao calor e resistentes aos ácidos a pH 4,0.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ação antimicrobiana, antiviral, antifúngica e antioxidante.</li> <li>- Auxilia no crescimento de bactérias benéficas, atividade anticancerígena e absorção do ferro.</li> <li>- Utilizado como ingrediente bioativo natural em fórmulas infantis e suplementos dietéticos, cuidados com a pele e para cuidados da saúde bucal.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SGARBIERI (2004)</li> <li>VIEIRA (2014)</li> </ul>
<b>Albumina sérica (BSA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Massa Molecular 66,2 kDa.</li> <li>- Ponto isoelétrico de 4,9 -5,1.</li> <li>- Temperatura de desnaturação de 64°C.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fonte de aminoácidos essenciais.</li> <li>- Transporte de nutrientes.</li> <li>- Potencial de ligação aos ácidos graxos, função anti-mutagênica e prevenção do câncer. - Capacidade gelificante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>SGARBIERI (2004)</li> <li>VIEIRA (2014)</li> </ul>

A indústria de alimentos vive um momento onde se busca formular produtos cada vez mais nutritivos, acessíveis e principalmente de baixo custo. O soro de leite é o produto da vez, possui em sua composição nutrientes de interesse, passíveis de serem recuperados e aplicados em um amplo mix de produtos e nas mais diversas áreas de alimentos. As principais tendências de aplicações tecnológicas para as proteínas do soro são para produção de alimentos funcionais, para fins especiais e produtos dietéticos (RUBIO; HUERTAS; ORTIZ, 2013).

Existe divergência com relação a classificação das propriedades funcionais das proteínas que podem ser classificadas, conforme a descrição da Tabela 2. É importante salientar que, todas as propriedades apresentadas nestas Tabelas podem ser modificadas pela presença de agentes químicos ou físicos.

**Tabela 2** - Classificação das proteínas quanto a sua funcionalidade.

<b>Classificação</b>	<b>Propriedade Funcionais</b>
<b>De hidratação</b>	Dependem das interações com a água e englobam a absorção, retenção de água, viscosidade e solubilidade.
<b>Interação proteína-proteína</b>	Importantes durante a precipitação, geleificação, formação de massas visco-elásticas, textura e formação de película.
<b>De superfície</b>	Interação da proteína com fases imiscíveis. Tensão superficial, capacidade de emulsificação, formação de espuma e aeração.

Fonte: Adaptado de Oetterer; Regitano-D'arce; Spoto (2006) e Abirached (2012)

Sgarbieri (1996) relata ainda que a medida da propriedade funcional de uma proteína de forma isolada não representa a mesma contribuição quando medida no alimento, assim a determinação destas características se torna bastante complexa devido à grande diversidade de estruturas e conformações, além das possíveis interações com outros componentes, tais como lipídeos, carboidratos, água, íons e outras proteínas.

Com relação às soroproteínas muito ainda precisa ser realizado para entender os reais efeitos destas como ingredientes, ou seja, se faz necessário estudos buscando o desenvolvimento de uma melhor adequação da utilização destas proteínas dentro de cada perfil tecnológico desejado (SILVA et al., 2017).

A maior parte das propriedades funcionais afeta o caráter sensorial dos alimentos, especialmente seus atributos de textura. Araujo (2011), descreve que a funcionalidade das proteínas pode ser definida pelas propriedades física e química que afetam o seu comportamento no alimento durante o processamento, o armazenamento e a preparação.

Alves et al. (2014) destacam que a grande vantagem da aplicação das proteínas do soro em alimentos é por apresentarem a capacidade de proporcionar mais de uma finalidade funcional, quando aplicada como ingredientes na indústria de alimentos e bebidas. Os benefícios das proteínas do soro de leite como ingrediente em outros alimentos originam-se de suas excelentes propriedades nutricionais e sua capacidade de contribuir para propriedades funcionais essenciais e singulares nos alimentos produzidos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

A seguir será apresentada uma breve descrição sobre as principais relações entre as propriedades funcionais das proteínas lácteas de interesse para este estudo.

#### *2.2.2.1 Solubilidade*

A solubilidade é um dos principais parâmetros que influênciam significativamente nas propriedades funcionais das proteínas (formação de espuma, emulsificação, geleificação e capacidade espessante), visto que, as proteínas insolúveis têm aplicações limitadas. Esta propriedade é dada pela relação entre três fatores principais: grau de hidratação, densidade e distribuição de cargas ao longo da cadeia e presença de substâncias não-proteicas como fosfatos, carboidratos e lipídios, que podem apresentar efeito estabilizante. A solubilidade depende principalmente do pH, força iônica, tipo de solvente e temperatura (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Pelegri e Gasparetto (2005), avaliaram os efeitos da temperatura (40 à 60°C) e do pH (3,5 à 7,8) na solubilidade de proteínas do soro. Os resultados evidenciaram que tanto a temperatura quanto o pH influenciaram na solubilidade da proteína, e essas propriedades tiveram grande interação. Além disso, para as proteínas do soro, os valores de solubilidade foram mínimos no valor de pH de 4,5, que é o ponto isoelétrico das proteínas do soro, para a faixa temperatura estudada. Os autores verificaram ainda que em pH 4,5, a solubilidade diminuiu com o aumento da

temperatura indicando que ocorreu a desnaturação da proteína, comportamento similar também foi percebido em pH 6,8 (neutralidade).

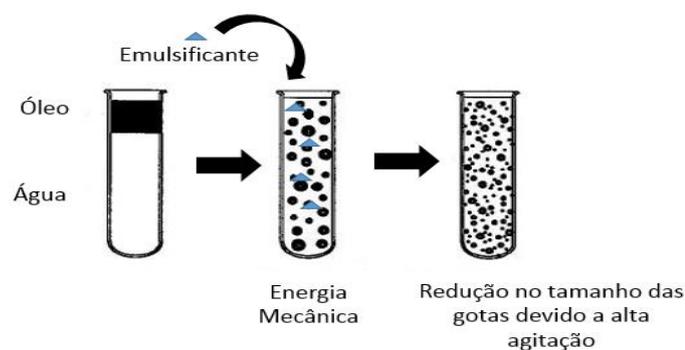
Dissanayake et al. (2013) estudaram a influência do pH (4, 5 e 6) e da concentração de proteína do soro frente a desnaturação durante o aquecimento a 140°C. Esse estudo demonstrou que as dispersões de concentrados protéicos foram mais estáveis à desnaturação induzida pelo calor em pH 4, embora a desnaturação foi influenciada pela concentração de proteína, destacando que a desnaturação proteica interfere significativamente na solubilidade da proteína.

### 2.2.2.2 Emulsões

Uma emulsão é uma dispersão de gotas de um líquido em outro que é chamado de fase contínua. A preparação de uma emulsão requer a formação de grandes quantidades de área interfacial entre dois líquidos imiscíveis. Para preparar uma emulsão, basicamente se faz necessário a combinação de água, óleo, emulsificante e agitação, como ilustra a Figura 3.

Emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, ou seja, tendem a separação completa de fases. Portanto, não se formam espontaneamente, sendo necessário fornecer energia mecânica para formá-las, através de agitação, geralmente se faz necessário o uso de homogeneizadores (MIRHOSSEINI et al., 2007).

**Figura 3** - Representação esquemática do processo formação de emulsão óleo/água.



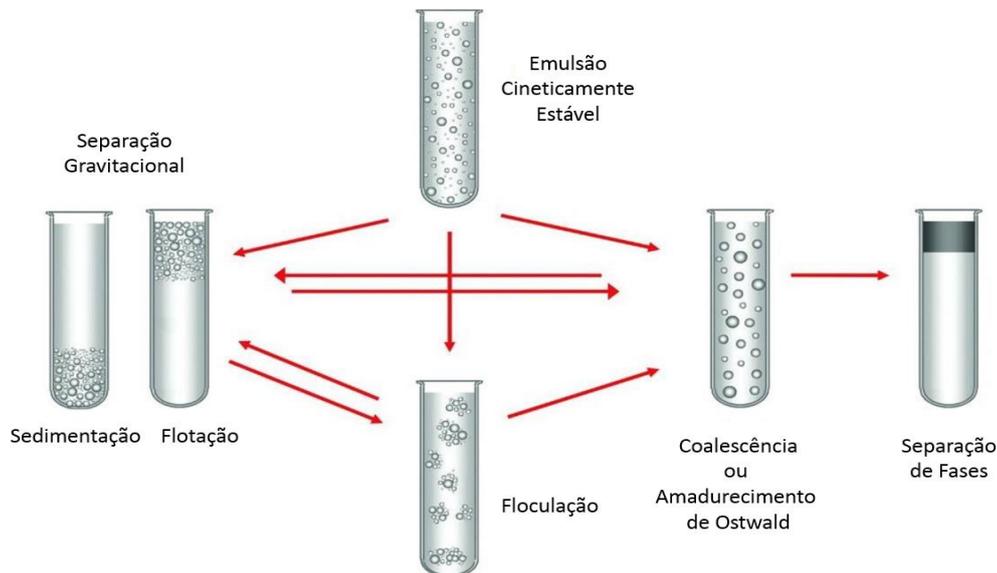
Fonte: Adaptado de Mirhosseini et al. (2007)

Segundo McClements (2007) a estabilidade de uma emulsão é governada pela magnitude relativa das forças atrativas de Van der Waals e das interações repulsivas entre as gotículas. Para que a estabilidade seja mantida podem ser utilizados agentes emulsificantes. Estes são substâncias tensoativas que adsorvem na superfície das gotas formando uma camada protetora, que vai impedir que essas mesmas gotas se agreguem e por fim coalesçam.

Fennema; Damodaran; Parkin (2010), relatam que as proteínas são emulsificantes preferenciais para as emulsões alimentícias óleo/água, elas são comestíveis, ativas na superfície (reduzem a tensão interfacial), solúveis em água, apresentam caráter anfipático e proporcionam resistência superior a coalescência. Porém apresentam como desvantagem formar gotas maiores em relação a agentes surfactantes.

Os principais fatores que afetam a estabilidade física das emulsões do tipo óleo/água estão apresentados na Figura 4.

**Figura 4** – Fenômenos causados pela instabilidade física das emulsões.



Fonte: MCCLEMENTS E RAO (2011).

Dos fenômenos que podem levar a quebra das emulsões, a flotação (cremado) e a sedimentação são fenômenos de natureza gravitacional. Porém, ocorrem em sentidos contrários em função da densidade. As principais ações que podem ser feitas

no processo para evitar a ocorrência destes processos são a diminuição no tamanho das partículas e o uso de espessantes para aumentar a viscosidade do sistema.

Já os fenômenos de floculação e coalescência ocorrem quando se tem a aglomeração das gotas pela junção ou fusão, respectivamente. A floculação está associada a quantidade insuficiente do emulsificante. Por outro lado, a coalescência pode levar a formação de um filme oleoso na parte superior da amostra (GOFF; HARTEL, 2013). Estes mecanismos ocorrem quando as forças atrativas de Van der Waals excedem as forças repulsivas do sistema

O envelhecimento de Ostwald é o processo onde as gotas maiores crescem às custas das menores por difusão, ou seja, devido à transferência de massa, da fase dispersa através da fase contínua (MCCLEMENTS, 2007).

### *2.2.2.3 Tensão superficial interfacial*

Conceitualmente não existe diferença entre os termos superfície e interface. Porém, é comum descrever a fronteira entre duas fases, em que uma delas é um gás, como superfície.

Uma interface entre duas fases seja ela miscível ou não, contém um excesso de energia livre que é proporcional à área interfacial, dependente do grau de afinidade termodinâmica entre as fases. Como consequência, a interface procurará tornar-se menor possível a fim de minimizar a energia interfacial. Isso significa que se deve aplicar uma força externa para que se aumente a área da interface. A força de reação da interface é de atração, agindo no plano da interface. Quando a interface for um líquido essa força pode ser mensurada por unidade de comprimento, sendo denominada de tensão superficial interfacial (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Portanto, a resistência ao aumento da área de superfície traduz-se na tensão superficial característica de cada material. A tensão superficial pode ser quantificada em unidades de energia por área, essa é dependente da temperatura, na qual via de regra diminui com o aumento da temperatura, ou seja, é uma função linear (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Algumas moléculas de uma solução em contato com outra fase podem acumular-se na superfície, formando uma monocamada, Fennema; Damodaran;

Parkin (2010) denominam esse fenômeno de adsorção e a substância adsorvente é chamada de surfactante.

Os líquidos polares, como água, têm fortes interações intermoleculares, e conseqüentemente, elevadas tensões superficiais. Qualquer fator que diminua a força desta interação diminuirá a tensão superficial. A adição de surfactantes (emulsificantes), por exemplo, é feita com o intuito de reduzir a tensão na interface, uma vez que moléculas com caráter anfifílico têm a tendência de se dispor na interface ou na superfície, favorecendo uma diminuição da energia livre do sistema e a formação de emulsão, por isso é de extrema importância que se meça a tensão superficial e interfacial entre a água e o óleo (ALMEIDA, 2012).

#### *2.2.2.4 Tamanho de partícula*

O tamanho das partículas em uma emulsão tem um forte impacto na sua estabilidade, suas propriedades óticas (como transparência e cor), sua reologia (como viscosidade ou módulos viscoelásticos), e seus atributos sensoriais (como a sua cremosidade). É de extrema importância, que se possa medir e especificar de forma precisa e confiável o tamanho das partículas presentes na emulsão (MCCLEMENTS, 2007).

Almeida (2012) descreve que quando se tratam de emulsões para alimentos, deve-se dar especial notoriedade ao impacto que o tamanho de partícula de uma determinada emulsão pode ter nos seus atributos sensoriais, como a liberação do sabor e a sensação na boca. Grandes gotas podem levar à liberação de um sabor ruim, uma sensação de boca gordurosa e pouca estabilidade devido à flotação/sedimentação. Já um tamanho menor de gota tende a reduzir a flotação/sedimentação e melhorar o sabor de um produto. No entanto, diminuir o tamanho das partículas aumenta a superfície disponível, que por sua vez, pode levar a floculação se a concentração de emulsificante não for controlada e suficiente.

Com relação ao tamanho das gotas de uma emulsão, pode-se classificá-la como monodispersa quando as gotas apresentam o mesmo diâmetro, por outro lado, são ditas polidispersas quando contêm tamanhos de gotas diferentes, essa é a categoria que se enquadram grande parte dos alimentos. A distribuição do tamanho das partículas é representado na forma de um histograma de frequência dividindo-se

a distribuição em um número de classes e colocando a concentração das partículas em cada classe de tamanho (MCCLEMENTS, 2015).

O conhecimento da distribuição completa de tamanho de partícula é importante para prever a origem e natureza de qualquer instabilidade do sistema. No caso, de uma possível separação por ação da gravidade ou floculação não há perda da identidade individual de cada gota, porém no caso de uma possível coalescência ou envelhecimento de Ostwald, há um aumento no tamanho médio de partículas. (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

O tamanho médio das partículas e a curva de distribuição de tamanho fornecem um indicativo dos possíveis mecanismos de desestabilização da emulsão, por isso a importância desta determinação. Gotas grandes tendem a sofrer flotação/sedimentação e gotas muito pequenas tornam o sistema instável por causa da sua elevada área, que se traduz em elevada energia do sistema, aumentando a probabilidade de haver coalescência. Portanto, gotas de tamanhos dispersos favorecem a ocorrência de envelhecimento de Ostwald (MCCLEMENTS, 2007).

Como já mencionado uma das tecnologias alternativas de obtenção de concentrados proteicos de soro de leite é o processo de separação por membranas, a seguir são apresentadas algumas características deste processo.

### 2.3 SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO SORO

O aumento do teor proteico dos derivados lácteos é obtido por meio da utilização de processos de concentração seletiva das proteínas. Este processo é realizado por meio da utilização dos processos de separação por membranas, particularmente da ultrafiltração.

A utilização do processo de separação por membranas (PSM) permite a fabricação de produtos versáteis com alto teor de proteínas, isentos ou com baixo teor de gordura, minerais e/ou lactose (CRUZ et al., 2017). A indústria láctea é a maior responsável pela ascensão deste negócio (HABERT et al., 2006; BALDASSO, 2008; CARVALHO; MAUBOUI, 2010; ALVES et al., 2014).

O método tradicional para concentração de um alimento líquido é o processo de evaporação. Nos sistemas de separação por membranas, a água é removida da matriz líquida sem que ocorra mudança de fase (SINGH; HELDMAN, 2016).

O objetivo do uso desta tecnologia não-térmica é a concentração e/ou o fracionamento de compostos solúveis em uma fase aquosa oriundas de composições distintas. Esta operação unitária consiste na permeabilidade seletiva de um ou mais constituinte de um líquido, tendo-se a separação em duas correntes: os compostos de massa molecular superior ao tamanho dos poros da membrana chamados de concentrado/retentado e partículas inferiores aos poros da membrana são designados de permeado (CRUZ et al. 2017; FAION, 2015; HABERT et al., 2006).

O soro é rico em macromoléculas, o que torna a operação de separação bastante complexa, pois o tamanho dos poros é um fator determinante para a eficiência do processo. Por outro lado, as condições de operação são menos onerosas em relação aos processos convencionais como a evaporação, seguida de secagem, pois tem-se menores demandas energéticas que corroboram com a manutenção das propriedades nutricionais e sensoriais dos produtos resultantes (SANTOS; MACIEL; SEIXAS, 2014; SEGUENKA, 2016; SERPA, 2005).

O fator limitante do uso da tecnologia é que esta não elimina totalmente a água da matriz, o que interfere na concentração de solutos, e a deposição destes dificulta a transferência de massa. Este fenômeno é chamado de incrustação ou *fouling*.

Os PSM são divididos em função da aplicação industrial. E os quatro processos mais utilizados na indústria de laticínios são: microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e a osmose inversa (OI). Esses processos fazem o uso da pressão como força motriz de acordo com o diâmetro de poro e permeabilidade da membrana (HABERT et al., 2006; PINTO; BERNARDO, 2016).

Segundo Atra et al. (2005) a aplicação de ultrafiltração na indústria de laticínios começou com a separação e concentração das proteínas do soro de leite em 1972 e no início da década de 80 passou também a ser utilizada na produção de queijo cottage e soft. A ultrafiltração é uma das tecnologias mais fascinantes, que foi introduzida para aplicação na indústria de laticínios, pois ela torna possível melhorar a qualidade dos produtos lácteos tradicionais, criar novas categorias de produtos, utilizar subprodutos lácteos (como o soro de leite) em muito maior grau para a nutrição humana e preparar ingredientes lácteos para serem usados em toda a cadeia alimentar (BRANS et al., 2004).

Indiferente do tipo de processo de separação utilizado e das configurações, as membranas apresentam três formas distintas conforme são apresentadas na Tabela

3 bem como, estão destacadas as principais vantagens e desvantagens do uso de cada um dos sistemas.

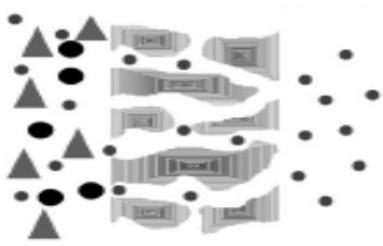
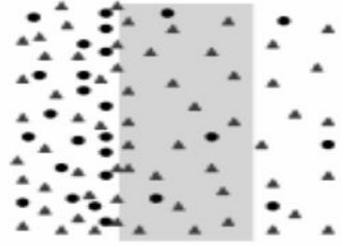
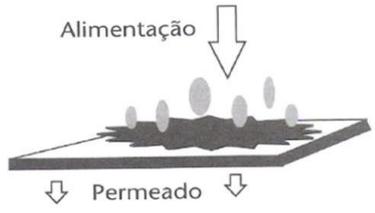
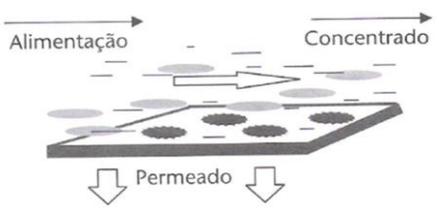
**Tabela 3 - Vantagens e desvantagens dos tipos de membranas.**

<b>Tipo</b>	<b>Vantagem</b>	<b>Desvantagem</b>
<b>Placas</b>	Menor consumo energético; Permeado analisado em cada seção; Substituição individual das membranas.	Principalmente utilizada em escala piloto; difícil limpeza Membranas frágeis
<b>Tubular</b>	Elevada durabilidade Alta performance	Baixa relação área/volume; Grande espaço para instalação.
<b>Espiral</b>	Compactas: alta relação área/volume; Flexibilidade de processos;	Dificuldade de operação com fluidos viscosos e/ou com sólidos em suspensão; Falhas por rompimento requerem substituição dos módulos.
<b>Fibra oca</b>	Excelente relação custo/benefício, Elevada área de permeação.	Falhas por rompimento requerem substituição dos módulos.

Fonte: Cruz et al. (2017); Habert et al. (2006).

As membranas podem ser caracterizadas de acordo com sua estrutura morfológica, natureza do material constituinte e configuração modular, conforme apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4** - Principais configurações das membranas.

<b>Morfologia</b>	
<b>Porosas</b>	<b>Densas</b>
<p>O movimento do fluido se dá pela diferença entre o tamanho de partícula e os poros da membrana.</p> 	<p>Não possuem poros o transporte se dá pela sorção e difusão do material da membrana.</p> 
<b>Isotrópicas (simétricas)</b>	<b>Anisotrópicas</b>
Homogênea ao longo da sua área de fluxo.	Possui tamanho de poros variando ao longo da área de fluxo.
<b>Natureza do Material</b>	
<b>Orgânica</b>	<b>Inorgânica</b>
Amplamente utilizadas devido a apresentarem: altos fluxos, boa rejeição a sais, tolerâncias a temperatura e pH.	Apresentam maior estabilidade química e térmica em relação as poliméricas, porém seu uso é restrito a MF e UF.
<b>Configuração Modular</b>	
<b>Normal (<i>dead-end</i>)</b>	<b>Tangencial (<i>cross-flow</i>)</b>
<p>Fluxo perpendicular a membrana. Baixo rendimento do processo devido a formação de depósitos sob a superfície da membrana (Resistência) diminuindo assim a eficiência do processo.</p> 	<p>Fluxo paralelo, limita o acúmulo do material retido sobre a membrana, proporcionando melhor eficiência ao sistema, além de obter um fluxo basicamente constante por um longo período de tempo.</p> 

Fonte: Adaptado de Habert et al. (2006).

Na Tabela 5, estão apresentados alguns estudos da literatura referente a utilização de membranas para a obtenção de concentrado proteico (CPS) onde podemos destacar as principais condições de processos utilizadas tais como tipo de membrana, pressão, temperatura e vazão de alimentação.

**Tabela 5** – Estudos utilizando membranas para fracionar, recuperar e concentrar CPS.

Objetivo do Estudo	Condições de Processo	Conclusões	Referência
<b>Diminuir o descarte de soro e aumentar o rendimento de queijo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Escala laboratorial;</li> <li>-Foram testados 3 tipos de membrana duas de UF e uma de NF;</li> <li>- Membranas UF: FS10 – Polivinil -difluoride 6-8 kDa e a SP015 – Polyethersulfone 15-20 kDa, pressão 1 e 5 bar respectivamente área de 420 cm<sup>2</sup>, NF: RA55- Poliamida 400 Da, pressão de 10-20 bar, área de 0,3 m<sup>2</sup>, temperatura 30 e 50°C;</li> </ul>	<p>As membranas investigadas são adequadas para a concentração das proteínas do leite e soro do leite e lactose com alto fluxo e retenção. As características de operação foram obviamente influenciadas pelos parâmetros do processo.</p> <p>O uso do PSM possibilitou um aumento significativo no rendimento do queijo através da incorporando das proteínas do soro.</p>	ATRA et al. (2005).
<b>Investigar o efeito do pH no fracionamento de proteínas do soro com uma membrana de UF</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Foi utilizado soro bovino ácido clarificado;</li> <li>- Membrana de UF de cerâmica, tubular de 300 kDa, área 0,045 m<sup>2</sup>, pressão 1 bar e temperatura 30°C;</li> </ul>	<p>Os fluxos de permeado foram reduzidos em pH 4 e 5 (ponto isoelétrico das proteínas), por outro lado em pH extremos como 3 e 10 houve um aumento dos fluxos. Para <math>\alpha</math>-lactalbumina e <math>\beta</math>-lactoglobulina, a soma dos rendimentos de retentado e permeado foi de cerca de 100% em todos os casos, o que indica que não ocorreu perda destas proteínas.</p>	ALMÉCIJA et al. (2007)
<b>Obter CPS por meio do processo de separação por membranas (UF e DF)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Membrana UF de polietersulfona, modulo espiral KOCH® de 10 kDa; Diafiltração, pressão: 2 bar;</li> <li>- Vazão de alimentação: 840 L/h;</li> <li>- Temperatura de 50°C e FC = 6.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 56 -80 % de Proteína;</li> <li>- 10 -31 % de Lactose.</li> </ul>	PAGNO et al. (2009).

**Tabela 5** – Estudos que utilizaram membranas para fracionar, recuperar e concentrar CPS (... continuação)

<b>Objetivo do Estudo</b>	<b>Condições de Processo</b>	<b>Conclusões</b>	<b>Referência</b>
<b>Purificação de proteínas utilizadas em menores quantidades de água na etapa de DF</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Membrana de UF de 10 kDa;</li> <li>- As condições experimentais seguem as mesmas orientações de Pagno et al. (2009);</li> <li>- Área de 0,28 m<sup>2</sup>; Foram realizados dois experimentos variando os fatores de concentração (5 e 6) e o volume de água utilizado na etapa de diafiltração.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Condição 1: 71 % de proteína com FC 6 e um teor final de lactose de 29 %;</li> <li>- Condição 2: 62 % de proteína com FC 5 e um teor final de lactose de 37 %;</li> <li>- Portanto um maior fator de concentração resultou em maior recuperação de proteína;</li> <li>- As cinzas foram eliminadas do concentrado;</li> </ul>	BALDASSO; BARROS; TESSARO, (2011).
<b>Estudar o comportamento de membranas para obtenção de concentrado de leite de ovelha</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Laboratorial: membrana de polietersulfona plana de 100 kDa, foram realizados ensaios utilizando água e leite a 25, 30 e 35 °C e pressões de 1, 2 e 3 bar.</li> <li>- Piloto utilizando membrana de fibra oca de polisulfona amida de 10 kDa o sistema foi operado na temperatura de 25°C e 1-3 bar de pressão.</li> </ul>	Em escala laboratorial maiores pressões proporcionaram fluxos maiores de permeado em todas as temperaturas avaliadas, já em escala piloto o melhor fluxo de permeado foi encontrado com 2 bar.	RACOSKI et al. (2014).
<b>Recuperar proteínas de soro leite caprino.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilizaram membranas de MF e UF de 10 kDa;</li> <li>- Escoamento tangencial; Tempo de processo de 30 min;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Teor de proteína máximo obtido 2,68 g/100g.</li> </ul>	PALATNIK et al. (2015).
<b>Fracionar os componentes do soro com foco especial para a lactose utilizando a UF, DF e NF.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Membrana de UF de cerâmica tubular de 50 kDa seguida de três passos de DF;</li> <li>- Pressão: 6 Mpa; Temp. 75°C; Área de 0,07 m<sup>2</sup></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recuperação de 81 % de proteína;</li> </ul>	SLUKOVÁ et al. (2016)

### 2.3.1 Variáveis do PSM

As principais variáveis envolvidas no controle do PSM são na grande maioria dos casos divididos em dois parâmetros: fluxo de permeado e seletividade da membrana. O fluxo de permeado é definido através do volume obtido de permeado em relação a área útil da membrana filtrante e do tempo do processo. O fluxo volumétrico de permeado pode ser calculado segundo a Equação 1:

$$Jp = \frac{V}{A \cdot t} \quad (1)$$

Sendo:  $Jp$  é o fluxo do permeado em ( $L/m^2 h$ );  $A$  é a área permeável da membrana ( $m^2$ );  $V$  é o volume de permeado coletado ( $L$ ) em função do tempo ( $t$ ) para permeação ( $h$ ).

Alguns autores tais como: Habert et al. (2006); Baldasso (2008); Basso (2014); Ilitchenco (2016) e Seguenka (2016) relatam que o fluxo de permeado depende das características intrínsecas da membrana, da matriz a ser separada e das condições de processo (pressão, velocidade de escoamento e fator de concentração). O aumento do fluxo está fortemente relacionado com a temperatura, pois este é função da viscosidade dinâmica da solução. Assim, quanto maior a temperatura, menor a viscosidade e maior o fluxo de permeado.

A seletividade da membrana é relacionada com a facilidade que a membrana oferece a passagem de um dado solvente. O inverso da permeabilidade é a medida da resistência (rejeição) que o meio oferece ao transporte (HABERT et al., 2006). A eficácia da operação de separação é medida pela rejeição ( $R$ ) da membrana frente ao componente que se deseja separar. Este pode ser definido por uma relação entre a concentração da espécie na alimentação e sua concentração no permeado. Assim a rejeição pode ser estimada pela Equação 2:

$$R (\%) = \left(1 - \frac{Cp}{Ca}\right) \times 100 \quad (2)$$

Sendo:  $Ca$  é a concentração de soluto na alimentação e  $Cp$  é a concentração de soluto no permeado.

A rejeição (R) pode variar entre retenção completa do soluto (100 %) e soluto e solvente atravessam livremente a membrana (0%). O conceito utilizado para definir o peso molecular de um soluto no qual a membrana apresenta rejeição é o corte que ela possui (*cutt-off*). Por exemplo quando se trabalha com uma membrana com massa molar de corte igual a 10 kDa, significa que ela não permite a permeação de solutos de massa maiores ou iguais ao estabelecidos pela mesma, em até 95 % dos casos (CRUZ et al., 2017).

Outra variável limitante do processo é conhecida como fator de concentração (FC), pois à medida que a solução é concentrada, inversamente o fluxo permeado diminui (BALDASSO, 2008). Durante o processo tem-se a rejeição do soluto, o qual retorna para a alimentação com parte do solvente promovendo um aumento da concentração da alimentação com o tempo. O fator de concentração indica a relação entre a quantidade de solução/massa concentrada obtida em relação à solução/massa inicial de alimentação, podendo ser determinado através da Equação 3 (HABERT et al., 2006):

$$F_C = \frac{V_0}{V_R} = \frac{V_0}{(V_0 - V_F)} \quad (3)$$

Sendo:  $F_C$  é o fator de concentração de uma dada espécie;  $V_0$  é o volume inicial da solução (L);  $V_R$  é o volume do retido (L);  $V_F$  é o volume da solução permeada (L).

### 2.3.2 Limitações de desempenho dos PSM

Mulder (1996) e Habert et al. (2006) descrevem como principal inconveniente dos PSM são os fenômenos denominados de polarização por concentração e incrustação (*fouling*). 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.

Já a incrustação nada mais é do que a deposição indesejável e o acúmulo de solutos na superfície e dentro dos poros da membrana por adsorção ou bloqueio físico dos poros. A intensidade do fenômeno depende do tipo de membrana, da

concentração e dos solutos presentes na solução, bem como da temperatura, do pH e do tempo da operação.

Em se tratando de produtos lácteos, o *fouling* é muito complexo, em virtude da natureza dos componentes presentes. A deposição de proteína e precipitação mineral são os principais contribuintes para a incrustação, porém vários estudos apontam que a remoção de gordura ou o desnate deste pode reduzir o problema, pois estes podem levar o entupimento da membrana. Outros fatores, como pressão e velocidade de fluxo cruzado desempenham um papel importante no padrão de fluxo e nas características de incrustação. Muitos estudos sobre incrustações de proteínas mostram que as mais severas aparece a um pH ao redor do ponto isoelétrico das moléculas, e em membranas hidrofóbicas (CRUZ et al., 2017; SHI et al., 2014).

Ações preventivas que visem à redução da incidência destes fenômenos são bastante significativas, uma vez que a redução de fluxo pode ser responsável por perdas econômicas (HABERT et al., 2006).

Além dos cuidados já mencionados para se levar em consideração durante a operação dos PSM, a maximização do período de utilização desta pode ser definida pelo monitoramento dos parâmetros de operação e planejamento adequado das medidas de intervenção, dentre elas os ciclos de limpeza. A limpeza por meio de agentes químicos é a mais importante, pois os principais produtos que podem ser usados separadamente ou em conjunto são ácidos (como o fosfórico e o ácido cítrico), bases (hidróxido de sódio), detergentes (alcalinos, não iônicos) e enzimas (MULDER, 1996; SEGUENKA, 2016).

Vale ainda destacar que o monitoramento dos fluxos de permeado e concentrado, condutividade elétrica do permeado, podem ser parâmetros operacionais, que se bem verificados auxiliarão para uma maximização da vida útil das membranas, juntamente com a minimização dos custos operacionais (HABERT et al., 2006).

A limpeza ideal está intimamente ligada à natureza da incrustação. O conhecimento preciso tanto do tipo de incrustação (orgânico, inorgânico ou biológico) quanto do mecanismo de incrustação (formação de gel, adsorção, deposição, bloqueio de poros) é a chave para o sucesso na limpeza de membranas UF. Não existe um protocolo universal para a etapa de higienização da unidade. Na membrana

utilizada nesse estudo foi reestabelecido os fluxos realizando limpeza com um produto comercial a base de alquil benzeno sulfonato de sódio e peróxido de hidrogênio (Vanish®), após o enxague, seguida pela limpeza básica enxague e limpeza ácida essa metodologia seguiu proposta por Serpa (2005) com modificações.

Segundo Shi et al. (2014) a maioria dos estudos de limpeza relatados são baseado em métodos de tentativa e erro, entretanto esse mesmo autor recomenda que o processo de limpeza deve incluir várias etapas. Protocolos comuns de limpeza adotados por várias indústrias consistem em uma lavagem hidráulica antes e depois limpeza química/biológica. No entanto, para permitir a otimização, o fluxo de limpeza detalhado deve ser especialmente projetado para um trabalho específico. Parâmetros do processo de limpeza incluem a escolha adequada dos produtos bem como o uso de concentrações adequados dos agentes de limpeza, ordem e duração da limpeza bem como monitoramento do pH e temperatura do processo.

#### 2.4 POTENCIALIDADES DE APLICAÇÕES DE CONCENTRADOS DE SORO DE LEITE

Os concentrados proteicos de soro (CPS) são produtos que contem entre 25 - 90 % de proteína, mas a composição deste produto está diretamente associada ao método de obtenção do concentrado. Os CPS têm ganhado cada vez mais espaço nas mais diversas preparações envolvendo alimentos, das quais podemos destacar a capacidade espumante, comumente empregados em produtos de confeitaria, como substitutos da clara de ovo. Na indústria de carnes tem sido usado como ingrediente por sua capacidade emulsificante, sobretudo na elaboração de produtos emulsionados, substituindo parcialmente as proteínas da carne. São usados ainda na indústria de bebidas devido à alta solubilidade, ou ainda para enriquecer produtos lácteos como iogurtes e queijos (ANTUNES, 2003; ALVES et al., 2014; SILVA et al., 2016).

As excelentes propriedades funcionais e nutricionais, aliadas a seu considerável potencial de incorporação, têm viabilizado aplicação e uso de concentrados proteicos em sorvetes, queijos, iogurtes, molhos dentre outros. Em particular, o uso de concentrados proteicos derivados do soro de leite tem sido incluído

nas formulações de sorvetes devido a sua contribuição favorável nos aspectos sensoriais principalmente no que se refere a textura do produto e ainda fonte alternativa de sólidos não gordurosos do leite (SNGL) de menor custo.

A seguir são apresentadas características associadas a tecnologia da produção de sorvete.

## 2.5 SORVETES

O sorvete é um dos derivados lácteos mais apreciados e aceitos por todos os públicos independente da faixa etária, fato este vinculado ao produto ter características refrescantes. Seu consumo é elevado no verão, porém algumas pessoas têm o hábito de consumir este produto o ano todo (DANESH et al., 2017; SOUZA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2008). É também considerado um produto de consumo ocasional assim como as balas e chocolates (SAAD et al., 2011) este fato muitas vezes faz com que o sorvete tenha uma imagem negativa por parte dos consumidores, porém o sorvete é um alimento altamente nutritivo.

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvete – ABIS (2014), o consumo *per capita* em 2016 foi de 4,86 L/ano. O Brasil por ser um país de clima tropical, o consumo de sorvete ainda é baixo, representando um mercado a ser amplamente explorado.

Sorvete, é um gelado comestível obtido a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas ou de uma mistura de água e açúcar, podendo ser adicionados outros ingredientes desde que não descaracterizem o produto, para que o produto seja designado de sorvete o mesmo precisa obrigatoriamente conter leite em sua composição (BRASIL, 2005). Ordóñez et al. (2005) define sorvete como um preparado no qual é levado a um estado sólido através do método de congelamento da calda, e que deve manter o grau de plasticidade e de congelamento até o consumidor.

Alguns parâmetros como teor mínimo de 28 % de sólidos totais, 3 % de gordura láctea, 2,5 % de proteínas do leite e densidade aparente de 475g/L são utilizados por algumas empresas do segmento de sorvetes. Vale destacar que esses parâmetros foram revogados pela legislação vigente (BRASIL, 1999). Tecnicamente, os sorvetes à base de leite são considerados sistemas coloidais heterogêneos e

complexos. Estes apresentam-se como uma emulsão, na qual diferentes fases (bolhas de ar, cristais de gelo e glóbulos de gordura parcialmente coalescidos) coexistem em uma solução concentrada contendo principalmente açúcar, gordura e proteína.

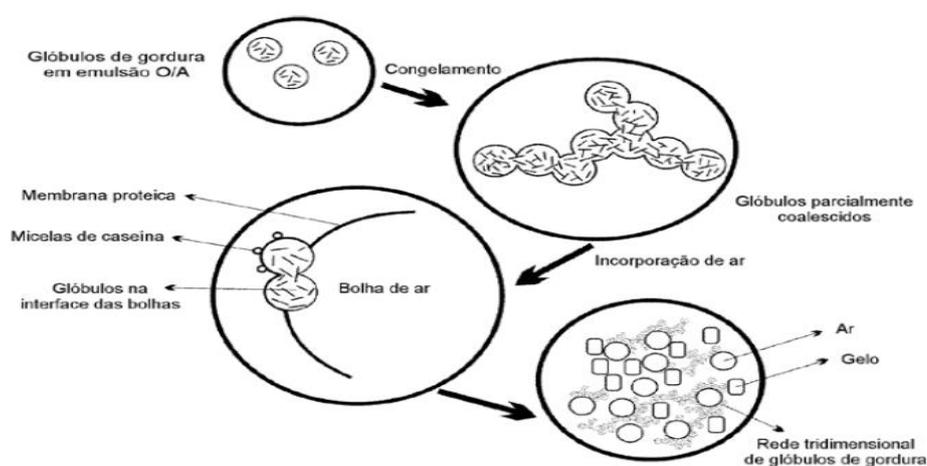
Segundo Costa et al. (2017) o sorvete apresenta uma estrutura complexa a qual pode ser dividida em 4 estruturas:

- a) Duas fases líquidas (água e lipídeos), em que cada uma contém substâncias solúveis;
- b) Uma dispersão coloidal de lipídeos na água;
- c) Uma dispersão coloidal de sólidos, como proteínas, minerais e estabilizantes;
- d) Ar disperso;

Com relação a estrutura do sorvete a matriz formada possui em sua estrutura ao mesmo tempo as três fases (líquida, sólida e gasosa). A fase líquida compreende a solução de açúcar, os cristais de gordura, o gelo representam a fase sólida e por fim as bolhas de ar envoltas na estrutura, a fase gasosa, assim ao mesmo tempo tem-se a formação de espuma e emulsão (SILVA et al., 2013).

A Figura 5 mostra as alterações sofridas pelo glóbulo de gordura durante as fases de processamento do sorvete. A estrutura do sorvete consiste numa bolha sólida, dentro da qual proteínas e emulsificantes formam uma rígida membrana que circunda os glóbulos de gordura.

**Figura 5 –** Transformação do glóbulo de gordura no sorvete.



Fonte: SAAD et al. (2011).

A proporção destes ingredientes na formulação do produto é bastante variável, comumente tem-se de 10 a 17 % de gordura, 8 a 12 % de sólidos não gordurosos do leite, 12 a 17 % de açúcar e 0,2 a 0,5 % de emulsificantes/estabilizante e sólidos totais entre 32-45 % (SILVA; BOLINE, 2006; CORREIA et al., 2008; SAAD et al., 2011).

Na Tabela 6 estão apresentadas as principais funções de cada ingrediente utilizado na produção de sorvetes.

**Tabela 6** - Funções dos principais componentes utilizados na produção de sorvetes.

<b>Ingrediente</b>	<b>Função/Característica</b>
<b>Água/Leite</b>	Único componente que congela, solubiliza os demais ingredientes e hidrata os estabilizantes;
<b>Gordura</b>	Contribui para melhoria da textura proporcionando cremosidade, corpo dando suavidade ao produto diminui a sensação de frio. O aumento do teor de gordura diminui o tamanho dos cristais de gelo e interrompe o espaço em que os cristais podem se formar.
<b>Açúcares</b>	Diminuem o ponto de congelamento, proporciona aumento da viscosidade da calda e cremosidade, além de conferir o dulçor característico, fixam os compostos aromáticos.
<b>Proteínas</b>	Auxilia na retenção de água devido as características emulsificantes, auxiliam na estabilidade da espuma, reforçam a estrutura que aprisiona as células de ar no sorvete.
<b>Estabilizantes</b>	São o elo de ligação de todos os ingredientes. Melhoram o corpo, pois auxiliam na incorporação do ar. Diminuem a velocidade de derretimento, protegem contra choques térmicos;
<b>Emulsificantes</b>	Formam uma película protetora evitando a desestabilização da calda. Agem diretamente na etapa de incorporação do ar, não possuem efeito sobre o ponto de congelamento impedindo a formação de grandes cristais de gelo;
<b>Aromas, corantes e acidulantes</b>	Realçam o sabor e cor conferindo o aspecto desejado ao produto.

Fonte: Adaptado Correia; Pedrini; Magalhaes, ( 2007)

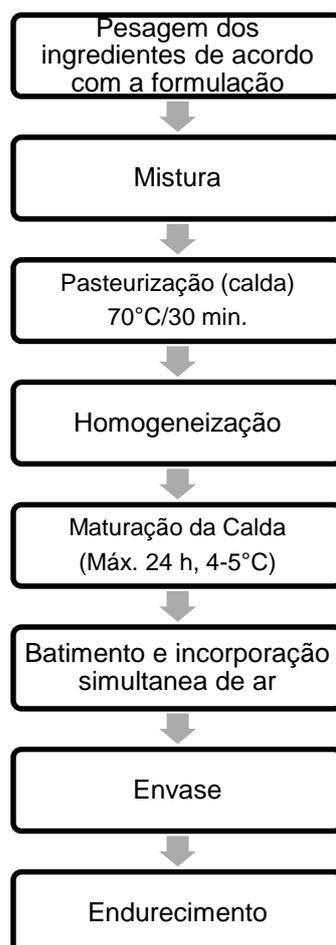
Segundo Oliveira et al. (2008), Cruz et al. (2009) e Fiol et al. (2017) a composição do sorvete interfere nas suas características físicas, que influenciará diretamente o estado de agregação dos glóbulos de gordura, a quantidade de ar incorporada e o tamanho das bolhas de ar. Esse tipo de estrutura tão particular do

sorvete é obtida durante batimento vigoroso e congelamento simultâneo de uma emulsão de óleo em água estabilizada pela presença de proteínas do leite, emulsificantes e estabilizantes.

### 2.5.1 Etapas de fabricação do Sorvete

O processo de fabricação industrial de sorvetes segue o seguinte fluxo de processo: pesagem, mistura, pasteurização, homogeneização, maturação, batimento, envase e endurecimento conforme o fluxograma apresentado na Figura 6.

**Figura 6** - Fluxograma de processamento dos sorvetes.



Fonte: Adaptado de GOFF e HARTEL (2013).

A descrição do processo de elaboração dos sorvetes segue as orientações propostas por Costa et al. (2017) e Goff e Hartel (2013). É importante destacar que a

legislação brasileira vigente exige a pasteurização da calda, para garantir a segurança dos sorvetes no que se refere a destruição de microrganismos patogênicos, a definição do binômio tempo/temperatura depende do tipo de processo a ser empregado (batelada ou contínuo).

A homogeneização se faz necessária para que ocorra a redução do tamanho das gotículas de gordura e o aumento da área superficial, proporcionando uma emulsão mais fina e estável. Ao final da etapa de homogeneização são adicionados os emulsificantes, saborizantes e acidulantes que são sensíveis ao tratamento térmico. Na etapa de maturação inicia-se o processo de solidificação das gorduras, aumento da viscosidade, em função da hidratação das proteínas a calda é resfriada entre 2 a 4°C por, no mínimo 4 h, antes do congelamento (GOFF E HARTEL, 2013).

Finalizada a etapa de maturação a calda passa pelo processo simultâneo de congelamento, batimento e incorporação de ar. Em um equipamento específico de elaboração de sorvetes, chamado de produtora, até atingir a consistência desejada. A massa atinge temperatura aproximada de -5°C. Esse abaixamento da temperatura visa à transição de 20 a 40 % da água para a fase sólida. O sorvete está pronto para ser embalado e seguir para a etapa de endurecimento.

### 2.5.2 Principais parâmetros de qualidade do sorvete

O derretimento do sorvete é um importante parâmetro de qualidade do produto, esse é influenciado pelos aspectos estruturais associados com a aglomeração da gordura, cremosidade, aeração (*overrun*), textura e taxa de derretimento do sorvete são fortemente afetados pela coalescência parcial dos glóbulos de gordura, que é desestabilizada durante o processo de congelamento (PEREIRA et al., 2014).

O desenvolvimento de novos produtos no segmento de alimentos revela-se cada vez mais desafiador, uma vez que deve cumprir a expectativa do consumidor produtos que são simultaneamente sabosos e saudáveis. Assim a redução do teor de gordura em sorvetes tem sido cada vez mais explorada. Porém os sorvetes elaborados com redução no teor de gordura geralmente sofrem perdas nas características sensoriais.

O sorvete é uma matriz complexa que contém múltiplas fases físicas. A remoção de um ingrediente pode afetar não só suas propriedades físicas, mas também características sensoriais múltiplas que podem ou não ser importantes para os consumidores. A gordura não só contribui para a textura, sensação bucal e sabor, mas também serve como um elemento estrutural (ROLON et al., 2017).

Um dos substitutos de gordura utilizados em produto lácteos são as proteínas do soro, estas simulam o papel da gordura com relação aos aspectos de textura e sabor destes produtos devido a capacidade de retenção de água, aumentando assim, a viscosidade do sorvete. Quanto maior a viscosidade, menor a taxa de derretimento do produto (DANESH; GOUDARZI; JOOYANDEH, 2017).

Segundo Daw e Hartel (2015) a incorporação de proteínas do soro de leite na forma líquida em produtos lácteos, é uma ferramenta útil para sua reutilização. No entanto, problemas tecnológicos surgem em decorrência da diminuição do conteúdo de sólidos totais da matéria-prima, resultando na diminuição da viscosidade e aumento da sinérese dos produtos lácteos, considerados como defeitos pelo consumidor.

Segundo Silva e Boline (2006), a incorporação de sólidos de soro como substituinte do leite em sorvete é uma prática recomendada uma vez que, confere melhoria das propriedades funcionais (viscosidade, solubilidade, gelificação, emulsificação, formação de espuma, estabilidade) e reduz custos do produto final. A legislação brasileira não faz referência quanto à aplicação de ingredientes proteicos de soro em sorvete. Sob argumento de que a adição excessiva de soro de leite provocaria características indesejáveis, como arenosidade ou gostos residuais.

Entretanto, a proteína do soro, em particular, desempenha um papel importante na estabilidade da emulsão e tem funcionalidade semelhante aos emulsificantes tradicionais, o que a torna uma alternativa de substituição da gordura (RODRIGUES et al., 2006). Vários estudos demonstram que sorvetes formulados pela incorporação de diferentes ingredientes proteicos de soro de leite bovino, em lugar do leite em pó desnatado, têm características tão boas quanto o sorvete padrão (CORREIA et al., 2008; CARVALHO, 2012).

Daw e Hartel (2015) estudaram o efeito do aumento do teor de proteína sobre os elementos estruturais do sorvete, onde foram usados o leite em pó e concentrado

proteico de soro. A concentração de proteína variou nas formulações entre 4-10 %. Os autores concluíram que o uso de concentrados proteicos levou a um aumento na taxa de fusão, por outro lado a coalescência da gordura diminuiu com o incremento de proteína. Porém melhores resultados dos parâmetros físicos foram obtidos nas formulações que utilizaram apenas o leite em pó.

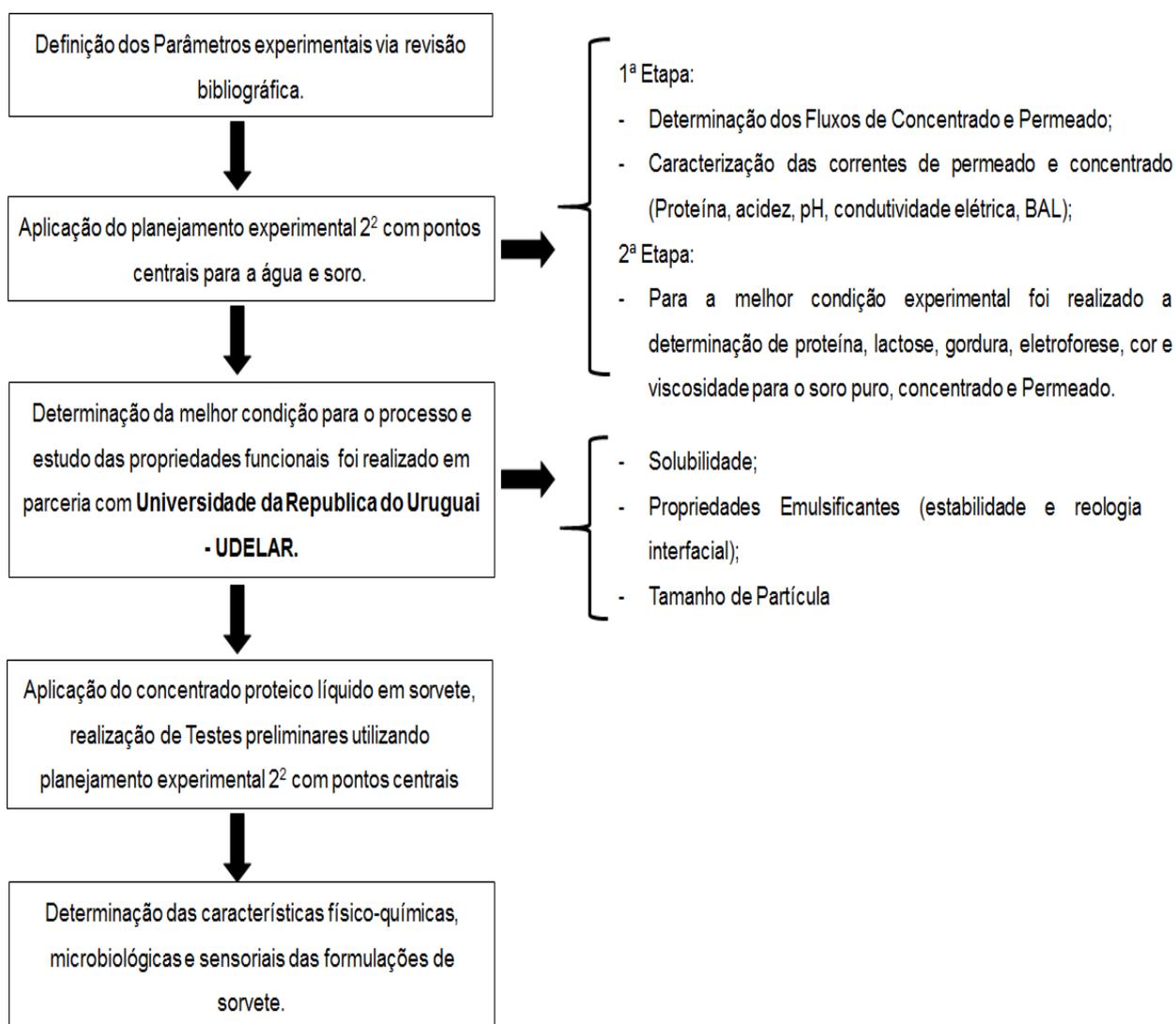
Patel et al. (2006) avaliou as características sensoriais de formulações de sorvete com adição de concentrados proteicos de soro em relação ao leite em pó, obteve resultados similares para o atributo textura para as formulações contendo o CPS em relação ao tradicional.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Neste item são apresentados os materiais, equipamentos e técnicas necessárias ao processo de separação por membranas (ultrafiltração-UF) em escala piloto. A caracterização das propriedades físico-químicas e funcionais das amostras (soro, concentrados e permeados). Processo de elaboração das formulações de sorvete, utilizando concentrado proteico líquido, avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do sorvete.

A Figura 7 mostra resumidamente as etapas realizadas neste trabalho.

**Figura 7-** Etapas realizadas nesse trabalho.



Fonte: O Autor (2018).

### 3.1 AMOSTRA

O soro de leite, obtido da fabricação de queijo mussarela foi fornecido pelo Laticínio Tirol Ltda unidade, de Chapecó/SC. O soro lácteo foi transportado em recipientes plásticos de 50 L, mantidos refrigerados até o laboratório didático de tecnologia de leites e derivados da Faculdade Senai- Chapecó. Inicialmente, o soro lácteo foi filtrado em peneira, com tamanho de poro  $\pm 1$  mm, para a retirada de partículas em suspensão e possíveis blocos de caseína. Em seguida, o soro foi submetido ao processo de ultrafiltração (UF). Por se tratar de soro de queijo já pasteurizado e com baixa acidez, o mesmo não foi repasteurizado, nem teve seu pH ajustado para a realização dos ensaios de UF. Para cada ensaio foi utilizado um lote diferente de soro.

### 3.2 ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE

Para o estudo das condições de obtenção de concentrados de soro de leite foi utilizando um sistema de escala piloto de UF de escoamento tangencial, com módulo (cartucho) de fibra oca contendo uma membrana polimérica de polissulfona amida (modelo UFP/10/E/65), com área filtrante de  $4,4 \text{ m}^2$ , massa molecular de corte de 10 kDa, com controle de temperatura e pressão e com capacidade do módulo de 50 L. A unidade utilizada neste estudo está representada na Figura 8.

Para estudo do efeito da temperatura e pressão de alimentação sob o fluxo de permeado e sob a concentração do soro de leite na membrana, utilizou-se a técnica de planejamento de experimentos. As variáveis independentes do estudo e seus respectivos níveis encontram-se descritos na Tabela 7.

**Tabela 7** - Variáveis e níveis utilizados no planejamento fatorial  $2^2$  com ponto central para o processo de concentração do soro de leite.

<i>Variáveis Independentes*</i>	<i>Códigos</i>	<i>Níveis</i>		
		<i>-1</i>	<i>0</i>	<i>+1</i>
Temperatura (°C)	X <sub>1</sub>	10	15	20
Pressão (bar)**	X <sub>2</sub>	0,5	1,0	1,5

\*Variáveis independentes fixas: volume de alimentação (50 L). \*\* A faixa de pressão utilizada foi limitada em decorrência do módulo de UF não estabiliza a pressões superiores à 1,5 bar.

Os fluxos de permeado foram obtidos através de medidas volumétricas em função do tempo para água e soro de leite. Essas avaliações foram realizadas a cada minuto por um período total de 30 min. No tanque de alimentação foram adicionados 50 L de soro de leite, o qual foi processado até o fator de concentração de 8,0 esse fator de concentração foi obtido mediante o uso da Equação 3, utilizando como referência o trabalho proposto por Baldasso; Barros; Tessaro (2011).

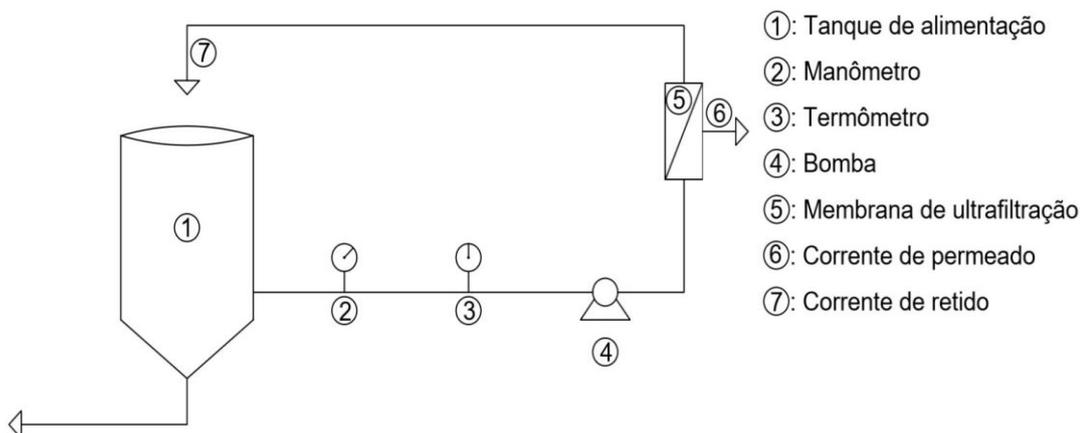
Os níveis das variáveis apresentados na Tabela 7 foram definidos com base na literatura (PAGNO et al., 2009; BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011; PALATNIK et al., 2015) e nos limites técnicos do equipamento de UF, as faixas de temperaturas foram selecionadas para que não ocorressem alterações bruscas na acidez final dos concentrados.

**Figura 8** - Unidade de separação por membrana de ultrafiltração (a) Unidade piloto e (b) esquema dos componentes do sistema.



- 1 – Tanque de alimentação
- 2 - Membrana de Ultrafiltração
- 3 - Bomba
- 4 - Corrente de Permeado
- 5 - Corrente de Retido

(a)



- ①: Tanque de alimentação
- ②: Manômetro
- ③: Termômetro
- ④: Bomba
- ⑤: Membrana de ultrafiltração
- ⑥: Corrente de permeado
- ⑦: Corrente de retido

(b)

Fonte: O Autor (2018).

As variáveis dependentes foram: o fluxo de permeado de água e soro de leite, proteína total, condutividade elétrica, acidez, pH e bactérias ácido lácticas - BAL.

### 3.2.1 Limpeza das membranas

Ao final de cada experimento utilizando o soro realizou-se um procedimento de limpeza para recuperação do fluxo inicial e para evitar a contaminação da membrana.

Para a limpeza do sistema de membranas, foi recirculada água a 30°C para remoção do residual de concentrado proteico, até o momento em que o permeado se apresentou visivelmente limpo.

O processo de lavagem do equipamento procedeu-se da seguinte forma, lavagem alcalina, para remoção de gorduras e proteínas com solução de hidróxido de sódio 0,5 mol/L por 1 h a 30°C, seguido de enxágue por 15 min. Após a lavagem alcalina, o sistema foi recirculado com solução de ácido fosfórico 0,1 mol/L por 1 h, para remoção dos sais minerais e enxágue sucessivo com água.

Ao final desse processo era verificado a eficiência pela medida do fluxo de permeado, caso o valor não fosse restaurado a condição inicial ou no mínimo 95 %, uma nova limpeza era realizada utilizando uma solução comercial a base de alquil benzeno sulfonato de sódio e peróxido de hidrogênio à 10 % (Vanish®).

## 3.3 METODOLOGIAS ANALÍTICAS

Os permeados e concentrados obtidos do planejamento 2<sup>2</sup>, com repetições no ponto central foram avaliados em relação a: proteína total, condutividade elétrica, acidez, pH e bactérias ácido lácticas (BAL).

A partir da melhor condição do planejamento de experimentos em relação ao fluxo e retenção de proteína (10°C e 1,5 bar), o soro *in natura*, permeados e concentrados foram avaliados em relação ao teor de: proteína total, lactose, gordura, perfil das proteínas (eletroforese), viscosidade e cor.

### 3.3.1 Proteína Total

O nitrogênio total nas amostras foi determinado pelo método de Kjeldahl, segundo metodologia n° 920.123 da AOAC (2005). O método de Kjeldahl consta de

três etapas: digestão da amostra, em sistema digestor Kjeldahl (VELP), empregando ácido sulfúrico e pastilha catalisadora. Destilação em sistema com destilador Kjeldahl (VELP – UDK 126 A), empregando solução de ácido bórico a 4 % com indicador misto como solução receptora da amônia destilada e titulação do borato de amônia formado com solução de ácido clorídrico - HCl 0,1 mol/L. Na quantificação da proteína foi empregado o teor de nitrogênio multiplicando-se pelo fator de conversão de nitrogênio em proteína de 6,38.

Foi expresso também o percentual de concentração de proteína. Esse nada mais é do que a relação entre o teor de proteína do soro, em relação ao teor de proteína presente na corrente do concentrado no final da etapa de concentração.

### 3.3.2 *Acidez total*

A acidez total foi determinada por titulação da amostra com hidróxido de sódio N/9 (solução Dornic), em presença do indicador fenolftaleína (AOAC 2005). E expressa em graus Dornic.

### 3.3.3 *pH*

O pH foi determinado pelo método potenciométrico, segundo metodologia nº 4022 descrita pela AOAC (2005), utilizando pHmetro (Digimed DM-22), realizando-se leituras diretamente na amostra. O equipamento foi previamente calibrado com soluções padrões, conforme instruções do fabricante.

### 3.3.4 *Condutividade elétrica*

A medida da condutividade elétrica é essencial para determinar a presença de substâncias com carga em amostras líquidas, cabe destacar que as soluções inorgânicas conduzem melhor a corrente elétrica em relação as substâncias orgânicas. Assim a medida da condutividade elétrica é uma medida indireta da concentração de íons na solução. As medidas de condutividade elétrica foram realizadas em condutímetro (RS 232-METER 8306), realizando-se leituras diretamente nas amostras.

### 3.3.5 *Bactérias ácido lácticas – BAL*

A contagem de BAL foi realizada de acordo com ISO 15214: 1998. As amostras de soro, permeado e concentrado foram inoculadas em profundidade 1 mL das diluições selecionadas em placas de Petri e adicionou-se o ágar Violet Red Bile Glucose (VRBG/Oxoid) e ágar Man, Rogosa and Sharpe (MRS/Oxoid), as quais foram incubadas em estufa  $32^{\circ}\text{C} \pm 1$  por  $72 \text{ h} \pm 3$ , respectivamente, para identificação de BAL. As placas que apresentaram colônias foram contadas e o resultado foi expresso em log UFC/mL.

### 3.3.6 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.

### 3.3.7 Gordura

A determinação do teor de gordura das amostras de sorvete foi realizada segundo a metodologia descrita na Instrução normativa nº 68 (BRASIL, 2006)

Nesse procedimento a amostra é tratada com hidróxido de amônia e álcool para hidrolisar a ligação proteína-gordura, e a gordura separada é então extraída com éter de petróleo e éter etílico. O álcool precipita a proteína que é dissolvida na amônia e a gordura separada é extraída com éter. O éter de petróleo é usado para diminuir a solubilidade das substâncias não lipídicas, solúveis no éter etílico. A gordura assim extraída é determinada gravimetricamente.

### 3.3.8 Sólidos Totais

Os sólidos totais das amostras foram determinados por método gravimétrico em estufa de recirculação (Fanem – modelo 320 - SE) a  $105^{\circ}\text{C}$  por aproximadamente 4 h e/ou até peso constante, empregando areia do mar para facilitar a transferência de calor, segundo metodologia descrita por IAL (2005).

### 3.3.9 Frações proteicas por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)

A eletroforese é uma técnica de controle de pureza, onde as moléculas são separadas de acordo com seu tamanho, forma ou carga. As proteínas migram por ação de um campo elétrico, sendo esta migração diferente para cada proteína. A eletroforese foi realizada no soro submetido à UF com membrana de 10 kDa e nas

frações de concentrado e permeado obtidos após o processo de acordo com metodologia descrita por Laemmli (1970), apenas para a melhor condição experimental, ou seja da condição maximizada.

### 3.3.10 Cor

Para a determinação de cor foi utilizado o colorímetro (konica minolta CM-5). Foram efetuadas leituras direta em triplicata, utilizando cerca de 10 mL de amostra acondicionada na própria cubeta do equipamento. Os parâmetros medidos foram L\* (luminosidade, a\* (eixo vermelho-verde) e b\* (eixo amarelo-azul).

### 3.3.11 Viscosidade

A viscosidade foi realizada no soro submetido à UF com membrana de 10 kDa e nas frações de concentrado e permeado obtidos após o processo, para a melhor condição experimental, maximizada do planejamento experimental. Foi determinada utilizando um viscosímetro rotacional (Brookfield - PROGRAMMABLE DV-III + Rheometer). Para a análise utilizou-se 30 mL de soro, concentrado e permeada à temperatura de 10°C e o spindle ULA para todas as amostras. Os resultados foram expressos em centipoise (cP).

### 3.3.12 Turbidez

O permeado da condição maximizado obtida do planejamento experimental foi analisado em relação a turbidez utilizando um turbidímetro portátil (Hach modelo AQ4500).

## 3. 4 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

A partir da melhor condição do planejamento de experimentos em relação ao fluxo e retenção de proteína (10°C e 1,5 bar), foram realizadas análises de propriedades funcionais. Para tal, o concentrado obtido foi congelado em ultra freezer a -18°C. Após a etapa de congelamento o produto foi liofilizado (liofilizador Terroni Fauvel – LHO 400/2L) por um tempo de operação de 36 h. O concentrado liofilizado obtido foi embalado a vácuo até a realização das análises.

### 3.4.1 Solubilidade (proteína solúvel)

Inicialmente, determinou-se o teor bruto de proteína utilizando o método de Kjeldahl da amostra de soro de leite obtida do processo de concentração usando UF (10°C e 1,5 atm) seguida de liofilização utilizando a metodologia descrita no item 3.3.1.

A solubilidade foi determinada através da dispersão em tampão fosfato de sódio (0,1 mol/L) para os pH 5,7 e 7,0 estes pH's foram escolhidos em função da faixa de pH dos principais produtos lácteos. Foi preparada uma solução de proteína do soro mais solução tampão de fosfato de sódio (0,1 mol/L) na concentração de 1 %, para cada pH estudado. A solução ficou em repouso em temperatura ambiente, por 60 min e com agitação constante. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 10.000xg, durante 10 min a 4°C (ABIRACHED et al., 2011).

O teor de proteína do sobrenadante foi determinado utilizando o método de Lowry et al (1951). A solubilidade foi calculada e expressa como índice de solubilidade (IS) de acordo com a Equação 4.

$$IS = \left( \frac{\text{Proteína solúvel (g)}}{\text{Proteína total (g)}} \right) \times 100 \quad (4)$$

### 3.4.2 Emulsificante

#### a) Preparo das Emulsões

Para a avaliação da estabilidade da emulsão inicialmente foi preparado uma emulsão contendo 15 mL de solução tampão de fosfato de sódio para cada um dos pHs estudado (7,0 e 5,7) e com concentração proteica de 1,0 mg/mL e 5 mL óleo refinado comercial. (mistura de 95 % de óleo de girassol e 5 % de óleo de milho), ou seja, uma emulsão óleo/água na proporção de 25:75 (v/v), conforme orientações descritas por Abirached et al. (2011).

As emulsões foram preparadas em um homogeneizador de alta velocidade Ultra-Turrax T25 (IKA Labortechnik-, GmbH & Co., Staufen, Alemanha), à temperatura ambiente. A velocidade do rotor utilizado foi (S25N-10G, GmbH & Co., Staufen, Alemanha) de 20000 rpm por 1 min.

#### b) Estabilidade das Emulsões

A estabilidade geral das emulsões foi analisada utilizando um analisador óptico vertical (clássico Turbiscan MA2000, Formulacion, Toulouse, França). As emulsões, preparadas anteriormente (item a), foram colocadas em uma célula de vidro cilíndrico (70 mm). Para avaliação do perfil de retrodispersão (RD%) em função da altura da célula, tendo em vista que este equipamento explora a amostra ao longo do tubo que contida a amostra. As medidas foram realizadas a cada um minuto durante um período de 60 min. E após 24 h foi realizado uma nova leitura. O procedimento completo desde o preparo da amostra pode ser melhor compreendido observando a Figura 9.

**Figura 9** - Descrição do processo de obtenção do perfil de retrodisposição, em função da altura da célula.



Fonte: Adptado de Abirached (2012).

Os dados de RD a uma altura do tubo de 10 mm se ajustaram a uma equação bífase de segunda ordem (Equação 5), porposta por Panizzolo (2005).

$$RD(t) = \frac{RD_1}{(RD_1 \times k_1 \times t + 1)} + \frac{RD_2}{(RD_2 \times k_2 \times t + 1)} \quad (5)$$

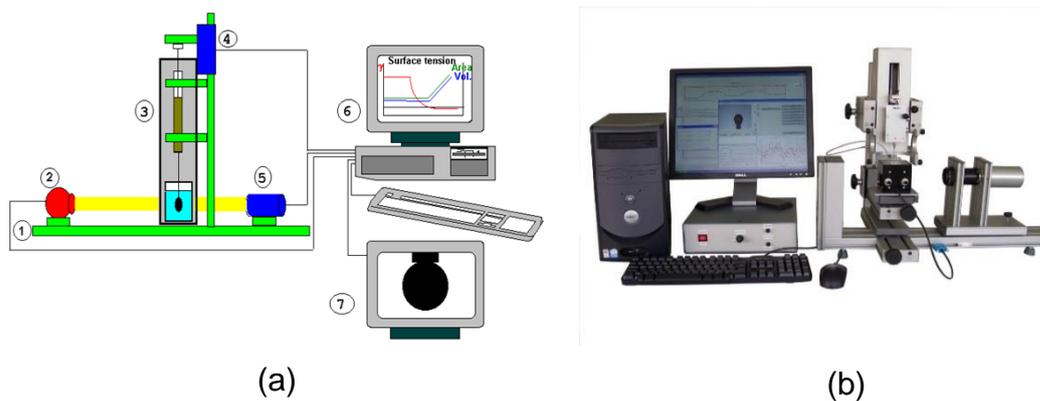
Sendo que: RD indica a dispersão das partículas,  $K_1$  e  $K_2$  são constantes de desestabilização, sendo que os parâmetros  $RD_1$  estão relacionados com a formação de partículas pequenas e  $RD_2$  a partículas grandes. Esses parâmetros foram

estimados mediante análise de regressão utilizando mínimos quadrados e avaliados no *software* Statistica 5.0.

### c) Tensão e Reologia Interfacial

Para avaliação das propriedades reológica de superfície sobre a interface óleo-água da amostra de concentrado protéico foi utilizado um tensiómetro de gota dinâmica (Tracker, IT-Concept, Saint-Clementtes Lugares, França) Figura 10, seguindo a metodologia descrita por Abirached et al. (2010).

**Figura 10** - Representação esquemática (a) e foto do Tensiómetro de gota dinâmica (b) (Tracker). 1: base de fibra óptica 2: fonte luminosa 3: seringa 4: Motor 5: Câmara, 6: computador e 7: display.



Fonte: Adptado de Abirached (2012).

Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente. O pH permaneceu constante a 5,7 e 7,0, utilizando um tampão de fosfato de sódio 0,1mol/L. A concentração da solução em proteína foi de 1 mg/ml . Está solução foi colocada na cubeta do equipamento (parte 3) mostrada na Figura 10 (a).

Em seguida, uma gota 3  $\mu$ L de uma mistura de óleo de girassol e milho (95 % e 5 %) é adicionada a partir da seringa. Após este tempo, inicia-se com o oscilação sinusoidal, durante 60 min.

A adsorção, rearranjo e desdobramento da moléculas de proteína na interface ocorre simultaneamente, para modelar este fenômeno utiliza-se uma equação de primeira ordem com dois termos exponenciais em função do tempo como proposto por Panizzolo; Mussio; Añón (2014), conforme descrito na Equação 6.

$$\gamma(t) = A_a \times e^{-k_a \times t} + A_r \times e^{-k_r \times t} + \gamma_e \quad (6)$$

Sendo,  $K_a$  e  $K_r$  são constantes de velocidade de primeira ordem para a adsorção e rearranjo de proteínas na interface ar-água.  $A_a, A_r$  e  $\gamma_e$  são os parâmetros de amplitude da adsorção e do rearranjo das proteínas na interface óleo-água e tensão do equilíbrio.

Os parâmetros viscoelásticos, o módulo de dilatação superficial ( $E$ ) e seus componentes elásticos e viscosos ( $E_d$  e  $E_v$ , respectivamente) foram medidos uma vez que a tensão atingiu o equilíbrio, utilizando uma frequência ( $\omega$ ) de 200 MHz e amplitude de deformação ( $\Delta A/A$ ) de 10 %. Esses parâmetros foram determinados mediante o uso das Equações 7, 8, 9 e 10.

$$\gamma = \gamma_0 \times \text{sen}(\omega t + \varphi) \quad (7)$$

$$A = A_0 \times \text{sen}(\omega t + \varphi) \quad (8)$$

$$E = \frac{d\gamma}{dA/A} = \frac{d\pi}{d \ln A} \quad (9)$$

$$E = E_d + i \times E_v \quad (10)$$

O módulo dilatacional ( $E$ ) é um valor complexo, dividido em termos reais e imaginários (Equação 10).

#### d) *Tamanho de Partícula*

A distribuição e tamanho de partícula das emulsões em pH 5,7 e 7,0 foram determinadas por difração de luz laser e dispersão da luz polarizada utilizando um analisador de partículas Coulter Counter Multisizer (Coulter Electronics Ltd., High Wycombe, United Kingdom), cuja faixa variava entre de 0,04  $\mu\text{m}$  e 2000  $\mu\text{m}$ .

Para determinação do tamanho de partículas foi inicialmente preparada as emulsões conforme o item 3.4.2. As amostras foram analisadas sem e com tratamento com solução tampão (TRIS/HCl 50 mM, pH 8,0 SDS 1 %) na qual foi utilizada uma proporção 1:1 para garantir a completa eliminação de flocos nas emulsões conforme procedimento descrito por Abirached (2012).

### 3.5 ELABORAÇÃO DO SORVETE

As formulações de sorvetes foram desenvolvidas na planta piloto de leites e derivados da Faculdade Senai- Chapecó. As formulações foram definidas com base na literatura Danesh et al. (2017) e Goff (2005).

Para definir os níveis das variáveis independentes, concentrado proteico de soro líquido e gordura, empregou-se a técnica de planejamento de experimentos (planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup>), conforme descrito na Tabela 8, mantendo-se fixas as variáveis, concentração de açúcar cristal (10 %), glicose em pó (4 %), leite em pó (3,6 %), estabilizante (Superliga® 0,2 %), emulsificante (Emustab® 0,4 %), e saborizante de creme (Duas Rodas® 1,4%) e os parâmetros de processo (temperatura da calda e tempo de batimento).

**Tabela 8** – Níveis do planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup> utilizados nas formulações de sorvete.

Variáveis Independentes	Códigos	Níveis				
		-1,41	-1	0	1	1,41
<b>Concentrado de Soro (% m/v)</b>	X <sub>1</sub>	11,18	20	40	60	68,2
<b>Gordura hidrogenada (% m/v)</b>	X <sub>2</sub>	3,18	4	6	8	8,82

\* para completar a base de cálculo da formulação para ingredientes líquidos foi utilizado leite pasteurizado, padronizado a 3% de gordura.

Para cada formulação a mistura de concentrado de soro (CPS) e leite pasteurizado integral, foi aquecida a 30°C em uma panela, o leite em pó foi adicionado, e agitado manualmente.

A temperatura de 40°C o estabilizante (Superliga®), previamente misturada com a o açúcar cristal foi adicionado. A temperatura de 45°C adicionou-se a gordura hidrogenada e a glicose em pó, a mistura foi pasteurizada a 63°C por 30 minutos em fogão doméstico.

A calda foi resfriada até 4°C e adicionando nessa etapa, as quantidades previamente pesadas de emulsificante e saborizante e homogeneizou-se a mesma em um liquidificador industrial, por 5 min.

A calda foi mantida nessa temperatura em geladeira durante 12 horas para realizar a maturação. Finalizado esta etapa do processo, acondicionou a calda em

sorveteira industrial (marca Fortfrio, modelo AA239) sendo realizado o batimento e resfriada até atingir uma temperatura de  $-3^{\circ}\text{C}$ .

Para finalizar o processo de elaboração, a massa foi acondicionada em recipientes de polipropileno com tampa, e armazenada em *freezer* mantendo a temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Na Figura 11 apresenta-se o fluxograma das etapas do processo de elaboração do sorvete.

**Figura 11** - Fluxograma das etapas do processo de elaboração do Sorvete.



Fonte: O Autor (2018).

Após analisada a variável resposta do planejamento referente ao parâmetro de *overrun*, verificou-se que as concentrações do concentrado proteico e de gordura utilizados não foram suficientes para garantir diferença significativa entre os tratamentos.

Para ajuste na formulação foram realizados testes retirando o leite em pó para verificar se a concentração deste ingrediente influenciava o *overrun*, porém o produto

ficou com aspecto arenoso, o que comprometia a qualidade sensorial das formulações.

Assim três novas formulações seguindo um delineamento aleatório foram desenvolvidas. Nesta etapa, variou-se o percentual do concentrado proteico líquido mantendo o teor de gordura hidrogenada fixo na melhor condição obtida do planejamento experimental.

As novas formulações propostas encontram-se apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 9** – Ingredientes utilizados no delineamento aleatório das formulações de sorvete.

Ingredientes (%)	Formulações		
	F1	F2	F3
Leite pasteurizado integral	54,3	47,1	32,9
Concentrado de Soro (CPS)	21,4	28,6	42,9
Leite em pó	3,6	3,6	3,6
Açúcar cristal	10,7	10,7	10,7
Glicose em pó	4,3	4,3	4,3
Gordura hidrogênada	3,0	3,0	3,0
Estabilizante	0,3	0,3	0,3
Emulsificante	0,4	0,4	0,4
Saborizante (creme)	2,0	2,0	2,0

As formulações de sorvete realizadas nesta etapa foram analisadas com relação as características físico-químicos (proteína, gordura, lactose, *overrun*, ponto de derretimento e viscosidade), microbiológicos (coliformes a 45°C, *Salmonella* sp/25 g, *Staphylococcus aureus* coagulase positiva) e sensoriais (aceitabilidade) das formulações.

#### 3.4.1 Caracterização físico-química e reológicas dos sorvetes

As formulações de sorvete foram avaliadas em relação a: teor de proteína total, gordura, lactose, *overrun*, taxa de derretimento e viscosidade.

##### 3.4.1.1 Proteína total

Para avaliação do teor de proteína das formulações de sorvete seguiu-se os procedimentos descritos no item 3.3.1.

#### 3.4.1.2 Gordura

Para avaliação do teor de gordura das formulações de sorvete seguiu-se os procedimentos descritos no item 3.3.7.

#### 3.4.1.3 Lactose

Para avaliação do teor de Lactose das formulações de sorvete seguiu-se os procedimentos descritos no item 3.3.6.

#### 3.4.1.4 Overrun

O cálculo do *overrun* (ar) nos sorvetes foi avaliado pelo método descrito por Costa et al. (2017). Foram pesados volumes iguais da mistura base e do sorvete (100 mL). O *overrun* foi calculado pela Equação 12.

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{\text{peso da mistura base} - \text{peso do sorvete}}{\text{Peso do sorvete}} \times 100 \quad (12)$$

#### 3.4.1.5 Taxa de derretimento

Os testes foram realizados a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ , de acordo com o procedimento descrito por Correia et al. (2008) com algumas modificações. Amostras de sorvete de 50 mL foram colocadas em congelador, em seguida foram transferidas para uma tela metálica. O volume do sorvete drenado foi registrado a cada 10 min em uma balança semi analítica (Mettler Toledo, MOD. ME203/A). A partir dos dados obtidos, foram construídos gráficos do tempo em função do volume derretido.

#### 3.4.1.6 Viscosidade

A viscosidade das formulações de sorvete foi determinada utilizando um viscosímetro rotacional, (Marca Brookfield - PROGRAMMABLE DV-III + Rheometer). Para a análise empregou-se 50 mL de amostra de sorvete a qual foi derretida à temperatura de  $10^{\circ}\text{C}$  e o spindle 24 para o sorvete. Os resultados foram expressos em centipoise (cP).

#### 3.4.2 Análises Microbiológicas dos sorvetes

Em todas as formulações de sorvete serão analisados coliformes a  $45^{\circ}\text{C}$ , *Salmonella* sp/25g, *Staphylococcus* coagulase positiva segundo metodologia descritas

pela IN nº 62 (BRASIL, 2003). Os resultados foram analisados e comparados segundo a RDC nº 12 (BRASIL, 2001).

### 3.4.3 Análise sensorial dos sorvetes

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI (RS), registrado na Plataforma Brasil por meio do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 90013018.7.0000.5351, Anexo B, em cumprimento aos termos da Resolução nº.196 (10/10/1996) do Conselho Nacional de Saúde.

Participaram 50 avaliadores, não treinados, alunos, docentes e funcionários do Senai- Chapecó/SC, na faixa etária de 18 a 56 anos, de ambos os sexos. O teste foi conduzido em cabines individuais iluminadas com lâmpadas de luz branca. Cada avaliador recebeu três copos branco descartável com sorvete sabor creme, com peso aproximado de 25g, distribuídos de forma balanceada e identificados com códigos de três dígitos, acompanhado de água mineral para minimizar o efeito residual entre uma amostra e outra, juntamente com a ficha de avaliação sensorial (Apêndice A).

As formulações foram submetidas ao teste de aceitação utilizando escala hedônica de 9 pontos não estruturada, ancorada no lado esquerdo pelo termo "desgostei muitíssimo", e "gostei muitíssimo", no lado direito (DUTCOSKY, 2013). As formulações foram avaliadas em relação aos seguintes atributos: sabor, textura e impressão global.

Para a caracterização dos avaliadores, foi incluído na ficha, questões para indicação do gênero, grau de escolaridade, faixa etária e se tinham o hábito de consumir sorvete com a finalidade de identificar a familiaridade destes provadores com o tipo de amostra apresentada.

Para o cálculo do índice de aceitação (IA) dos sorvetes foi adotada a Equação 11.

$$IA = \frac{\text{Média}}{\text{Pontuação máx da escala}} \quad (11)$$

## 3.6 TRATAMENTO DOS DADOS

As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram tratados estatisticamente mediante metodologia de planejamento de experimentos e também

mediante análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de *Student* e *Tukey*, correlação de Pearson e Análise dos Componentes Principais (ACP), com auxílio do software *Statistica* versão 5.0, ao nível de significância de 95 % de confiança.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O presente capítulo tem por objetivo apresentar e discutir os resultados obtidos na etapa de concentração de soro de leite utilizando membrana de UF de 10 kDa, bem como caracterizar as correntes de permeado e concentrado em relação ao soro, além de apresentar os dados obtidos do estudo das propriedades funcionais, para o concentrado proteico. Ainda nesta seção temos os resultados para a aplicação do concentrado líquido no desenvolvimento e caracterização de formulações de sorvete.

### 4.1 PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO

#### 4.1.1 Efeitos da pressão e temperatura sob os fluxos de permeado

A Tabela 10 apresenta a matriz do planejamento fatorial  $2^2$  (valores codificados e reais) e respostas do fluxo médio de permeado ( $L/m^2h$ ) para água e para soro de leite, obtidos pelo processo de UF com membrana de 10 kDa.

**Tabela 10** - Matriz do planejamento fatorial  $2^2$  (valores reais e codificados) e resposta em termos de fluxo de permeado médio ( $L/m^2 h$ ) para água e soro de leite, obtidos após UF.

Ensaio	Variáveis independentes*		Fluxo de permeado ( $L/m^2h$ )	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Água	Soro de leite
1	10 (-1)	0,5 (-1)	37,55	8,85
2	20 (1)	0,5 (-1)	66,98	14,82
3	10 (-1)	1,5 (1)	41,97	11,06
4	20 (1)	1,5(1)	83,71	17,63
5	15 (0)	1,0 (0)	62,68	10,55
6	15 (0)	1,0 (0)	63,06	10,61
7	15 (0)	1,0 (0)	63,58	10,58

\*X<sub>1</sub>= Temperatura (°C); X<sub>2</sub>= Pressão (bar). Variáveis independentes fixas (FC = 8);

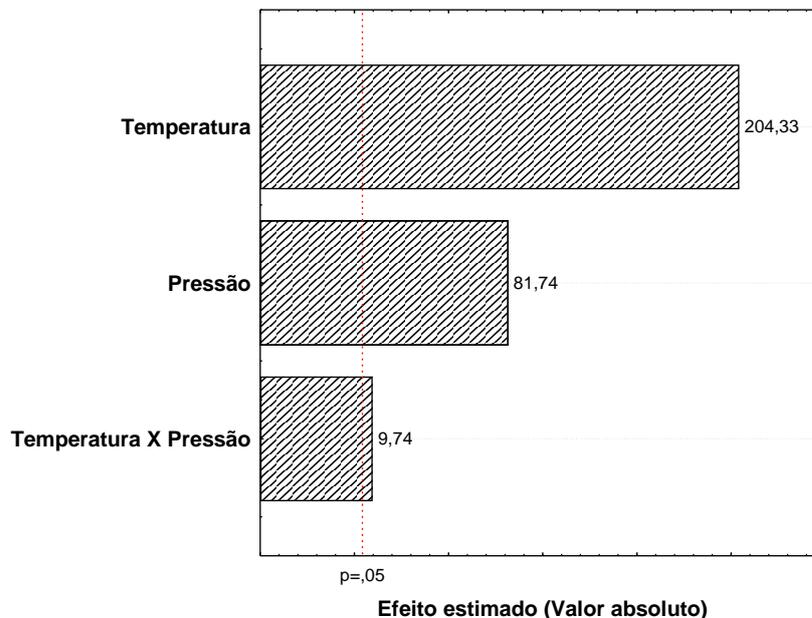
Analisando os dados da Tabela 10 o fluxo máximo obtido neste estudo para a água pura foi de 83,71  $L/m^2h$  na condição de operação 20°C e 1,5 bar, onde as faixas das variáveis temperatura e pressão empregadas foram mais elevadas. Já para o soro

nessa mesma condição o fluxo registrado foi de 17,63 L/m<sup>2</sup> h ocasionando uma redução superior a 4 vezes o fluxo médio da água.

Serpa (2005) utilizando o mesmo sistema de UF com membrana de 10 kDa, obteve valores de fluxo médio superior aos resultados obtidos nesse estudo, operando nas mesmas condições de pressão deste estudo (1,5 bar), este obteve para água os seguintes valores de fluxos: 107,4 e 95,28 L/m<sup>2</sup> h à 45 e 25°C respectivamente, em contrapartida na pressão de 1 bar ponto central a 35°C o fluxo médio foi de 51,68 L/m<sup>2</sup> h. Já para o soro esse mesmo autor obteve maior fluxo (19,80 L/m<sup>2</sup> h) trabalhando a 45°C e 1,5 bar.

O fluxo de permeado para o soro obtido apresentou um comportamento linear tanto para pressão como para temperatura, sendo que à medida que se tem o aumento de ambos ocorre um aumento do fluxo de permeação. Estes resultados podem ser visualizados pelo gráfico de pareto (Figura 12), demonstrando que pressão, temperatura e a interação de ambas apresentaram efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) positivos sobre o fluxo médio de soro de leite, dentro da faixa estudada.

**Figura 12** - Gráfico de pareto com os efeitos estimados para o fluxo médio do soro para o planejamento fatorial 2<sup>2</sup>.



Fonte: O Autor (2018).

O efeito positivo das variáveis temperatura e pressão já era esperado uma vez que a pressão é a força motriz do processo e o aumento da temperatura reduz a viscosidade da solução favorecendo o transporte de solutos (BALDASSO; BARROS; TESSARO, 2011). Contudo a influência da temperatura e da pressão deve ser considerada com cautela, principalmente devido a influência que estas exercem sobre as propriedades físicas e químicas dos componentes do soro, principalmente no que se refere a desnaturação das proteínas.

De acordo com Mello; Petrus; Hubinger (2010) além dos parâmetros estudados (pressão/temperatura) a viabilidade do processo de concentração por membranas depende ainda em grande parte das condições envolvidas no processo como as propriedades da membrana (configuração) e afinidade membrana-soluto.

Na condição de operação do ensaio 4 (20°C e 1,5 bar), como já discutido anteriormente temos maiores fluxos médios, porém é evidenciado também uma leve queda no fluxo ao longo do processo. Possivelmente nesse ensaio a maior pressão associada à temperatura mais elevada fez com que uma maior quantidade de soluto chegasse à superfície da membrana intensificando os fenômenos de polarização por concentração e *fouling*. Rao (2002), avaliou os fatores que interferem na redução de fluxo de permeado em processos de UF utilizando soro de leite, o autor evidenciou que houve um declínio de 25-30 % do fluxo de permeado, após 1 h de operação.

Um aumento de pressão acarreta em um aumento inicial no fluxo, entretanto a mesma acelera a formação de incrustações prejudicando dessa forma operações de longa duração. Além disso, temperaturas mais altas reduzem a viscosidade do soro, aumentando a velocidade com que o fluido é direcionado do centro em direção à membrana, aumentando dessa forma a sua permeação inicial e conseqüentemente o arraste de solutos em direção à membrana, acelerando a polarização de concentração (BRANS, 2006; METSÄMUURONEN; NYSTRÖM, 2009). O conhecimento de condições limites de operação é de extrema importância para dimensionar os volumes de concentrado que cada unidade comporta, para não prejudicar a eficiência do processo. Segundo Atra et al. (2005), com o passar do tempo o fluxo torna-se independente da pressão, pois as moléculas de proteínas se depositam na superfície da membrana, formando uma camada gel. Essa camada causa uma resistência adicional ao fluxo de permeado. Além disso, membranas com poros mais abertos apresentam fluxos mais elevados, porém são mais susceptíveis a polarização por concentração.

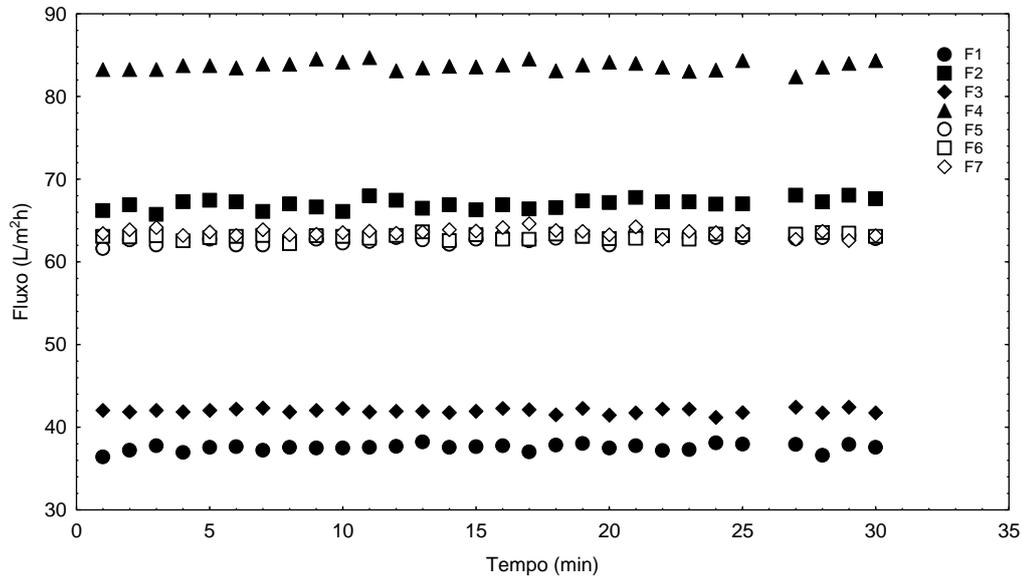
A temperatura de operação do processo de UF é um parâmetro que merece destaque quando se analisa o resultado de fluxo. Steinhauer et al. (2015), recomendam que a temperatura deve ser usada com cautela. Estes autores avaliaram a influência da temperatura (10 a 50°C) sobre o desempenho da UF do soro de leite e sua relação com o *fouling*, esses recomendam que para um processamento de qualidade do soro doce durante longos períodos de processamento, a temperatura de processamento deve ser inferior à 10°C.

Entretanto como o soro é um produto biológico, algumas reações também podem ser facilitadas, das quais pode-se destacar o aumento da acidez, assim o uso de temperaturas mais baixas diminui o risco de acidificação excessiva do produto final o que poderia comprometer atributos sensoriais do mesmo. Neste caso, a definição das variáveis de processo dependerá da aplicação do concentrado obtido, e não somente do fluxo do permeado médio.

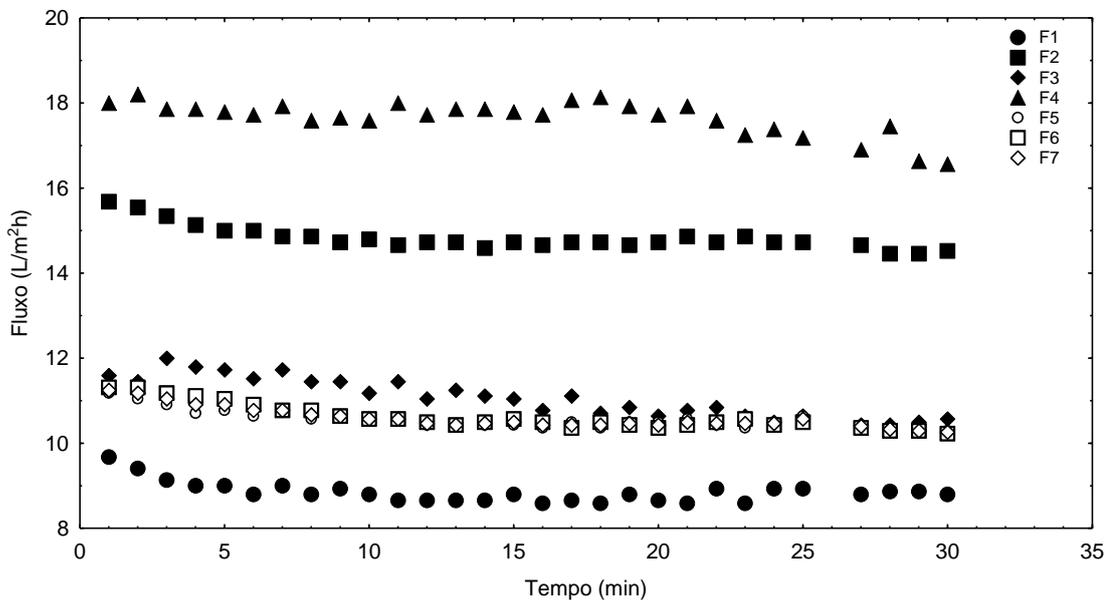
O perfil dos fluxos de permeado em função do tempo foi acompanhado ao longo de 30 minutos para água pura e soro de leite, a Figura 13 apresenta o comportamento do fluxo em função do tempo para a água (a) e para o soro de leite (b). A análise dos efeitos dos parâmetros experimentais sobre os fluxos de permeado com água pura foi realizada com o intuito de conhecer o fluxo sem nenhum impedimento à permeação, além de estipular os parâmetros de limpeza do sistema para recuperação do fluxo inicial. Vale ressaltar que a coleta dos dados se iniciou após a estabilização do sistema, obtidos para os fluxos médios da água em relação ao do soro evidenciando uma expressiva redução.

Wen-qiong et al. (2017), destacam que no processo de UF a redução do fluxo de soro em relação ao fluxo de água está associada ao processo de polarização por concentração e colmatação da membrana, onde de acordo com Steinhauer et al. (2015), a  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina são as principais frações de proteína responsável pela diminuição do fluxo de permeado. Perfil semelhante para os fluxos de UF de soro de leite foram também evidenciados por Almécija et al. (2007), Hinkova et al. (2012) e Leidens, (2013). Segundo Rao (2002), a ocorrência da colmatação tem sido vinculada não só as proteínas do soro, mas também pela precipitação de fosfato de cálcio na camada gel que se forma em membranas que processam leite e soro de leite.

**Figura 13** - Fluxos permeados de água (a) e de soro de leite (b), em função do tempo de acordo com a matriz do planejamento fatorial  $2^2$  para membrana de fibra oca de 10 kDa. Sendo: F1 (10°C e 0,5 bar); F2 (10°C e 1,5 bar); F3 (20°C e 0,5 bar); F4 (20°C e 1,5 bar); F5, F6 e F7 (15°C e 1,0 bar).



(a) Fluxo de água



(b) Fluxo de soro de leite

Fonte: O Autor (2018)

Mesmo com a validação do modelo nas condições experimentais, não seria possível a alteração nos limites das variáveis para proceder a otimização desse processo, este fato deve-se a limitações técnicas do módulo de ultrafiltração

empregado para realização desse estudo, principalmente no que se refere a variável pressão. Outro ponto relevante desse estudo é que o modulo utilizado, é bastante antigo e de difícil recuperação do fluxo, o qual se fazia necessário várias lavagens consecutivas entre um experimento e outro para restabelecer o fluxo inicial de água. Nesse estudo foi evidenciado na prática o quanto o processo de higienização adequada do sistema pode ser um fator determinante na vida útil da membrana.

#### *4.1.2 Efeitos da pressão e temperatura sob os constituintes dos concentrados e permeados*

A avaliação do pH tem como objetivo mensurar possíveis degradações do soro de leite ao longo do processamento e também se a separação de componentes causa alteração de pH e acidez. Na Tabela 11 estão apresentadas a matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e respostas em termos de pH e acidez para o soro *in natura* e frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa.

Percebe-se que o soro não sofreu alterações bruscas de pH durante os experimentos, tanto no concentrado quanto para o permeado, resultados similares forma obtidos por Baldasso, Kanan, Tessaro (2011), utilizando soro de leite reconstituído, que obtiveram valores de pHs entre 6,2 e 6,4 para as amostras de concentrado e permeado utilizando uma membrana de 10 kDa e temperatura de 50°C, sendo que estes valores estão próximos ao obtidos neste estudo.

Fouzia et al. (2015) avaliaram o efeito do pH sobre o fluxo de permeado para o soro de leite em diferentes pH (5,0, 6,2 e 7,3) e verificaram que em pH de 6,2 obtinha maiores fluxos de permeado, os autores atribuíram esses resultados a menor transmissão de proteína para o permeado. Uma preocupação que se tem quando ocorre uma acidificação elevada do soro é que pode se chegar a valores próximos do ponto isoelétrico das principais proteínas onde ocorre redução dos fluxos e recuperação das proteínas (ALMÉCIJA et al., 2007).

Esses resultados demonstram que a faixa de temperatura utilizadas neste estudo (10 à 20°C), não influenciaram significativamente no pH do concentrado e permeado, mesmo o processo ocorrendo por um período superior a 45 min para atingir o fator de concentração de 8.

A variação no pH pode ainda estar associada a faixa de temperatura utilizada no estudo pois, está apresenta-se dentro da faixa de temperatura que a maioria dos microrganismos acidificantes no leite/soro de leite costumam se desenvolver.

Os teores de acidez obtidos nesse estudo variam de 11 a 14°D. O soro doce obtido através da coagulação enzimática deve apresentar teores de acidez próximos a 14°D, diferente do soro ácido obtido por precipitação ácida da caseína a pH próximos de 4,6 que pode chegar até a 60°D (BALD et al., 2014; TEIXEIRA; FONSECA, 2008). Segundo Ordóñez (2005), a acidificação do soro se dá pela conversão da lactose em ácido láctico pelas bactérias lácticas presentes naturalmente no leite.

De acordo com a Tabela 11 observa-se que nos concentrados ocorreu um aumento da acidez em relação ao soro (11 - 14°D), esse fato está associado à ação de bactérias durante o tempo que o soro permaneceu no sistema de UF. Os valores de acidez para os concentrados apresentaram-se superiores ( $p < 0,05$ ) aos encontrados para permeados em todos os ensaios, esse fato pode estar associado também a presença de lactose nessa corrente, tendo em vista que não tem-se uma permeação de 100% da lactose. Ressalta-se para os concentrados os maiores teores de acidez (18 e 20,33°D) foram quando operados a 20°C (Ensaio 2 e 4).

A elevação nos teores de acidez verificadas nos concentrados principalmente nos ensaios 2 e 4 (Tabela 11) pode ter ocorrido em virtude da degradação da lactose e produção de ácido láctico devido à ação de bactérias lácticas presentes no soro, tendo em vista que segundo Jay (2005) a maioria dos microrganismos acidificantes no leite, são caracterizados por se desenvolverem entre temperaturas de 20 a 45°C, ou seja são basicamente mesófilas.

**Tabela 11** - Matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em termos de pH e acidez para do soro *in natura*, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa.

Ensaio	Variáveis independentes*		pH			Acidez** (°D)		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Soro	Permeado	Concentrado	Soro	Permeado	Concentrado
1	10 (-1)	0,5 (-1)	6,29 <sup>b</sup> (0,01)	6,50 <sup>a</sup> (0,01)	6,52 <sup>c</sup> (0,001)	12,33 <sup>abB</sup> (0,58)	7,33 <sup>ab</sup> (0,58)	15,33 <sup>b</sup> (0,58)
2	20 (1)	0,5 (-1)	6,43 <sup>a</sup> (0,01)	6,55 <sup>a</sup> (0,02)	6,73 <sup>a</sup> (0,01)	14,00 <sup>aB</sup> (1,00)	7,33 <sup>a<sup>b</sup></sup> (0,58)	18,00 <sup>a</sup> (1,00)
3	10 (-1)	1,5 (1)	6,29 <sup>b</sup> (0,04)	6,55 <sup>a</sup> (0,01)	6,40 <sup>f</sup> (0,01)	11,00 <sup>bB</sup> (1,00)	6,67 <sup>b</sup> (0,58)	15,33 <sup>b</sup> (0,58)
4	20 (1)	1,5 (1)	6,29 <sup>b</sup> (0,04)	6,55 <sup>a</sup> (0,01)	6,64 <sup>b</sup> (0,01)	12,33 <sup>abB</sup> (1,15)	6,67 <sup>b</sup> (0,58)	20,33 <sup>a</sup> (0,58)
5	15 (0)	1,0 (0)	6,25 <sup>b</sup> (0,04)	6,33 <sup>b</sup> (0,04)	6,48 <sup>d</sup> (0,01)	13,33 <sup>abB</sup> (0,58)	7,67 <sup>b</sup> (0,58)	18,67 <sup>a</sup> (1,15)
6	15 (0)	1,0 (0)	6,20 <sup>c</sup> (0,01)	6,40 <sup>b</sup> (0,01)	6,43 <sup>e</sup> (0,001)	14,33 <sup>aB</sup> (0,58)	8,33 <sup>a</sup> (0,58)	18,67 <sup>a</sup> (1,15)
7	15 (0)	1,0 (0)	6,22 <sup>bc</sup> (0,01)	6,36 <sup>b</sup> (0,02)	6,45 <sup>de</sup> (0,01)	14,00 <sup>aB</sup> (1,00)	8,33 <sup>a</sup> (0,58)	18,67 <sup>a</sup> (0,58)

\*X<sub>1</sub>= Temperatura (°C); X<sub>2</sub>= Pressão (bar); \*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Variáveis independentes fixas: fator de concentração de 8 vezes.

A Tabela 12 apresenta a matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e respostas em termos de proteínas totais do soro e frações de concentrado e permeado obtidos pela UF com membrana de fibra oca de 10 kDa. Os resultados de proteína para os concentrados variaram de 3,18 a 3,95 g/100 mL. Desta forma, como já verificado para os resultados do fluxo em uma maior pressão tem-se um maior fluxo e conseqüentemente um maior fator de concentração do soro já que todos os ensaios utilizaram o mesmo tempo de processo. Em termos de permeado, no processo de UF de soro de leite deseja-se que permeie o mínimo possível de proteína, sendo que o menor percentual foi de 0,12 g/100 mL 15°C e 1 bar (Ensaio do ponto central).

**Tabela 12** - Matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em proteína total e concentração de proteínas.

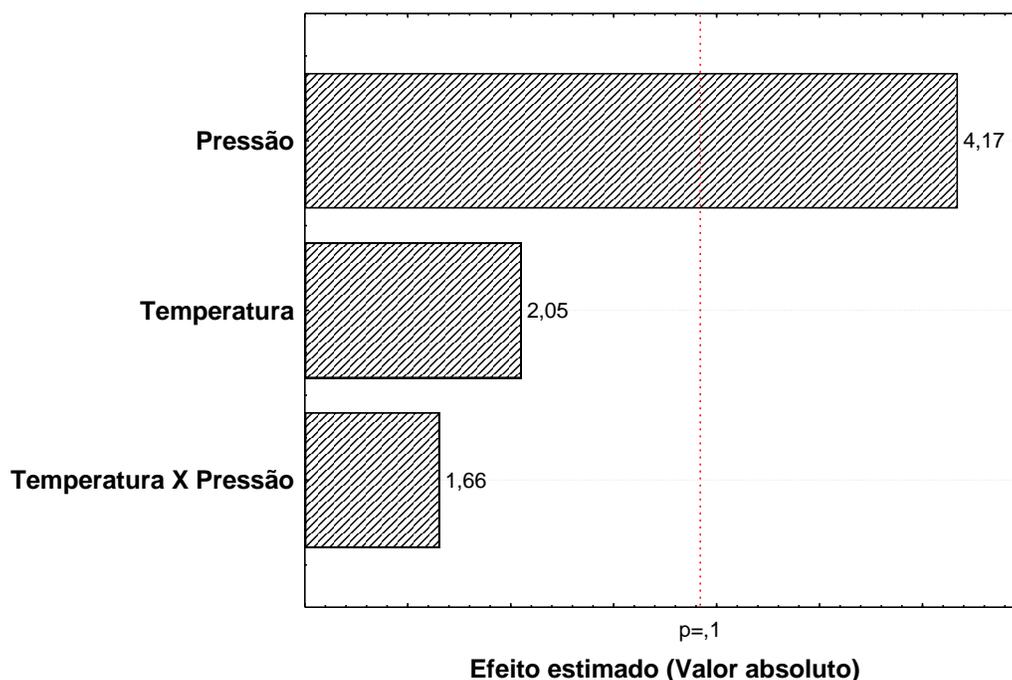
Ensaio	Variáveis independentes*		Proteína (%)			Concentração de proteína (%)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Soro	Permeado	Concentrado	
1	10 (-1)	0,5 (-1)	0,82 <sup>b</sup> (0,001)	0,14 <sup>c</sup> (0,02)	3,48 <sup>a</sup> (0,01)	76,44
2	20 (1)	0,5 (-1)	0,72 <sup>b</sup> (0,001)	0,16 <sup>c</sup> (0,01)	3,51 <sup>a</sup> (0,01)	79,49
3	10 (-1)	1,5 (1)	0,48 <sup>b</sup> (0,001)	0,18 <sup>c</sup> (0,01)	3,67 <sup>a</sup> (0,01)	86,92
4	20 (1)	1,5 (1)	0,69 <sup>b</sup> (0,001)	0,20 <sup>c</sup> (0,01)	3,95 <sup>a</sup> (0,01)	82,53
5	15 (0)	1,0 (0)	0,76 <sup>b</sup> (0,01)	0,13 <sup>c</sup> (0,01)	3,24 <sup>a</sup> (0,02)	76,54
6	15 (0)	1,0 (0)	0,69 <sup>b</sup> (0,01)	0,12 <sup>c</sup> (0,01)	3,18 <sup>a</sup> (0,01)	78,30
7	15 (0)	1,0 (0)	0,73 <sup>b</sup> (0,01)	0,12 <sup>c</sup> (0,01)	3,33 <sup>a</sup> (0,01)	78,08

\*X<sub>1</sub>= Temperatura (°C); X<sub>2</sub>= Pressão (bar). \*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Variáveis independentes fixas: fator de concentração de 8 vezes.

Os efeitos das variáveis independentes no teor de proteína podem ser melhores visualizados na Figura 14, onde é apresentado o gráfico de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento fatorial 2<sup>2</sup>. Observa-se que a concentração da proteína na fração concentrada foi

influenciada positivamente ( $p < 0,1$ ) pela pressão, ou seja, à medida que se tem um aumento da pressão, ocorre aumento no teor de proteínas do concentrado, nestas condições há um incremento de aproximadamente 86,92 % (Ensaio 3: 10°C e 1,5 bar) no teor de proteínas.

**Figura 14** - Gráficos de Pareto com os efeitos estimados (valor absoluto) para concentração de proteína na fração concentrada obtida após UF de 10 kDa.



A Tabela 13 apresenta a matriz do planejamento fatorial  $2^2$  (valores reais e codificados) e respostas em termos de condutividade do soro *in natura*, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa.

A condutividade elétrica é uma medida indireta da concentração de íons na solução, assim soluções inorgânicas conduzem melhor a corrente elétrica. A condutividade dos concentrados e dos permeados não foram influenciados significativamente ( $p > 0,05$ ) pelas variáveis independentes, na faixa estudada.

**Tabela 13** - Matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em condutividade elétrica do soro, permeados e concentrados.

Ensaio	Variáveis independentes*		Condutividade elétrica (mS/cm)**		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Soro	Permeados	Concentrados
1	10 (-1)	0,5 (-1)	4,58 <sup>a</sup> (0,13)	4,61 <sup>a</sup> (0,06)	4,59 <sup>a</sup> (0,05)
2	20 (1)	0,5 (-1)	4,94 <sup>a</sup> (0,01)	4,53 <sup>a</sup> (0,01)	4,50 <sup>a</sup> (0,02)
3	10 (-1)	1,5 (1)	4,67 <sup>a</sup> (0,04)	4,74 <sup>a</sup> (0,01)	4,69 <sup>a</sup> (0,03)
4	20 (1)	1,5 (1)	5,30 <sup>a</sup> (0,02)	4,93 <sup>a</sup> (0,01)	4,71 <sup>b</sup> (0,04)
5	15 (0)	1,0 (0)	5,01 <sup>a</sup> (0,02)	4,61 <sup>a</sup> (0,02)	4,55 <sup>a</sup> (0,01)
6	15 (0)	1,0 (0)	4,53 <sup>a</sup> (0,03)	4,88 <sup>a</sup> (0,01)	4,80 <sup>a</sup> (0,04)
7	15 (0)	1,0 (0)	4,77 <sup>a</sup> (0,04)	4,68 <sup>a</sup> (0,01)	4,56 <sup>a</sup> (0,02)

\*X<sub>1</sub>= Temperatura (°C); X<sub>2</sub>= Pressão (bar). \*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas linhas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Variáveis independentes fixas: fator de concentração de 8 vezes.

Desta forma, as maiores condutividades observadas nos permeados deve-se a quantidade de substâncias inorgânicas presentes estarem em maiores quantidades que nos concentrados devido à passagem de sais uma vez que estes são completamente permeáveis pela membrana vale destacar que o soro possui quantidades de sais como o cálcio, fósforo, magnésio e zinco na sua composição. Valores de condutividade dos concentrados inferiores a condutividade dos permeados deve-se ao esgotamento e enriquecimento de minerais nas correntes de concentrado e permeado (CROWLEY et al., 2015). Os valores de condutividade do concentrado, pode estar associado a carga das proteínas, tendo em vista o incremento dessas este fato justifica os valores obtidos.

A Tabela 14 apresenta os valores reais e codificados da matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para contagem de bactérias lácticas do soro, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa. As bactérias lácticas são responsáveis pelas transformações bioquímicas de lipídeos e proteínas em diferentes compostos pelo fato de fermentarem a lactose e formarem ácido láctico, esse grupo de bactéria é de grande importância para a indústria de alimentos pela sua grande versatilidade.

**Tabela 14** - Matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> (valores reais e codificados) e resposta em termos de bactérias ácido lácticas (BAL) do soro *in natura*, frações dos permeados e concentrados obtidos após UF com membrana de fibra oca de 10 kDa.

Ensaio	Variáveis independentes*		BAL (log UFC/mL)		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Soro	Permeados	Concentrados
	1	10 (-1)	0,5 (-1)	6,17 <sup>ab</sup> (0,06)	1,87 <sup>b</sup> (0,03)
2	20 (1)	0,5 (-1)	6,42 <sup>ab</sup> (0,58)	2,79 <sup>a</sup> (0,05)	6,55 <sup>bc</sup> (0,05)
3	10 (-1)	1,5 (1)	6,73 <sup>a</sup> (0,01)	1,00 <sup>d</sup> (0,01)	6,79 <sup>a</sup> (0,06)
4	20 (1)	1,5 (1)	6,07 <sup>b</sup> (0,02)	2,01 <sup>b</sup> (0,07)	6,85 <sup>a</sup> (0,03)
5	15 (0)	1,0 (0)	5,32 <sup>c</sup> (0,01)	1,00 <sup>d</sup> (0,01)	6,65 <sup>ab</sup> (0,05)
6	15 (0)	1,0 (0)	5,44 <sup>c</sup> (0,02)	1,54 <sup>c</sup> (0,11)	6,40 <sup>c</sup> (0,18)
7	15 (0)	1,0 (0)	5,38 <sup>c</sup> (0,01)	1,00 <sup>d</sup> (0,01)	6,53 <sup>bc</sup> (0,07)

\*X<sub>1</sub>= Temperatura (°C); X<sub>2</sub>= Pressão (bar). \*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas linhas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Variáveis independentes fixas: fator de concentração de 8 vezes.

Os resultados demonstram uma redução de mais de 5 ciclos logarítmicos de BAL no permeado em relação ao concentrado para todas as combinações de temperatura e pressão estudadas. Nos ensaios 1 e 3 houve uma maior redução, esse fato pode estar associado a menor temperatura do experimento, sendo que o ensaio 2 foi o que teve a maior concentração de BAL.

Brans et al. (2004) apontaram que, para a microbiota natural do leite, o tamanho das bactérias predominantes está entre 0,4-2,0 µm, daí a importância do uso de membranas com porosidades inferiores (máximo de 0,4 µm).

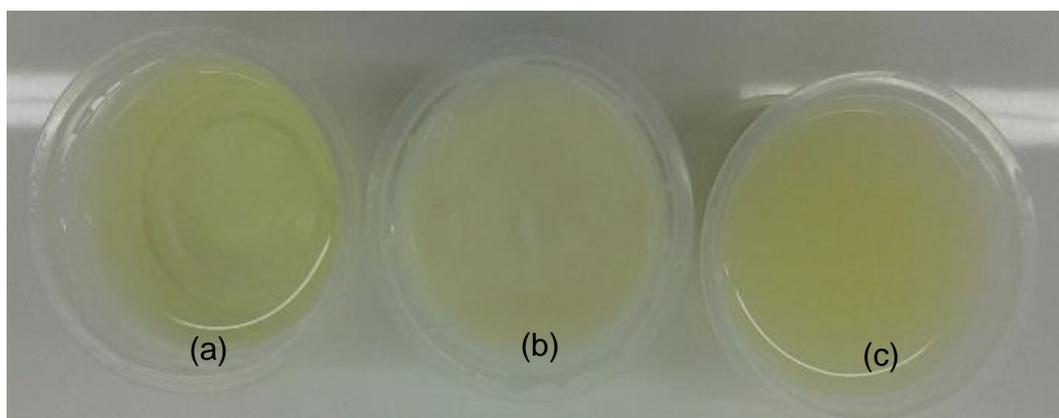
A presença de BAL na corrente do permeado justifica a utilização deste como acidulante em alimentos. Além é claro da produção de etanol a partir da lactose proveniente do permeado a UF, apesar de ainda não ter viabilidade em relação ao etanol produzido a partir da fermentação da sacarose. O soro apresenta um excelente potencial como importante fonte de carboidratos e precursor de probióticos (BAL) e pre-bióticos.

Como o soro precisa ser estabilizado microbiologicamente durante o processamento, a pasteurização é o método mais comumente usado para esse fim.

Barukčić; Božanić; Kulozik (2014) compararam os efeitos da pasteurização e microfiltração na qualidade microbiológica e nutricional do soro doce. Esses autores obtiveram uma redução média decimal na contagem total de bactérias e de coliformes de 5,71 e de 3,69 ciclos log respectivamente.

Com base na maior recuperação de proteína (87 %), a condição experimental escolhida para dar sequência no estudo foi o ensaio 3 (10°C e 1,5 bar), com fluxo médio de permeado intermediário (11,5 L/h m<sup>2</sup>), o aspecto visual das frações obtidas pode ser visualizado na Figura 15, onde se observa baixa turbidez (0,34 ± 0,01 UNT), e ausência de partículas em suspensão na fração do permeado.

**Figura 15** – Aspecto visual das amostras de permeado (a), concentrado (b) e soro (c) obtida na condição de 10°C e 1,5 bar.



**Fonte:** Do Autor (2018)

Na Tabela 15 está apresentada a composição das frações de soro e frações de concentrado e permeado de UF 10 kDa, 10°C e 1,5 bar.

Analisando os dados referente a Tabela 15 verifica-se que as frações de concentrado e permeado diferem do soro *in natura*. A recuperação de proteína foi eficiente na condição avaliada, pois o teor de proteína a fração do permeado foi reduzida.

**Tabela 15** – Caracterização das frações de soro, concentrado e permeado de UF 10 kDa, 10°C e 1,5 bar.

Componentes	Soro**	Concentrado**	Permeado**
<b>Proteína (g/100mL)</b>	0,71 <sup>b</sup> ± (0,04)	3,67 <sup>a</sup> ± (0,02)	0,20 <sup>c</sup> ± (0,03)
<b>Gordura (g/100mL)</b>	0,30 <sup>b</sup> ± (0,02)	0,68 <sup>a</sup> ± (0,08)	0,01 <sup>c</sup> ± (0,01)
<b>Lactose (g/100mL)</b>	4,66 <sup>b</sup> ± (0,01)	3,40 <sup>c</sup> ± (0,01)	3,92 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Sólidos Totais g/100mL)</b>	6,18 <sup>b</sup> ± (0,03)	7,47 <sup>a</sup> ± (0,10)	4,41 <sup>c</sup> ± (0,04)
<b>Densidade (Kg/m<sup>3</sup>)</b>	1.020 <sup>b</sup> ± (0,11)	1.028 <sup>a</sup> ± (0,12)	1.018 <sup>c</sup> ± (0,10)
<b>Cor L*</b>	89,52 <sup>c</sup> ± (0,12)	89,78 <sup>b</sup> ± (0,01)	96,56 <sup>a</sup> (0,01)
<b>Cor a*</b>	0,54 <sup>c</sup> ± (0,02)	0,58 <sup>b</sup> ± (0,01)	1,62 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Cor b*</b>	0,13 <sup>b</sup> ± (0,01)	0,11 <sup>c</sup> ± (0,02)	5,30 <sup>a</sup> ± (0,01)

\*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais/linhas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

Com relação aos valores de densidade não existe um padrão do soro, pois depende da matéria prima e do processo de obtenção do queijo. Teixeira e Fonseca (2008) obtiveram densidade de 1.025 Kg/m<sup>3</sup> para o soro de queijo mussarela e 1.024 Kg/m<sup>3</sup> para o soro de queijo Minas padrão. Barukčić; Božanić; Kulozik (2014) ressaltaram que os dados da literatura são escassos, mas avaliando a densidade a 20°C para o soro de leite obteve valores de 1.024 kg/m<sup>3</sup>. Ambos os resultados foram superiores aos obtidos no presente trabalho, lembrando que este parâmetro depende basicamente do teor de água, gordura e sólidos não gordurosos, sendo que na corrente de concentrado todos esses parâmetros são superiores ao permeado.

O teor de lactose do permeado diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da fração concentrada, sendo que no concentrado houve uma redução em torno de 27%. Pagno et al. (2009) obtiveram concentrado proteico com teores de lactose de 10 a 31 %. Borges et al. (2001) trabalhando com UF (10 kDa) seguido de diafiltração para fracionar e concentrar as proteínas do soro obtiveram concentrados com um residual de lactose próximo de 9 %.

Serpa (2012), utilizando UF (10 kDa) obteve valores para os teores de lactose próximos a esse estudo, 5,32 e 4,40 % nas correntes de permeado e concentrado,

respectivamente. O autor atribui a baixa seletividade da membrana ao *fouling* e a formação de camada gel na superfície da membrana.

Com relação a cor das amostras (Figura 15) estas apresentam variação entre o soro puro e as frações de concentrado e permeado, porém não é possível relacionar a diferença de cor com a concentração de proteína. A fração de permeado foi a que teve maior alteração nos parâmetros, ou seja, aumentou o valor da luminosidade  $L^*$  e de  $b^*$ .

Com relação ao teor de gordura do soro pode-se inferir que este é influenciado diretamente pelo leite utilizado como matéria-prima para produção do queijo, pelo rendimento do queijo e pelo próprio processamento. Vale destacar que grande parte dos laticínios que produzem o queijo Mussarela, antes de comercializar o soro, realizam um desnate deste, pois a gordura pode ser utilizada para fabricação de manteiga. Teixeira e Fonseca (2008) avaliando o soro oriundo de queijo Mussarela e Minas padrão encontraram teores de gordura entre 0,49 à 0,88 g/100g.

O incremento no teor de sólidos na corrente do concentrado já era esperada. Este é um importante parâmetro para medir a eficiência do processo de concentração utilizando os processos de separação por membrana.

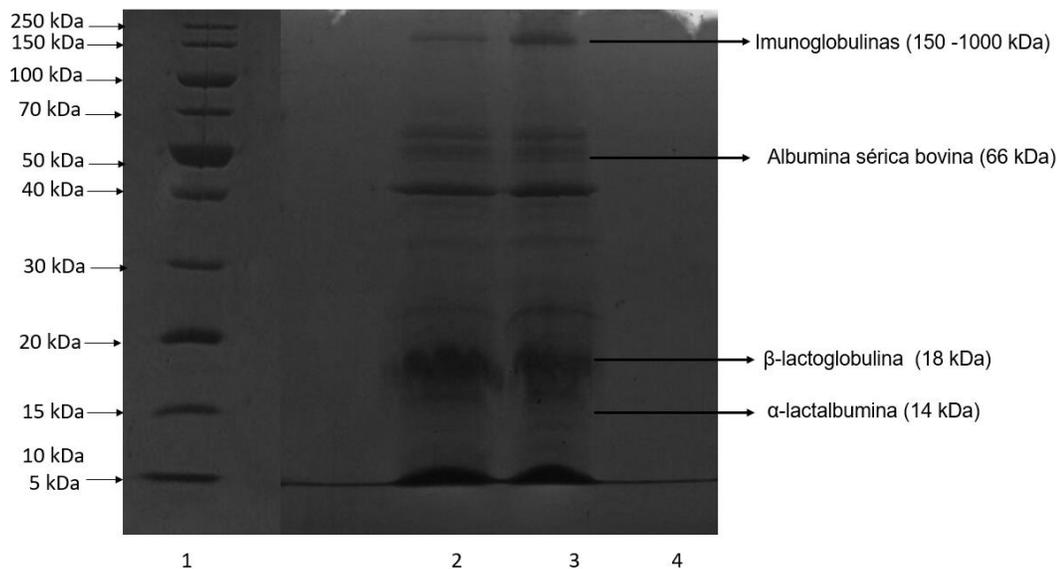
Para verificar os principais constituintes que representam as proteínas dos concentrados e permeados obtidos com a membrana de 10 kDa foi realizada análise qualitativa das frações protéicas por gel de eletroforese (Figura 16).

As principais proteínas de soro são imunoglobulinas (150–1000 kDa), lactoferrina (76 kDa), albumina sérica bovina (66 kDa),  $\beta$ -lactoglobulina (monômero 18 kDa),  $\alpha$ -lactalbumina (14 kDa) e glicomacropéptido (PM 6,8 kDa).

O perfil eletroforético (Figura 16) do soro e sua fração de concentrado apresenta bandas de maior expressão correspondentes as proteínas  $\beta$ -Lg e  $\alpha$ -La, também é verificada banda correspondente a albumina de soro bovina - BSA (69 kDa) e para a proteína imunoglobulinas (150-1000 kDa). Na amostra de permeado não foi verificado bandas de frações proteicas, indicando que a membrana foi eficiente na separação das proteínas.

Destaca-se ainda, a presença de outras bandas características de proteínas minoritárias no soro, sub-frações com pesos moleculares variados, ou mesmo variações conformacionais das proteínas, das quais pode-se destacar o dímero da  $\beta$ -Lg com massa molar de 36 kDa (YADAV et al., 2016).

**Figura 16** - Perfil eletroforético das amostras de concentrado e permeado da UF.



Sendo: Coluna 1: marcador de massa molar; Coluna 2: Soro *in natura*; Coluna 3: fração concentrada após UF e Coluna 4: fração permeada após a UF.

Raimondo et al. (2013) estudaram as proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação, analisaram 48 amostras de soro de diferentes estágios de lactação. Os autores visualizam no proteinograma todas as proteínas nativas do soro do leite, bem como a faixa de distribuições das massas moleculares.

Marques et al. (2011) utilizaram a técnica de eletroforese para avaliar as características das amostras de leite em pó e de soro em pó separadamente, além de fraudar amostras de leite com soro, para tentar investigar fraudes pela adição de soro. Os autores não conseguiram estabelecer com discernimento uma correlação entre o nível de adição e a quantidade de soro adicionada. Segundo estes autores a técnica apresenta bom desempenho na identificação de proteínas de leite e soro em pó, entretanto, não se revelou eficiente no estabelecimento de uma boa

correlação entre o nível da adulteração e a quantidade de soro adicionado, ou seja, essa técnica deve ser apenas utilizada quando se deseja ter informações com relação ao perfil qualitativo de amostras.

Como discutido durante a análise do fluxo de permeado (item 4.1) havia uma tendência da viscosidade influenciar no desempenho dos parâmetros operacionais da membrana. Assim, avaliou-se o comportamento da viscosidade do soro e de suas frações na temperatura de 10°C, que foi definida anteriormente. Pois, a viscosidade é a resistência da amostra a sofrer deslocamento quando submetido a uma força externa, como a agitação, ou seja, quanto mais espesso for o líquido, maior será sua viscosidade ou sua resistência ao fluxo (SINGH e HELDMAN, 2016). Na Tabela 16 estão apresentados os valores médios das viscosidades obtidas para o soro *in natura*, frações concentrada e permeada. A viscosidade para todas as frações apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ), sendo a viscosidade do concentrado superior, principalmente em função do aumento do teor de sólidos nesta fração.

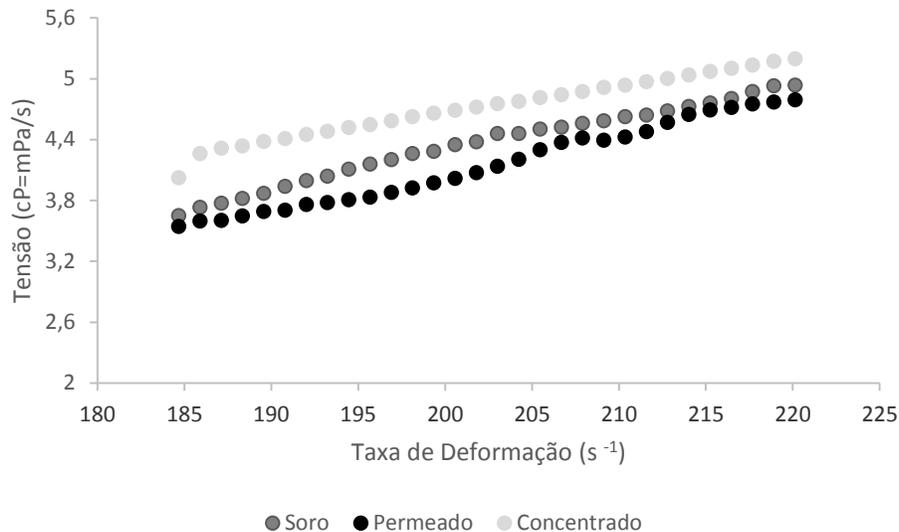
**Tabela 16** – Viscosidade aparente para as frações dos concentrados.

Fração	Viscosidade (cP)*
Soro <i>in natura</i>	2,15 <sup>b</sup> ± 0,18
Concentrado	2,34 <sup>a</sup> ± 0,18
Permeado	2,04 <sup>c</sup> ± 0,09

\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Unidade = cP e/ou mPa/s.

Na Figura 17 está apresentado o reograma das amostras para as diferentes frações de soro na temperatura de 10°C. Os fluidos são classificados de acordo com seu comportamento reológico por meio da análise da relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação para condições de temperatura e pressão estabelecidas. Assim analisando a Figura 17 percebe-se que as frações de soro apresentaram comportamento de fluido newtoniano, ou seja, este comportamento está associado a relação linear entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento.

**Figura 17** – Reogramas para as frações de soro, concentrado e permeado obtidas à 10°C, (a) tensão em função da taxa de cisalhamento



Barukčić; Božanić, Kulozik (2014) avaliaram a viscosidade do soro de leite doce em temperatura de 20, 40 e 50°C e obtiveram os seguintes resultados 1,23, 0,829 e 0,729 cP, respectivamente, e verificaram que a viscosidade diminui com o aumento da temperatura. Segundo os autores não existem dados disponíveis na literatura sobre a viscosidade do soro na temperatura de 40°C ou 50°C.

González-tello et al. (2009) analisaram a viscosidade de soluções de concentrados proteicos de soro de leite (10, 15 e 20 %) nas temperaturas de 10 e 20°C e verificaram que a relação entre a taxas de cisalhamento e a tensão apresentam uma relação linear, implicando em um comportamento reológico das soluções de CPS do tipo de fluido Newtoniano. Sendo, estes resultados encontrados semelhantes aos obtidos no presente estudo.

Segundo Fennema, Damodaran, Parkin (2010) espera-se que a viscosidade das soluções de proteína seja dependente da concentração, forma, tamanho do peso molecular, flexibilidade, interações intermoleculares, grau de hidratação e carga das proteínas. Além disso, a viscosidade, também, pode ser influenciada por fatores externos, como temperatura, pH e força iônica.

## 4.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SORO DE LEITE

O teor proteico do soro lácteo obtido pelo processo de concentração utilizando membrana de fibra oca de 10 kDa na condição de 10°C e 1,5 bar (Ensaio 3), seguido de liofilização resultou em um valor médio de proteína de 36,3 % (base seca). Para ser denominado como concentrado proteico de soro, o mesmo deve conter uma concentração de proteína maior que 25 % (ALMEIDA et al., 2013). Segundo Pagno et al. (2009) os concentrados proteicos de soro - CPS podem variar sua composição de proteínas de 35 a 90 %. Assim, a fração do concentrado se enquadra como um CPS, pois possui um teor médio de proteínas de 36,0 % (base seca).

Com relação a solubilidade (g/100g de CPS), não foi evidenciada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação ao pH na faixa estudada, ou seja, foi obtido em média os seguintes valores pH 5,7 e 7,0:  $33,82 \pm 0,05$  e  $34,0 \pm 0,60$  respectivamente. O índice de solubilidade obtido pela equação 4 em pH 5,7 e 7,0: foi de 93,94% e 94,4%, respectivamente. Segundo Fennema; Damodaran; Parkin (2010) o índice de solubilidade pode ser usado como um dos parâmetros de funcionalidade da proteína, ou seja, quanto maior a solubilidade, menor o grau de desnaturação da proteína. O alto valor de índice de solubilidade já era esperado em virtude da faixa de pH estudada e principalmente pelo fato da não utilização de temperaturas elevadas para a obtenção do concentrado.

Maldonado et al., (2011) utilizando como matriz proteica a casca de arroz obteve solubilidade de 60% (pH 8,0), valor este bastante superior a proteína lactea derivada do soro.

Pagno et al. (2009) estudaram a solubilidade de concentrados proteicos contendo 71 e 80 % de proteína em pH 6,8 e temperatura de 40°C e obtiveram solubilidade superior a 77 e 85 %, respectivamente. Os autores atribuem a diferença de solubilidade entre os concentrados proteicos pela diferença na sua composição, tendo em vista que os componentes não proteicos dos concentrados podem

influenciar, na manifestação das funcionalidades tecnológicas desejadas para os CPS.

Segundo Maldonado et al. (2011), para que a proteína tenha propriedades emulsificantes de interesse para a indústria de alimentos, um dos critérios é que a mesma tenha uma alta solubilidade. Neste caso, a proteína de soro utilizada no presente estudo atende a este critério, demonstrando ainda que a variação de pH proposto não afetou significativamente ( $p > 0,05$ ) na solubilidade.

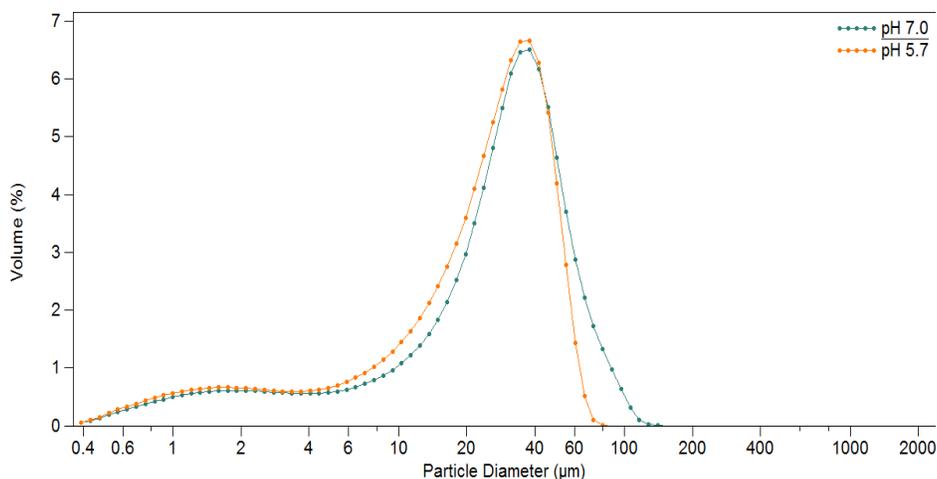
Segundo Pelegrine e Gasparetto (2003), o pH é um dos aspectos mais relevantes tendo em vista que este afeta a natureza e a distribuição das cargas em uma proteína. Geralmente em pH ácidos e/ou alcalinos, as proteínas são mais solúveis, este fato pode ser atribuído ao excesso de cargas do mesmo sinal, causando repulsão entre as moléculas e, conseqüentemente, contribuindo para sua maior solubilidade.

Não foram realizados estudos para avaliar a influência da temperatura sobre a solubilidade dos CPS, mas segundo Antunes (2003), solubilidade é influenciada pelo aumento da temperatura, principalmente na faixa entre 0 e 50°C. No entanto, quando a temperatura fica elevada por um tempo de exposição prolongado a proteína pode sofrer desnaturação, diminuindo com isso sua solubilidade.

As distribuições de tamanho de partículas dos concentrados de soro avaliados em pH 5,7 e 7 exibiram um carácter bimodal com duas gotas de populações distintas: gotas com diâmetros maiores e menores que 40  $\mu\text{m}$  (Figura 18). Este tipo de comportamento bimodal foi atribuído às condições de homogeneização utilizadas (MITIDIÉRI e WAGNER, 2002; PANIZZOLO et al., 2014).

Segundo Abirached (2011) o tamanho das gotas produzidas durante a formação da emulsão depende de dois processos: inicialmente, da geração das gotas pequenas; e na sequência, da rápida estabilização das gotas formadas, as quais impede-os estas coalescerem, uma vez formadas, portanto quanto menor o tamanho das gotas formadas maior será a estabilidade do sistema.

**Figura 18** – Distribuição de tamanho de partícula para o concentrado de soro de leite em membrana UF 10 kDa em pH 5,7 e 7,0.



Almeida (2012) estudou emulsões concentradas em bebidas e encontrou valores para o tamanho de partículas entre 2 e 5 µm. O autor descreve que esse resultado é importante porque um tamanho menor de gota tende a reduzir a possibilidade de haver algum mecanismo de desestabilização e melhora o sabor do produto. Além disso, uma distribuição estreita também reduz a possibilidade de haver coalescência e envelhecimento de Ostwald (MCCLEMENTS, 2007).

Com relação ao estudo da estabilidade das emulsões os resultados estão apresentados na Tabela 17. Conforme da equação 5, temos que  $RD(t)$  indica a dispersão das partículas a uma altura de 70 mm do tubo, para um tempo  $t$  para cada termo desta equação.  $K_1$  e  $RD_1$  correspondem as gotas de tamanho maior que são as que sofrem flotação mais rápido.  $K_2$  e  $RD_2$  correspondem às menores gotas, que crescem mais lentamente como previsto pela lei de Stokes.  $RD_0 = RD_1 + RD_2$

As partículas com maior diâmetro formam creme mais rapidamente. A equação que descreve o comportamento durante a formação de creme tem dois termos um de 2ª ordem e outro sigmoidal (PANIZZOLO et al., 2014). O comportamento sigmoidal é devido às partículas maiores que têm uma diminuição na velocidade de formação de creme. Provavelmente, porque são cercadas por muitas partículas pequenas que impedem seu movimento, ou seja, partículas pequenas têm um comportamento hiperbólico.

**Tabela 17** -  $RD_0$ ,  $K_1$ ,  $RD_1$ ,  $K_2$  e  $RD_2$  para os diferentes pHs estudados.

pH	$RD_0$	$RD_1$	$K_1 10^{-8}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$RD_2$	$K_2 10^{-3}$ ( $\text{min}^{-1}$ )
5,7	57,74	8,20 <sup>a</sup> ± 1,50	3,58 <sup>b</sup> ± 0,001	49,53 <sup>a</sup> ± 1,99	1,84 <sup>a</sup> ± 0,001
7,0	62,46	4,43 <sup>b</sup> ± 0,46	7,23 <sup>a</sup> ± 0,001	58,03 <sup>b</sup> ± 0,86	1,24 <sup>b</sup> ± 0,001

\* valores  $\pm$  desvio padrão que se encontram na mesma coluna com a mesma letra não apresentam diferença estatística a 5% (Teste de t-student).

Analisando os dados da Tabela 17 observamos altos valores de  $RD_0$  o que implica em maior número de gotas presentes inicialmente no sistema. Como  $K_1$  e  $K_2$  são constantes de desestabilização, quanto menores elas são, mais estáveis as emulsões frente ao fenômeno de flotação. Os valores de RD são associados à concentração e tamanho médio das gotículas na emulsão (Medrano et al., 2012).

Apesar das diferenças entre os valores das constantes, não foi evidenciado diferença nos diâmetros de partículas (Figura 18) que pudessem indicar possíveis fenômenos de desestabilização para as emulsões em estudo.

Abirached et al. (2018) estudaram o efeito da modificação ácida da proteína glicínina presente na soja em relação as propriedades emulsionantes. Os resultados demonstraram valores inferiores para a constante de desestabilização ( $K_1$ ) ou seja as emulsões foram mais instáveis em relação a flotação das partículas, fato esse que os autores associaram ao maior tamanho de partículas em relação as emulsões preparadas com a proteína tratada inicialmente com ácido.

Portanto podemos afirmar que as emulsões preparados em pH 5,7 e 7,0 são estáveis em relação ao efeito gravitacional de formação de flotação (creme). Com base nesses resultados podemos justificar a utilização desse concentrado em sorvetes, pois esse irá auxiliar na qualidade e estabilidade das emulsões formadas para esse produto.

Para acompanhar o efeito do processo de modificação na tensão interfacial versus tempo, as constantes de velocidade correspondentes aos processos de adsorção ( $K_a$ ) e rearranjo ( $K_r$ ) de proteínas na interface óleo-água foram determinadas utilizando a equação 6.

Segundo Panizzolo (2005) esta equação surge do fato de que os processos de adsorção, desenrolamento e rearranjo da molécula de proteína na interface

ocorrem de maneira simultânea. Estes resultados estão dispostos na Tabela 18. Onde também são apresentados os parâmetros relacionados a resistência do filme interfacial através da determinação dos parâmetros:  $E_d$  e  $E_v$ . Os valores  $E_d$  e  $E$  foram semelhantes por causa da frequência de oscilação (200 mHz) usada. Nesta frequência de oscilação, todas as interfaces apresentam um comportamento elástico (ABIRACHED et al., 2018).

**Tabela 18** - Constante de adsorção ( $K_a$ ) e rearranjo ( $K_r$ ) na interface, modulo de dilatação ( $E$ ), elástico ( $E_d$ ) e viscoso ( $E_v$ ) para os pH estudados.

pH	$K_a 10^3$ ( $s^{-1}$ )	$K_r 10^2$ ( $s^{-1}$ )	$E$ ( $mN/m$ )	$E_d$ ( $mN/m$ )	$E_v$ ( $mN/m$ )
5,7	5,2 <sup>a</sup> ± 0,2	5,5 <sup>a</sup> ± 0,5	21,0 <sup>a</sup> ± 1,0	21,1 <sup>a</sup> ± 1,0	1,4 <sup>a</sup> ± 0,2
7,0	4,7 <sup>a</sup> ± 0,5	5,6 <sup>a</sup> ± 0,8	20,0 <sup>a</sup> ± 4,0	20,0 <sup>a</sup> ± 4,0	1,0 <sup>a</sup> ± 1,0

\* valores (± desvio padrão) que se encontram na mesma coluna com a mesma letra não apresentam diferença estatística a 5% (Teste de t-student).

Observando os valores da Tabela 18 não foram encontradas diferenças significativas nas propriedades interfaciais ( $\alpha \leq 0,05$ ) como as taxas de absorção ( $K_a$ ) e rearranjo ( $K_r$ ) na interface, o módulo dilatacional ( $E$ ), o módulo elástico ( $E_d$ ) e o módulo viscoso ( $E_v$ ), entre os dois pH estudados (Tabela 18). Portanto, o pH não seria um fator que influencia o comportamento interfacial dos concentrados proteicos de soro.

Segundo Damodaran (2006) as proteínas exibem uma taxa de adsorção interfacial óleo-água que é altamente afetada por suas propriedades físico-químicas. Uma rápida mudança na conformação interfacial é essencial para permitir que a proteína reoriente seus resíduos hidrofóbicos e hidrofílicos para a fases óleo-água de maneira a maximizar a exposição e a participação destes resíduos para as duas fases. Como o concentrado protéico utilizado nesse estudo não apresentou diferenças significativas nos valores adsorção ( $K_a$ ) esse fato pode estar associado a estabilidade da molécula, já que o pH não sofreu variações brusca.

Abirached et al. (2018) estudaram o efeito da modificação ácida da proteína glicinina da soja em relação a tensão interfacial e evidenciaram que apenas o

processo de adsorção para a interface óleo-água foi afetado pelo tratamento com ácido. Este aumento na taxa de adsorção pode ser atribuída ao aumento da hidrofobicidade da superfície devido à tratamento ácido.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DO SORVETE

#### 4.3.1 Características físicas, químicas e reológicas

O concentrado proteico de soro (CPS) utilizado nas formulações de sorvete foi obtido por UF com membrana de 10 kDa a temperatura de 10°C e 1,5 bar, com fator de concentração (FC) de 8, ressaltando que a caracterização do CPS foi apresentada na Tabela 15.

Um dos parâmetros de qualidade mais importantes na produção de sorvete refere-se à incorporação de ar durante o batimento, ou seja, o *overrun* do produto. Sendo assim, as formulações desenvolvidas foram inicialmente caracterizadas com relação a este indicador.

A Tabela 19 apresenta a matriz do planejamento fatorial completo 2<sup>2</sup> com os valores codificados (reais) das variáveis independentes estudadas e a resposta em termos de *overrun*. O maior valor de *overrun* obtido foi de 34 % para o ensaio 5 (11,2 % de CPS e 6 % de gordura).

Os resultados podem ser melhor visualizados pelo gráfico de Pareto (Figura 19), que apresenta os efeitos estimados (valor absoluto) do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para o *overrun*.

Verifica-se que a gordura e o concentrado de soro tiveram o efeito significativo ( $p < 0,05$ ) negativo, indicando, possivelmente, que se os níveis dessas variáveis forem reduzidos haverá um incremento no *overrun* para melhorar os resultados do parâmetro.

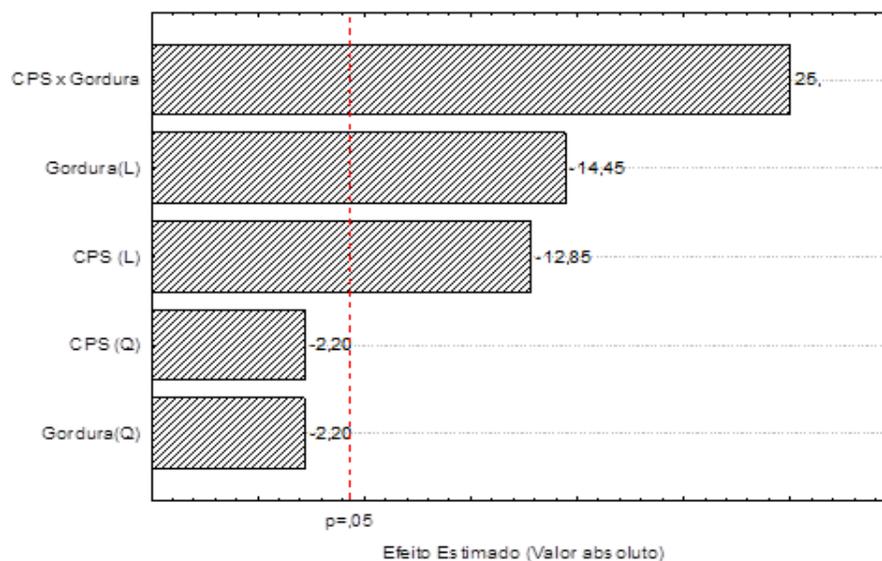
Segundo Fiol et al. (2017), um sorvete de qualidade possui como padrão acima de 50 % de incorporação de ar, esse parâmetro tem como principal função tornar o sorvete um produto macio.

**Tabela 19** - Matriz do planejamento fatorial completo  $2^2$  (valores codificados e reais) e resposta *overrun* para os sorvetes.

Ensaio	Variáveis Independentes*		Overrun (%)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	
1	-1 (20)	-1 (4)	27
2	1 (60)	-1 (4)	16
3	-1 (20)	1 (8)	5
4	1 (60)	1 (8)	19
5	-1,41 (11,2)	0 (6)	34
6	1,41 (68,2)	0 (6)	19
7	0 (40)	-1,41 (3,2)	27
8	0 (40)	1,41 (8,82)	26
9	0 (40)	0 (6)	22
10	0 (40)	0 (6)	23
11	0 (40)	0 (6)	22,5

\*X<sub>1</sub>= CPS líquido (%), X<sub>2</sub>= Gordura vegetal (%). Variáveis independentes fixas: açúcar, leite em pó, glicose, estabilizantes, emulsificantes e sabor.

**Figura 19** - Gráfico de Pareto com o efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas nas formulações de sorvete em relação ao overrun.



Estratégias para aumentar o *overrun* foram realizadas. Primeiramente, experimentos foram realizados retirando o leite em pó da formulação, manteve-se o percentual de gordura fixo em 3,0 % visto que foi obtido melhor desempenho na região inferior do planejamento experimental realizado (Tabela 19). Com relação ao teor de concentrado proteico foram utilizadas concentrações de 20%,40% e 60%, isto devido a intenção de reduzir o teor de sólidos sem alterar os teores de CPS das formulações.

Constatou-se que os resultados ainda não foram satisfatórios para o percentual de *overrun* (24, 20 e 16%) das formulações de sorvete, além disso, o produto ficou com aspecto “arenoso” e com presença de cristais de gelo. Fato este, que pode ser atribuído a falta de extrato seco total.

Paralelo a essas formulações foi avaliado o teor de *overrun* de uma formulação de sorvete utilizando apenas leite pasteurizado (padrão) para analisar o desempenho desse parâmetro frente as demais formulações e o teor médio de *overrun* obtido foi de 46%

Outra alternativa foi explorar qual seria a quantidade máxima de concentrado proteico a ser adicionada mantendo o teor de gordura em 3,2% para verificar o comportamento do *overrun*. Foram realizados experimentos aleatórios com teores médios 21, 28 e 42 % de CPS, respectivamente. Os resultados são apresentados na Tabela 20.

O *overrun* é um dos parâmetros mais importantes quando se pensa em processamento de sorvetes, pois uma pequena incorporação de ar ao sorvete torna-o denso, por outro lado, o excesso faz com que o taxa de fusão seja agilizada (GOFF; HARTEL, 2013). Daw e Hartel (2015) obtiveram para o *overrun* de sorvetes valores entre 32 à 45,5% e verificaram que o tipo de proteína láctea e sua concentração não influenciaram no teor de *overrun*.

**Tabela 20** - Caracterização média das formulações de sorvete desenvolvidas utilizando experimentos aleatórios com diferentes concentrações de CPS.

Parâmetros	Formulações		
	21 % de CPS	28 % de CPS	42 % de CPS
<b>Proteína (g/100g)</b>	3,64 <sup>c</sup> ± (0,01)	3,78 <sup>b</sup> ± (0,01)	3,92 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Lactose (g/100g)</b>	8,19 <sup>c</sup> ± (0,01)	8,30 <sup>b</sup> ± (0,01)	8,50 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Gordura (g/100g)</b>	3,85 <sup>c</sup> ± (0,01)	5,2 <sup>b</sup> ± (0,01)	5,7 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Sólidos totais (%)</b>	33,46 <sup>a</sup> ± 0,15	32,41 <sup>a</sup> ± 0,04	31,81 <sup>a</sup> ± 1,36
<b>Minerais (%)</b>	0,63 <sup>a</sup> ± (0,01)	0,69 <sup>a</sup> ± (0,01)	0,78 <sup>a</sup> ± (0,01)
<b>Overrun (%)</b>	34,33 <sup>a</sup> ± 0,58	27,33 <sup>b</sup> ± 1,15	25,67 <sup>b</sup> ± 1,15

\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

Inicialmente, supunha-se que a concentração de proteína teria uma relação linear com o *overrun*, uma vez que as proteínas têm capacidade de formação de espuma, além de melhorar a resistência da mesma. No entanto, no presente estudo houve uma diminuição significativa quando aumentou-se o teor de CPS. Segundo Costa et al. (2017) o *overrun* em sorvete deve estar entre 2,5 a 3 vezes a quantidade de sólidos totais do produto, afim de evitar defeitos no sorvete. Os resultados obtidos neste estudo não satisfazem a relação proposta pelo autor, fato que pode estar associado ao tipo de equipamento/sorveteira (marca Fortfrio, modelo V16) utilizado para a incorporação de ar no sorvete, tendo em vista que se utilizou um equipamento em nível laboratorial.

Outro fator, que pode ter influenciado no *overrun* é a concentração de gordura utilizada nas formulações (3,2 %), sendo inferior as utilizadas por outros autores, a escolha de trabalhar com menor teor de gordura foi em função das características do concentrado proteico utilizado apresentar um teor de gordura significativo, além de qualidade nutricional do produto.

Segundo Goff e Hartel (2013) a incorporação de ar no sorvete é um parâmetro físico influenciado pela quantidade de gordura presente no produto. Quanto maior a quantidade de gordura maior a incorporação de ar no sorvete. Porém, esta correlação entre a incorporação de ar e o teor de gordura no sorvete não foi observada nos ensaios do planejamento de experimentos 2<sup>2</sup>, onde na

máxima concentração de gordura (8,82 %) não foi observado a incorporação de ar superior as demais formulações.

Avaliando a composição centesimal das formulações de sorvetes elaboradas e comparando as mesmas com a Portaria nº 379 de 1999 da Anvisa (BRASIL, 1999), a qual estabelece as concentrações mínimas de 28 % de sólidos totais, 3 % de gordura e 2,5 % de proteína em sorvetes, verifica-se que em nível de sólidos totais, teor de gordura e proteína todas as formulações atendem o mínimo preconizado.

Com relação ao teor de proteína as formulações desenvolvidas com 28% e 42% de concentrado proteico apresentaram um incremento superior a 50% do conteúdo desse macro nutriente. Segundo a RDC nº 54 de 2012 (BRASIL, 2012) a qual trata do regulamento técnico sobre informação nutricional complementar para ser considerado um produto fonte de proteína o produto precisa de 6g/100g, portanto as formulações de sorvete desenvolvidas não podem ser considerados como fonte de proteína.

Segundo Goff e Hartel (2013) a composição padrão para um sorvete é de 7 a 15 % de gordura, 4 a 5 % de proteína do leite, 5 a 7 % de lactose e 28 a 40 % de sólidos totais. Ao comparar os resultados, apenas com relação ao teor de gordura e lactose as formulações não atendem as orientações propostas pelos autores, ficando abaixo dos teores recomendados.

Lee e White (1991) comparam formulações de sorvete desenvolvidas com concentrados proteicos obtidos através da UF em relação a formulações contendo CPS em pó. Os autores verificaram que os teores de proteína e lactose foram afetados pela substituição de diferentes níveis de concentrado em misturas de sorvetes, sendo que os valores de proteína foram de 3,88 a 4,53 % nos produtos, ou seja, resultados estes semelhantes aos das formulações de sorvetes com concentrado proteico de soro de leite (Tabela 21).

A presença de lactose em sorvetes segundo Fiol et al. (2017) pode ser uma vantagem pelo alta afinidade que esta tem pela água, ou seja, a lactose pode absorver 10 vezes o seu peso em água. Porém, o excesso da lactose pode ocasionar arenosidade ao produto, decorrente da cristalização da mesma e/ou

influenciar o ponto de congelamento dos sorvetes, que podendo cristalizar o produto causando defeitos na textura (COSTA et al., 2017).

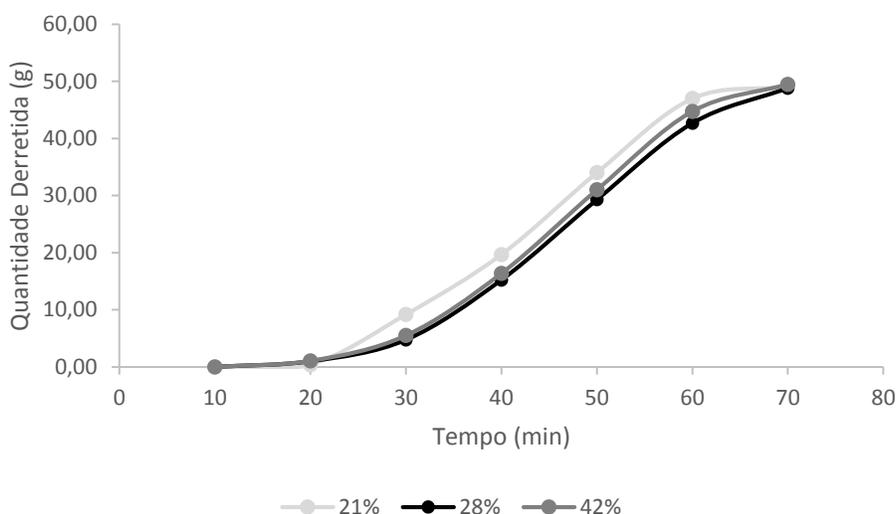
O aumento do teor de CPS ocasionou um incremento significativo ( $p < 0,05$ ) no teor de gordura das formulações. Porém, ao comparar com formulação com adição de 21% de CPS) há incremento de 35% e 48% respectivamente no teor de gordura das formulações com 28 e 42% de CPS. Rodrigues et al. (2006) elaboraram sorvete sabor chocolate com teor reduzido de gordura utilizando soro em pó, os autores evidenciaram que houve redução de 22,77 % no teor de gordura com a utilização do soro de leite em pó, os resultados deste trabalho diferente desse estudo, em função das características do CPS utilizado no desenvolvimento dos sorvetes.

A redução no teor de gordura pode diminuir a agregação das bolhas de ar e influenciar o rendimento em sorvetes, a gordura favorece ainda a qualidade do sorvete por melhorar suas características sensoriais, proporcionando melhor sabor e textura mais macia e cremosa, também contribui para a resistência à fusão do sorvete (SILVA et al., 2013).

Em relação aos minerais totais não foi verificada diferença significativa com o aumento da concentração de CPS, obtendo-se um teor médio de 0,7 %. Como os ingredientes fontes de minerais para as formulações do sorvete são provenientes de derivados lácteos e que o teor de cinzas do leite e do soro em sólidos totais é de 0,8 e 0,5 %, respectivamente (ANTUNES, 2003).

A Figura 20 apresenta o comportamento do ponto de derretimento das formulações de sorvete elaboradas avaliadas a 25°C, ou seja, tempo versus volume de sorvete drenado, além dos parâmetros tempo inicial e velocidade de derretimento (Tabela 21).

**Figura 20** – Ponto de derretimento das formulações de sorvetes com CPS ao longo do tempo



**Tabela 21** - Tempo inicial, velocidade e equações do comportamento de derretimento dos sorvetes.

Formulações	Tempo inicial de derretimento (min)	Velocidade de derretimento (g/min)	Equações
21% de CPS	20 <sup>a</sup>	0,946 <sup>a</sup>	$y = 0,9466x - 15,117$ $R^2 = 0,9596$
28% de CPS	20,5 <sup>a</sup>	0,908 <sup>a</sup>	$y = 0,908x - 16,087$ $R^2 = 0,9442$
42% de CPS	19 <sup>a</sup>	0,933 <sup>a</sup>	$y = 0,9331x - 16,168$ $R^2 = 0,947$

\*médias ( $\pm$ desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

Observou-se que os sorvetes elaborados com diferentes concentrações de concentrado de soro não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) no tempo inicial de derretimento e na velocidade de derretimento. Durante o derretimento, dois eventos principais acontecem: o derretimento dos cristais de gelo e o colapso da estrutura espumosa lipídica estabilizada (GOFF, 2005). As formulações de sorvete sabor creme iniciaram o processo de derretimento próximos aos 20 min e o produto do

derretimento apresentou uma massa líquida, homogênea e uniforme. Observou-se que após 40 min cerca de 50 % da massa de sorvete já havia derretido, tempo considerado suficiente para o consumo do produto, sendo que para derreter 50 g de amostras das formulações foi de cerca de 70 min. As proteínas podem ter contribuído para o aumento do tempo de derretimento do sorvete. Daw e Hartel (2015) em seus estudos evidenciaram que a taxa de derretimento tendeu a aumentar com o teor de proteína. Segundo Souza et al. (2010) o teor de gordura também pode influenciar no derretimento, visto que produtos contendo elevada quantidade de ar ou gordura tendem a derreter devagar.

Na Tabela 22 estão apresentados os valores de viscosidade obtidos para as diferentes formulações de sorvetes. Os resultados mostram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na viscosidade das formulações com CPS. Demonstrando que a medida que aumenta-se CPS, ou seja, o teor de proteína nas formulações há um incremento na viscosidade. Fato também evidenciado por Daw e Hartel (2015), os quais atribuem à dispersão cada vez maior de partículas coloidais na mistura de sorvete, a medida que aumenta o teor de proteínas.

**Tabela 22** - Viscosidade das formulações de sorvete com CPS avaliadas à 10°C.

Formulação	Viscosidade (cP = mPa/s)
21% de CPS	81,71 <sup>c</sup> ± 1,52
28% de CPS	125,57 <sup>b</sup> ± 1,24
42% de CPS	133,94 <sup>a</sup> ± 1,37

\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

O comportamento reológico de sorvetes produzidos à base de leite foi estudado por Oliveira; Souza; Monteiro (2008) e verificaram um comportamento não newtoniano. O mesmo perfil foi obtido para as formulações desenvolvidas neste estudo, ou seja, com o aumento da taxa de cisalhamento ocorreu redução da viscosidade.

#### 4.2.2 Características microbiológicas

Na Tabela 23 encontram-se os resultados das avaliações microbiológicas das formulações de sorvete (21%, 28% e 42% de CPS). Em nenhuma das amostras analisadas verificou-se presença de contagem de Coliformes a 45°C/g e *Salmonella* spp em 25 g, estando em conformidade com a resolução RDC nº 12 - Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimento, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

A tolerância para amostra indicativa de *Staphylococcus* coagulase positiva/g é de  $5 \times 10^2$  UFC/g, sendo que as amostras analisadas apresentaram valores estimados menores que  $1,0 \times 10^2$  UFC/g, indicando conformidade com a legislação.

**Tabela 23** - Resultados das análises microbiológicas dos sorvetes.

Determinações microbiológicas	Formulações			Padrão*
	21 % de CPS	28 % de CPS	42 % de CPS	
<b>Coliformes a 45°C/g</b>	<1,0 X 10 UFC/g	<1,0 X 10 UFC/g	<1,0 X 10 UFC/g	5 x 10 UFC/g
<b>Estafilococos coagulase positiva/g</b>	<1,0 X 10 UFC/g	<1,0 X 10 UFC/g	<1,0 X 10 UFC/g	5 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
<b>Salmonella spp</b>	Ausência em 25g	Ausência em 25g	Ausência em 25g	Ausência em 25g

\* resolução RDC nº 12 - Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimento, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Como os resultados das análises microbiológicas das amostras em estudo apresentaram condições higiênicas satisfatórias, em conformidade com o padrão legal (BRASIL, 2001), as formulações foram avaliadas sensorialmente, com segurança alimentar.

#### 4.3.3 Análise Sensorial

O teste de aceitação foi realizado com 50 consumidores de sorvete, alunos ou funcionários do Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI unidade

de Chapecó – SC, na faixa etária de 18 a 56 anos, sendo 64 % de indivíduos do gênero feminino e 36 % do gênero masculino.

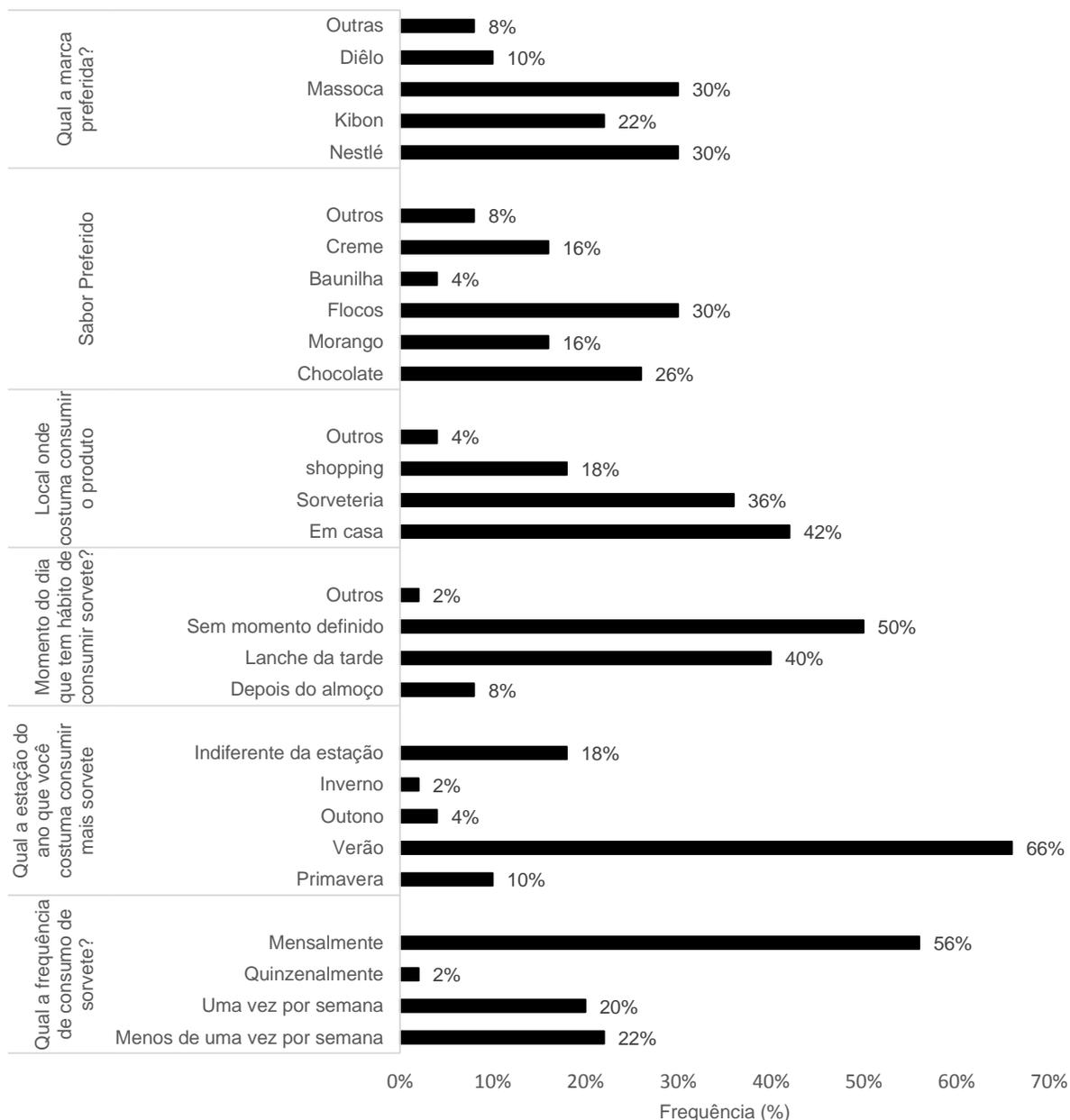
Antes da realização da avaliação sensorial das amostras, os avaliadores foram convidados a preencher um questionário em relação a hábitos de consumo de cada indivíduo com relação aos sorvetes (ANEXO A), os participantes foram orientados, também, a preencherem apenas um campo das opções fornecidas a eles, as repostas para esse questionário estão apresentadas na Figura 21.

Dos 50 % dos entrevistados relatam consumir sorvete mensalmente, porém, este consumo pode ser extremamente variável de acordo com a estação do ano, pois apenas 6 % dos consumidores disseram que costumam consumir sorvete durante as estações inverno e outono.

Enquanto, que 10 % consomem na primavera e 66 % costumam consumir sorvete no período do verão, quando as temperaturas estão mais elevadas. É possível verificar também que 18 % consome o produto indiferente da estação, este perfil é muito comum em outros países, o que resulta em um consumo *per capita* de sorvete superior ao Brasil.

Segundo dados da Associação Brasileira das Indústrias e do Setor de Sorvetes (ABIS) de 2003 a 2013, o consumo de sorvetes no Brasil passou dos 685 milhões de litros para 1,244 bilhão de litros, um aumento de 86,1%, O consumo *per capita* de cada brasileiro, nos últimos 10 anos, passou de 3,83 L para 6,19 L por ano, um crescimento de 61,6%. Em outros mercados, como Nova Zelândia e Estados Unidos, o consumo *per capita* chega a ser quatro vezes maior (ABIS, 2014).

Figura 21 - Perfil comportamental dos avaliadores.



Quando perguntado as pessoas em que momento do dia costumavam consumir sorvete, 50 % dos consumidores relataram degustar o produto sem momento definido do dia, 40 % como lanche da tarde, e apenas 8 % após o almoço. Segundo estudo realizado por Cadena (2008) em relação a hábitos de consumo de sorvete, perfil contrário foi obtido, ou seja, apenas 6 % relataram não ter um momento definido para consumir sorvete e 29 % em consumir sorvete após o

almoço. A diferença nos resultados pode estar associado ao estilo de vida e a região do país, pois o estudo foi realizado em São Paulo (Campinas) onde as pessoas costumam fazer suas refeições fora de casa, tendo mais acesso ao produto e além disso, a temperatura média anual é superior à da região sul do país.

Questionados sobre o local onde costumam consumir sorvete, boa parte dos consumidores mantém hábitos tradicionais quanto ao local de consumo, sendo 42 % reportando que consomem em casa e 36 % consumindo em sorveterias; 18 % dos consumidores apontaram consumir o produto em shopping, a cidade onde foi realizada o estudo apresenta uma característica muito forte da população frequentar esse tipo de estabelecimento, o que justifica o consumo do produto nestes locais e ainda a presença de grandes redes de *fast food* e pequenas franquias de sorvete gourmet que comercializam o produto.

Bezerra et al. (2017), estudaram o consumo de alimentos fora do lar no Brasil, os autores utilizaram dados da Pesquisa de Orçamento Familiar 2008-2009 em uma amostra de 152.895 indivíduos acima de 10 anos. Os locais com maiores frequências de consumo de alimentos fora do lar foram lanchonete (16,9 %) e restaurante (16,4 %), enquanto frutaria (1,2 %) apresentou a menor frequência. Doces, salgadinhos e refrigerante foram os alimentos mais adquiridos na maioria dos locais, lembrando que os sorvetes se enquadra nas categorias de doces.

A marca mais lembrada pelos avaliadores foi à Nestlé mencionada por 30 % dos avaliadores. Cabe destacar a importância das marcas locais as quais tiveram destaque relevante 40 % das indicações. Segundo dados da Revista Exame o sorvete “Magnum” (Kibon) é o sorvete mais vendido do mundo e a empresa domina 22 % do mercado de sorvetes, sendo que Nestlé é outra empresa que se destaca no *ranking* (DEARO, 2016).

Com relação aos sabores consumidos flocos e chocolates foram os mais lembrados pelos participantes. Segundos dados de tendências para alimentos e bebidas, os consumidores relatam que quando se trata de sobremesa, 85 % dos consumidores se interessam por sorvetes saudáveis (MINTEL, 2018).

Foi ainda solicitado aos avaliadores se estes já haviam consumido sorvetes ricos em proteínas, sendo que 100 % dos participantes responderam que não.

Sorvetes com teores reduzidos de açúcares e gordura já são uma realidade no Brasil, tendo em vista da maior conscientização dos consumidores com relação ao bem estar e a saúde. O incremento de proteína é uma realidade em produtos lácteos, dos quais pode-se destacar os iogurtes.

A Tabela 24 apresenta os valores médios das pontuações dos avaliadores para os atributos (sabor, textura e impressão global) para as formulações de sorvete. Em relação a sabor, apenas os sorvetes com adição de 21 e 42 % de CPS diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 24** - Pontuações médias obtidas pelos consumidores para os atributos sabor, textura e aceitação geral das formulações de sorvete com CPS.

Formulações	Atributos		
	Sabor	Textura	Impressão Global
21% de CPS	7,54 <sup>a</sup> ± 0,86	7,30 <sup>a</sup> ± 1,18	7,72 <sup>a</sup> ± 1,34
28% de CPS	7,24 <sup>ab</sup> ± 1,32	7,12 <sup>a</sup> ± 1,55	7,40 <sup>a</sup> ± 1,77
42% de CPS	7,02 <sup>b</sup> ± 0,96	6,4 <sup>b</sup> ± 1,37	7,22 <sup>a</sup> ± 1,62

\*médias ( $\pm$ desvio padrão) seguidas de letras iguais nas colunas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey).

Com relação ao atributo textura a amostra contendo 42 % de CPS recebeu menores notas e diferindo estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ), sendo que alguns provadores descreveram nos comentários que esta amostra era mais “dura” e firme em relação as demais. Com relação ao sabor nenhum dos avaliadores descreveram nos comentários que as amostras estariam muito doces.

De acordo com Dutcosky (2013), para um produto ser aceito sensorialmente deve apresentar um índice de aceitação (IA) maior ou igual a 70 %. Portanto, todas amostras atenderam a este critério, com índices de aceitação de 85, 82 e 80 % para as formulações com 21, 28 e 42 % de CPS, respectivamente.

#### 4.3.4 Análise multivariada das características físico-químicas e sensoriais

A Tabela 25 e Figura 22 apresentam a matriz de correlação de Pearson e a análise dos componentes principais (ACP) das variáveis estudadas (proteína,

gordura, minerais, sólidos totais, lactose, viscosidade, *overrun*, ponto de derretimento, sabor, textura e aceitação geral).

Na Figura 22 da Análise dos Componentes Principais (ACP), as variáveis são representadas como vetores, os quais caracterizam as formulações (1 – 21% CPS, 2 – 28% de CPS e 3 – 42% de CPS) que se localizam próximas a eles. Quanto mais longo o vetor, melhor a explicação da variabilidade entre as formulações. A primeira (CP1) e segunda (CP2) dimensão explicaram 76,48 % da variância total, sendo que o componente principal 1 (CP1) responde por 59,19 %, enquanto ao componente principal 2 (CP2) por 17,29 %.

Os valores obtidos por meio de correlação de Pearson (Tabela 25) confirmaram a relação entre as variáveis observadas na análise de componentes principais, sendo que o *overrun* apresentou correlação positiva ( $p < 0,05$ ) em relação ao teor de sólidos (0,603) e negativa ( $p < 0,05$ ) com proteína (-0,890), com a gordura (-0,978) e viscosidade (-0,977), respectivamente.

Há correlação positiva ( $p < 0,05$ ) também em relação ao sabor com o *overrun* (0,733) e minerais (0,685) e negativa ( $p < 0,05$ ) com proteína (-0,835), gordura (-0,707) e viscosidade (-0,706).

A impressão global foi influenciada positivamente apenas pelo *overrun* (0,608) e negativamente com lactose (-0,581), gordura (-0,561) e viscosidade (-0,503), respectivamente.

Ficou evidenciado ainda que a textura apresenta forte correlação positiva ( $p < 0,05$ ) em relação ao teor de sólidos, *overrun*, minerais e sabor de 0,675, 0,662, 0,524 e 0,556, respectivamente, e também influenciada negativamente pela proteína (-0,799), gordura (-0,734), viscosidade (-0,686) e ponto de derretimento (-0,600).

A ACP (Figura 22) demonstra discriminação entre as formulações de sorvete. A Formulação 1 é a que possui a menor quantidade de concentrado proteico de soro (21% de CPS), e portanto, se localizam próximos aos vetores de *overrun*, sabor, textura, aceitação geral, minerais e sólidos totais. No entanto, a Formulação 3 é a que apresenta maior concentração de CPS (42%), logo os vetores das

variáveis proteína, viscosidade, ponto de derretimento, gordura e lactose localizam-se próximos a esta formulação.

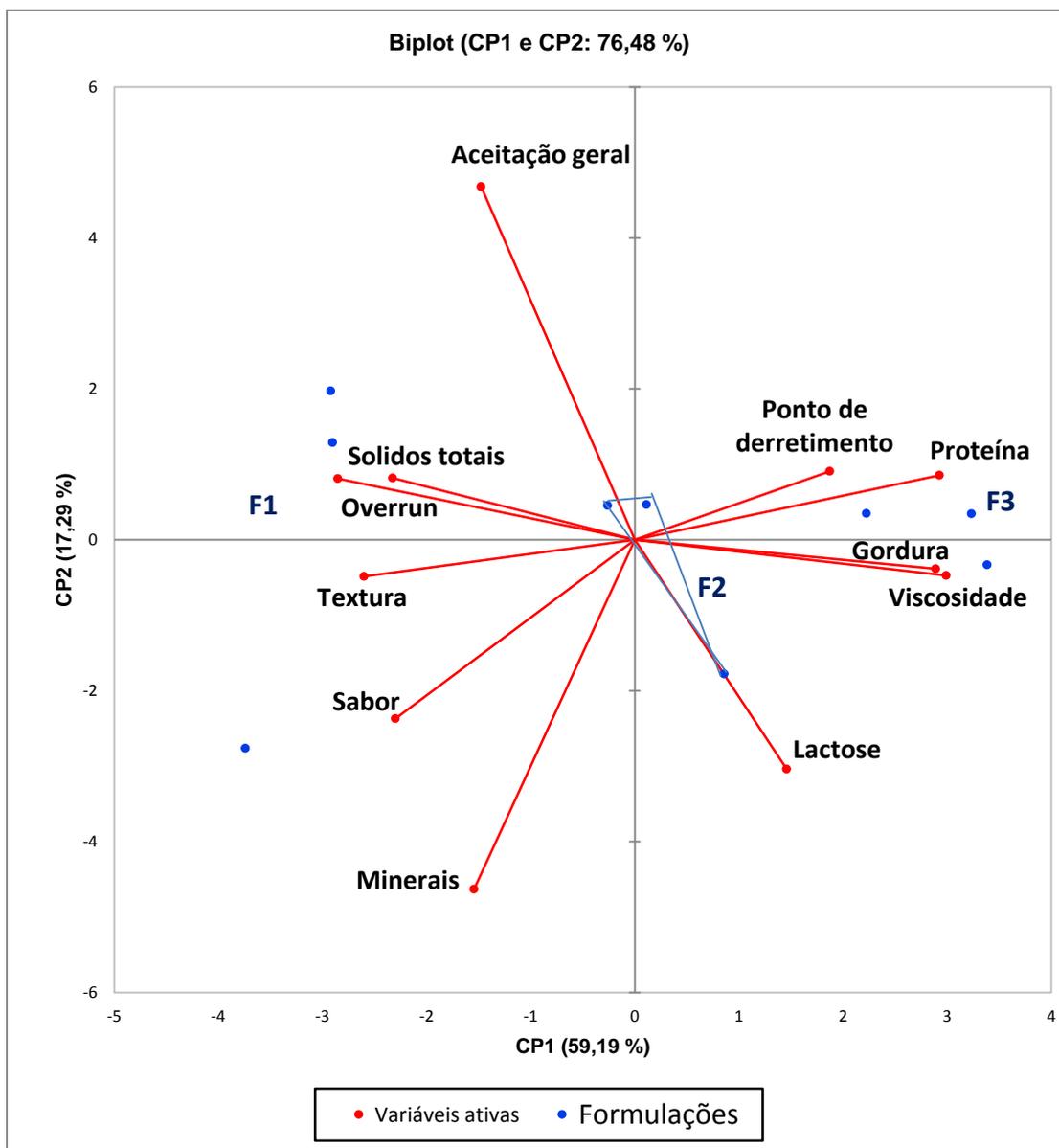
A separação espacial das amostras sugere que há diferença entre as formulações e formação de três grupos. As formulações são representadas por triângulos, sendo cada vértice uma repetição. Observa-se que houve boa discriminação entre as formulações, as mesmas podem ser separadas por características em 3 grupos distintos.

**Tabela 25** - Matriz de correlação de Pearson (n-1) com variáveis avaliadas nas formulações de Sorvete elaborado com concentrado proteico de soro.

Variáveis	Proteína	Lactose	Gordura	Sólidos	Viscosidade	Overrun	Derretimento	Minerais	Sabor	Impressão Global	Textura
<b>Proteína</b>	1,000										
<b>Lactose</b>	0,384	1,000									
<b>Gordura</b>	0,923*	0,387	1,000								
<b>Sólidos Totais</b>	-0,551*	-0,377	-0,712*	1,000							
<b>Viscosidade</b>	0,886*	0,313	0,985*	-0,710*	1,000						
<b>Overrun</b>	-0,890*	-0,378	-0,978*	0,603*	-0,977*	1,000					
<b>Derretimento</b>	0,520*	0,269	0,506*	-0,757*	0,419	-0,323	1,000				
<b>Minerais</b>	-0,593*	0,059	-0,398	0,218	-0,361	0,319	-0,471	1,000			
<b>Sabor</b>	-0,835*	-0,150	-0,707*	0,305	-0,706*	0,733*	-0,237	0,685*	1,000		
<b>Impressão Global</b>	-0,363	-0,581*	-0,561*	0,367	-0,508*	0,608*	-0,121	-0,416	0,071	1,000	
<b>Textura</b>	-0,799*	-0,498	-0,734*	0,675*	-0,686*	0,662*	-0,600*	0,524*	0,556*	0,282	1,000

\* Correlação significativa ( $\alpha = 0,05$ ).

**Figura 22** - Análise dos Componentes Principais (ACP) para as variáveis proteína total, gordura, minerais, sólidos totais, lactose ponto de derretimento, overrun, viscosidade, textura, sabor e impressão global das formulações de Sorvete (1 – 21% de CPS, 2 – 28% de CPS e 3 – 42% de CPS).



## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho, pôde-se concluir que:

O fluxo de permeado, utilizando membrana de UF de 10 kDa, diminuiu com o tempo de operação devido principalmente *fouling* e colmatação.

A aplicação da UF do soro de leite possibilitou um incremento de aproximadamente 87% no teor de proteínas na condição experimental de 10°C e 1,5 bar com predominância das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina, com índice de solubilidade média de 92% (34% de solubilidade) em pH 5,7 e 7,0. As proteínas não apresentaram diferença na estabilidade de emulsão nos pH estudados.

A análise dos componentes principais mostrou correlação positiva ( $p < 0,05$ ) do *overrun* em relação ao teor de sólidos (0,603), textura (0,662), sabor (0,733) e impressão global (0,608) e negativa ( $p < 0,05$ ) com proteína (-0,890), gordura (-0,978), viscosidade (-0,977).

Com relação a aplicação do concentrado proteico de soro em sorvetes a principal limitação foi em relação ao rendimento do sorvete (*overrun*) devido a limitações do equipamento. A formulação com 21% de concentrado proteico apresentou maior *overrun* (34,33%) e aceitabilidade (85%) e menor viscosidade (82 cP), com teores de proteína, lactose, gordura, sólidos totais e velocidade de derretimento de 3,6%, 8,19%, 3,8%, 33% e 0,95g/min, respectivamente.

A incorporação de concentrado de soro de leite como substituto parcial de leite em sorvetes é recomendável, uma vez que, confere melhoria das propriedades funcionais (viscosidade, solubilidade, emulsificação e estabilidade).

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Devido os resultados favoráveis encontrados neste trabalho, sugere-se:

- Repetir o fracionamento operando em conjunto com membrana de nanofiltração seguida de diafiltração para melhorar a purificação das proteínas e recuperação da lactose;
- Ampliar a escala de produção dos sorvetes em nível industrial, para obter melhores resultados para o *overrun* das formulações;
- Avaliar as propriedades funcionais dos sorvetes desenvolvidos (solubilidade proteica; índice de atividade emulsificante; expansão e estabilidade espumante).

## 7. REFERÊNCIAS

ABIA. **Faturamento.** Disponível em: <<https://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2016.pdf>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

ABIQ. **Associação Brasileira das Indústrias de Queijo.** Disponível em: <[http://www.abiq.com.br/associados/mercado/Mercado\\_2010a2014.pdf](http://www.abiq.com.br/associados/mercado/Mercado_2010a2014.pdf)>. Acesso em: 10 fev. 2017.

ABIRACHED, C. et al. Estabilidad de espumas formuladas con proteínas de soja tratadas a pH ácido. **Laboratorio tecnológico de uruguay**, v. 5, n. 5, p. 58–62, 2010.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the association analytical chemists.** 18.ed. Maryland: AOAC, 2005.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists.** 17th ed. Virginia, 2000.

ABIRACHED, C. et al. Desestabilización de emulsiones aceite-agua preparadas con proteínas de soja. **Innotec**, v. 0, n. 6, p. 7–11, 2011.

ABIRACHED, C. **Aislamiento y estudio de las propiedades funcionales de las fracciones 11S y 7S de proteínas de semilla de soja.** [s.l.] UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA - UDELAR, 2012.

ABIRACHED, C. et al. Effect of Acid Modification of Soy Glycinin on Its Interfacial and Emulsifying Properties. **JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2018.

ABIS. **Em expansão, mercado de sorvetes enfrenta desafios.** Disponível em: <[http://www.abis.com.br/noticias\\_2014\\_4.html](http://www.abis.com.br/noticias_2014_4.html)>. Acesso em: 10 mar. 2018.

ALMÉCIJA, M. C. et al. Effect of pH on the fractionation of whey proteins with a ceramic ultrafiltration membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 288, n. 1–2, p. 28–35, 1 fev. 2007.

ALMEIDA, DE F. D. et al. Ingredientes Lácteos Proteicos. **Anuário Leite &**

**Derivados**, p. 14–16, abr. 2014.

ALMEIDA, C. C. DE et al. Proteína do Soro do Leite: Composição e suas Propriedades Funcionais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1840–1854, 2013.

ALMEIDA, T. C. A. A. **Avaliação da estabilidade de emulsões concentradas em bebidas**. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2012.

ALVES, M. P. et al. SORO DE LEITE : TECNOLOGIAS PARA O PROCESSAMENTO DE COPRODUTOS. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212–226, 2014.

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

ARAUJO, A. M. J. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Viçosa MG: 2011, 2011.

ATRA, R. et al. Investigation of ultra- and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 3, p. 325–332. 2005.

BACENETTI, J. et al. Whey protein concentrate (WPC) production: Environmental impact assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 139–147, 2018.

BALD, J. A. et al. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE SOROS DE QUEIJO E RICOTA PRODUZIDOS NO VALE DO TAQUARI, RS. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 4, n. 3, p. 90–99, 20 nov. 2014.

BALDASSO, C. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1–3, p. 381–386, 2011.

BALDASSO, C.; KANAN, J. H. C.; TESSARO, I. C. An investigation of the fractionation of whey proteins by two microfiltration membranes with nominal pore size of 0.1  $\mu\text{m}$ . **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, n. 3, p. 343–349, 1 ago. 2011.

BANSAL, N.; BHANDARI, B. Functional Milk Proteins: Production and Utilization—Whey-Based Ingredients. In: **Advanced Dairy Chemistry**. New York, NY: Springer New York. p. 67–98, 2016.

BARUKČIĆ, I.; BOŽANIĆ, R.; KULOZIK, U. Effect of pore size and process temperature on flux, microbial reduction and fouling mechanisms during sweet whey cross-flow microfiltration by ceramic membranes. **International Dairy Journal**, v. 39, n. 1, p. 8–15, nov. 2014.

BEZERRA, I. N. et al. Consumo de alimentos fora do lar no Brasil segundo locais de aquisição. **Revista de Saúde Pública**, p. 8, 2017.

BORGES, P. F. Z. et al. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Braz. J. Food Technol**, v. 4, p. 1–8, 2001.

BRANDELLI, A. et al. Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. **Food Research International**, v.73, p. 149-161, 2015.

BRANS, G. et al. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **Journal of Membrane Science**, v. 243, n. 1–2, p. 263–272, 2004.

BRANS, G. **Design of membrane systems for fractionation of particles suspensions**. [s.l.] Wageningen University, Netherlands, 2006.

BRASIL. **PORTARIA Nº 379, DE 26 DE ABRIL DE 1999**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, , 1999. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/PRT\\_379\\_1999\\_COMP.pdf/1ad1d7aa-6dd4-42ee-a95a-77ca5d56ecad](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/PRT_379_1999_COMP.pdf/1ad1d7aa-6dd4-42ee-a95a-77ca5d56ecad)>

BRASIL. **Resolução RDC Nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprovar o REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA, , 2001.

BRASIL. **Resolução RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis** Brasil, 2005. Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjlxMw%2C%2C>

&gt;

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 68, de 12 de Dezembro de 2006.** Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Ministério da Agricultura - MAPA, 2006. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-68-de-12-dezembro-de-2006.pdf>

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 62, de 29 de Dezembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade de leite tipo A.** Ministério da Agricultura - MAPA, , 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/legislacao>>

BRASIL. **DECLARAÇÕES DE PROPRIEDADES NUTRICIONAIS COMPLEMENTARANVISA,** 2012. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054\\_12\\_11\\_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/rdc0054_12_11_2012.pdf/c5ac23fd-974e-4f2c-9fbc-48f7e0a31864)>. Acesso em: 3 maio. 2018

BRASIL. **Decreto Nº 9.013, de 29 de Março de 2017. Dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.** BrasilMinisterio da Agricultura - MAPA, , 2017. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2015-2018/2017/decreto/D9013.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/D9013.htm)>

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003.

CADENA, R. S. **SORVETE SABOR CREME TRADICIONAL E LIGHT : PERFIL SENSORIAL E INSTRUMENTAL.** [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2008.

CAMPBELL-PLATT, G. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri, SP: Manole, 2015.

CARVALHO, A. F.; MAUBOUIS, J. . Application of membrane technologies in the dairy industry. In: **Engineering aspects of milk and dairy products.** CRC Press, v.1, p.

275, 2010.

CORREIA, R. T. P.; PEDRINI, M. R. DA S.; MAGALHAES, M. M. DOS A. Sorvete: aspectos tecnologicos e estruturais. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 148, p. 19–23, 2007.

CORREIA, T. P. R. et al. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino : composição química e Ice cream made from cow and goat milk : chemical composition and melting characteristics Material e Métodos. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 39, p. 251–256, 2008.

COSTA, B. G. R. et al. Sorvetes. In: ELSEVIER (Ed.). . **Processamento de Produtos Lácteos: Queijos, Leites Fermentados, Bebidas Lácteas, Sorvete, Manteiga, Creme de Leite, Doce de leite, Soro em pó e Lácteos Funcionais**. Rio de Janeiro: 2017. p. 330.

CROWLEY, S. V. et al. Processing and protein-fractionation characteristics of different polymeric membranes during filtration of skim milk at refrigeration temperatures. **International Dairy Journal**, v. 48, p. 23–30. 2015.

CRUZ, A. GOMES DA et al. **Processamento de leites para consumo**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

DAMODARAN, S. Protein Stabilization of Emulsions and Foams. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 3, p. R54–R66, 31 maio 2006.

DANESH, E.; GOUDARZI, M.; JOOYANDEH, H. Short communication: Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5206–5211, 1 jul. 2017.

DAS, B. et al. Recovery of whey proteins and lactose from dairy waste: A step towards green waste management. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 101, p. 27–33, 1 maio 2016.

DAW, E.; HARTEL, R. W. Fat destabilization and melt-down of ice creams with increased protein content. **International Dairy Journal**, v. 43, p. 33–41, 1 abr. 2015.

DEARO, G. **As 15 marcas de sorvete mais vendidas do mundo**. 2016. Disponível

em: <<https://exame.abril.com.br/marketing/as-15-marcas-de-sorvete-mais-vendidas-do-mundo/>>. Acesso em: 30 abr. 2018.

DISSANAYAKE, M. et al. Denaturation of whey proteins as a function of heat, pH and protein concentration. **International Dairy Journal**, v. 31, n. 2, p. 93–99, 1 ago. 2013.

DUTCOSKY, S. . **Análise sensorial de Alimentos**. 4. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

ESKIN, M. N. A.; SHAHIDI, F. S. **Bioquímica de Alimentos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

FAION, A. M. **Elaboração e caracterização de queijo tipo amanteigado de leite ovino concentrado por ultrafiltração**. [s.l.] Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI- Erechim, 2015.

FENNEMA, O. .; DAMODARAN, O.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: 2010.

FIOL, C. et al. Introduction of a new family of ice creams. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 7, p. 5–10, 1 abr. 2017.

FOUZIA, Y. et al. Whey Ultrafiltration: Effect of pH on Permeate Flux and Proteins Retention. **World Applied Sciences Journal**, v. 33, n. 5, p. 744–751, 2015.

GAJO, S. F. F. et al. DIAGNÓSTICO DA DESTINAÇÃO DO SORO DE LEITE NA MESORREGIÃO DO CAMPO DAS VERTENTES – MINAS GERAIS Diagnosis of the whey destination in the mesoregion. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, p. 26–37, 2016.

GOFF, H. D.; HARTEL, R. W. **Ice Cream**. Sétima ed. EUA: Springer New York, 2013.

GONZÁLEZ-TELLO, P. et al. DENSITY, VISCOSITY AND SURFACE TENSION OF WHEY PROTEIN CONCENTRATE SOLUTIONS PRACTICAL APPLICATIONS. **Journal of Food Process Engineering** , v. 32, p. 235–247, 2009.

HABERT, A. C. et al. **Processo de separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-Papers, 2006.

HERNÁNDEZ-ROJASF, M.; VÉLEZ-RUIZ, J. F. Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. **Temas selectos de Ingeniería de Alimentos**, v. 8, n. 2, p. 13–22, 2014.

HINKOVA, A. et al. Potential of membrane separation processes in cheese whey fractionation and separation. **Procedia Engineering**, v. 42, n. 42, p. 1425–1436, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2005. 1018 p. (Série A – Normas e Manuais Técnicos).

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE**. 2017. Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos\\_201504\\_publ\\_completa.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/abate-leite-couro-ovos_201504_publ_completa.pdf)>.

ILTCHENCO, S. **Concentração de proteínas de soro de leite por ultrafiltração**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI Erechim, Brasil., 2016.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO. ISO 15214: 1998. **Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30 degrees C**. ISO, 1998. p. 1-7.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KILARA, A.; VAGHELA, M. N. 4 – Whey proteins. In: **Proteins in Food Processing**. [s.l.] Elsevier, p. 93–126, 2018.

LEE, F. Y.; WHITE, C. H. Effect of Ultrafiltration Retentates and Whey Protein Concentrates on Ice Cream Quality During Storage. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 4, p. 1170–1180, abr. 1991.

LEIDENS, N. **Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha por ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre., 2013.

MADUREIRA, A. R. et al. Bovine whey proteins - Overview on their main biological properties. **Food Research International**, v. 40, n. 10, p. 1197–1211, 2007.

MAGALHÃES, K. T. et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 249–253, 2011.

MARQUES, F. M. et al. Caracterização de leite em pó , soro de leite em pó e suas misturas por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Rev Inst Adolfo Lutz.**, v. 70, n. 4, p. 473–479, 2011.

MCCLEMENTS, D. J. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 7, p. 611–649, 27 set. 2007.

MCCLEMENTS, D. J. **Food emulsions : principles, practices, and techniques**. Third Edit ed. [s.l.] CCR Press, 2015.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-Grade Nanoemulsions: Formulation, Fabrication, Properties, Performance, Biological Fate, and Potential Toxicity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 4, p. 285–330, 25 mar. 2011.

MELLO, B. C. B. DE S.; PETRUS, J. C. C.; HUBINGER, M. D. Desempenho do processo de concentração de extratos de própolis por nanofiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 166–172, mar. 2010.

METSÄMUURONEN, S.; NYSTRÖM, M. Enrichment of  $\alpha$ -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 337, n. 1–2, p. 248–256, 15 jul. 2009.

MILKPOINT. **Mercado de queijos cresce no país e atraem estrangeiro**. 2014. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/mercado-de-queijos-cresce-no-pais-e-atrai-estrangeiros-91686n.aspx>>. Acesso em: 6 mar. 2016.

MINTEL. **TENDÊNCIAS GLOBAIS EM ALIMENTOS & BEBIDAS 2018**. Disponível

em: <<http://brasil.mintel.com/tendencias-globais-em-alimentos-e-bebidas/>>. Acesso em: 30 abr. 2018.

MIRHOSSEINI, H. et al. Modeling the Relationship between the Main Emulsion Components and Stability, Viscosity, Fluid Behavior,  $\zeta$ -Potential, and Electrophoretic Mobility of Orange Beverage Emulsion Using Response Surface Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7659–7666, 19 set. 2007.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. 2. ed. USA: Kluwer Academic Pub, 1996.

NATH, A. et al. Synthesis and functionality of proteinacious nutraceuticals from casein whey—A clean and safe route of valorization of dairy waste. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 97, p. 192–207, 2015.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

OLIVEIRA, D. F. DE; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Artigo de Revisão SORO DE LEITE : UM SUBPRODUTO VALIOSO. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, v. 67, n. 385, p. 64–71, 2012.

OLIVEIRA, K. H.; SOUZA, J. A. R. DE; MONTEIRO, A. R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 592–598, set. 2008.

ORDÓÑEZ, P. J. **Tecnología de alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PAGNO, C. H. et al. Obtenção de concentrados protéicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alimentação nutricional**, v. 20, p. 231–239, 2009.

PALATNIK, D. R. et al. Recovery of caprine whey protein and its application in a food protein formulation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 331–338, 2015.

PANIZZOLO, L. A. **Modificación de proteínas por vía enzimática. Análisis de la relación estructura-funcionalidad de los productos de hidrólisis**. [s.l.]

Universidade de la Republica - UDELAR, 2005.

PANIZZOLO, L. A.; MUSSIO, L. E.; ANON, M. C. Kinetics for Describing the Creaming of Protein-Stabilized O/W Emulsions by Multiple Light Scattering. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 4, p. 236–243, 2014.

PATEL, M. R. et al. Increasing the Protein Content of Ice Cream. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 1400–1406, 2006.

PATEL, S. Functional food relevance of whey protein: A review of recent findings and scopes ahead. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 308–319, dez. 2015.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 1, p. 77–80, 1 fev. 2005.

PERREIRA, DE OLIVEIRA I. **Análise e otimização do processo de ultrafiltração do soro de leite para produção de concentrado proteico**. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB, 2009.

PERREIRA, C. B. D. et al. Proteínas. In: **Química, Bioquímica, Análise Sensorial e Nutrição no Processamento de Leite e Derivados**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. p. 282.

PINTO, G. H. A.; BERNARDO, A. Protocolo de avaliação do emprego de membranas em processo de separação. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 02, p. 146–160, 2016.

POPPI, F. A. et al. Soro de Leite e Suas Proteínas : Composição e Atividade Funcional Whey and its Proteins : Composition and Functional Activity. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 2, p. 31–37, 2010.

POVEDA E., E. Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. **Revista chilena de nutrición**, v. 40, n. 4, p. 397–403, 2013.

RACOSKI, J. C. et al. Estudo Do Comportamento De Membranas Para Study of Membranes Behavior To Obtain Ultrafiltrate. **Revista de Engenharia e Tecnologia**, v. V. 6, p. 135–147, 2014.

- RAIMONDO, R. F. S. et al. Pesquisa Veterinária Brasileira. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 33, n. 1, p. 119–125, 2013.
- RAO, R. H. G. Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk. **Desalination**, v. 144, n. 1–3, p. 319–324, 10 set. 2002.
- RODRIGUES, A. P. et al. ELABORAÇÃO DE SORVETE SABOR CHOCOLATE COM TEOR DE GORDURA REDUZIDO UTILIZANDO SORO DE LEITE EM PÓ. **Vetor, Rio Grande**, v. 16(1/2):, p. 55–62, 2006.
- ROLON, M. L. et al. Effect of fat content on the physical properties and consumer acceptability of vanilla ice cream. **Journal of Dairy Science.**, v. 100, p. 5217–5227, 2017.
- RUBIO, S. A. L. (ORG. .; HUERTAS, B. A.; ORTIZ, R. B. **Uso del suero de leche en alimentos y sus sustitutos**. Disponível em: <[http://www.ibepi.org/wp-content/uploads/2014/12/Boletin\\_suero.pdf](http://www.ibepi.org/wp-content/uploads/2014/12/Boletin_suero.pdf)>.
- SAAD, S. M. I. et al. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011.
- SANTOS, J. S.; MACIEL, L. G.; SEIXAS, V. N. C. Processo de separação por membrana (PSM) aplicação da tecnologia na indústria láctica. **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 1, n. 01, p. 208–225, 2014.
- SEGUENKA, B. **Produção de concentrado proteico e lactose de soro de leite por processos de separação por membranas**. [s.l.] Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UPF., 2016.
- SERPA, L. **Concentração de proteínas de soro de queijo por evaporação a vácuo e ultrafiltração**. [s.l.] Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI Erechim, Brasil., 2005.
- SERPA, L. **Uso de membranas no tratamento do soro lácteo e seu**

**aproveitamento para produção de poli-hidroxicanoatos (phas).** [s.l.] Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis., 2012.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações.** São Paulo: Varela, 1996.

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

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian journal of food technology**, v. 8, n. 1, p. 43–56, 2005.

SHI, X. et al. Fouling and cleaning of ultrafiltration membranes: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v. 1, p. 121–138, 1 abr. 2014.

SILVA, DA C. A. et al. Artigo INFLUÊNCIA DO TIPO DE LEITE NOS PARÂMETROS DE TEXTURA E ESTABILIDADE DE SORVETE Influence of milk type in texture and stability of ice cream. **Pág. 26 Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 26–35, 2013.

SILVA, A. N. DA et al. Integrated production of whey protein concentrate and lactose derivatives: What is the best combination? **Food Research International**, v. 73, p. 62–74, 1 jul. 2015.

SILVA, P. H. F. DA et al. DENSIDADE NUTRICIONAL E CONVENIÊNCIA. In: ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. (Eds.). **Brasil Dairy Trends 2020 -Tendências do Mercado de Produtos Lácteos**. 1. ed. Campinas SP: ITAL, 2017. p. 343.

SILVA, K.; BOLINE, A. M. H. Avaliação sensorial de sorvete formulado com produto de soro ácido de leite bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, n. 26, p. 116–122, 2006.

SINGH, R. P.; HELDMAN, D. R. **Introdução à Engenharia de Alimentos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

SLUKOVÁ, M. et al. Cheese whey treated by membrane separation as a valuable

ingredient for barley sourdough preparation. **Journal of Food Engineering**, v. 172, p. 38–47, 1 mar. 2016.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins-From “gutter-to-gold”. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 695–704, 2008.

SMITHERS, G. W. Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. **International Dairy Journal**, v. 48, p. 2–14, 2015.

SOUZA, DE B. C. J. et al. Sorvete: composição, processamento e viabilidade da adição de probióticos. **Alim. Nutr.** v.21, n1, p. 155–165, 2010.

SOUZA, F. C. **Soro de queijo - “o ouro branco”** 2017. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/claucia-fernanda-souza/soro-de-queijo-o-ouro-branco-108372n.aspx>>. Acesso em: 9 abr. 2018.

STEINHAUER, T. et al. Temperature dependent membrane fouling during filtration of whey and whey proteins. **Journal of Membrane Science**, v. 492, p. 364–370, 15 out. 2015.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2008.

VIEIRA, DA S. S. **Caracterização e Avaliação da Qualidade Nutricional e Biológica das Proteínas do Soro de Leite**. Universidade Federal de Santa Maria., 2014.

WEN-QIONG, W. et al. Cheese whey protein recovery by ultrafiltration through transglutaminase (TG) catalysis whey protein cross-linking. **Food Chemistry**, v. 215, p. 31–40, 15 jan. 2017.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756–774, 2015.

YADAV, J. S. S. et al. Food-grade single-cell protein production, characterization and ultrafiltration recovery of residual fermented whey proteins from whey. **Food and**

**Bioproducts Processing**, v. 99, p. 156–165, 1 jul. 2016.

ZACARCHENCO, P. . et al. Aplicações de soro de queijo em bebidas. **Revista de Laticínios n° 113**, p. 42–47, 2013.

## ANEXO A

### ANÁLISE SENSORIAL DE SORVETE

Avaliador: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino

1. Qual a frequência de consumo de sorvetes?  
( ) Menos de uma vez por semana ( ) Uma vez por semana ( ) Duas vezes por semana ( ) Mensalmente

2. Qual a estação do ano que você costuma consumir mais sorvete?  
( ) Inverno ( ) Primavera ( ) outono ( ) Verão

3. Momento do dia que tem hábito de consumir sorvete?  
( ) Depois do almoço ( ) Lanche da tarde ( ) Sem momento definido ( ) Outros

4. Local onde costuma consumir o produto?  
( ) Em casa ( ) Sorveteria ( ) Shopping ( ) Outros

5. Sabor preferido:  
( ) Chocolate ( ) Morango ( ) Flocos ( ) Baunilha ( ) Creme ( ) Outros Qual: \_\_\_\_\_

6. Qual a marca preferida?  
( ) Nestlé ( ) Kibon ( ) Massoca ( ) Diêlo ( ) Outros Qual: \_\_\_\_\_

7. Já consumiu sorvete rico em proteínas?  
( ) Sim ( ) Não Se sim Qual: \_\_\_\_\_

8. Por favor, prove cada uma das amostras de sorvete sabor creme da esquerda para a direita e utilize a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra.

- 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

Amostra	Sabor	Textura	Impressão Global
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

9. Comentários adicionais:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## ANEXO B

### PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA URI

URI - UNIVERSIDADE  
REGIONAL INTEGRADA DO  
ALTO DO URUGUAI E DAS



#### COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** RECUPERAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM SORVETES DE PROTEÍNAS DO SORO DE LEITE OBTIDAS POR ULTRAFILTRAÇÃO

**Pesquisador:** Juliana Steffens

**Versão:** 1

**CAAE:** 90013018.7.0000.5351

**Instituição Proponente:** Universidade Reg. Int. do Alto do Uruguai e das Missões - URI - Campus Erechim

##### DADOS DO COMPROVANTE

**Número do Comprovante:** 053457/2018

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio