

**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**

**JENEFHER BECKER**

**CONCENTRAÇÃO DE SORO DE LEITE POR ULTRAFILTRAÇÃO, SECAGEM  
POR ATOMIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM UM SUPLEMENTO ALIMENTAR**

**ERECHIM, RS**

**2019**

**JENEFHER BECKER**

**CONCENTRAÇÃO DE SORO DE LEITE POR ULTRAFILTRAÇÃO, SECAGEM  
POR ATOMIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM UM SUPLEMENTO ALIMENTAR**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Erechim –RS como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

Orientadoras: Prof<sup>ª</sup> Dra. Eunice Valduga  
Prof<sup>ª</sup> Dra. Juliana Steffens

**ERECHIM, RS**

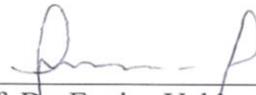
**2019**

**CONCENTRAÇÃO DE SORO DE LEITE POR ULTRAFILTRAÇÃO, SECAGEM  
POR ATOMIZAÇÃO E APLICAÇÃO EM UM SUPLEMENTO ALIMENTAR**

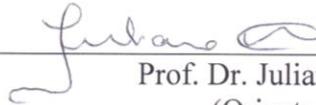
**Jenefher Becker**

Dissertação de mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:



Prof. Dr. Eunice Valduga  
(Orientadora)



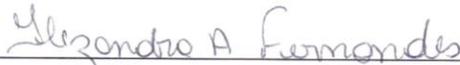
Prof. Dr. Juliana Steffens  
(Orientadora)



Elisandra Rigo  
(UDESC – Pinhalzinho)



Prof. Dr. Clarice Steffens  
(URI Erechim)



Dr. Ilizandra Aparecida Fernandes  
(URI Erechim)

B395c Becker, Jenefner

Concentração de soro de leite por ultrafiltração, secagem por atomização e aplicação em suplemento alimentar / Jenefner Becker. - 2019.  
96 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2019.

“Orientação: Profa Dra Eunice Valduga; Profa Dra Juliana Steffens”

1. Soro de leite 2. Concentração 3. Caracterização 4. Ultraficação  
I. Título

C.D.U.: 664

Catlogação na fonte: bibliotecária Sandra Milbrath CRB 10/1278

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,  
mas lutei para que o melhor fosse feito.  
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus,  
não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais, Carlito Becker (*in memorian*) e Maria Helena Schmitz Becker, por fazerem do meu sonho, seu sonho, por sempre priorizarem a minha educação.

Aos meus irmãos Júlia Becker e Rafael Becker, pelo companheirismo e amor incondicional.

Ao meu namorado Vinícius, agradeço pelos momentos alegres que juntos passamos e por entender minha ausência em vários momentos no decorrer desta jornada.

A Indústria Relat Laticínios Renner S.A., por cederem a matéria-prima para o desenvolvimento dos estudos.

A universidade da Republica em Montevideo (UDELAR), na pessoa da Dra Cecilia Abirached por realizar as análises das propriedades funcionais do soro *in natura* e do concentrado proteico do 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. Enfim por entender da melhor forma o momento ruim que passou em minha vida no decorrer desta jornada, vocês me deram forças para seguir este sonho.

Aos professores da banca de qualificação Ilizandra Aparecida Fernandes, Clarice Steffens e Elisandra Rigo pelas sugestões e orientações que me direcionaram nesta fase de conclusão do trabalho.

A Ilizandra Aparecida Fernandes por toda ajuda, compreensão e amizade. Você foi a pessoa que me deu a maior força nesta minha jornada, se você não iria ter conseguido chegar até o final. A Thais Feiden minha querida bolsista pôr toda a ajuda.

As meninas do programa de pós-graduação Carol, Anne, Paty, Ana Paula e Rose por toda ajuda nas análises. Agradeço também a Vera e a Rose da Central de Materiais.

A Cris minha prima pela ajuda com a formatação da tese.

A todos meus familiares que sempre estiveram do meu lado nesta jornada.

De forma geral agradeço a todos que estiveram em meu caminho no decorrer desta minha jornada.

A todos meu muito obrigada.

## RESUMO

Na fabricação de queijos o soro de leite é um líquido remanescente da precipitação da gordura e das caseínas do leite e apresenta em sua composição proteínas, lactose e minerais. Tendo em vista que os constituintes do soro principalmente as proteínas apresentam grande potencial para aplicação em alimentos buscam-se técnicas para a recuperação. Uma alternativa é o estudo da recuperação e fracionamento dos constituintes pelo processo de separação por membranas. O objetivo deste estudo foi aproveitar um subproduto da indústria de laticínio (soro lácteo), recuperando e concentrando as proteínas por ultrafiltração/diafiltração (membrana de poliamida, de configuração espiral, 10 kDa, área de permeação de 1,8 m<sup>2</sup>, pressão 2 bar e temperatura de 10 °C), bem como avaliar as propriedades tecnológicas e funcionais (solubilidade e emulsificante) do concentrado proteico em pó (CPS) e aplicação em um produto alimentício o *whey protein* sabor açaí. O processo de ultrafiltração (UF) associado ao processo de diafiltração (DF) em membrana de 10 kDa na concentração do soro de leite, incrementou o conteúdo de proteína total de aproximadamente 94%. O CPS apresentou 78% de proteínas, sendo classificado como concentrado proteico de soro de CPS-80. Verificou-se as proteínas  $\beta$ -lactoglobulina (18 kDa) e  $\alpha$ -lactoalbumina (10 kDa). O concentrado proteico apresentou índice de solubilidade de 86% em pH 8,0 e emulsificação de 36,9. O concentrado proteico em pó (CPS) foi aplicado para a produção do *whey protein* sabor açaí nas concentrações de 10 a 70 m/m, sendo que a formulação com maior aceitabilidade (59%) foi a que continha 50% CPS e 50% açaí. O suplemento proteico (*whey protein*) apresentou um teor de proteína (62%) que pode ser classificado como um concentrado proteico de soro CPS-60. Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade de utilizar a ultrafiltração integrada com etapas de diafiltração, para fracionar os componentes do soro, agregando valor a este subproduto e reconhecendo o soro de leite como uma matéria-prima importante para a cadeia do leite. A utilização do concentrado proteico em pó em um suplemento alimentar com elevado teor proteico.

**Palavras-chave:** Ultrafiltração; Soro de leite; Concentração; Caracterização.

## ABSTRACT

In cheese making, whey is a remnant liquid from the precipitation of milk fat and caseins and presents in its composition proteins, lactose and minerals. Given that whey constituents, especially proteins, have great potential for food application, recovery techniques are sought. An alternative is the study of the recovery and fractionation of the constituents by the membrane separation process. The objective of this study was to take advantage of a by-product of the dairy industry (whey), recovering and concentrating the proteins by ultrafiltration/diafiltration (polyamide membrane, spiral configuration, 10 kDa, permeation area of 1.8 m<sup>2</sup>, pressure 2 bar and temperature of 10 °C), as well as to evaluate the technological and functional properties (solubility and emulsifier) of protein concentrate (CPS) and application in one in food product (whey protein flavor acai). The ultrafiltration (UF) process associated with the 10 kDa membrane diafiltration (DF) process in whey concentration increased the total protein content by approximately 94%. The CPS presented 78% of proteins, being classified as serum protein concentrate of CPS-80. The proteins  $\beta$ -lactoglobulin (18 kDa) and  $\alpha$ -lactalbumin (10 kDa) were verified. The protein concentrate had a solubility index of 86% at pH 8.0 and an emulsification of 36.9. The protein powder concentrate (CPS) was applied for the production of whey protein açaí flavor at concentrations of 10 to 70 m / m, and the formulation with the highest acceptability (59%) was 50% CPS and 50% acai. The protein supplement (whey protein) had a protein content (62%) that can be classified as a CPS-60 whey protein concentrate. The results demonstrated the feasibility of using integrated ultrafiltration with diafiltration steps to fractionate whey components, adding value to this byproduct and recognizing whey as an important raw material for the milk chain. The use of powdered protein concentrate in a high protein food supplement.

**Key-words:** Ultrafiltration; Whey; Concentration; Characterization.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Processo formação de emulsão óleo/ água. ....	24
<b>Figura 2</b> – Fenômenos causados pela instabilidade física das emulsões.....	25
<b>Figura 3</b> - Diferentes tipos de morfologias das membranas (a) membranas isotrópicas (simétricas) (b) membranas isotrópicas (assimétricas).....	28
<b>Figura 4</b> - Configuração modular das membranas. ....	29
<b>Figura 5</b> - Unidade de secagem por pulverização. ....	34
<b>Figura 6</b> - Módulos da membrana de microfiltração (a) e ultrafiltração (b). ....	40
<b>Figura 7</b> - Unidade de separação por membranas (a) Unidade piloto e (b) foto do painel de controle com os componentes do sistema.....	41
<b>Figura 8</b> - Vista do <i>spray dryer</i> utilizado na secagem do concentrado da UF/DF (a) e representação esquemática dos componentes (b). ....	43
<b>Figura 9</b> - Descrição do processo de obtenção do perfil de retrodisposição, em função da altura da célula.....	46
<b>Figura 10</b> - Fluxos de permeados para a água e soro de leite, nas pressões de 0,2 a 2 bar, na membrana de microfiltração. ....	53
<b>Figura 11</b> - Fluxo de permeado da água e do soro de leite nas pressões de 0,2 a 2 bar para a membrana de ultrafiltração. ....	54
<b>Figura 12</b> - Fluxos de permeados do soro de leite nas pressões de 0,2 a 2 bar a 10°C para a membrana de UF/DF. ....	56
<b>Figura 13</b> - Imagem do soro <i>in natura</i> (a), permeado de MF (b), concentrado UF (c), concentrado UF/DF (d) e CPS em pó (e). ....	61
<b>Figura 14</b> - Perfil eletroforético das amostras de soro <i>in natura</i> , permeado da UF, concentrado de UF e concentrado UF/DF: P - marcadores de massa molares de (250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15, 10 e 5 kDa); 1 - soro <i>in natura</i> , 2 – permeado de MF, 3 – concentrado da UF, 4 - 1ºDI, 5 – 2ºDI e 6 – 3ºDI. ....	66
<b>Figura 15</b> - Valores médio e parâmetros sigmoidal e hiperbólico de retroespelhamento na zona 10-20 mm (RD10-20) na função do tempo de acordo com a equação 5. ....	70
<b>Figura 16</b> – Histograma de frequência para a aceitação geral do <i>whey protein</i> sabor açai. ....	72
<b>Figura 17</b> - Aspecto visual da cor do <i>whey protein</i> sabor açai (50% CPS e 50% açai). ....	73

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Composição média do soro de leite bovino.....	20
<b>Tabela 2</b> - Composição proteica do soro. ....	21
<b>Tabela 3</b> - Características e aplicações dos PSM. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Caracterização do soro de leite, permeado de MF, concentrado de UF, concentrado de UF/DF (3º Diafiltração) e do CPS em pó. ....	58
<b>Tabela 5</b> - Estabilidade das emulsões do soro <i>in natura</i> e do concentrado UF/DF.....	69
<b>Tabela 6</b> - Pontuação média dos provadores para os atributos sabor e cor do <i>whey protein</i> sabor açaí. ....	71
<b>Tabela 7</b> - Teores de umidade, proteína e índices de cor (L*, a* e b*) do suplemento proteico <i>whey protein</i> sabor açaí com 50% de CPS e 50% de açaí. ....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

<b>CPS</b>	Concentrado Proteico de Soro
<b>IPS</b>	Isolado Proteico de Soro
<b>PSM</b>	Processos de Separação de Membranas
<b>MF</b>	Microfiltração
<b>UF</b>	Ultrafiltração
<b>DF</b>	Diafiltração
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>ABIQ</b>	Associação Brasileira das Indústria de Queijos
<b><math>\beta</math>-LG</b>	Lactoglobulina
<b><math>\alpha</math>-LA</b>	Lactoalbumina
<b>I-g</b>	Imunoglobulina
<b>BSA</b>	Albumina de soro bovina
<b>LF</b>	Lactoferrina
<b>MMC</b>	Massa Molar de Corte
<b>KDa</b>	Quilo Dalton
<b>RD</b>	Dispersão das partículas
<b><math>K_1</math> <math>K_2</math></b>	Constantes de desinstabilização
<b><math>RD_1</math></b>	Relacionado a Formação de partículas pequenas
<b><math>RD_2</math></b>	Relacionado a Formação de partículas grandes
<b>IS</b>	Índice de solubilidade
<b>t</b>	Tempo
<b><math>\gamma</math></b>	Tensão Superficial
<b><math>\gamma_e</math></b>	Tensão Superficial de equilíbrio
<b><math>A_r</math> e <math>A_a</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
<b>E</b>	Módulo de dilatação Superficial

<b>Ed</b>	Elástico
<b>Ev</b>	Componentes viscosos
<b>A</b>	Área
$\Omega$	Frequência
<b>GF</b>	Grau de Floculação
<b>D</b>	Diâmetro médio
<b>IA</b>	Índice de Aceitação
<b>L</b>	Litros
<b>min</b>	Minutos
<b>Bar</b>	Unidade de pressão
<b>T</b>	Temperatura
<b>R</b>	Rejeição
<b>Cp</b>	Concentração do permeado
<b>Cr</b>	Concentração do retido
<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>p</sub></b>	Volume da solução permeada
<b>Jp</b>	Fluxo de permeado
<b>DNS</b>	Ácido 3,5-dinitrossalicílico
<b>FC</b>	Fator de Concentração
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>KCl</b>	Cloreto de potássio
<b>P</b>	Pressão
<b>°C</b>	Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.2 OBJETIVOS .....	17
1.2.1 Objetivo Geral .....	17
1.2.2 Objetivos Específicos .....	17
1.2.3 Estrutura do Trabalho .....	18
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>19</b>
2.1 SORO DE LEITE .....	19
2.1.1 Composição do soro de leite.....	20
2.1.2 Proteínas do soro de leite.....	21
2.1.3 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite .....	22
2.1.3.1 <i>Emulsões</i> .....	23
2.1.3.2 <i>Solubilidade</i> .....	25
2.1.4 Lactose presente no soro.....	26
2.1.5 Produtos derivados do soro de leite .....	27
2.2 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS.....	28
2.2.1 Membrana de Microfiltração (MF).....	30
2.2.2 Membrana de Ultrafiltração (UF).....	31
2.2.3 Diafiltração (DF) .....	31
2.2.4 Problemas que afetam os processos de separação por membranas .....	32
2.2.5 Fluxo de permeado .....	32
2.2.6 Seletividade da membrana.....	33
2.2.7 Fator de concentração .....	33
2.3 SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO .....	34
2.4 APLICAÇÃO DO SORO DE LEITE EM SUPLEMENTO ALIMENTAR WHEY PROTEIN .....	36
2.5 AÇAÍ ( <i>EUTERPE OLERACEA</i> ) .....	37
<b>3 MATERIAL E METÓDOS .....</b>	<b>39</b>
3.1 MATÉRIA PRIMA .....	39
3.2 PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS .....	39
3.2.1 Membranas de microfiltração e ultrafiltração .....	39
3.2.2 Aparato experimental e processo de SPM.....	40
3.3 SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO ( <i>SPRAY DRYER</i> ).....	42

3.4 ELABORAÇÃO DO SUPLEMENTO <i>WHEY PROTEIN</i> SABOR AÇAÍ.....	44
3.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS .....	44
3.5.1 Solubilidade (proteína solúvel).....	44
3.5.2 Emulsificante .....	45
3.6 METODOLOGIAS ANALÍTICAS .....	47
3.6.1 Proteína Total .....	47
3.6.1.1 Frações das proteínas - Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).....	47
3.6.2 Sólidos Totais .....	48
3.6.3 Acidez total.....	49
3.6.4 Condutividade elétrica.....	49
3.6.5 pH .....	49
3.6.6 Lactose.....	49
3.6.7 Gordura.....	49
3.6.8 Índices de cor L*, a*, b*.....	50
3.6.9 Componentes Minerais .....	50
3.6.9.1 Minerais totais (Cinzas).....	50
3.6.9.1 Teor de cálcio, sódio e potássio .....	50
3.6.10 Atividade de água .....	51
3.6.11 Umidade .....	51
3.7 ANÁLISE SENSORIAL .....	51
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>53</b>
4.1 CONCENTRAÇÃO DO SORO DE LEITE POR MEMBRANAS.....	53
4.1.1 Fluxos de permeado da microfiltração (MF).....	53
4.1.2 Fluxos de permeado da ultrafiltração (UF) e diafiltração (DF).....	54
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE DAS FRAÇÕES CONCENTRADAS (UF E UF/DF), PERMEADAS (MF) E DO CONCENTRADO PROTEICO EM PÓ .....	57
4.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SORO DE LEITE .....	67
4.4 CARACTERIZAÇÃO DO <i>WHEY PROTEIN</i> SABOR AÇAÍ .....	70
4.4.1 Análise sensorial.....	71
4.4.2 Características físico-química do <i>whey protein</i> sabor açaí.....	72
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>76</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>77</b>

**ANEXO A.....97**

## 1 INTRODUÇÃO

A Indústria de laticínios é um importante segmento e está em ascensão no Brasil, sendo que aproximadamente 50% do leite utilizado pelos laticínios é transformado em queijo, sendo que para cada quilograma do produto gera-se em torno de 8,5-9 L de soro (ABIQ, 2019). De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil produziu aproximadamente 2,7 milhões de toneladas de soro de leite em 2017 (MAPA, 2017), e essa grande quantidade é vista como um gargalo para o desenvolvimento de novos produtos.

O soro de leite é pode ser considerado um produto nobre, rico em nutrientes, contém, aproximadamente, 55 % dos nutrientes do leite incluindo as proteínas, a lactose, vitaminas solúveis em água e minerais, principalmente proteínas de alta qualidade biológica.

As proteínas proporcionam grande potencial para a aplicação em alimentos, desta forma buscam-se técnicas para o aproveitamento do soro de leite. Uma opção é o estudo da recuperação e fracionamento dos constituintes por meio e membranas utilizando os processos de separação de membranas (PSM) a qual é baseada em mecanismos físicos, não envolvendo processos biológicos, químicos ou trocas térmicas.

As indústrias de laticínios são as precursoras no uso e desenvolvimento deste processo, sendo a ultrafiltração a principal técnica utilizada para recuperar as proteínas solúveis do soro e a permeação de constituintes como a lactose e sais minerais. Esta técnica apresenta benefícios como a economia de energia quando comparado aos processos convencionais de concentração, desenvolvimento de novos produtos com propriedades nutritivas e sensoriais diferenciadas.

O emprego do processo de diafiltração, associado à ultrafiltração, tem contribuído para a redução nos teores de lactose e incremento no percentual de proteína (MOREIRA, et al., 2017). Empregada após a concentração, está associada com alto consumo de líquido diafiltrante, normalmente água, com alto teor de pureza (BALDASSO 2008).

O soro de leite concentrado obtida via processos de separação por membranas pode apresentar propriedades funcionais, tais como: emulsificação, gelatinização, estabilização e solubilidade, as quais possibilitam a utilização como ingredientes em produtos alimentícios. O soro pode ser utilizado pela indústria de diversas maneiras, sendo a forma em pó a que se destaca, devido algumas vantagens como a facilidade de conservação, menor espaço para estocagem, menor custo de transporte. Para a obtenção do soro em pó, utiliza-se a técnica de secagem por atomização ou secagem em *spray dryer* que consiste em atomizar ou pulverizar

o produto a ser seco sobre forma de pequenas gotículas em uma corrente de ar quente, de maneira a obter o pó (SIMEÃO, 2016).

Uma das formas de aplicação do concentrado de soro de leite em pó é na forma de suplemento alimentar, sendo popularmente conhecido como *whey protein* que é um suplemento proteico visto na forma de pó utilizado por atletas e praticantes de atividades físicas que procuram aumento de desempenho e para qualquer pessoa que esteja buscando uma vida mais saudável e preocupada com a forma física. É um produto com à base da proteína do soro do leite, uma proteína de baixo peso molecular com alto valor biológico de proteína e grande capacidade de absorção.

Para a obtenção do *whey protein* ainda mais energético pode-se adicionar sabores/cores ou polpas de frutas com alto valor energético. Deste modo o açaí pode ser considerado uma excelente precursor, pois é uma fruta típica do Brasil, com sabor delicioso e refrescante com valor nutricional altamente energético, contendo alto teor de lipídios, carboidratos e proteínas.

Neste contexto, propõem-se o aproveitamento e recuperação de proteínas do soro de leite utilizando ultrafiltração, sua caracterização e aplicação do concentrado proteico em pó em um suplemento alimentar.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho foi aproveitar um subproduto da indústria de laticínio (soro lácteo), recuperando e concentrando as proteínas por ultrafiltração e diafiltração, secagem por atomização (*spray dryer*) do concentrado proteico, investigando propriedade tecnológicas e funcionais (solubilidade proteica e emulsificante) e aplicação em um suplemento alimentar (*whey protein* sabor açaí).

### 1.2.2 Objetivos Específicos

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

- (a) Caracterizar o soro de leite *in natura* em termos de proteína total, gordura, sólidos totais e solúveis, pH, acidez, lactose, cor, condutividade elétrica, minerais (cálcio,

- potássio e sódio), frações da proteína por eletroforese e propriedades funcionais do soro *in natura* seco (solubilidade, emulsificante).
- (b) Recuperar e concentrar as proteínas do soro de leite por ultrafiltração (UF) e ultrafiltração/diafiltração (UF/DF) utilizando membrana de 10 kDa.
  - (c) Efetuar a secagem por atomização (*spray dryer*) do concentrado obtido UF/DF.
  - (d) Caracterizar as frações de UF, UF/DF e do concentrado em pó em termos de sólidos totais, lactose, gordura, minerais, pH, condutividade elétrica, cor, proteína total, frações da proteína (eletroforese) e propriedades funcionais (solubilidade e emulsificante).
  - (e) Elaborar um produto alimentício com concentrado proteico em pó (*whey protein* sabor açai).
  - (f) Avaliar as características sensoriais (sabor, cor e aceitabilidade) e físico-químicas (proteína, cor e umidade) do *whey protein* sabor açai.

### 1.2.3 Estrutura do Trabalho

Esta dissertação está dividida em capítulos. O capítulo atual (Capítulo I) apresentou uma introdução, seguido dos objetivos gerais e específicos da pesquisa. O capítulo II será apresentado a revisão bibliográfica sobre o assunto, abordando aspectos gerais das principais características do soro lácteo e do processo de separação por membranas, propriedades funcionais das proteínas, principais métodos de aplicação do concentrado proteico e a aplicação em um produto alimentício. A metodologia empregada está descrita no capítulo III e, os resultados e discussões são apresentados no capítulo IV. Conclusões e sugestões estão nos capítulos V e VI, respectivamente.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste item é apresentado uma revisão bibliográfica sobre as características do soro de leite de queijo, assim como fundamentos teóricos sobre os processos de separação de membranas (PSM), sobre o aproveitamento do soro de queijo através do uso de membranas com a microfiltração (MF), ultrafiltração (UF) e o emprego de diafiltração (DF), bem como fatores que afetam a eficiência das membranas, como o *fouling*. A utilização de um atomizador para obter um concentrado proteico em pó. Ao final deste capítulo são apresentados os fundamentos sobre a produção do *whey protein*, visando a aplicação do concentrado de soro obtido, bem como as características do açaí, seu encapsulamento e agentes encapsulantes.

### 2.1 SORO DE LEITE

A indústria de lácteos é um dos setores mais importantes da economia de países industrializados e em desenvolvimento. Boa parte do leite processado pelas indústrias são transformados em queijos, acredita-se que 35% seja transformado neste derivado (ABIQ, 2019; COSTA et al., 2017; PALATNIK et al., 2015). Em 2014 foram produzidos em torno de 1.092.647 toneladas de queijos. Os principais tipos de queijos comercializados são o queijo prato, requeijão e mussarela, os quais correspondem cerca de 70 % da produção de queijos no país. O consumo médio *per capita* brasileiro é em torno 5,1 Kg/hab, visto desta forma que o mercado de queijos está em constante expansão. O mercado de queijos especiais vem ganhando destaque chegando próximo dos 7 % da produção (ABIQ, 2017; MILKPOINT, 2014).

O soro de leite na indústria de laticínios é um coproduto, sendo o líquido remanescente da coagulação das caseínas micelares da produção de queijo (CORBATO N-BA GUENA et al., 2017). Em sua forma líquida apresenta-se opaco com coloração amarelo-esverdeado devido a presença de riboflavina (vitamina B2), e apresenta sabor e odor bastante marcantes resultante da coagulação do leite (ALVES et al., 2014; GARRIDO et al., 2016).

Sua composição química é variável em função do tipo queijo ou caseína produzidos, do tipo de nutrição oferecida aos animais do tipo de leite utilizado, do período do ano, do estágio de lactação e também da qualidade e tipo do processamento industrial a que foi submetido, bem como a pasteurização e a refrigeração (SMITHERS, 2008; POPPI et al., 2010; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

O soro de leite industrial possui duas formas de ser obtido que diferem em função do tipo de queijo produzido e do método de coagulação empregado. O soro doce é obtido por coagulação enzimática do leite, pela adição da enzima renina (microbiana, vegetal ou animal) que tem a propriedade de coagular a caseína, em pH 6,2-6,4, apresenta maior quantidade de peptídeos e aminoácidos livres e é rico em lactose. É um subproduto da produção de queijo, como por exemplo, o Cheddar ou o Emmental e muito utilizado para sorvetes, sobremesas lácteas, ricota e produtos de panificação (CORTEZ, 2013; CHANDRAPALA, et al., 2016).

O soro ácido é obtido da produção do queijo fresco, após a coagulação ácida do leite por meio da adição de ácidos (ácido láctico, acético e cítrico) ou fermento lácteo, seguido pelo aquecimento da coalhada, com pH entre 4,3 a 4,6, sendo o subproduto da fabricação de caseína alimentar ou queijo fresco, como o Cottage (CORTEZ, 2013; CHANDRAPALA et al., 2016). Este soro possui maior concentração de sais minerais (cálcio e fósforo). Porém, as aplicações industriais são limitadas, devido ao sabor ácido, tem sido citado como realçador de sabor de molhos para saladas, emulsificante e retentor de água (PELEGRINI; CARRASQUEIRA, 2008; CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

### 2.1.1 Composição do soro de leite

O soro é composto de água (93 a 95 %), sais minerais (como cálcio e sódio), lactose, gordura e proteína (PESCUMA et al., 2010). O soro contém ácido láctico (0,5 g/L) e ácido cítrico, compostos nitrogenados e vitaminas do complexo B (DRAGONE et al., 2009). A Tabela 1 apresenta a composição média do soro de leite, sendo que está pode variar de acordo com a alimentação, reprodução, diferença individual de cada animal e do clima (CARVALHO; PRAZERES; RIVAS, 2013).

**Tabela 1** - Composição média do soro de leite bovino.

<b>Componente</b>	<b>Soro de leite bovino doce (%) *</b>
Sólidos totais	5,8 – 6,5
Gordura	0,2 – 0,25
Proteínas totais	0,6 – 0,8
Lactose	4,4 – 4,5
Minerais	0,5 – 0,8

\*Percentual mássico

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

### 2.1.2 Proteínas do soro de leite

As proteínas lácteas podem ser classificadas em duas frações: as caseínas (80 %) e as proteínas do soro (20 %) (ALVES et al., 2014). As proteínas do soro são produzidas como um subproduto das indústrias de queijo coalho e caseína (Tabela 2) (LUCK et al., 2013).

**Tabela 2** - Composição proteica do soro.

<b>Frações proteicas</b>	<b>Quantidades (%)</b>
$\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ Lg)	45 - 57
$\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ La)	15 - 25
Albumina do soro bovino (BSA)	4 - 5
Imunoglobulinas (Ig's)	7 - 10
Glicomacropéptido (GMP)	10 - 20
Lactoferrina	0,2 - 2
Lactoperoxidase	~ 0,3
Lisozima	~ 0,004
Proteose peptona	6 - 18

Fonte: Huffman; Harper (1999); Brody (2000); Korhonen et al. (2000); Kussendrager; Van Hooijdonk (2000); Steijns e Van Hooijdonk (2000); Shannon et al., (2003); Laleye et al. (2008); Edwards et al., (2009).

Segundo Almeida et al., (2013) as proteínas do soro podem ser definidas como aquelas que permanecem solúveis no soro do leite após a precipitação da caseína a um pH 4,6 e temperatura de 20°C. As proteínas do soro do leite apresentam uma estrutura globular contendo algumas pontes de dissulfeto, que conferem um certo grau de estabilidade estrutural.

As duas principais frações proteicas do soro são  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactalbumina que estão presentes em maior concentração e constituem, aproximadamente 70 % das proteínas totais do soro. Estão presentes, também, a albumina do soro bovino, a imunoglobulina, os glicomacropéptidos e outras sub-frações que se apresentam em pequenas concentrações no leite, como a lactoferrina, a lisozima e a lactoperoxidase (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2017; ALMEIDA et al., 2013).

A  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) é o maior péptido do soro (45 a 57 %), representando, no leite bovino, cerca de 3,2 g/L. Apresenta peso molecular (18,4 a 36,8 kDa), o que lhe confere resistência à ação de ácidos e enzimas proteolíticas presentes no estômago, sendo, portanto,

absorvida no intestino delgado. É considerada estabilizante de proteínas, uma das aplicações citadas e na produção de *candies*, como balas e guloseimas (EDWARDS et al., 2009).

A  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -La) é o segundo peptídeo do soro (15 a 25 %) do leite bovino e o principal do leite humano. Com peso molecular de 14,2 kDa, caracteriza-se por ser de fácil e rápida digestão. Contém o maior teor do aminoácido triptofano (6 %) entre todas as fontes proteicas alimentares, sendo, também, rica em lisina, leucina, treonina e cistina (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2017; SGARBIERI, 2005; YADAV et al., 2015).

Albumina de soro bovina (BSA) corresponde a cerca de 10 % das proteínas do soro do leite. É um peptídeo de alto peso molecular (66 kDa), rico em cistina (aproximadamente 6 %), e relevante precursor da síntese de glutatona. Possui afinidade por ácidos graxos livres e outros lipídeos, favorecendo seu transporte na corrente sanguínea (HARAGUCHI et al., 2006; ALMEIDA et al., 2013).

As imunoglobulinas (I-g) são proteínas de alto peso molecular (150 a 1000 kDa). Suas principais ações biológicas residem na imunidade passiva e atividade antioxidante (KORHONEN et al., 2000).

Os glicomacropéptídeos são peptídeos terminais de 64 aminoácidos com baixo peso molecular (6,7 a 8 kDa) é um peptídeo resistente ao calor, à digestão, assim como a mudanças de pH. Alguns autores não descrevem o glicomacropéptídeos como um peptídeo do soro, mas como derivado da digestão da caseína- kapa, pela ação da quimosina durante a coagulação do queijo (BRODY, 2000; HARAGUCHI et al., 2006).

A lactoferrina (LF) é sintetizada pelos neutrófilos, possui uma cadeia de 689 aminoácidos e um peso molecular de aproximadamente 80 kDa (SIMPSON; NICHOLAS, 2002; STEIJNS; VAN HOOIJDONK, 2000).

A lactoperoxidase pertence à família das peroxidases, um grupo de enzimas largamente distribuídas na natureza. Em termos estruturais, trata-se de uma cadeia polipeptídica de 612 aminoácidos com um peso molecular de 78,4 kDa (KUSSENDRAGER; VAN HOOIJDONK, 2000).

### 2.1.3 Propriedades funcionais das proteínas do soro de leite

O soro de leite é conhecido pela sua qualidade nutricional e funcional. A presença de proteínas no soro torna-o um produto apropriado para o emprego na alimentação humana, especialmente na formulação de alimentos infantis e dietéticos, devido á elevada qualidade nutricional destas proteínas (GIRALDO-ZUÑIGA et al., 2004).

A composição, absorção, digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e de nitrogênios totais, são os fatores de qualidade nutricional de uma proteína. 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).

As propriedades funcionais mais importantes para a utilização das proteínas do soro são a emulsificação, solubilidade, geleificação e formação de espumas (MING, 2000). As proteínas do soro de leite em pó são comumente usadas como ingredientes, devido às suas características funcionais (HEINO et al., 2007; MARCELO; RIZVI, 2008). Além disso, o soro de leite melhora a textura, realça o sabor e cor, emulsifica e estabiliza, melhora a dispersibilidade em misturas secas, amplia a vida de prateleira e aumenta a qualidade final dos alimentos (ANTUNES, 2003).

As proteínas possuem várias sequências de aminoácidos com propriedades bioativas, ou seja, sua hidrólise pode liberar peptídeos capazes de modular respostas fisiológicas no organismo animal, tendo sido observadas atividades antimicrobiana e antiviral, imunomoduladora, anticoagulante, anti-hipertensiva, fatores de crescimento celular, aumento no combate e infecções e processos inflamatórios, ação no sistema cardiovascular, além de outros benefícios (SGARBIERI, 2004; BUTYLINA et al., 2006; ALMEIDA et al., 2013).

As proteínas de soro possuem propriedades bioquímicas que fortalecem a imunidade, geram recuperação muscular eficiente e potencializa os benefícios à saúde, proporcionados pela atividade física. Elas são eficientes para promover os mecanismos responsáveis por uma recuperação muscular eficiente, por melhorar os resultados produzidos pela prática regular de exercícios físicos. Desta forma, podem direcionar a aplicação em bebidas esportivas ou substitutos de refeições, para serem consumidos antes, durante ou após os exercícios. Além disso, as proteínas de soro podem ser muito utilizadas para suplementos proteicos; na produção de compostos lácteos; na alimentação infantil; sobremesas lácteas; alimentos probióticos e prebióticos; chocolates; bebidas não alcólicas entre outras (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2017).

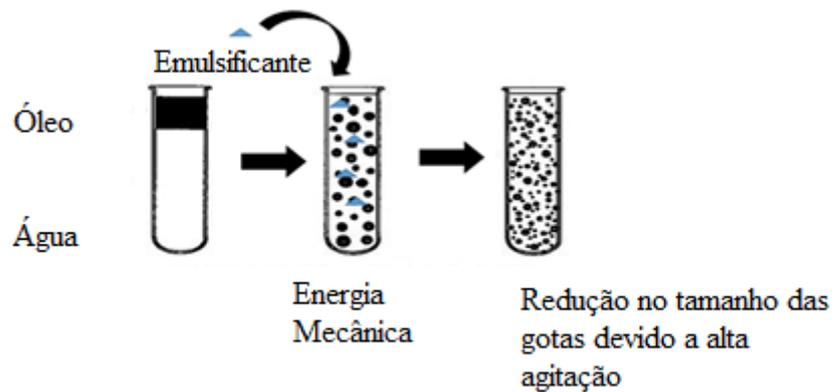
#### *2.1.3.1 Emulsões*

As emulsões são sistemas coloidais largamente utilizados pela indústria de alimentos, e consistem de mistura, dispersão ou suspensão de dois ou mais líquidos imiscíveis,

geralmente, óleo e água (Figura 1). Esses sistemas apresentam uma fase dispersa, em forma de gotas esféricas e pequenas e uma fase contínua (LAM; NICKERSON, 2013).

Emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis, ou seja, tendem a separação completa de fases. Assim sendo não se formam diretamente é necessário fornecer energia mecânica para formá-las, por meio de agitação, comumente se faz necessário o uso de homogeneizadores (MCCLEMENTS, 2011).

**Figura 1** - Processo formação de emulsão óleo/ água.



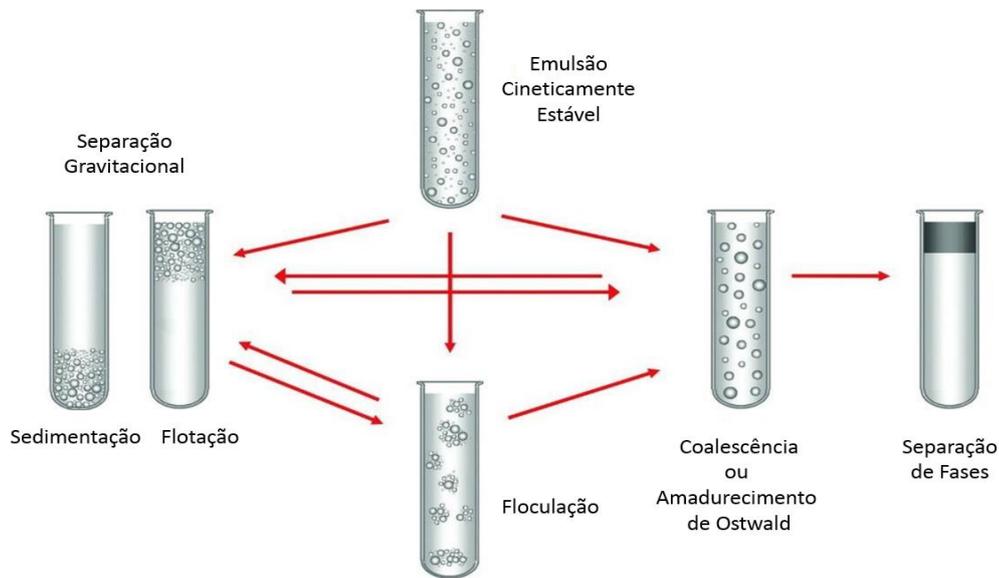
Fonte: Adaptado de Mirhosseini et al. (2007)

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 2.

**Figura 2** – 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).

### 2.1.3.2 Solubilidade

A solubilidade é um dos parâmetros fundamentais que influênciam expressivamente nas propriedades funcionais das proteínas (geleificação, capacidade espessante, formação de espuma, emulsificação e geleificação), de modo que, as proteínas insolúveis têm aplicações

limitadas. Esta característica é dada pela relação entre três fatores principais: densidade, grau de hidratação e distribuição de cargas ao longo da cadeia e presença de substâncias não-proteicas como fosfatos, carboidratos e lipídios, que podem proporcionar efeito estabilizante. A solubilidade depende principalmente da temperatura, força iônica, pH e tipo de solvente (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

Pelegrine 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.

#### 2.1.4 Lactose presente no soro

A lactose é um carboidrato característico do leite, é um dissacarídeo composto por glicose e galactose. No leite integral a mesma é responsável por 40 % do total de sólidos, enquanto que em leites desengordurados representa em torno de 54 %. No soro de leite a lactose é o composto sólido presente em maior quantidade ficando em torno de 70 % em base seca (MATTILA-SANSHOLM & SAARELA, 2003).

Esse carboidrato proporciona a mesma massa molar da sacarose, diferindo desta na configuração molecular, no poder edulcorante, na solubilidade e no poder redutor. A lactose é cerca de dez vezes menos solúvel que a sacarose, o que pode causar cristalização e, conseqüentemente, problemas tecnológicos durante o processamento de alguns produtos na indústria de laticínios. Na indústria alimentícia seu maior emprego é como ingrediente, sendo empregada em formulações de alimentos infantis; indústria farmacêutica e derivados de

lactose, inclusive a produção de glicose e galactose por hidrólise (KOBBLITZ 2008; CAMPOS et al., 2009; SOUZA et al., 2010).

#### 2.1.5 Produtos derivados do soro de leite

Na nutrição humana o soro pode ser aproveitado na forma líquida, condensada ou em pó. Porém o soro líquido pasteurizado fresco é dificilmente usado em indústrias de alimentos, devido ao alto custo de transporte e a suscetibilidade para deterioração durante o armazenamento (MILLER et al., 2000).

Existem vários produtos derivados do soro de leite disponíveis comercialmente. Sendo obtidos a partir de processos de fracionamento, principalmente de proteínas, e tem inúmeras funções na alimentação. As frações dos produtos de soro podem ser agrupadas em categorias, de acordo com as características determinadas pelo tipo e grau de processamento aos quais são submetidas. O soro deslactosado (com teor de lactose reduzido) apresenta teor de lactose inferior a 30 %; o soro em pó, com baixo teor de proteína (menor 35 %); o soro desmineralizado, apresenta teor máximo de minerais de 7 %; os isolados proteicos de soro (IPS), com um teor de proteína maior que 90 %; os concentrados proteicos de soro (CPS), com 35 a 80 % de proteína. Cada um desses produtos de soro é utilizado com base nas características funcionais específicas apresentadas por cada um deles (ANTUNES, 2003; LEIDENS, 2013; LEIFELD, 2014).

A produção dos derivados de soro em pó envolve a combinação de diferentes processos, como microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF), diafiltração (DF), evaporação e secagem (ALMEIDA et al., 2013). Na UF, por exemplo, o soro pode ser separado em duas frações, o retentado que é utilizado para a produção de CPS em concentrações diferentes e também o IPS (DE WIT, 2001; YEE et al., 2007).

O soro em pó é a forma mais satisfatória para o uso do soro de leite em alimentos, sendo obtido através da remoção de aproximadamente 95 % da sua umidade, mas mantendo os constituintes presentes no soro original. Assim, o soro pode ser armazenado por um tempo maior, sem danos para suas propriedades nutricionais (ANTUNES, 2003; BALDASSO, 2008; SIKAND et al., 2011; JERVIS et al., 2012).

## 2.2 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO COM MEMBRANAS

Os processos de separação com membranas surgiram na década de 1970, para complementar os processos clássicos de separação como extração por solvente, centrifugação, destilação, troca iônica, filtração, absorção, cristalização entre outros. Esta classe de processos passou a utilizar membranas sintéticas como barreira seletiva (HABERT et al., 2006).

O principal objetivo dos processos de separação com membranas é a separação, a concentração e/ou purificação de qualquer componente presente na amostra e isto pode ser realizado devido a capacidade da membrana de transportar um determinado componente da fase de alimentação mais rápido do que qualquer outro componente presente. Isto ocorre devido as diferenças que existem entre as propriedades químicas e físicas da membrana e dos componentes que permeiam (CRUZ et al., 2017; FAION, 2015; HABERT et al., 2006).

As membranas podem ser caracterizadas de acordo com sua estrutura morfológica densas ou porosas (Figura 3). Para as membranas porosas, o movimento do fluido se dá pela diferença entre o tamanho de partícula e os poros da membrana. Já, as membranas densas não possuem poros, o transporte se dá pela sorção e difusão do material da membrana. Tanto as membranas densas, quanto as membranas porosas, podem ser isotrópicas ou anisotrópicas, ou seja, podem apresentar as mesmas características morfológicas ao longo de sua espessura (HABERT et al., 2006).

**Figura 3** - Diferentes tipos de morfologias das membranas (a) membranas isotrópicas (simétricas) (b) membranas isotrópicas (assimétricas).

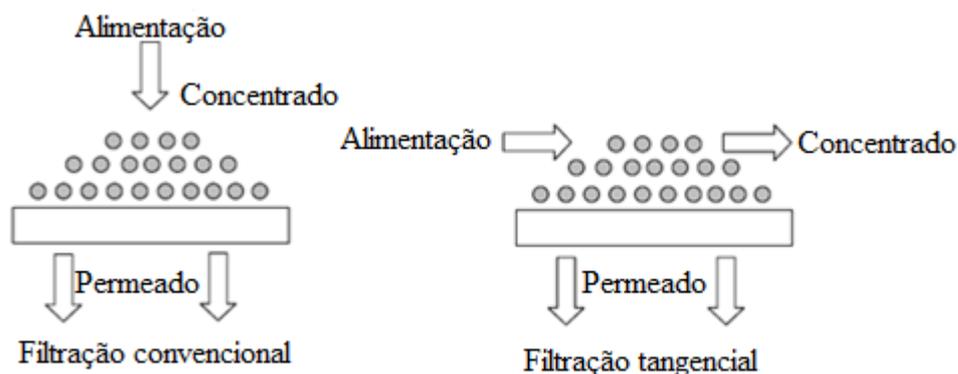


Fonte: Adaptado de Habert et al. (2006).

As membranas podem ser produzidas com diferentes tipos de matérias e ser classificadas em dois grupos: as membranas orgânicas que são amplamente utilizadas por apresentarem altos fluxos, boa rejeição a sais, tolerâncias a temperatura e pH; e as membranas inorgânicas que apresentam maior estabilidade química e térmica em relação as poliméricas, porém seu uso é restrito a MF e UF (BOSCHI, 2006).

As membranas podem apresentar duas configurações modulares (Figura 4). As de filtração tangencial (*cross-flow*) que possuem 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. E as de filtração convencional (*dead-end*), os quais possuem fluxo perpendicular a membrana, baixo rendimento do processo devido a formação de depósitos sob a superfície da membrana (Resistência) que causa a diminuição da eficiência do processo (LEIDENS, 2013).

**Figura 4** - Configuração modular das membranas.



Fonte: Leidens (2013).

As membranas podem estar dispostas nas mais variadas configurações, como tubular, placas, fibra oca e espiral. Os principais aspectos a serem considerados na seleção do módulo são as variáveis de processo e as características da solução a ser tratada (CRUZ et al., 2017; HABERT et al., 2006).

Os processos de separação por membranas - PSM se destacam devido ao baixo consumo de energia, pois a operação ocorre a temperatura ambiente, podendo operar em sistemas contínuo ou em batelada, simplicidade de operação, o pequeno espaço físico, seletividade, uso de temperaturas amenas (LEIDENS, 2013; BOSCHI, 2006).

Devido a suas inúmeras vantagens, o PSM tem sido utilizado nos mais diferentes setores da indústria alimentícia, química e farmacêutica, além da área médica (CRUZ et al., 2017; SEGUENKA, 2016; SANTOS et al., 2014).

Os PSM são divididos de acordo com a aplicação industrial. Os quatro processos mais utilizados na indústria de laticínios são a microfiltração (MF), a ultrafiltração (UF), a 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). A classificação dos principais processos de separação com membranas, as suas principais características, a força motriz empregada e alguns exemplos típicos de aplicação podem ser observados na Tabela 3.

**Tabela 3** - Características e aplicações dos PSM.

<b>Processo Aplicações</b>	<b>Força Motriz</b>	<b>Material Retido</b>	<b>Material Permeado</b>	<b>Aplicações</b>
Microfiltração (MF)	Gradiente de pressão ( $\Delta P$ ) (0,5 – 2 atm)	Material em suspensão, bactérias Massa molar >500.000g/mol.	Água e sais dissolvidos	Esterilização; Clarificação de vinhos e cervejas; Concentração e células; Oxigenação de sangue
Ultrafiltração (UF) Água, sais	Gradiente de pressão ( $\Delta P$ ) (1 - 7 atm)	Colóides, Macromoléculas. Massa molar > 5.000 g/mol	Água, sais solúveis de baixa massa molecular, açúcares	Fracionamento e concentração de proteínas; Recuperação de pigmentos; Recuperação de óleos
Nanofiltração (NF)	Gradiente de pressão ( $\Delta P$ ) (5 - 20 atm)	Moléculas de massa molecular média entre 500 e 2.000 g/mol	Água, sais e moléculas e baixa massa molecular	Purificação de enzimas; Biorreatores a membrana
Osmose inversa (OI)	Gradiente de pressão ( $\Delta P$ ) (15 – 80 atm)	Todo material solúvel ou em suspensão	Água (Solvente)	Dessalinização de águas; Concentração de suco de frutas; Desmineralização de águas;
Diálise (D)	Gradiente de concentração ( $\Delta C$ )	Moléculas de massa molecular maior que 5.000 g/mol	Íons e orgânicos de baixo peso molecular	Hemodiálise – Rim Artificial; Recuperação de NaOH
Eletrodiálise (ED)	Gradiente de potencial elétrico ( $\Delta E$ )	Macromoléculas e compostos não iônicos	Íons	Concentração de soluções salinas; Purificação de águas

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

### 2.2.1 Membrana de Microfiltração (MF)

As membranas de microfiltração podem ser empregadas para a remoção de bactérias do leite e do soro, em substituição ao tratamento térmico convencional, não alterando o seu sabor, além de aumentar a vida útil de prateleira. Utilizada, também, para a remoção residual da gordura presente no soro causando menos danos aos seus constituintes, resultando em melhores características sensoriais, além de uma redução do consumo de energia. É considerada um pré-tratamento do processo de ultrafiltração (LOURENÇO, 2014).

As membranas de microfiltração possuem tamanho de poros entre 50 a 10000 nm, gradiente de pressão de 0,1 a 2 bar (MULDER, 1986; HABERT et al., 2006).

### 2.2.2 Membrana de Ultrafiltração (UF)

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).

A UF tem sido utilizada no fracionamento e concentração de proteínas. A eficiência da separação ocorre pela relação entre o tamanho das partículas da solução e o tamanho de poro da membrana. Na UF são utilizadas membranas poliméricas ou cerâmicas de poros assimétricos, com poros variando entre 1 a 100 nm e uma variação de pressão transmembrana entre 1 a 10 bar (MARQUES, 2017).

A concentração do soro resulta na formação de produtos proteicos que podem ser usados como ingredientes para melhorar as propriedades tecno-funcionais dos alimentos, tais como viscosidade, emulsificação, gelificação, solubilidade e formação de espuma.

### 2.2.3 Diafiltração (DF)

A diafiltração (DF) é uma forma diferente de operar os processos de separação por membranas (PSM) que utilizam o gradiente de pressão como força motriz. A DF consiste essencialmente em operar os processos de microfiltração (MF), ultrafiltração (UF) ou nanofiltração (NF) com uma alimentação contínua ou em batelada de solvente, que pode ser por exemplo água com alto grau de pureza, ou seja, consiste em uma operação de “lavagem” da solução problema (HABERT et al., 2006; SEGUENKA, 2016). O concentrado é diluído através da adição de água e é novamente concentrado pelo processo de separação (MF, UF ou NF) que está sendo aplicado (BALDASSO et al., 2011).

A DF é capaz de eliminar os problemas relacionados com a elevada concentração no concentrado/retido e gerar alta purificação (PRUDÊNCIO et al., 2014). A solução a purificar, designada por alimentação ou retido, e que se encontra no estado líquido, contém solvente, solutos de baixo peso molecular e macromoléculas como por exemplo proteínas ou outro tipo de solutos (SEADER et al., 2010). Com isto a quantidade de lactose e sais minerais nos

concentrados diminuem, originando assim concentrados com maiores teores de proteína (base seca), o que resulta em CPS (concentrado proteico) com elevado teor proteico (MOREIRA et al., 2017).

#### 2.2.4 Problemas que afetam os processos de separação por membranas

O comportamento dos PSM pode alterar com o decorrer do tempo, ocasionando uma diminuição do fluxo permeado e mudanças na retenção de solutos. Dois fatores comuns nos processos de separação por membranas podem ocasionar os problemas de *fouling* e polarização por concentração (MULDER, 2000; HABERT et al., 2006).

O *fouling* pode ser determinado como a deposição indesejável e irreversível de partículas dissolvidas, suspensas ou coloidais na superfície da membrana. Este problema inclui os fenômenos de adsorção, bloqueio de poros, precipitação e formação de torta (MARQUES, 2017). Durante o processamento do soro de leite é comum ocorrer a incrustação da membrana, devido à grande diversidade de componentes lácteos que participam na incrustação. A deposição de proteína e precipitação mineral são os principais contribuintes para a incrustação (SHI et al., 2014).

A polarização por concentração ocorre devido ao acúmulo de solutos, de forma reversível na superfície da membrana. Isto leva ao aumento da concentração destes solutos na alimentação que, por consequência, promoverá um fluxo difusivo de solutos em direção oposta à superfície da membrana, formando uma zona polarizada que consequentemente irá reduzir o fluxo de permeado. Para minimizar este fenômeno pode-se alterar as condições operacionais como velocidade tangencial e pressão transmembrana (OLIVEIRA, 2017; SIMEÃO, 2016).

#### 2.2.5 Fluxo de permeado

O fluxo de permeado depende das propriedades da membrana, do produto a ser separado e das condições de operação, velocidade de escoamento tangencial, fator de concentração, pH e temperatura. Ele é diretamente proporcional à diferença de pressão e inversamente proporcional à soma de resistências ao escoamento, conforme a Equação 1

$$J_a = \frac{v}{A \cdot t} \quad (1)$$

Onde  $J$  é o fluxo de permeado ( $L/m^2h$ );  $A$  é a área da membrana de UF ( $m^2$ );  $t$  é o tempo (h) e  $v$  é o volume de permeado (L).

O fluxo de permeado é influenciado pela temperatura da solução de alimentação, pois o fluxo é função da viscosidade dinâmica da solução que, por sua vez, é função da temperatura. Assim, quanto maior a temperatura, menor a viscosidade e maior o fluxo de permeado (BALDASSO, 2008, SILVA, 2013).

#### 2.2.6 Seletividade da membrana

A permeabilidade da membrana pode ser entendida como uma medida da maior ou menor facilidade que a membrana oferece a passagem de um dado solvente. O inverso da permeabilidade é a medida da resistência (rejeição) (Equação 2) que o meio oferece ao transporte (HABERT et al., 2006).

A eficácia dos PSM é estabelecida pela rejeição ( $R$ ) da membrana frente ao componente que se deseja separar (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001). Este coeficiente estabelece a percentagem de um componente retido pela membrana em um processo de separação.

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

Onde  $C_P$  é a concentração do permeado e  $C_R$  é a concentração do retido.

O valor de  $R$  varia entre 100 % (retenção completa do soluto) e 0% (soluto e solvente atravessam livremente a membrana)

#### 2.2.7 Fator de concentração

O fator de concentração ( $FC$ ) (Equação 3) é uma variável limitante do processo porque está diretamente ligado ao fluxo permeado, isto é, à medida que a solução é concentrada o fluxo permeado diminui (BALDASSO, 2008).

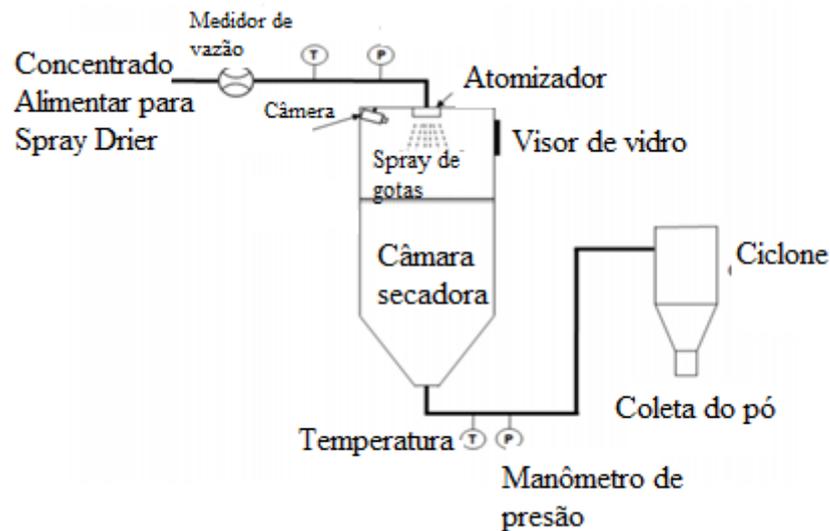
$$FC = \frac{V_o}{V_R} = \frac{V_o}{(V_o - V_P)} \quad (3)$$

Onde  $V_0$  é o volume inicial da solução (L);  $V_R$  é o volume do retido (L) e  $V_F$  é o volume da solução permeada (L).

### 2.3 SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO

A secagem por atomização ou secagem em *spray dryer* consiste em atomizar ou pulverizar o produto a ser seco sobre forma de pequenas gotículas em uma corrente de ar quente (Figura 5), de maneira a obter-se um pó (SIMEÃO, 2016; CARIĆ et al., 2009). Quando um produto é colocado em contato com uma corrente de ar com baixa umidade relativa (pressão de 1554 Pa) e temperatura elevada (em média 200 °C), diretamente é formada uma diferença de temperatura e pressão parcial da água entre o alimento e o ar, por conseguinte, ocorrerá uma transferência de energia na forma de calor do ar para o produto e uma transferência de água do produto para o ar (SCHUCK et al., 2010). As pequenas gotículas formadas e a grande área superficial das mesmas levam a uma rápida evaporação da água, a uma temperatura relativamente baixa, o que minimiza os danos térmicos ao produto (SCHUCK, 2002).

**Figura 5** - Unidade de secagem por pulverização.



Fonte: O'SULLIVAN et al. (2018).

As principais funções da atomização são produzir gotículas do produto com grande relação superfície-massa, resultando em uma elevada taxa de evaporação, menor densidade,

formação de pequenas gotículas, maior distribuição de tamanho, quantidade de ar ocluso e o teor de água (SILVEIRA et al., 2013).

Segundo Schuck (2009), esta etapa de atomização é diretamente responsável por algumas vantagens apresentadas na secagem em *spray dryer*: o curto tempo de secagem das gotículas do produto e de retenção das partículas em um ambiente com alta temperatura e, além disso, a produção do pó desejado, a partir de um determinado líquido, com grande estabilidade de armazenamento e transporte.

Em relação aos sistemas de secagem, três tipos são os principais utilizados pelas indústrias. Na secagem em único estágio, emprega-se apenas a câmara de secagem para transformar o leite ou soro concentrados em pó, o que produz um pó particulado caracterizado pela baixa solubilidade em água. Na secagem em dois estágios, além da câmara de secagem, emprega-se o fluidizador, acarretando na obtenção de um pó aglomerado, com características superiores de solubilidade. A associação de dois fluidizadores com capacidade de evaporação junto à câmara de secagem caracteriza o processo de secagem em três estágios e em intensa aglomeração do pó (WESTERGAARD, 2001).

O soro destinado à secagem deve ser pré-concentrado, processo que elevará a concentração de 6 a 18 % de sólidos (MARTINS et al., 2013). Após a etapa de concentração do soro o mesmo é encaminhado ao *spray dryer*, onde a umidade é retirada até que o produto final atinja 5 % de teor de umidade (TSKALI et al., 2010).

Este método é o mais utilizado para desidratação de produtos lácteos, obtendo produtos como o soro de leite em pó e de concentrados e isolados proteicos de soro, melhorando o armazenamento e conservação por mais tempo, além de reduzir custos logísticos (SILVEIRA et al., 2013; ALVES et al., 2014; BRASIL, 2013).

De acordo com Schuck et al. (2008), a quantidade máxima de umidade em um produto lácteo desidratado deve ser definida pelo valor da atividade de água, sendo desejado um valor próximo a 0,2.

O processo de atomização é um processo simples, porém a secagem poderá ser dificultada, em parte por causa do alto teor de lactose presente no soro de leite, sendo necessária a redução no soro, empregando a pré-cristalização da lactose e/ou emprego de membranas, antes da secagem a fim de minimizar os problemas de higroscopicidade, assim como a manipulação cuidadosa das condições de calor para minimizar os problemas causados pela sensibilidade térmica das proteínas do soro (TSKALI et al., 2010).

De acordo com Fox e McSweeney (1998); Schuck et al. (2010), para aumentar o prazo de conservação do soro em pó deve-se realizar: o controle da acidez do soro, cristalização da

lactose e temperatura do ar de saída câmara de secagem (inferior a 100 °C) no intuito de evitar a transformação de lactose amorfa em cristalina durante a secagem, o que acarreta em aglomeração e adesão do produto no equipamento. As curvas de sorção, conforme Jouppila e Roos (1994), são drasticamente afetadas pela presença de lactose amorfa.

## 2.4 APLICAÇÃO DO SORO DE LEITE EM SUPLEMENTO ALIMENTAR WHEY PROTEIN

O *Whey protein* é um termo usado genericamente para descrever proteínas solúveis isoladas do leite.

De acordo com Brasil, 2018 o *whey protein* é comumente conhecido como um suplemento proteico para atletas, que consiste em um produto à base da proteína do soro do leite, uma proteína de baixo peso molecular com alto valor biológico de proteína e grande capacidade de absorção. Os produtos comercializados possuem pequenas concentrações de gordura.

Os suplementos à base do soro do leite constituem-se como fonte mais concentrada de aminoácidos essenciais, incluído os de cadeia ramificada, além de serem de rápida absorção (TERADA et al., 2009). De acordo com Sgarbieri (2004), as proteínas de soro apresentam elevadas concentrações dos aminoácidos triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina, em excesso às recomendações diárias.

Sua indicação é comum não só para atletas e praticantes de atividades físicas que procuram aumento de desempenho, além disso para qualquer pessoa que esteja procurando uma vida mais saudável e preocupada com a forma física. Proporciona benefícios para os portadores de HIV e pessoas com asma, ajuda a diminuir o colesterol ruim, LDL, controlar os níveis de glicose no sangue e a pressão arterial. O *whey protein* pode ser encontrado de diversas formas como em cápsulas, pó, líquido, gel, flocos ou em barras (BRASIL, 2018).

Para a obtenção do *whey protein* são utilizadas membranas semipermeáveis que realizam a filtração e a separação do líquido em dois fluxos: o retentado e o permeado. Ao usar membranas com diferentes tamanhos de poros, é possível separar componentes específicos do leite e do soro. Neste processo, a ultrafiltração é muito utilizada para a concentração das proteínas do soro e após atingir os padrões de concentração de proteína, o produto concentrado é seco pela tecnologia de *spray dryer* que consiste numa pulverização a alta temperatura para uma secagem instantânea do produto antes deste ser envasado (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2017).

## 2.5 AÇAÍ (*Euterpe oleracea*)

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), de origem nativa da América Central e do Sul, é considerado como a palmeira mais produtiva da região amazônica. Destaca-se por ser fruto exótico e é consumido como um alimento básico nessa região do Brasil. É considerado um alimento funcional, devido aos seus benefícios nutricionais e terapêuticos relacionados a alta capacidade antioxidante e sua composição fitoquímica (BONOMO et al., 2014; MENEZES et al., 2008; BERNAUD; FUNCHAL, 2011).

Existem diversas formas de apreciação do açaí, como, por exemplo, nas formas de geleias, licor, polpa congelada, xarope, pó, creme e sorvetes. No mercado brasileiro, o fruto é consumido com finalidade de bebida energética; já no mercado externo, como uma bebida exótica (DARNET et al., 2011; YAMAGUCHI et al., 2015).

A polpa deste fruto tem sido objeto de alguns estudos em função de seu valor nutritivo e sensorial (ROGEZ, 2000; SOUTO, 2001; MENEZES, 2005), sendo inclusive considerada como um alimento nutracêutico face ao seu rico conteúdo de antocianinas, pigmentos hidrossolúveis responsáveis pela cor avermelhada do fruto (IADEROZA et al., 1992; OZELA et al., 1997; BOBBIO et al., 2000; MENEZES 2005).

Nas regiões produtoras, o produto derivado do açaí, predominantemente, é a polpa, comercializado à temperatura ambiente quando é imediatamente consumida, ou após certo período de refrigeração. Quando se destina aos comércios distantes, a polpa é congelada (ROGEZ, 2000), porém essa técnica de conservação provoca danos irreversíveis ao alimento, como perdas vitamínicas, alterações reológicas e de cor, que modificam as propriedades originais (MENEZES, 2005). É altamente perecível e de fácil deterioração, a temperatura ambiente, sua durabilidade é de poucas horas e sob refrigeração, o tempo máximo de conservação é de 12 h (ROGEZ, 2000; SOUTO, 2001, ALEXANDRE et al., 2004). Os fatores responsáveis por essas modificações são de natureza microbiana, enzimática e química, ocasionando reações de oxidação, redução dos teores de antocianinas e despigmentação da polpa, alterando as características desse produto com consequente desvalorização sensorial e até mesmo nutricional. Novos métodos de conservação da polpa foram estudados como a desidratação (MELO et al., 1998), irradiação (Souto, 2001) e emprego da alta pressão hidrostática (MENEZES, 2005) visando prolongar a vida de prateleira e preservando as características originais do produto.

O açaí, além de apresentar um sabor característico, é uma fruta com valor nutricional altamente energético, contendo alto teor de lipídios, carboidratos, proteínas, tornando-o um

alimento calórico. Ainda apresenta, em sua composição, compostos bioativos, como polifenóis, da classe dos flavonoides, em destaque as antocianinas (DARNET et al., 2011; KANG et al., 2010).

Os flavonoides são uma grande classe de compostos polifenólicos de baixa massa molecular, que possuem um esqueleto de 15 carbonos constituído por dois anéis de benzeno, ligados através de um anel de pirano heterocíclico que podem ser subdivididos em subgrupos tais como flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianidinas (GOMES et al., 2016). No açaí, a classe das antocianinas desperta maior interesse devido à sua prevalência (POZO-INSFRAN et al., 2004).

Devido ao fruto apresentar propriedades físico-químicas com poder antioxidante, que atuam inibindo ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres, estudos indicam a possibilidade de o açaí fazer parte dos grupos dos alimentos funcionais (POZO-INSFRAN et al., 2004; ROCHA et al., 2015).

Os antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos do estresse oxidativo, desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes. Atuam principalmente no combate aos processos oxidativos, como consequência ocasionam menores danos ao DNA e às macromoléculas, amenizando, assim, os danos cumulativos que podem desencadear doenças (SCHAUSS et al., 2006).

O alto teor dos polifenóis no açaí torna-o uma das frutas com maior potencial antioxidante, apresentando diversas propriedades – anti-inflamatória e farmacológica – associadas ao combate de doenças desencadeadas por espécies reativas de oxigênio (radicais livres) (KANG et al., 2010; POZO-INSFRAN et al., 2006; PACHECO-PALENCIA et al., 2008a).

A polpa de açaí desidratada é uma excelente alternativa de conservação e também um excelente alimento a ser incorporado nas refeições de indivíduos com baixo peso, em especial a faixa etária infantil, por ser altamente calórico. Além disso, adultos e adolescentes também deveriam incluir a polpa de açaí seca nos seus cardápios. O consumo da polpa, rica em nutrientes, e em certos minerais como o cálcio e o potássio podem contribuir para garantir o crescimento e bom funcionamento do corpo humano em geral, uma vez que esses nutrientes participam de várias reações metabólicas importantes no organismo.

### 3 MATERIAL E METÓDOS

Neste item são apresentados os materiais, equipamentos e metodologia empregados no processo de microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), diafiltração (DF) em escala piloto e o processo de atomização por *spray dryer*. A caracterização das propriedades físico-químicas e funcionais das amostras (soro *in-natura*, permeado de MF concentrado UF, DF e o CPS em pó) e o processo de elaboração do suplemento proteico (*whey protein* sabor açáí), utilizando o concentrado proteico.

#### 3.1 MATÉRIA PRIMA

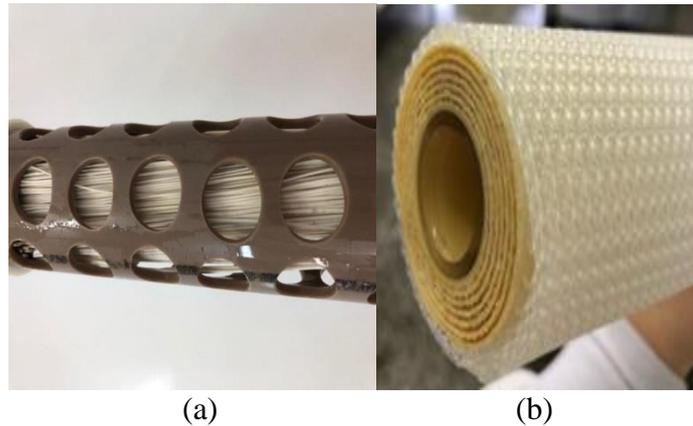
O soro de leite líquido utilizado neste trabalho foi cedido pela Indústria Relat Lacticínios Renner S.A., localizada no município de Estação, no Rio Grande do Sul. O soro foi coletado na empresa, no período de setembro de 2018, após sua pasteurização, em recipientes de 80 L, sendo processada no mesmo dia, no laboratório de tecnologia de leites e derivados da URI- Erechim –RS. Durante o transporte até o início do processo, foi mantido sob refrigeração a 4°C. A cada ensaio eram congeladas amostras de 500 mL, para posteriormente serem utilizadas nas análises. O soro *in natura* foi caracterizado em termos de proteína, perfil eletroforético, sólidos totais, acidez, condutividade, pH, lactose, gordura, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), minerais (cálcio, sódio e potássio), atividade de água, umidade e propriedades funcionais (solubilidade (proteína) e emulsificante).

#### 3.2 PROCESSO DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

##### 3.2.1 Membranas de microfiltração e ultrafiltração

A membrana de microfiltração de fibra oca (Pan Membranas) de 0,4  $\mu\text{m}$ , com área de 2,2  $\text{m}^2$ , (Figura 6a) foi utilizada para a remoção das impurezas do soro *in natura*. A fração de permeado de MF foi caracterizado em termos de eletroforese, sólidos totais, acidez, condutividade, pH, lactose, gordura, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), minerais (cálcio, sódio e potássio), atividade de água e umidade. A membrana de ultrafiltração (Figura 6b) de poliamida, de configuração espiral (modelo 2538-K131-VYV da KOCH Membrane Systems), massa molar de corte (MMC) de 10 kDa e área de 1,8  $\text{m}^2$  com controle de pressão, foi utilizado para a obtenção do concentrado proteico do soro *in natura*.

**Figura 6** - Módulos da membrana de microfiltração (a) e ultrafiltração (b).



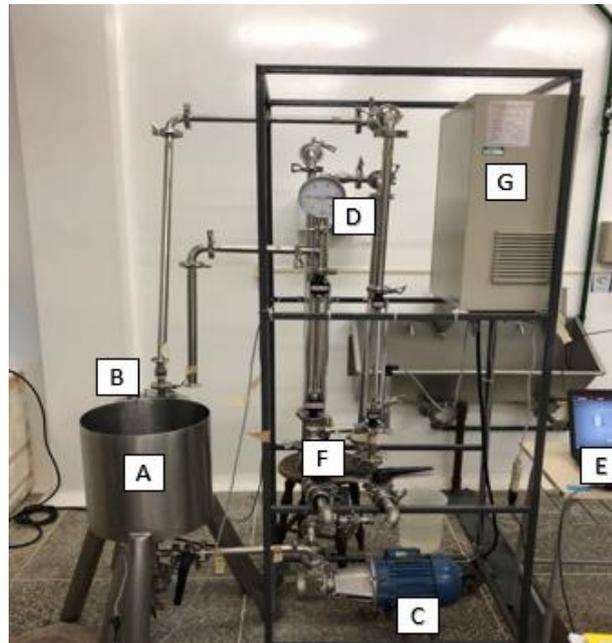
Fonte: Autor (2019).

### 3.2.2 Aparato experimental e processo de SPM

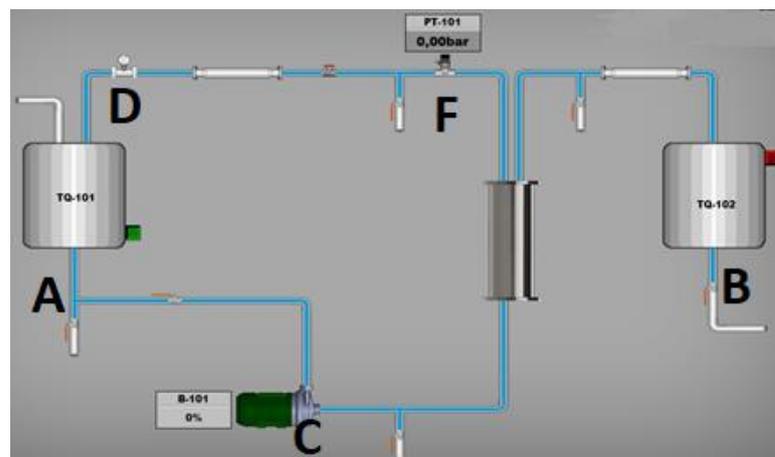
O processo de microfiltração, ultrafiltração e diafiltração foram realizados em planta piloto (Pam Membranas Seletivas) localizada no Laboratório de Tecnologia de Leites e Derivados da URI – Erechim-RS. A Figura 7 mostra a unidade de separação por membranas e a esquematização do processo.

A estrutura de filtração era composta de dois tanques de aço inoxidável, o tanque A é o tanque de alimentação e recirculação com capacidade de 30 L e o tanque B é o tanque de coleta de permeado com capacidade de 12 L, com fluxo tangencial. A alimentação do sistema foi realizada manualmente em bateladas. Inicialmente, acionou-se o quadro elétrico G e ajustou-se os limites de potência da bomba no computador E. Após ajustou-se a pressão desejada (1 bar) na válvula de controle F e regulou-se a vazão da bomba C. A temperatura (10°C) do soro foi controlada pelo termostato D.

**Figura 7** - Unidade de separação por membranas (a) Unidade piloto e (b) foto do painel de controle com os componentes do sistema.



(a)



(b)

Fonte: Autor (2018).

Primeiramente, adicionou-se ao tanque de alimentação um volume de 25 L de soro *in natura*, onde ele circulou-se pela membrana de MF a uma pressão de 1 bar e temperatura de 10 °C, para remoção das impurezas presentes no soro, sendo o permeado da microfiltração utilizado no processo de UF. No processo de concentração das proteínas, através da membrana de UF, o soro flui, sobre pressão, através da membrana, a qual permitiu a passagem de água, sais e lactose, que constituíram a solução chamada de permeado de UF. O retido pela membrana de UF foi denominado como concentrado de UF. Para a obtenção do

concentrado proteico de ultrafiltração adicionou-se ao tanque de alimentação um volume de 25 L de permeado de MF, sob pressão de 1 bar e temperatura 10 °C, sendo seu volume reduzindo até 3 L (volume mínimo que o piloto de filtração suporta), sendo o fator de concentração do processo de 8,33 (Equação 3, item 2.2.7).

Após a concentração do soro, foi obtida uma corrente de concentrado que ainda continha uma pequena concentração de lactose e sais minerais. A diafiltração possibilitou a permeação da lactose e dos sais, que ainda estavam presentes no concentrado, elevando o teor de proteínas. Para realizar a etapa de diafiltração, adicionou-se água com alto grau de pureza ao concentrado, um volume proporcional ao volume inicial de soro empregado no processo. O mesmo volume de água pura adicionado ao concentrado foi recolhido no permeado, fazendo com que o concentrado recircula-se em um volume inicial de 3 L. Foram realizadas três etapas de diafiltração até atingir a máxima remoção de lactose e sais minerais possíveis e aumentar a concentração de proteína. Para o acompanhamento das diafiltrações foi realizada análise de condutividade (Condutímetro DIGIMED DM-31). Ao final do processo foi obtido o concentrado proteico de soro (CPS) líquido.

Os fluxos de permeado foram obtidos através de medidas volumétricas (1 L) em função da pressão para água e soro de leite, tanto para a membrana de microfiltração como para a membrana de ultrafiltração, essas avaliações foram realizadas de 0,2 até 2 bar e a cada min por um período total de 30 min, sendo analisadas a uma temperatura de 10 °C.

As frações dos concentrados de UF e UF/DF foram caracterizados em termos de proteínas, perfil eletroforético, sólidos totais, acidez, condutividade, pH, lactose, gordura, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), minerais (cálcio, sódio e potássio), atividade de água e umidade.

Ao término 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 para remoção do residual de concentrado proteico, até o momento em que o permeado se apresentou visivelmente limpo. Após a lavagem com água utilizou uma solução comercial a base de alquil benzeno sulfonato de sódio e peróxido de hidrogênio à 10 % (Vanish) por 10 min recirculando seguido de enxágue.

### 3.3 SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO (*SPRAY DRYER*)

Para a obtenção de um concentrado proteico de soro (CPS) em pó, o concentrado proteico de soro (CPS) líquido da fração UF/DF foi seco em *spray dryer* (Lab Plant, modelo

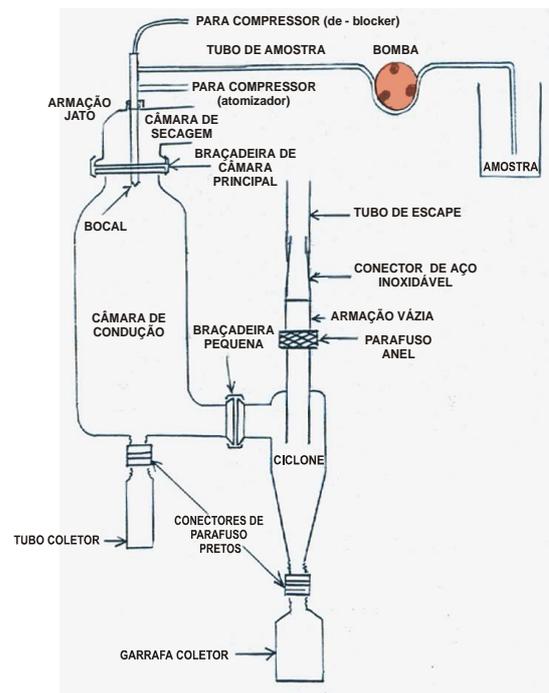
SD – 05) (Figura 8). A secagem foi conduzida com um bico atomizador de tamanho 3, pressão de atomização de 5,5 Kgf/cm<sup>2</sup>, temperatura de entrada de 170 °C, temperatura de saída de 90 °C e vazão de alimentação de 350 mL/h. As condições de secagem foram definidas, baseadas em ensaios preliminares e dados da literatura (O'Sullivan et al., 2018; SEGUENKA, 2016; VALDUGA et al., 2006).

**Figura 8** - Vista do spray dryer utilizado na secagem do concentrado da UF/DF (a) e representação esquemática dos componentes (b).



(a)

Fonte: Autor (2018).



(b)

Fonte: O'Sullivan et al. (2018).

O concentrado proteico líquido foi bombeado até o topo do atomizador, onde entrou em contato com o ar aquecido na câmara de secagem, ocorrendo à evaporação imediata da umidade contida no material. A corrente de ar quente-sólido foi direcionada em um ciclone onde se efetuou a separação do extrato encapsulado em recipiente de vidro (coletor de pó).

O concentrado proteico em pó foi caracterizado em termos de proteína, lactose, gordura, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), minerais (cálcio, sódio e potássio), atividade de água, umidade e propriedades funcionais (solubilidade proteico e emulsificante).

### 3.4 ELABORAÇÃO DO SUPLEMENTO *WHEY PROTEIN* SABOR AÇAÍ

O suplemento protéico - *whey protein* sabor açaí foi elaborado no laboratório de tecnologia de leites e derivados da URI- Erechim –RS. Foi utilizado o CPS em pó concentrado UF/DF nas proporções de 70, 50, 25 e 10% e polpa de açaí congelada (Mais Fruta) nas proporções de 30, 50, 75 e 90% (Formulações F1, F2, F3 e F4) adquirido no comércio local. Empregou-se como matriz encapsulante uma mistura de maltodextrina (gentilmente cedida pela empresa Ingredion-s) (0,3 g/mL) e goma arábica (Dinâmica) (0,2 g/mL). A polpa de açaí foi filtrada para a remoção parcial das partículas sólidas e após misturou-se a maltodextrina e a goma-arábica e homogeneizou-se. A mistura foi bombeada (350 mL/h), sob constante agitação, até o topo do atomizador (conforme detalhado no item 3.3), onde entrou em contato com o ar aquecido na câmara de secagem (170°C), ocorrendo à evaporação imediata da umidade contida no material. A corrente de ar quente-sólido foi direcionada em um ciclone onde se efetuou a separação do extrato encapsulado em recipiente de vidro (coletor de pó). Com a polpa de açaí seca, misturou-se a polpa com o CPS pó e adicionou-se água mineral (74 mL) para posterior análise sensorial e análises físico-químicas.

A formulação do suplemento proteico foi analisada em relação as características físico-químicas (proteína, cor e umidade) e análise sensorial (aceitabilidade) da bebida.

### 3.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS

Para a realização das análises de propriedades funcionais, foi utilizado amostras de soro *in natura* e do concentrado de UF/DF. Para tal as amostras foram secas no *spray dryer* e armazenadas em recipientes de vidro vedados. A avaliação das propriedades funcionais (solubilidade (proteína) e emulsificante), foi realizada em parceria com a UdeLaR – Montevideo/Uruguai.

#### 3.5.1 Solubilidade (proteína solúvel)

Inicialmente, determinou-se o teor bruto de proteína utilizando o método de Kjeldahl da amostra de concentrado de UF/DF utilizando a metodologia descrita no item 3.6.1.

A solubilidade foi determinada através da dispersão em tampão fosfato (0,01 M) para o pH 8,0 pelo método do ácido bicinconínico (BCA) (SMITH et al., 1985). 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, KILIAN, 2018).

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.

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

### 3.5.2 Emulsificante

#### a)Preparo das Emulsões

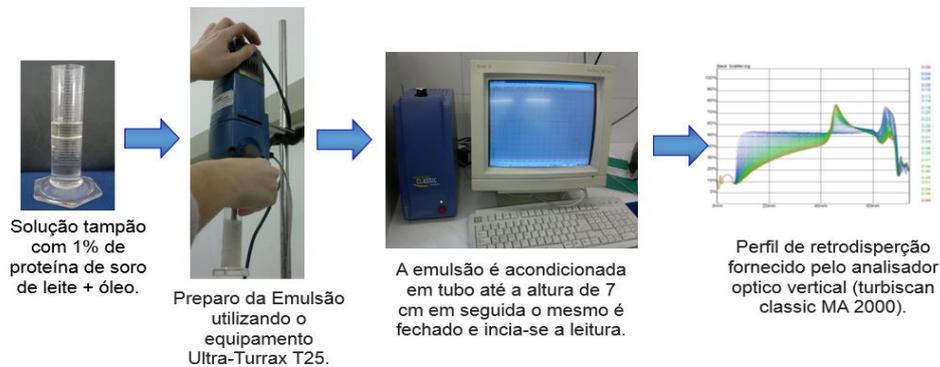
Para a avaliação da estabilidade da emulsão inicialmente foi preparado uma emulsão contendo 15 mL de solução tampão de fosfato de sódio para cada o pH 8,0 e com concentração proteica de 1,0 mg/mL e 5 mL óleo refinado comercial (mistura de 95 % de óleo de girassol e 5 % de óleo de milho), ou seja, uma emulsão óleo/agua 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 parametros  $RD_1$  estão relacionados com a formação de partículas pequenas e  $RD_2$  a partículas grandes. Esses parametros foram estimados mediante análise de regressão utilizando mínimos quadrados e avaliados no *software Statistica 5.0*.

Para determinar a velocidade de creme de uma partícula esférica isolado em um líquido, utilizou-se a Equação 6 que é a lei de Stokes.

$$v_{Stokes} = -\frac{2gr^2(\rho_2 - \rho_1)}{9\eta_1} \quad (6)$$

Onde:  $v_{Stokes}$  é a velocidade do cremado,  $r$  é o rádio da partícula,  $g$  é a aceleração devido à gravidade,  $\eta_1$  é a viscosidade da fase contínua,  $\rho$  é a densidade e os subscritos 1 e 2 referem-se às fases contínua e dispersa respectivamente.

### 3.6 METODOLOGIAS ANALÍTICAS

A caracterização do soro de leite *in natura*, das frações do permeado obtido do processo de MF, das frações dos concentrados obtidos dos processos da UF e DF, do CPS em pó e do suplemento proteico (*whey protein* sabor açai) foram realizados mediante determinações físico-químicas (proteína total, eletroforese, sólidos totais, acidez, condutividade elétrica, pH, lactose, gordura, cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), minerais (cálcio, sódio e potássio) atividade de água e umidade). As determinações de pH, acidez, condutividade elétrica e cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b$ ) foram realizadas logo após os processos, para as demais análises as amostras foram congeladas a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  por um período máximo de 15 dias, sendo descongeladas a temperatura ambiente sob água corrente.

#### 3.6.1 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 distintas: - Digestão da amostra, em sistema digestor Kjeldahl (VELP, UDK 126D), empregando ácido sulfúrico e pastilha catalisadora (3,5 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  e 3,5 mg de Se, FOSS); - 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; - Titulação do borato de amônia formado com solução de HCl 0,1 N. Na quantificação da proteína foi empregado o teor de nitrogênio multiplicando-se pelo fator de conversão de nitrogênio em proteína de 6,38.

##### 3.6.1.1 Frações das proteínas - 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 *in natura* submetido à MF nas frações de permeados, na UF nas frações de concentrados e nas três lavagens de DF nas frações de concentrados de acordo com metodologia descrita por Laemmli (1970), com modificações.

Para as análises de eletroforese em gel, as amostras foram preparadas por diluição em água obtendo-se uma concentração final de aproximadamente 200 mg/mL. Posteriormente,

adicionou-se 40  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) em 200  $\mu\text{L}$  das amostras e 100  $\mu\text{L}$  de água ultrapura a serem aplicadas no gel, contidas em tubos de centrifuga do tipo eppendorfs. Esta solução foi armazenada em freezer durante aproximadamente 8 h. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (Hettich Zentrifugen D78532) a 10000 x g, 4°C por 30 min, retirado o sobrenadante, tomando cuidado para que o pellet não fosse desfeito. Foi adicionado 100  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa gelada de acetona 90 %, a fim de lavar o pellet sem desfazê-lo, sendo este centrifugado como na etapa anterior. Novamente, o sobrenadante foi removido e adicionado mais 100  $\mu\text{L}$  de acetona 90 % gelada e centrifugado nas mesmas condições, removendo novamente o sobrenadante. O precipitado foi ressuspenso com 50  $\mu\text{L}$  do tampão da amostra ( $\beta$ -mercaptoetanol). Em seguida, as amostras foram desnaturadas em banho-maria a 100°C por 10 min.

Com o gel de empilhamento e de resolução prontos deu-se início a adição das amostras. No primeiro poço foram adicionados 15  $\mu\text{L}$  do padrão de massa molar (Fermentas Life Sciences), e nos outros poços foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  das amostras a serem analisadas (soro *in natura*, permeado de MF, concentrado de UF, 1° Diafiltração, 2° Diafiltração e a 3° Diafiltração).

A célula de eletroforese foi acomodada na cuba de eletroforese vertical e preenchida com tampão de corrida (contendo: 14 g de glicina, 1 g de dodecil sulfato de sódio (SDS), 3 g de Tris base e 1000 mL de água destilada) de modo a cobrir os poços do gel de empilhamento. A cuba foi fechada e ligada a uma fonte de alimentação de energia com corrente constante de 30 A e uma voltagem de 250 V, num tempo de aproximadamente 1 h para as amostras percorrerem o gel.

Após a corrida, o gel de empilhamento foi removido, e o gel de resolução foi corado com solução corante azul brilhante (Blue R-250) durante aproximadamente 24 h, até perfeita visualização das bandas.

### 3.6.2 Sólidos Totais

Os sólidos totais das amostras foram determinados por método gravimétrico em estufa de recirculação (Fanem – modelo 320 - SE) a 105°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).

### 3.6.3 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). A acidez total foi expressa em graus ° Dornic.

### 3.6.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica foi realizada em condutivímetro (RS 232-METER 8306), realizando-se leituras diretamente nas amostras.

### 3.6.5 pH

O pH foi determinado pelo método potenciométrico, segundo metodologia n° 4022 descrita pela AOAC (2005), utilizando pHmetro (Digimed DM-22), realizando-se leituras diretamente na amostra. O equipamento foi previamente calibrado com soluções padrões (4,01, 6,86, 9,0 e 10,01).

### 3.6.6 Lactose

A determinação da concentração de lactose foi realizada segundo metodologia descrita por Miller (1959) pelo método de DNS (3,5-dinitro salicilato). Os açúcares redutores foram quantificados por espectrofotometria em espectrofotômetro UV-Visível (Agilent Technologies, modelo 8453E) a 570 nm e para quantificação utilizou-se uma curva padrão de lactose com concentrações de 0,5 a 5,0 g/L.

### 3.6.7 Gordura

A determinação do teor de gordura das amostras foi realizada seguindo procedimentos descritos na Norma FIL-IDF 5B (1986), com modificações. Inicialmente, as amostras foram tratadas com ácido clorídrico 8,08 mol/L para hidrolisar a ligação proteína-gordura, e adição de álcool etílico, o qual separou a gordura e precipitou a proteína. A gordura separada foi extraída com éter de petróleo e éter etílico e após a separação de fases, a mistura de solventes

foi recuperada. O teor de gordura extraída foi quantificado pelo método gravimétrico em estufa (marca Fanen modelo 320 SE) a 105°C, com circulação de ar, até massa constante.

### 3.6.8 Índices de cor L\*, a\*, b\*

Para a determinação dos parâmetros de cor (L\* - luminosidade, a\* - + vermelho, - verde e b\* - + amarelo e -azul) foi utilizado o colorímetro Minolta (konica minolta CM-5). Foram efetuadas leituras direta nas amostras de soro *in natura*, frações de permeado de MF, concentrado de UF, UF/DF, concentrado proteico em pó e o *whey protein* utilizando cerca de 10 mL de amostra líquida e 10 g de amostra sólida. A cromaticidade C\* é determinada através da equação 11.

$$\sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (11)$$

### 3.6.9 Componentes Minerais

#### 3.6.9.1 Minerais totais (Cinzas)

O conteúdo de minerais totais (teor de cinzas) foi determinado conforme metodologia descrita por IAL (2005). Inicialmente, as amostras ( $\pm 4$  g) foram evaporadas, pré-carbonizadas em chapa elétrica, posteriormente incineradas em forno mufla (Fornos Lavoisier modelo 400 C) a 550°C por aproximadamente 8 h (aspecto das cinzas) e quantificação pelo método gravimétrico.

#### 3.6.9.1 Teor de cálcio, sódio e potássio

Os componentes minerais foram quantificados por espectrometria de absorção atômica em chama – FAAS (Varian Spectra AA-55) seguindo metodologia descrita por AOAC (2005), com modificações. Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco de Ca, Na e K como fonte de radiação. Os elementos foram medidos em condições de operação otimizadas por FAAS em chama ar/acetileno. Para eliminar possíveis interferências na determinação de Ca foi adicionado cloreto de lantânio (Merck) nas amostras e nas soluções padrões na proporção de 1 % (m/v). Os cálculos dos teores dos minerais nas amostras foram baseados em uma curva

de calibração com soluções padrões (Ca (10, 20, 30, 40 e 50 ppm). Na (10, 30, 50, 150 e 300 ppm) e K (10, 20, 50, 75 e 150 ppm)).

#### 3.6.10 Atividade de água

A atividade de água foi determinada por método direto através da utilização de um Analisador de Atividade de Água - Lab Touch (Novasina) previamente calibrado com padrões rastreáveis, com UR 11, 33, 58, 75, 84 e 97%. Onde a amostra permanece na câmara de análise até a estabilização e leitura.

#### 3.6.11 Umidade

A umidade foi determinada por método direto através da utilização de uma balança infravermelho marte (ID 200) onde foi adicionado 3 g de amostra uniforme em toda a área do prato, a uma temperatura de 105 °C, onde a amostra permanece na câmara de análise até a estabilização e leitura.

### 3.7 ANÁLISE SENSORIAL

Participaram 25 avaliadores, não treinados, alunos, docentes e funcionários da URI – Erechim/RS, na faixa etária de 17 a 56 anos, de ambos os sexos. O teste foi conduzido em cabines individuais iluminadas com lâmpadas de luz branca. Para as avaliações sensoriais preparou-se as amostras (F1, F2, F3 e F4) utilizando-se 3 g do concentrado proteico em pó (CPS), 3 g de açaí em pó e homogeneizou-se com 74 mL de água mineral. Cada avaliador recebeu aproximadamente 25 mL das formulações, em copos brancos descartável, distribuídos de forma balanceada e identificados com (F1, F2, F3 e F4), acompanhado de água mineral e biscoito de água e sal para minimizar o efeito residual entre uma amostra e outra, juntamente com a ficha de avaliação sensorial e preenchimento de Termo de Consentimento Livre (Anexo 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 e cor.

Para o cálculo do índice de aceitação (IA) do *whey protein* sabor açai foi adotada a Equação 12.

$$IA = \frac{\text{Média}}{\text{Pontuação máx da escala}} \times 100 \quad (12)$$

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das triplicatas de experimentos e das análises foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparação das médias pelo teste de Tukey e/ou *t student*, com auxílio do software *Statistica* versão 5.0, ao nível de significância de 95 % de confiança.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

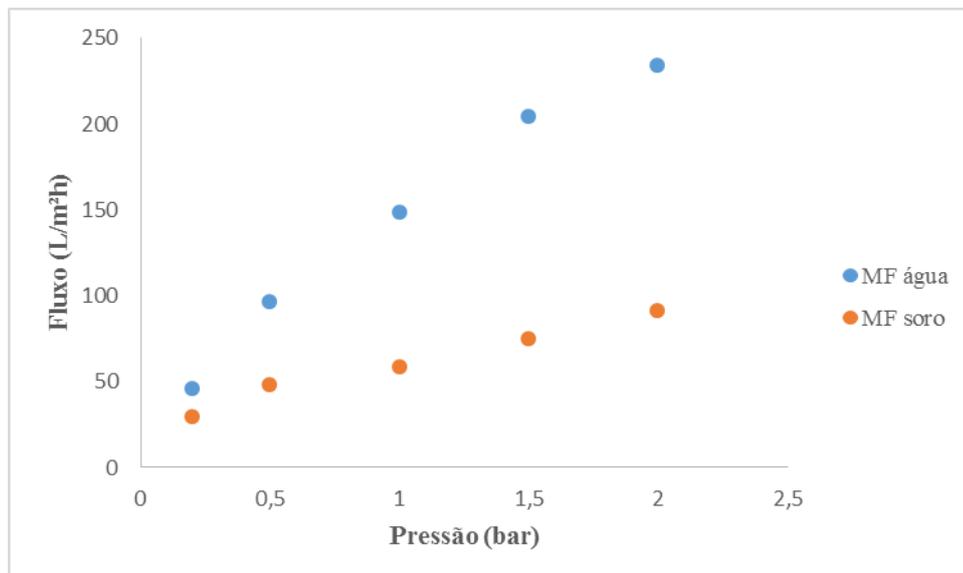
O presente capítulo tem por objetivo apresentar e discutir os resultados obtidos na etapa de concentração do soro de leite utilizando membrana de UF de 10 kDa, bem como a caracterização do soro *in natura*, a corrente de permeado de MF, a corrente de concentrado de UF e UF/DF, bem como o concentrado proteico em pó obtido pelo processo de *spray dryer*. Nesta seção também são apresentados os resultados da aplicação do concentrado proteico em pó no desenvolvimento e caracterização de formulações do suplemento proteico (*whey protein* sabor açáí).

### 4.1 CONCENTRAÇÃO DO SORO DE LEITE POR MEMBRANAS

#### 4.1.1 Fluxos de permeado da microfiltração (MF)

A Figura 10 apresenta o fluxo de permeado (L/m<sup>2</sup>h) para água e para o soro de leite nas pressões de 0,2 a 2,0 bar, a 10°C, empregando microfiltração com membrana de 0,4 µm.

**Figura 10** - Fluxos de permeados para a água e soro de leite, nas pressões de 0,2 a 2 bar, na membrana de microfiltração.



Fonte: Autor (2019).

Analisando os dados da Figura 10 o fluxo de permeado máximo para a água pura foi de 233,76 L/m<sup>2</sup>h na condição de operação de 2 bar. Já para o soro nesta mesma condição o

fluxo registrado foi de 90,90 L/m<sup>2</sup>h ocasionando uma redução de aproximadamente 2 vezes no fluxo médio, quando comparado ao da água.

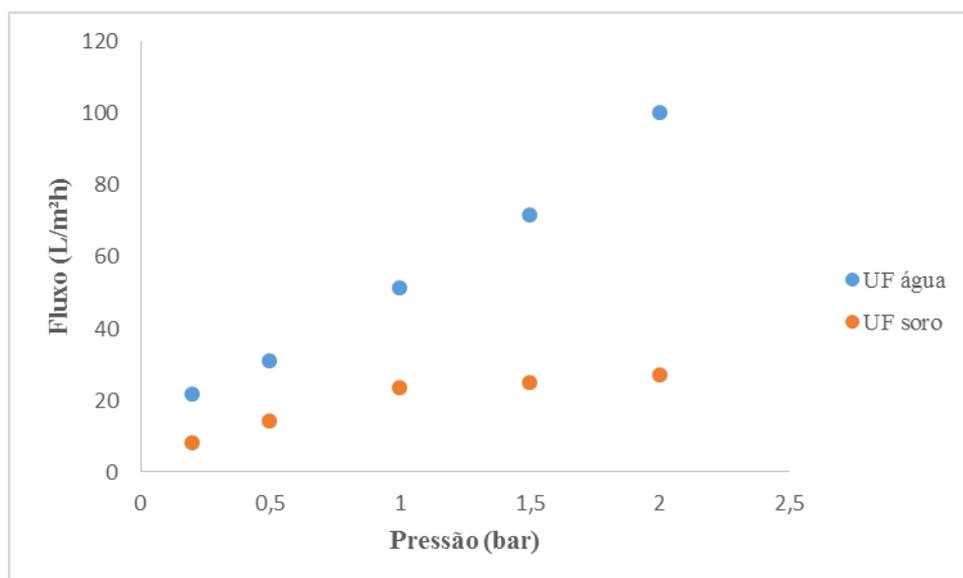
A membrana de microfiltração foi utilizada para a remoção das partículas mais sólidas do soro, porém pode-se observar que o fluxo de permeado para água apresentou um perfil praticamente linear, sendo este comportamento já esperado uma vez que o fluido utilizado (água deionizada) é livre de contaminantes (material suspenso e dissolvido), que são responsáveis pela polarização por concentração e *fouling*.

Um fator que pode ocasionar a diminuição do fluxo de permeado para o soro de leite é o tipo de escoamento (convencional), uma vez que neste tipo de escoamento tem-se uma maior concentração de partículas na região próxima à membrana com o decorrer do tempo, ocasionando uma queda maior do fluxo permeado em função do aumento da resistência à filtração.

#### 4.1.2 Fluxos de permeado da ultrafiltração (UF) e diafiltração (DF)

A Figura 11 apresenta o fluxo de permeado (L/m<sup>2</sup>h) para água e para o soro de leite nas pressões de 0,2 a 2,0 bar, a 10°C obtidos pelo processo de ultrafiltração com membrana de 10 kDa.

**Figura 11** - Fluxo de permeado da água e do soro de leite nas pressões de 0,2 a 2 bar para a membrana de ultrafiltração.



Fonte: Autor (2019).

Analisando os dados da Figura 11 o fluxo de permeado máximo para água pura foi de 100 L/m<sup>2</sup>h na condição de operação de 2 bar. Já para o soro, nesta mesma condição, o fluxo registrado foi de 26,88 L/m<sup>2</sup>h ocasionando uma redução de aproximadamente 4 vezes no fluxo médio de permeado, quando comparada com o da água.

Quanto aos fluxos de soro de leite é possível observar que ocorreu uma queda do fluxo de permeado, essa queda de fluxo de operação, deve-se principalmente aos fenômenos de polarização de concentração e *fouling*. Este fato já era esperado uma vez que os componentes do soro, principalmente as proteínas são retidas e se acumulam na superfície da membrana formando uma barreira.

Serpa (2005) utilizou o mesmo sistema de UF com membrana de 10 kDa, obteve valores de fluxo médio para a água na condição de pressão de 1,5 bar de 107,4 L/m<sup>2</sup>h. Já para o soro, esse mesmo autor, obteve um fluxo de 19,80 L/m<sup>2</sup>h, também na condição de pressão de 1,5 bar. Comparando com os resultados obtidos na Figura 10 o fluxo de permeado para o soro foi bem próximo ao do autor na pressão de 1,5 bar. Já para a água na pressão de 1,5 bar o fluxo foi de aproximadamente 70 L/m<sup>2</sup>h o que foi

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. (2015a), a principal desvantagem da concentração de proteína de soro de leite por meio de UF é entupimento da membrana, sendo que as proteínas do soro, principalmente a  $\beta$ -lactoglobulina e a  $\alpha$ -lactoalbumina são as responsáveis pela diminuição do fluxo de permeado. Perfil semelhante para UF de soro de leite foi também evidenciado por Almécija et al. (2007); Baldasso et al. (2011a); Serpa (2012) e Leidens (2013).

Um aumento de pressão até 1 bar acarretou em um aumento inicial no fluxo, entretanto, a mesma acelerou a formação de incrustações, prejudicando dessa forma operações de longa duração. No entanto, em 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; METSAMUURONEN; NYSTROM, 2009).

Crowley et al. (2015), investigaram a filtração de leite desnatado com membranas poliméricas a temperaturas de refrigeração ( $\pm 4^\circ\text{C}$ ) usando duas membranas de microfiltração de polivinilideno-difluoreto com tamanho de poro de 0,1  $\mu\text{m}$  e 0,45  $\mu\text{m}$ , e uma membrana de ultrafiltração de polietersulfona de 1000 kDa. Foi observado uma diminuição de fluxo de

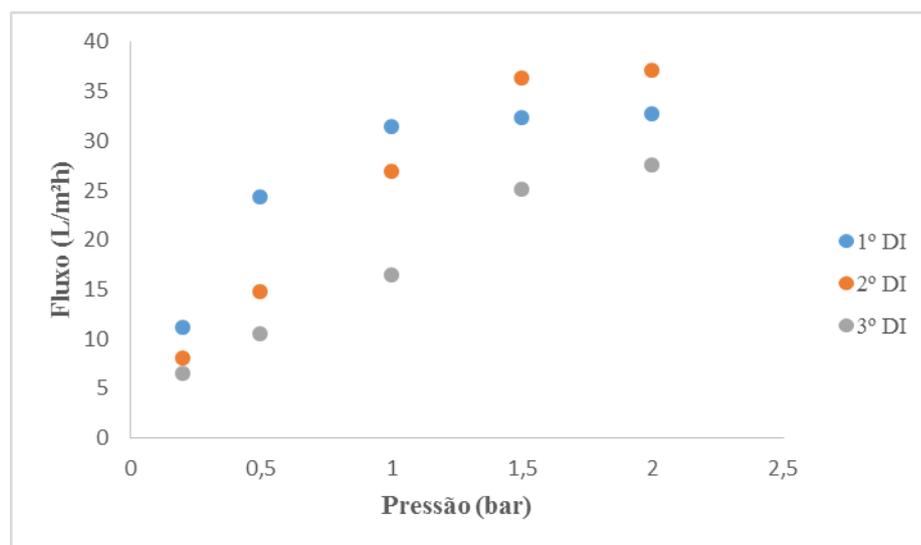
permeado durante a filtração com as três membranas testadas, provavelmente devido a uma combinação de polarização de concentração e incrustação gradual, sendo que o fluxo inicial mais elevado foi obtido com a membrana de polietersulfona de 1000 kDa. De acordo com os autores, os materiais da membrana podem ter uma influência acentuada no desempenho da filtração do leite desnatado a temperaturas de refrigeração.

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 (10°C) 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.

A Figura 12 apresenta o fluxo de permeado (L/m<sup>2</sup>h) para água e soro de leite nas pressões de 0,2 a 2 bar, a 10°C obtidos por UF/DF.

**Figura 12** - Fluxos de permeados do soro de leite nas pressões de 0,2 a 2 bar a 10°C para a membrana de UF/DF.



Fonte: Autor (2019).

Na Figura 12 observa-se um maior fluxo de permeado para ambas as diafiltração na condição de pressão de 2 bar, sendo que 1º diafiltração possui um fluxo de 32,67 L/m<sup>2</sup>h, a 2º diafiltração um fluxo de 37,03 L/m<sup>2</sup>h e a 3º diafiltração um fluxo de 27,54 L/m<sup>2</sup>h. Na 1º diafiltração iniciou com o fluxo de permeado abaixo do fluxo inicial da UF, devido ao *fouling* já formado na etapa de concentração das proteínas e, após diminuiu com o tempo. O mesmo ocorreu com a 2º diafiltração, pois este iniciou com fluxo de permeado menor que o da 1º diafiltração.

Durante a etapa de diafiltração, observou-se um aumento do fluxo no início de cada etapa de DF. Segundo Zacarchenco et al. (2012), esse aumento de fluxo ocorre porque a água adicionada dilui os sólidos presentes no retido, mas esse aumento não chegou a ser igual ao inicial do processo, mostrando que a membrana já apresentava sinais de colmatação. Conforme a água adicionada é removida no permeado e o retido recupera sua concentração inicial, o fluxo volta a cair, o que pode no final do processo para a produção do CPS, em alguns casos, ser menor que o inicial (SEGUENKA, 2016).

Segundo Rao (2002) e Rice et al. (2009), a presença do cálcio influencia na colmatação da membrana pela sua deposição direta na forma de sais de cálcio e sua interação com as proteínas. Segundo os autores, quase todos os constituintes do soro podem ser responsáveis, em alguma extensão, pelo *fouling* da membrana durante a ultrafiltração.

A queda dos fluxos nos processos de separação por membranas, ocasionados pelo *fouling*, geralmente são inevitáveis, sendo necessário interromper o processo para proceder uma limpeza com agentes químicos (MARSHALL; DAUFIN, 1995).

#### 4.2 CARACTERIZAÇÃO DO SORO DE LEITE DAS FRAÇÕES CONCENTRADAS (UF E UF/DF), PERMEADAS (MF) E DO CONCENTRADO PROTEICO EM PÓ

A Tabela 4 apresenta a caracterização do soro de leite, do permeado de microfiltração (MF), do concentrado de ultrafiltração (UF), da 3º diafiltração (UF/DF) e do concentrado proteico de soro (CPS) em pó obtido após a etapa de secagem por *spray dryer*.

De acordo com a Tabela 3, o pH do soro *in natura* foi de 6,56, do permeado de MF de 6,42, concentrado de UF de 6,41 e da UF/DF de 6,35, pode-se perceber que para o soro *in natura* e o concentrado de UF/DF houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em comparação as demais amostras, já para o permeado de MF e o concentrado de UF não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 4** - Caracterização do soro de leite, permeado de MF, concentrado de UF, concentrado de UF/DF (3º Diafiltração) e do CPS em pó.

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>Soro de leite**</b>	<b>Permeado MF**</b>	<b>Concentrado UF**</b>	<b>Concentrado UF/DF **</b>	<b>CPS em pó**</b>
<b>pH</b>	6,56 <sup>a</sup> ±0,005	6,42 <sup>b</sup> ±0,001	6,41 <sup>b</sup> ±0,115	6,35 <sup>c</sup> ±0,001	-
<b>Condutividade (mS/cm)</b>	5,80 <sup>a</sup> ±0,032	5,52 <sup>b</sup> ±0,01	5,31 <sup>c</sup> ±0,001	1,02 <sup>d</sup> ±0,002	-
<b>Índice de cor a*</b>	-1,01 <sup>c</sup> ±0,02	-1,32 <sup>d</sup> ±0,17	-1,17 <sup>cd</sup> ±0,05	0,04 <sup>b</sup> ±0,02	1,38 <sup>a</sup> ±0,08
<b>Índice de cor b*</b>	7,40 <sup>a</sup> ±0,01	7,38 <sup>a</sup> ±0,10	6,52 <sup>b</sup> ±0,01	3,04 <sup>d</sup> ±0,005	3,87 <sup>c</sup> ±0,007
<b>Índice de cor L*</b>	32,45 <sup>c</sup> ±0,02	29,60 <sup>c</sup> ±0,06	26,92 <sup>c</sup> ±0,06	40,86 <sup>b</sup> ±0,08	80,44 <sup>a</sup> ±29,51
<b>Cromaticidade C*</b>	7,47 <sup>a</sup> ±0,01	7,49 <sup>a</sup> ±0,005	6,64 <sup>b</sup> ±0,02	3,05 <sup>d</sup> ±0,006	4,86 <sup>c</sup> ±0,64
<b>Acidez °D</b>	16,68 <sup>d</sup> ±0,06	17,79 <sup>c</sup> ±0,07	22,57 <sup>a</sup> ±0,62	25,03 <sup>b</sup> ±0,01	-
<b>Umidade (%)</b>	93,6 <sup>a</sup> ±0,02	92,1 <sup>b</sup> ±0,01	92,4 <sup>b</sup> ±0,04	84,59 <sup>c</sup> ±0,01	7,9 <sup>d</sup> ±0,03
<b>Atividade de água</b>	0,962 <sup>b</sup> ±0,01	0,963 <sup>ab</sup> ±0,03	0,961 <sup>b</sup> ±0,02	0,964 <sup>a</sup> ±0,05	0,417 <sup>c</sup> ±0,04
<b>Sólidos Totais (%)</b>	6,85 <sup>c</sup> ±0,30	7,54 <sup>d</sup> ±0,001	8,16 <sup>c</sup> ±0,01	15,41 <sup>b</sup> ±0,10	92,10 <sup>a</sup> ±0,20
<b>Proteína (%)</b>	0,21 <sup>d</sup> ±0,02	-	2,86 <sup>c</sup> ±0,04	12,62 <sup>b</sup> ±0,17	78,27 <sup>a</sup> ±0,12
<b>Gordura (%)</b>	1,73 <sup>b</sup> ±0,24	0,13 <sup>c</sup> ±0,002	1,21 <sup>c</sup> ±0,003	0,43 <sup>d</sup> ±0,11	2,56 <sup>a</sup> ±0,17
<b>Cinzas (%)</b>	0,23 <sup>d</sup> ±0,08	0,44 <sup>c</sup> ±0,03	0,38 <sup>c</sup> ±0,015	0,20 <sup>b</sup> ±0,01	2,62 <sup>a</sup> ±0,11
<b>Lactose (%)</b>	4,68 <sup>b</sup> ±0,11	4,56 <sup>b</sup> ±0,14	3,71 <sup>b</sup> ±0,16	2,38 <sup>c</sup> ±0,26	8,65 <sup>a</sup> ±0,006
<b>Sódio (mg/100g)</b>	8,40 <sup>c</sup> ±0,09	6,62 <sup>d</sup> ±0,01	11,18 <sup>b</sup> ±0,08	2,66 <sup>e</sup> ±0,02	28,06 <sup>a</sup> ±0,07
<b>Cálcio (mg/100g)</b>	7,94 <sup>c</sup> ±0,04	4,85 <sup>d</sup> ±0,0001	12,13 <sup>b</sup> ±0,09	2,65 <sup>e</sup> ±0,05	45,26 <sup>a</sup> ±0,13
<b>Potássio (mg/100g)</b>	2,63 <sup>d</sup> ±0,0006	-	4,89 <sup>b</sup> ±0,02	3,07 <sup>c</sup> ±0,06	35,20 <sup>a</sup> ±0,03

\*\*médias (±desvio padrão) seguidas de letras iguais/linhas não diferem à nível de 5% (Teste de Tukey). Fonte: Autor (2019).

Resultados similares foram obtidos por Baldasso, Kanan, Tessaro (2011), utilizando soro de leite reconstituído, que obtiveram valores de pH entre 6,2 e 6,4 para as amostras de concentrado e permeado utilizando uma membrana de 10 kDa e temperatura de 50°C. 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. Segundo Ordonez (2005), no leite as bactérias lácticas metabolizam a lactose presente e produzem ácido láctico que se acumula ocasionando a redução do pH do e consequente acidificação.

De acordo com Carvalho et al. (2013), Smithers (2015) e Macedo et al. (2015), o soro de leite ácido apresenta um pH menor que 5,1. Enquanto, que o soro de leite doce apresenta pH mais elevados acima de 5,6. Os lotes de soro de leite utilizados neste estudo apresentaram pH médio de 6,56 podendo desta forma ser classificado como soro doce.

O soro doce obtido através da coagulação enzimática deve apresentar teores de acidez próximos a 16°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). De acordo com a Tabela 3 observa-se que o soro *in natura* apresentou acidez de 16,68°D, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) das demais amostras. Pode-se observar que tanto o permeado de MF, o concentrado de UF como o concentrado de UF/DF apresentaram um acréscimo ( $p < 0,05$ ) na acidez em relação ao soro *in natura*, de 17,79, 22,57 e 25,03°D, respectivamente. Os valores de acidez nas frações dos concentrados foram superiores ( $p < 0,05$ ) ao do permeado MF, este fato deve-se à ação de bactérias lácticas durante o período em que o soro permaneceu no sistema de UF, pois com a concentração do soro de leite e o crescimento de bactérias lácticas ocorre um aumento da produção de ácido láctico (ORDÓÑEZ, 2005), ocasionando um aumento significativo do teor de acidez desta fração.

Para Narimatsu et al. (2003), o leite ultrafiltrado é um meio no qual favorece o crescimento de cultura láctica, com a concentração do leite e o crescimento de bactérias lácticas ocorre um aumento da produção de ácido láctico ocasionando um aumento significativo do teor de acidez.

A condutividade elétrica do soro *in natura* foi de 5,80 mS/cm, permeado de MF de 5,52 mS/cm, concentrado de UF de 5,31 mS/cm e concentrado de UF/DF de 1,02 mS/cm, demonstrando diferença ( $p < 0,05$ ) significativa na condutividade das amostras.

A condutividade elétrica é uma medida indireta da concentração de íons na solução, assim soluções inorgânicas conduzem melhor a corrente elétrica que substâncias orgânicas (SEGUENKA 2016). Dessa 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.

Fato que é relatado por outros autores (CROWLEY et al., 2015; HOLDER et al., 2013), onde valores de condutividade dos concentrados foram menores em relação a condutividade, dos permeados, devido ao esgotamento e enriquecimento de minerais na fase do concentrado e permeado do leite desnatado, respectivamente.

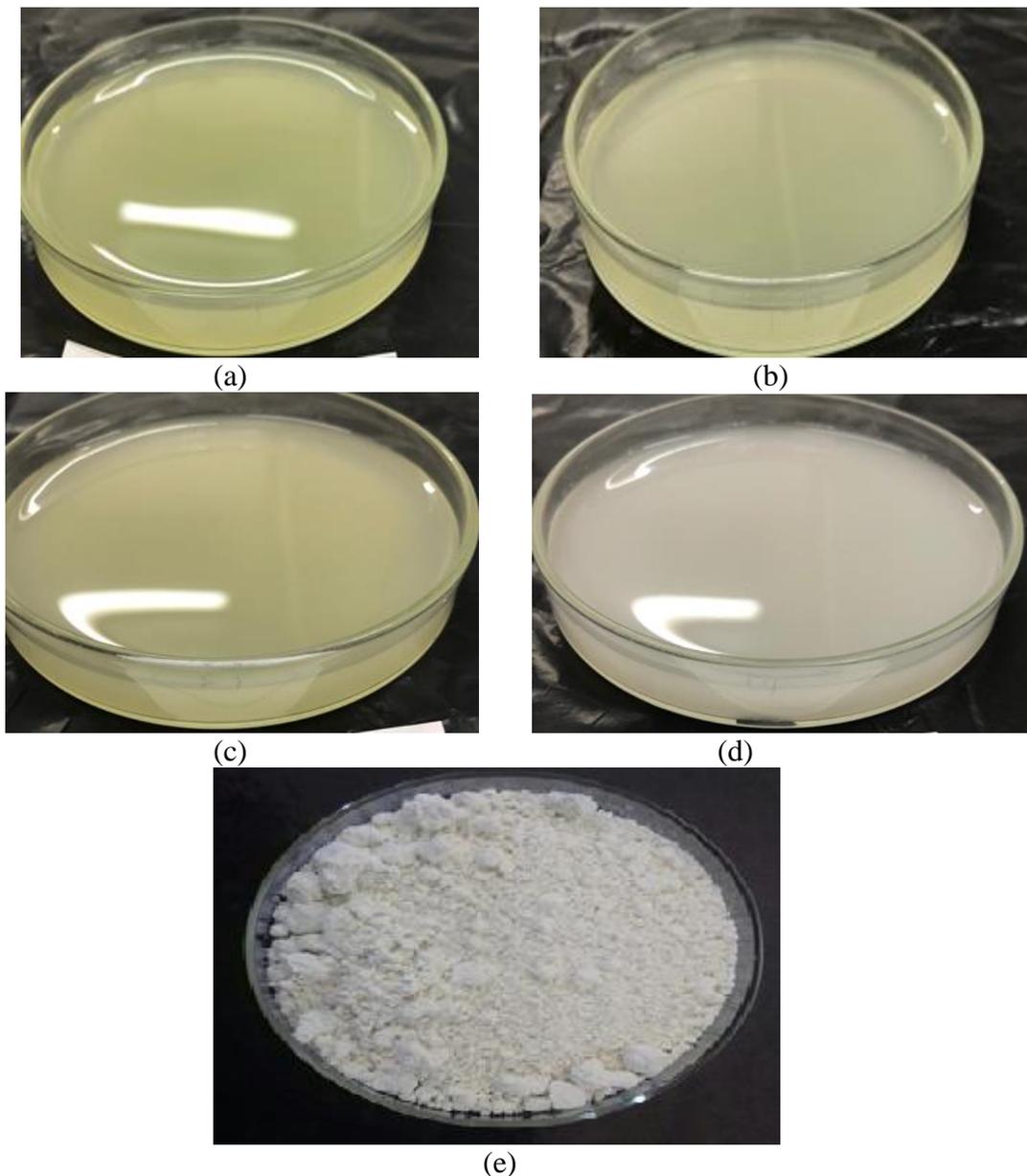
Para a etapa de UF/DF observa-se uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na condutividade elétrica, este fato ocorreu devido uma redução de íons, os quais são relacionados aos minerais. Além da permeabilidade de minerais pela membrana, devido ao tamanho (10 kDa), a diluição da amostra pelo acréscimo de água no processo de UF/DF, também contribui para estas diminuições. Do mesmo modo, que no presente estudo, Leidens (2013), Oliveira (2017) e Boschi (2006), também, observaram uma redução na condutividade elétrica ao longo do processo de UF/DF.

Os valores de  $L^*$  referem-se à luminosidade da amostra e variam de zero (0- preto) a cem (100-branco) na escala. O CPS em pó e o concentrado de UF/DF diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das demais amostras, apresentando as maiores luminosidades de 80,44 e 40,86, respectivamente. O soro *in natura* (32,45), permeado de MF (29,60) e concentrado de UF (26,92) não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). García-Pérez et al. (2005) atribuíram as reduções nos valores de  $L^*$  ao aumento da concentração de moléculas e conseqüentemente reduções na água livre do produto. Caldeira et al. (2010) avaliaram cinco formulações à base de leite de búfala, soro de queijo tipo frescal e iogurte e verificaram que as formulações com maiores percentuais de sólidos totais apresentaram menor reflexão de luz, ou seja, menor valor de  $L^*$ .

A cor  $b^*$  nas amostras de soro *in natura*, permeado de MF, concentrado de UF, concentrado de UF/DF e CPS pó (Tabela 4) apresentaram valores positivos, o que as caracterizam de cor amarela. Comparada as outras amostras, o concentrado de UF/DF apresentou o menor ( $p < 0,05$ ) valor (3,04), indicando a cor menos amarelada, como pode ser observado pelo aspecto da cor na Figura 13. Comportamento similar para a coordenada de cromaticidade  $b^*$ , foi encontrada por Azevedo et al. (2014), no desenvolvimento de filmes de concentrados proteicos de soro de leite (CPS) com 80 % de proteína para o uso em alimentos. Segundo os autores a presença de lactose pode contribuir para esta coloração. Isso poderia justificar a diminuição ( $p < 0,05$ ) da intensidade da cor amarela da fração concentrada de UF/DF, já que parte da lactose permeou pela membrana de 10 kDa. Pode-se observar que o

CPS pó (3,87) apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em comparação aos demais tratamentos. O soro *in natura* e o permeado MF apresentaram a maior intensidade ( $p < 0,05$ ) de coloração amarela (7,40 e 7,38), respectivamente.

**Figura 13** - Imagem do soro *in natura* (a), permeado de MF (b), concentrado UF (c), concentrado UF/DF (d) e CPS em pó (e).



Fonte: Autor (2019).

A coordenada cromática  $a^*$  varia de verde (negativo) ou vermelho (positivo). O permeado de MF apresentou-se com a maior ( $p < 0,05$ ) tonalidade verde (-1,32) em relação as demais amostras. Enquanto, que o concentrado UF/DF e o CPS pó apresentaram as maiores ( $p < 0,05$ ) tonalidades vermelhas (0,04 e 1,38), respectivamente.

Os valores do índice cromaticidade ( $C^*$ ), diminuíram durante o processo de UF/DF, apresentando diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as amostras (Tabela 4). Segundo Granato e Masson (2010), quanto mais elevados os valores de cromaticidade  $C$ , maior a intensidade da coloração. Deste modo, percebeu-se que a associação processo de DF ao processo de UF, promoveu a redução da intensidade da coloração.

Quanto a umidade para o soro *in natura* (93,6%), verifica-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras, o permeado de MF (92,1%) e concentrado de UF (92,4%) não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Já o concentrado de UF/DF (84,59%), apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras e o CPS em pó (7,9%) que também apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras. De acordo, com estudos de Alves et al, (2014) a umidade do soro em pó foi de aproximadamente cerca de 7,1 %.

Quanto a atividade de água não houve variação significativa ( $p > 0,05$ ) entre o soro *in natura* (0,962), permeado de MF (0,963) e concentrado de UF (0,961). O concentrado de UF/DF (0,964) diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do soro *in natura*, concentrado de UF e CPS em pó. Já o CPS em pó (0,417) diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) de todas as amostras.

Com relação ao teor de gordura do soro, este é influenciado diretamente pelo leite utilizado como matéria prima para produção do queijo, pelo rendimento do queijo e pelo próprio processamento. De acordo com a (Tabela 4) o soro *in natura* apresentou um teor de gordura de 1,73%, diferindo significativa ( $p < 0,05$ ) de todas as amostras. O teor de gordura do permeado de MF (0,130%) apresentou um percentual menor ( $p < 0,05$ ) em relação ao soro *in natura* isto indica que a membrana de microfiltração foi eficiente eliminando os constituintes do soro. O concentrado de UF (1,21%), o concentrado de UF/DF (0,432%) e o CPS em pó (2,56%) obtiveram diferença ( $p < 0,05$ ) significativa entre as amostras. O teor de gordura foi aumentando gradativamente durante as etapas do processo, o mesmo foi verificado por Seguenka (2016).

De acordo com Miller et al (2000) e Brans et al (2004), o percentual mássico de gordura para o soro de leite é em torno de 6%. Este percentual pode variar de acordo com a raça e a alimentação dos animais que produzem o leite, bem como do tipo do queijo, o qual gera o soro.

De acordo com Antunes (2003) para o aumento nos teores de proteína (60 a 80%) através do emprego do processo de DF, em que o CPS com 80% de proteínas apresentou 4 a 8% de gordura. Segundo Seguenka (2016), utilizando membrana de UF de 10 kDa seguindo

pelo processo de DF, após a secagem em *spray dryer*, obteve-se um CPS em pó (base seca) com teor de gordura de 5,98%.

O teor de lactose do soro *in natura* (4,68%), permeado de MF (4,56%) e concentrado de UF (3,71%) não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ). Pode-se observar que teor de lactose foi diminuído no concentrado UF/DF (2,38%), diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais. Isto indica que no processo de UF/DF ocorre a passagem da lactose pela membrana devido às lavagens sucessivas. A lactose é uma importante fonte de energia, contudo, a diminuição ou eliminação desse hidrato de carbono no produto é interessante para indivíduos que apresentam limitações ou intolerância a esse constituinte. O CPS em pó obtido apresentou uma concentração de lactose de 8,65%.

A membrana de 10 kDa empregada neste estudo, por apresentar massa molecular de corte superior ao peso molecular da lactose Brans et al., (2004), não deveria reter a lactose, mas como relatado por Arguello et al. (2002), a formação na camada gel na superfície da membrana e o *fouling* podem interferir na seletividade da membrana. O autor ainda menciona que o *fouling* pode ser provocado pela presença de frações proteicas dentro dos poros da membrana. Schneider e Tsutyia (2001) acrescentam que o *fouling* pode aumentar a polarização por concentração na medida em que retém solutos na superfície.

Em processos de UF, compostos de menor peso molecular, como a lactose (BRANS et al., 2004) e os minerais são capazes de ultrapassar a membrana (DALLAS et al., 2014). 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. Seguenka (2016), trabalhando com UF (10kDa) seguindo de diafiltração e após *spray dryer* não detectou lactose pelo método oficial indicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

O Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais (BRASIL,1998) que dispõe sobre os alimentos produzidos para portadores de intolerância à ingestão de dissacarídeos como a lactose por exemplo, passou a sofrer alterações para a lactose, após a publicação da Resolução - RDC nº 135, de 8 de fevereiro de 2017, ou seja, as empresas tinham que se adequar até o início de 2019, onde passou a existir duas classificações para alimentos e dietas com restrição de lactose; alimentos isentos de lactose ( $\leq$  a 100 mg/ 100 g ou mL) e alimentos com baixo teor de lactose ( $>100$  mg e  $\leq 1$  g /100 g ou mL), alimentos que

contenham lactose deverão informar no rótulo quando a concentração for acima de 0,1% (BRASIL, 2017). A norma aprovada no dia 31 de janeiro de 2017 pela ANVISA é decorrente da Lei 13.305 de 2016, que tornou obrigatória a informação da presença de lactose nos rótulos de alimentos. Embora os valores de lactose tenham sido reduzidos no concentrado proteico de soro de leite diafiltrado, o mesmo contendo 37,8 g/L de lactose, se utilizado na forma pura, seria enquadrado pela RDC nº 135, de 8 de fevereiro de 2017 como alimento que contém lactose. E o CPS pó investigado neste estudo, apresentou 86,5 g/L de lactose enquadrando-se também como um alimento que contém lactose. A presença de lactose em alimentos também está associada a problemas de cristalização na produção de lácteos, já que, apresenta solubilidade reduzida em relação a outros açúcares (dez vezes menor que a solubilidade da sacarose), acarretando aos produtos aspecto de arenosidade (ORDÓÑEZ, 2005).

O teor de sódio para o soro *in natura* foi de 8,40 mg/100g, para o permeado de MF 3,31 mg/100g, concentrado de UF 3,71 mg/100g, concentrado UF/DF 2,66 mg/100g e o CPS pó 28,06 mg/100g, onde houve diferença ( $p < 0,05$ ) significativa entre todas as amostras.

Dos sais presentes no soro de leite, o sódio é o único indesejável no produto final. A redução do teor de sódio dos alimentos tem sido orientada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2013). No Brasil, o consumo médio de sódio excede em mais de duas vezes a ingestão máxima de sódio recomendada pela OMS de 2 g/d (SARNO et al., 2013), sendo evidente a necessidade de redução desse componente em produtos industrializados. O consumo de 100 g de soro de leite em pó, quase atingiria o limite máximo orientado, dificultando sua aplicação e mostrando a importância do processamento para abrir oportunidades para sua utilização.

O Brasil segue a regulamentação do *Codex Alimentarius* para a inserção de *claims* nas embalagens de produtos industrializados. Segundo essa regulamentação, quando a concentração de sódio for menor que 120 mg/100g de alimento, indica-se que a presença desse mineral no produto é baixa (CODEX, 2013). Pode-se concluir que em todas as amostras a quantidade de sódio foi baixa.

Teor de cálcio para o soro *in natura* foi de 7,94 mg/100g, para o permeado de MF 4,85 mg/100g, concentrado de UF 12,13 mg/100g, concentrado UF/DF 2,65 mg/100g e CPS pó 45,26 mg/100g, onde houve diferença ( $p < 0,05$ ) significativa entre todas as amostras. O alto teor de cálcio favorece a redução da gordura corporal, por mecanismo associado ao hormônio  $1,25 (OH)_2D$ . Melhoram, também, o desempenho muscular, por elevarem as concentrações de glutatona, diminuindo, assim, a ação dos agentes oxidantes nos músculos esqueléticos (HARAGUCHI, 2006).

Teor de potássio para o soro *in natura* foi de 1,31 mg/100g, permeado de MF não apresentou, concentrado de UF 2,43 mg/100g, concentrado UF/DF 1,51 e o CPS pó 17,58 mg/100g, onde houve diferença ( $p < 0,05$ ) significativa entre todas as amostras.

De acordo com a Tabela 4 o teor de cinzas para o soro *in natura* foi de 0,23% apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) dentre as amostras. O permeado de MF 0,44%, e o concentrado de UF 0,38%, não apresentaram diferença significativa entre si. O concentrado UF/DF 0,20% ( $p < 0,05$ ), e o CPS pó 2,62% ( $p < 0,05$ ). Pode-se verificar que quando se adicionou água pura o teor de cinzas aumentou consideravelmente.

Antunes (2003) destaca a possibilidade de aumento nos teores de proteínas (60-80%) através do emprego do processo de DF, em que CPS com 80% de cinzas de 4 a 7%. Para ele, o aumento na concentração proteica pode provocar reduções significativas nos níveis de lactose do concentrado.

Palatnik et al. (2015), investigaram a recuperação de proteínas a partir de soro de leite caprino por UF com membrana de 10 kDa, obtiveram teores de cinzas para o concentrado e permeado de UF de respectivamente 0,51 e 0,41g/100g. Borges et al. (2001), também estudaram o processo de separação com membranas de UF de 10 kDa para fracionar e concentrar as proteínas do soro, aplicando a diafiltração de modo contínuo. Esses autores obtiveram um CPS com concentração de cinzas 2,77% próximas ao CPS produzido (Tabela 3). Seguenka (2016), também estudou o processo de separação por membranas de UF de 10 kDa, para a produção do concentrado proteico, utilizando o processo de diafiltração, onde obteve um CPS com concentração de cinzas de 2,15%.

Em relação aos sólidos totais (Tabela 4) verifica-se que houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as amostras. O teor de sólidos para o soro *in natura* foi 6,85%, o permeado de MF 7,54%, o concentrado de UF 8,16% e o concentrado de UF/DF 15,41%. Um incremento nas concentrações de sólidos foi verificado durante o processo de UF, devido principalmente ao aumento de concentração de proteína. O CPS em pó apresentou teor de sólidos de 92,10%.

O valor de sólidos totais é o parâmetro adotado para a verificação da concentração total de matéria seca não volátil das amostras de concentrado e permeado de soro de leite sendo que à medida que o soro de leite vai sendo concentrado, com o tempo ocorre um aumento no teor de sólidos do mesmo (BALDASSO et al., 2011a).

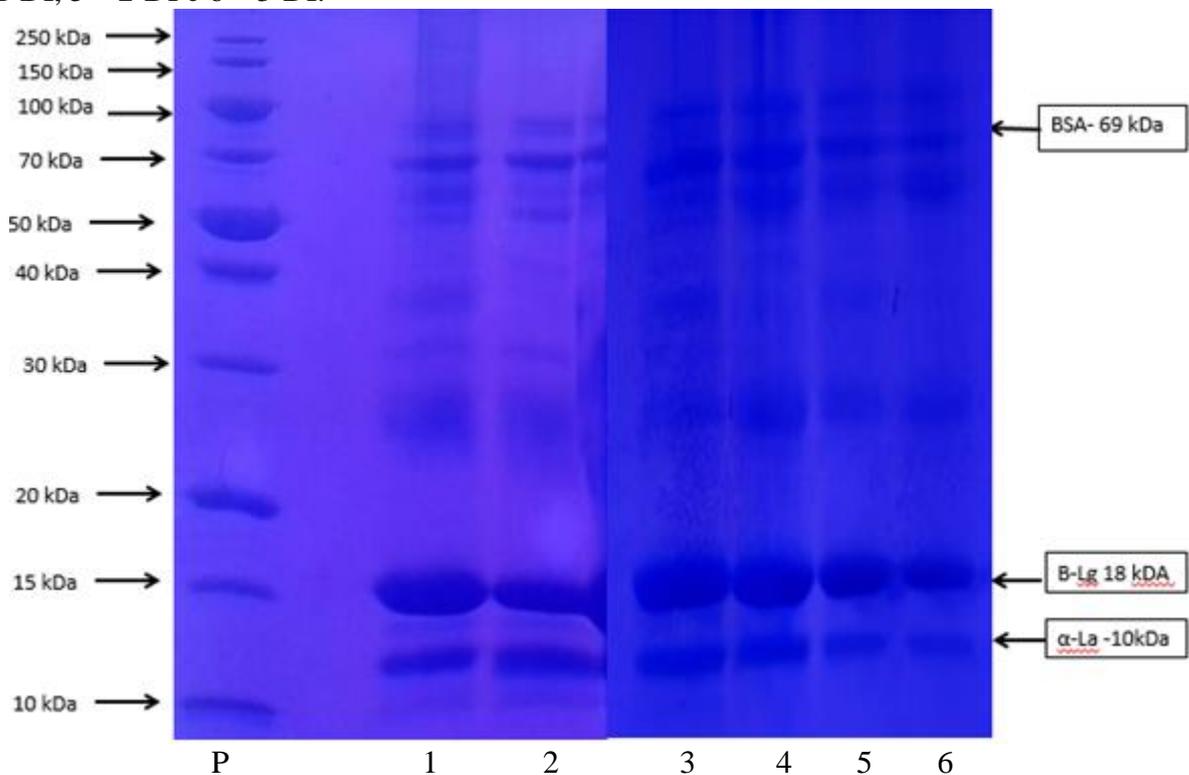
Seguenka (2016) estudou o processo de separação por membranas de UF de 10 kDa, para a produção do concentrado proteico, utilizando o processo de diafiltração. O soro *in natura* apresentou teor de sólidos de 5,49% e teor de sólidos para o CPS em pó de 93,71%.

O teor de proteína total para o soro *in natura* foi de 0,21% que diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das demais amostras. O concentrado de UF apresentou um teor de proteína de (2,86%) ( $p < 0,05$ ), que obteve um incremento de aproximadamente 92,65% em relação ao soro *in natura*. O concentrado de UF/DF apresentou um teor de proteína de 12,62% ( $p < 0,05$ ), que obteve um incremento 77,33% em relação ao concentrado de UF.

O CPS em pó apresentou um teor de proteína de 78%, o que pode ser considerado um CPS-80, pois, segundo Rodrigues (2011), para ser denominado como concentrado proteico de soro, o mesmo deve conter uma concentração de proteína maior que 25% e segundo Pagno et al. (2009) os CPS podem variar sua composição de proteínas de 35 a 80%. Seguenka (2016), em membrana de 10kDa obteve 89,95% de proteína em base seca.

A Figura 14 apresenta os principais constituintes que representam as proteínas do soro *in natura*, permeado de MF, concentrado de UF e os concentrado da UF/DF (diafiltrados) a 1 bar, onde a coluna P corresponde aos marcadores de massa molares de 250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15, 10 e 5 kDa.

**Figura 14** - Perfil eletroforético das amostras de soro *in natura*, permeado da UF, concentrado de UF e concentrado UF/DF: P - marcadores de massa molares de (250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15, 10 e 5 kDa); 1 - soro *in natura*, 2 – permeado de MF, 3 – concentrado da UF, 4 - 1ºDI, 5 – 2ºDI e 6 – 3ºDI.



Fonte: Autor (2019).

De acordo, com o gel de eletroforese (Figura 14) o soro de leite, o permeado de MF, o concentrado de UF e os concentrados UF/DF apresentam sinal forte (bandas) para a proteína  $\beta$ -lactoglobulina (18 kDa). A proteína  $\alpha$ -lactoalbumina (10 kDa), pode ser visualizada mais facilidade para o soro de leite e o permeado de MF. Desta forma, isto indica que estas ficaram retidas na membrana. Para a fração de permeado de MF e para a alimentação, além das proteínas  $\beta$ -Lg e  $\alpha$ -La, observa-se uma banda correspondente a albumina de soro bovina (BSA) (69 kDa).

Além disso, verifica-se a presença de outras bandas características de proteínas minoritárias no soro, sub-frações com pesos moleculares variados, ou mesmo variações conformacionais das proteínas. Estas observações estão em conformidade com Haraguchi et al., (2006) os quais afirmam que as frações, ou peptídeos do soro, são constituídas de  $\beta$ -Lg,  $\alpha$ -La, BSA, imunoglobulinas (Ig's) e glicomacropéptídeos (GMP), além de sub-frações ou peptídeos secundários que podem variar em tamanho, peso molecular. Hong et al., (2002) também encontraram sinais intermediários entre as bandas do BSA e da  $\beta$ -Lg e consideraram que eles correspondem a conformações que as proteínas adquirem no soro. Souza (2013) em estudo sobre a concentração das proteínas do soro de leite bovino por UF com membrana cerâmica de massa molar de corte de 20 kDa, verificou a presença de 14 cadeias polipeptídicas tanto na alimentação quanto no soro concentrado por membrana. Já no permeado da UF foram verificadas duas cadeias polipeptídicas, referentes às proteínas majoritárias no soro de leite  $\beta$ -Lg,  $\alpha$ -La.

Em síntese, a viabilidade do processo de concentração de proteína de soro de leite por membranas depende, em grande parte, das condições envolvidas, como as propriedades da membrana, tipo de escoamento, afinidade membrana-soluto, temperatura da solução, pressão entre outros.

#### 4.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO SORO DE LEITE

O teor proteico do concentrado UF/DF obtido pelo processo de concentração utilizando membrana de fibra oca de 10 kDa na condição de 10°C e 2 bar, seguido de secagem por *spray dryer* resultou em um valor médio de proteína de 77% (base seca).

O índice de solubilidade obtido pela equação 4 em pH 8,0 foi de 85,57%. Kilian (2018), avaliou a recuperação e caracterização de proteínas de soro de leite aplicando o processo de separação de membranas, utilizando o processo de ultrafiltração em pH 5,0 e 7,0 encontrou índice de solubilidade 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.

Os valores de proteína e de solubilidade foram semelhantes aos obtidos por Pagno et al. (2009), com teores de 71 e 80 % de proteína em pH 6,8 e 40°C e obteve solubilidade de 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.

Segundo Pelegrine e Gasparetto (2005), 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.

Com relação a estabilidade das emulsões os resultados estão apresentados na Tabela 5. Conforme da Equação 5, tem-se 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 5** - Estabilidade das emulsões do soro *in natura* e do concentrado UF/DF.

Amostra	$RD_0$	$RD_1^{**}$	$K_1^{**}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$RD_2^{**}$	$K_2 10^{-2}^{**}$ ( $\text{min}^{-1}$ )
<b>Soro <i>in natura</i></b>	53,8 <sup>b</sup>	23,5 <sup>b</sup> ±0,6	1,35x10 <sup>-3b</sup> ±0,09	30,3 <sup>b</sup> ±0,5	1,07 <sup>b</sup> ±0,02
<b>Concentrado UF/DF</b>	56,9 <sup>a</sup>	31,6 <sup>a</sup> ±1,6	9,7x10 <sup>-4a</sup> ±0,8	25,3 <sup>a</sup> ±0,8	1,1 <sup>a</sup> ±0,1

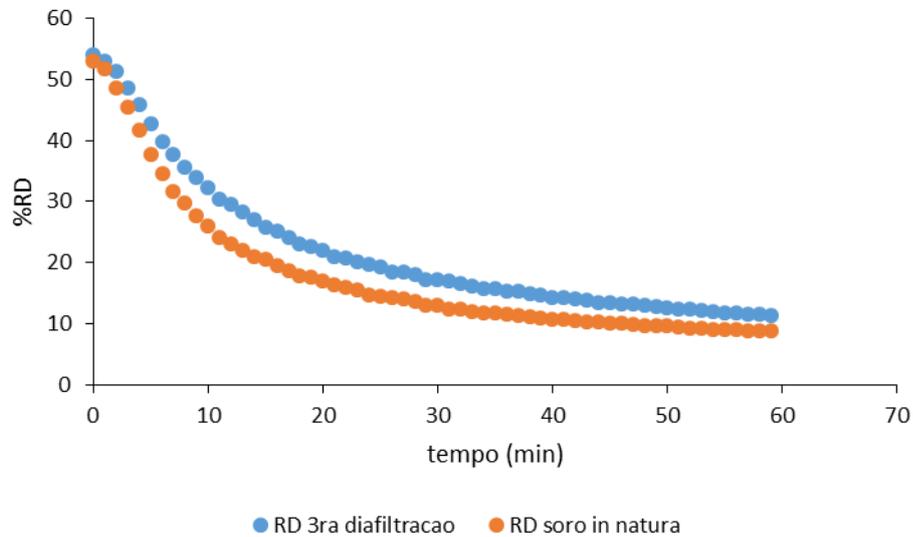
\*\* valores ±desvio padrão que se encontram na mesma coluna com a mesma letra não apresentam diferença estatística a 5% (Teste de t-student). Fonte: (Autor, 2019).

Analisando os dados da Tabela 5 observa-se 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). De acordo com Kilian (2018) que avaliou a recuperação e caracterização de proteínas de soro de leite aplicando o processo de separação de membranas, utilizando o processo de ultrafiltração e avaliando o concentrado de UF em e, pH 5,0 e 7,0 encontrou valores aproximados para o parâmetro  $RD_0$  (57,74 e 62,46).

Geralmente as emulsões preparadas com Ultra-Turrax eles apresentam dois tamanhos diferentes de partículas. Então cada término da equação corresponde a um destes tamanhos. Neste caso,  $K_2$  corresponde as gotas mais grandes e  $K_1$  para o menor. Como são constantes de desestabilização quanto maiores são mais instáveis são as emulsões.

As grandes gotas representadas com  $K_2$  são aquelas que crescem primeiro no tempo. Neste caso não existem diferenças significativas. As gotas pequenas representadas com  $K_1$  são aquelas que crescem mais lentamente no tempo. De acordo com a Figura 15 pode-se verificar uma diferença entre o concentrado UF/DF e o soro *in natura*. A amostra mais instável é o soro *in natura* com respeito a desestabilização por cremação.

**Figura 15-** Valores médio e parâmetros sigmoidal e hiperbólico de retroespelhamento na zona 10-20 mm (RD10-20) na função do tempo de acordo com a equação 5.



Fonte: Autor (2019).

Pode-se observar que os valores iniciais de RD correspondentes a cinética sigmoidal e diminuem sua contribuição com o valor de RD total no tempo, tornando-se quase zero em torno de 30 min. Enquanto, que o componente hiperbólico diminui gradualmente e aumenta com o tempo de sua contribuição para valor de RD total, sendo esta contribuição quase total de 30 min. É adequado associar as gotas de maior tamanho com a variação de RD com cinética sigmoide (RDs).

Abirached et al. (2018) estudaram o efeito da modificação ácida da proteína glicinina 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.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DO *WHEY PROTEIN* SABOR AÇAÍ

Para a caracterização do suplemento proteico *whey protein* sabor açaí, primeiramente foi realizado a análise sensorial em relação ao sabor, cor e aceitação e posteriormente, caracterizada em termos de umidade, proteína e índices de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ).

#### 4.4.1 Análise sensorial

A Tabela 6 apresenta os valores médios das pontuações dos avaliadores para os atributos (cor e sabor) e o índice de aceitação para as formulações de *whey protein* sabor açaí.

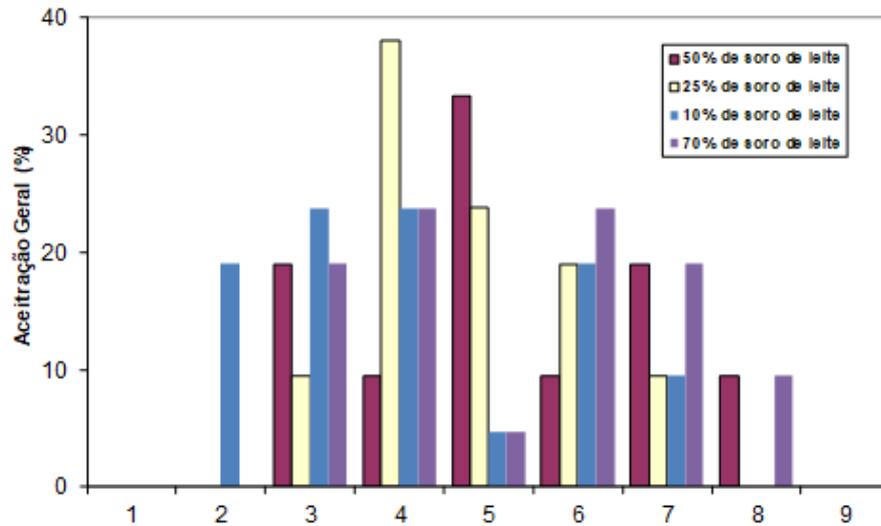
**Tabela 6** - Pontuação média dos provadores para os atributos sabor e cor do *whey protein* sabor açaí.

<b>Amostras</b>	<b>Sabor**</b>	<b>Cor**</b>	<b>Índice de Aceitação(%)</b>
<b>70% CPS e 30% açaí</b>	5,28 <sup>a</sup>	7,08 <sup>b</sup>	58,67 <sup>a</sup>
<b>50% CPS e 50% açaí</b>	5,29 <sup>a</sup>	7,13 <sup>b</sup>	58,78 <sup>a</sup>
<b>25% CPS e 75% açaí</b>	4,81 <sup>ab</sup>	7,43 <sup>a</sup>	53,44 <sup>b</sup>
<b>10% CPS e 90% açaí</b>	4,21 <sup>b</sup>	7,74 <sup>a</sup>	46,78 <sup>c</sup>

\*\* valores que se encontram na mesma coluna com a mesma letra não apresentam diferença estatística a 5% (Teste de t-student). Fonte: (Autor, 2019).

Com relação ao sabor e cor as formulações diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ), sendo que a formulação com 10 e 25 % CPS (90 e 75% de açaí) se sobressaíram em relação a cor. No entanto, as formulações com 50 e 70% de CPS se sobressaíram no sabor e aceitabilidade. As amostras com 70, 50, 25 e 10% de CPS apresentaram no histograma de frequência (Figura 16) valores de 53, 38, 29 e 29 % de aceitação geral para o sabor. Porém, os avaliadores não atribuíram pontuações elevadas, demonstrando que o açaí influenciou negativamente no atributo sabor e na aceitabilidade.

**Figura 16** – Histograma de frequência para a aceitação geral do whey protein sabor açaí.



Fonte: Autor (2019).

Nas formulações elaboradas de *whey protein* ressalta-se que não foi adicionado açúcar e/ou adoçantes e na maioria dos *whey protein* comercializados há a adição de adoçantes de fontes naturais como xilitol, estévia, eritritol e taumatina e/ou também, de aromas naturais. Fato, que pode ter interferido na avaliação sensorial por julgadores não treinados e além disso, muitos julgadores não tem hábito de consumo de produtos à base de açaí.

#### 4.4.2 Características físico-química do *whey protein* sabor açaí

A Tabela 7 apresenta os resultados de umidade, proteína e índices de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) do suplemento proteico *whey protein* sabor açaí com 50% de CPS e 50% de açaí, sendo que esta foi a formulação que se sobressaiu na avaliação sensorial. O teor de umidade do suplemento proteico foi de 3,70%. Ao comparar os dados com a literatura, este valor é inferior aos obtidos por Menezes et al. (2008) que foi de 4,92%, porém na polpa de açaí liofilizada. O teor de proteína para o *whey protein* sabor açaí foi de 62% (Tabela 7), sendo que deste valor, 39,35% corresponde ao concentrado de soro de leite em pó.

O suplemento proteico (Tabela 7) apresentou luminosidade de 24, cor  $a^*$  de 14,53 e cor  $b^*$  de 9,78, caracterizando o produto com tonalidade de cor violácea-roxa intenso (Figura 17).

**Tabela 7** - Teores de umidade, proteína e índices de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) do suplemento proteico whey protein sabor açaí com 50% de CPS e 50% de açaí.

Parâmetros avaliados	50 % CPS e 50 % açaí**
Umidade (%)	3,70±0,01
Proteína (%)	62,00±1,00
$L^*$	24,00±1,88
$a^*$	14,53±0,93
$b^*$	9,78±0,24

\*\*médias ( $\pm$ desvio padrão) Fonte: (Autor, 2019).

**Figura 17-** Aspecto visual da cor do whey protein sabor açaí (50% CPS e 50% açaí).



Fonte: Autor (2019).

O *whey protein* sabor açaí confere solubilidade quando diluído com a água assim como sua dispersão no líquido deixando-o com aspecto homogêneo na textura e na cor. Outro ponto importante é a questão da interação da proteína com a própria proteína garantindo coesão das moléculas que serão posteriormente absorvidas em maior quantidade.

O *whey protein* sabor açaí pode ser consumido das duas formas com água ou leite. Em relação a quantidade de líquido, recomenda-se, em média, 100mL a 150mL de água gelada ou leite para 30g de *whey protein*.

Na indústria de alimentos o *whey protein* tem sido utilizado na produção de bebidas lácteas, principalmente como suplemento proteico (PELEGRINI; CARRASQUEIRA, 2008), na produção de pães e bolos, que o utilizam para aumento de volume, além de atuar como antiaglutinante em misturas secas (ZAVAREZE; MORAES; SALASMELLADO, 2010), na elaboração de sorvetes e sobremesas lácteas, conferindo maior aeração no produto, para a

formação de espumas estáveis (CALDEIRA et al., 2010) e, também, para melhoria da textura de doces de leite (VIOTTO; MACHADO, 2007).

Segundo pesquisa publicada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), com aumento da expectativa de vida dos brasileiros, também, cresce a preocupação com uma alimentação saudável e nutrição (INDUSTRIATIVIDADE, 2017). Sobre o consumo de suplementos no país, 75% das pessoas, que utilizam esse tipo de produto, tem como objetivo complementar a alimentação e 57% buscam promover o bem-estar físico, além do mais, 96% das pessoas se satisfazem com os resultados da suplementação e 53% garantem que os suplementos aumentem a disposição física (SANTINI; MELENDEZ, 2016). Além disso, normalmente o consumo de suplementos proteicos está associado em programas de treinamento de atletas ou praticantes de exercícios físicos, que buscam melhoria da performance muscular.

## 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, diminui com o tempo de operação devido principalmente ao *fouling* e colmatação. Durante a etapa de DF de 10 kDa pode-se observar um aumento do fluxo, pois a água adicionada dilui os sólidos presentes no retido, mas conforme está água é removida no permeado e o retido, recupera sua concentração inicial e o fluxo volta a cair. Causando o *fouling* e tento que as vezes interromper o processo para limpeza da membrana.

O processo ultrafiltração (UF) obteve-se um incremento no teor de proteína de 89% em relação ao soro de leite. Com o concentrado de (UF/DF), o incremento no teor de proteína foi de 42,24% em relação ao concentrado de UF. O conteúdo de proteína total em relação ao CPS em pó, atingindo o percentual de 78%, com predominância das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina, com índice de solubilidade média de 85% em pH 8. Em virtude de sua composição, o concentrado proteico de soro de leite diafiltrado em pó (CPS) foi classificado como concentrado proteico de soro CPS-80.

O suplemento proteico elaborado com 50% de concentrado proteico de soro (CPS-80) em pó e 50% açaí em pó apresentou 62% proteína (97,3% de sólidos), sendo classificado como um concentrado proteico de soro CPS-60. Este produto alimentício pode ser indicado como uma alternativa de suplemento proteico para praticantes de atividade física e/ou para as pessoas que buscam fontes alimentícias proteicas.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo do aproveitamento do permeado resultado do processo de UF e UF/DF;
- Realização das análises microbiológicas nas amostras de concentrado e permeado da UF e das DFs;
- Adição de adoçantes naturais e aromas no *whey protein* sabor açai;
- Avaliar as propriedades funcionais do *whey protein* sabor açai (solubilidade proteica; índice de atividade emulsificante; expansão e estabilidade espumante).

## 7 REFERÊNCIAS

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: 25 fev. 2019.

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

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.

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

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.

ALVES, M.P.; MOREIRA, R.O.; RODRIGUES JUNIOR, P.H.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, mai./jun., 2014.

ANDREWS, A.T.; ALICHANIDIS, E. Proteolysis of caseins and the proteose-peptone fraction of bovine milk. **Journal of Dairy Research**, n. 50, p. 275-290, 1983.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. São Paulo: Ed. Manole, p.142, 2003.

BRASIL. **Programa de análise de produtos: Relatório final sobre a análise em suplementos proteicos para atletas – Whey Protein 2014.** Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/Relatorio\\_Whey\\_Final.pdf](http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/Relatorio_Whey_Final.pdf). Acesso em 23 de novembro de 2018.

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

ARGUELLO, M.; ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Enzymatic cleaning of inorganic ultrafiltration membranes fouled by whey protein. **Journal agriculture food chemical**, V.50 P. 1951-1958, 2002.

AZEVEDO, V. M.; COSTA, A. L. R.; FUKUSHIMA, K. L.; BORGES, S.V. **Propriedades de barreira, mecânicas e ópticas de filmes de concentrado proteico de soro de leite.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.69, n.4, p.237-247, jul./ago. 2014.

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.** 2008. 163f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – 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.

BERNAUD, R. F. S.; FUNCHAL, C. D. S. Atividade antioxidante do açaí. **Nutrição Brasil**, v. 10, n. 5, p. 310-316, 2011.

BOBBIO, F.O.; DRUZIAN, J.I.; ABRÃO, P.A.; BOBBIO, P.A.; FADELLI, S. 2000. Identificação e quantificação das antocianinas do fruto do açaizeiro (*Euterpe oleracea*) Mart. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 20(3):388-390.

BONOMO, L. F.; SILVA, D. N.; BOASQUIVIS, P. F.; PAIVA, F. A.; GUERRA, J. F.; MARTINS, T. A.; TORRES, Á. G. J.; PAULA, I. T.; CANESCHI, W. L.; JACOLOT, P.; GROSSIN, N.; TESSIER, F. J.; BOULANGER, E.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; OLIVEIRA, R. P. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) modulates oxidative stress resistance in *Caenorhabditis elegans* by direct and indirect mechanisms. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e89933, 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089933>. PMID:24594796.

BORGES, P.F.Z.; SGARBIERI, V.C.; DIAS, N.F.G.P.; JACOBUCCI, H.B.; PACHECO, M.T. B.; BALDINI, V.L.S. **Produção piloto de concentrados de proteínas de leite bovino: composição e valor nutritivo**. Brazilian Journal of Food Technology, v. 4, n. 411, p. 1-8, 2001.

BOSCHI, J. R. **Concentração e purificação das proteínas do soro de queijo por ultrafiltração**. 2006. Dissertação (Mestrando em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande, Porto Alegre, 2006.

BRANS, G. **Design of membrane systems for fractionation of particles suspensions**. PhD Thesis, Wageningen University, Netherlands, 2006.

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.

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. Portaria nº 53, de 10 de abril de 2013. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria no 31 SVS/MS, de 13 de janeiro de 1998. A Secretária de Vigilância Sanitária do MS aprova o Regulamento Técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais. **Diário Oficial da União**, 1998.

BRODY, E.P. Biological activities of bovine glycomacropeptide. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 39-46, 2000.

BUTYLINA, S., LUQUE, S. Y NYSTRÖM, M. Fractionation of whey-derived peptides using a combination of ultrafiltration and nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, v.280, p. 418-426, 2006.

BYYLUND, G. Tetra Pak Dairy Processing Handbook. **Sweden: Tetra Pak Processing System**, 1995.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S. P. B.; FERNANDES, S. A. DE A.; MAGNAVITA, A. P. A.; SANTOS, T. D. R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p. 2193-2198, 2010. ISSN 0103-8478. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010005000176>. Acesso em: 2018.

CAMPOS, T.C.A.S; D'ALMEIDA, W.K.; ALEGROC, L.C.A; ROIG, S.M.; SUGUIMOTOE, H.H. Use of  $\beta$ -galactosidase on Hydrolysis of Milk Lactose in Low Temperature. **UNOPAR Científica Ciênc. Biol. Saúde**, v.11, n.4, p. 51-54, 2009.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. Review- Cheese whey wastewater:Characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 445-446, p.385-396, 2013.

CHANDRAPALA, J.; CHEN Q. G.; KEZIA, K.; BOWMAN G. E.; VASILJEVIC, T.; KENTISH, E. S. Removal of lactate from acid whey using nanofiltration. **Journal of Food Engineering**, v. 177, p. 59-64, 2016.

CODEX. Codex Alimentarium. Guidelines for use of nutrition and health claims. **Nutrition and Health Claims (CAC/GL 23-1997)**, 2013. Disponível em: <http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/> . Acesso em: 5 dez. 2015.

CORBATO N-BA GUENA, M.-J., A LVAREZ-BLANCO, S., VINCENT-VELA, M.-C. Evaluation of fouling resistances during the ultrafiltration of whey model solutions. **Journal**

of **Cleaner Production**, v. 172, p. 358-367, 2017.

CORTEZ, N. M. S. **Diagnóstico da produção do soro de queijo no estado do Rio de Janeiro**. 2013. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

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.; CALDEO, V.; McCARTHY, N.A.; FENELON, M.A.; KELLY, A.L.; O'MAHONY, J.A. 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.

DALLAS, D.C.; WEINBORN, V.; DE MOURA BELL, J.M.L.N.; WANG, M.; PARKER, E.A.; GUERRERO, A.; HETTINGA, K.A.; LEBRILLA, C.B.; GERMAN, J.B.; BARILE, B. **Comprehensive peptidomic and glycomic evaluation reveals that sweet whey permeate from colostrum is a source of milk protein-derived peptides and oligosaccharides**. *Food Research International*, v. 63, p. 203-209, 2014.

DARNET, S.; SERRA, J. L.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. A high-performance liquid chromatography method to measure tocopherols in assai pulp (*Euterpe oleracea*). **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2107-2111, 2011.

DE WIT, J.N. **Lectures's handbook of whey and whey products**. Brussels: European Whey Products Assianton, 2001.

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.

DRAGONE, G.; MUSSATTO, S.I.; OLIVEIRA, J. M., TEIXEIRA, J. A. Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. **Food Chemistry**, v. 112, p. 929-935, 2009.

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

EDWARDS, P. B.; CREAMER, L.K.; JAMESON, G. B. **Structure and stability of whey proteins**. In: THOMPSON, A.; BOLAND, M.; SINGH, H. Milk proteins: from expression to food. New York: Elsevier, cap. 6, p. 163-190, 2009.

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.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Concentrado proteico de soro de leite 60% e 80%**. Revista-if, nº 37, 2016. Disponível em: <http://revista-fi.com.br/artigos/proteinas-de-soro-de-leite/proteinas>. Acesso em: 10 de março de 2019.

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.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. First Edition, London: Thomson Science, 378 p. 1998.

GARCÍA-PÉREZ, F.J. et al. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. **Industrial Applications**, v.30, n.6, p.457-463, 2005.

GIRALDO-ZUÑIGA, A.D., COIMBRA, J. S. R., GOMES, J. C., MINIM, L. A., ROJAS, E. E. G., GADE, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. **Dairy Journal Bimonthly The “Cândido Tostes” Dairy Institute**, v. 59, p.53-66, 2004.

GRANATO, D.; MASSON, M. L. **Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach.** *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, vol. 30, n. 4, p. 1090-1096, 2010.

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

GOMES, S. M.; GHICA, M. E.; RODRIGUES, I. A.; GIL, E. S.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Flavonoids electrochemical detection in fruit extracts and total antioxidant capacity evaluation. **Talanta**, v. 154, p. 284-291, 2016.

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

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

HEINO, A.T.; UUSI-RAUVA, J.O.; RANTAMÄKI, P.R.; TOSSAVAINEN, O. Functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders. **International Journal of Dairy Technology**, n. 60, p. 277–285, 2007.

HOLDER, L.; WEIK, J.; HINRICHS, J. A study of fouling during long-term fractionation of functional peptides by means of cross-flow ultrafiltration and cross-flow electro membrane filtration. **Journal of Membrane Science**, v.446, p. 440-448, 2013.

HONG, Y. H.; CREAMER, L. K. Changed protein structures of bovine  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin as a consequence of heat treatment. **International Dairy Journal**, v. 12, p.345-359, 2002.

HUFFMAN, L.M.; HARPER, W.J. Maximizing the value of milk through separation technologies. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2238-2244, 1999.

IADEROZA, M.; BALDINI, I.S.D.; BOVI, M.L.A. 1992. Anthocyanins from Fruits of Açai (*Euterpe oleracea*, Mart.). **Tropical Science**, 32: 41-46.

INDUSTRIATIVIDADE. **Faturamento da indústria de suplementos alimentares cresce 10%**. 2017. Disponível em: < <http://industriatividade.com.br/faturamento-da-industria-de-suplementos-alimentares-cresce-10/> >. Acesso em: 01 de setembro de 2019.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo, 2005.

JERVIS, S.; CAMPBELL, R.; WOJCIECHOWSKI, K.L.; FOEGEDING, E.A.; DRAKE, M.A.; BARBANO, D.M. Effect of bleaching whey on sensory and functional properties of 80% whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 2848-2862, jun., 2012.

JOUPPILA, K., ROOS, Y. H. Water Sorption and Time-Dependent Phenomena of Milk Powders. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ohio, v.77, p.1798-1808, fev.1994.

KANG, J.; LI, Z.; WU, T.; JENSEN, G. S.; SCHAUSS, A. G.; WU, X. Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 610-617, 2010.

KILIAN, J. **Recuperação e caracterização de proteínas do soro de leite obtidas por ultrafiltração e aplicação em sorvetes**. 2018. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões URI – Erechim, 2018.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos: Teorias e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008

KORHONEN, H.; MARNILA, P.; GILL, H.S. Milk immunoglobulins and complement factors. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 75-80, 2000.

KUSSENDRAGER, K.D.; VAN HOOIJDONK, A.C.M. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 19-25, 2000.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680–685, 1970

LALEYE, L.C.; JOBE, B.; WASESA, A.A.H. Comparative Study on Heat Stability and Functionality of Camel and Bovine Milk Whey Proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 12, p. 4527–4534, 2008.

LAM, R.S.H; NICHERRSON, M.T. Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure-function approach. **Food Chemistry**, v.141, n.2, p.975-984, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613004846?via%3Dihub>. Acesso em: 10 de mai. 2019.

LEIDENS, N. **Concentração das proteínas do soro de leite de ovelha por ultrafiltração e determinação das propriedades funcionais dos concentrados proteicos**. 2013. 134f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

LEIFELD, V. **Tratamentos clássicos de precipitação de proteínas aplicados a soro de leite visando decréscimo do potencial contaminante do efluente**. 2014. 91f. Dissertação (Mestrado em química), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

LOURENÇO, N. F. A. **Concentração do soro de leite por Nanofiltração e secagem *Spray-Drying***. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Técnico Lisboa, 2017.

LUCK, P.B.; VARDHANABHUTI, B.; YONG, Y.H.; LAUNDON, T.; BARBANO, D.M.; FOEGEDING, E.A. Comparison of functional properties of 34% and 80% whey protein and milk serum protein concentrates. **Journal of Dairy Science**, v. 96 , p. 5522–553, 2013.

MACEDO, A.; DUARTE, E.; FRAGOSO,R. Assessment of the performance of three ultrafiltration membranes for fractionation of ovine second cheese whey. **International Dairy Journal**, v.48, p.31-37 2015.

MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. **Functional Dairy products**. Woodhead Publishing, England, 2003.

MARCELO, P.A; RIZVI, S.S.H. Physicochemical properties of liquid virgin whey protein isolate. **International Journal of Dairy Technology**, n. 18, p. 236-246, 2008.

MARQUES, I. R. **Redução de incrustação proteica em membranas de ultrafiltração de poli(étersulfona) por deposição de dopamina e polietilenoimina**. Dissertação de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

MARSHALL, A.; DAUFIN, G. Physico-chemical aspects of membrane fouling by dairy fluids. IDF Special, In: Fouling and cleaning in pressure driven membrane processes, **International Dairy Federation**. Belgium, 1995.

MARTINS, R. S.; SOUZA FILHO, O. V.; LOBO, D. S. A logística como direcionador para a formação de cadeia de valor: um estudo aplicado na indústria de beneficiamento do soro de queijo. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v. 15, n. 1, 2013.

MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. **Functional Dairy products**. Woodhead Publishing, England, 2003.

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. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. **The Royal Society of Chemistry**, v.7, p.2297-2316, 2011. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/>. Acesso em 10 mai. 2019.

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.

MENEZES, E. M. S., TORRES, A. T., SRUR A. U. S. Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada. **Acta amazonica**, vol. 38(2), p. 311 - 316 , 2008.

MENEZES, E.M.S. 2005. **Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açaí pré-congelada (Euterpe oleracea, Mart.)**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 83pp.

METSÄMUURONEN, S; NYSTRÖM, M. Enrichment of  $\alpha$ lactalbumin from with polymeric ultrafiltration membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 337, n. 1-2, p. 248-256, 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-atraem-estrangeiros-91686n.aspx>>. Acesso em: 02 fev. 2019.

MILLER, G. D.; JARVIS, J.K.; MCBEAN, L.D **Handbook of Dairy Products and Nutrition.**, CRC Press LLC, Lllinois, 2 ed., 2000.

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

MING, P. Propriedades nutricionais das proteínas de soro de leite. **Revista leite e derivados**, v. 9, n. 52, p. 64-68, 2000.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA. **Relatórios de produtos por UF**. Brasília: MAPA, 2017. Mimeografado.

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.

MOREIRA, R. de O.; RODRIGUES, P. H. J.; FRANCISQUINI, J. d' A.; STEPHANI, R.; PERRONE, I. T.; CARVALHO, A. F. Produção de concentrado proteico de soro em escala piloto: aspectos tecnológicos. **Revista Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n.4, p.205-

214, 2017.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2 ed., 564 p., 1996.

MULDER, M. **Basic principles of Membrane Technology**. 2.ed. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 2000.

NARIMATSU, A., DORNELLAS, J. R. F., SPADOTI, L. M., PIZAIA, P. D., ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 23, p. 177-182, dez., 2003.

OLIVEIRA, D. F.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Soro de leite: Um subproduto valioso. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v.67, n.385, p. 64-71, 2012.

OLIVEIRA, W. J. das C. **Otimização da Rede Logística de Soro de Leite nas Mesorregiões Zona da Mata e Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais**. 2017. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental, Área de Concentração em Meio Ambiente) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

ORDONEZ PEREDA, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. vol. 2. Porto Alegre: ARTMED, 2005.

O'SULLIVANA, J.J., NORWOODA, E.A., O'MAHONYA, J.A., ALAN L. K. Atomisation technologies used in spray drying in the dairy industry: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 243, p. 57–69, 2018.

OZELA, E.F.; STRINGHETA, P.C.; LIMA, A.A.S.; FARIAS, M.I.T.; SANTOS, M.V. 1997. **Estudo comparativo do teor de antocianinas presentes no açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), nos períodos de safra e entresafra**. Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2, Campinas, 1997. *Resumos...* Campinas, UNICAMP.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; MERTENS-TALCOTT, S.; TALCOTT, S. T. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil

from açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 12, p. 4631-4636, 2008a.

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

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

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.

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.

PELEGRINI, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal Food Technology**, v.62, n.6, p.1004-1011, 2008.

PESCUMA, M.; HÉBER, E.M.; MOZZI, F.; VALDEZ, G.F. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.141, p. 73-81, 2010.

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.

POZO-INSFRAN, D.; PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T. Acai (*Euterpe oleracea* Mart.) polyphenolics in their glycoside and aglycone forms induce apoptosis of HL-60 leukemia cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 4, p. 1222-1229, 2006.

POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of Acai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, 2004.

RAO, H. G. R. Mechanisms of flux decline during ultrafiltration of dairy products and influence of pH on flux rates of whey and buttermilk. **Desalination**, v. 144 p. 319-324, 2002.

Resolução RDC/ANVISA nº 18, de 27 de abril de 2010 – **Dispõe sobre alimentos para atletas**.

RICE, G.S.; KENTISHA, S.E.; O'CONNORA, A.J.; BARBERB, A.R.; PIHLAJAMAKIC, A.; NYSTROMC, M.; STEVENS, G.W. Analysis of separation and fouling behaviour during nanofiltration of dairy ultrafiltration permeates. **Desalination**, v. 236, p. 23–29, 2009.

ROCHA, S. M. B. M.; OLIVEIRA, A. G.; COSTA, M. C. D. Benefícios funcionais do açaí na prevenção de doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.

RODRIGUES, L.R.M. **Valorização da fração proteica do soro de queijo**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal, 2011.

ROGEZ, H. 2000. **Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação**. Ed. Universidade Federal do Pará – EDUPA, Belém, Pará. 360pp.

SANTINI, M.; MELENDEZ, S. ABIAD divulga pesquisa sobre consumo de Suplementos Alimentares no Brasil. **Revista Higiene Alimentar**. 2016. Disponível em: <

<http://higienealimentar.com.br/informativo/abiad-divulga-pesquisa-sobre-consumode-suplementos-alimentares-no-brasil-163.html> >. Acesso em: 23 de setembro 2017.

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.

SARNO, F.; CLARO, R. M.; LEVY, R. B.; BANDONI, D. H.; MONTEIRO, C. A. Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009. **Rev Saúde Pública**, v. 47, p. 571-578, 2013.

SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleraceae* mart. (acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8604-8610, 2006.

SCHNEIDER, R.P.; TSUTIYA, M.T. **Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reúso**. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001.

SCHUCK, P. Spray drying of dairy products: state of the art. *Le Lait*, v. 82, n. 4, p. 375- 382, 2002.

SCHUCK, P.; JEANTET, R.; CARVALHO, A.F. **Cristalização da lactose e secagem de soro**. Curso ministrado na Disciplina TAL 795 Ciência tecnologia de leite e derivados Universidade Federal de Viçosa, 2010.

SCHUCK, P. Understanding the factors affecting spray-dried dairy powder properties and behaviour. In: CORREDIG, M. **Dairy-derived ingredients – Food and nutraceutical uses**. **Woodhead Publishing**, 2009. p. 24-50.

SHUCK, P.; DOLIVET, A.; MÉJEAN, S.; JEANTET, R. Relative humidity of outlet air: the key parameter to optimize moisture content and water activity of dairy powders. **Dairy**

**Science and Technology, Rennes**, v.88, p. 45-52, 2008.

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.

SEADER, J.; HENLEY, E.; ROPER, D. **Separation Process Principles**. John Wiley & Sons, 2010.

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-hidroxialcanoatos (phas)**. 2012. 158f. Tese (Doutorado em Engenharia), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

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.

SHAH, N.P. Effects of milk-derived bioactives: an overview. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 3-10, 2000.

SHANNON, L. K.; CHATTERTON, D.; NIELSEN, K.; LÖNNERDAL, B. Glycomacropeptide and alfa- lactoalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1261-8, 2003.

SHI, X; TAL, G.; HANKINS, N.P.; GITIS, V. Fouling and cleaning of ultrafiltration membranes: A review. **Journal of Water Process Engineering**, v.1, p.121-138, 2014.

SIKAND, V.; TONG, P. S.; ROY, S.; RODRIGUES-SAONA, L. E.; MURRAY, Solubility of commercial milk protein concentrates and milk protein isolates. **Journal of Dairy Science**, n. 94 , v. 12 , p. 6194 – 6202, 2011.

SILVEIRA, A. C. P.; PERRONE, I. T.; RODRIGUES JÚNIOR, P. H.; CARVALHO, A. F. Secagem por spray: uma revisão. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 391, p. 51-58, mar./abr., 2013.

SIMEÃO, M. **Influência do tipo de cristalizador na cinética de cristalização do soro de leite concentrado**. 2016. Dissertação (Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2016.

SIMPSON, K.J.; NICHOLAS, K.R. The comparative biology of whey proteins. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 7, p. 313-326, 2002.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 397-409, out./dez. 2004.

SMITH, P. K., HERMANSON, G. T., GARTNER, F. H., FROVENZANO, M. D., FUJIMOTO, E. K., GOEKE, N. M., OLSON, B. J., & KLENK, D. C. (1985). Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid. **Analytical Biochemistry**, 150, 76–85.

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.

SOUTO, R.N.M. 2001. **Uso da radiação  $\gamma$ , combinada à refrigeração, na conservação de polpa de açaí (*Euterpe oleracea*, *Mart.*)**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 95pp.

SOUZA, R. S. C. de. **Avaliação do potencial antioxidante e antimicrobiano de proteínas do soro de leite concentradas por membranas e hidrolisadas por diferentes enzimas**

**comerciais**. 2013. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

SOUZA, R.R.; BERGAMSCO, R.; COSTA, S.C.; FENG, X.; FARIA, S.H.B.; GIMENES M.L. Recovery and purification of lactose from whey. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 49, n.11, p.1137-1143, 2010.

STEIJNS, J.M.; VAN HOOIJDONK, A.C.M. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 11-17, 2000.

STEINHAEUER, T.; SCHWING, J.; KRAUB,S.; KULOZIK, U. Enhancement of ultrafiltration-performance and improvement of hygienic quality during the production of whey concentrates. **International Journal Dairy**, v.45, p.08-14, 2015a

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.

TERADA, L. C.; GODOI, M. R. de; SILVA, T. C. V.; MONTEIRO, T. L. Efeitos metabólicos da suplementação com whey protein em praticantes de exercícios com pesos. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, São Paulo, v. 3, p. 295-304.

TSAKALI, Efstathia et al. A review on whey composition and the methods used for its utilization for food and pharmaceutical products. In: THE INTERNATIONAL CONFERENCE ON SIMULATION AND MODELLING IN THE FOOD AND BIO-INDUSTRY, 6., 2010, Bragança.

VALDUGA, E.; PAVIANI, L. C.; MAZUR, S. P.; FINZER, J. R. D. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. **Alim. Nutr.**, v. 17, n. 4, p. 393-400, out./dez., 2006.

VIOTTO, W. H.; MACHADO, L. M. P. Estudo sobre a cristalização da lactose em doce de leite pastoso elaborado com diferentes concentrações de soro de queijo e amido de milho modificado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.62, n.4, p.16-21, 2007.

WEN-QIONG, W.; LAN-WEI, Z.; XUE, H.; YI, L. Cheese whey protein recovery by ultrafiltration through transglutaminase (TG) catalysis whey protein cross-linking. **Food Chemistry**, v. 215, p. 31-40, 2017.

WESTERGAARD, V. **Tecnología de La Leche en Polvo – Evaporación y Secado por Atomización**. Copenhague: Niro A/S, 2001. 166 p.

WHO - World Health Organization. Global action plan for the prevention and control of non-communicable diseases 2013-2020. **World Health Organization**, 2013. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf). Acesso em: 12 mai. 2019.

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.

YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chemistry**, v. 179, p. 137-151, 2015.

YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, v. 290, p.125–130, 2007.

ZACARCHENCO, P. B.; DENDER, A. G. F. V.; SPADOTI, L. M.; GALLINA, D. A.; TRENTO, F. K. H. S.; SILVA, A. T. Permeado de soro. **Leite e Derivados**, Anuário 2012: Guia de referência do setor lácteo, 2012.

ZAVAREZE, E. R.; MORAES, K. S.; SALASMELLADO, M. M. **Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n.1, p. 102-106, 2010.

## ANEXO A

ANÁLISE SENSORIAL DE *WHEY PROTEIN*

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

Idade: \_\_\_\_\_

Sexo: ( ) Feminino ( ) Masculino

1. Por favor, prove cada uma das amostras de *whey protein* de açaí 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

Cor

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

5. Comentários adicionais:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_