

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de MESTRE em Tecnologia de Alimentos.

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO
DE CONCENTRADO PROTÉICO DE
SORO DE QUEIJO, POR ULTRAFILTRAÇÃO**

Elaise Maria de Mello

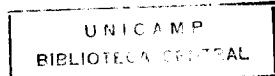
ORIENTADOR

07/89 Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig

Campinas, 1989

Este exemplar Poder corresponde a redação final da tese defendida por Elaise Maria de Mello e aprovada pela Comissão Julgadora em 21.03.89

Campinas, 21 de março de 1989.



Salvador Massaguer Roig
Presidente da Banca.

- Revisão de Língua Portuguesa -

Ademir Araújo Filho

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Salvador Massaguer Roig, pela orientação recebida.
- A M. Cristina A. Viana Mosquim, pelas sugestões e pelo auxílio à realização desta Tese.
- A Ariene Van Dender, do ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos), pelo fornecimento do soro de queijo.
- A CTAA-EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), pela revisão bibliográfica realizada pelo Setor de Informação e Documentação.
- Às amigas Eliana Paula Ribeiro e M. Cristina A. V. Mosquim, pela colaboração nos processamentos de soro na Planta-Piloto.
- Ao amigo e Prof. Ademir Araújo Filho, pela revisão de Língua Portuguesa desta Publicação.
- À família e aos amigos, em especial aos da FEA-UNICAMP, pelo apoio, pelo carinho, pelo incentivo.
- Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelas bolsas de estudos que possibilitaram a realização deste Trabalho.
- Ao CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa) pelo auxílio-pesquisa processo nº 408446/85-EA que viabilizou a compra da unidade de ultrafiltração.
- A Alfa-laval pelo apoio dado à realização deste Trabalho.
- A ABIA (Associação Brasileira de Indústrias de Alimentos), pelas xerocópias desta Tese.
- A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a conclusão deste Trabalho.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL.....	i
ÍNDICE DE TABELAS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	viii
RESUMO.....	ix
SUMMARY.....	xi
I. INTRODUÇÃO.....	01
II. OBJETIVO.....	03
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	04
III.1. ULTRAFILTRAÇÃO.....	04
III.1.1. Definição.....	04
III.1.2. Membranas.....	05
III.1.3. Compactação e Adesão de Solutos.....	06
III.1.4. Custos.....	08
III.2. SORO DE QUEIJO.....	09
III.2.1. Definição e Composição do Soro de Queijo.	09
III.2.2. Produção de Soro de Queijo.....	10
III.2.3. Propriedades Nutricionais do Soro de Queijo.....	15
III.3. CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO ULTRAFILTRADO (CPSU).	17
III.3.1. Composição do CPSU.....	17
III.3.2. Propriedades Nutricionais do CPSU.....	19

III.3.3. Propriedades Funcionais e Usos em	
Alimentos.....	25
III.3.3.1. Desnaturação.....	25
III.3.3.2. Gelificação.....	29
III.3.3.3. Emulsificação.....	33
III.3.3.4. Incorporação de Ar.....	37
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
IV.1. ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO.....	40
IV.1.1. Unidade de Ultrafiltração.....	43
IV.1.2. Limpeza e Sanitização da Unidade de	
Ultrafiltração.....	43
IV.1.3. Curvas de Permeação.....	44
IV.1.4. Cálculo do Coeficiente de Retenção.....	45
IV.1.5. Cálculo do Fator de Concentração de	
Componentes.....	45
IV.2. ANÁLISES DE COMPOSIÇÃO.....	46
IV.2.1. Determinação de Extrato Seco Total.....	46
IV.2.2. Determinação de Cinzas.....	46
IV.2.3. Determinação de Proteínas.....	46
IV.2.4. Determinação de Gordura.....	47
IV.2.5. Lactose.....	48
IV.2.6. pH e Acidez Dornic.....	48
IV.3. ANÁLISES DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	48
IV.3.1. Gelificação.....	48
IV.3.2. Emulsificação.....	49
IV.3.3. Incorporação de Ar.....	51

IV.3.4. Aglomeração e Desnaturação Protéica.....	51
IV.3.4.1. Cálculo dos índices de Aglomera- ção e de Desnaturação.....	51
IV.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	52
IV.5. EQUIPAMENTOS USADOS.....	53
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
V.1. PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO.....	56
V.2. PROPRIEDADES FUNCIONAIS.....	68
V.2.1. Desnaturação Protéica.....	68
V.2.2. Capacidade de Emulsificação.....	72
V.2.3. Capacidade de Gelificação.....	79
V.2.4. Capacidade de Incorporação de Ar.....	87
V.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	88
VI. CONCLUSÕES.....	91
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 - Composição do Leite Integral, do Leite Desnatado e do Soro.....	11
TABELA 2 - Produção de Soro de Queijo no Brasil.....	12
TABELA 3 - Características dos Resíduos de Processamento de Alimentos.....	14
TABELA 4 - Aminoácidos Essenciais da Caseína, Proteínas do Soro e Leite Humano Relativos ao Ovo Integral (FAO/OMS, 1965) e à Proteína Referência (FAO/OMS, 1973), em Porcentagens.....	16
TABELA 5 - Alguns Níveis de Aminoácidos Essenciais Encontrados em Cereais, em Relação ao Ovo Integral.....	18
TABELA 6 - Composição de CPSU com Diferentes Níveis de Concentração.....	20
TABELA 7 - Composição Comparativa de Leite em Pó Desnatado e CPSU de Soro Ácido e Soro Doce.....	21
TABELA 8 - Comparação entre os Teores de Vitaminas do Soro Fluido e do CPSU.....	22
TABELA 9 - Comparação do Nível de Vitaminas do CPSU e do Leite em Pó Desnatado.....	23
TABELA 10 - Composição do Soro Inicial e dos Retentados Obtidos por Ultrafiltração.....	60
TABELA 11 - Coeficientes de Retenção da Membrana.....	64
TABELA 12 - Fatores de Concentração dos Componentes.....	66

TABELA 13 - Fator de Concentração por Peso de Permeado Retirado.....	67
TABELA 14 - Resultados Obtidos de Aglomeração Protéica dos Retentados de Soro Obtidos por Ultrafiltração.....	69
TABELA 15 - Resultados Obtidos de Desnaturação Protéica dos Retentados de Soro Obtidos por Ultrafiltração.....	70
TABELA 16 - Capacidade de Emulsificação das Amostras de Soro Concentradas por Ultrafiltração.....	75
TABELA 17 - Capacidade de Gelificação das Amostras de Retentado de Soro Obtido por Ultrafiltração para as Amostras NC e C/D em pH natural.....	82
TABELA 18 - Contagem de Microrganismos Mesófilos e Termófilos das Amostras de Soro Cru, Soro Pasteurizado e CPSU.	89

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Fluxograma do Processamento do Queijo Minas Frescal.	41
FIGURA 2 - Vazão de Permeação durante o tempo de processo de Ultrafiltração de Soro de Queijo Minas Frescal.....	57
FIGURA 3 - Variação da Vazão de Permeação pelo Fator de Concentração durante o Processo de Ultrafiltração de Soro de Queijo Minas Frescal.....	58
FIGURA 4 - Variação da Porcentagem de Proteínas com o Aumento de Sólidos Totais dos CPSU (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).....	63
FIGURA 5 - Variação da Porcentagem de Aglomeração com o Tempo de Processo de Ultrafiltração da Amostra.....	73
FIGURA 6 - Variação da Porcentagem de Desnaturação com o Tempo de Processo de Ultrafiltração da Amostra.....	74
FIGURA 7 - Variação da Capacidade de Emulsificação com o Aumento da Porcentagem de Proteínas dos CPSU (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).....	77
FIGURA 8 - Variação da Capacidade de Emulsificação em pH natural pela Capacidade de Emulsificação em pH 4,6 das amostras de CPSU Não-congeladas (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).....	80
FIGURA 9 - Variação da Capacidade de Emulsificação em pH natural pela Capacidade de Emulsificação em pH 8,5 das amostras de CPSU Não-congeladas (Processo 6).....	81

FIGURA 10 - Variação da Capacidade de Gelificação com o aumento do Teor Protéico das Amostras de CPSU Não-Congeladas (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).....	83
FIGURA 11 - Variação da Capacidade de Gelificação das Amostras de CPSU Não-Congeladas (NC) com a Capacidade de Gelificação das Amostras de CPSU Congeladas/Descongeladas (C/D) - Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6.....	85

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 - Dados do 1º Processo de Ultrafiltração.....	ii3
ANEXO 2 - Dados do 2º Processo de Ultrafiltração.....	ii4
ANEXO 3 - Dados do 3º Processo de Ultrafiltração.....	ii5
ANEXO 4 - Dados do 4º Processo de Ultrafiltração.....	ii6
ANEXO 5 - Dados do 5º Processo de Ultrafiltração.....	ii7
ANEXO 6 - Dados do 6º Processo de Ultrafiltração.....	ii8

RESUMO

O soro de queijo é um resíduo altamente poluidor e suas proteínas apresentam excelente valor nutritivo, embora presentes no soro numa porcentagem de apenas 0,7 %.

Como forma de concentrar estas proteínas usou-se, neste trabalho, a ultrafiltração. Os concentrados protéicos de soro obtidos por ultrafiltração (CPSU) em diferentes concentrações protéicas (entre 4,5 e 7,5 %) foram caracterizados em sua composição centesimal, desnaturação e aglomeração protéicas, e suas propriedades funcionais de emulsificação, gelificação e incorporação de ar.

Os resultados mostram que a ultrafiltração é um processo eficiente para concentrar, em termos práticos, somente as proteínas e a gordura dentre os componentes do soro, e, que os CPSU obtidos apresentaram excelente capacidade de emulsificação e de gelificação. Os CPSU não formaram espumas provavelmente devido ao alto teor de gordura presente nas amostras.

O congelamento afetou negativamente a capacidade de gelificação, embora não tenha afetado a capacidade de emulsificação; o ajuste do pH das amostras a 4,6 afetou negativamente ambas as propriedades funcionais. O ajuste do pH a 8,5 afetou positivamente as propriedades funcionais, porém, as amostras apresentaram péssimo aroma, não se mostrando adequadas para o uso em alimentos. As amostras emulsificadas e gelificadas em pH natural e 4,6

apresentaram excelente estabilidade.

Os resultados aqui obtidos mostram que existem boas possibilidades de uso dos CPSU em alimentos como pudins, flans, produtos de salsicharia, sorvetes, maioneses, molhos para salada, sopas e outros.

SUMMARY

Cheese whey, which is pollutant to the environment, has proteins with high nutritional value, even though their concentrations are at levels lower than 1 %.

In this work the ultrafiltration was used as a concentration process. The whey proteins concentrated by ultrafiltration (WPCU) were obtained with different protein concentrations (varying between 4.5 and 7.5 %). The WPCU were characterized by their proximate composition, protein denaturation and agglomeration, and the functional properties of gel forming, emulsification and foaming capacity.

The results show that the ultrafiltration is an efficient process to concentrate only the proteins and fat from the whey components, in practical terms. The WPCU showed excellent gelling and emulsifying capacities, however, WPCU did not form foams probably due to the high fat levels present in the samples.

Freezing decreased the gelling capacity but did not affect the emulsifying capacity. The adjustment of the pH of the samples to 4.6 decreased both properties whereas adjustment to pH 8.5 increased the functional properties but the flavour of the samples were not acceptable. The gelled and emulsified samples had excellent stability.

These results show possibilities of using WPCU in foods such as puddings, baby foods, sausages, ice creams, mayonnese, salad dressings, soups and others.

I . INTRODUÇÃO

A produção de queijos vem aumentando ano a ano no Brasil, e, com isto, há um aumento na produção do soro de queijo, subproduto da indústria queijeira.

O soro é um dos resíduos mais poluentes da indústria de alimentos, apresentando uma demanda biológica de oxigênio (DBO) entre 35 000 e 40 000 ppm (Marshall, 1982). Por outro lado, as proteínas do soro têm excelente valor nutritivo, tendo um quociente de eficiência protéica (PER) de 3,4, o que supera o da caseína que é de 2,9 (DELANEY, 1976).

Atualmente, existe no mundo uma deficiência alimentar calórico-protéica, especialmente nos países do Terceiro Mundo. Proteínas de origem animal são particularmente caras, e seu suprimento para a população é um dos maiores problemas mundiais (JOHNSON & HILL Jr., 1976).

Estimando-se a produção de soro no Brasil em 1985 como sendo de 1,05 milhão de toneladas, e considerando-se que 0,7 % desse total é proteína, pode-se dizer que, nesse ano, houve a produção de mais de 7,35 mil toneladas de proteínas com grande potencial de uso em alimentação humana.

Considerando-se as necessidades protéicas diárias de uma criança na faixa etária de 4 a 6 anos e de um adulto de 70 Kg, pode-se dizer que a produção brasileira de soro, em 1985, seria suficiente para alimentar aproximadamente 800 000 crianças de 4 a 6 anos por 1 ano ou 400 000 adultos de 70 Kg pelo mesmo pe-

ríodo de tempo.

No entanto, o uso de um produto como o soro, com tão alto teor de água (93 %) e tão baixo teor protéico (0,7 %) em produtos alimentícios, é bastante limitado. O fracionamento dos componentes do soro vem então ampliar a possibilidade de uso de cada fração isolada.

O processo de ultrafiltração é um processo de separação mecânica através de membrana seletiva que permite a separação de moléculas de soluto menores de uma solução. A ultrafiltração do soro permite a concentração das proteínas numa solução denominada retentado, enquanto que o solvente (água) e moléculas menores de soluto (basicamente sais e lactose) são recolhidos numa solução denominada permeado.

Entretanto, a aceitação de uma proteína, como ingrediente, na indústria de alimentos, não está condicionada apenas às suas propriedades nutricionais. Suas propriedades funcionais afetam de forma decisiva sua possibilidade de uso em alimentos (MANGINO, 1984).

A capacidade das proteínas em emulsionar, gelificar e formar espumas é uma indicação de seu comportamento funcional em alimentos (ANGLEMIER & MONTGOMERY, 1976).

No entanto, é difícil padronizar métodos para este tipo de propriedade (KINSELLA, 1976), e no Brasil não existem metodologias oficiais para determinação destas propriedades, sendo ainda necessárias adaptações para o uso de metodologias estrangeiras que fazem uso de equipamentos aqui não encontrados.

II. OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo caracterizar a obtenção de concentrado protéico de soro de queijo por ultrafiltração (CPSU), sua composição e algumas de suas propriedades funcionais (gelificação, emulsificação e incorporação de ar) visando enfocar as possibilidades de uso desse CPSU em alimentação humana.

III - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

III.1. ULTRAFILTRAÇÃO

III.1.1. Definição

Ultrafiltração pode ser definida como uma separação sóluto - solvente (de um ou mais solutos de uma solução), através de uma membrana seletiva adequada, por aplicação de pressão hidrostática (BEATON, 1979). As principais vantagens da ultrafiltração sobre outros processos de separação são que : o processo é atérmico e não envolve mudança de fase; pode ser conduzido a baixas temperatura e pressão hidrostática, não afetando substâncias termosensíveis; não necessita de reagentes químicos (PORTER & MICHAELS, 1970).

O processo básico é bastante simples. Uma solução contendo um ou mais solutos escoa tangencialmente sobre uma membrana semipermeável, sob pressão, onde solvente e moléculas menores do soluto atravessam a membrana e são recolhidos como permeado da solução, enquanto que partículas maiores são retidas pela membrana e recolhidas em alta concentração, numa solução denominada retentado (PORTER & MICHAELS, 1970). A porosidade da membrana é dada através do diâmetro dos poros (angstrom) ou do peso molecular (dalton) que expressa o tamanho da maior molécula passível de permeação, sendo muitas vezes denominada tecnicamente como valor

de corte (TARNAWSKI & JELEN, 1986).

III.1.2 - Membranas

O desenvolvimento da técnica de ultrafiltração em escala comercial só foi possível devido a pesquisas de melhoria do material usado na construção e na conformação das membranas.

As primeiras membranas foram de acetato de celulose desenvolvidas por Loeb e Sourirajan, em 1960, para dessalinização da água do mar (SOURIRAJAN, 1977). Este tipo de membrana tinha como inconvenientes sua baixa resistência à temperatura (50°C) e pH (3 a 8), e sensibilidade aos microrganismos e desinfetantes (MAUBOIS, 1980). A segunda geração de membranas foi a de polímeros sintéticos, principalmente derivados de polissulfona e poliolefina. Estas membranas resistem a uma maior variação de temperatura (75°C) e pH (2 a 12), porém algumas delas têm baixa resistência a desinfetantes clorados (MAUBOIS, 1980). Esta membrana tem sido utilizada na maioria dos trabalhos científicos publicados após 1975, embora já exista uma terceira geração de membranas chamadas minerais, constituídas de óxido de zircônio ou alumina em suporte de grafite. São resistentes a toda escala de pH e a altas temperaturas (400°C), suportando altas pressões (20 bars) sem perder as propriedades de permeação e permitindo a obtenção de altos níveis de concentração, o que não ocorre com as membranas de primeira e segunda gerações que não resistem ao fenômeno da compactação (MAUBOIS, 1980; BENNASAR et al, 1982).

Foram desenvolvidas comercialmente 4 diferentes conformações : a de placas, a tubular, a de fibras capilares e a espiral. Cada tipo tem suas vantagens e desvantagens com relação a desempenho , investimentos e custos de processo, volume morto e eficiência de limpeza (MAUBOIS, 1980; GLOVER et alii, 1978).

MAUBOIS & BRULE (1982) afirmam que o consumo de energia varia com o tipo de conformação da membrana, sendo de 0,214 kW/m para fibras capilares, 0,700 kW/m para placas e espiral, e de 1000 kW/m para a tubular.

III.1.3. Compactação e Adesão de Solutos

Os principais problemas da ultrafiltração em escala industrial ainda estão na necessidade de um maior aprimoramento das membranas, no que diz respeito a uma diminuição do fluxo de permeação durante o processamento (HICKEY & HILL, 1980).

Um desses problemas é o resultado da adesão de componentes da solução processada sobre a superfície da membrana e poros, chamada gelificação polarizada. LEE & MERSON (1975) usaram microscopia eletrônica de varredura para examinar os depósitos formados na superfície da membrana durante a ultrafiltração de soro de queijo Cottage, e observaram que a Beta-lactoglobulina e a Gamma-globulina foram as maiores causas da diminuição do fluxo de permeação. Num estudo posterior, LEE & MERSON (1976) observaram que a polarização das membranas poderia ser reduzida ao se retardar a formação de ligações protéicas. Para isso usaram tratamen-

tos ácidos, sequestrantes de cálcio ou variação do potencial iônico. HICKEY & HILL (1980) apresentaram evidências de que a Beta-lactoglobulina e a albumina do soro bovino estariam envolvidas com o problema da polarização. Existem indicações de que o íon cálcio também está envolvido e de que o estado de algumas frações protéicas que seriam afetadas por pH, força iônica, componentes iônicos (marcadamente o cálcio), têm uma grande influência (MATHHEWS, 1979). PATEL & REUTER (1985) também afirmam ter encontrado cinzas, cálcio e fósforo nos depósitos formados em membrana capilar com valor de corte de 50.000, durante o processamento de leite desnatado.

Informações da literatura sobre curvas de taxa de permeação por tempo de processo mostram que o declínio é constante devido à deposição de Beta-lactoglobulina e cálcio nos poros da membrana (LEE & MERSON, 1976). Estas curvas têm sua forma e posição determinadas pela temperatura de processo (MAUBOIS, 1980), pH da solução (MAUBOIS, 1980; HICKEY et alii, 1980), porosidade e tipo de membrana (BENNASSAR et alii, 1982), bem como pressão, tipo de solução processada e limpeza da membrana (BLATT et alii, 1970; PERI & DUNKLEY, 1971).

Outra razão para a queda do fluxo de permeação com o tempo é a compactação da membrana, que pode ser descrita como uma deformação mecânica e/ou compressão dos poros por influência da pressão aplicada, com consequente aumento da pressão hidrostática. A compactação é, na verdade, mais importante na osmose reversa que na ultrafiltração, já que esta usa baixas pressões hidros-

táticas, sendo que no caso de membrana capilar esta pressão é de até 25 psi (CHIANG & CHERYAN, 1986; NIELSEN et alii, 1972). No caso das membranas minerais este problema é menos importante devido a sua alta resistência mecânica (MAUBOIS, 1980).

TARNAWSKI & JELEN (1986) observaram que, para uma membrana de placas com valor de corte de 25.000 daltons, o efeito da compactação é maior que o da polarização para pressões de 4 a 30 bars, e que os fenômenos se igualam em torno de 3 bars.

III.1.4. Custos

THIJSSEN & VAN OYEN (1977) fizeram um estudo dos custos de concentração por evaporação em até 5 efeitos, crioconcentração, osmose reversa e ultrafiltração. Este estudo foi desenvolvido na Holanda, e nele se estudou o custo total de cada processo, envolvendo custos de operação, capital, manutenção, custos de eletricidade, vapor, água e produtos químicos de limpeza, para se retirar de 1 a 50 ton água/hora. Os autores concluíram que para um evaporador de placas ou filme descendente de 1 até 5 efeitos, os custos em equivalentes de vapor variaram de 0,16 a 1,32. Para a crioconcentração a variação foi de 0,25 a 0,50; para a osmose reversa foi de 0,01 a 0,48, e, para a ultrafiltração, de 0,01 a 0,02 equivalentes de vapor. Segundo os autores, deve-se, no entanto, levar em conta que é possível se obter níveis de concentração muito mais altos no evaporador que nos processos de separação por membrana, e que os aromas e compostos voláteis são me-

lhor conservados pela crioconcentração (THIJSSEN & VAN OYEN, 1977).

III.2. SORO DE QUEIJO

III.2.1. Definição e Composição do Soro de Queijo

Soro é um subproduto do processamento do queijo, sendo constituído da fase aquosa resultante da dessorva do coágulo a ser transformado em queijo. Cerca de 85 a 95% do volume do leite utilizado na fabricação de queijos resultam em soro, o qual contém, aproximadamente, a metade dos sólidos totais do leite, representados por proteínas solúveis, sais e principalmente lactose.

Existem 2 tipos de soro: o doce e o ácido. O soro doce provém da manufatura de queijos de coagulação enzimática (Minas Frescal, Mussarela, Prato, Cheddar, Suiço e outros), enquanto que o soro ácido provém da manufatura de queijos de coagulação ácida (Cottage, Quarg e Requeijão entre outros). Enquanto o soro ácido tem pH de 4,5 a 4,8 e conteúdo de sais de 0,8%, o soro doce tem pH de 5,8 a 6,5 e 0,5% de sais (HILL, 1982). A produção de soro no Brasil é constituída quase exclusivamente de soro doce. FURTADO (1987) afirma que, em 1983, o queijo mais fabricado no país foi o Prato e suas variedades (Lanche, Cobocó, Gouda e Estepe), seguido pela produção de Mussarela e Queijo Minas (Frescal e Padronizado).

Como mostra a TABELA 1, o soro numa versão simplificada é o leite desnatado sem a caseína, contendo aproximadamente a metade dos sólidos presentes no leite e 2/3 dos sólidos do leite desnatado, além do que, muitos de seus constituintes têm alto valor nutritivo (McDONOUGH, 1977).

III.2.2. Produção de Soro de Queijo

A produção de soro vem aumentando anualmente, como resultado do crescimento da indústria queijeira, já que o consumo de queijos apresenta uma tendência ascendente. Isto pode ser visualizado na TABELA 2. Os dados da produção de queijos são do Ministério da Agricultura (1980, 1981, 1982, 1983) e os valores para os anos mais recentes foram extrapolados por regressão linear. Considerando-se que o queijo produzido correspondeu a 15% do volume de leite usado em sua produção, e que os 85% restantes resultaram em soro.

Para uma produção de 14,7 milhões de toneladas de leite bovino no Brasil em 1985 (FAO, 1986), tivemos a produção de 1,05 milhões de toneladas de soro de queijo (TABELA 2), o que corresponde a mais de 7% da produção de leite bovino no país. Este soro, se descartado, corresponde ao descarte de mais de 7,35 mil toneladas de proteínas de alto valor nutritivo, além de causar sérios problemas de poluição ambiental se descartado diretamente em rios e esgotos.

TABELA 1 - Composição do leite integral, do leite desnatado e do soro (Adaptado de TAMIME & ROBINSON, 1985; KOSIKOWSKI, 1979).

Produto	Umidade	Proteína	Gordura	Lactose	Cinzas
	%	%	%	%	%
Leite Integral	87,4	3,5	3,5	4,8	0,70
Leite Desnatado	90,5	3,6	0,1	5,1	0,70
Soro (Cheddar)	93,7	0,8	0,5	4,9	0,50
Soro (Cottage)	93,5	0,7	0,04	4,9	0,80

TABELA 2 - Produção de Soro de Queijo no Brasil

Ano	Produção de Queijos (t)	Soro (1000 t) #
1979	143 435	813
1980	150 496	853
1981	157 333	892
1982	164 379	931
1985 *	185 262	1050
1986 *	192 229	1089
1987 *	199 196	1129

Ministério da Agricultura (1980, 1981, 1982, 1983)

Considerou-se que para cada 1Kg de queijo houve a liberação de 5.67 Kg de soro (Rendimento de 15% em queijo , 85% em soro).

* dados projetados

Considerando-se que uma criança na faixa etária de 4 a 6 anos necessita de 30 gramas por dia de proteína e que um adulto de 70 Kg necessita de 56 g/dia dessa proteína (RDA, 1980 in SGARBIERI, 1987) pode-se dizer que 7,35 mil toneladas de proteína de soro seriam suficientes para alimentar aproximadamente 800.000 crianças de 4 a 6 anos por 1 ano ou 400.000 adultos de 70 Kg pelo mesmo período de tempo.

Mundialmente estimou-se uma produção de 12.767.461 toneladas de queijos em 1985 (FAO, 1986), o que corresponde a 72,3 milhões de toneladas de soro e 500 mil toneladas de proteínas. ZALL (1984) estimou o crescimento dessa produção numa taxa de 3% ao ano.

Deve-se levar em conta que o soro é um dos resíduos mais poluentes da atualidade, como pode ser visto na TABELA 3, tendo uma demanda biológica de oxigênio (DBO) entre 35.000 e 40.000 ppm (MARSHALL, 1982). O soro de queijo é o resíduo mais poluente da indústria de laticínios (JELEN, 1979).

O uso do concentrado protéico de soro obtido por ultra-filtração (CPSU) corresponde a um decréscimo de 10% dessa DBO, tornando ainda necessário viabilizar o uso do permeado rico em lactose e sais. Deste permeado pode ser feita uma recuperação da lactose para usos farmacêuticos ou alimentícios, sendo que a lactose pode ainda ser hidrolizada em monossacarídeos mais solúveis (glucose e galactose). O permeado pode ainda ser usado em ração animal, como meio de fermentação na produção de álcool, ácidos, e ainda na produção de biomassa (ZADOW, 1984; KOSARIC & AS-

TABELA 3 - Características dos Resíduos de Processamento
de Alimentos (JELEN, 1979)

	DBO (mg/l)
Resíduos do Processamento de Laticínios	
Processamento de Leite Fluido	1000
Processamento de Sorvetes	2500
Planta de queijo "Cottage"	6000
Planta de Soro em Pó	40
Outros Resíduos do Processamento de Alimentos	
Planta de Panificação	2500
Enlatamento de Carnes	1500
Planta de Produtos Açucarados	4000
Processamento de Produtos de Frango	5000
Resíduos	
Soro doce	35000
Soro ácido	45000
Água de Processamento de Peixes	50000
Resíduo Doméstico	300

HER, 1982).

III.2.3. Propriedades Nutricionais do Soro de Queijo

Atualmente, existe no mundo uma deficiência alimentar calórico-protéica, especialmente nos países do Terceiro Mundo. Proteínas de origem animal são particularmente caras, e seu suprimento para a população é um dos maiores problemas mundiais (JOHNSON & HILL JR., 1976). As proteínas do soro, basicamente Beta-lactoglobulinas e Alfa-lactoalbuminas, têm um quociente de eficiência protéica (PER) de 3,4 superando o da caseína, que é de 2,9 (DELANEY, 1976). Além disso, assim como 17,4 g de proteína de ovo integral ou 28,4 g de caseína irão fornecer o requerimento médio de aminoácidos de um homem adulto de 70 Kg, apenas 14,5 g de Alfa-lactoalbumina suprem essa necessidade (WINGERD, 1971). Além disso, o soro é rico em cálcio, fósforo e muitas vitaminas.

O valor nutritivo de uma proteína é frequentemente medido através de sua composição de aminoácidos. A OMS (Organização Mundial da Saúde), em conjunto com a FAO (Food and Agriculture Organization), estabeleceu uma proteína referência com os níveis mínimos de aminoácidos essenciais. Como mostra a TABELA 4 as proteínas do soro são mais adequadas como substitutas para as proteínas do leite humano do que a caseína, já que esta é deficiente nos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína. As proteínas do soro excedem em todos os aminoácidos essenciais a proteína referência da FAO/OMS (1973).

TABELA 4 - Aminoácidos essenciais da caseína, proteínas do soro e leite humano relativos ao ovo integral (FAO/OMS, 1965) e à Proteína referência (FAO/OMS, 1973), em porcentagens (HAMBRAEUS, 1984).

	<u>Caseína</u>		<u>Prot. Soro</u>		<u>Leite Humano</u>	
	FAO	FAO	FAO	FAO	FAO	FAO
	1965	1973	1965	1973	1965	1973
Isoleucina	82	135	115	190	74	123
Leucina	108	136	135	169	103	130
Lisina	127	147	177	205	101	118
Metionina +						
Cisteína	58	91	95	149	67	106
Phenylalanina+						
Tirosina	111	185	70	117	76	127
Treonina	92	118	165	210	86	110
Triptofano	100	160	150	240	NA	NA
Valina	103	150	99	144	71	104

* NA - não analisado

Os níveis de treonina, lisina e triptofano são geralmente limitantes nas proteínas vegetais, como mostra a TABELA 5, tornando o soro uma excelente fonte de suplementação desses aminoácidos.

A concentração das vitaminas no soro vai depender do tipo de queijo. As vitaminas lipossolúveis, principalmente a vitamina A, são geralmente retidas no queijo (80 - 85%), dependendo do teor de gordura do mesmo. As vitaminas hidrossolúveis, na sua maior parte, aparecem no soro. Os valores para tiamina, ácido nicotínico, ácido fólico e ácido ascórbico estão entre 80 a 90% no soro; riboflavina e biotina aparecem entre 70 e 80%; piridoxina e ácido pantotênico entre 55 e 75%; cobalamina entre 40 e 70%. Essas porcentagens são relativas ao conteúdo original dessas vitaminas no leite (RENNER, 1987).

III.3. CONCENTRADO PROTÉICO DE SORO ULTRAFILTRADO (CPSU)

III.3.1. Composição do CPSU

As membranas de ultrafiltração são quase totalmente permeáveis à lactose, minerais e cadeias curtas de polipeptídeos, e, portanto, o processo de ultrafiltração do soro remove quase a mesma porcentagem desses componentes quanto de água no permeado. Portanto, para se remover 90% da lactose do soro por ultrafiltração é necessário remover 90% do volume original através da membrana. Valores experimentais de composição do CPSU são mostrados

TABELA 5 - Alguns níveis de aminoácidos essenciais encontrados
em cereais, em relação ao ovo integral - FAO/OMS,
1965 (JANSEN, 1974)

	Far. Trigo	Milho	Sorgo	Arroz	Painço
Lisina	45	49	38	69	39
Treonina	83	90	78	87	78
Metionina +					
Cisteína	111	76	66	85	94
Triptofano	109	60	107	121	164

na TABELA 6. Dependendo do nível de extração de permeado é possível obter retentados de diferentes composições. A razão lactose/proteína diminui com a redução de volume. Praticamente, qualquer nível de concentração protéica poderia ser produzido, contudo, o alto valor da razão lactose/proteína no soro torna difícil preparar concentrados com mais de 50 - 60% de proteínas em peso seco.

A TABELA 7 permite uma melhor visualização da composição do leite desnatado e do CPSU. Como pode ser observado, é possível a obtenção de CPSU de composição próxima à do leite desnatado. McDONOUGH et alii (1976) observaram que a adição de até 40% de CPSU ao leite desnatado não afeta adversamente o sabor deste, aumentando o valor nutritivo do produto final.

III.3.2. Propriedades Nutricionais do CPSU

A TABELA 8 compara os níveis de vitaminas no soro e no CPSU. O processo de ultrafiltração permite a passagem de vitaminas e sais minerais para o permeado, mas, mesmo assim, os níveis destes minerais e vitaminas se apresentam no retentado em porcentagem maior ou igual que no soro inicial (McDONOUGH et alii, 1976). Com exceção da niacina, o CPSU apresenta os mesmos níveis de vitamina que o leite desnatado, sendo mais rico em colina e vitamina B12 (TABELA 9). Ao se compararem os níveis de vitamina do CPSU com a ingestão diária recomendada (RDA), observa-se que o CPSU é fonte de vitamina B12, riboflavina e tiamina, além de co-

TABELA 6 - Composição de CPSU com diferentes níveis de concentração (MCDONOUGH et alii, 1974) *

Componente	%	% de Água Removida (Redução de Volume)			
		0	80	90	
Sólidos	- %	6,60	9,50	13,00	18,00
Lactose (L)	- %	4,80	5,50	5,60	5,80
Proteína (P)	- %	0,67	2,85	5,50	9,54
Cinzas	- %	0,74	0,79	0,77	0,75
Razão L/P		7,16	1,90	1,00	0,61

* Resultados representativos para soro de queijo Cheddar e Cottage.

TABELA 7 - Composição Comparativa de Leite em Pó Desnatado e CPSU
de Soro Ácido e Soro Doce (MCDONOUGH et alii, 1976).

Componente	Leite Desnatado	CPSU	35 *
		Soro Ácido	Soro Doce
% Lactose	51,6	48,2	50,2
% Proteínas	35,8	35,2	35,7
% Gordura	0,7	1,0	1,0
% Cinzas	7,9	7,5	7,3
Acidez Titulável	1,0	6,1	1,8

* 82% de redução de volume; 35% de proteínas.

TABELA 8 - Comparação entre os Teores de Vitaminas do Soro
Fluido e do CPSU (MCDONOUGH et alii, 1974).

Vitaminas (mg/Kg)	Soro	CPSU
Tiamina	0,31	0,32
Ácido Fólico	0,07	0,11
Niacina	1,18	1,28
Riboflavina	0,16	0,20
Colina	108,00	136,00
Ácido Pantotênico	3,94	4,43

* 92% de redução de volume; 53% de proteína (base seca).

TABELA 9 - Comparação do Nível de Vitaminas do CPSU e do Leite em Pó Desnatado (adaptado de McDONOUGH et alii, 1976 e SGARBIERI, 1987).

Vitaminas	Leite em Pó Desnatado		@ RDA		CPSU *	
	(mg/100g)	(% RDA)	(mg/100g)	(mg/100g)	(% RDA)	
Tiamina	0,4	40	0,9	0,5	50	
Riboflavina	1,9	170	1,0	1,9	170	
Niacina	1,1	8	11	0,6	4	
Ác. Pantotênico	3,9	#	#	3,9	#	
Colina	118,0	#	#	315,0	#	
	(ug/100g)		(ug/100g)	(ug/100g)		
vit. B12	3,4	230	2,5	9,7	650	
Ác. Fólico	4,4	2	200	5,0	2	

* Soro de queijo Cottage; 82% de redução de volume

@ Ingestão diária recomendada para crianças de 4 a 6 anos nas recomendações feitas pela Academia Norte Americana de Ciências, Conselho Nacional de Pesquisas (NRC), revisado em 1980 (in SGARBIERI, 1987).

lina e ácido pantotênico (MCDONOUGH et alii, 1974).

Um estudo das perdas vitamínicas do soro para o permeado em membrana com valor de corte de 45.000 e fator de concentração de 2,9, é apresentado por GLOVER (1971). Neste trabalho, foi observado que durante a ultrafiltração de soro doce somente as vitaminas lipossolúveis A e E, e a vitamina B12 e ácido fólico, que se ligam parcial ou totalmente às proteínas, são completamente retidas, sendo que as outras vitaminas são retidas apenas parcialmente. 50% da riboflavina, 40% da biotina, 33% da tiamina, 31% do ácido nicotínico e 38% da vitamina B6 permanecem no reten-tado.

Para certos alimentos especiais, como alimentos infantis e alimentos com baixo teor de sódio, é necessário um baixo teor de sais minerais. Resultados na TABELA 6 mostram a vantagem da ultrafiltração como processo de desmineralização parcial. O valor de cinzas para o soro é de 11,2% em peso seco, enquanto para uma redução de volume de 80, 90 e 95% este valor é respectivamente de 8,3%, 5,9% e 4,0%.

Durante o processo de ultrafiltração também ocorre a passagem de proteína ou peptídeos de baixo peso molecular para o permeado. SARMA & BATTY (1979) observaram que quanto maior a por-centagem inicial de proteínas no soro, maior a perda para o per-meado. Já MATTHEWS et alii (1976) afirmam que 90% do nitrogênio presentes no permeado são não-protéicos. As quantidades de ami-noácidos do CPSU são aumentadas no mesmo nível de concentração protéica.

III.3.3. Propriedades Funcionais e Usos em Alimentos

A aceitação de uma proteína como ingrediente, na indústria de alimentos, não está condicionada apenas às suas propriedades nutritivas. Suas propriedades funcionais afetam de forma decisiva sua possibilidade de uso em alimentos (MANGINO, 1984).

A capacidade das proteínas em gelificar, emulsionar e formar espumas é uma indicação de seu comportamento funcional em alimentos (ANGLEMIER & MONTGOMERY, 1976).

Muitas vezes, as propriedades funcionais são resultado do tipo de processo a que essas proteínas foram submetidas. Características de processo como tempo, temperatura, tipo de tratamento térmico, pH e força iônica afetam a funcionalidade da proteína (KILARA, 1984). Estes fatores podem causar agregação e desnaturação, afetando a conformação das proteínas, um fator crítico quando se trata de suas propriedades funcionais (KINSELLA, 1976).

Segundo KINSELLA (1976) é difícil padronizar métodos para esses tipos de propriedades, o que torna difícil a comparação de diferentes trabalhos.

III.3.3.1. Desnaturação

Desnaturação pode ser definida, em termos gerais, como qualquer modificação das estruturas secundária, terciária e quaternária da molécula protéica que não cause quebra de ligações

covalentes (WU & INGLETT, 1974).

O fator que mais afeta a funcionalidade das proteínas do soro é o tratamento térmico. Um tratamento moderado (entre 60 e 70°C) geralmente resulta na perda da estrutura terciária das proteínas. A temperaturas mais altas, dependendo da composição, ocorre uma agregação protéica. A fase de desdobramento das proteínas envolve interações moleculares como pontes de hidrogênio e ligações hidrofóbicas, enquanto que a fase de agregação envolve pontes dissulfeto na presença de íons cálcio (SCHMIDT et alii, 1984).

O tratamento térmico causa a precipitação das proteínas do soro na seguinte ordem : imunoglobulinas, Beta-lactoglobulinas, albumina do soro bovino e Alfa-lactoalbuminas, o que não é coerente com as temperaturas de desnaturação de 79, 74, 87 e 63°C, respectivamente (DE WIT et alii, 1983). No entanto, a desnaturação da Alfa-lactoalbumina é altamente reversível, quando comparada com as outras proteínas, e, por esta razão, aparenta maior resistência ao calor (MODLER, 1985; DE WIT & KLARENBEEK, 1984).

DE WIT & HONTELEZ-BACKX (1981), usando um tratamento térmico de 80°C/10 minutos, observaram o efeito do pH sobre a solubilidade da Beta-lactoglobulina. Concluíram que, a pH menor que 6,5, a insolubilidade dessa proteína aumentou consideravelmente, correlacionando, dessa forma, o pH com a desnaturação protéica.

HIDALGO & GAMPER (1977) estudaram a perda de solubilidade da solução 2% de CPSU liofilizado, em pH entre 2 e 12, a 80°C e 134°C. Os autores observaram que no pH neutro, um tratamento a 80°C por 20 minutos causou 10% de insolubilização, e que, a pH 4,88, quase 70% das proteínas foram insolubilizadas. Quando se adicionou solução 0,03 M de CaCl₂ a insolubilização das proteínas ocorreu em toda faixa de pH, sendo praticamente a mesma, entre 50 e 60%, para um tratamento térmico de 80°C entre 5 e 20 minutos. Isto mostra o efeito do íon cálcio no soro sobre a estabilidade térmica das proteínas. VARUNSATIAN et alii (1983), seguindo esta linha, estudaram o efeito do cálcio, do sódio e do magnésio sobre as proteínas do soro, concluindo que a adição de CaCl₂ e MgCl₂ seguida de tratamento térmico causa aumento da desnaturação e agregação das proteínas, em especial da Beta-Lactoglobulina.

LI-CHAN (1983) estocou CPSU em pó por 42 dias a 37°C em ambiente com 75% de umidade relativa. Durante esse tempo de estocagem, o autor observou uma perda de 14% da solubilidade das proteínas e considerou esse valor como pequeno e aceitável.

Embora resulte na perda da funcionalidade das proteínas, a desnaturação nem sempre pode ser descrita como problema. As proteínas desnaturadas têm maior digestibilidade e portanto apresentam maior valor nutritivo (SGARBIERI, 1987). Também, para que se use o CPSU em produtos de panificação, é de interesse que as proteínas estejam parcialmente desnaturadas. Isto porque as proteínas do soro causam uma perda do volume do pão devido à ação redutora dos aminoácidos sulfurados sobre o glúten (ZADOW et

alii, 1983). A desnaturação das proteínas do CPSU para uso na produção de pães deve estar em torno de 80 a 85% (GUY, 1978; HARPER & ZADOW, 1984). Devido ao seu efeito redutor, obtém-se excelente resultado na adição de CPSU à farinha para produção de bolos e biscoitos (GUÉRIVIERE, 1981).

Existem várias formas de se determinar a extensão da desnaturação protéica, destacando-se a eletroforese e a determinação dos grupos sulfidrila ou de lisina. Estas técnicas são indiretas e pouco sensitivas, tornando difícil a avaliação dos resultados (SCHMIDT et alii, 1984). A determinação da desnaturação a pH natural e a 4,6 é diferenciada metodologicamente pelos termos aglomeração e desnaturação, respectivamente (MORR et alii, 1973).

O método mais usado para avaliar a extensão da aglomeração protéica e da desnaturação protéica, devido a um dado processamento, está baseado na separação dos aglomerados e das proteínas desnaturadas por centrifugação, a pH natural da amostra no caso de aglomeração e a pH 4,6 no caso das proteínas desnaturadas do soro (MORR et alii, 1973). Existem trabalhos que também sugerem a diluição da amostra a 5% de sólidos totais (HAGGETT, 1976a) ou 10% de sólidos totais (MORR, 1985), ou ainda a diluição de 5:1 (RICHERT et al, 1974) ou solução a 1% (KOHNHORST & MANGINO, 1985). Esta diluição ainda pode ser feita com água destilada (MORR et alii, 1973), solução tampão (MORR et alii, 1973) ou solução de NaCl 0,1M (MORR, 1985).

A formação de agregados protéicos e de fosfato de cálcio coloidal é afetada pelo pH e pelo potencial REDOX (WALSTRA & JENNESS, 1984; JENNESS et alii, 1978). Obviamente, o ajuste de pH e o uso de soluções salinas visam à modificação do equilíbrio do fosfato de cálcio coloidal.

Em todos os métodos encontrados, a fração sobrenadante é então avaliada em seu teor de proteínas, e a diferença entre este resultado e o da amostra original expressa como porcentagem de proteína insolúvel ou proteína desnaturada.

A força e o tempo de centrifugação também variaram muito. HAGGETT (1976a) centrifugou a 2500 - 3000 xg por 5 minutos. RICHERT et alii (1974) centrifugaram a 1000 x g por 10 minutos, enquanto HIDALGO & GAMPER (1977) centrifugaram a 3150 x g por 30 minutos.

Nos trabalhos mais recentes, usaram-se sempre forças centrífugas mais altas, como 20 000 x g por 30 minutos (MORR, 1985; KOHNHORST & MANGINO, 1985), 206 000 x g por 1 hora (NIELSEN et alii, 1973) ou 27 000 x g por 1 hora (LI-CHAN, 1983). SCHMIDT et alii (1986) observaram que o aumento de 40 000 x g para 100 000 xg por 30 minutos não afetou o resultado da análise.

III.3.3.2. Gelificação

A capacidade de gelificação é uma propriedade importante para muitos alimentos protéicos. O gel protéico é composto de matrizes tridimensionais parcialmente associadas, nas quais a água

é encapsulada. Os géis são caracterizados pela sua viscosidade relativamente alta, plasticidade e elasticidade. A capacidade da proteína de formar um gel que possa encapsular água, aromas, açúcares e outros compostos é de grande utilidade no desenvolvimento de novos produtos (KINSELLA, 1976).

As técnicas mais importantes de gelificação são a indução pelo íon cálcio (tofu de soja e queijos - gelificação da caseína) e a indução pelo calor (gelatina, albumina do ovo). A gelificação térmica, ou induzida pelo calor, é descrita como um mecanismo de 2 etapas que envolve um desdobramento inicial da proteína seguido por reações associativas, quando então irá se formar a estrutura do gel (SCHMIDT & ILLINGWORTH, 1978).

A estrutura do gel é formada por uma combinação de ligações específicas e não específicas. As ligações específicas são ligações covalentes, principalmente pontes dissulfeto entre cisteínas ou grupos sulfídricos ativados. As não específicas envolvem principalmente pontes de hidrogênio, ligações iônicas e atrações hidrofóbicas (SCHMIDT & ILLINGWORTH, 1978).

O CPSU apresenta capacidade de formar géis quando as proteínas estão em sua forma solúvel, não desnaturadas, além de estarem em concentração adequada, pH e condições iônicas (MORR, 1979). A aparência do gel de proteína do soro varia de translúcida e elástica a opaca, quebradiça e semelhante a uma coalhada. Geralmente, géis translúcidos são formados em baixas concentrações protéicas (3 a 5%) e baixas temperaturas de aquecimento (55 a 70°C). Géis mais agregados e opacos são formados em concentra-

cões protéicas mais altas (em torno de 10%) e tratamento térmico mais severo (acima de 90°C). Géis translúcidos também se formam em baixa concentração iônica (SCHMIDT et alii, 1984).

KOHNHORST & MANGINO (1985) estudaram variáveis na composição do CPSU que poderiam afetar sua capacidade de gelificação. A conclusão foi que o modelo que melhor refletiu esta propriedade incluiu a hidrofobicidade das proteínas (medida por ligações de heptano) e o conteúdo de cálcio. De acordo com SCHMIDT et al (1984), um aumento no teor de cálcio melhora a capacidade de gelificação.

MCDONOUGH et alii (1974) afirmam que para o mesmo tratamento térmico (85°C/5 minutos) é necessário o dobro de proteína de clara de ovo para se obter a mesma firmeza de gel, em comparação à proteína do CPSU.

Segundo HAGGETT (1976a) a gelificação do CPSU é muito dependente do pH. A temperatura de gelificação é similar à da clara de ovo em pH alcalino. A força do gel de CPSU em pH 6,0 é semelhante à da clara de ovo, embora o gel de CPSU tenha textura de coágulo, enquanto que o gel da clara de ovo é elástico. A pH 8,5, o gel de CPSU é elástico e macio. As proteínas do CPSU gelificam a 80°C em pH 6,0 ou a 70°C em pH 8,5. A temperatura de gelificação das proteínas da clara de ovo é de 68°C (HAGGETT, 1976a). Esta propriedade das proteínas do CPSU permite que este seja usado como substituto da clara de ovo, ou mesmo em produtos como pudins e flans.

THOMPSON et alii (1983) estudaram o efeito da adição de concentrado protéico de soro obtido por precipitação em sorvete e pudim. Devido às propriedades de gelificação das proteínas do soro, o pudim (CPSU + leite) teve maior hidratação que o pudim-padrão de leite, havendo retardamento na retrogradação do amido.

MELLO et alii (1987) substituíram diferentes porcentagens de leite por CPSU em pudim de chocolate. A adição de CPSU, em proporções entre 30 e 40%, ao leite, permitiu a obtenção de produtos com excelente textura e aceitação sensorial.

As variações de metodologia para determinar a propriedade de gelificação são muitas. As amostras podem ser diluídas ou não. KOHNHORST & MANGINO (1985) usaram solução com 7,5% de proteínas, enquanto DE WIT & DE BOER (1975) e TO et alii (1985) diluíram a 10% de proteínas. Já DUNKERLEY & HAYES (1980) e HAGGETT (1976a) diluiram as amostras a 10% de sólidos totais.

As temperaturas usadas na gelificação das proteínas do soro estão sempre acima de 70°C, já que é necessária a desnaturação das proteínas para que haja incorporação de água (SCHMIDT et alii, 1986). KOHNHORST & MANGINO (1985) usaram banho-maria a 90°C por 15 minutos. HAGGETT (1976a) aumentou a temperatura numa taxa de 2°C/min até 85°C. McDONOUGH et alii (1977) aqueceram as amostras em banho a 85°C por 5 minutos. TO et alii (1985) usaram a temperatura de 100°C por 5 minutos. COOPER et alii (1977) aqueceram as amostras colocadas em bandejas com água a 85°C, em estufa a 177°C por 30 minutos.

Na maior parte dos trabalhos acima citados usaram-se tubos para este tratamento térmico, variando entre 10 e 16 mm de diâmetro, tapados ou vedados com papel alumínio. COOPER et alii (1977) usaram bêquer de 50 ml.

Também são encontradas diferentes formas de se avaliar a força do gel obtido. TO et alii (1985), DUNKERLEY & HAYES (1980), assim como KOHNHORST & MANGINO (1985) usaram o Instron para avaliar a força do gel. HAGGETT (1976a) usou o penetrômetro de cone. SCHMIDT et alii (1986) usaram o viscosímetro Rotovisco II. DE WIT & DE BOER (1975) e McDONOUGH et alii (1977) usaram o viscosímetro de Brookfield.

III.3.3.3. Emulsificação

A capacidade de emulsificação depende da habilidade da proteína em se difundir para a interface água-óleo, desdobrar e se orientar de tal forma que os grupos hidrofóbicos se associem com a fase oleosa, enquanto os grupos hidrofílicos se liguem à fase aquosa (SCHMIDT et alii, 1984).

A real capacidade de emulsificação das proteínas pode variar amplamente, dependendo do tamanho, formato e solubilidade das moléculas protéicas, além do pH, temperatura e força iônica (DELANEY, 1976). O tipo de equipamento a ser usado no preparo da emulsão, bem como os níveis de desnaturação e agregação protéica, que são prejudiciais à capacidade de emulsificação das proteínas, são também muito importantes para a avaliação da emulsão obtida.

(MORR, 1979). Geralmente, a capacidade de emulsificação e a eficiência das proteínas tendem a diminuir com o aumento da concentração protéica acima de uma concentração crítica, e vice-versa. Isto é aceitável porque numa concentração protéica mais baixa é possível se obter um maior desdobramento dessas proteínas, o que irá permitir uma maior interação molecular (KINSELLA, 1976).

Esta correlação - maior capacidade de emulsificação para extratos de menor concentração protéica - foi observada por PEARSON et alii (1965) e por IVEY et alii (1970).

PEARSON et alii (1965) estudaram a capacidade de emulsificação de leite em pó desnatado a 1750 rpm. Observaram que o teor protéico da fase aquosa não se correlaciona bem com a capacidade de emulsificação e justificaram os resultados obtidos através da solubilidade das proteínas na fase aquosa já que, segundo os autores, somente a fração protéica solúvel pode atuar como agente emulsificante.

IVEY et alii (1970) estudaram a capacidade de emulsificação de proteína de carne bovina. Segundo estes autores a correlação inversa concentração protéica - capacidade de emulsificação está ligada à rotação usada no teste. Aumentando-se a rotação a valores maiores que 4.000 rpm esse efeito se tornou reduzido. Explicou-se o fato de duas formas diferentes :

a - com o aumento do teor de agente emulsificante (proteína da carne) houve formação de uma camada protéica mais espessa em volta das gotículas de óleo, por requerer mais fase contínua (solução protéica) para separar as gotas de óleo, o que redu-

ziu a área superficial de óleo que poderia ser emulsificado.

b - Ocorreu orientação molecular da proteína na superfície da gota de óleo (emulsificação) por desnaturação, o que ocorre mais facilmente em soluções mais diluídas.

DU BOIS et alii (1972) mostraram que a ação das proteases em extratos protéicos de carne bovina aumenta a capacidade de emulsificação, e que no caso da ação da papaina esse aumento é de 39 %.

MELACHOURIS (1984) afirma que o CPSU tem boa capacidade de emulsificação, sendo bem maior que a capacidade de leite em pó, mas menor que a do caseinato de sódio. Já McDONOUGH et alii (1976) afirmaram que a capacidade de emulsificação das proteínas do CPSU é pelo menos tão boa quanto a do caseinato de sódio.

Portanto, o CPSU tem um grande potencial de uso em produtos cárneos como salsichas, molhos para saladas, maioneses e outros (McDONOUGH, 1977; DELANEY, 1976; SPURGEON, 1976).

Embora esta propriedade tenha sido estudada por muitos autores, existe grande dificuldade em se comparar os resultados obtidos, devido ao fato de que cada trabalho apresenta parâmetros diferentes na forma em que é obtida a emulsão.

No entanto, a maior parte dos trabalhos envolve a adição de óleo numa taxa constante, sob agitação, à solução a ser testada, até que ocorra colapso da emulsão (separação das fases oleosa e aquosa).

Existem trabalhos que fixam a quantidade de amostra e óleo a serem misturados em condições determinadas, e que avaliam quanto do óleo foi incorporado (TORNBERG & HERMASSON, 1977; DE WIT & DE BOER, 1975).

ACTON & SAFFLE (1969) preparam um extrato protéico com solução salina. 15 ml desse extrato e 20 ml de óleo de milho são misturados a 10 800 rpm por 30 segundos e então passa-se a adicionar óleo de milho numa taxa de 1 ml por segundo, até que ocorra colapso visível da emulsão.

Já MORR et alii (1973) adicionaram óleo de milho numa taxa de 0,8 ml / s a uma amostra com 0,1% de proteína, sob agitação. A resistência elétrica foi monitorada num voltímetro, até que se atingisse resistência elétrica infinita.

WEBB et alii (1970) construíram um recipiente acoplado a um suporte, com dimensões ideais para fixar o misturador, os eletrodos de um voltímetro e um tubo para adição de óleo. Os autores usaram óleo de soja, e a adição foi feita na taxa de 1 ml/s, sendo que a velocidade do misturador foi de 1600 rpm. Houve uma mistura inicial de 20 g de amostra com 10 g de óleo, por 15 segundos.

Os trabalhos acima citados dão uma idéia das variações nas condições de se obter a emulsão. O aspecto mais crítico, no entanto, é que os trabalhos encontrados usam as mais variadas rotações, com os mais variados equipamentos, que vão de um mixer caseiro a um homogeneizador industrial. Esta variação é de grande importância no resultado final, como é mostrado por TORNBERG &

HERMASSON (1977).

III.3.3.4. Incorporação de ar

A capacidade de incorporação de ar depende da habilidade das proteínas em se desdobrar na interface água-ar, permitindo que o ar seja incorporado pela solução (SCHMIDT et alii, 1984). Em espumas de proteínas, o surfactante, que é a própria proteína, reduz a tensão superficial e forma filmes estruturais coesivos em volta das gotículas de ar (KINSELLA, 1979).

MCDONOUGH et alii (1974) observaram que a concentração de sólidos totais do CPSU é um fator crítico na capacidade de incorporação de ar. CPSU com menos que 25% de sólidos totais desenvolveu espumas com excelente incorporação de ar, mas de baixa estabilidade. CPSU com 35% de sólidos totais ficou viscoso demais para incorporar ar. Com 25% de sólidos, a capacidade de incorporação de ar pode ainda ser melhorada através de um tratamento térmico de 65 a 70°C.

Este efeito também foi estudado por RICHERT et alii (1974) que usaram como tratamento térmico ótimo 65°C/30, minutos e observaram que acima de 70°C o resultado é negativo. HAGGETT (1976b) afirma que a estocagem sob refrigeração (5°C) do CPSU causa perda da capacidade de incorporação de ar, e observa que este efeito não é alterado por mudança de pH ou incorporação de açúcar, mas que é eliminado por um aquecimento de 55°C seguido de resfriamento. Este pesquisador conseguiu também obter excelente

incorporação de ar e estabilidade da espuma semelhante à da clara de ovo.

O teor de gordura do CPSU também é de grande importância, já que causa perda de volume. O teor de gordura aceitável é de até 2%, e o ideal em níveis menores que 1% (MCDONOUGH et alii, 1974).

A capacidade de incorporação de ar é importante em muitos alimentos como bolos, doces, sorvetes, merengues e suflês. No entanto, quando o merengue ou o bolo feitos com CPSU em substituição à clara do ovo são levados ao forno, ocorre um colapso da estrutura formada (DEBOER et alii, 1977), e este problema ainda precisa ser contornado.

Como as outras propriedades funcionais, a incorporação de ar apresenta metodologias variadas na literatura. A amostra a ser batida em batedeira de bolo caseira é sempre diluída em função da porcentagem de sólidos totais ou de proteínas.

JELEN (1974) afirma que a melhor incorporação de ar é a da amostra com 25% de sólidos totais, embora a melhor estabilidade seja a da amostra com 40% de sólidos totais. Sugere a adição de açúcar ou de amido solúvel para atingir estes teores de sólidos totais. DE VILBISS et alii (1974) trabalharam com solução a 30% de sólidos totais, enquanto MORR et alii (1973) usaram 10g de CPSU e 5g de clara de ovo em pó para 100 ml de água destilada. HAGGETT (1976a) bateu CPSU com açúcar. DE WIT & DE BOER (1975) usaram solução com 10% de proteínas.

Alguns métodos encontrados fixam o tempo de batedura, como os de DE VILBISS et alii (1974) e McDONOUGH et alii (1974), que usaram o tempo de 10 minutos, ou HAGGETT (1976a), que usou o tempo de 6 minutos. Outros autores bateram as amostras até atingir consistência de clara em neve (MORR et alii, 1973), e este tempo parece ficar em torno de 15 a 20 minutos (HANSEN & BLACK, 1972).

É ainda lugar comum colocar o merengue obtido em漏il, de forma a se obter o tempo necess谩rio para cair a primeira gota (HAGGETT, 1976a; McDONOUGH et alii, 1974), ou o volume de gotas obtido para um tempo fixo (MORR et alii, 1973), como medida da estabilidade da espuma obtida.

O CPSU pode ser usado em muitas aplicações em alimentos: dietéticos e infantis (HOLMES, 1979; METTLER, 1980), produtos de panificação (ZADOW & HARDHAM, 1981; GUY, 1978), bebidas (HOLSINGER et alii, 1974; VIEIRA & NEVES, 1985), produtos achocolatados (SPURGEON, 1976; McDONOUGH, 1977; MELLO et alii, 1987), iogurtes (BROOME et alii, 1982), e outras (ALLUM, 1980; HOLMES, 1979).

IV - MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório Geral de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

O soro de queijo Minas Frescal foi cedido pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), com exceção do 5º processamento de queijo para obtenção de soro, que foi realizado na Planta Piloto de Laticínios da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, seguindo o mesmo procedimento usado no ITAL.

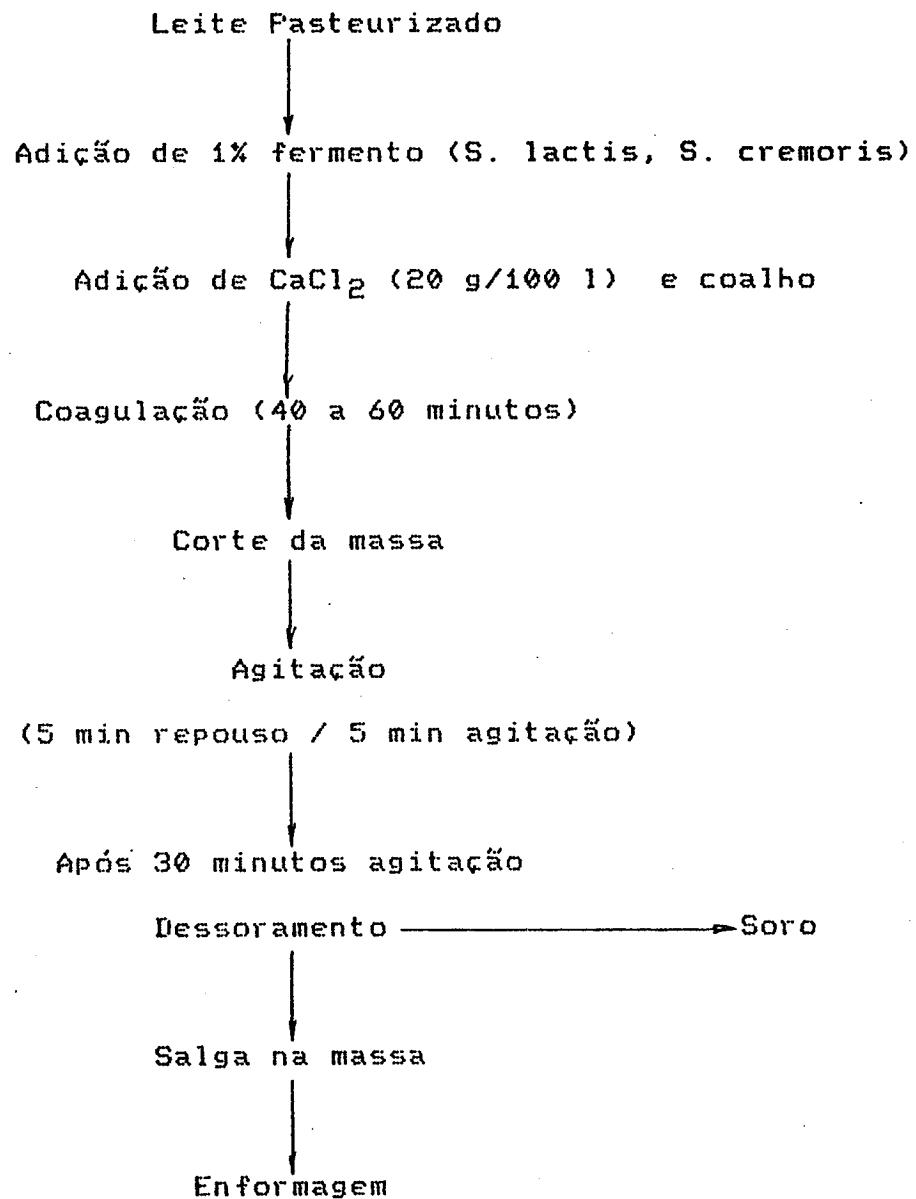
O processamento do soro por ultrafiltração foi realizado na Planta Piloto de Laticínios da FEA / UNICAMP.

Para verificar a concentração obtida no processo de ultrafiltração realizaram-se análises de composição (cinzas, extrato seco, proteínas, gordura) do soro inicial e dos retentados obtidos. Das propriedades funcionais, estudou-se a desnaturação protéica, a emulsificação, a gelificação e a incorporação de ar dos retentados obtidos.

IV.1. ULTRAFILTRAÇÃO DO SORO

O soro foi recebido imediatamente após o processamento do queijo Minas Frescal, feito segundo a FIGURA 1.

FIGURA 1 - Fluxograma do Processamento do Queijo Minas Frescal



Partiu-se de 150 litros de soro doce filtrado em malha fina que foi então pasteurizado a 62,5°C / 30 minutos em tanque com agitação, aquecimento e resfriamento, marca INADAL, para inativação da cultura e coalho, e resfriado a 55°C. Este soro foi pesado em balança FILIZOLA com capacidade para 500 Kg e precisão de 500 g, e ultrafiltrado em membrana de fibras capilares ROMICON com valor de corte de 10.000 daltons, pressão de entrada de 1,75 Kgf / cm² e pressão de saída de 0,65 Kgf / cm², segundo indicação de catálogo do fabricante, e, temperatura entre 50 e 55°C (SOOD & KOSIKOWSKI, 1979; YAN et alii, 1979).

O soro foi ultrafiltrado até que a concentração do retentado atingisse o valor desejado, medido através do volume de permeado retirado :

$$VR = V_0 / F \quad \text{e} \quad VR = V_0 - VP$$

Onde:

VR = volume de retentado

VP = volume de permeado

V₀ = volume inicial

F = fator de concentração

Os concentrados protéicos de soro ultrafiltrado (CPSU) foram obtidos com diferentes níveis de concentração, sendo que os fatores de concentração estudados neste trabalho foram de aproximadamente 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0 e 7,5. Foram realizadas 2 repetições para cada nível de concentração. Retirou-se de 1 até 4

amostras das diferentes concentrações, por processo. Uma parte de cada amostra retirada foi guardada em geladeira e outra foi congelada em recipientes plásticos de 2 litros, em freezer.

IV.1.1. Unidade de Ultrafiltração

O equipamento usado foi a Planta-Piloto de Ultrafiltração marca Alfa-Laval, UFS-1. Foi utilizado um cartucho Romicon HF-15-43-PM10, com área de 1,4 m² e 635 mm de comprimento e peso molecular de corte de 10 000. Este cartucho contém aproximadamente 680 fibras paralelas de polissulfona com diâmetro interno de 1,1 mm. Suas condições de operação permitem uma variação de pH de 1,5 a 13,0 e temperatura de até 75°C, resistem a 200 ppm de cloro (25°C) e tem resistência à pressão dependente da temperatura (a 20°C resiste a 2,80 bar, e a 75°C resiste a 1,75 bar).

IV.1.2. Limpeza e Sanificação da Unidade de Ultrafiltração

A limpeza da membrana de ultrafiltração, era realizada antes e após o processamento do soro, seguindo as especificações do fabricante:

- 1 - Lavagem com água corrente e filtrada em filtro de fibra de celulose, com permeabilidade de 5 micras.
- 2 - Lavagem com solução de NaOH 1% a 50°C / 30 minutos
- 3 - Enxágue com água até neutralização do pH

- 4 - Lavagem com solução de ácido fosfórico 0,5% a 50°C / 30 min
- 5 - Enxágue com água até neutralização do pH
- 6 - Lavagem com solução de hipoclorito de sódio 200 ppm a 25°C / 30 minutos
- 7 - Enxágue com água
- 8 - A membrana, quando não estava em uso, ficava sempre mantida em solução 20 ppm de hipoclorito de sódio

Quando o fluxo de permeado não era regenerado até o seu valor inicial, após o processo de limpeza utilizava-se detergente enzimático P3 Ultrasil 50 produzido pela Henkel do Brasil. Uma solução a 0,8% deste detergente era recirculada pela membrana a 40°C por 40 minutos. Dependendo do restabelecimento do fluxo era realizada outra limpeza a partir do item 3, ou deixava-se o cartucho imerso nesta solução por até 1 semana, repetindo-se após este período o procedimento normal de lavagem.

IV.1.3. Curvas de Permeação

Como forma de avaliação da concentração, durante o processo de ultrafiltração mediu-se o tempo necessário para se retirar aproximadamente 10 litros de permeado (volume marcado no balde).

O tempo foi medido em cronômetro e o permeado foi pesado em balança FILIZOLA com capacidade para 500 Kg e precisão de 0,5 Kg. Este procedimento foi feito consecutivamente até que se atingisse a concentração desejada do retentado (calculado por peso do

permeado retirado).

A vazão de permeado foi calculada em Kg/min e construíram-se curvas de permeação para se observar a evolução da vazão pelo tempo de processo.

IV.1.4. Cálculo do Coeficiente de Retenção

O coeficiente de retenção para um determinado componente é um indicador de quanto a membrana retém do mesmo. Este coeficiente foi calculado segundo FIL-IDF (1981):

$$Rx = 1 - (\% x \text{ no permeado} / \% x \text{ no retentado})$$

Onde :

Rx = coeficiente de retenção do componente x

% x = porcentagem do componente x

IV.1.5. Cálculo do Fator de Concentração de Componentes

O fator de concentração para um determinado componente foi calculado da seguinte forma:

$$Fx = \% x \text{ no retentado} / \% x \text{ no soro inicial}$$

Onde:

Fx = fator de concentração do componente x

% x = porcentagem do componente x

IV.2. ANÁLISES DE COMPOSIÇÃO

IV.2.1. Determinação de Extrato Seco Total

O extrato seco total foi determinado segundo o procedimento descrito em "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz" (15.1.6.1). Cápsulas de porcelana com aproximadamente 10 g de areia tratada e 5 g de amostra foram aquecidas inicialmente em banho-maria e a seguir em estufa a 105°C por 3,5 horas, ou até peso constante. Cada determinação foi feita em triplicata.

IV.2.2. Determinação de Cinzas

As cinzas foram determinadas segundo o procedimento descrito em "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz" (15.1.13). Cadiinhos com 5 g de amostra foram aquecidos em banho-maria até a secagem da amostra, queimados em bico de Bunsen até que não houvesse mais liberação de fumaça e incinerados em mufla a 550°C por 6 horas, ou até peso constante. Cada determinação foi feita em triplicata.

IV.2.3. Determinação de Proteínas

A proteína foi determinada segundo o procedimento descrito pelo FIL-IDF (1962), pelo método de micro Kjeldahl. Aos tubos de digestão adicionou-se 1,5g de mistura digestora (94g de

K_2SO_4 , 5g de $CuSO_4$ e 1g de selênio misturados), 0,2g de amostra e 4 ml de ácido sulfúrico. A digestão foi realizada a 400°C. A destilação das amostras foi feita por neutralização das mesmas, com NaOH 50%, e a amônia produzida foi recolhida em solução de ácido bórico com indicador misto (0,0600 g de vermelho de metila e 0,1500 g de verde de bromocresol dissolvidos em 100 ml de álcool absoluto). Esta solução foi titulada com solução padronizada de HCl 0,02N. A porcentagem de nitrogênio presente na amostra foi calculada da seguinte forma:

$$\%N = 0,00028 \times V \text{ (ml)} \times 100 / P \text{ (g)}$$

Onde: $\%N$ = porcentagem de nitrogênio presente na amostra

V = volume de HCl usado na titulação da amostra

P = peso da amostra

A porcentagem de proteínas foi obtida pela multiplicação da porcentagem de nitrogênio pelo fator 6,38. Cada determinação foi feita em triplicata.

IV.2.4. Determinação de Gordura

A gordura foi determinada segundo o procedimento descrito em "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz" (15.1.9.1) Butirômetros de Gerber com 10 ml de ácido sulfúrico, 1l ml de amostra e 1 ml de álcool amílico foram arrolhados, agitados manualmente, centrifugados em centrifuga de Gerber a 1200 rpm por 12 minutos, e a leitura feita no próprio butirômetro. Cada determinação foi feita em duplicata.

IV.2.5. Lactose

A porcentagem de lactose foi calculada por diferença entre os sólidos totais e os outros componentes.

IV.2.6. pH e Acidez Dornic

O pH foi medido em potenciômetro DIGIMED modelo DMPH2, e a medida de acidez feita por titulação da amostra com solução de NaOH N/9 (solução Dornic) por viragem do indicador fenolftaleína (Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, 15.1.5.2).

IV.3. ANÁLISES DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS

IV.3.1. Gelificação

O método usado neste trabalho foi uma modificação do método de DUNKERLEY & HAYES (1980). Aproximadamente 25 ml de CPSU foram colocados em tubo de 22 mm de diâmetro por 125 mm de altura (5 tubos por amostra), vedados com papel alumínio e aquecidos imersos em banho-maria por 30 minutos a 85°C. Os tubos foram então resfriados em banho de gelo por 5 minutos e deixados à temperatura ambiente por 1 hora. Foi então realizada medida de visco-

sidade em viscosímetro de Brookfield LVT, spindle 3 ou 4, velocidade 12, sendo que, para fazer a leitura, os tubos foram presos com garra em suporte. A transformação dos valores de leitura para centiPoise (cP) foi encontrada através da multiplicação de fatores de correção, de acordo com o manual do equipamento. Testou-se o efeito do pH natural, a 4,6 e a 8,5 sobre esta propriedade, através da correção do pH das amostras. O pH 4,6 foi ajustado pela adição de solução 1,5 N de HCl e para pH 8,5 com solução de NaOH 20%, utilizando-se um potenciômetro acoplado a um agitador magnético. Estes testes foram realizados com CPSU guardado em geladeira por 1 dia e CPSU congelado e posteriormente descongelado por 24 horas, em geladeira, e 3 a 4 horas à temperatura ambiente.

IV.3.2. Emulsificação

O método usado neste trabalho foi uma modificação dos métodos de ACTON & SAFFLE (1969) e de MORR et alii (1973). Utilizaram-se 60 ml de CPSU e 60 ml de óleo de milho que foram colocados em copo de liquidificador marca Walita, modelo L eletrônico e submetidos a 15.000 rpm por 30 segundos (Timer ligado). A partir deste tempo, começou-se a adicionar óleo de milho com auxílio de uma bureta, na velocidade de aproximadamente 1,5 ml/s, até que não ocorresse mais incorporação de óleo.

A emulsão de CPSU atingia uma consistência tal que o liquidificador não conseguia mais incorporar óleo, sem atingir o colapso da emulsão. Este ponto foi medido através da amperagem de

uma das fases da tomada, com um Multi-Tester Model 700 TMK, já que ao início do processo a leitura era de 32,5 mA, e que, após a adição de certo volume de óleo, atingia aproximadamente 42,5 mA. Ao não haver mais incorporação de óleo, voltava à leitura inicial de 32,5 mA. Este fato também pode ser acompanhado pela variação no ruído do aparelho. O teste sempre foi feito em triplicata. O resultado foi expresso em ml de óleo emulsificado por g de proteína, sendo calculado da seguinte forma:

$$CE = (60 + V) / 0.6 \times P$$

Onde : CE = capacidade de emulsificação da amostra

V = volume de óleo adicionado (ml)

P = porcentagem de proteína presente na amostra

O efeito do pH também foi testado para esta propriedade (pH natural, 4,6 e 8,5), e, as amostras a pH 4,6 e 8,5 preparadas como descrito no item II.3.1.

A estabilidade da emulsão formada foi avaliada através do volume de óleo separado da emulsão guardada por até 20 dias em geladeira.

Foram testadas amostras no dia seguinte ao processo de ultrafiltração (guardadas em geladeira), e amostras congeladas e posteriormente descongeladas (24 horas em geladeira e 3 a 4 horas à temperatura ambiente).

IV.3.3. Incorporação de Ar

Para este teste usou-se o método de MORR et alii (1973) com o volume de 110 ml de CPSU batido por 6 minutos, como sugerido por HAGGETT (1976 a) e usando batedeira marca Arno, modelo Ciranda, na velocidade 3. O teste foi feito em triplicata.

IV.3.4. Aglomeração e Desnaturação Protéica

Usou-se basicamente o método de RICHERT et alii (1974) e o de NIELSEN et alii (1973), sem qualquer diluição do CPSU, e a centrifugação foi feita a 10.000 rpm (12.100g) por 30 minutos.

Para se testar a aglomeração fez-se a centrifugação em pH natural, e para se testar a desnaturação usou-se pH 4,6, ajustado com solução 1,5N de HCl, em potenciômetro acoplado a um agitador magnético (RICHERT et alii, 1974).

O sobrenadante foi então analisado em seu teor de proteínas pelo método de micro-Kjeldahl (item II.2.3.) e a porcentagem de desnaturação calculada entre o teor de proteína da amostra original e o sobrenadante.

IV.3.4.1. Cálculo dos índices de Aglomeração e Desnaturação

Para o cálculo dos índices de aglomeração e de desnaturação protéica foi necessário corrigir a porcentagem original da proteína para a porcentagem correspondente a um soro desnatado. A

nova porcentagem de proteína foi calculada da seguinte forma:

$$PC = P_0 \times 100 / (100 - G)$$

Onde: PC = porcentagem de proteína corrigida

P₀ = porcentagem de proteína original da amostra

G = porcentagem de gordura da amostra

O cálculo da aglomeração e da desnaturação em relação a PC foi feito da seguinte forma:

$$A = \frac{(PC - PA)}{PC} \times 100 \quad \text{e} \quad D = \frac{(PC - PD)}{PC} \times 100$$

Onde : A = porcentagem de proteína aglomerada

PA = porcentagem de proteína do sobrenadante da amostra
centrifugada a pH natural

D = porcentagem de proteína desnaturada

PD = porcentagem de proteína do sobrenadante da amostra
centrifugada a pH 4.6.

IV.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para os soros cru, pasteurizado, e concentrado por ultrafiltração, foram feitas as seguintes análises:

- Contagem Total - aeróbios mesófilos, feita em meio ágar padrão, a 35°C por 48 horas, segundo metodologia do ICMSF (1978).
- Contagem de Termófilos Aeróbios - usou-se a mesma metodologia que a usada na contagem total; as placas foram vedadas com fita adesiva e incubadas a 55°C por 48 horas (ICMSF, 1978).

IV.5. EQUIPAMENTOS USADOS

- Potenciômetro DIGIMED, modelo DMPH2 - com faixa de medição de 0,00 até 14,00, compensação de temperatura de 0 a 100°C, sendo a temperatura de referência de 25°C, com eletrodo combinado de vidro.
- Centrífuga de Gerber marca FANEM - com capacidade para 8 butirômetros e rotação de 1000 a 1200 rpm.
- Digestor de proteínas para micro Kjeldahl marca Sarge Aparelhos Científicos Ltda.
- Destilador de nitrogênio para macro e micro Kjeldahl marca TECNAL, modelo TE 036.
- Balança analítica marca Mettler, modelo AE 200.
- Balança Semi-analítica marca Mettler, modelo A1000.
- Estufa de secagem e esterilização marca FANEM, modelo 315 SE.
- Estufa de cultura bacteriológica marca FANEM, modelo 002-CB-3.

- Mufla marca FORLABO, temperatura de até 1200°C.
- Banho-maria marca FANEM, modelo 102/6.
- Contador de colônias marca Hellige.
- Liquidificador marca Walita, modelo L eletrônico - com velocidade ajustável entre 9000 e 17000 rpm, Timer de 0 a 120 segundos e copo com capacidade máxima indicada de 1250 ml.
- Batedeira marca Arno, modelo Ciranda - com 4 ajustes de velocidade (0 - desligada, 1 - velocidade baixa, 2 - velocidade média, 3 - velocidade alta), dispositivo de ajuste da altura das hastas na tigela e prato giratório.
- Viscosímetro marca Brookfield, modelo LVT - com 8 velocidades ajustáveis (0,3, 0,6, 1,5, 3, 6, 12, 30 e 60 rpm), "spindles" para diferentes viscosidades, precisão de 1%. Para uma dada velocidade de rotação do "spindle" (forma cilíndrica ou de disco) o torque necessário para vencer a resistência ao movimento induzido é medido através de uma mola calibrada ligada a um ponteiro que vai permitir leitura no mostrador proporcional à viscosidade do fluido.

- Centrifuga International Equipment Company , modelo IEB-20A - para alta velocidade, com ajuste de temperatura (-30°C a +30°C), Timer de 2 a 120 minutos, velocidade de 1000 a 20000 rpm, podendo atingir até 45000 x g, rotor 870 com capacidade para 8 tubos de 50 ml.
- Multi-Tester - Multímetro TMK modelo 700, com ajuste para medir voltagem, resistência elétrica ou amperagem.
- Tanque pasteurizador com agitação, aquecimento e resfriamento, marca INADAL, modelo Mix-Completo-i00.
- Balança marca FILIZOLA com capacidade para 500 Kg e precisão de 0,500 Kg .
- Planta-Piloto de ultrafiltração marca ALFA-LAVAL, modelo UFS-1.
- Cartucho de ultrafiltração marca ROMICON, modelo HF-15-43-PM10, com área de 1,4 m² e 635 mm de comprimento. Este cartucho contém aproximadamente 680 fibras paralelas de polissulfona com diâmetro interno de 1,1 mm. Suas condições de operação permitem uma variação de pH de 1,5 a 13,0 e temperatura de até 75°C. Resiste a 200 ppm de cloro (25°C) e tem resistência à pressão dependente da temperatura (a 20°C resiste a 2,80 bar, e a 75°C resiste a 1,75 bar).

V - RESULTADOS E DISCUSSÃO

V.1. PROCESSO DE ULTRAFILTRAÇÃO

Durante o processamento do soro por ultrafiltração, verificou-se um declínio no fluxo de permeado com o aumento do tempo de processo e com o aumento do fator de concentração, como pode ser visualizado nas FIGURAS 2 e 3, e como também foi mostrado por LEE & MERSON (1976), PATEL & MERSON (1978), MAUBOIS (1980).

A diminuição do fluxo encontrada no processo de ultrafiltração foi atribuída por LEE & MERSON (1976) à presença de partículas como microrganismos e complexos protéicos, que contribuem na diminuição do fluxo de permeação devido à formação de uma matriz ou "rede" na superfície da membrana. Esta rede é porosa, mas é estabilizada por materiais de granulação fina, principalmente Beta-lactoglobulina e albumina do soro bovino (LEE & MERSON, 1976).

Para tentar recuperar o fluxo inicial da membrana, obtido no primeiro processo (FIGURAS 2 e 3), a limpeza da membrana foi realizada utilizando-se detergentes enzimáticos, após o segundo e quarto processos, visando hidrolizar as redes protéicas presentes, mas o fluxo inicial do primeiro processo não foi recuperado, indicando provavelmente que o fenômeno de compactação da membrana ocorre simultaneamente com o acúmulo de resíduos protéicos, conforme demonstrado por PATEL & MERSON (1978).

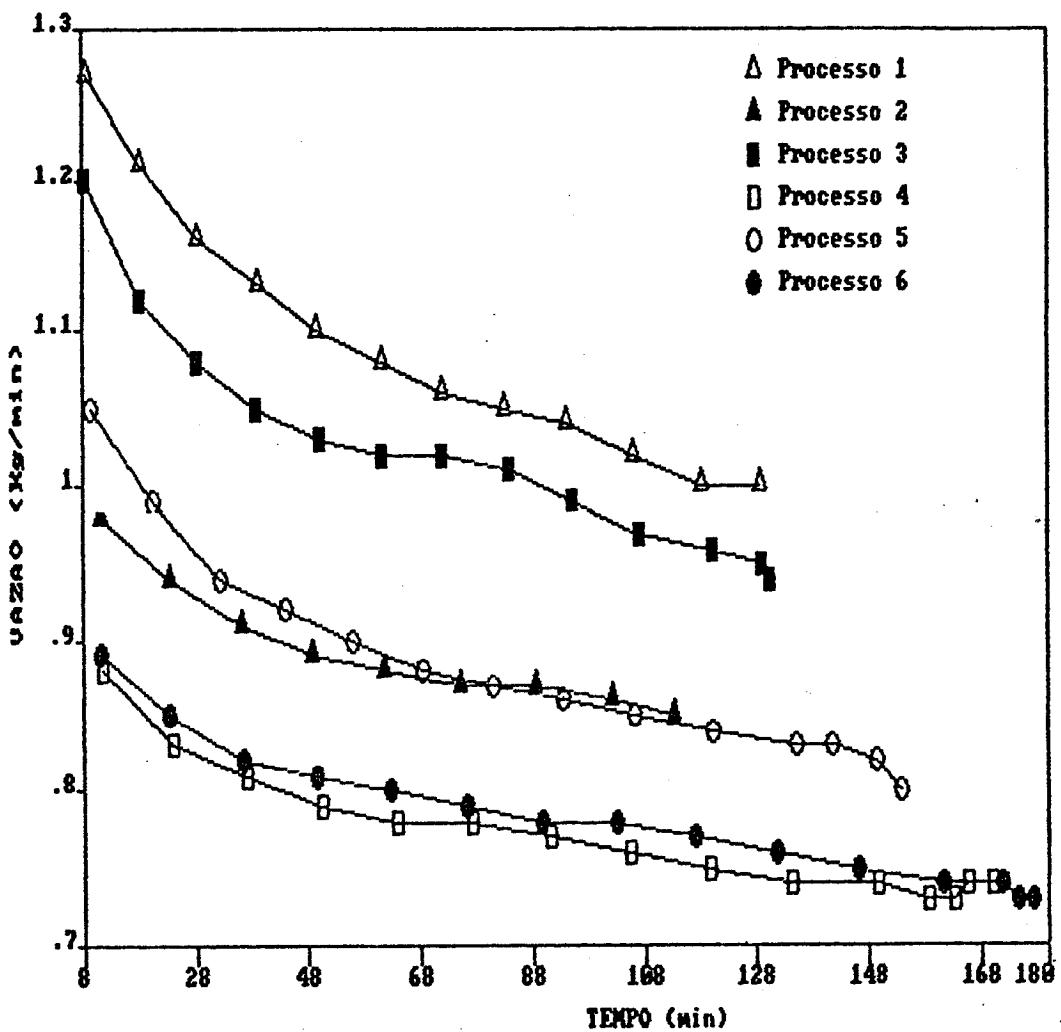


FIGURA 2 - Vazão de Permeação durante o tempo de processo de Ultrafiltração de Soro de Queijo Minas Frescal.

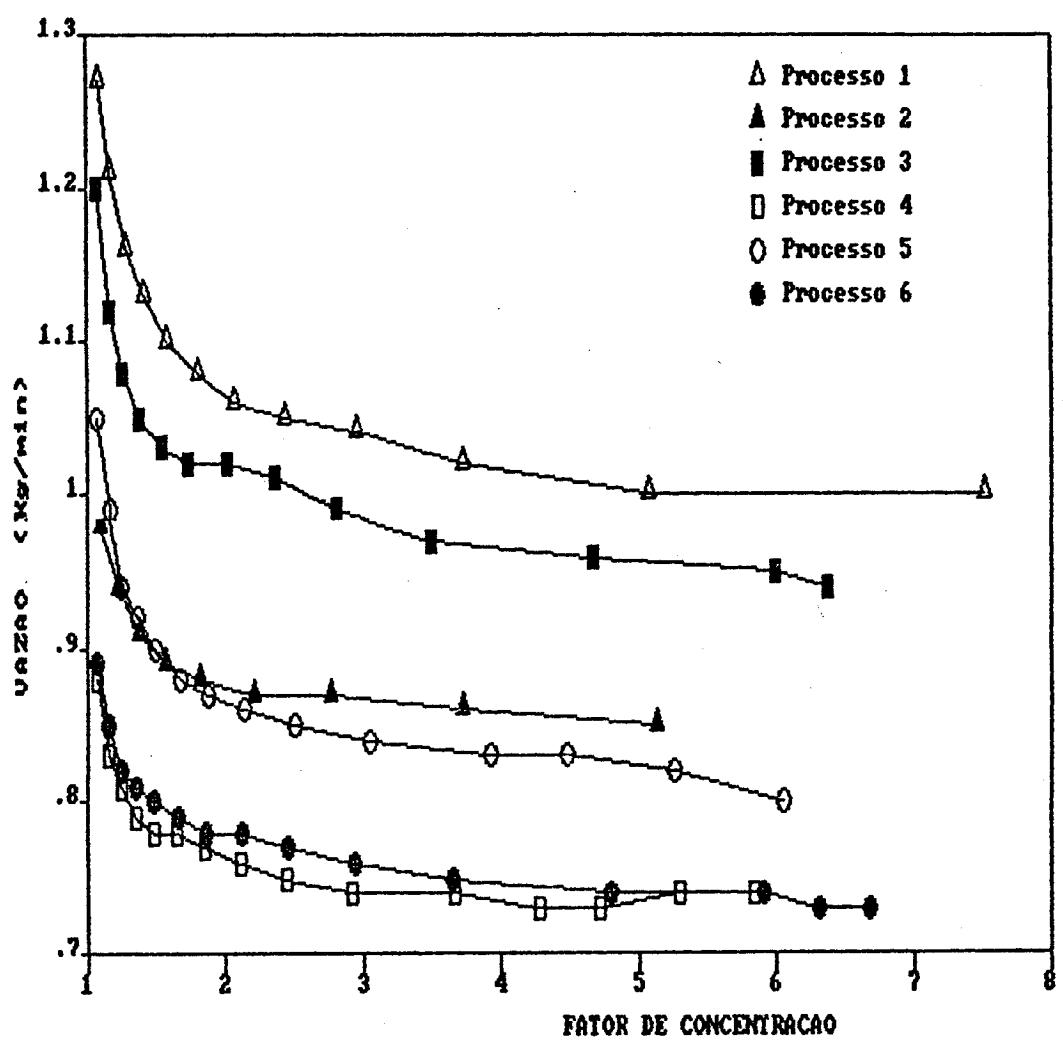


FIGURA 3 - Variação da Vazão de Permeação pelo Fator de Concentração durante o Processo de Ultrafiltração de Soro de Queijo Minas Frescal.

No entanto, verificou-se que esta limpeza enzimática é necessária quando o fluxo inicial diminui, visto que após a limpeza enzimática observou-se um aumento do fluxo, fazendo com que as curvas do 3º e 5º processos apresentassem vazões de permeação mais altas que nos 2º e 4º processos, respectivamente (FIGURAS 2 e 3).

A FIGURA 3 mostra que há um declínio acentuado da vazão de permeação até o fator de concentração de aproximadamente 2, quando então as curvas apresentam uma tendência à estabilização. Este fato sugere que a fase de declínio acentuado é a fase de deposição de partículas e da formação da camada gelificada que vai então ser responsável pela fase de estabilização do fluxo de permeação.

A composição do soro e dos retentados obtidos nos seis processos de ultrafiltração é apresentada na TABELA 10.

Observa-se uma concentração seletiva dos componentes do soro ilustrada principalmente pela razão proteína/lactose, já que ela aumenta com a elevação do nível de concentração dentro de um mesmo processo.

Os teores de cinzas e lactose sofrem um ligeiro aumento com a elevação do nível de concentração, o que também foi observado por TAKAHASHI et alii (1979), usando o mesmo tipo de membrana e soro de queijo Minas Frescal. YAN et alii (1979) observaram que o coeficiente de rejeição de componentes iônicos não é somente causado pelas características da membrana, mas também pela formação de depósitos de proteínas e gordura na superfície da

TABELA 10 - Composição do soro inicial e dos retentados obtidos por ultrafiltração

Amostra	ST (%)	P (%)	C (%)	G (%)	L (%)	P/L	pH	ac D
Soro 1	6.806	1.15	0.408	0.30	4.95	0.23	6.42	12
1R	12.991	4.27	0.665	2.40	5.66	0.75	6.50	20
Soro 2	7.106	0.89	0.339	0.50	5.22	0.17	6.47	11
2R	12.190	3.25	0.653	2.20	6.09	0.53	6.52	16
Perm.	5.362	0.27	0.455	-	4.64	0.06	-	-
Soro 3	6.842	0.91	0.672	0.45	5.11	0.18	6.53	11
3R1	13.335	4.52	0.680	2.90	5.24	0.86	6.65	19
3R2	13.591	4.65	0.691	3.00	5.25	0.89	6.59	20
3R3	13.997	4.90	0.752	3.10	5.25	0.93	6.56	20
Soro 4	6.859	1.27	0.527	0.40	4.66	0.27	6.44	11
4R1	12.153	4.21	0.689	2.35	4.90	0.86	6.49	18
4R2	13.089	4.58	0.701	2.55	5.26	0.87	6.48	19
4R3	14.239	5.23	0.709	2.95	5.35	0.98	6.48	20
4R4	14.727	5.60	0.717	3.00	5.41	1.04	6.48	21
Soro 5	6.596	1.10	0.504	0.40	4.59	0.24	6.58	11
5R1	13.449	5.13	0.695	2.75	4.87	1.05	6.62	19
5R2	16.258	6.46	0.781	4.10	4.92	1.31	6.60	22
5R3	18.597	7.61	0.865	5.10	5.02	1.52	6.57	24
Soro 6	6.723	1.09	0.596	0.30	4.74	0.23	6.50	11
6R1	15.190	6.09	0.717	3.20	5.18	1.18	6.58	22
6R2	16.149	6.54	0.753	3.65	5.21	1.26	6.58	23
6R3	17.024	7.00	0.788	4.00	5.24	1.34	6.56	24

Am - Amostra, onde nR são os retentados obtidos no processo

Perm. - Permeado

ST - Sólidos Totais

P - Proteínas

C - Cinzas

G - Gordura

L - Lactose

P/L - Relação proteína/lactose

ac. - Acidez Dornic

xRy - x - nº do processo

Ry - retentado obtido por ordem de concentração

mesma, que causam resistência à permeação destes componentes iônicos.

Com relação à acidez, observa-se nitidamente seu aumento com a concentração.

O pH sofreu ligeiro acréscimo no início do processo, estabilizando-se no final da concentração, o que pode possivelmente ser explicado devido ao poder tamponante exercido pela maior concentração protéica e de fosfato de cálcio coloidal, magnésio e citrato, no retentado final.

O permeado do 2º processo foi analisado e obteve-se um teor protéico de 0,27 % (TABELA 10), provavelmente originário de frações de proteose peptona com peso molecular menor que 10.000, glico-macro-peptídio, bem como outros peptídios resultantes da ação do coalho e da desnaturação protéica, e nitrogênio Não-protéico, que são passíveis de permeação, conforme apontado por DE WIT & KLARENBEK (1984). MATTHEWS et alii (1976) afirmam que 90 % do nitrogênio encontrado no permeado é não-protéico. SARMA & BATTY (1979) afirmam que, quanto mais alta a porcentagem inicial de proteínas no soro, maior a perda para o permeado.

Embora esta porcentagem de "proteína" encontrada no permeado seja bastante baixa, o volume de permeado retirado neste processo (2º processo - soro 2) foi de 96,6 Kg e, portanto, houve uma perda hipotética de 261 g de proteína, que se estivesse no retentado aumentaria o fator de concentração protéica de 3,7 para 4,3, o que seria praticamente igual ao fator obtido para a gordura, cujo valor foi de 4,4.

Independente da composição inicial do soro, os retentados obtidos apresentaram as porcentagens de sólidos totais e de proteínas altamente correlacionadas entre si, como pode ser visto na FIGURA 4. Isto também foi observado por NIELSEN et alii (1972), que obtiveram curvas de concentração de sólidos totais e de proteínas praticamente paralelas.

Na TABELA II estão apresentados os coeficientes de retenção da membrana, por componente, calculados para o segundo processamento de soro. Observa-se que o coeficiente de retenção da gordura é igual a 1, bem como o coeficiente de retenção da proteína é de 0,92. O coeficiente de retenção de cinzas é de 0,30 e de 0,24, respectivamente, e o dos sólidos totais é de 0,56 no retentado.

Estes valores são bastante próximos aos encontrados na literatura para leite. YAN et alii (1979) encontraram os seguintes valores de coeficiente de retenção para leite integral : 54 % para sólidos totais, 93 % para proteínas, 100 % para gordura, 29% para cinzas, 0,0 % para lactose e 61,5 % para nitrogênio não-protéico.

GLOVER (1971) mostra que para o leite houve uma perda de 5 % de nitrogênio no retentado, que corresponde ao nitrogênio não-protéico do leite, em processo de ultrafiltração com membrana de valor de corte de 45.000. Já para o soro houve perda de aproximadamente 30 % da matéria nitrogenada para o permeado, causada em parte, pela maior proporção de proteínas de baixo peso molecular passíveis de permeação, e, em parte, pelo menor teor de pro-

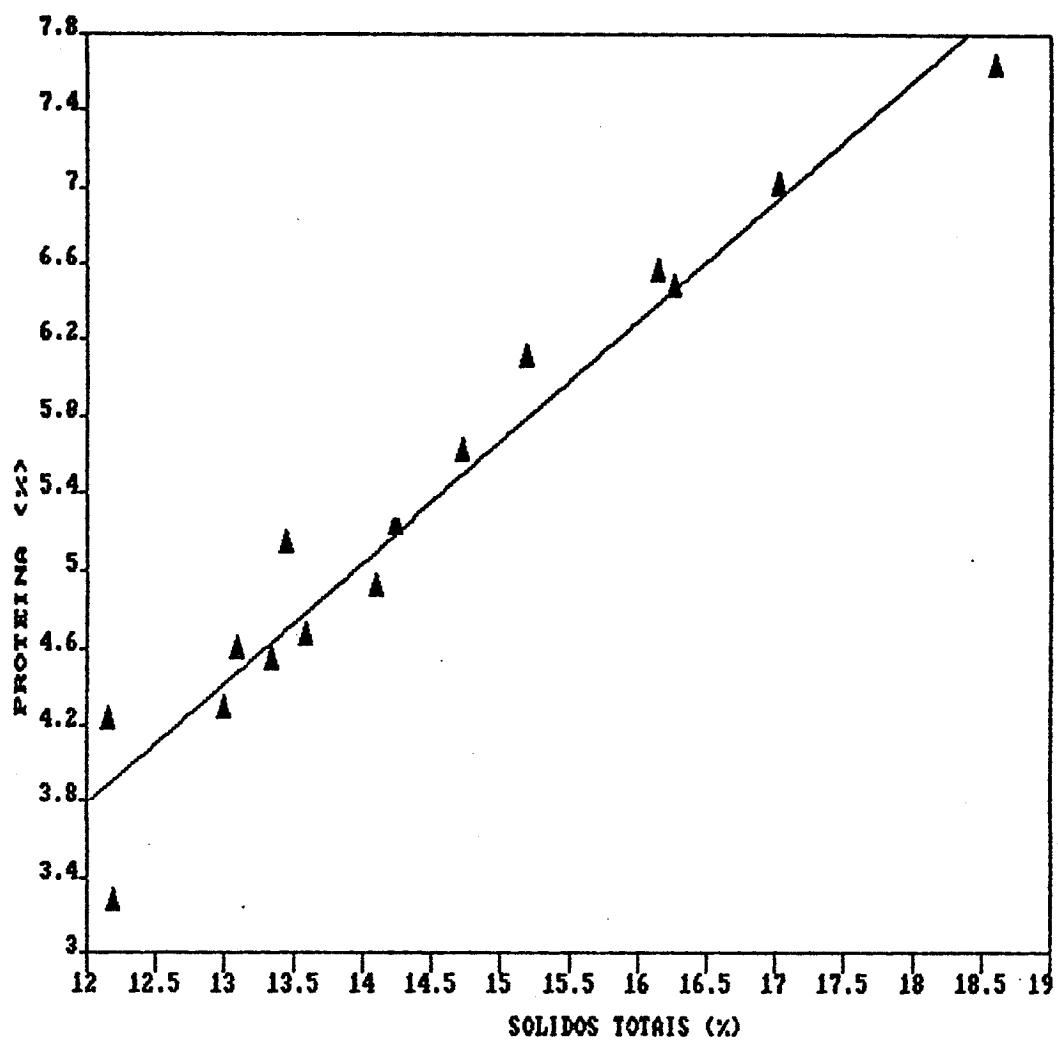


FIGURA 4 - Variação da Porcentagem de Proteínas com o Aumento de Sólidos Totais dos CPSU (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

TABELA II - Coeficientes de Retenção da Membrana

	ST	P	C	G	L
Ret. (%)	12.19	3.25	0.65	2.20	6.09
Perm. (%)	5.36	0.27	0.46	-	4.64
CR	0.56	0.92	0.29	1.00	0.24

ST - Sólidos totais

P - Proteína

C - Cinzas

G - Gordura

L - Lactose

Ret. - Retentado do 2º processo

Perm. - Permeado do 2º processo

CR - Coeficiente de retenção da membrana por componente

teínas (quando comparado ao leite), que poderiam obstruir a membrana.

Na TABELA 12 pode-se observar os fatores de concentração dos componentes. O fator que melhor representa o processo de concentração final é o fator de concentração da gordura, já que seu coeficiente de retenção é de 100 % (TABELA 11). Os fatores de concentração de cinzas e de lactose vêm a confirmar a hipótese de que a formação de depósitos na superfície da membrana aumenta a retenção destes componentes (YAN et alii, 1979). Isto pode ser observado nos processos onde foram retirados retentados de diferentes concentrações (soro 3, 4, 5, 6).

Na TABELA 13 observa-se o fator de concentração obtido no processo (calculado por peso de permeado retirado - FPeR). O fator de concentração calculado por peso de permeado retirado não apresentou boa precisão, provavelmente devido à balança usada na pesagem. Fatores de concentração mais altos não foram obtidos porque o tanque usado para recirculação da amostra (150 litros) exigia um volume mínimo para prosseguir com o processo (para que não entrasse ar nas bombas). Nos 2 últimos processos (soros 5 e 6) houve uma tentativa de se obterem retentados com níveis protéicos mais altos, e, para isto, as amostras foram retiradas diretamente do ciclo interno de recirculação, e não do tanque de recirculação. Desta maneira foram obtidas concentrações mais elevadas, porém deixou de existir relação entre o fator de concentração por medida do permeado e os fatores de concentração protéica e de gordura.

TABELA 12 - Fatores de Concentração dos Componentes

Am	FST	FP	FC	FG	FL
1R	1.91	3.71	1.63	8.0	1.14
2R	1.71	3.65	1.92	4.4	1.16
3R1	1.95	4.97	1.01	6.4	1.02
3R2	1.99	5.11	1.03	6.7	1.03
3R3	2.04	5.38	1.12	6.9	1.03
4R1	1.77	3.31	1.31	5.9	1.05
4R2	1.91	3.61	1.33	6.4	1.13
4R3	2.07	4.12	1.34	7.4	1.15
4R4	2.15	4.41	1.36	7.5	1.16
5R1	2.03	4.66	1.38	6.9	1.06
5R2	2.46	5.87	1.55	10.2	1.07
5R3	2.82	6.92	1.72	12.8	1.09
6R1	2.26	5.59	1.20	10.7	1.09
6R2	2.40	6.00	1.26	12.2	1.10
6R3	2.53	6.42	1.32	13.3	1.10

FST - Fator de concentração de sólidos totais

FP - Fator de concentração de proteínas

FC - Fator de concentração de cinzas

FG - Fator de concentração de gordura

FL - Fator de concentração de lactose

xRy - x = nº do processo

Ry - retentado obtido por ordem de concentração

TABELA 13 - Fator de Concentração por peso de permeado retirado.

Am	FPeR	FPeR/FP
1R	7.5	2.03
2R	5.1	1.38
3R1	6.0	1.20
3R2	6.4	1.25
3R3	7.3	1.35
4R1	4.3	1.30
4R2	4.7	1.31
4R3	5.3	1.29
4R4	5.8	1.32
5R1	4.5	0.96
5R2	5.3	0.90
5R3	6.1	0.88
6R1	5.9	1.05
6R2	6.3	1.05
6R3	6.7	1.04

FPeR - Fator de concentração obtido por peso de permeado retirado

FP - Fator de concentração protéica

FPER / FP - Razão de proporção entre FPER e FP

Ao se observarem os fatores de proporção FPeR/FP (TABELA 13), nota-se que há grande variação entre os diferentes processos. Já dentro de um mesmo processo, quando se retirou mais de uma amostra (3º, 4º, 5º e 6º processos), embora tenha havido variações, estas foram menores, e percebe-se que o 4º processo apresenta, nitidamente, comportamento constante.

Com esta observação pode-se perceber a dificuldade para a obtenção de um retentado de composição predefinida a partir do fator de concentração calculado por peso de permeado retirado.

Este problema é de preocupação geral, e alguns autores utilizaram modelos matemáticos para avaliar a composição final do retentado. RHAM & CHANTON (1986) desenvolveram um modelo matemático com esta finalidade, obtendo boa correlação. No entanto, é necessário que se conheça a concentração inicial do componente em questão, sendo que o resultado não é satisfatório para íons polivalentes.

V.2. PROPRIEDADES FUNCIONAIS

V.2.1. Desnaturação e Aglomeração Protéicas

Os resultados de aglomeração e desnaturação protéicas, bem como os tempos de processo para se obter cada amostra, são apresentados nas TABELAS 14 e 15, respectivamente.

TABELA 14 - Resultados obtidos de aglomeração
proteica dos retentados de soro obti-
dos por ultrafiltração

Am	G (%)	P0 (%)	PC (%)	PA (%)	A (%)	tp (min:seg)
1R	2.40	4.27	4.38	4.32	1.37	128:49
2R	2.20	3.25	3.32	3.29	0.90	113:22
3R1	2.90	4.52	4.66	4.57	1.93	120:17
3R2	3.00	4.65	4.79	4.71	1.67	129:03
3R3	3.10	4.90	5.06	4.97	1.78	130:33
4R1	2.35	4.21	4.31	4.22	2.09	158:37
4R2	2.55	4.58	4.70	4.60	2.13	163:19
4R3	2.95	5.23	5.40	5.27	2.41	165:53
4R4	3.00	5.60	5.77	5.62	2.60	170:00
5R1	2.75	5.13	5.28	5.14	2.65	141:21
5R2	4.10	6.46	6.74	6.50	3.56	149:32
5R3	5.10	7.61	8.02	7.73	3.62	153:43
6R1	3.20	6.09	6.29	6.13	2.54	171:43
6R2	3.65	6.54	6.79	6.61	2.65	174:41
6R3	4.00	7.00	7.29	7.07	3.02	177:20

G - Gordura

P0 - Proteína original da amostra

PC - Proteína corrigida

PA - Proteína do sobrenadante da amostra centrifugada
a pH natural

A - Proteína aglomerada

tp - Tempo de processo UF para se obter a amostra

TABELA 15 - Resultados obtidos de Desnaturação Protéica dos Re-
tentados de Soro Obtidos por Ultrafiltração

Am	PC (%)	PD (%)	D (%)	tp (min:seg)	D/A	FP
1R	4.38	4.28	2.28	128:49	1.66	3.7
2R	3.32	3.06	7.83	113:22	8.70	3.7
3R1	4.66	4.50	3.43	120:17	2.15	5.0
3R2	4.79	4.62	3.55	129:03	2.13	5.1
3R3	5.06	4.76	5.93	130:33	3.33	5.4
4R1	4.31	4.15	3.71	158:37	1.99	3.3
4R2	4.70	4.49	4.47	163:19	2.10	3.6
4R3	5.40	5.14	4.81	165:53	2.13	4.4
4R4	5.77	5.45	5.55	170:00	2.13	4.4
5R1	5.28	4.49	14.96	141:21	5.64	4.7
5R2	6.74	5.72	15.13	149:32	4.25	5.9
5R3	8.02	6.66	16.96	153:43	4.68	6.9
6R1	6.29	5.60	6.68	171:43	2.63	5.6
6R2	6.79	6.33	6.77	174:41	2.55	6.0
6R3	7.29	6.74	7.54	177:20	2.48	6.4

PC - Proteína corrigida

PD - Proteína do sobrenadante da amostra centrifugada a pH 4,6

D - Proteína desnaturada

tp - Tempo de processo UF para se obter a amostra

D/A - Relação entre as porcentagens de desnaturação e aglomeração

FP - Fator de concentração protéica

Neste trabalho não foi feito o desnatante do soro, apenas a separação de partículas em suspensão por filtro. Com isto, os retentados obtidos geralmente apresentaram alto teor de gordura. Ao se fazer a centrifugação para a determinação da porcentagem de proteínas aglomeradas e desnaturadas, a gordura separou na superfície. Devido à diferença de sólidos totais nas amostras centrifugadas (ausência da gordura), muitas vezes o teor de proteínas do sobrenadante das amostras centrifugadas foi maior que o das amostras originais (TABELA 14). Por isto foi necessária uma correção nos cálculos, como mostra o item II.3.4.1, de Materiais e Métodos.

A porcentagem de aglomeração variou entre 0,9 e 3,6% (TABELA 14), enquanto que a porcentagem de desnaturação variou entre 2 e 17% (TABELA 15). MELACHOURIS (1984) também obteve diferença na porcentagem de desnaturação entre diferentes lotes na mesma planta de ultrafiltração. Neste trabalho a porcentagem de desnaturação foi sempre maior que a de aglomeração, porém em proporções variáveis entre 1,7 e 8,7 vezes maior (relação I/A, TABELA 15).

Ao se compararem os níveis de aglomeração (TABELA 14) e de desnaturação (TABELA 15) obtidos neste trabalho com os valores encontrados na literatura, pode-se dizer que os valores aqui obtidos são baixos, e que, portanto, existem boas possibilidades de que estes retentados apresentem boas propriedades funcionais. RICHERT et alii (1974) demonstraram que um tratamento térmico de concentrado protéico de soro por 65°C / 30 minutos

causa a desnaturação de 20% das proteínas, e que a 85°C / 30 minutos esta porcentagem aumenta para 60%. MELACHOURIS (1984) obtive de 20 a 30 % de desnaturação.

As porcentagens de aglomeração e de desnaturação não acompanharam o aumento do tempo de processo em todos os processos, conjuntamente. No entanto, observou-se nos processamentos 2 e 5 e nos processamentos 4 e 6, cujas curvas de processo são semelhantes (FIGURAS 2 e 3), que a porcentagem de aglomeração aumentou linearmente com o tempo de processo (FIGURA 5), assim como ocorreu com a porcentagem de desnaturação pelo tempo de processo (FIGURA 6). Ainda mais interessante foi a obtenção de retas praticamente paralelas, como pode ser visto nas FIGURAS 5 e 6.

Com isto pode-se supor que a forma como ocorre o processo de ultrafiltração, bem como o tempo de processo, influem diretamente nas porcentagens de aglomeração e de desnaturação das proteínas do soro.

V.2.2. Capacidade de Emulsificação

A TABELA 16 apresenta os resultados obtidos para a capacidade de emulsificação dos CPSU. Foi considerada, como ponto final do teste, para as amostras de CPSU testadas, a quantidade de óleo adicionada, a partir da qual as hélices do liquidificador passavam a girar em falso, devido à alta consistência da emulsão obtida, que não permitia incorporação de mais óleo.

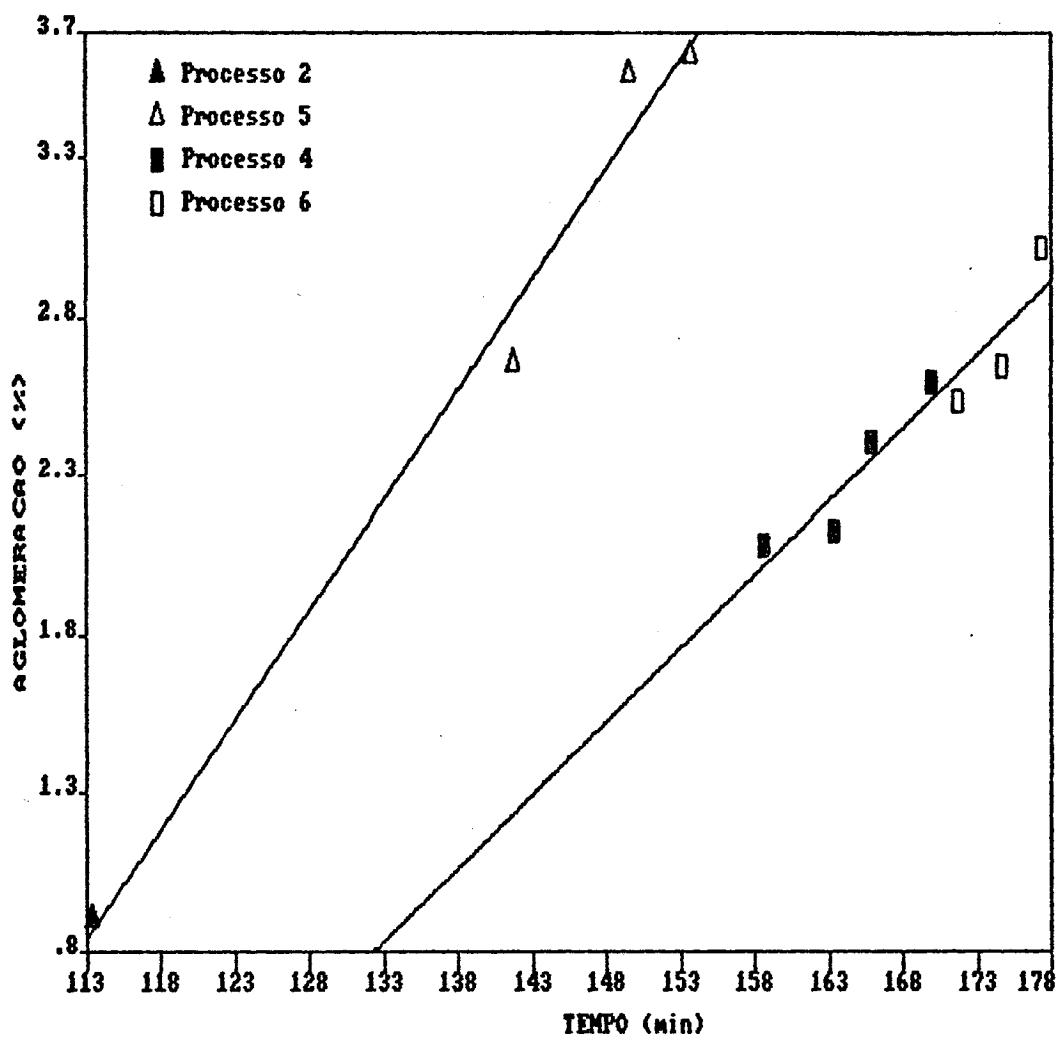


FIGURA 5 - Variação da Porcentagem de Aglomeração com o Tempo de Processo de Ultrafiltração da Amostra.

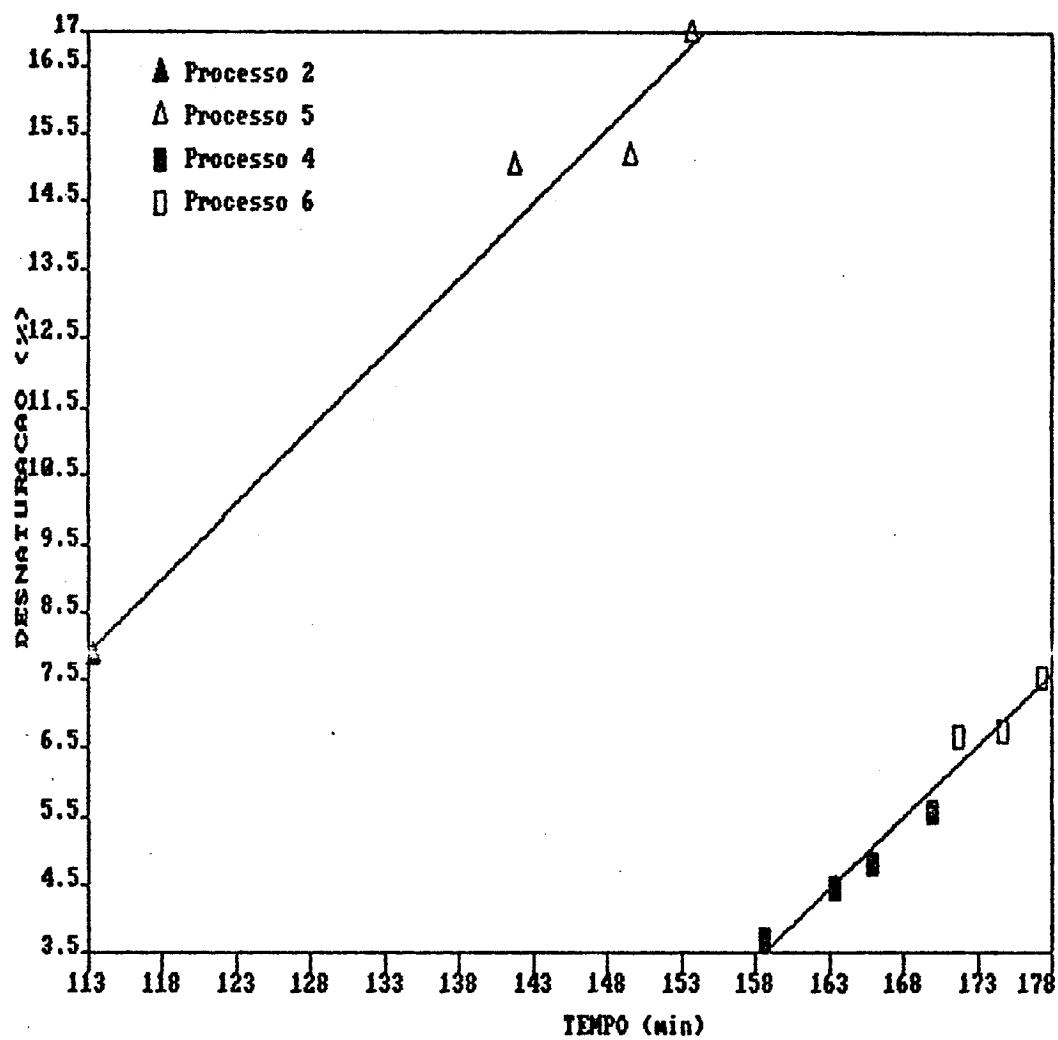


FIGURA 6 - Variação da Porcentagem de Desnaturação com o Tempo de Processo de Ultrafiltração da Amostra.

TABELA 16 - Capacidade de Emulsificação das Amostras de Soro concentradas por Ultrafiltração

Am	P (%)	G (%)	P/G	V1 (ml)	V2 (ml)	V3 (ml)	E1 (ml de óleo/g prot.)	E2	E3
1R	4.27	2.4	1.78	72.25	61.0	-	51.62	47.23	-
2R	3.25	2.2	1.48	86.0	74.0	-	74.87	68.72	-
3R1	4.52	2.9	1.56	82.5	69.5	-	52.54	47.75	-
3R2	4.65	3.0	1.55	82.0	70.5	-	50.90	46.77	-
3R3	4.90	3.1	1.58	77.0	64.0	-	46.60	42.18	-
4R1	4.21	2.35	1.79	69.5	62.0	-	51.27	48.30	-
4R2	4.58	2.55	1.80	67.0	64.5	-	46.22	45.31	-
4R3	5.23	2.95	1.77	62.5	59.0	-	39.04	37.92	-
4R4	5.60	3.00	1.87	54.0	51.5	-	33.93	33.18	-
5R1	5.13	2.75	1.87	52.0	56.5	-	36.39	37.85	-
5R2	6.46	4.10	1.58	43.0	49.5	-	26.57	28.25	-
5R3	7.61	5.10	1.49	30.5	39.0	-	19.82	15.11	-
6R1	6.09	3.20	1.90	58.7	56.5	66	32.48	31.88	33.39
6R2	6.54	3.65	1.79	48.5	48.5	61	27.65	27.65	30.84
6R3	7.00	4.00	1.75	41.7	36.0	56	24.21	22.86	27.62

Onde:

P - Proteína da amostra

G - Gordura da amostra

P/G - Relação entre proteína e gordura

V1 - Volume máximo de óleo (ml) incorporado na amostra, pH natural

V2 - Volume máximo de óleo (ml) incorporado na amostra, pH 4,6

V3 - Volume máximo de óleo (ml) incorporado na amostra, pH 8,5

E1 - Capacidade de emulsificação da amostra em pH natural

E2 - Capacidade de emulsificação da amostra em pH 4,6

E3 - Capacidade de emulsificação da amostra em pH 8,5

A capacidade de emulsificação, expressa em ml de óleo por grama de proteína, conforme se observa na FIGURA 7, diminuiu com o aumento da porcentagem de proteínas.

Isto também foi observado por PEARSON et alii (1965) para leite em pó desnatado e por IVEY et alii (1970) para proteína de carne bovina. Segundo IVEY et alii (1970), o aumento da concentração protéica exige maior quantidade de fase contínua (solução protéica) para separação das gotículas de óleo. No entanto, as razões para que este fato ocorra são controvertidas.

DU BOIS et alii (1972) mostraram que a ação de proteases em extratos protéicos de carne bovina aumenta a capacidade de emulsificação, e que no caso da ação da papaina esse aumento é de 39 %. Por outro lado, é possível que a membrana de ultrafiltração tenha permitido a eliminação de peptídios menores passíveis de permeação, a qual seria maior quanto maior o fator de concentração. Neste caso, a contribuição destes peptídios na capacidade de emulsificação seria tanto menor quanto maior o fator de concentração.

Outra possibilidade para a ocorrência de diminuição da capacidade de emulsificação com o aumento do teor protéico está ligada ao aumento do teor de gordura das amostras (TABELA 16). Esta gordura, na forma de aglomerados, é dispersada durante a homogeneização. Estes glóbulos competiriam com o óleo pelas proteínas durante o processo de emulsificação.

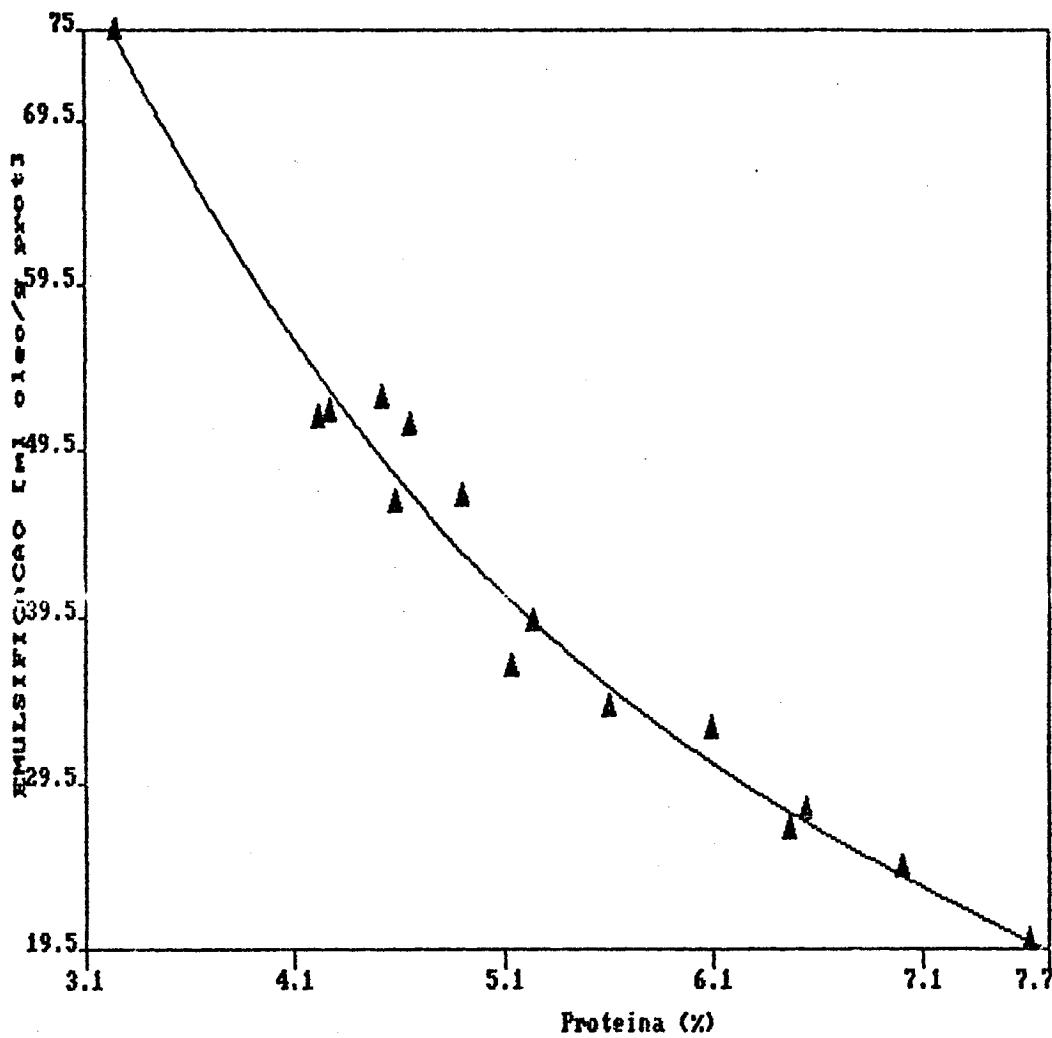


FIGURA 7 - Variação da Capacidade de Emulsificação com o Aumento da Porcentagem de Proteínas dos CPSU (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

No entanto, segundo KIM et alii (1987), a um aumento de Beta-Lactoglobulina corresponde um aumento nas propriedades surfactantes (emulsificação e incorporação de ar) das proteínas do soro. O ponto final do teste nos nossos experimentos não correspondeu ao volume máximo real de óleo que poderia ser emulsificado, mas sim ao volume de óleo que o equipamento usado permitiu incorporar. Neste caso observou-se que, embora a capacidade emulsificante aumente com o aumento da concentração de proteínas no CPSU (KIM et alii, 1987), tornou-se necessário menor volume de óleo para se atingir a mesma consistência, provavelmente devido ao maior teor protéico.

Este método para determinação da capacidade de emulsificação não apresentou muita precisão, sendo necessárias de 3 a 5 repetições por amostra, já que para se atingir o ponto final houve variações de até 6 ml de óleo para uma mesma amostra.

O congelamento da amostra não afetou a sua capacidade de emulsificação e os resultados obtidos foram considerados como repetições da amostra não-congelada, e usados nas médias apresentadas na TABELA 16. Deve-se levar em conta a baixa precisão do método acima citada, que pode ter impedido a diferenciação das leituras.

A capacidade de emulsificação em pH 4,6 e 8,5 também foi testada (TABELA 16). Segundo KINSELLA (1976) e JELEN (1983) a diminuição do pH causa insolubilização das proteínas e diminuição da capacidade de emulsificação, assim como o aumento do pH a 8,5 (pH da clara do ovo) melhora esta propriedade funcional.

Os resultados aqui obtidos apontam uma menor capacidade de emulsificação em pH 4,6 e uma maior capacidade de emulsificação em pH 8,5. Existe proporcionalidade entre os valores obtidos em pH natural e pH 4,6, bem como entre pH natural e pH 8,5, como pode ser visto nas FIGURAS 8 e 9.

Amostras de emulsão em pH natural e pH 4,6 guardadas em geladeira por 20 dias não apresentaram qualquer separação visível de óleo. Já a emulsão em pH 8,5, em 24 horas apresentou péssimo odor, impossibilitando o estudo de sua estabilidade.

O sabor e o aroma das emulsões obtidas mostram a grande possibilidade de seu uso em alimentos como maionese, produtos de salsicharia, manteiga com baixo teor de gordura, sorvetes. As emulsões apresentaram aroma de óleo e sabor neutro.

V.2.3. Capacidade de Gelificação

A TABELA 17 apresenta os resultados obtidos para a capacidade de gelificação das amostras de CPSU não-congeladas (NC) e congeladas/descongeladas (C/D) em pH natural. A FIGURA 10 apresenta a variação da capacidade de gelificação das amostras em pH natural com o aumento da porcentagem de proteína, podendo-se observar que há um aumento da capacidade de gelificação com o aumento do teor de proteína.

A capacidade de gelificação das amostras C/D foi bastante inferior à capacidade de gelificação das amostras NC (TABELA 17). Entretanto, existe uma relação linear entre os 2 tratamentos, co-

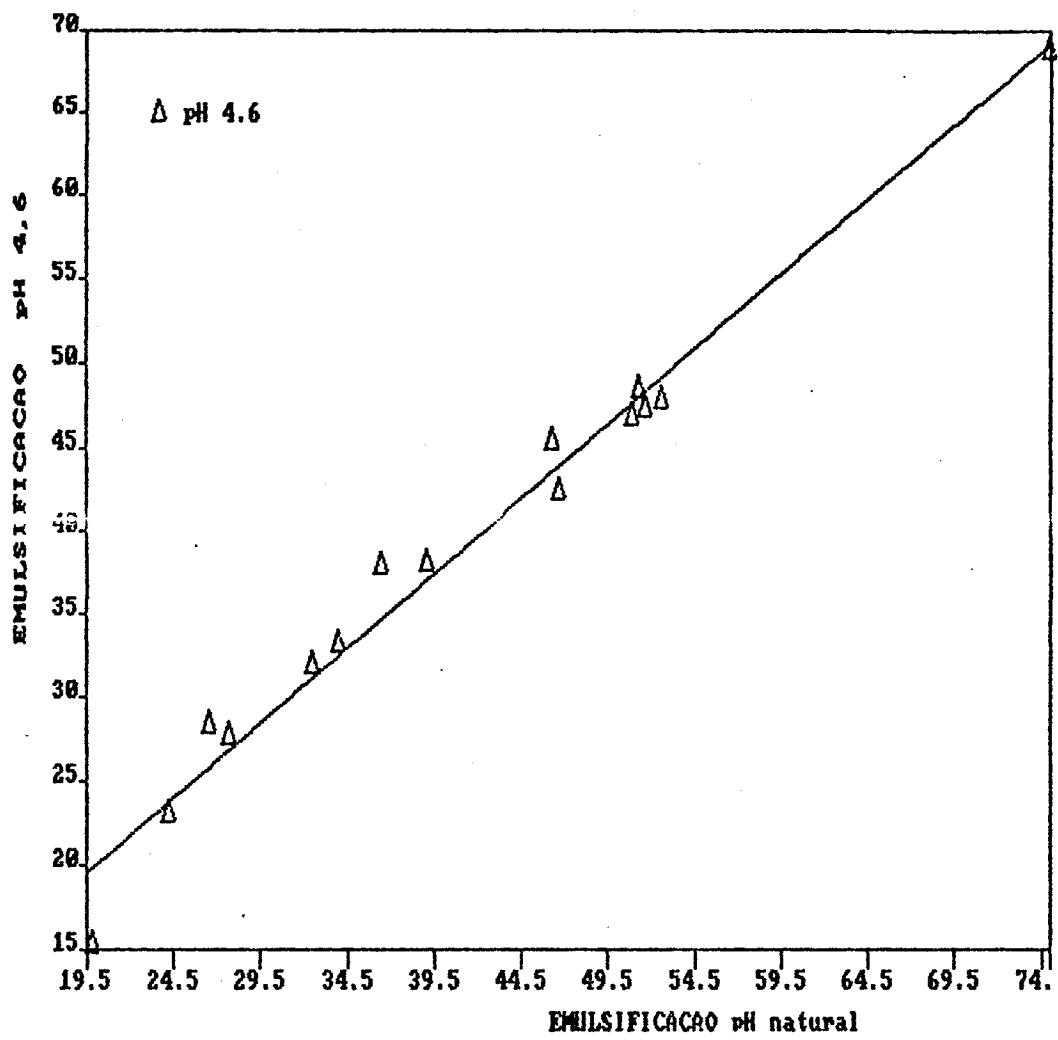


FIGURA 8 - Variação da Capacidade de Emulsificação em pH natural pela Capacidade de Emulsificação em pH 4,6 das amostras de CPSU Não-congeladas (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

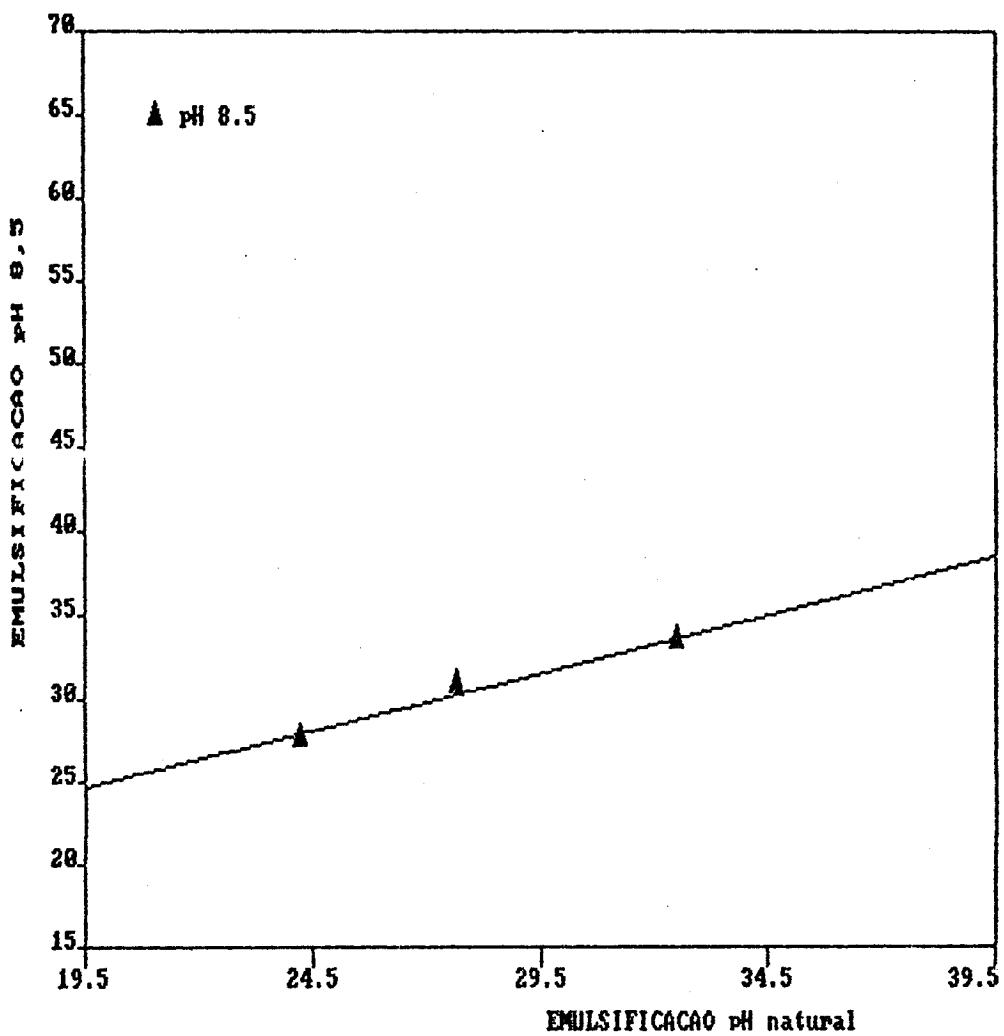


FIGURA 9 - Variação da Capacidade de Emulsificação em pH natural pela Capacidade de Emulsificação em pH 8,5 das amostras de CPSU Não-congeladas (Processo 6).

TABELA 17 - Capacidade de Gelificação das Amostras de retentado de soro obtido por Ultrafiltração

Am	AMOSTRA NC				AMOSTRA C/D			
	Leit.	v	sp	cP	Leit.	v	sp	cP
1R	18.75	12	4	9 375	47.20	12	3	4 720
2R	3.10	12	4	1 550	8.65	12	3	865
3R1	16.70	12	3	1 670	10.40	12	3	1 040
3R2	19.60	12	3	1 960	11.75	12	3	1 175
3R3	23.60	12	3	2 360	14.45	12	3	1 445
4R1	12.35	12	3	1 335	11.10	12	3	1 110
4R2	20.00	12	3	2 000	16.85	12	3	1 685
4R3	35.95	12	3	3 595	18.05	12	3	1 805
4R4	56.45	12	3	5 645	27.20	12	3	2 720
5R1	24.00	12	3	2 400	3.55	12	4	1 775
5R2	62.00	12	3	6 200	12.10	12	4	6 050
5R3	51.94	12	4	25 969	41.10	12	4	20 550
6R1	21.60	12	4	10 800	15.70	12	4	7 850
6R2	37.35	12	4	18 675	28.85	12	4	14 425
6R3	50.00	12	4	25 000	39.15	12	4	19 575

Onde :

Leit. - Leitura feita no viscosímetro de Brookfield

v - Velocidade usada na leitura

sp - Spindle usado na leitura

cP - Valor correspondente em cP

Amostra NC - Amostra não-congelada

Amostra C/D - Amostra congelada/descongelada

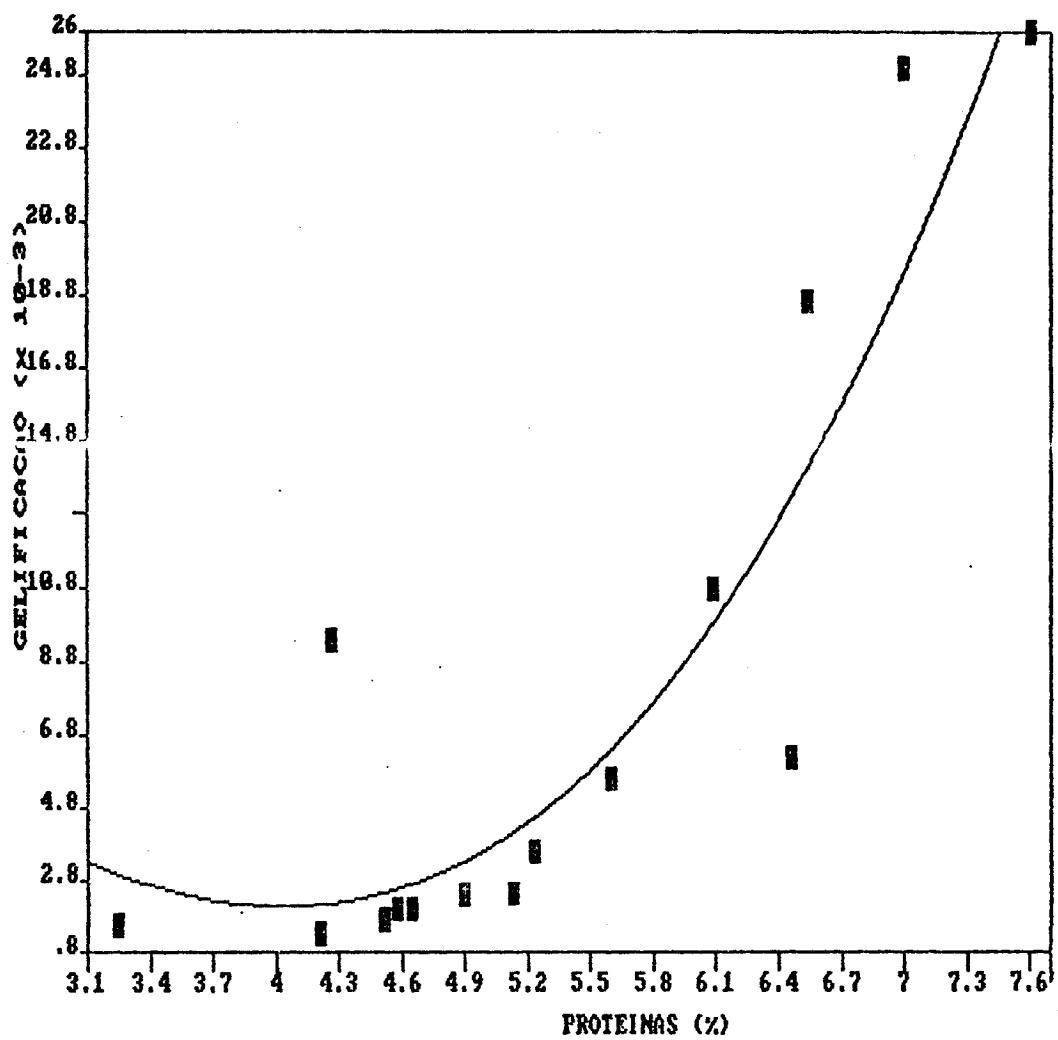


FIGURA 10 - Variação da Capacidade de Gelificação com o aumento do Teor Protéico das Amostras de CPSU Não-Congeladas (Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

mo pode ser visto na FIGURA 11.

O congelamento-descongelamento afetou visivelmente a capacidade de gelificação das amostras. O gel formado pelos retentados não-congelados apresentou aparência uniforme, coágulo firme e branco. Os "géis" das amostras C/D apresentaram separação da gordura na superfície e aparência de coágulo fino, que escoava ao se inverter o tubo. Ao se tentar a determinação da capacidade de gelificação das amostras de CPSU NC em pH 4,6 obteve-se esta mesma aparência (sem haver separação da gordura). Pode-se dizer que neste caso nem houve gelificação, já que nem se obteve leitura com o spindle 3 e não seria possível usar o spindle indicado para amostras mais fluidas, devido ao diâmetro dos tubos. Ao se testar o pH 8,5 também não ocorreu gelificação. Obteve-se, no entanto, com o tratamento térmico, uma modificação total da aparência das amostras. De leitosas estas passaram a translúcidas, amareladas e com aparência de clara de ovo menos consistente.

Os resultados aqui obtidos estão de acordo com DE WIT & DE BOER (1975) que afirmam que o aumento da viscosidade obtido em pH menor que 5 é pequeno, já que é causado por agregação protéica e o produto resultante é arenoso. Em pH maior que 6,7 os autores afirmam que, embora outros tipos de ligação possam estar envolvidos, há um domínio das interações entre ligações SH e SS, já que em pH mais elevado os grupos S-S das moléculas são mais acessíveis, e há, portanto, maior atividade dos grupos sulfídricos. Também SCHMIDT et alii (1984) apontam a formação de um gel mais firme e menos elástico em pH menor que 6, em comparação ao obtido

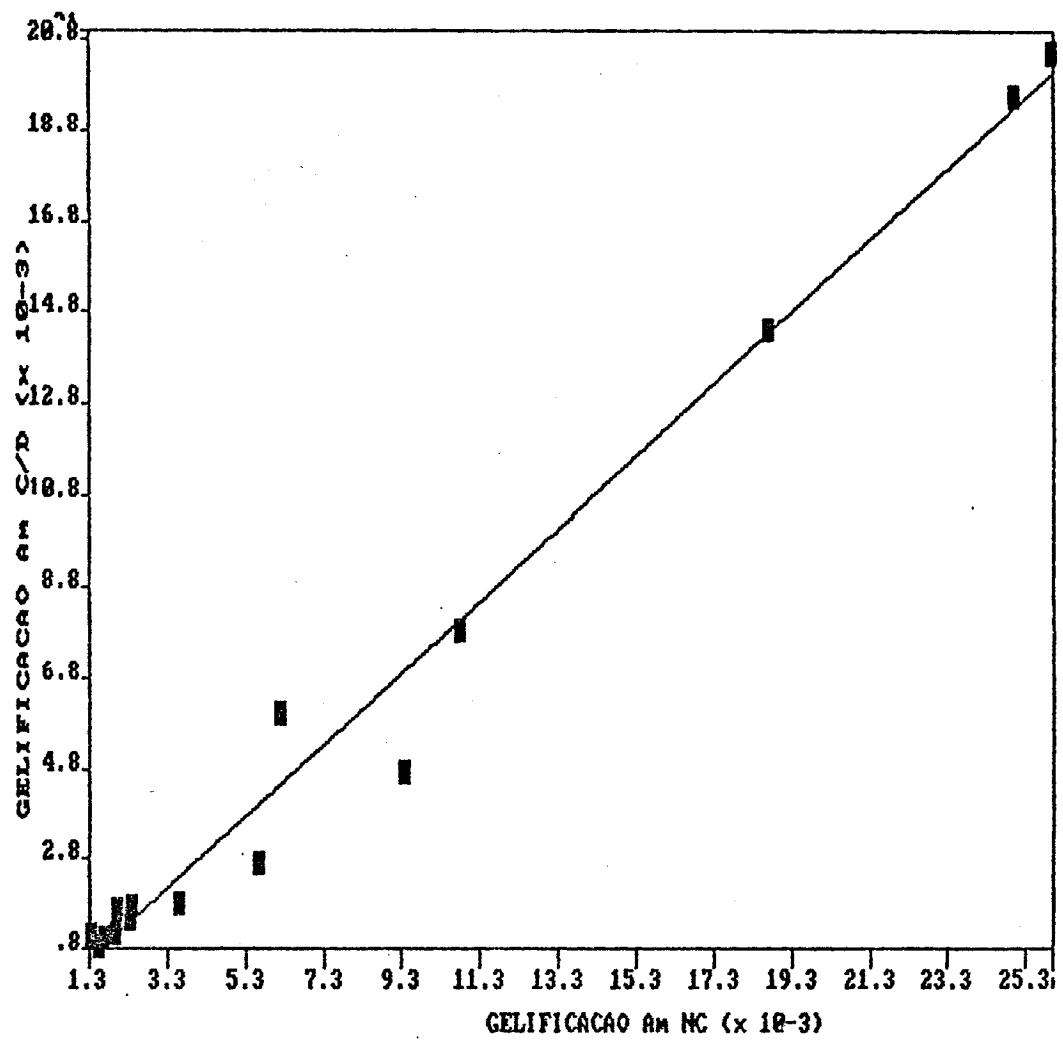


FIGURA 11 - Variação da Capacidade de Gelificação das Amostras de CPSU Não-Congeladas (NC) com a Capacidade de Gelificação das Amostras de CPSU Congeladas/Descongeladas (C/D) - Processos 1, 2, 3, 4, 5 e 6.

em pH entre 7 e 10, e que a gelificação é inibida em pH 11. Estes autores também afirmam que géis mais firmes são obtidos em concentração de 10% de proteínas e tratamentos térmicos mais intensos. Neste trabalho as amostras em pH 8,5 apresentaram modificação visual, porém sem conseguir gelificar, provavelmente devido ao baixo teor protéico.

Foram testadas ainda possíveis alterações do gel guardado em geladeira por 7 dias. Não se observou dessora ou qualquer alteração visível, e a leitura em viscosímetro foi a mesma que aquela feita logo após a gelificação.

Este teste apresentou boa repetibilidade entre uma mesma amostra, isto é, descongelando-se bandejas de mesmo concentrado em semanas diferentes, a gelificação apresentou leituras praticamente idênticas.

Convém salientar que o viscosímetro de Brookfield pressupõe o uso de recipientes grandes como um béquer de 300 ml. Entretanto, ao se usar esse recipiente em banho-maria, não se obtém gelificação homogênea da amostra. Portanto a leitura nos tubos não reflete uma medida real em centipoise (cP), porém, como os tubos usados eram iguais, os resultados são comparativos entre si.

MAUBOIS & BRULE (1982) afirmam que as proteínas do soro ficam 2 vezes mais água que a caseína ou proteínas vegetais. Pelos resultados obtidos neste trabalho pode-se dizer que existe boa possibilidade de uso do CPSU em salsicharia, sobremesas lácteas (pudins e flans), purês, "baby foods".

V.2.4. Capacidade de Incorporação de Ar

Neste trabalho não se conseguiu incorporar ar aos retentados obtidos, mesmo se batidos por 30 minutos, e a perda de amostra, neste caso, foi grande.

Tentou-se ainda a adição de açúcar para aumentar o teor de sólidos totais (HAGGET, 1976b), mas o efeito também foi negativo.

Como a estocagem sob refrigeração causa a perda da capacidade de incorporação de ar, que só é recuperada a 55°C seguida de resfriamento (HAGGET, 1976b), isto também foi testado. Houve então a formação de uma espuma muito instável, que não pôde ser avaliada devido à rapidez com que se desmanchou.

O que parece mais provável é que o teor de gordura das amostras foi muito alto. McDONOUGH et alii (1974) afirmaram que a porcentagem de gordura ideal para incorporação de ar está em níveis menores que 1%. PELTONEN-SHALABY & MANGINO (1986) estudaram o efeito da gordura na capacidade de incorporação de ar e desenvolveram um método matemático no qual os fosfolipídios se correlacionam negativamente com esta propriedade.

Para próximos experimentos seria conveniente testar a capacidade espumante com soro desnatado. Em nossos experimentos não foi possível desnatar o soro, devido à capacidade e eficiência da centrífuga utilizada em nossa Planta-Piloto.

V.3. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Sem a pretensão de extrapolar estes resultados para um processamento industrial, já que a planta de laticínios no momento não apresentava condições de instalação apropriadas para tal fim, fez-se a contagem de mesófilos e termófilos aeróbios do soro cru, soro pasteurizado e soro ultrafiltrado, como medida do efeito da pasteurização e qualidade microbiológica dos retentados obtidos.

Os resultados obtidos apontam para uma boa qualidade microbiológica dos retentados obtidos, como pode ser visto na TABELA 18.

A presença de termófilos foi muito pequena, mesmo no soro cru (máximo de 20 UFC / ml, no 6º processamento) e após a pasteurização, e foram sempre inexistentes em diluição de 10^{-1} . Após o processamento de ultrafiltração (55°C por aproximadamente 2 horas) a presença de termófilos variou entre 10 UFC / ml (1º e 6º processos) e 500 UFC / ml (5º processo).

Os microrganismos mesófilos apareceram no soro cru entre 9×10^5 e 87×10^6 UFC / ml. Já por efeito da pasteurização esse valor caiu para um mínimo de 1000 UFC / ml (1º e 6º processamentos) e um máximo de 20 000 UFC / ml no 5º processamento. Estes valores de germes mesófilos estão na faixa permitida pela legislação para leite tipo B (máximo de 40 000 UFC / ml após a pasteurização), o que é um excelente resultado dentro das condições disponíveis. Durante a ultrafiltração, devido à temperatura do

TABELA 6 - Contagem de microrganismos mesófilos e termófilos das amostras de Soro cru, Soro pasteurizado e CPSU.

	Microrganismos Mesófilos (UFC / ml)				
	1P	2P	3P	5P	6P
SORO CRU	8×10^6	87×10^6	32×10^5	9×10^5	-
SORO PAST.	1000	1×10^4	1×10^4	2×10^4	1000
CPSU	6300	19×10^3	18×10^3	3×10^3	2700

	Microrganismos Termófilos (UFC / ml)				
	1P	2P	3P	5P	6P
SORO CRU	0	-	0	0	20
SORO PAST.	0	-	0	0	0
CPSU	10	-	200	500	10

nP - nº do processo de ultrafiltração

4P - amostras perdidas

processo (55°C por aproximadamente 2 horas), os resultados foram ainda melhores. A contagem de mesófilos foi de 2700 UFC / ml (6º processo) até um máximo de 19 000 UFC / ml (2º processo).

VI - CONCLUSÕES

O processo de ultrafiltração para concentração das proteínas do soro de queijo é viável e efetivo. Deve-se salientar que a limpeza da membrana é o ponto crítico do processo, sendo que a limpeza com detergente enzimático é mais efetiva do que a limpeza pelo processo normal.

As análises de composição dos CPSU obtidos mostram que há um aumento linear dos sólidos totais com o aumento das proteínas. Com isto, existe a possibilidade de se extrapolar um dado valor de concentração protéica durante o processo de ultrafiltração, através de uma medida rápida de °Brix. Também pelas análises de composição do CPSU e do permeado observa-se que há perda de matéria nitrogenada no permeado.

As porcentagens de aglomeração e de desnaturação aumentaram linearmente com o tempo de processo para as amostras que tiveram curvas de processo semelhantes (vazão de permeação X fator de concentração), e, portanto, pode-se dizer que o tempo e a forma como ocorre o processo de ultrafiltração influem diretamente nas porcentagens de aglomeração e desnaturação.

Neste trabalho, a capacidade de emulsificação medida diminuiu com o aumento da concentração protéica. O congelamento da amostra não afetou esta propriedade funcional. Observou-se que é possível incorporar mais óleo nas amostras em pH 8,5 que em pH natural ou 4,6. No entanto, a emulsão em pH 8,5 apresentou, rapi-

damente, aroma putrefato. Já as amostras em pH natural e 4,6 apresentaram excelente estabilidade (não houve separação visível de óleo em amostras guardadas por 20 dias em geladeira). O sabor e o aroma das emulsões obtidas mostram que existem boas possibilidades de seu uso em alimentos como maionese, produtos de salsicharia, manteiga com baixo teor de gordura, sorvetes. As emulsões apresentaram aroma de óleo e sabor neutro.

A capacidade de gelificação das amostras de CPSU aumentou com o aumento da porcentagem de proteínas da amostra. O congelamento do CPSU afetou a capacidade de gelificação da amostra. Não houve, então, formação de gel, mas sim de um coágulo fino, que escoava ao serem invertidos os tubos, o que contrastou com o gel obtido com as amostras não-congeladas, de aparência uniforme, coágulo firme e branco. Em pH 4,6 o coágulo obtido foi tão frágil quanto o da amostra congelada, e em pH 8,5, embora também não tenha ocorrido gelificação, houve alteração na aparência da amostra, que passou de leitosa a translúcida e amarelada, com aparência de clara de ovo menos consistente. O gel obtido em pH natural (amostra não-congelada) foi estável a uma estocagem de 7 dias em geladeira. O teste de capacidade de gelificação apresentou ótima reprodutibilidade. Por estes resultados aqui obtidos pode-se dizer que existem possibilidades de uso do CPSU em sobremesas lácteas (pudins e flans), mousses, purês, "baby foods".

Neste trabalho não se conseguiu incorporar ar às amostras, sendo provável que isto tenha ocorrido porque o teor de gordura das amostras foi muito alto para esta finalidade. Sugere-

se, para próximos experimentos, o uso de soro de queijo desnatado.

VII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACTON, J.C. & SAFFLE, R.L. Preblended and prerigor meat in sausage emulsions. *Food Technology* 23 (3): 93 - 95, 1969.
- ALLUM, D. Whey - The international scene. *J. Society of Dairy Technol.* 33 (2): 59 -66, 1980.
- ANGLEMIER, A.F. & MONTGOMERY, H.W. in *Principles of Food Science Part I. Food Chemistry*. Fennema, O.R.; ed., cap. 5 editora Marcel Dekker, New York, 792 p., 1976.
- BEATON, N.C. Ultrafiltration and reverse osmosis in the dairy industry - An introduction to sanitary considerations. *J. Food Protection* 42 (7): 584 - 590, 1979.
- BENNASAR, M.; ROULEAU, D.; MAYER, R. & TORODO DE LA FLUENTE, B. Ultrafiltration of milk on mineral membranes: improved performance. *J. Society of Dairy Technol.* 35 (2) : 43 - 49, 1982.
- BLATT, W.F. et al Solute polarization and cake formation in membrane ultrafiltration. in *Membrane Science and Technology*. Flinn, J.E.; ed., editora Plenum Press, New York - London, 234 p., 1970.

- BROOME, M.C.; WILLMAN, N.; HOGINSKI, H. & HICKEY, M.W. The use of cheese whey protein concentrate in the manufacture of skim milk yoghurt. *The Australian J. of Dairy Technol.* 37 (4) : 139 - 142, 1982.
- CHIANG, B.H. & CHERYAN, M. Ultrafiltration of skimmilk in hollow fiber. *J. Food Science* 51 (2) : 340 - 344, 1986.
- CLARK JR., W.S. Our industry today : Whey processing and utilization. *J. Dairy Sci.* 62 : 96 - 98, 1979.
- COOPER, H.R.; HUGHES, I.R. & MATTHEWS, M.E. Application of "Response Surface Methodology" to the evaluation of whey protein gel systems. *N. Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 12 (4) : 248 - 252, 1977.
- DE BOER, R.; DE WIT, J.N. & HIDDINK, J. Processing of whey by means of membranes and some applications of Whey protein concentrate. *J. Society of Dairy Technol.* 30 (2) : 112 - 120, 1977.
- DELANEY, H.A.M. Composition, properties and uses of whey protein concentrates. *J. Society of Dairy Technol.* 29 (2) : 91 - 101, 1976.

- DEVILBISS, E.D.; HOLSINGER, V.H.; POSATI, L.P. & PALLANSCH, M.J. Whey protein concentrate foams. *Food Technol.* 28 (3) 40 - 48, 1974.
- DE WIT, J.N. & DE BOER, R. Ultrafiltration of cheese whey and some functional properties of the resulting whey protein concentrate. *Neth. Milk Dairy J.* 29: 128 - 211, 1975.
- DE WIT, J.N. & KLARENBEEK, G. Effects of various heat treatments on structure and solubility of whey proteins. *J. Dairy Sci.* 67: 2701 - 2710, 1984.
- DE WIT, J.N.; KLARENBEEK, G. & HONTELEZ-BACKX, E. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. *Netherland Milk Dairy J.* 37: 37 - 49, 1983.
- DE WIT, J.N. & HONTELEZ-BACKX, E. Les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum; conséquences des traitements thermiques. *La Technique Laitière* 952, Mars, 19 - 22, 1981.
- DU BOIS, M.W.; ANGLEMIER, A.F.; MONTGOMERY, M.W. & DAVIDSON, W.D. Effect of proteolysis on the emulsification characteristics of bovine skeletal muscle. *J. Food Sci.* 37 (1) : 27 - 28, 1972.

- DUNKERLEY, J.A. & HAYES, J.F. Characterization of whey protein gels using a temperature gradient block. New Zealand J. Dairy Sci. and Technol. 15 (2): 191 - 196, 1980
- EIGEL, W.N.; BUTLER, J.E.; ERNSTROM, C.A.; HARWALKER, V.R.; JENNESS, R. & WHITNEY, R.M. Nomenclature of protein of cow's milk : 5th rev. J. Dairy Sci. 67: 1599 - 1621, 1984.
- FAO - FAO Production Yearbook - 1985 vol. 39 - Food and Agriculture Organization of the United Nations - Rome, 1986.
- FIL-IDF - International Dairy Federation 20 Brussels - Belgium, 1962.
- FIL-IDF - International Dairy Federation. Membrane processes. Guidelines for testing of equipments : terms and definitions. Document 134. 1981.
- FORSUM, E. Biological evaluation of wheat supplemented by a whey protein concentrate or cheese whey on growing rats. J. Dairy Science 62 (8): 1207 - 1210, 1979.

- FURTADO, M.M. Defeitos da Fabricação de Queijos - Seminário sobre Defeitos do Queijo. Juiz de Fora, agosto, 1987.
- GLOVER, F.A. Concentration of milk by ultrafiltration and reverse osmosis. *J. Dairy Research* 38 : 373 - 379, 1971.
- GLOVER, F.A.; SKUDDER, P.J.; STOTHART, P.H. & EVANS, E.W. Reviews of the progress of dairy science: reverse osmosis and ultrafiltration in dairying. *J. of Dairy Research* 45: 291 - 318, 1978.
- GUÉRIVIERE, J.F. Utilization du lactosérum dans l'alimentation humaine traditionnelle. *La Technique Laitière* 952: 57 - 59, mars, 1981.
- GUY, E.J. Dried cottage cheese whey: review of its composition and use in bakery products. *Bakers Digest*, october, 10 - 16, 1978.
- HAGGETT, T.O.R. The whipping, foaming and gelling properties of whey protein concentrates. *New Zealand J. of Dairy Sci. and Technol.* 11: 244 - 250, 1976a.
- HAGGETT, T.O.R. The effect of refrigerated storage on the whipping properties of whey protein concentrates. *New Zealand J. of Dairy Sci. and Technol.* 11: 257 - 277, 1976b

- HAMBRAEUS, L. Importance of milk proteins in human nutrition physiological aspects. Proceedings of the International Congress on milk proteins - Luxemburg, 1984.
- HANSEN, P.M.T. & BLACK, D.H. Whipping properties of spray dried complexes from whey protein and carboxymethylcellulose. *J. Food Science* 37 : 452 - 456, 1972.
- HARPER, W.J. & ZADOW, J.G. Heat induced changes in whey protein concentrates as related to bread manufacture. *New Zealand J. of Dairy Sci. and Technol.* 19: 229 - 237, 1984.
- HICKEY, M.W. & HILL, R.D. Investigations into the ultrafiltration and reverse osmosis of wheys. II. Effects of some minor constituents. *N. Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 15 (2): 123 - 130, 1980.
- HICKEY, M.W.; HILL, R.D. & SMITH, B.R. Investigations into the ultrafiltration and reverse osmosis of wheys. I- the effects of certain pretreatments. *New Zealand J. of Dairy Sci. and Technol.* 15 (2): 109 - 121, 1980.
- HIDALGO, J. & GAMPER, E. Solubility and heat stability of whey protein concentrates. *J. Dairy Sci.* 60: 1515 - 1518, 1977.

- HILL, A. Concentration and fractionation of whey. Modern Dairy, July - August, 12 - 15, 1982.
- HOLMES, D.G. Whey products. New Zealand J. of Dairy Sci. and Technol. 14 (2): 208 - 213, 1979.
- HOLZINGER, V.H.; POSATI, L.P. & DE VILBISS, E.D. Whey beverages: A review. J. Dairy Sci. 57 (8): 849 - 859, 1974
- ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications of Foods of the International Association of Microbiological Societies. in Microorganisms in Foods - Their Significance and Methods of Enumeration, University of Toronto press, 2nd ed., Canadá, 434 p., 1978.
- IVEY, F.J.; WEBB, N.B. & JONES, V.A. The effect of droplet size and interfacial film thickness on the emulsifying capacity of meat emulsions. Food Technology 24 : 91 - 93, nov 1970.
- JANSEN, G.R. in New Protein Foods. vol. 1A, Technology. Capítulo II. Academic Press, New York and London, 1974.

- JELEN, P. Utilization of cheese whey components in human foods. Proc. IV Congress Food Sci. and Technol. vol IV: 281 - 288, 1974
- JELEN, P. Industrial whey processing technology : An overview. J. Agric. Food Chem. 27 (4) : 658 - 661, 1979.
- JELEN, P. Studies on emulsifying capacity and heat stability of whey protein concentrates. J. Coll. Dairying 10 : 1 - 12, 1983.
- JENNESS, R.; SHIFE JR., W.F. & SHERBON, J.W. Physical properties of milk. in Fundamentals of Dairy Chemistry, Webb, B.W.; Johnson, A.H. & Alford, J.A., ed.; The AVI Publishing Company; Westport, Conn.; 2nd ed., 929 p., 1978.
- JOHNSON, K.T. & HILL JR., C.G. Electrodialysis of raw whey and whey fractionated by reverse osmosis and ultrafiltration. J. Food Sci. 41 (4): 770 - 777, 1976.
- KILARA, A. Standardization of methodology for evaluating whey proteins. J. Dairy Sci. 67 (11): 2734 - 2744, 1984.
- KIM, Y.A.; CHISM, G.W. & MANGINO, M.E. Determination of the Beta-lactoglobulina, Alpha-lactoalbumina and Bovine Serum Albumin of whey protein concentrates and their relation-

- ship to protein functionality. J. Food Sci. 52 (1): 124 - 127, 1987.
- KINSELLA, J.E. Functional properties of proteins in Foods: A survey. Critical Review in Food Science and Nutrition 7 (3): 219 - 280, 1976.
- KINSELLA, J.E. Functional properties of soy proteins. J. Am. Oil Chemistry Soc. 56 (3): 242 - 258, 1979.
- KOHNHORST, A.L. & MANGINO, M.E. Prediction of the strength of whey protein gels based on composition. J. Food Sci. 50 (5): 1403 - 1405, 1985.
- KOSARIC, N. & ARCHER, Y. Cheese whey and its utilization. Conservation and Recycling 5 (1): 23 - 32, 1982.
- KOSIKOWSKI, F.V. Whey utilization and whey products. J. Dairy Sci. 62 : 1149 - 1160, 1979.
- LEE, D.N. & MERSON, R.L. Examination of cottage cheese whey protein by scanning electron microscopy: relationship to membrane fouling during ultrafiltration. J. Dairy Sci. 58 (10) 1423 - 1432, 1975.

- LEE, D.N. & MERSON, R.L. Chemical treatments of cottage cheese whey to reduce fouling of ultrafiltration membranes J. Food Sci. 41 (4): 778 - 786, 1976.
- LI-CHAN, E. Properties and molecular interactions of whey protein concentrate upon storage. J. Dairy Sci. 66: 1843 - 1853, 1983.
- MANGINO, M.E. Psychochemical aspects of whey protein functionality. J. Dairy Sci. 67 (ii): 2722, 1984.
- MARSHALL, K.R. Treating food wastes for profit. physicochemical separations. Ultrafiltration and reverse osmosis. CSIRO Food Research Quaterly 42: 7 - 14, 1982.
- MATTHEWS, M.E. Advances in whey processing - ultrafiltration and reverse osmosis. New Zealand J. Dairy Sci. and Technol 14 (2): 86 - 92, 1979.
- MATTHEWS, M.E.; AMUNDSON, C.H. & HILL JR., C.G. Changes in distribution of nitrogenous fractions of cheddar cheese whey during ultrafiltration. J. Dairy Sci. 59 (6): 1033 - 1041, 1976.

- MAUBOIS, J.L. Ultrafiltration of whey. *J. Society of Dairy Technol.* 33 (2): 43 - 49, 1980.
- MAUBOIS, J.L. & BRULE, G. Utilization des techniques à membrane pour la séparation, la purification et la fragmentation des protéines laitières. *Le Lait* 62: 484 - 510, 1982.
- McDONOUGH, F.E. Whey solids utilization and salvage systems. *Cultured Dairy Products J.*, February, 8 - 11, 1977.
- McDONOUGH, F.E.; ALFORD, J.A. & WOMACK, M. Whey protein concentrate as a milk extender. *J. Dairy Sci.* 59 (1): 34 - 40 1976.
- McDONOUGH, F.E.; HARGROVE, R.E.; MATTINGLY, W.A.; POSATI, L.P. & ALFORD, J.A. Compositions and properties of whey protein concentrates from ultrafiltration. *J. Dairy Sci.* 57 (12) : 1438 - 1443, 1974.
- MELACHOURIS, N. Critical aspects in development of whey protein concentrate. *J. Dairy Sci.* 67 (11): 2693 - 2700, 1984.

- MELLO, E.M.; ROIG, S.M. & MORAIS, M.A.C. Uso de soro de queijo concentrado, por ultrafiltração, em pudim de chocolate. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes* 42 (249): 42 - 46, 1987.
- METTLER, A.E. Utilization of whey byproducts for infant feeding. *J. Society of Dairy Technol.* 33 (2): 67 - 72, 1980.
- Ministério da Agricultura. Leite e Produtos Lácteos sob Inspeção Federal no Brasil. *Boletim do Leite* 620, 637, 648, 658, 1980, 1981, 1982, 1983.
- MODLER, H.W. Functional properties of nonfat dairy ingredients - A review. Modification of lactose and products containing whey proteins. *J. Dairy Sci.* 68 (9): 2206 - 2214, 1985.
- MORR, C.V. Whey protein concentrates : An update. *Food Technol.* 30, 18 - 22, 42, 1976.
- MORR, C.V. Functionality of whey protein products. *N. Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 14 (2): 185 - 194, 1979.

- MORR, C.V. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 50 (5): 1406 - 1411, 1985.
- MORR, C.V.; SWENSON, P.E. & RICHTER, R.L. Functional characteristics of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 38 : 324 - 330, 1973.
- NIELSEN, I.K.; BUNDGAARD, A.G.; OLSEN, O.J. & MAIDSEN, R.F. Reverse osmosis for milk and whey. *Process Biochemistry* 17 - 20, setembro, 1972.
- NIELSEN, M.A.; COULTER, S.T.; MORR, C.V.; ROSENAU, J.R. Four factor response surface experimental design for evaluating the role of processing variables upon protein denaturation in heated whey systems. *J. Dairy Sci.* 56, i) 76 - 83, 1973.
- Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz vol.i "Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos" 29 ed., 1976.
- PATEL, P.C. & MERSON, R.L. Ultrafiltration of cottage cheese whey; influence of whey constituents on membrane performance. *J. Food Sci. and Technol.* 15: 56 - 61, 1978.

- PATEL, R.S. & REUTER, H. Deposit formation on a hollow fiber ultrafiltration membrane during concentration of skimmilk. *Milchwissenschaft* 40 (10): 592 - 595, 1985.
- PEARSON, A.M.; SPOONER, M.E.; HEGARTY, G.R. & BRATZLER, L.J. The emulsifying capacity and stability of soy sodium proteinate, potassium caseinate, and nonfat dry milk. *Food Technol.* 19 : 103 - 107, dec. 1965.
- PELTONEN-SHALABY, R. & MANGINO, M.E. Compositional factors that affect the emulsifying and foaming properties of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 51 (1): 91 - 95, 1986.
- PERI, C. & DUNKLEY, L. Reverse osmosis of cottage cheese whey. *J. Food Sci.* 36: 25 - 30, 1971.
- PORTER, M.C. & MICHAELS, A.S. Applications of membrane ultrafiltration to food processing. Proceedings of the Third International Congress of Food Science and Technology, 462 - 473, 1970.
- RENNER, E. Nutritional aspects of cheese. in *Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology*. vol. 1 . Elsevier Applied Science, London, 1987.

- RHAM, O. & CHANTON, S. An empirical mathematical model of retentate composition in ultrafiltration of dairy products. *J. Dairy Research* 53: 271 - 283, 1986.
- RICHERT, S.H.; MORR, C.V. & COONEY, C.M. Effect of heat and other factors upon foaming properties of whey protein concentrates. *N. Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 11: 257 - 277, 1974.
- SÁNCHEZ, H.; BACHETTA, R. & CASTELAO, E. Protein fortification of french-type bread with whey protein concentrate. *Bull. Documents - International Dairy Federation* 147: 51 - 52, 1982.
- SARMA, S.C. & BATTY, J.C. Recovery of cheese whey proteins through ultrafiltration. *J. Food Sci. and Technol.* 16: 51 - 53, 1979.
- SCHMIDT, R.H. & ILLINGWORTH, B.L. Gelation properties of whey protein and blended protein systems. *Food Product Development* 12 (10): 60 - 64, 1978.
- SCHMIDT, R.H.; PACKARD, V.S. & MORRIS, H.A. Effect of Processing on whey protein functionality. *J. Dairy Sci.* 67 (11): 2723 - 2733, 1984.

- SCHMIDT, R.H.; SMITH, D.E.; PACKARD, V.S. & MORRIS, H.A.
Compositional and selected functional properties of whey protein concentrates and lactose hydrolysed whey protein concentrates. *J. Food Protection* 49 (3): 192 - 195, 1986.
- SGARBIERI, V.C. *Alimentação e Nutrição : Fator de Saúde e Desenvolvimento*. Campinas : Editora da UNICAMP, São Paulo : Almed. 1987.
- SOOD, V.K. & KOSIKOWSKI, F.V. Ultrafiltration of skim milk at high temperature. *J. Food Protection* 42 (12): 958 - 960 1979.
- SOURIRAJAN, S. Reverse osmosis - A general separation technique. in *Reverse Osmosis and Synthetic Membranes*, Ottawa, Canadá, ed. S. Sourirajan, pp. 1 - 4, 1977.
- SPURGEON, K.R. Uses of whey in confectionery, dairy and other foods. *Cultured Dairy Products J.*, Nov., 8 - 13, 1976
- TAKAHASHI, S.; PIEROTTI, J.A.; VALLE, J.L.E.; OKADA, M. & FIGUEIREDO, I.B. Ultrafiltração de soro de queijo em membranas "Hollow Fibers". *Boletim do Ital* 10: 169 - 186, 1979

- TAMIME, A.Y. & ROBINSON, R.K. Yoghurt - Science and Technology. Pergamon Press, London, 1985.
- TARNAWSKI, V.R. & JELEN, P. Estimation of compaction and fouling effects during membrane processing of cottage cheese whey. J. Food Engineering 5: 75 - 90, 1986.
- THIJSSEN, H.A.C. & VAN OYEN, N.S.M. Analysis and economic evaluation of concentration alternatives for liquid foods - Quality aspects and costs of concentration. J. Food Process Engineering 1: 215 - 240, 1977.
- THOMPSON, L.O.; RENIERS, D.J.; BAKER, L.M. & SIU, M. Succinylated whey protein concentrates in ice cream and instant pudding. J. Dairy Sci. 66 (8): 1630 - 1637, 1983.
- TO, B.; HELBIG, N.B.; NAKAI, S. & MA, C.Y. Modification of whey protein concentrate to simulate whippability and gelation of egg white. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 18 (2): 150 - 157, 1985.
- TORNBERG, E. & HERMANSSON, A.M. Functional characterization of protein stabilized emulsions : Effect of processing. J. Food Sci. 42 (2): 468 - 472,, 1977.

- VARUNSATIAN, S.; WATANABE, K.; HAYAKAWA, S. & NAKAMURA, R.
Effects of Ca^{++} , Mg^{++} and Na^+ on heat aggregation of whey protein concentrates. *J. Food Sci.* 48 (1): 42 - 46, 1983.
- VIEIRA, S.D.A. & NEVES, B.S. Elaboração de bebidas ácidas e achocolatadas a partir de soro de queijo ultrafiltrado. *Alimentação*, julho/agosto, 21 - 25, 1985.
- WALSTRA, P. & JENNESS, R. in *Química y Física Lactológica*, editora Acribia S.A., Zaragoza, Espanha, cap. 11, 423 p., 1984.
- WEBB, N.B.; IVEY, F.J.; CRAIG, H.B.; JONES, V.A. & MONROE, R.J. The measurement of emulsifying capacity by electrical resistance. *J. Food Sci.* 35 (4): 501 - 504, 1970.
- WINGERD, W.H. Lactalbumin as a food ingredient. *J. Dairy Sci.* 54 (8): 1234 - 1236, 1971.
- WU, Y.V. & INGLETT, G.E. Denaturation of plant proteins related to functionality and food applications - A review. *J. Food Sci.* 39: 218 - 225, 1974.
- YAN, S.H.; HILL JR., C.G. & AMUNDSON, C.H. Ultrafiltration of whole milk. *J. Dairy Sci.* 62: 23 - 40, 1979.

- ZADOW, J.G. Lactose: properties and uses. *J. Dairy Sci.* 67 (11): 2654 - 2679, 1984.
- ZADOW, J.G. & HARDHAM, J.F. Studies on the use of whey protein concentrates in bread. *The Australian J. Dairy Tech* vol. 36 (2):60 - 63, 1981.
- ZADOW, J.G.; HARDHAM, J.F. & MARSHALL, S.C. Sulphydryl residues in whey protein concentrates and their effect on bread baking characteristics in a model system. *The Australian J. Dairy Technol.*, March, 27 - 28, 1983.
- ZALL, R.R. Trends in whey fractionation and utilization, A global perspective. *J. Dairy Sci.* 67 (11): 2620 - 2629, 1984.

ANEXO 1 - Dados do 1º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
8,63	11,0	1,27	1,08
18,20	22,0	1,21	1,17
28,50	33,0	1,16	1,29
39,00	44,0	1,13	1,42
49,62	54,5	1,10	1,58
61,25	66,0	1,08	1,80
72,13	76,5	1,06	2,07
83,00	87,0	1,05	2,43
94,25	97,8	1,04	2,95
106,10	108,3	1,02	3,73
118,30	118,8	1,00	5,07
128,82	128,3	1,00	7,51

Peso inicial de soro = 148 Kg

ANEXO 2 - Dados do 2º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
11,23	11,0	0,98	1,10
23,50	22,0	0,94	1,22
36,12	32,8	0,91	1,38
48,87	43,6	0,89	1,57
61,53	54,1	0,88	1,82
75,13	65,6	0,87	2,21
88,48	76,6	0,87	2,77
102,33	87,8	0,86	3,73
113,37	96,6	0,85	5,13

Peso inicial de soro = 120 Kg

ANEXO 3 - Dados do 3º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
8,30	10,0	1,20	1,07
18,30	20,5	1,12	1,16
28,30	30,5	1,08	1,26
38,80	40,7	1,05	1,38
50,33	51,9	1,03	1,55
61,30	62,4	1,02	1,74
72,00	73,9	1,02	2,02
83,98	84,4	1,01	2,36
95,33	94,4	0,99	2,81
107,37	104,6	0,97	3,50
120,28	115,1	0,96	4,67
129,05	122,1	0,95	6,00 *
130,62	123,3	0,94	6,38 **
-	125,1	-	7,29 ***

Peso inicial de soro = 146,5 Kg

* retirada de 3,4 Kg de retentado

** retirada de 4,4 Kg de retentado

*** retirada do retentado restante

ANEXO 4 - Dados do 4º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
11,35	10,0	0,88	1,07
24,05	20,0	0,83	1,15
37,13	30,0	0,81	1,25
50,42	40,0	0,79	1,36
63,78	50,0	0,78	1,49
77,33	60,0	0,78	1,65
91,35	70,0	0,77	1,85
105,50	80,0	0,76	2,11
119,73	90,0	0,75	2,45
134,28	100,0	0,74	2,92
149,70	110,5	0,74	3,66
158,62	116,5	0,73	4,28 *
163,32	119,5	0,73	4,72 **
165,88	121,5	0,74	5,30 ***
170,00	123,0	0,74	5,84 ****

Peso inicial de soro = 152 Kg

* retirada de 3 Kg de retentado

** retirada de 3 Kg de retentado

*** retirada de 2 Kg de retentado

**** retirada do restante do retentado

ANEXO 5 - Dados do 5º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
9,48	10,0	1,05	1,07
20,60	20,3	0,99	1,16
32,33	30,5	0,94	1,25
44,20	40,5	0,92	1,37
56,05	50,5	0,90	1,50
68,67	60,5	0,88	1,67
81,12	70,5	0,87	1,88
93,55	80,5	0,86	2,14
106,35	90,5	0,85	2,50
120,38	101,5	0,84	3,05
135,15	112,5	0,83	3,92
141,67	117,3	0,83	4,48 *
149,53	122,5	0,82	5,35 **
153,72	125,0	0,80	6,01 ***

Peso inicial de soro = 151 Kg

* retirada de 3 Kg de retentado

** retirada de 3 Kg de retentado

*** retirada do restante do retentado

ANEXO 6 - Dados do 6º Processo de Ultrafiltração

Tempo (min)	Peso Perm. (Kg)	Vazão (Kg/min)	Fator de Conc.
11,28	10,0	0,89	1,07
23,52	20,0	0,85	1,15
36,43	30,0	0,82	1,25
49,53	40,0	0,81	1,36
62,62	50,0	0,80	1,49
76,52	60,3	0,79	1,66
89,67	70,3	0,78	1,86
103,27	80,3	0,78	2,12
117,25	90,3	0,77	2,46
131,55	100,3	0,76	2,94
146,28	110,3	0,75	3,65
161,50	120,3	0,74	4,80
171,72	126,3	0,74	5,91 *
174,68	127,8	0,73	6,32 **
177,33	128,8	0,73	6,69 ***

Peso inicial de soro = 152 Kg

* retirada de 3 Kg de retentado

** retirada de 3 Kg de retentado

*** retirada do restante de retentado