

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO**

**MICROFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE DE BÚFALA
UTILIZANDO MEMBRANA CERÂMICA COMO
ALTERNATIVA AO PROCESSO DE PASTEURIZAÇÃO**

HÉRCULES DE LUCENA LIRA

**MACEIÓ – AL
2007**

HÉRCULES DE LUCENA LIRA

**MICROFILTRAÇÃO DO SORO DE LEITE DE BÚFALA
UTILIZANDO MEMBRANA CERÂMICA COMO
ALTERNATIVA AO PROCESSO DE PASTEURIZAÇÃO**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Nutrição da
Universidade Federal de Alagoas
como requisito à obtenção do título
de Mestre em Nutrição.

Orientadora: Prof. Dra. Maria Cristina Delgado da Silva

Co-orientadora: Prof. Dra. Ana Maria Q. López

**MACEIÓ – AL
2007**

Catlogação na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

L768m Lira, Hércules de Lucena.
Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membrana cerâmica como alternativa ao processo de pasteurização / Hércules de Lucena Lira. – Maceió, 2007.
59 f.

Orientadora: Maria Cristina Delgado da Silva.
Co-Orientadora: Ana Maria Q. López.
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Leite de Búfala – Tecnologia de alimentos. 2. Soro de leite – Processamento.
3. Membrana cerâmica. 4. Microfiltração. 4. Soro de leite – Nutrição. I. Título.

CDU: 579.67:636.293.2



MESTRADO EM NUTRIÇÃO

Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

Campus A. C. Simões
BR 104 Km 14 Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/ fax: 81 3214-1160



PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

**"Microfiltração do soro de leite de búfala utilizando membrana
cerâmica como alternativa ao processo de pasteurização"**

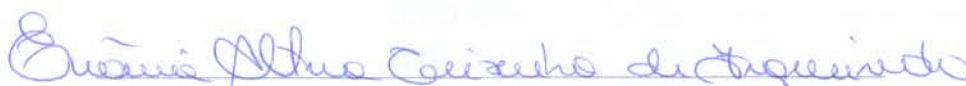
por

Hércules de Lucena Lira

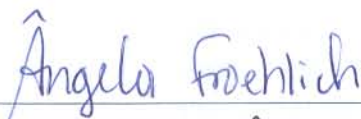
A Banca Examinadora, reunida aos 13 dias do mês de julho do ano de
2007, considera o candidato **APROVADO**.



Profa. Dra. Maria Cristina Delgado da Silva
Faculdade de Nutrição/ UFAL



Profa. Dra. Evânia Altina Teixeira de Figueiredo
Departamento de Tecnologia de Alimentos/ CCA/ UFC



Profa. Dra. Ângela Froehlich
Escola Agrotécnica Federal de Satuba

DEDICATÓRIA

À minha família, em especial ao meu pai, Gregório Alves de Lira (*in memória*), meu “Mestre Griga”, que a cada degrau que conquisto, mais valorizo pela luta para nos proporcionar uma educação plena e digna. Como todos os mestres, ele nos mostrava os caminhos, e não poupava esforços para nos guiar por eles, sempre com muita sabedoria e vivência de uma vida que lhe ensinara a driblar e vencer os obstáculos.

AGRADECIMENTOS

Ao curso de Pós-graduação em Nutrição, aos professores do curso e todos os funcionários que contribuíram para o bom andamento do programa do mestrado em nutrição;

À Profª Dra. Maria Cristina Delgado da Silva, que aceitou o desafio de me orientar, me indicando caminhos, me proporcionando conhecimentos e experiências que contribuíram para o êxito deste trabalho;

À Profª Dra. Ana Maria Q. López, pela co-orientação e pelos conhecimentos compartilhados.

Ao Sr. Alberto Couto, proprietário do Laticínio Búfalo Bill e amigo, que sempre se dispôs a me ajudar e incentivar neste trabalho;

Ao Laboratório Central de Alagoas - LACEN e seus colaboradores, pelo apoio e parceria na realização das análises;

À Fundação de amparo à pesquisa do estado de Alagoas - FAPEAL, pelo financiamento desta pesquisa;

À minha mãe Emilia, que ao lado do “Seu” Gregório, sempre doou o amor tão necessário a nossa formação;

À minha querida esposa Márcia, pelos momentos de compreensão, renúncia e, principalmente, de incentivo para que buscasse mais esta conquista;

Aos meus fantásticos filhos, Emília e Lucas, até porque desejo que eles também dêem continuidade neste processo educacional que tanto o avô deles priorizava;

Aos meus irmãos (Humberto, Simone, Mônica, Suzana), em especial ao Hélio, que sempre me incentivou a cursar um mestrado, e a minha irmã caçula Andréa, pela troca de conhecimentos e experiências;

À todos os familiares e amigos que me deram força e contribuição;

Aos colegas do SENAI-AL, e em especial aos Srs, Marben Montenegro e Alexandre Caiado, pela compreensão nos momentos de ausência do trabalho e por todo apoio que me dispensaram;

A todos os amigos da Pós-graduação pelos bons momentos de convivência, aprendizado e companheirismo.

Obrigado e sucesso a todos.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi, a partir da padronização da produção de queijo coalho de búfala em laboratório, avaliar seu rendimento em relação ao leite de vaca, obter o soro de leite e caracterizá-lo quanto ao seu valor nutricional e de carga microbiana, antes e após o tratamento por microfiltração ou pasteurização. Para realizar o processo de microfiltração do soro de leite de búfala, utilizou-se uma membrana cerâmica tubular de alumina (0,8 µm de porosidade), confeccionada em laboratório do departamento de materiais (DEMA) da UFCG. Foram realizados sete ensaios e analisadas físico-químicas e microbiologicamente amostras de soro "in natura" (SA), do soro filtrado (SF) e do soro pasteurizado (SP). Os parâmetros físico-químicos avaliados foram: pH, densidade, acidez, umidade, extrato seco total, teor de gordura, lactose e proteínas totais segundo metodologia recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (2005). Também foram realizadas contagens de bactérias aeróbias mesófilas utilizando placas Petrifilm, de acordo com metodologia da AOAC (2000). Os resultados obtidos indicaram que o rendimento médio de produção de queijo coalho a partir de leite búfala foi de 27,51%, enquanto com a utilização de leite de vaca pasteurizado, este rendimento foi de 13,06%. Quanto à caracterização do soro de leite de búfala os valores médios apresentaram umidade (89,94%), extrato seco total (10,06%), pH (6,29), densidade (1,029), acidez (10,07⁰D), gordura (1,37%), proteínas (1,19%) e lactose (5,84%). Após a aplicação dos processos de microfiltração e pasteurização, observou-se uma redução da carga microbiana de 4,04 log UFC/mL do SA para 1,50 log UFC/mL no SP e para 0,70 log UFC/mL no SF. Quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados foi constatado maiores perdas nutricionais nas amostras de SF quando comparado com o SP. Portanto, apesar do processo de microfiltração por membrana cerâmica ter sido mais eficiente que o processo de pasteurização em relação à redução de carga microbiana, ainda há necessidade de aperfeiçoamento, visando minimizar o processo de incrustação da mesma, o qual provocou retenção de nutrientes.

Palavras-chave: Membrana cerâmica, microfiltração, leite de búfala, soro de leite.

ABSTRACT

The aim of this work was to obtain buffalo whey from a standard cheese curd production, with the evaluation of their efficiency in relation to the cow milk. The buffalo whey was characterized by nutritional information and microbial aspects. It was compared the efficiency of the microfiltration process of whey with the traditional pasteurization process. To carry out the microfiltration process of buffalo whey, it was used a tubular ceramic alumina membrane (0.8 μ m of pore size), made in laboratory in Materials Engineering Department, at Federal University of Campina Grande. It was done seven tests and the samples of whey were analyzed after production (SA), after microfiltration process (SF) and after pasteurization process (SP). It was studied the followed physical-chemistry: pH, density, acidity, humidity, total dry extract, fat, lactose and protein content, according to recommended methodology from Instituto Adolfo Lutz, 2005, and the microbiological parameter: aerobic mesophilic bacteria measurement was done by Petri film plates, according to AOAC, 2000. The results showed that the performance of the cheese curd from buffalo milk was 27.51% and the one from cow milk was 13.06%. The characterization of the whey showed the followed results: 89.94% of humidity, 10.06% of total dry extract, 6.29 of pH, 1.029 of density, 10.07 $^{\circ}$ D of acidity, 1.37% of fat, 1.19% of protein and 5.84% of lactose. After microfiltration and pasteurization process the samples of whey showed a reduction of bacterial count to 4.04 log UFC/mL to SA, 1.5 log UFC/mL to SP and 0.70 log UFC/mL to SF. In relation to the physical-chemistry parameters, it was showed great loss of nutritional content of the whey sample after microfiltration process when compared with the pasteurization process. So, despite the microfiltration by ceramic membrane is more efficiency then the pasteurization process to remove the microbial content, there is a need to improve the process to avoid fouling on the membrane surface that is responsible by the nutrients reduction.

Key words: Ceramic membrane, microfiltration, buffalo milk, Whey.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema dos modos de operação e curvas de fluxo.....	19
Figura 2- Incrustação formada por proteínas durante a microfiltração.....	25
Figura 3- Fluxograma de produção de queijo de coalho e obtenção do soro de leite.....	30
Figura 4- Queijo de coalho.....	31
Figura 5- Processo de pasteurização lenta do soro de leite.....	32
Figura 6- Sistema de microfiltração de soro de leite montado em escala piloto	34
Figura 7- Comparação entre o fluxo da água destilada e do soro de leite de búfala durante o processo de microfiltração.....	41

..

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição físico-química do leite de búfala comparado ao leite de vaca.....	8
Tabela 2- Distribuição do rebanho bubalino brasileiro	8
Tabela 3- Composição média do leite de vaca, distribuição de peso molecular e tamanho das moléculas.....	20
Tabela 4- Processos de filtração dos componentes do leite.....	20
Tabela 5- Resultados médios dos rendimentos obtidos durante a fabricação de queijo de coalho a partir de leite de búfala e leite de vaca.....	38
Tabela 6- Características físico-químicas do soro de leite de búfala.....	40
Tabela 7- Médias dos valores de parâmetros físico-químicas em amostras de soro de leite de búfala “in natura”, soro após filtração e soro após pasteurização.....	43
Tabela 8- Média da contagem de bactérias aeróbias mesófilas viáveis em amostras de soro de leite de búfala “in natura”, soro após filtração e soro após pasteurização.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS	4
2.1	Geral.....	4
2.2	Específicos.....	4
3	REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1	Cadeia do leite bovino.....	6
3.2	Cadeia do leite bubalino.....	7
3.3	Produção de queijo de coalho e obtenção do soro de leite.....	9
3.4	Sistema de filtração através de membranas.....	13
3.4.1	Membranas filtrantes.....	13
3.4.2	Membranas cerâmicas.....	16
3.4.3	Processos de separação com membranas.....	18
3.5	Utilização de membranas cerâmicas em produtos lácteos.....	19
3.6	Incrustações.....	25
3.7	Sistema de pasteurização.....	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	Local da pesquisa.....	29
4.2	Amostragem.....	29
4.3	Caracterização da membrana utilizada.....	29
4.4	Produção de queijo de coalho a partir do leite de búfala e obtenção de soro de leite.....	30
4.5	Rendimento da fabricação de queijo de coalho a partir do leite de búfala “in natura” e leite de vaca pasteurizado.....	32
4.6	Microfiltração do soro de leite e avaliação do fluxo no sistema.....	33
4.7	Caracterização das amostras de soro de leite de búfala através de parâmetros físico-químicos.....	34

4.8	Caracterização microbiológica de amostras de soro de leite de búfala através da contagem de bactérias aeróbias mesófilas	36
4.9	Comparação dos resultados das análises físico-químicas e microbiológicas obtidas nos processos de microfiltração e pasteurização	36
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	Rendimento do queijo de coalho a partir do leite de búfala e leite de vaca.....	38
5.2	Caracterização físico-química do soro de leite de búfala.....	39
5.3	Microfiltração do soro de leite e avaliação do fluxo do sistema.....	41
5.4	Eficiência dos tratamentos dos processos de microfiltração por membrana cerâmica e pasteurização do soro de leite.....	42
6	CONCLUSÕES	48
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
8	ANEXOS	61
8.1	Comunicado enviado pela comissão da Revista “Ciência e Tecnologia de Alimentos”, sobre o recebimento para submissão do artigo para publicação.....	61
8.2	Trabalho enviado a Revista “Ciência e Tecnologia de Alimentos”, de acordo com as normas específicas da revista.....	61

1 INTRODUÇÃO

Na indústria de laticínios, a produção de queijos por métodos tradicionais não possibilita o aproveitamento total do leite como matéria-prima, gerando um outro subproduto, conhecido como “soro de leite” ou “soro de queijo”. Em função do processo, da tecnologia utilizada e do tipo de queijo produzido, este derivado pode representar entre 80 e 95% do volume de partida e apresentar sabor ligeiramente ácido ou doce, além de conter cerca de 55% dos nutrientes originais do leite (Dumais, 1991; Papa, 2000; Coimbra *et al.*, 2004).

Durante muito tempo, o soro teve como destino a alimentação animal ou o descarte direto no meio ambiente, provocando sérios problemas à flora e fauna devido ao seu alto conteúdo de matéria orgânica em termos de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a qual oscila em torno de 30.000 a 50.000 mg/L. Este valor é aproximadamente 100 vezes maior que o de um esgoto doméstico e, considerando uma produção média de 10.000L de soro por dia, seu poder poluente pode ser equivalente ao do esgoto doméstico de uma população de 5.000 habitantes (Richards, 2002).

Cada vez mais, portanto, a legislação envolvendo o meio ambiente exige das indústrias de laticínios um tratamento ou reaproveitamento deste soro. Acredita-se que aproximadamente 50% de todo soro líquido produzido não é aproveitado, sendo este número ainda maior quando consideramos as micro e pequenas empresas. No Brasil, os queijos tiveram um consumo recorde nestes últimos cinco anos, aumento esse que continua em ascensão.

Assim, uma vez que o tratamento desse tipo de efluente é dispendioso e, sendo o soro rico em diversos nutrientes, o mesmo pode ser empregado diretamente ou ter seus componentes concentrados por processos tecnológicos e utilizados em várias formulações de alimentos como, por exemplo, bebidas lácteas, leites fermentados, mistura em sucos, ricota, bebidas nutricionais e fortificadas, entre outros (Dumais, 1991; Papa, 2000).

Portanto, alternativas tecnológicas para o seu adequado aproveitamento, principalmente nos pequenos e médios laticínios, são fundamentais em função do volume gerado e da qualidade nutricional que este derivado lácteo apresenta (Usdec, 2007). Dentre as principais alternativas, o uso da tecnologia de separação de componentes utilizando-se membranas cerâmicas, proporciona não só a produção de componentes com elevado grau de pureza, mas também a obtenção de produto comercialmente estéril que poderá ser utilizado na fabricação de novos produtos lácteos.

Os processos de separação e a utilização de membranas têm encontrado um campo vasto de aplicações, tanto nas indústrias químicas e farmacêuticas, como nas agroindústrias, desde a simples potabilidade de água salina, até o fracionamento, concentração e purificação de soluções moleculares (Brans *et al.*, 2004). Baseiam-se na permeabilidade seletiva de um ou mais componentes, através de membrana, sendo que as moléculas de tamanho inferior ao dos poros da membrana passam através deles, enquanto as de tamanho superior ficam retidas pelo efeito peneira ou por forças repulsivas da superfície da membrana. As operações de separação por membranas servem para concentrar ou fracionar um líquido, obtendo-se duas soluções de composição distintas. A alimentação separa-se, portanto, em duas correntes: o fluido que atravessa a membrana, chamado de *filtrado* ou *permeado*, e o que permanece ao lado da alimentação que contém os solutos (ou sólidos suspensos) que foram retidos pela membrana, chamado de *concentrado* ou *retentado* (Coimbra, 2004; Ordóñez, 2005).

Na indústria láctea, as membranas utilizadas em processo de filtração devem suportar altas vazões, possuírem elevada seletividade e resistência bacteriológica e química, possibilitarem o trabalho com solventes, detergentes

e desinfetantes, e apresentarem baixo custo, apesar da obstrução de seus poros (*fouling*) ser limitante para sua aplicação em certos processos industriais (Rosemberg, 1995; Madaeni & Mansourpanah, 2004). Um fator limitante natural durante o processo de microfiltração de soro de leite, tem sido o entupimento das membranas, também conhecido "*fouling*", uma vez que causa uma alta redução do fluxo do permeado (Farro, 2003).

O tratamento do soro é um dos processos da indústria de laticínios que mais emprega técnicas com membranas, sendo quatro delas amplamente usadas: a osmose reversa, a nanofiltração, a ultrafiltração e a microfiltração (Cadote *et al.*, 1988; Cheang & Zydney, 2003; Cheang & Zydney, 2004; Mehra & Donnelly, 1993; Rosenberg, 1995). Vários pesquisadores têm utilizado a microfiltração por membranas cerâmicas a fim de separar e fracionar gordura do leite integral, remover bactérias e esporos do leite desnatado, concentrar micelas de caseína do leite desnatado e recuperar proteínas do soro de leite (Brans *et al.*, 2004; Hanemaaijer, 1985; Xu *et al.*, 2000).

O leite de búfala apresenta diferenças qualitativas e quantitativas quando comparado ao leite de outros mamíferos. Assim, na tentativa de popularizar o processo de separação e aproveitamento do soro de leite de búfala, que atualmente é muito pouco utilizado pela indústria láctea, e em função de sua fácil deterioração, o propósito do presente trabalho foi avaliar a efetividade do uso de uma membrana cerâmica no processo de microfiltração, objetivando a redução de carga microbiana e manutenção do valor nutricional deste produto, como alternativa ao uso do processo de pasteurização.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a efetividade do uso de uma membrana cerâmica tubular de alumina, para microfiltração do soro de leite de búfala como alternativa ao processo de pasteurização, viabilizando assegurar a qualidade, segurança e aproveitamento deste produto.

2.2 Específicos

- Padronizar o processo de produção de queijo de coalho a partir de leite de búfala para obtenção de soro de leite.
- Avaliar o rendimento da fabricação de queijo de coalho a partir de leite de búfala e leite de vaca pasteurizado.
- Caracterizar o soro de leite de búfala e avaliar o valor nutricional, através de parâmetros físico-químicos em comparação com o soro de leite de vaca.
- Realizar processo de pasteurização lenta em amostras de soro de leite de búfala e caracterizar seus constituintes através de análises físico-químicas e microbiológica.

- Realizar o processo de microfiltração de soro de leite de búfala utilizando membrana cerâmica de $0,8\mu\text{m}$ e caracterizar seus constituintes através de análises físico-químicas e microbiológica.
- Avaliar o fluxo no sistema de microfiltração utilizando a membrana cerâmica de $0,8\mu\text{m}$.
- Comparar o método de microfiltração por membranas cerâmicas com o método tradicional de pasteurização em amostras de soro de leite de búfala, aplicando tratamento estatístico.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Cadeia do leite bovino

O leite é um produto íntegro, de cor branca, ligeiramente amarelada, sabor suave e gosto adocicado, não alterado nem adulterado e sem colostro, higienicamente ordenhado, de procedência regular e secretado pelas glândulas mamárias dos mamíferos. Pode ser considerado como uma emulsão de glóbulos de gorduras dentro de uma fase aquosa com componentes dissolvidos, como micelas de caseínas, proteínas do soro, lactose e sais. Os macrocomponentes do leite bovino são a água (87,30%), lactose (4,90%), gordura (3,80%), proteínas (3,30%) e minerais (0,72%). O leite bovino é comercializado em sua forma líquida integral ou desengordurado e pasteurizado ou esterilizado. Essas mesmas formas são também comercializadas desidratadas, como o leite em pó (Brans *et al.*, 2004).

O leite é um fluido viscoso constituído de uma fase líquida e partículas em suspensão, formando uma emulsão natural, estável em condição normal de temperatura ou de refrigeração. Possui elevados valores nutritivos, sendo o único alimento que satisfaz às necessidades nutricionais e metabólicas do recém-nascido de cada espécie (Sgarbieri, 2004).

A produção de leite e derivados no Brasil tem apresentado substancial aumento nos últimos anos, não só em função do aumento das áreas de

produção, mas pela expansão do seu parque industrial e também pelo aumento das exportações de derivados do leite. A produção de leite no Brasil sofreu alterações ao longo da década de 90 tendo como principais fatores o fim do preço tabelado, a estabilização da moeda e o aumento da concorrência do leite importado. Estes fatos cada qual a seu tempo obrigaram os produtores a uma mudança de atitude. Alguns buscaram o aumento da eficiência de produção e outras formas de alternativas de comercialização, permitindo ampliar as margens de lucro (Produtor de leite e derivados, 2004).

3.2 Cadeia do leite bubalino

Surgida no século XIX com a importação de animais da Itália para Ilha de Marajó, a criação de búfalos no Brasil teve grande evolução nas últimas décadas do século XX como alternativa ao rebanho bovino. Algumas características peculiares aos bubalinos fazem deles uma opção de investimento na pecuária. O rebanho bubalino vem se espalhando por outros estados, principalmente na região Norte, onde hoje se concentra a maior parte dos búfalos do Brasil (Zava, 1987).

Nos últimos anos tem surgido uma crescente demanda em relação a produtos lácteos oriundo de leite de diferentes espécies. O leite de búfala (*Bubalus bubalis*) é reconhecido em muitos países asiáticos há tempos. No Brasil, um crescente aumento tem sido relatado, principalmente para a produção leiteira, devido ao elevado teor de sólidos totais que o mesmo apresenta, essencialmente a gordura, cujo aproveitamento é plenamente viável, tanto para o consumo direto quanto para a produção de derivados (Zava, 1987). De acordo com dados publicados pela Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos – ABCB, é importante ressaltar o elevado teor de extrato seco total do leite de búfala, quando comparado ao leite de vaca, conforme é demonstrado na tabela 1.

Tabela 1- Composição físico-química do leite de búfala comparado ao leite de vaca

PARÂMETRO	LEITE – VACA	LEITE – BÚFALA
Densidade a 15°C	1,028	1,034
Umidade	87,50%	82,50%
Extrato seco total	12,50%	17,50%
Gordura	3,50%	8,00%
Lactose	4,70%	4,90%
Proteína	3,60%	4,00%
pH	6,6	6,6
Acidez	18°D	18°D
Proteínas do soro	0,6%	0,8%

Fonte: ABCB, 2007.

O estado de Alagoas possui um rebanho bubalino pequeno quando comparado ao total nacional, mas apresenta tendência para crescimento no número de cabeças. Na tabela 2, encontra-se a distribuição do rebanho bubalino no Brasil e no estado de Alagoas.

Tabela 2: Distribuição do rebanho bubalino brasileiro

Região Norte	722.299 cabeças
Região Nordeste	106.117 cabeças
Região Sudeste	104.449 cabeças
Região Sul	151.071 cabeças
Região Centro-Oeste	64.872 cabeças
<u>Alagoas</u>	<u>2.618 cabeças</u>

Fonte: IBGE, 2007.

As características do leite de búfala permitem fácil identificação sob o ponto de vista físico-químico e organoléptico. Seu valor é peculiar, ligeiramente adocicado, é mais branco que o leite bovino, em virtude da ausência quase total de caroteno. A maior vantagem do leite bubalino, em relação ao leite de

outras espécies, é a qualidade nutricional, por possuir teores de proteínas, gorduras e minerais que superam consideravelmente os do leite da vaca e, portanto, o seu aproveitamento industrial é efetivamente extraordinário, chegando comparativamente a sobrepujar o rendimento do leite bovino em mais de 40% (Hunh, Ferreiro & Moura Carvalho, 1982; Nader Filho, 1984).

A quantidade de gordura presente no leite de búfala interfere bastante nas características sensoriais do produto. Ela interfere na utilização como matéria-prima para outros produtos, na fabricação de queijo, do iogurte e do doce de leite, e principalmente na aceitação e no rendimento tecnológico (Benevides, 1999). A maioria do leite de búfala no mundo é transformado em queijo mussarela, onde o preço da mussarela feito originalmente com leite bubalino chega a custar três vezes mais que o queijo mussarela de leite de vaca (Rosati e Van Vleck, 2002).

A composição do leite pode variar em função da época, alimentação, raça, características genéticas, entre outras, conforme tem sido relatado na literatura. De acordo com Coelho *et al.* (2004), em estudo realizado com bubalinos da bacia leiteira do estado de São Paulo, encontraram valores de gordura neste produto de 6,83%, proteínas de 4,20%, lactose de 5,02% e de 17,23% de extrato seco total.

3.3 Produção de queijo de coalho e obtenção do soro de leite

O queijo de coalho é definido como sendo o queijo obtido por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementadas ou não pela ação de bactérias lácticas (Brasil, 2002). Trata-se de um produto tipicamente nordestino, que vem ganhando mercado rapidamente, no entanto, é importante considerar que este tipo de queijo é fabricado, em sua maioria, de forma artesanal em pequenas queijarias urbanas ou rurais, e em condições higiênico-sanitárias deficientes (Florentino *et al.*, 2005).

Estima-se que para cada quilo de queijo são produzidos 9 litros de soro e considerando que a produção de queijo no Brasil está em torno de 450 mil

toneladas/ano, isto corresponde a 4.050.000 toneladas de soro. Acredita-se que aproximadamente 50% de todo soro produzido não é aproveitado, sendo este número ainda maior quando consideramos apenas as pequenas indústrias (Richards, 2002). O soro de leite, além de ser rico em proteína, lactose e sais minerais, o seu processamento vem contribuir para não contaminação do meio ambiente. Descartar este soro sem um prévio tratamento não é só crime previsto em lei, é jogar alimento da mais alta qualidade e dinheiro fora (Santos & Ferreira, 2001).

O soro é a fração líquida do leite, obtida após precipitação da caseína, seja para a fabricação de caseinato ou para a fabricação de queijo. É constituído basicamente de água (93%) e de matéria seca (7%) e possui proteínas de alto valor biológico que contém todos os aminoácidos essenciais com alta capacidade fermentativa (Martins *et al*, 2003).

O soro de leite pode ser obtido por três processos principais: a) pelo processo de coagulação enzimática (enzima quimosina), resultando no coágulo de caseínas, matéria-prima para a produção de queijos e no soro "doce"; b) precipitação ácida no pH isoeletrico (pI), resultando na caseína isoeletrica, que é transformada em caseinatos e no soro ácido; c) separação física das micelas de caseína por microfiltração, obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro, na forma de concentrado ou isolado protéico (Sgarbieri, 2004).

De acordo com Muller, Daufin & Chaufer (1999), o soro é uma mistura complexa de proteínas, as quais contém em maior proporção α -lactoalbumina e β -lactoglobulina, onde vários estudos vem sendo realizados a fim de se separar mais eficientemente estas proteínas de forma a se ter elas isoladamente. As proteínas presentes no leite humano consistem em uma proporção de 70/30 para proteínas do soro/caseína, enquanto para o leite bovino esta proporção é 20/80. Os componentes das proteínas do soro humano é 40% de α -lactoalbumina. A β -lactoglobulina é o maior componente das proteínas do soro bovino, cerca de 50% e está ausente no leite humano. Substitutos de leite humano são freqüentemente compostos de soro de origem

bovina e isto pode desencadear processo alérgico em pessoas potencialmente sensíveis (Outnen *et al.*, 1996).

Do ponto de vista nutricional, as proteínas presentes no soro de leite apresentam quase todos os aminoácidos essenciais em elevadas concentrações (triptofano, cisteína, leucina, isoleucina e lisina), exceto pelos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que aparecem em menores concentrações, mas atendem às recomendações para todas as idades (Sgarbieri, 2004).

As proteínas do soro de leite são altamente digeríveis e rapidamente absorvidas pelo organismo, estimulando a síntese de proteínas sangüíneas e teciduais a tal ponto que alguns pesquisadores classificaram essas proteínas como proteínas de metabolização rápida (*fast metabolizing proteins*), muito adequada para situações de estresses metabólicos em que a reposição de proteínas no organismo se torna emergencial. O soro de leite contém as proteínas mais completas que se conhece, sendo as principais: lactoglobulina, lactoalbumina e a lactoferrina. Essas proteínas são recomendadas em dietas, sendo empregadas em diversas formulações já existentes no mercado. Estudos recentes sugerem que as proteínas do soro, possuem propriedades anticarcinogênicas (Bounous & Batist, 1991), e capacidade imunoestimulante (Kennedy & Konok, 1995).

Por terem alto valor biológico, as proteínas do soro podem ser empregadas diretamente em bebidas nutricionais ou ter seus componentes utilizados como aditivos em formulações de alimentos, como na produção de uma variedade de produtos assados e na fabricação de bebidas lácteas, leites fermentados e queijo tipo ricota (Dallas, 1999; Cayot & Lorient, 1997). Assim, tem existido um considerável interesse na produção de proteínas purificadas do soro, com suas funções bem caracterizadas e suas propriedades biológicas.

O soro sozinho não é uma fonte balanceada de nutrientes por causa de sua alta concentração de água (93%) e lactose (4,5% a 5,0%), porém suas proteínas são usadas extensivamente em bebidas, carnes, produtos derivados

de leite e fórmulas infantis, como eficaz emulsificador e agente espumante a fim de melhorar suas propriedades reológicas (Maubois & Ollivier, 1997).

A α -lactoalbumina pode ser usada em fórmulas infantis e como um nutracêutico, devido ao seu alto conteúdo de aminoácidos triptofano (4 resíduos por molécula). Ela também fornece um melhor preparo nas fórmulas de merengues e estabilidade aos glacês (Cayot & Lorient, 1997).

Outras proteínas do soro têm sua importância quanto à atividade biológica que exercem. A lactoferrina e a lactoperoxidase, apresentam forte atividade antibacteriana e podem ser usadas no desenvolvimento e melhoramento de fórmulas infantis, cosméticos “terapêuticos e soluções bucais”. A lactoferrina melhora a absorção de ferro quando utilizada como componente enriquecedor de fórmulas infantis (Maubois & Ollivier, 1997). A variedade de peptídeos biologicamente ativos com atividade anti-trombótica pode também ser produzida através da lactoferrina. Os glicomacropéptídeos (GMP) são fragmentos de peptídeo produzido pela clivagem enzimática da quimosina. Os GMPs são altamente solúveis em água e encontram-se no soro depois da coagulação do leite. Os GMPs têm sido investigados para melhorar a digestão de lipídeos, proteção contra a gripe, prevenção a adesão de tártaro nos dentes e inibição da adesão de *E. coli* nas paredes intestinais (Maubois & Ollivier, 1997). O soro tem também numerosos fatores de crescimento, hormônios e uma variedade de enzimas (lipase, catalase, lisozima, α -amilase e superóxido desmutase), muitas das quais interessam pela atividade biológica.

A lactose também presente no soro de leite é hidrolizada lentamente no intestino, reduz o pH fecal e modifica favoravelmente a microbiota intestinal, aumentando a síntese bacteriana de vitaminas hidrossolúveis, além de melhorar a sobrevivência de bactérias benéficas e aumentar a absorção de cálcio.

Há vários processos que podem ser utilizados para separar os componentes do soro de leite, que incluem: evaporação e secagem, centrifugação, cristalização, cromatografia, eletrodíálises e processo de separação por membranas. A tecnologia de separação por membrana tem com princípio passar o soro por uma camada semi-permeável, onde é possível

separar ou concentrar os componentes do soro, usando membranas com diferentes tamanhos de poros (Usdec, 2007).

3.4 Sistema de filtração através de membranas

3.4.1 Membranas filtrantes

Uma membrana pode ser definida como um filme fino sólido que separa duas soluções e que atua como barreira seletiva para o transporte de componentes destas soluções, quando aplicado algum tipo de força externa. Após a passagem pela membrana, o líquido se transforma em permeado. É importante ressaltar que membranas são sistemas de separação de materiais, ou seja, não ocorre transformação química ou biológica de componentes durante o processo de filtração (Schneider & Tsutiya, 2001).

As operações de separação por membranas servem para concentrar ou fracionar o líquido, obtendo-se duas soluções de composição distintas. Baseiam-se na permeabilidade seletiva, através de membrana, de um ou mais componentes. As moléculas de tamanho inferior ao do poro da membrana passam através dela, enquanto as de tamanho superior ficam retidas pelo efeito peneira ou por forças repulsivas da superfície da membrana. A alimentação separa-se, portanto, em duas correntes: o fluido que atravessa a membrana, chamado de *filtrado* ou *permeado*, e o que permanece ao lado da alimentação que contém os solutos (ou sólidos suspensos), maiores que o tamanho dos poros da membrana, chamado de *concentrado* ou *retentado* (Ordóñez, 2005).

Membranas filtrantes constituem, atualmente, a principal inovação tecnológica nos processos de tratamento de água e de esgoto, sendo a primeira grande inovação, desde o desenvolvimento das tecnologias convencionais de tratamento de água no início do século passado (Schneider & Tsutiya, 2001).

O primeiro registro que se tem notícia, sobre um estudo relativo a fenômenos que ocorrem com membranas, foi em 1748, quando um abade francês de nome Abbé Jean Antoine Nollet, observou o transporte de vinho através de uma bexiga animal. Desde então, inúmeras outras pesquisas vieram contribuir para o atual estágio tecnológico, cabendo ressaltar entre estas, as desenvolvidas por Dutrochet, que introduziu o termo osmose para designar o fluxo espontâneo de líquido através de uma membrana permeável, e por Graham, que deu contribuições na área de permeação de gás (Tavares, 2000; Lira, 2005).

A primeira membrana sintética foi desenvolvida em 1867, por Moritz Taube, a qual era usada somente por alguns laboratórios de pesquisa e teve uma pequena aplicação industrial, pois não estava disponível comercialmente, não era seletiva e tinha alto custo. A partir de 1960, Loeb e Sourirajam perceberam que as membranas podiam ter elevado fluxo se possuísem uma camada muito fina no topo de um suporte poroso para dar resistência mecânica às membranas, este trabalho teve grande desenvolvimento para os processos de separação por ultrafiltração e nanofiltração (Lira, 2005).

Nos anos 90, o campo das membranas esteve presente numa variedade de processos e a sua manufatura distribuída entre a Europa, EUA e Japão. Novas membranas têm sido desenvolvidas todos os dias e as companhias compram e vendem com rapidez, cada vez mais para a indústria química (Soria, 1995).

Embora os processos de separação com membranas sintéticas sejam recentes, vêm sendo utilizados de forma bastante crescente, sendo que, cada tipo de processo apresenta um desenvolvimento diferenciado. Os processos que utilizam membranas porosas como microfiltração e ultrafiltração, tiveram um desenvolvimento mais rápido que os de permeação de gás e pervaporação, devido aos maiores fluxos que apresentam, permitindo o desenvolvimento de aplicações industriais (Mulder, 1991). Os processos de filtração são técnicas indispensáveis na indústria de alimentos e bebidas. Em muitas aplicações é melhorada a qualidade e a vida útil desses produtos.

Um dos maiores campos de aplicação da microfiltração é a esterilização comercial. Ela é particularmente útil na indústria farmacêutica e na biotecnologia, uma vez que a microfiltração é operada em temperatura ambiente, adequada ao processamento de substâncias termosensíveis.

Segundo Ordóñez (2005), entre as principais operações de separação por membranas e dependendo do tamanho e do peso molecular dos componentes separados, pode-se mencionar:

- Microfiltração (MF): implica o uso de membranas com poro de 0,2 a 10 μm . Separa seletivamente partículas com peso molecular superior a 200 kDa, isto é; bactérias, mofos, leveduras, gorduras emulsificadas ou amido. A pressão aplicada é relativamente baixa, e os fluxos são altos.
- Ultrafiltração (UF): requer membranas com poro de tamanho inferior (1 nm a 0,2 μm). Permite separar partículas e moléculas na faixa de 1 a 200 kDa (proteínas, vírus, colóides, polissacarídeos), opera com pressão inferior a 1.000 kPa.
- Nanofiltração (NF): separa partículas com pesos moleculares na faixa de 300 a 1.000 Da, permitindo eliminar íons, dependendo de sua carga e de suas características de difusão.
- Osmose inversa (OI) ou hiperfiltração: retém moléculas com tamanho inferior a 1 nm (cerca de 100 Da). As pressões empregadas são de 5 a 10 vezes superiores às da ultrafiltração e são necessárias para superar o aumento da pressão osmótica no concentrado. As moléculas de água passam de uma solução concentrada a uma solução diluída.

Esses processos recuperam componentes valiosos de produtos lácticos, frutas, vegetais, grãos, açúcares, produtos animais e possibilita a purificação de muitos outros constituintes.

De um modo geral, a membrana é uma barreira que separa duas fases e que restringe, total ou parcialmente, o transporte de uma ou várias espécies químicas presentes nas fases.

Em processos que utilizam membranas porosas, a seletividade é definida pela relação de tamanho entre as espécies presentes e os poros da membrana (como na microfiltração, ultrafiltração e nanofiltração). No caso de processos com membranas densas, a capacidade seletiva depende da afinidade das diferentes espécies com o material da membrana e da difusão das mesmas através do filme polimérico (como na osmose inversa, pervaporação e permeação de gases) (Habert, Borges & Nobrega, 1997).

De acordo com Ordóñez (2005), as principais vantagens da separação por membranas em comparação com outros métodos convencionais são:

- a) Para a concentração, não é necessária a mudança de fase da água, diferentemente da evaporação ou da concentração por congelamento. Portanto o gasto energético de operação é menor.
- b) A modificação organoléptica e nutritiva dos produtos são mínimas porque não se aplica calor, o que resulta em produtos de maior qualidade.
- c) É de fácil aplicação e operação

3.4.2 Membranas cerâmicas

Três tipos de materiais inorgânicos são freqüentemente usados na produção de membranas, entre elas: metais, vidros e cerâmicas. As membranas metálicas são obtidas por sinterização de pó metálico (tungstênio e molibdênio), e as membranas de vidro (óxido de silício ou sílica, SiO_2) são principalmente preparadas por técnicas envolvendo vidros. Já as membranas cerâmicas são basicamente constituídas de óxidos de silício, alumínio, zircônio ou titânio. Distintamente dos materiais poliméricos, acredita-se que os materiais cerâmicos pouco participam do processo de transporte de moléculas permeantes. Sua importância maior reside no fato que permite a fabricação de estruturas microporosas bem variadas com um bom controle de distribuição de tamanho de poros, caracterizadas por resistências térmicas e químicas elevadas e baixa plasticidade (são duros e quebradiços) (Habert, Borges & Nobrega, 1997).

As primeiras membranas cerâmicas foram desenvolvidas a partir de 1940 para aplicações nucleares, e essencialmente para separação de isótopos de urânio por processo de difusão gasosa.

Inicialmente as membranas cerâmicas foram comercializadas para aplicações nos processos de microfiltração, entretanto, nos últimos anos sua maior evolução têm sido na diminuição do diâmetro dos poros, atingindo membranas para ultrafiltração, com diâmetro dos poros da ordem de 5nm. Mais recentemente a tecnologia de membranas tem investido em processos de nanofiltração, com poros menores que 2 nm (Hsieh, 1996).

Cerâmicas são ótimos materiais para produção de tubos filtrantes. Segundo Habert, Borges & Nóbrega (1997), as principais vantagens das membranas cerâmicas comparadas as membranas poliméricas são:

- resistência a temperaturas acima de 500°C (especialmente no desenvolvimento de módulos e sistemas que trabalham acima de 700°C);
- boa resistência a corrosão: resistente a solventes orgânicos e vasta faixa de pH;
- fácil limpeza e esterilização;
- alta resistência mecânica: a possibilidade de suportar pulso de pressão, resultando na eficiente remoção da camada de sujeira e a possibilidade de tratamento de fluidos de alta viscosidade;
- quimicamente inerte: amplo espectro de aplicação na indústria química;
- longa vida de operação.

Em estudo recente realizado por Lira, 2005, no Departamento de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, com relação a caracterização de uma membrana cerâmica porosa para microfiltração, foi possível definir o tamanho dos poros e sua distribuição através de microscopia eletrônica de varredura, a qual detectou a presença de defeitos superficiais, uniformidade da membrana e espessura das camadas presentes, bem como a densidade de poros. Os resultados obtidos, caracterizaram esta membrana

com distribuição de partículas homogênea, variando na faixa de 0,2 a 0,8 μ m e uma porosidade de 48,36%. Esta membrana cerâmica foi testada em processo de microfiltração utilizando amostras de água de coco comercializadas em João Pessoa-PB, com objetivo de redução de carga microbiana e maior conservação deste produto (Lira, 2005).

3.4.3 Processos de separação com membranas

A tecnologia de filtração com membranas apresenta uma série de vantagens em relação aos processos clássicos de separação. Em geral, o fracionamento ocorre à temperatura ambiente, sem mudança de fase e sem que haja necessidade de utilização de fonte térmica, o que significa uma considerável economia de energia. Como a separação é conduzida sob condições brandas, a utilização desses processos pode, em muitos casos, melhorar a qualidade do produto final. Nas membranas tubulares, a filtração ocorre em fluxo cruzado. Neste tipo de filtração, uma parcela da solução atravessa a membrana, deixando para trás as partículas rejeitadas que se juntam à parcela remanescente da corrente de alimentação. Como existe um fluxo contínuo junto à superfície, as partículas rejeitadas não se acumulam e a corrente de entrada é dividida em duas: permeado e concentrado (Lucena Filho, 2000).

As modernas formas de filtração com membranas, particularmente nas indústrias de leite, geralmente utilizam o fluxo cruzado (*cross-flow*), que difere do sistema de filtração convencional (*dead-end*), pelo fluxo ser tangencial ao invés de perpendicular a membrana (Figura 1). Na operação do tipo “dead end” uma solução ou suspensão é pressionada contra a membrana. O permeado passa pela membrana e o soluto ou materiais em suspensão são retidos, acumulando-se na interface membrana/solução, no fenômeno chamado polarizações de concentração (James, Jing & Chen, 2003).

A utilização de um sistema de microfiltração com fluxo cruzado (*cross-flow*) vem sendo recomendado como um método para concentrar ou separar diferentes componentes de uma solução ou suspensão de alimentos (Vadi & Rizvi, 2001).

Na filtração de fluxo cruzado a solução escoava paralelamente a superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado transversalmente a mesma (Figura 1). Neste caso é possível minimizar a polarização (Habert, Borges & Nobrega, 1997).

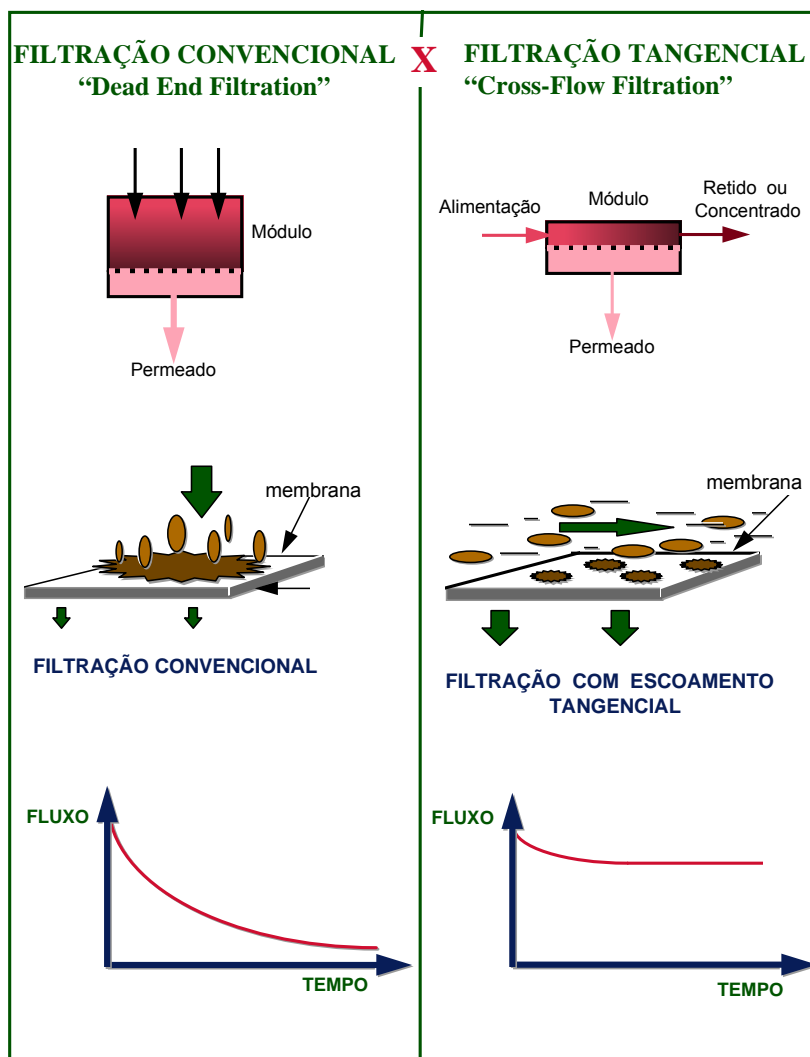


Figura 1: Esquema dos modos de operação e curvas de fluxo (Habert, Borges & Nobrega, 1997).

3.5 Utilização de membranas cerâmicas em produtos lácteos

O leite é um alimento complexo e o fracionamento dos constituintes não é fácil pela larga distribuição do tamanho das partículas que o compõe, variando entre 1nm a 20 μm (Tabela 3). Sua composição varia em média entre 12,5% a 13,0% (Brans *et al.*, 2004).

Tabela 3: Composição média do leite de vaca, distribuição de peso molecular e tamanho das moléculas.

Composição	Concentração (g/l)	Peso Molecular	Diâmetro (nm)
Água	87,1	18	0,3
Gordura (glóbulos)	4,0	-	2000 – 10000
Lactose	4,6	342	0,8
Caseína (micelas)	2,6	107 – 109	20 – 300
&-lactoalbumina	0,12	14500	3
B-lactoglobulina	0,32	36000	4
BSA	0,04	69000	5
Sais minerais	0,7	-	0,4
Outros	0,3	-	-

A tecnologia de membrana oferece inúmeras vantagens na indústria de laticínios, tais como: tratamento brando a baixas temperaturas (45°C a 55°C), resultando num aumento da qualidade do produto em comparação com outras técnicas que utilizam tratamentos térmicos mais severos, baixo consumo de energia, incrementando a eficiência, além de simplificar o “lay out” de uma planta industrial (Farro, 2003).

O fracionamento dos constituintes do leite através do uso de membranas, vem sendo estudado e apresenta-se como uma alternativa bastante viável para separação dos componentes pelo tamanho. A Tabela 4 mostra os processos de filtração com os respectivos tamanhos de poros e os componentes do leite que podem ser separados em função do tamanho ou do peso molecular (Brans *et al.*, 2004).

Tabela 4: Processos de filtração dos componentes do leite

Processos	Porosidades	Componentes
MF – Microfiltração	100 nm – 10 µm	Glóbulos de gorduras Bactérias e esporos
UF – Ultrafiltração	1 nm – 100 nm	Micelas de caseína Proteínas do soro
NF – Nanofiltração	0,1 nm – 1 nm	Lactose Sais

O processo de microfiltração com membranas já está bem consolidado e têm encontrado um campo muito vasto de aplicações, tanto nas indústrias químicas e farmacêuticas, como nas indústrias agro-alimentares, desde a obtenção da simples potabilidade da água a partir da água do mar, até o fracionamento, concentração e purificação de soluções moleculares (Brans *et al.*, 2004).

Este processo de filtração com membranas porosas baseia-se na permeação de um ou mais componentes de uma mistura através de uma membrana seletiva. Nesse processo, uma corrente de alimentação é fracionada em duas, uma de concentrado e outra de permeado. O concentrado contém tudo aquilo que fica retido na membrana e o permeado a fração filtrada (Renner & Abdel-Salan, 1991).

A utilização desse processo para prolongar vida de prateleira de leite também vem sendo estudada por alguns pesquisadores (Malmberg & Holm, 1988; Zadow, 1987). Segundo Brans *et al.*, (2004), a microfiltração pode reduzir a quantidade de bactérias e esporos sem afetar o sabor do leite e fornecer uma vida de prateleira mais longa que a do leite pasteurizado.

Rektor & Vatai, (2004) em sua pesquisa utilizaram o processo de microfiltração para reduzir carga total de bactérias acidoláticas e outros microrganismos no soro de queijo tipo mussarela, onde a membrana eliminou 100% dos microrganismos, e afirmaram que a microfiltração é eficiente na esterilização do soro de leite.

O processo de separação por membrana cerâmica de caseína micelar de leite desnatado vem sendo bastante estudado. Al-Akoum *et al.* (2002), evidenciaram que há uma diminuição da incrustação (*fouling*) entre o método tradicional de filtração por fluxo cruzado e aquele sistema em que há recirculação do retentado e do permeado em uma mesma direção de modo a criar um gradiente de pressão em ambos os lados da membrana diminuindo assim o efeito da incrustação.

Uma membrana com baixa porosidade para esterilização, como a de 0,2 μ m que é usada na indústria farmacêutica, pode acumular sujidades rapidamente, resultando em baixo fluxo e/ou permeado com baixa quantidade

de sólidos. Membranas com poros maiores de 1,4 μ m, por exemplo, pode atingir o equilíbrio entre eliminação de bactérias e longo período de fluxo, com pequena ou nenhuma retenção de outros componentes do leite, como proteína, lactose e cinzas (Malmberg & Holm, 1988; Pafylas *et al.*, 1996).

No caso do leite, a redução microbiana deve ser atingida de maneira que a funcionalidade das proteínas não seja afetada, especialmente quando o leite é utilizado para fabricação de queijos (Guerra *et al.*, 1997). O desempenho da microfiltração operada em temperaturas entre 40°C e 50°C, representa uma alternativa ao uso de tratamentos térmicos, pois produz um leite com baixa carga microbiana e não afeta suas proteínas (Trouvé *et al.*, 1991 *apud* Beolchini, Veglio & Barba, 2004; Schreiber, 2001).

Segundo Bryony, Jing & Chen (2003), na microfiltração utilizando membranas cerâmicas com fluxo cruzado, o permeado é coletado e o concentrado circula através do sistema. Baseia-se no escoamento do fluido pela cavidade interna da membrana, de forma que a solução esco paralelamente à superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado transversalmente por gradiente de pressão, regulado através do ajuste do registro de passagem (Saboya & Maubois, 2000 *apud* Beolchini, Veglio & Barba, 2004).

A microfiltração do soro de leite, pode produzir um permeado com baixo conteúdo de bactérias e gordura, com presença de caseína e fosfolipoproteínas, que podem ser usadas como aditivos em alimentos após desidratação ou podem ser tratadas e purificadas para serem utilizadas como enriquecimento em outros alimentos (Samuelsson *et al.*, 1997).

A tecnologia de membranas oferece inúmeras vantagens na indústria de laticínios, tais como: tratamento brando a baixas temperaturas (45°C a 55°C), resultando num aumento da qualidade do produto em comparação com outras técnicas que utilizam tratamentos térmicos mais severos, propriedades únicas de separação, fracionamento e concentração, dessalinização e purificação de frações de componentes de diversos tamanhos moleculares e cargas químicas com atividades biológicas de interesse, sem alterar as características

funcionais dos alimentos líquidos, como leite ou soro, baixo consumo de energia, incrementando a eficiência, além de, simplificar o “*lay out*” de uma planta industrial (Rosemberg, 1995).

De acordo com Brans *et al* (2004), os recentes estudos sobre o processo de filtração e fracionamento dos componentes do leite, destacam-se:

- Separação e fracionamento da gordura do leite integral - As indústrias usam geralmente a centrifugação o que resulta em um creme com aproximadamente 40% de gordura. As vantagens da separação por membrana são a redução do consumo de energia e menor dano aos componentes sensíveis como a membrana que envolve o glóbulo gordo, resultando em um produto mais estável e melhorando as características sensoriais. Têm-se utilizado membranas cerâmicas com porosidades de 2 μm .
- Remoção de bactérias e esporos do leite desnatado (pasteurização fria). A distribuição de tamanho das bactérias do leite varia entre 0,4 – 2,0 μm . Testes têm sido feito com microfiltração (MF) para reduzir a quantidade de bactérias e esporos sem afetar o sabor do leite (como UHT) e fornecer uma vida útil mais longa que a pasteurização, conseguindo-se fatores de reduções decimais mais significativas. Também utiliza-se este método como pré-tratamento do leite desnatado para produção de queijos a partir do leite cru. Testes têm sido realizados com membranas cerâmicas de porosidades de 0,87 μm e 1,4 μm .
- Concentração de micelas de caseína do leite desnatado. O leite integral contém aproximadamente 2,6% de caseína, mas o volume das micelas (constitui a caseína, cálcio, fosfato e água) pode chegar a 10% do leite, ou seja a voluminosidade é de 4,0 ml/g, ainda por causa do poder de agregação entre elas (devido ao glicomacropéptídeo), tende a se acumular e sujar a membrana, o que dificulta o processo de filtração. Tem-se utilizado membranas cerâmicas com poros entre 0,05 – 0,2 μm .

- Recuperação de proteínas do soro de leite. A não utilização racional do soro resultante da fabricação de queijo na indústria de laticínios, constitui hoje, prática anti-econômica e até mesmo anti-social, não só em face da carência mundial de alimentos, como também pelo caráter sazonal da produção do leite e pelas oscilações desta produção.

O soro de leite é uma excelente fonte nutricional de proteínas, mas a aplicação sem desmineralizá-lo em produtos alimentícios ainda é bastante limitada. Hoje em dia o soro é concentrado por evaporação ou por osmose reversa (RO) e desmineralizada pela eletrodialise ou por resina de troca iônica. Uma alternativa para reduzir a quantidade de sais e concentrar proteínas é a utilização do processo de nanofiltração (NF). Dependendo da concentração de proteínas, estes produtos são chamados de proteína concentrada do soro (WPC – *Whey Protein Concentrate*, 35 – 80% de proteína) ou proteína isolada do soro (WPI – *Whey Protein Isolate*, 80 – 95% de proteína). As proteínas individuais do soro são bastantes atrativas e valorizadas pelo seu uso, podemos destacar: \forall -lactoalbumina, \exists -lactoglobulina, albumina de soro bovino (BSA), imunoglobulina, lactoferrina, transferrina, traços de enzimas e outras proteínas e peptídeos menores. Na produção de WPC ou WPI com membranas, o fator crucial é o controle da limpeza da membrana, onde tem-se que selecionar o tipo de membrana mais adequada para uma maior seletividade, mas que não incruste e necessite de limpezas constantes. Tem-se utilizado membranas cerâmicas que variam entre 25 e 50 kDa, dependendo da seletividade e do produto que se quer obter (Brans *et al.*, 2004).

A \exists -lactoglobulina é a proteína mais extensivamente caracterizada do soro do leite. Ela constitui cerca de 3,2 a 3,4g/L no soro bovino. Vários estudos têm sido realizados com o objetivo de isolar esta proteína por causa de suas propriedades nutricionais e funcionais (Konrad, Lieske & Faber, 2000).

Estudo realizado por Pelegrine & Gasparetto, 2005, com relação aos efeitos da temperatura e do pH na solubilidade das proteínas do soro, revelou que a utilização de valores de temperatura de 40 a 60°C e valores de pH entre

3,5 e 7,8 determinaram uma melhor solubilidade e melhores resultados durante a realização do processo de microfiltração do soro de leite.

3.6 Incrustações

A formação de incrustações (*fouling*), é um fator limitante para a aplicação de membranas na filtração de produtos lácteos (Figura 2). Com a utilização, a membrana tende a acumular depósitos em sua superfície e a diminuir o fluxo e a sua seletividade. Diferentes mecanismos de formação desta incrustação podem ser formados: adsorção, fechamento dos poros, formação de placas e depósitos. Para remover estas incrustações, pode-se recorrer a alguns métodos, tais como, alta velocidade do fluxo-cruzado, retro-lavagem e procedimento de higienização. Quando não existir a possibilidade de desincrustação e a perda do fluxo se tornar irreversível, isto determinará o fim da vida útil da membrana (Orsello, Li & Ho, 2006; Brans *et al.*, 2004).

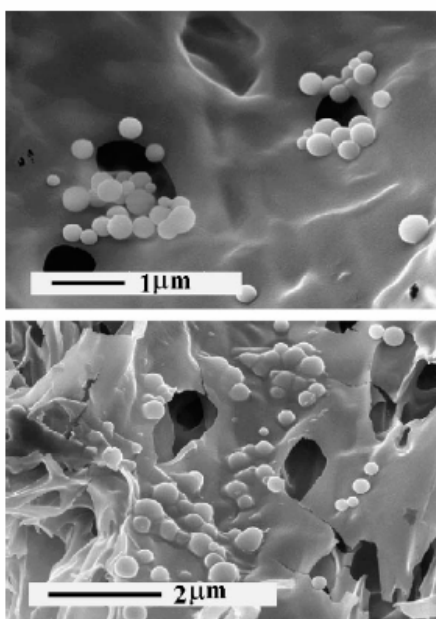


Figura 2: Incrustação formada por proteínas durante a microfiltração (James, Jing & Chen, 2003)

O maior problema no processo de microfiltração de produtos lácteos, em especial, o soro de leite, é exatamente a presença de glóbulos de gordura e de algumas proteínas, tipo caseínas resultantes do processo de fabricação

de queijos, serem maiores até mesmo que as bactérias, o que resulta em rápida formação de incrustação na membrana (Malmberg & Holm, 1988).

Em nível industrial, o “*fouling*” pode influenciar significativamente a produtividade do processo e, em última análise, os custos operacionais, em função da formação de depósitos de difícil remoção (que acabam por reduzir a eficiência do fluxo do processo), de danos permanentes causados à membrana e da necessidade de limpezas freqüentes. As alternativas para redução do “*fouling*” são variadas, incluindo alterações no *design* das membranas, emprego de pré-tratamentos e ajustes das condições de operação (Farro, 2003).

Todo sistema de membranas possui um método que permite a limpeza química periódica das membranas “*in situ*”, por um processo denominado de CIP (“*clean in place*”). Os ciclos de limpeza química ocorrem em intervalos que variam de acordo com a gravidade do problema de “*fouling*”. Um ciclo de limpeza é desencadeado quando os parâmetros de operação (fluxo e pressão) atingem valores pré-determinados. A aplicação de ciclos de limpeza química em intervalos adequados, impede o comprometimento irreversível da membrana e o crescimento excessivo de biofilmes. A efetividade do processo de limpeza depende da formulação da solução de limpeza, da freqüência de aplicação e do protocolo de aplicação. A limpeza ácida é geralmente empregada para a remoção de depósitos inorgânicos, enquanto que, depósitos orgânicos e biofilmes são removidos com formulações alcalinas (Schneider & Tsutiya, 2001).

Bird & Bartlett (2002), fizeram estudos sistemáticos dos efeitos da temperatura e do hidróxido de sódio na limpeza e diminuição da incrustação das membranas. Foi utilizado uma solução de hidróxido de sódio a 0,5% (Ultrasil), deixando circular por 30 minutos, seguido por um enxague com água destilada por mais 30 minutos a temperatura de 50°C. Ambos indicaram valores ótimos de desempenho de limpeza e de diminuição do efeito de incrustação.

A força-motriz que impulsiona a separação na maioria das membranas utilizadas é a pressão positiva ou negativa. Nestes processos, a solução é

forçada a atravessar a barreira semipermeável constituída pela membrana, que retém contaminantes químicos e/ou particulados. A produtividade do sistema depende do fluxo de água através da membrana, que por sua vez é condicionado por uma série de fatores que, coletivamente, constituem a resistência da membrana à filtração, tais como:

- diâmetro dos poros;
- porosidade da membrana (fração da área da membrana ocupada por poros);
- espessura da membrana;
- fenômenos operacionais, por exemplo, a camada de concentração-polarização;
- camadas de material retido na superfície da membrana (tortas de filtro);
- géis ou camadas de sais precipitados (*fouling* químico);
- “fouling” biológico (biofilmes).

3.7 Sistema de pasteurização

A pasteurização é um tratamento térmico relativamente brando, no qual o alimento é aquecido à temperatura menores que 100°C. Em alimentos de baixa acidez (pH > 4,5), a pasteurização é utilizada para minimizar possíveis riscos à saúde devido a contaminações com células vegetativas de microrganismos patogênicos e para aumentar a vida de prateleira. Em alimentos ácidos (pH < 4,5), a pasteurização é utilizada para eliminar os microrganismos deteriorantes, assim como inativar as enzimas naturalmente presentes. Em ambos, haverá pequenas alterações nas características sensoriais e físico-químicas (Fellows, 2006).

O processo de pasteurização pode ser rápido (73-75°C por 15 segundos) e lento (62–65°C por 30 minutos). Dentre as principais vantagens da pasteurização, destacam-se: a eliminação de microrganismos patogênicos; o aumento da durabilidade do produto; a permanência do mesmo sabor; a eliminação dos microrganismos causadores do estufamento precoce e dentre

as principais desvantagens, destacam-se: as alterações na caseína, tornando-a menos permeável, dificultando o ponto da coalhada e o aumento do tempo de coagulação.

A pasteurização de leite, seguido de refrigeração resulta em um produto com características de frescor natural e uma vida útil de até 18 dias, dependendo da qualidade microbiológica do leite e das condições sanitárias do processamento. Pasteurização, entretanto, pode resultar na sobrevivência de esporos, os quais podem afetar a qualidade do leite e do queijo fabricado. Por exemplo, esporos de *Bacillus cereus*, sobrevivem à pasteurização e podem produzir toxinas que causam doenças, assim como algumas células de psicrotóxicos podem causar problemas de vida útil (Pafylias *et al.*, 1996).

Segundo Fellows (2006), o processo de filtração com membranas apresenta vantagens em relação ao processo de pasteurização e dentre elas destacamos: o alimento não é aquecido e, portanto, a perda de voláteis ou mudanças no valor nutricional e da qualidade sensorial é minimizada, o uso de energia é utilizado de modo mais eficiente e não há necessidade de caldeiras para a produção de vapor, as instalações são mais simples e com custos de mão-de-obra e de operações mais baixas. Entretanto, as principais limitações da utilização do sistema de filtração por membranas são: a variação da taxa de fluxo do produto quando ocorrem mudanças na concentração do fluido de alimentação, a formação das incrustações das membranas, o que reduz o tempo de operação entre as limpezas das membranas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da Pesquisa

A presente pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Alagoas e no Laboratório Central de Alagoas - Lacen.

4.2 Amostragem

Utilizou-se neste experimento amostras de leite de búfala “in natura”, obtidas a partir de ordenha mecânica, fornecidas por uma empresa localizada no município de São Luiz do Quitunde em Alagoas. Foram realizados sete ensaios utilizando amostras com cinco litros de leite de búfala “in natura” para obtenção do soro de leite, a partir da produção de queijo de coalho.

4.3 Caracterização da membrana utilizada

Foi utilizada uma membrana cerâmica tubular de alumina com 10% de argila esmectítica verde, com poros de tamanho em torno de $0,8\mu\text{m}$, em sistema com cerca de $0,0044\text{m}^2$ de área, desenvolvido pelo grupo de materiais cerâmicos do Departamento de Materiais – DEMA, da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, de acordo com estudos realizados por Lira (2005).

4.4 Produção de queijo de coalho a partir de leite de búfala e obtenção de soro de leite

O leite de búfala “in natura”, após ser ordenhado mecânicamente e resfriado na indústria, foi acondicionado em garrafas plásticas de 1 litro e colocadas em isopor com gelo, para em seguida ser transportado ao laboratório de microbiologia de alimentos para realização do processamento de queijo de coalho conforme apresentado na Figura 3.

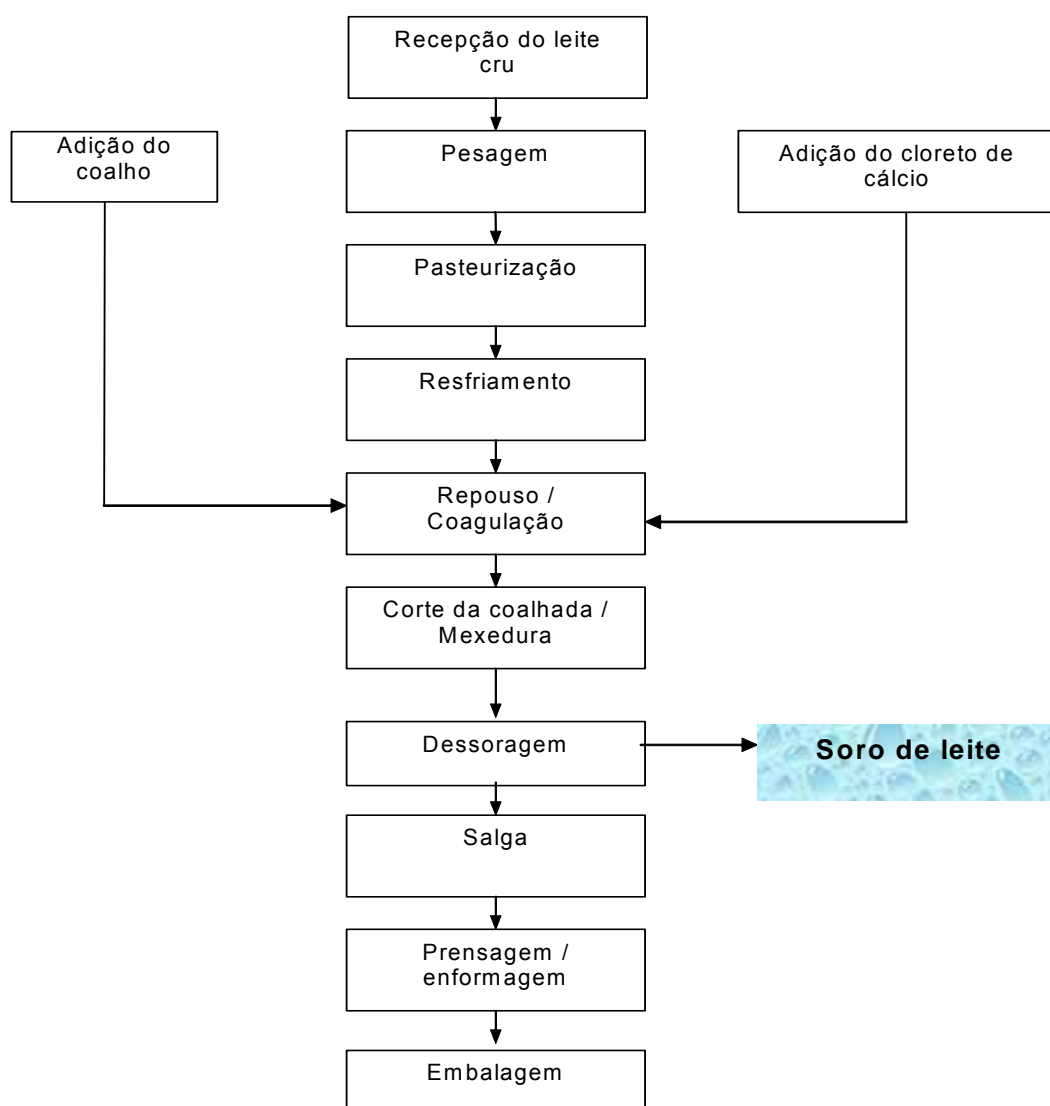


Figura 3: Fluxograma de produção de queijo de coalho e obtenção do soro de leite

As amostras de leite de búfala “in natura” ao chegarem no laboratório, foram pesadas e imediatamente submetidas ao processo de pasteurização em banho-maria à temperatura de $64^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos, seguido do resfriamento à temperatura de 35°C . Posteriormente, adicionou-se o cloreto de cálcio e o coalho, e a massa permaneceu em repouso por 45 minutos para coagulação. Logo após, realizou-se o corte da coalhada e agitação da massa para a obtenção do soro através da dessoragem. Após a retirada do soro (que foi objeto do nosso estudo no processo de filtração) adicionou-se sal (1% sobre o peso do leite) em um pouco de soro filtrado e misturou-se à massa de queijo, a qual foi mexida para desagregar os grãos. Essa mexedura durou cerca de 3 minutos, para que houvesse uma boa absorção do sal. Em seguida a massa foi colocada na forma e prensada por um período de 3 horas, obtendo-se assim, o queijo de coalho, que foi pesado para realizar o cálculo do rendimento (Figura 4).



Figura 4: Queijo de coalho

A partir das amostras de soro de leite obtidas logo após a fabricação de queijo de coalho (soro “in natura” - SA), parte deste soro foi submetido ao processo de microfiltração utilizando a membrana cerâmica (soro filtrado - SF)

e a outra parte foi submetida ao processo de pasteurização lenta a temperatura de $64^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por trinta minutos (soro pasteurizado - SP), realizado em banho-maria (Figura 5), para posterior avaliação de parâmetros físico-químicas e microbiológico.



Figura 5: Processo de pasteurização lenta do soro de leite

4.5 Rendimento da fabricação de queijo coalho a partir de leite de búfala “in natura” e leite de vaca pasteurizado

Para avaliar o rendimento da fabricação de queijo de coalho a partir do leite de búfala e comparar com o queijo de coalho obtido do leite bovino, foi também processado no laboratório amostras de 5 litros leite de vaca pasteurizado tipo C adquiridas de supermercados em Maceió. Após recebimento dessas amostras no laboratório, iniciou-se o processamento de produção do queijo de coalho com a adição de cloreto de cálcio e coalho e demais etapas conforme descritas no item anterior. Após obtenção do queijo de coalho, o mesmo foi pesado para realizar o cálculo do rendimento. Este cálculo foi feito em quilos de queijo por litros de leite (%) e em litros de leite para cada quilo de queijo produzido. Também foi realizada a análise de

umidade e por diferença o extrato seco total, a fim de verificar se haveria diferença do produto obtido em base úmida da base seca e conseqüentemente alterando o valor do rendimento obtido.

4.6 Microfiltração do soro de leite e avaliação do fluxo no sistema

A microfiltração foi realizada empregando uma bomba de marca KNF FLODOS, modelo END 300 TT.18. Este processo consta de um sistema formado por um reator que envolve a membrana cerâmica, de forma a vedar a passagem do fluido natural para não contaminar o permeado (soro filtrado) pela membrana. O funcionamento do sistema baseia-se no escoamento do fluido pela cavidade interna da membrana de forma que a solução escoe paralelamente a superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado transversalmente por gradiente de pressão regulado.

Utilizou-se uma bomba e um registro para dar pressão ao sistema, e fazer circular o líquido a ser filtrado pela membrana. Ao mesmo tempo, coletou-se o permeado em recipiente volumétrico estéril (de peso conhecido), com bico de Bunsen próximo ao frasco coletor, evitando possíveis contaminações pelo ar (Figura 6).

O experimento foi conduzido, mantendo-se constantes a pressão em 0,5 bar e a temperatura ambiente. Durante uma hora e a cada 5 minutos foi registrado o peso da amostra do permeado para o soro filtrado, que através da densidade foi transformado em volume, encontrando-se assim, o fluxo em litros por hora por metro quadrado de membrana ($L.m^{-2}h^{-1}$). Foi utilizado o mesmo procedimento para a água destilada, que serviu de referência para comparação com o fluxo do soro de leite.

Antes de iniciar e após o término de cada experimento, realizou-se a higienização do sistema de microfiltração. Circulou-se água destilada em circuito fechado com posterior adição de solução de cloro a 200 ppm durante 30 minutos (sem a membrana). Ao término desta etapa, foi realizado o enxágüe com água destilada, desmontado o sistema e colocado a membrana cerâmica previamente higienizada.

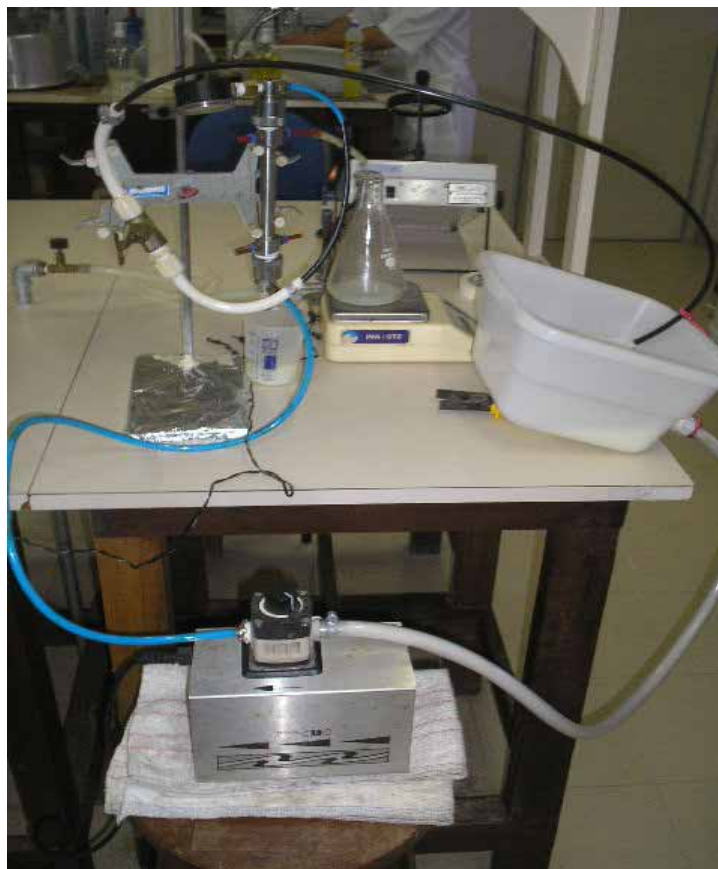


Figura 6: Sistema de microfiltração de soro de leite montado em escala piloto

Após a realização de cada ensaio, a membrana cerâmica era submetida ao processo de higienização. Inicialmente era realizado uma pré-lavagem com água potável e depois com água destilada. Em seguida a membrana era colocada imersa em solução de NaOH a 0,5% por 24 horas e depois lavada novamente com água destilada, secada em estufa a 105°C por 2 horas e guardada assepticamente para posterior reutilização.

4.7 Caracterização das amostras de soro de leite de búfala através de parâmetros físico-químicos

As amostras de soro de leite de búfala “in natura” resultante da produção de queijo de coalho, foram caracterizadas através de análises físico-

químicos, tais como: umidade, pH, acidez em graus Dornic, extrato seco total, teor de gordura, lactose e proteína, segundo a metodologia convencional recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Para determinação da densidade a 15°C, utilizou-se o termolactodensímetro de Gerber com auxílio da tabela do fator de correção, quando necessário (Instituto Adolfo Lutz, 2005).

As medidas dos valores de pH foram determinadas em potenciômetro digital marca GEHAKA, modelo PG - 1800, com precisão de $\pm 0,1$ e medido diretamente após calibração deste em soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Os teores de acidez foram obtidos pelo método titulométrico, de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2005), que consiste na titulação de determinada amostra por uma solução alcalina de concentração conhecida (solução de NaOH 0,1N) usando a fenoftaleína como indicador. Os resultados foram expressos em g de ácido láctico/100 mL de leite, utilizando uma solução Dornic (NaOH, N/9), sendo que para cada 0,1 mL de solução, equivale a 1°D.

As determinações de umidade por secagem das amostras foram realizadas em estufa a 105°C, de acordo com Instituto Adolfo Lutz (2005). A umidade corresponde à perda em peso sofrida pelo produto quando aquecido e o resíduo obtido é chamado de resíduo seco ou extrato seco total (EST).

O teor de gordura foi obtido utilizando o método de Gerber, que se baseia na quebra da emulsão, pela adição de ácido sulfúrico e álcool isoamílico, conforme descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (2005).

Quanto ao teor de proteínas totais, foi utilizado o processo de digestão de Kjeldhal que se baseia na transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico e posterior destilação com liberação de amônia que é fixada em solução ácida e titulada. Os resultados foram expressos em protídios, multiplicando-se a porcentagem do nitrogênio total por um fator específico. No caso de leite e derivados o fator de conversão foi 6,38 (Instituto Adolfo Lutz 2005).

O teor de lactose nas amostras foi determinado pelo método de glicídios redutores em lactose, que se fundamenta na redução de íons cúpricos a íons cuprosos pelo glicídio redutor em meio alcalino, usando a solução de Fehling (Instituto Adolfo Lutz, 2005).

4.8 Caracterização microbiológica de amostras de soro de leite de búfala através da contagem de bactérias aeróbias mesófilas

As amostras de soro “in natura” (SA), de soro após pasteurização (SP) e de soro após filtração (SF) foram submetidas à análise microbiológica através da contagem de bactérias aeróbias mesófilas. Esta contagem foi realizada por método rápido recomendado pela AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), utilizando placas Petrifilm de contagem total (AOAC, 2000).

Inicialmente foram realizadas diluições sucessivas das amostras (10^{-1} a 10^{-6}) utilizando a água peptonada a 0,1% como diluente. Foi inoculado a partir de 10^0 e de cada diluição obtida, 1,0 mL do inóculo em cinco placas Petrifilm para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas (AC 990.12). A seguir as placas Petrifilm foram incubadas a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $48 \pm 2\text{h}$. Após o período de incubação as colônias vermelhas foram contadas em contador de colônias como bactérias aeróbias mesófilas. Os resultados das contagens foram expressos em \log_{10} unidades formadoras de colônias (UFC) por mL de soro de leite.

4.9 Comparação dos resultados das análises físico-químicas e microbiológica obtidas nos processos de microfiltração e pasteurização

Os dados obtidos das análises físico-químicas e microbiológica foram submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA), usando o programa Microsoft Excell versão 2000, com aplicação do Teste F. Quando o Teste F foi significativo ao nível de 5%, compararam-se às médias dos tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% (Ferreira, 2000).

Para os testes de aceitação, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), sendo considerados três tratamentos (SA, SF, SP) e sete repetições para cada amostra de soro de leite de búfala.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento do queijo de coalho a partir de leite de búfala e leite de vaca

Em relação à avaliação do rendimento para fabricação de queijo de coalho utilizando leite de búfala e leite de vaca, os valores obtidos estão expostos na tabela 5.

Tabela 5: Resultados médios dos rendimentos obtidos durante a fabricação de queijo de coalho a partir de leite de búfala e leite de vaca.

	LEITE DE BÚFALA	LEITE DE VACA
Leite utilizado (mL)	5.000	5.000
Queijo obtido (g)	1.376	680
Rendimento (%)	27,51	13,60
Leite (L) / Queijo (Kg)	3,64	7,35
Umidade (% H ₂ O)	56,06	55,56
EST (100 - % H ₂ O)	43,94	44,44

EST = Extrato seco total

Conforme os dados apresentados na tabela 5, para cada teste, foi utilizado 5.000 mL de leite de búfala e obteve-se em média 1.376g de queijo de coalho com uma umidade de 56,06% e extrato seco total de 43,94%. Para cada teste com leite de vaca, utilizou-se também 5.000 mL de leite pasteurizado tipo C e o resultado médio foi de 680g de queijo de coalho com uma umidade de 55,56% e extrato seco total de 44,44% (Tabela 5).

Obteve-se um rendimento médio de 27,51% ou 3,64 litros de leite para cada Kg de queijo produzido com o leite de búfala e 13,60% ou 7,35 litros de leite para cada Kg de queijo para o leite de vaca (Tabela 5).

Juliano, Petrus & Torrano (1987), avaliando o rendimento industrial de queijo coalho pelo método tradicional, obtiveram resultados de 10,75% ou 9,3 L de leite para cada Kg de queijo utilizando leite de vaca. Paiva *et. al* (2004), na fabricação de queijo frescal, obtiveram resultado de 13,6% ou 7,3 litros de leite para cada Kg de queijo utilizando leite de cabra.

Estes resultados demonstram que o rendimento pode variar em função do processo tecnológico ou da matéria-prima utilizada. O elevado teor de sólidos totais permite que o rendimento na fabricação de queijos utilizando leite de búfala seja superior àqueles obtido com leite de vaca, chegando a um rendimento de 50% ou mais. De acordo com os resultados obtidos o rendimento a partir do leite de búfala para produção de queijo coalho resultou em 102% sobre o rendimento com o leite de vaca.

5.2 Caracterização físico-química do soro de leite de búfala

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos analisados no soro de leite de búfala resultante da fabricação do queijo de coalho estão demonstrados na Tabela 6.

Com relação às análises físico-químicas realizadas, pode-se observar na tabela 6, valores médios de umidade (89,94%) e proteína (1,19%), inferiores aos obtidos por Florentino *et al* (2005), que foi de 92,36% e 1,78% respectivamente, em amostras de soro de leite de vaca resultante da produção de queijo tipo coalho em seis queijarias do Rio Grande do Norte. Já os valores médios de extrato seco total (10,06%) e lactose (5,84%), estão

acima dos encontrados por Florentino *et al* (2005), que foi de 7,64% e 4,20% respectivamente.

Santos & Ferreira (2001), caracterizaram o soro de leite de vaca com 6,90% de extrato seco total, 0,30% de gordura, 0,90% de proteínas e 5,00% de lactose, enquanto Farro (2003), em estudos realizados com soro de queijo minas frescal a partir de leite de vaca encontrou valores variando entre 6,13 e 6,72% para extrato seco total; 0,62 e 0,77% para proteína total; 0,62 e 0,71% para gordura e 4,23 e 4,76% para lactose. Estes valores estão abaixo dos encontrados com soro de leite de búfala, o que demonstra o elevado valor nutricional deste produto.

Tabela 6 - Características físico-químicas do soro de leite de búfala

Ensaio	Densidade a 15 ^o C	pH	Acidez (^o D)	Umidade (%)	EST (%)	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)
1	1,025	6,55	10,00	90,40	9,60	1,20	1,09	5,17
2	1,026	6,22	7,50	88,00	12,00	1,50	1,08	5,19
3	1,031	6,17	10,00	91,50	8,50	1,20	1,16	6,24
4	1,031	6,35	10,00	89,90	10,10	1,50	1,01	6,22
5	1,029	5,98	12,00	90,00	10,00	1,20	1,23	6,10
6	1,030	6,60	11,00	89,90	10,10	1,50	1,43	6,00
7	1,031	6,17	10,00	89,90	10,10	1,50	1,32	5,96
Média	1,029	6,29	10,07	89,94	10,06	1,37	1,19	5,84
DP	0,00	0,22	1,37	1,03	1,03	0,16	0,15	0,46
CV	0,24	3,54	13,57	1,15	10,28	11,69	12,45	7,92

EST = Extrato seco total, DP = Desvio Padrão, CV – Coeficiente de Variação

5.3 Microfiltração do soro de leite e avaliação do fluxo no sistema

A Figura 7 apresenta os resultados obtidos para o fluxo, após microfiltração utilizando membrana cerâmica de $0,8\mu\text{m}$ do soro de leite de búfala comparado ao fluxo de água destilada.

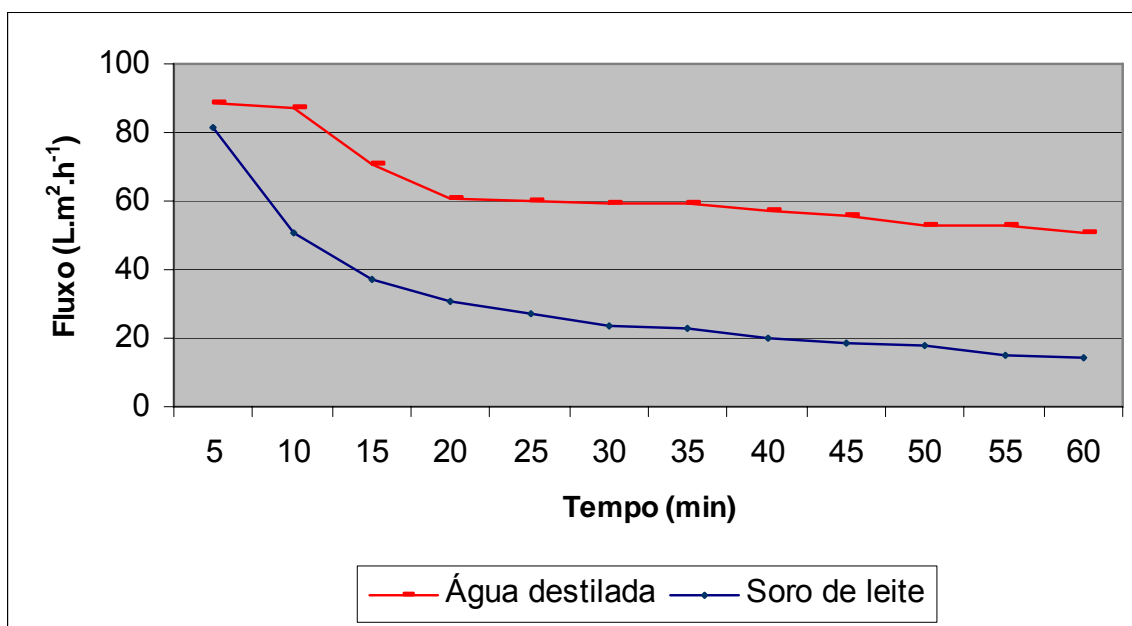


Figura 7: Comparação entre o fluxo da água destilada e do soro de leite de búfala durante o processo de microfiltração

O fluxo permeado obtido com a água destilada, registrou uma queda nos primeiros 20min com posterior estabilização do fluxo em $51,40\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ (Figura 7). O fluxo com soro de leite apresentou uma queda mais acentuada nos primeiros 10 minutos, e estabilização em $14,30\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$, o que representa 27,82% do fluxo da água destilada usado como referência. Lira (2005), utilizando água de coco verde “in natura”, obteve um fluxo de permeado de $38\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ e $43\text{L.m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ para a água de coco processada, correspondendo a 48 e 55%, respectivamente, do fluxo da água destilada, durante o processo de microfiltração com membrana cerâmica de $0,8\mu\text{m}$.

Farro (2003), utilizando membrana cerâmica de $1,4\mu\text{m}$ e empregando pré-tratamento (ajuste do pH para 7,3 e a temperatura para 55°C), obteve uma

redução do teor de gordura em média de 80 a 82% e um fluxo de $63,73\text{Kg.m}^{-2}\text{h}^{-1}$ para soro de leite de vaca a partir do queijo Minas Frescal.

Segundo Brans *et al* (2004), o principal problema enfrentado no processo de microfiltração utilizando membranas cerâmicas, está em relação a presença de glóbulos de gordura e algumas proteínas que são maiores que as bactérias contaminantes presentes no leite, resultando assim, num rápido entupimento da membrana pela deposição de camadas do concentrado nos poros desta, com conseqüente diminuição do fluxo. Este fato justifica os resultados obtidos no presente estudo, onde o fluxo do soro de leite começou a declinar em função provavelmente da adsorção de proteínas na membrana (Figura 7).

Vários pesquisadores (Trouvé *et al.*, 1991 *apud* Beolchini, Veglio & Barba, 2004, Gesan *et al.*, 1996), têm relatado que o entupimento ocorrido em membranas cerâmicas deve-se à deposição de camadas na superfície da membrana, causando a constricção dos poros, mudando assim, sua performance. Para minimizar esse problema é fundamental uma limpeza eficiente da membrana para a correta realização do processo de microfiltração.

Hayes *et al.* (1979), utilizando soro de leite de vaca desnatado, resultante da fabricação do queijo *Cheddar*, com pH natural de 6,0, realizaram um aquecimento deste produto a 85°C por 15 segundos, o que resultou em um fluxo 50% maior em relação ao soro pasteurizado. Diversos procedimentos vêm sendo recomendados pela literatura específica para minimizar o problema de incrustações nas membranas e aumento de fluxo durante o processo de microfiltração.

5.4 Eficiência dos tratamentos dos processos de microfiltração por membrana cerâmica e pasteurização do soro de leite

A caracterização físico-química do soro de leite de búfala “in natura” (SA), do soro após pasteurização (SP), e do soro após filtração (SF), estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7- Médias dos valores de parâmetros físico-químicos em amostras de soro de leite de búfala “in natura”, soro após filtração e soro após pasteurização

Amostras	Densidade	pH	Acidez °D	Umidade %	EST %	Gordura %	Proteína %	Lactose %
Soro “in natura” (SA)	1,029 ^a	6,29 ^a	10,07 ^a	89,94 ^a	10,06 ^a	1,37 ^a	1,19 ^a	5,84 ^a
Soro após pasteurização (SP)	1,028 ^a	6,52 ^b	9,93 ^a	91,41 ^a	8,59 ^b	1,09 ^b	1,14 ^a	5,74 ^a
Soro após filtração (SF)	1,027 ^a	6,49 ^{bc}	8,29 ^b	92,90 ^a	7,10 ^c	0,03 ^c	0,91 ^b	5,04 ^b

* Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as amostras, a $p \leq 0,05$. EST = Extrato seco total

Os valores médios de densidade a 15°C variaram de 1,027 e 1,029, não havendo diferença significativa entre os tratamentos realizados. Estes resultados são similares aos obtidos por Siqueira (2002), que analisando amostras de soro de leite de vaca, obtidas da produção de queijo, encontrou valores de densidade variando de 1,027 a 1,030.

O pH do soro de leite não tratado (6,29) foi significativamente menor do que aquele dos soros filtrados ou pasteurizados (6,49 e 6,52, respectivamente), sendo que estes não diferiram entre si com relação ao parâmetro analisado ($p < 0,05$). Este resultado deve-se, provavelmente, a incrustação da membrana formada pela retenção de gordura e proteínas no processo de microfiltração, que por sua vez influencia no pH do soro filtrado. Morr (1985), também detectou valores semelhantes de pH, variando de 6,1 a 6,5 em amostras de soro de leite de vaca, enquanto Farro (2003), obteve valores de pH variando entre 6,3 e 6,5 para soro de leite de vaca obtido da produção de queijo Minas Frescal.

Com relação à acidez expresso em °D, pode-se observar que houve diferença significativa entre o soro não tratado e o soro filtrado, mas não entre aquele e o soro pasteurizado (Tabela 7). Vale ressaltar que, no processo de microfiltração do soro de leite pode ter ocorrido agregação de partículas de caseína e outros nutrientes, que se acumularam sujando a membrana com consequente mudança na acidez, detectado nas amostras de soro filtrado. Os valores médios de acidez oscilaram entre 8,29 a 10,07, valores próximos aos registrados por Carvalho *et al* (2006), que encontraram valor de 10,98 obtido a partir do soro de queijo tipo prato utilizando leite de cabra.

O extrato seco total (calculado pela diferença de umidade), diferiu significativamente ($p > 0,05$) quanto aos tratamentos realizados (Tabela 7). Florentino *et al* 2005, evidenciaram valores médios de 7,6% de extrato seco total no soro de leite de vaca, enquanto no soro de leite de búfala, este foi de 10,06%, no soro antes do tratamento, de 8,59% no soro pasteurizado e de 7,10% no soro filtrado. Esses resultados demonstraram que tanto no processo de pasteurização como no de filtração ocorreram perdas de nutrientes, diminuindo assim o teor de extrato seco total.

Os valores de gordura também diferiram significativamente entre si ($p > 0,05$), ocorrendo maiores perdas durante o processo de microfiltração, aparentemente em face da maior retenção das moléculas de gordura na membrana cerâmica. Rektor & Vatai (2004), relataram que houve uma retenção de 98,7% de gordura do soro filtrado, obtido após fabricação de queijo mussarela de leite de vaca, através de uma membrana cerâmica de 0,2 μm . Pearce *et al.* (1992), utilizando membranas cerâmicas de 0,8 μm e 1,4 μm em soro de leite de vaca proveniente da fabricação do queijo tipo Cheddar sem pré-tratamento, obtiveram valores de retenção de gordura de 70% e 30% respectivamente. Segundo Cheryan (1998), o tamanho dos glóbulos de moléculas de gordura variam entre 0,1 e 20 μm , justificando assim, a redução de 97,9% de gordura obtida nesta pesquisa após utilização de uma membrana cerâmica de 0,8 μm no processo de microfiltração de soro de leite.

Com relação aos valores médios encontrados quanto ao teor de proteína e de lactose, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre o soro “in natura” e o soro pasteurizado. Entretanto, essa diferença foi observada com relação ao soro filtrado ($p > 0,05$), inclusive quando este foi comparado com o soro pasteurizado. Spadoti *et al.* (2003), analisando soro de leite obtido do processamento de queijo prato sem tratamento térmico, obtiveram uma concentração protéica de 0,98%. Florentino *et al.* (2005), caracterizaram o soro obtido de queijo coalho de queijarias artesanais de Natal-RN e encontraram 1,78% e 4,20% de proteína e lactose respectivamente.

Estes resultados demonstram que durante o processo de microfiltração há maior perda de nutrientes mensurados do que no processo de pasteurização. Há necessidade de otimizar o processo com relação à retenção de moléculas de caseína, lactose ou gordura, para evitar a obstrução dos poros da membrana. As variáveis que mais influenciam na operação de microfiltração são o tamanho do poro, a temperatura, o pH, o teor de lipídeos e o fluxo de trabalho (Fane & Radovich, 1990; Hanemaaijer, 1985).

De acordo com a análise microbiológica realizada (Tabela 8), verificou-se que o valor médio da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos do soro “in natura” diferiu significativamente ($p > 0,05$) dos valores do soro pasteurizado e do soro filtrado.

Tabela 8 - Média da contagem de bactérias aeróbias mesófilas viáveis em amostras de soro de leite de búfala “in natura”, soro após filtração e soro após pasteurização

Amostras	Contagem de bactérias aeróbias mesófilas (UFC/mL)	Contagem de bactérias aeróbias mesófilas (x log 10)
Soro “in natura” (SA)	$1,8 \times 10^4$	4,04 ^a
Soro após pasteurização (SP)	$3,4 \times 10^1$	1,50 ^b
Soro após filtração (SF)	$5,4 \times 10^0$	0,72 ^c

* Letras iguais em uma mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as amostras, $p \leq 0,05$.

Os resultados confirmaram que tanto a microfiltração como a pasteurização reduziram sensivelmente a carga microbiana inicial. Contudo, o processo de microfiltração apresentou melhor desempenho em relação a esse parâmetro, reduzindo a carga microbiana de 4,04 para 0,72 x logUFC/mL. Rektor & Vatai (2004), utilizando membrana cerâmica de 0,2µm para microfiltração de soro de leite de vaca desnatado, obtido do processamento de queijo mussarela, obtiveram 100% de redução de carga microbiana para *Lactobacillacea*, em meio específico para este microrganismo.

Pendersen (1992), utilizando membrana cerâmica de 1,4µm na microfiltração de leite desnatado a 50°C, obteve valores de retenção de bactérias na ordem de 99,1 a 99,9%.

Brans *et al.* (2004), apontaram que para a microbiota natural do leite, o tamanho das bactérias predominantes está entre 0,4 e 2,0µm e daí a importância do uso de uma membrana de menor porosidade (máximo de 0,4 µm) para obter uma redução total da carga microbiana do soro de leite. No presente estudo, a redução microbiana obtida com a utilização de uma membrana cerâmica de porosidade de 0,8µm foi considerada ainda satisfatória, podendo as incrustações retidas na membrana ter influenciado neste processo de filtração.

Convém ressaltar que o uso de tecnologia com membranas cerâmicas nos processos de concentração e separação de componentes do soro, apresenta vantagens em relação à operação de pasteurização, pois a mesma é conduzida a temperatura ambiente e não altera o estado de agregação das moléculas (Rosenberg, 1995; Kinsella & Whitehead, 1989; Hanemaaijer, 1985).

Considerando os resultados obtidos nesta pesquisa e como alternativa para aproveitamento do soro de leite nas empresas, sugere-se novos estudos, incluindo membranas de diversas porosidades e sistemas variados de filtração, como a ultrafiltração combinado com o processo de pasteurização para garantir a qualidade e segurança deste produto. É importante também a realização de pré-tratamentos no soro de leite, como diminuir o teor de

gordura, variar pH e aquecer este soro a fim de minimizar o efeito de incrustação na membrana cerâmica.

6 CONCLUSÕES

Dentro do estudo das variáveis investigadas neste trabalho, podemos concluir que:

- O processo de padronização de produção de queijo de coalho a partir de leite de búfala foi satisfatório para obtenção do soro de leite.
- O rendimento médio de “queijo de coalho” obtido a partir de leite de búfala foi o dobro do obtido com o leite de vaca.
- Os resultados das análises do soro de leite de búfala “in natura”, em relação aos parâmetros físico-químicos avaliados, foram em geral superiores aos do soro de leite de vaca registrados em literatura específica, especialmente no que diz respeito às concentrações de gordura e lactose e conseqüentemente de extrato seco total.
- O fluxo obtido com o soro de leite no processo de microfiltração com membrana cerâmica, foi relativamente baixo, possivelmente, devido a alta concentração de extrato seco total, principalmente com relação a presença de glóbulos de gordura e algumas proteínas, tipo caseínas, ainda presentes no soro após fabricação do queijo.

- Comparando os resultados obtidos após caracterização físico-química quanto aos teores de gordura, proteína e lactose, pode-se constatar que houve diferença significativa entre os tratamentos de pasteurização e microfiltração realizados com o soro de leite. Ressalta-se que no processo de microfiltração houve maiores perdas desses nutrientes, provavelmente devido a formação de incrustação pela membrana utilizada.
- A utilização do processo de microfiltração por membranas cerâmicas foi mais eficiente que o processo de pasteurização tradicional do soro de leite com relação à redução de carga microbiana.
- Com o objetivo de minimizar problemas de incrustação na membrana cerâmica e aumento do fluxo durante o processo de microfiltração, sugere-se a realização de pré-tratamentos com o soro de leite, como desnatar, variar o pH e elevar a temperatura.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. Composição do leite de búfala (<http://www.bufalo.com.br> – acesso em 20/04/07)

AL-AKOUM, O.; DING, L.; CHOTARD-GHODSNIA, R.; JAFFRIN, Y. M.; GÉSAN-GUIZIOU, G. Casein micelles separation from skimmed milk using a VSEP dynamic filtration module. *Desalination*, v.144, p.325-330, 2002.

BENEVIDES, C. M. J. Leite de búfala: qualidades tecnológicas. *Revista Higiene Alimentar*. v.13, n. 62, p.18-21, 1999.

AOAC. Method 990.12: Official methods of analysis of AOAC International. 17ª edição. Gaithersburg: AOAC International, p.22-23. 2000.

BIRD, M. R.; BARTLETT, M. Measuring and modeling flux recovery during the chemical cleaning of MF membranes for the processing of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, v.53, p.143-152. 2002.

BOUNOUS, G.; BATIST, G. Whey proteins in cancer prevention. *Cancer letters*, nº 57 pp. 91-94. 1991.

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

BRASIL, Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o Regulamento Técnico de identidade e qualidade de leite cru/refrigerado. *Diário Oficial (da) República Federativa do Brasil*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de produtos de origem animal, Brasília, nº 172, p.13-22, 2002 .

BRYONY, J.J.; JING, Y.; CHEN, X. D. Membrane fouling during filtration of milk – a microstructural study. *Journal of Food Engineering*, v.60, p. 431-437, 2003.

CADOTE, J.; FORESTER, R.; KIM, M.; PETERSEN, R., STOCKER, T. Nanofiltration membranes broaden the use of membranes separation technology. *Desalination*, v.70, p.77-78, 1988.

CAYOT, P.; LORIENT, D. *Food proteins and their applications*. Ed. Damodoran. 1997.

CARVALHO, B. M. A.; ALCÂNTARA, L. A. P.; SOUZA, V.C.; FONTAN, G. C. R.; BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. I. Caracterização físico-química e propriedades termofísicas de soro de queijo obtido de leite de cabra. *Anais do XXIII Congresso Nacional de Laticínios*. *Revista do Instituto de Laticínios do Cândido Tostes*, n.351, v.61. 2006.

CHEANG, B.; ZYDNEY, A. L. Separation of alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin using membrane ultrafiltration. *Biotechnology and Bioengineering*, v.83, p.201-209, 2003.

CHEANG, B.; ZYDNEY, A. L. A two-stage ultrafiltration process for fractionation of whey protein isolate. *Journal of Membrane Science*, v.231, p.159 – 167, 2004.

CHERYAN, M. *Ultrafiltration and microfiltration hand-book*, Technomic, Lancaster, PA, 1998.

COELHO, K. O.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L. D.; COIMBRA, J. S. R. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. *Revista Ciência Animal Brasileira*, v.5, n.3, p.167-170, 2004.

COIMBRA, J. S. R.; GIRALDO-ZUNIGA, A. D.; GOMES, J. C.; MINIM, L.A.; ROJAS, E. E. G.; GADE, A. D. Tecnologias aplicadas ao processamento do soro de queijo. *Revista do Instituto de Laticínios do Cândido Tostes*, n.340-341, v.59. 2004.

DALLAS, P. O uso de derivados de soro de leite em aplicações em produtos de consumo. *Revista Indústria de Laticínios*, v. 4, n. 21, p. 60-61. 1999.

DUMAIS, R. Queso. In: AMIOT, J. *Ciência y tecnologia de lalache*. Ed. Acribia. Zaragoza, Espana, p. 249-296. 1991.

FANE, A. G.; RADOVICH, A. M. *Membrane Systems*. In: *Separation process in biotechnology*. Ed. Asenjo, J., USA, 1990.

FARRO, P. C. A. *Ultrafiltração do soro de queijo minas frescal pré-tratado e microfiltrado: Efeitos da vazão volumétrica e da pressão transmembrana no fluxo de permeado*. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UNICAMP, 2003.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática. 2ª ed. Porto Alegre. Artmed, 2006.

FERREIRA, P. V. Estatística experimental aplicada à agronomia. Edufal – Editora da Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2000.

FLORENTINO, E.R.; MACEDO, G.R.; SANTOS, E.S.; PEREIRA, F.M.S.; SANTOS, F.N.; SILVA, S.F.; MARTINS, R.S. Caracterização do soro de queijo visando processo de aproveitamento. Revista Higiene Alimentar, v. 19, n. 130, p. 30-32, 2005.

GESAN, G.; MERIN, U.; DAUFIN, G.; MAUGAS, J.J. Performance of an industrial cross-flow microfiltration plant for clarifying rennet whey. Milk Dairy Journal, v.47 p. 121. 1993.

GUERRA, A. G.; JONSSON, A.; RASMUSSEN, E. W.; NIELSEN, D. EDELSTE. 1997. Low cross-flow velocity microfiltration of skim milk for removal of bacterial spores. Int. Dairy Journal, v.7, p.849-861, 1997.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. Processos de Separação com Membranas. Rio de Janeiro, COPPE/UFRJ, 1997.

HANEMAAIJER, J. H. Microfiltration in whey processing. Desalination, v.53, p.143-155, 1985.

HAYES, J. F.; DUNKERLEY, J. A.; MULLER, L. L.; GRIFFIN, A. T. Aust. J. Dairy Technol. 29, 1974 *apud* Journal of Agriculture and Food Chemistry, v.27, n.4, 1979.

HSIEH, H. P. Inorganic Membranes for Separation and Reaction, Elsevier, Netherlands, 1996.

HUNH, S.; FERREIRO, L.; MOURA CARVALHO, L. O. Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos. Belém. Embrapa-Cpatu, 1982.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Distribuição do rebanho brasileiro de búfalos. (<http://www.ibge.gov.br> – acesso em 20/04/07).

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ª ed. Brasília. 2005.

JAMES, B. J.; JING, Y.; CHEN, X. D. Membrane fouling during filtration of milk – a microstructural study. *Journal of Food Engineering*, v.60, p.431-437, 2003.

JULIANO, A. M. M.; PETRUS, J. C. C.; TORRANO, A. D. M. Recuperação por ultrafiltração das proteínas do soro para produção de queijos. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, v.42, n° 251, p.3-6, 1987.

KENNEDY, R.S.; KONOK, G. P. The use of whey protein concentrate in the treatment of patients with metastatic carcinoma. *Anticancer research*, v.15, p.2643-2649. 1995.

KINSELLA, J. E.; WHITEHEAD, D. M. Proteins in whey: chemical, physical and functional properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, v.33, p.343-438, 1990.

KONRAD, G.; LIESKE, B.; FABER, W. A large-scale isolation of native β -lactoglobulin: characterization of physicochemical properties and comparison with other methods. *International Dairy Journal*, v.10, p.713-721, 2000.

LIRA, A. L. Processamento de água de coco verde (*Cocos nucifera*) por microfiltração com membrana cerâmica. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB, 2005.

LUCENA FILHO, A. B. Estudo e Desenvolvimento de um Sistema de Dessalinização via Osmose Inversa para Pequenas Comunidades, Fazendo o uso de Painéis Fotovoltaicos. Dissertação de Mestrado. Campina Grande: UFCG, 2000.

MADAENI, S. S.; MANSOURPANAH, Y. Chemical cleaning of reverse osmosis membranes fouled by whey. *Desalination*, v.161, p.13-24, 2004.

MALMBERG, R.; HOLM, S. Producing low bacteria skim milk by microfiltration. *Journal North Eur. Food Dairy*, v.1, p.75, 1988.

MARTINS, F. O.; MARTINS C. A. O.; ANTUNES V. C.; MOURA, C. J. R.; ROCHA, S. M. S.; FERREIRA, C. L. L. F. Elaboração de bebida láctea probiótica utilizando leite acidófilo. *Anais do XX Congresso Nacional de Laticínios*, nº 333. v.58 p.122-124, 2003.

MAUBOIS, J. L.; OLLIVIER, G. Extraction of milk proteins. In: *Food Proteins and Their Applications*, ed. Damodaran, p.579-595, 1997.

MEHRA, R. K.; DONNELLY, W. Fractionation of whey protein components through a large pore size hydrophilic cellulose membrane. *Journal of Dairy Research*, v.60, p.89-97, 1993.

MORR, C. V. Composition, physicochemical and functional properties of reference whey protein concentrates. *Journal of Food Science*, v. 50, 1985.

MULDER, M. *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands, 1991.

MULLER, A.; DAUFIN, G.; CHAUFER, B. Ultrafiltration modes of operation for the separation of β -lactalbumin from acid casein whey. *Journal of Membrane Science*, v.153, p.9-21, 1999.

NADER FILHO, A. Estudo da variação do ponto crioscópico do leite de búfala. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* v. 39, n. 234, 1984.

ORDÓNEZ, J. A. *Tecnología de alimentos – Vol. 1: Componentes dos alimentos e processos*. Artmed Editora. Porto Alegre, 2005.

ORSELLO, C. D.; LI, W.; HO, C.C. A three mechanism model to describe fouling of microfiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, 2006.

OUTNEN, M.; TOSSAVAINEN, O.; TUPASELA, T.; KOSKELA, P.; KOSKINEN, H.; RANTAMAKI, P.; SYVAOJA, E. L.; ANTILA, P.; KANKARE, V. Fractionation of proteins from whey with different pilot scale process. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* v.29, p.411-417, 1996.

PAFYLIAS, I.; CHERYAN, M.; MEHAIA, M. A.; SALGAM, N.. Microfiltration of milk with ceramic membranes. *Food Journal International*, v.29, nº 2, p.141-146, 1996.

PAIVA, R. M. B.; RAPINI, L. S.; PENNA, C. F. A. M.; GUIMARÃES, M. P. S. L. M. P.; SOUZA, M. R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O.; FONSECA, L. M.; ALMEIDA, M. R. Rendimento industrial e pesquisa de salmonella spp. Em queijos elaborados com leite de cabra. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, n.339, v.59, p.255-258, 2004.

PAPA, J. L. Visão geral: tratamento de efluentes em laticínios. In: Seminário “Efluentes de Laticínios: Alternativas Tecnológicas e Viabilidade Econômica”. ITAL, 2000.

PEARCE, R. J.; MARSHALL, S. C.; DUNKERLEY, J. A. Reduction of lipids in whey protein concentrates by microfiltration – Effect on functional properties. Inc: New Application of Membrane Processes. International Dairy Federation, n.9201, 1992.

PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* v.38, p.77-80, 2005.

PENDERSEN, P. J. Microfiltration for the reduction of bacteria in milk and brine. In: IDF Special Issue 9201: New applications of membranes processes. International Dairy Federation, 1992.

PRODUTOR DE LEITE E DERIVADOS – Instituto Centro de Ensino Tecnológico. Edições Demócrito Rocha. Ministério da Ciência e Tecnologia, 2004.

RENNER, E.; ABDEL-SALAN, M.H. Ultrafiltration Membranes. In: Application of ultrafiltration in the dairy industry. Elsevier Science Publishers Ltda. London and New York, p.30-36, 1991.

REKTOR, A.; VATAI, G. Membrane filtration of mozzarella whey. *Desalination*, v.162. p.279-286, 2004.

RICHARDS, N. S. P. S. Soro lácteo: Perspectivas industriais e proteção do meio ambiente. *Revista Food Ingredients*, v. 17, p.20-27, 2002.

ROSATI, A.; VAN VLECK, L. D. Estimation of genetic parameters for milk, fat, protein and mozzarella cheese production for the Italian river buffalo *Bubalus bubalis* population. *Livestock Production Science*, v. 74, p.185-190, 2002.

ROSEMBERG, M. Current and future applications for membrane processes in the dairy industry. *Trends in Food Science & Technology*, v.6, p.12 -16, 1995.

SAMUELSSON, G.; DEJMEK P.; TRAGARDH, G.; PAULSSON, M. Minimizing whey protein retention in cross-flow microfiltration of skim milk. *Int. Dairy Journal*, v.7, p.237-242, 1997.

SABOYA, L.V.; J. MAUBOIS. Current developments of microfiltration technology in the dairy industry. In: BEOLCHINI, F.; VEGLIO, F.; BARBA, D. Microfiltration of bovine and ovine milk for the reduction of microbial content in a tubular membrane: a preliminary investigation. *Desalination*, v.161. p.251-258, 2004.

SANTOS, J.P.V.; FERREIRA C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. *Anais do XVIII Cong. Nac. de Laticínios*, v.44-50, 2001.

SCHREIBER, R. Heat-induced modifications in casein dispersions affecting their rennetability. *International Dairy Journal*, v.11, p.553-558, 2001.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. *Revista de Nutrição*, v. 17, n. 4, 2004.

SHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. Membranas Filtrantes Para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso. São Paulo: ABES, 1ª ed., 2001.

SIQUEIRA, I. M. C. Caracterização físico-química e microbiológica de quatro tipos de soro de queijo. Dissertação de Mestrado. Curso de pós-graduação em ciência de alimentos. Faculdade de Farmácia. UFMG, 2000.

SORIA, R. Overview on Industrial membranes. *Catalysis Today*, v.25, p.285-290, 1995.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; PETENATE, A. J.; ROIG, S. M. Avaliação do rendimento do queijo tipo prato obtido por modificações no processo tradicional de fabricação. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(3), p.307 – 528, 2003.

TAVARES, I. F. Modificação de Membranas Inorgânicas e seu uso na Separação de Compostos Orgânicos Voláteis, Através da Técnica de Pervaporação, Dissertação de Mestrado, UFCG, Campina Grande, 2000.

TROUVÉ, E. J. L. ; MAUBOIS, M. ; PIOT, M. N. ; MADEC, J. ; FAUQUANT, A. ; ROAUULT, J. ; TABARD A. ; BRINKMAN, G. 1991. Retention de différentes espèces microbennes lors de lépuration du lait par microfiltration in flux tangencial. In: BEOLCHINI, F.; VEGLIO, F.; BARBA, D.. 2004. Microfiltration of bovine and ovine milk for the reduction of microbial content in a tubular membrane: a preliminary investigation. *Desalination*, v.161. p.251-258. 2004.

USDEC: U. S. Dairy Export Council. Reference Manual for U. S. Whey and Lactose Products. (<http://www.usdec.org> – acesso em 20/04/07).

VADI, P. K.; RIZVI, S. S. H. Experimental evaluation of a uniform transmembrane pressure crossflow microfiltration unit for the concentration of micellar casein from skim milk. *Journal of membrane science*, v.189, p.69-82, 2001.

XU, Y.; SLEIGH, R.; HOURINGAN, J.; JOHNSON, R. Separation of bovine immunoglobulin G and glycomacropéptide from dairy whey. *Process Biochemistry*, v.36, p.393-399, 2000.

ZADOW, J. G. Whey production and utilization in Oceania in trends in whey utilization. *International Dairy Food*, v.212. 1987.

ZAVA, M. A. R. A. Produção de Búfalos. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. Campinas, 1987.

8 ANEXOS

8.1- Comunicado enviado pela comissão da Revista “Ciência e Tecnologia de Alimentos”, sobre o recebimento para submissão do artigo para publicação.

8.2 - Trabalho enviado a Revista “Ciência e Tecnologia de Alimentos”, de acordo com as normas específicas da revista.