

# **Ultrafiltração de Concentrados de Soro de Leite de Mistura para Fabrico de Requeijão**

**Beatriz Monjardino de Brito de Azevedo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Engenharia Química**

Orientadores: Professora Doutora Maria Norberta Correia de Pinho (IST)

Professor Doutor António Pedro Louro Martins (INIAV)

## **Júri**

Presidente: José Manuel Félix Madeira Lopes (IST)

Orientador: Professor Doutor António Pedro Louro Martins (INIAV)

Vogais: Professora Doutora Maria Isabel Nunes Januário (ISA)

**Dezembro de 2015**



## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Maria Norberta de Pinho gostaria de apresentar os meus agradecimentos pela orientação científica deste trabalho e pela dedicação demonstrada durante todo este período.

Ao Professor Doutor António Pedro Louro Martins pela disponibilidade, dedicação, orientação científica e auxílio prestado durante a realização do trabalho experimental executado no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária – INIAV.

Ao Professor Doutor Vítor Geraldês pelo esclarecimento de dúvidas sobre diversos aspetos técnicos e partilha de informações imprescindíveis para a realização deste trabalho.

À Unidade Produtiva de Torres Vedras da empresa *Queijo Saloio S.A.* por ter cedido o soro de leite de mistura utilizado no desenvolvimento deste trabalho.

A todos os colegas e técnicos dos laboratórios por onde passei, no Instituto Superior Técnico e INIAV, por todo o apoio prestado durante o desenvolvimento do trabalho experimental.

À minha colega e amiga Sofia Cabral, por toda a ajuda prestada e por me ter acompanhado e apoiado ao longo do desenvolvimento de todo este trabalho.

À minha família, pais e irmãos, por todo o apoio e carinho.



## Resumo

No presente trabalho foi investigada a viabilidade técnica de se usarem concentrados proteicos obtidos por osmose inversa, seguida de ultrafiltração, na produção de requeijão. Foi feita a otimização do processo de concentração, por ultrafiltração, do soro de leite de mistura, pré-concentrado por osmose inversa, tendo em vista o aproveitamento dos concentrados obtidos, com um fator de concentração em volume (FCV) de 2.0, para fabrico de requeijão. Estudou-se a influência de se usarem concentrados obtidos por osmose inversa, seguida de ultrafiltração, no aumento do rendimento de produção de requeijão e foi feita a respetiva análise textural dos requeijões produzidos. Nos ensaios de ultrafiltração, em modo de recirculação total e de concentração, utilizou-se uma membrana do tipo GR95PP (*Alfa Laval*). Esta membrana revelou ser adequada para o efeito, devido aos elevados fluxos de permeação observados, ao elevado coeficiente de rejeição aparente à proteína e à baixa rejeição aparente à lactose. Foram fabricados requeijões a partir de soro de leite de mistura integral, de soro concentrado por osmose inversa e a partir de soro concentrado por osmose inversa, seguida de ultrafiltração. Comparativamente aos requeijões tradicionais, os requeijões produzidos a partir dos concentrados proteicos apresentaram teores de resíduo seco e coesividade semelhantes e teores de matéria gorda inferiores. Em contrapartida, apresentaram concentrações de proteína, lactose e magnésio mais elevadas, bem como maior dureza e adesividade, comparativamente aos requeijões tradicionais. A utilização de concentrados proteicos permitiu um aumento do rendimento do processo de fabrico do requeijão, em linha com os teores mais elevados em proteína.

**Palavras-chave:** Soro de Leite de Mistura; Osmose Inversa; Ultrafiltração; Concentrados Proteicos; Requeijão.

## Abstract

In this work was investigated the possibility of using the protein concentrates, obtained by reverse osmosis and ultrafiltration, in the manufacturing of *requeijão*, a Portuguese traditional whey cheese. The optimization of the concentration process of the pre-concentrated whey by ultrafiltration, was made in view of the use of the concentrates obtained, with a concentration factor by volume (VCF) 2.0, to *requeijão* manufacturing. It was studied the influence of using concentrates, obtained by reverse osmosis and ultrafiltration, in the increase of *requeijão* production yield and was made the textural analysis of the produced *requeijões*. In the ultrafiltration trials, in total recirculation and concentration modes, a GR95PP membrane type (Alfa Laval) was used. This membrane proved to be adequate for the process due to a high permeation flux observed, a high apparent rejection coefficient to the protein and low apparent rejection to lactose. The protein concentrates (produced by ultrafiltration from concentrated whey by reverse osmosis) were used to produce *requeijão*. *Requeijão* was also produced by whole whey mixture and by concentrate of reverse osmosis before ultrafiltration. Comparatively to the traditional *requeijão* (produced by whole whey mixture), the *requeijão* produced by protein concentrates show similar levels of dry matter and cohesiveness, and significantly low levels of fat. However, it shows higher protein, lactose and magnesium contents, as well as higher hardness and adhesion, comparatively to the traditional *requeijão*. The use of protein concentrates allowed a significant increase in the *requeijão* manufacturing process yield.

**Keywords:** Whey from mixture of cow, goat and sheep milks; Reverse Osmosis; Ultrafiltration; Protein Concentrates; *Requeijão*.

## **Nomenclatura**

FCV - Fator de concentração volumétrico

MF – Microfiltração

MWCO – Limite de exclusão molecular (*molecular weight cut-off*)

NF - Nanofiltração

OI – Osmose inversa

PSM – Processos de separação com membranas

UF - Ultrafiltração



# Índice geral

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>iii</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>v</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>vi</b>
<b>Nomenclatura</b> .....	<b>vii</b>
<b>Índice geral</b> .....	<b>ix</b>
<b>Índice de tabelas</b> .....	<b>xiii</b>
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>xv</b>
<b>1 Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Indústria dos Laticínios e produção de soro de leite</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Questão ambiental vs Aplicações do soro de leite</b> .....	<b>1</b>
<b>1.3 Processos de separação com membranas (PSM)</b> .....	<b>2</b>
1.3.1 Princípios de funcionamento dos PSM.....	2
1.3.2 Tipos de membranas .....	3
1.3.3 Módulos de membranas .....	4
1.3.4 Aplicações das membranas.....	5
1.3.5 Caracterização de membranas: PSM conduzidos por pressão .....	5
1.3.5.1 Fluxo de permeação e Permeabilidade Hidráulica .....	6
1.3.5.2 Fator de rejeição.....	6
1.3.5.3 Fator de concentração volumétrico.....	7
1.3.5.4 Limite de exclusão molecular (MWCO).....	7
1.3.6 Fatores que afetam o desempenho e funcionamento dos PSM.....	7
1.3.6.1 Polarização de concentração .....	8
1.3.6.1.1 Modelo do filme .....	8
1.3.6.1.2 Modelo da pressão osmótica.....	9
1.3.6.2 Colmatação.....	11
1.3.6.2.1 Modelo das Resistências em Série.....	11
<b>1.4 Estrutura da dissertação</b> .....	<b>12</b>
<b>2 Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1 Soro de leite</b> .....	<b>13</b>
2.1.1 Classificação do soro de leite.....	13
2.1.2 Composição físico-química do soro de leite.....	13
2.1.2.1 Proteínas do soro de leite.....	14

2.1.2.1.1	Propriedades funcionais das proteínas.....	14
2.1.2.2	Lactose.....	19
2.1.2.3	Sais minerais e vitaminas.....	19
2.1.3	Aplicações do soro de leite.....	20
2.1.3.1	Soro líquido.....	20
2.1.3.2	Concentrados e isolados proteicos do soro de leite.....	21
<b>2.2</b>	<b>PSM aplicados na indústria dos laticínios.....</b>	<b>22</b>
2.2.1	Osiose Inversa.....	23
2.2.2	Ultrafiltração.....	23
2.2.3	Processamento do soro de leite.....	24
2.2.3.1	Concentração e secagem ( <i>drying</i> ).....	24
<b>2.3</b>	<b>Tecnologias utilizadas no fabrico de requeijão.....</b>	<b>25</b>
2.3.1	Processo de fabrico tradicional de requeijão.....	25
2.3.2	Utilização de concentrados proteicos, obtidos por UF de leite, para o fabrico de queijos 26	
<b>2.4</b>	<b>Análise Sensorial e Textural.....</b>	<b>27</b>
2.4.1	Avaliação das propriedades texturais.....	27
<b>2.5</b>	<b>Enquadramento do tema e objetivos da dissertação.....</b>	<b>29</b>
<b>3</b>	<b>Parte Experimental.....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Matéria-prima.....</b>	<b>31</b>
3.1.1	Soro de leite.....	31
<b>3.2</b>	<b>Equipamento.....</b>	<b>32</b>
3.2.1	Instalação de permeação.....	32
3.2.2	Membranas.....	33
<b>3.3</b>	<b>Procedimento experimental.....</b>	<b>34</b>
3.3.1	Modo de operação da instalação de permeação.....	34
3.3.2	Condicionamento e compactação das membranas de ultrafiltração.....	35
3.3.3	Lavagem e desinfecção das membranas.....	35
3.3.4	Caracterização das membranas de ultrafiltração.....	36
3.3.4.1	Permeabilidade hidráulica.....	36
3.3.4.2	Rejeição a solutos de referência.....	36
3.3.4.3	Determinação do <i>Molecular Weight Cut-Off</i> (MWCO).....	37
3.3.5	Ultrafiltração do soro de leite.....	37
3.3.5.1	Ensaio em modo de recirculação total.....	38
3.3.5.1.1	Varição dos fluxos de permeação em função da variação da pressão de funcionamento.....	38
3.3.5.2	Ensaio em modo de concentração.....	38

3.3.5.2.1	Variação dos fluxos de permeação em função do FCV .....	38
3.3.6	Métodos analíticos .....	38
3.3.7	Produção de requeijão a partir de soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF.....	39
3.3.7.1	Composição físico-química e propriedades texturais dos requeijão .....	40
3.3.7.1.1	Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química do requeijão.....	40
3.3.7.1.2	Métodos analíticos utilizados na avaliação das propriedades texturais dos requeijões 40	
3.3.7.2	Rendimento do processo de fabrico do requeijão.....	41
<b>4</b>	<b>Resultados experimentais e Discussão .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Composição físico-química do soro de leite.....</b>	<b>43</b>
<b>4.2</b>	<b>Caracterização da membrana .....</b>	<b>44</b>
4.2.1	Determinação da permeabilidade hidráulica .....	44
4.2.2	Rejeição a sais e a solutos orgânicos de referência.....	45
4.2.3	Determinação do MWCO.....	46
<b>4.3</b>	<b>Ultrafiltração do soro de leite .....</b>	<b>47</b>
4.3.1	Ultrafiltração em modo de recirculação total.....	47
4.3.1.1	Influência da variação de pressão transmembranar no fluxo de permeação .....	48
4.3.2	Ultrafiltração em modo de concentração .....	49
4.3.2.1	Influência do FCV nos fluxos de permeação.....	49
4.3.2.2	Caracterização físico-química dos concentrados proteicos e permeados.....	50
<b>4.4</b>	<b>Produção de requeijão a partir de soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF.....</b>	<b>53</b>
4.4.1	Caracterização físico-química dos requeijões produzidos a partir do soro de leite mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF e respetivos sorelhos.....	54
4.4.2	Caracterização textural dos requeijões produzidos a partir do soro de leite mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF.....	57
4.4.3	Rendimento do processo de fabrico de requeijão .....	66
<b>5</b>	<b>Conclusões e Perspetivas de Trabalho Futuro .....</b>	<b>69</b>
<b>5.1</b>	<b>Conclusões.....</b>	<b>69</b>
<b>5.2</b>	<b>Perspetivas de trabalho futuro.....</b>	<b>70</b>
<b>6</b>	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>73</b>
<b>7</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>77</b>



## Índice de tabelas

Tabela 1 - Processos de separação com membranas: princípios de operação. (Adaptado de Strathmann 1983; Mulder 1998). .....	3
Tabela 2 – Tipos de módulos de membranas e respectivas aplicações. Adaptado de (Gösta Bylund 1995). .....	5
Tabela 3 – Composição dos soros doce e ácido, provenientes de leite de vaca (Antunes 2003). .....	13
Tabela 4 – Características das principais proteínas do soro de leite (Daufin, Gésan-Guiziu, Muller, et al. 1998). .....	14
Tabela 5 – Composição mineral dos soros doce e ácido (Antunes 2003). .....	19
Tabela 6 – Composição média de vitaminas nos soros de leite, em pó, doce e ácido*. Adaptado de (D.Miller et al. 2007). .....	20
Tabela 7 – Composição média dos queijos <i>Ricotta</i> fresco e seco. Adaptado de (Jelen 1992). .	26
Tabela 8 - Características e condições operatórias para as membranas de UF definidas pelo fabricante. ....	33
Tabela 9 - Especificação dos PEG's utilizados na caracterização das membranas de UF. ....	37
Tabela 10 – Composição média dos soros de leite de mistura integral e concentrado por OI. .	43
Tabela 11 - Rejeições aparentes, $f_A$ , aos sais NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> e à Lactose. Membrana: GR 95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m <sup>2</sup> ; Pressão: 4 bar; Temperatura: 25°C; velocidade máxima de circulação; Concentração de soluto: 500 ppm. ....	45
Tabela 12 - Rejeições aparentes, $f_A$ aos solutos de referência PEG (1000, 4000 e 6000 Da). Membrana: GR 95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m <sup>2</sup> ; Pressão: 4 bar; Temperatura: 25°C; velocidade máxima de circulação; Concentração de soluto: 500 ppm. ....	46
Tabela 13 – Composição média dos concentrados proteicos obtidos durante o processo de UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI (FCV=2). ....	51
Tabela 14 - Composição média dos permeados obtidos durante o processo de UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI (FCV=2). ....	52
Tabela 15 – Caracterização físico-química dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF. ....	54
Tabela 16 - Caracterização físico-química dos sorelhos resultantes da produção dos requeijões. ....	56
Tabela 17 - Caracterização textural de requeijões produzidos a partir de lactossoro de mistura inteiro e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF. ....	58
Tabela 18 – Parâmetros experimentais utilizados para a determinação do rendimento do processo de fabrico dos requeijões. ....	66
Tabela 19 – Retenção dos componentes do soro (%) no requeijão em função do tipo de soro. ....	66
Tabela 20 - Determinação da reta de calibração do cloreto de sódio em diferentes gamas de concentração. ....	77

<b>Tabela 21 - Determinação da reta de calibração do cloreto de cálcio em diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>77</b>
<b>Tabela 22 - Determinação da reta de calibração do sulfato de sódio em diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>77</b>
<b>Tabela 23 - Determinação da reta de calibração da lactose em diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>77</b>
<b>Tabela 24 - Determinação da reta de calibração do PEG 2000 Da a diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabela 25 - Determinação da reta de calibração do PEG 4000 Da a diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabela 26 - Determinação da reta de calibração do PEG 6000 Da a diferentes gamas de concentração.....</b>	<b>78</b>

## Índice de figuras

Figura 1 – Representação esquemática de um processo de separação com membranas. (Adaptado de Gösta Bylund 1995). .....	2
Figura 2 - Representação esquemática da permeação através de uma membrana: assimétrica (a) e simétrica (b) (Strathmann 1983). .....	4
Figura 3 - Representação esquemática do perfil de concentrações, em estado estacionário, na fase fluida adjacente à membrana (Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos 2015).8	
Figura 4 – Representação esquemática da estrutura tridimensional da $\beta$ -lactoglobulina (Cayot & Lorient 1998). .....	15
Figura 5 – Conformações da $\beta$ -lactoglobulina em função do pH (Cayot & Lorient 1998). .....	16
Figura 6 – Modelo da estrutura terciária da $\alpha$ -lactalbumina (Cayot & Lorient 1998). .....	17
Figura 7 - Curvas de solubilidade das proteínas $\beta$ -lactoglobulina, $\alpha$ -lactalbumina e caseína do soro, em função do pH da solução (Antunes 2003). .....	18
Figura 8 – Comparação entre os vários processos de separação por membranas utilizados na indústria dos laticínios, em termos de pressão de funcionamento, tamanho do poro das respectivas membranas. Adaptado de (Gösta Bylund 1995). .....	22
Figura 9 – Diagrama esquemático do processo de fabrico tradicional de requeijão. ....	25
Figura 10 – Curva típica obtida num texturómetro, durante a realização de um teste TPA (Bourne 1982). .....	28
Figura 11 - Diagrama esquemático das operações e fluidos envolvidos no trabalho experimental. ....	31
Figura 12 – Instalação piloto de permeação. ....	32
Figura 13 – Representação esquemática da instalação de permeação. ....	32
Figura 14 – Unidade básica do módulo de membranas da instalação de permeação. ....	33
Figura 15 – Texturómetro utilizado na determinação das propriedades texturais dos requeijões. ....	40
Figura 16 - Fluxo de permeação da água pura ( $J_w$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ). Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: $0,072 \text{ m}^2$ ; Temperatura: $25^\circ\text{C}$ ; Velocidade de circulação máxima. ....	45
Figura 17 - Determinação do limite de exclusão molecular (MWCO). Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: $0,072 \text{ m}^2$ ; Pressão: 4 bar; Temperatura: $25^\circ\text{C}$ ; Velocidade de circulação máxima. ....	47
Figura 18 - Variação do fluxo de permeação do soro de leite concentrado por OI ( $J_p$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ). Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: $0,072 \text{ m}^2$ ; Temperatura: $25^\circ\text{C}$ ; Velocidade de circulação máxima ( $0,94\text{m/s}$ ). ....	48
Figura 19 - Variação dos fluxos de permeado com o FCV até o valor de 2.0, durante a produção de concentrados proteicos obtidos por UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI. Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: $0,072 \text{ m}^2$ ; Pressão: 12 bar; Temperatura:	

25°C; Velocidade de circulação máxima (0,94m/s). Legenda: J1 corresponde aos fluxos de permeado obtidos no 1º ensaio de UF do soro de leite, respetivamente. ....	49
Figura 20 - Variação dos fluxos de permeado com o FCV até o valor de 2.0, durante a produção de concentrados proteicos obtidos por UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI. Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m <sup>2</sup> ; Pressão: 12 bar; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima (0,94m/s). Legenda: J2 corresponde aos fluxos de permeado obtidos no 2º ensaio de UF do soro de leite, respetivamente. ....	50
Figura 21 – Requeijões produzidos a partir de soro de leite de mistura integral (método tradicional). ....	57
Figura 22 – Requeijão produzido a partir do soro de leite concentrado por OI/UF1 (1º ensaio de ultrafiltração, FCV=2). ....	57
Figura 23 – Requeijão produzido a partir do soro de leite concentrado por OI/UF2(2º ensaio de ultrafiltração, FCV=2). ....	58
Figura 24 – Comparação entre a dureza apresentada pelos requeijões produzidos. ....	59
Figura 25 - Comparação entre a adesividade apresentada pelos requeijões produzidos. ....	59
Figura 26 - Comparação entre a coesividade apresentada pelos requeijões produzidos. ....	60
Figura 27 - Representação gráfica da variação da dureza dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	61
Figura 28 - Representação gráfica da variação da adesividade dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	62
Figura 29 - Representação gráfica da variação da coesividade dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	63
Figura 30 - Representação gráfica da variação da dureza dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	64
Figura 31 - Representação gráfica da variação da adesividade dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	64
Figura 32 - Representação gráfica da variação da coesividade dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	65
Figura 33 – Representação gráfica da variação do rendimento do processo de fabrico do requeijão ( $\eta$ ) com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões. ....	67
Figura 34 – Proposta de <i>flowsheet</i> para processo integrado de fabrico de requeijão. ....	71
Figura 35 - Fluxo de permeação da água pura ( $J_w$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ), após lavagens efetuadas entre os ensaios em modo de concentração.	

**Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 12 bar; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima. .... 79**



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Indústria dos Laticínios e produção de soro de leite

A indústria dos laticínios produz uma grande quantidade de resíduos sólidos e líquidos. Consideram-se resíduos sólidos todos os restos de matéria-prima, produto acabado, embalagens, entre outros. Relativamente aos resíduos líquidos, destaca-se o soro de leite, também designado como soro de queijo ou lactossoro (P.da Silva 2011):

Atualmente, produzem-se a nível mundial cerca de 190 milhões de toneladas de soro por ano; sendo que apenas 50% deste valor é processado, isto é, aproveitado (Baldasso et al. 2011). Segundo o *European Milk Market Observatory*, a China e a Rússia foram os maiores importadores de soro de leite em 2013 e 2014 (cerca de 400000 e 115000 toneladas de soro por ano, respetivamente). Quanto aos maiores exportadores, no mesmo período de tempo, destacam-se a União Europeia (EU) e os Estados Unidos da América (EUA) (cerca de 500000 e 480000 toneladas de soro por ano, respetivamente), o que faz destes os maiores produtores de soro a nível mundial (Milk Market Observatory 2015). Na Europa, consideram-se como principais países produtores, em 2013, a Alemanha, Polónia, Itália e Reino Unido (Milk Market Observatory 2014).

De acordo com os dados estatísticos de produção global de soro de leite, Portugal produziu cerca de 112430 toneladas em 2013. Desta produção resultaram cerca de 86970 toneladas de soro líquido, 17640 toneladas de soro em pó; e 7830 toneladas de concentrado de soro (Milk Market Observatory 2014).

## 1.2 Questão ambiental vs Aplicações do soro de leite

O soro, apesar de ser um subproduto da produção de queijo, tem valor acrescentado por se tratar de uma substância rica em sólidos, com um teor ainda importante em proteínas, de elevado valor biológico. No entanto, dada a falta de tecnologias adequadas para o seu tratamento, este subproduto tem vindo a ser desvalorizado e descartado por muitas indústrias há décadas (Portal Lacteo 2012). Torna-se, assim, numa grande ameaça para o meio ambiente, devido à sua elevada carga orgânica e à sua difícil degradação. De acordo com um estudo feito pela Universidade Federal de Viçosa, “uma fábrica com produção média de 300000 litros de soro por dia polui o equivalente a uma cidade com 150000 habitantes” (P.da Silva 2011).

Com o intuito de se lutar contra este problema ambiental e ao mesmo tempo se aproveitar este subproduto com valor comercial, têm sido feitos inúmeros estudos sobre possíveis aplicações em novos produtos e o desenvolvimento de novas tecnologias de processamento, o que faz deste um produto de futuro na indústria alimentar (Prazeres et al. 2012). O soro de leite é utilizado na alimentação animal e humana, bem como para a produção de medicamentos, há milhares e milhares de anos (Mizubuti 1994).

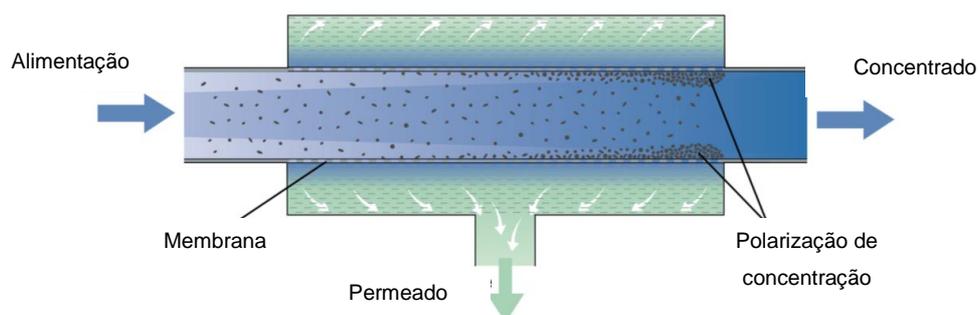
Atualmente, já existem novas técnicas aplicadas na indústria dos laticínios, como é o caso da tecnologia de membranas. Esta nova tecnologia, apesar de já estar a ser aplicada, tem vindo a ser alvo de vários estudos a fim de ser melhorada. A par disto, de acordo com estudos recentes, esta tecnologia trouxe a possibilidade de novas aplicações do soro de leite, como é o caso da incorporação deste em bebidas lácteas (Portal Lacteo 2014), bem como na produção de requeijão com teores reduzidos de gordura (MilkPoint.PT 2015).

### 1.3 Processos de separação com membranas (PSM)

#### 1.3.1 Princípios de funcionamento dos PSM

Desde o início do século XX são utilizados processos de separação com membranas. As primeiras membranas foram introduzidas na Alemanha, pelo Zsigmondy. Contudo, foi a partir dos anos 60, com o desenvolvimento de membranas assimétricas, que se deu a implementação desta tecnologia a nível industrial. Foi com o aparecimento de membranas assimétricas que se conseguiu solucionar alguns problemas associados à implementação desta tecnologia à escala industrial, nomeadamente a baixa seletividade e os baixos fluxos de permeação, característicos das primeiras membranas poliméricas (Mulder 1998).

As membranas funcionam como barreiras seletivas entre duas fases, concentrado/alimentação e permeado (*vide Figura 1*). Estas permitem a permeação preferencial de um ou mais componentes da mistura de alimentação, a qual é administrada tangencialmente à membrana, permitindo assim a sua separação (W. S. & Kamalesh K. 1992).



**Figura 1** – Representação esquemática de um processo de separação com membranas. (Adaptado de Gösta Bylund 1995).

As técnicas de separação de massa convencionais, tais como a destilação, cristalização, extração com solvente, têm vindo a ser complementadas por uma série de processos de separação com membranas semipermeáveis, nos últimos anos. As membranas são um elemento crucial para a separação de misturas moleculares ou de partículas. Existe uma vasta gama de processos de separação por membranas, os quais diferem em termos de aplicações, das estruturas utilizadas como barreira de separação, assim como nas forças motrizes aplicadas para o transporte dos diferentes compostos químicos. Dentre estes processos estão incluídas a osmose inversa ou a ultrafiltração,

que utilizam membranas poliméricas microporosas, assimétricas e uma diferença de pressão hidrostática como força motriz, a electrodiálise, que utiliza membranas de permuta de iões e uma diferença de potencial para a separação de componentes carregados, ou a libertação controlada de agentes ativos, em que são utilizadas como barreiras de separação membranas poliméricas homogéneas e como força motriz o gradiente de concentração (Strathmann 1983).

Na **tabela 1** apresenta-se um resumo dos processos de separação por membranas mais relevantes, incluindo os seus princípios de funcionamento e as suas principais áreas de aplicação.

**Tabela 1** - Processos de separação com membranas: princípios de operação. (Adaptado de Strathmann 1983; Mulder 1998).

<b>Processo de separação</b>	<b>Tipo de membrana</b>	<b>Força motriz</b>	<b>Método de separação</b>
Microfiltração	Simétrica microporosa com um raio de poro de 0,1-10 $\mu\text{m}$	Diferença de pressão	Exclusão por peso molecular
Ultrafiltração	Assimétrica microporosa com um raio de poro de 1-10 nm	Diferença de pressão	Exclusão por peso molecular/Difusão
Nanofiltração	Assimétrica	Pressão	Exclusão por peso molecular e Solução-Difusão
Osmose Inversa	Assimétrica	Pressão	Solução-Difusão
Díalise	Simétrica microporosa com um raio de poro de 0,1-10 nm	Gradiente de concentração	Difusão
Electrodiálise	Permuta iónica	Gradiente de potencial eléctrico	Carga eléctrica e tamanho de partículas
Separação Gasosa	Homogénea ou porosa	Gradientes de pressão e concentração	Solução/Difusão

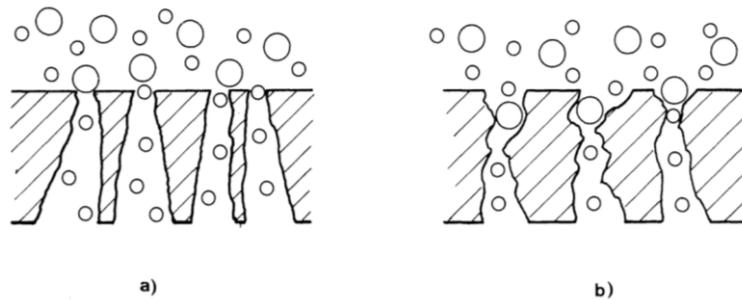
Embora os processos de separação por membranas sejam muito diferentes, em termos de funcionamento e aplicação, existem várias características comuns que tornam este tipo de processo particularmente interessante. Na maior parte dos casos, os PSM são mais rápidos, mais eficientes e económicos relativamente às técnicas de separação convencionais. Dado que a separação por membranas pode e é geralmente realizada à temperatura ambiente, é possível tratar-se uma solução sensível à temperatura sem que os seus constituintes sejam degradados, ou até mesmo quimicamente alterados. Isto permitiu resolver muitos problemas associados à separação de massa na indústria alimentar, de medicamentos e na biotecnologia, uma vez que nestas indústrias são muitas vezes processados produtos termicamente sensíveis (Strathmann 1983).

### 1.3.2 Tipos de membranas

As membranas podem ser classificadas consoante a sua natureza, biológicas ou sintéticas, sendo que estas diferem na sua estrutura e funcionalidade (Mulder 1998). Relativamente à fase,

estas podem ser sólidas ou líquidas. Para além das características mencionadas anteriormente, as membranas podem ser neutras ou podem transportar cargas negativas e/ou positivas (Strathmann 1983).

Atualmente, existe uma vasta gama de membranas, que se adequam a diversas aplicações. Estas podem ser constituídas por uma grande variedade de materiais, entre os quais: i) produtos inorgânicos - vidros porosos, grafite, porcelanas e óxidos metálicos; ii) polímeros de origem natural - diacetato e triacetato de celulose, propionatoacetato de celulose, butirato-acetato de celulose e metacrilato-acetato de celulose); iii) polímeros sintéticos - poliamida, poliacrilonitrilo, polissulfona, polipropileno. De acordo com a sua estrutura, as membranas podem ser classificadas em duas classes: membranas simétricas e assimétricas. As membranas simétricas incluem as microporosas e as homogêneas, enquanto as membranas assimétricas podem ser integrais ou compostas (Strathmann 1983; Mulder 1998).



**Figura 2** - Representação esquemática da permeação através de uma membrana: assimétrica (a) e simétrica (b) (Strathmann 1983).

A barreira seletiva é distribuída ao longo de toda a espessura, no caso das membranas simétricas, variando entre 10 -200  $\mu\text{m}$  (Mulder 1998). Relativamente às membranas assimétricas, a barreira seletiva é constituída por uma camada muito fina e homogênea, também designada por camada ativa ou “pele”, sendo a sua espessura variável entre 0,1-1  $\mu\text{m}$  e uma camada porosa com espessuras de 100-200  $\mu\text{m}$ . Uma das vantagens deste tipo de estrutura é que estas retêm as partículas à superfície da membrana, evitando assim colmatção, ao contrário das membranas simétricas, que atuam como filtros e retêm partículas nos seus poros, podendo originar colmatção e um conseqüente decréscimo de fluxo (Strathmann 1983).

### 1.3.3 Módulos de membranas

O arranjo das membranas em configurações, caracterizadas por apresentar uma elevada área superficial/unidade de volume, foi um fator preponderante para a implementação industrial deste tipo de tecnologia, uma vez que permitiu aumentar, não só, a capacidade de processamento de fluidos, em condições hidrodinâmicas e de pressão adequadas, assim como, facilitar o processo de limpeza e manutenção dos sistemas, a um custo aceitável. Destas configurações resultaram vários tipos de

módulos, tais como: pratos planos, tubulares, enrolados em espiral e de fibras ocas (Chaufer et al. 1998).

**Tabela 2** – Tipos de módulos de membranas e respectivas aplicações. Adaptado de (Gösta Bylund 1995).

<b>Tipo de Módulo</b>	<b>Aplicações</b>
Enrolado em espiral	OI, NF, UF
Pratos planos	OI, UF
Tubular, com base polimérica	OI, UF
Tubular, com base cerâmica	MF, UF
Fibras ocas	UF

### **1.3.4 Aplicações das membranas**

Dadas as grandes vantagens da aplicação de PSM, as membranas são hoje em dia utilizadas em grande escala para a produção de água potável a partir da água do mar, para limpar efluentes industriais e recuperar componentes valiosos, para se concentrar, purificar, ou fracionar soluções macromoleculares na indústria alimentar e, na área da saúde, para remover a ureia e outras toxinas a partir do fluxo de sangue num rim artificial, ou para libertar certos fármacos a uma velocidade predeterminada no tratamento médico (Strathmann 1983).

São vastas as aplicações desta tecnologia nos vários sectores da indústria alimentar ou nas agroindústrias, sendo o principal mercado a indústria dos lacticínios (leite, soro de leite, etc.), seguindo-se a indústria das bebidas (cerveja, sumos de fruta, vinho, etc.). O sucesso da tecnologia de separação com membranas, nestes mercados, está diretamente ligado a algumas vantagens que este tipo de processo apresenta, quando comparado ao processo de separação convencional. De entre as principais vantagens estão o fato de o tratamento do produto ser feito de forma suave, isto é, não haver mudanças bruscas de temperatura durante o processo; elevada seletividade do mecanismo de separação; o uso de módulos de membranas compactos e de fácil instalação e o baixo consumo de energia associado (Lipnizki 2010).

### **1.3.5 Caracterização de membranas: PSM conduzidos por pressão**

No processo de caracterização de membranas é fundamental ter-se em conta tanto a morfologia, como as propriedades químicas, elétricas e o tipo de materiais que as constituem. Os fluxos e os fatores de rejeição de uma dada membrana dependem de vários fatores, entre os quais: o impedimento estereoquímico, caracterizado pela exclusão molecular ou pelo atrito hidrodinâmico das paredes dos poros sobre as moléculas de soluto; da solubilidade/difusividade das moléculas de soluto através da matriz; e das interações químicas membrana(s)–soluto(s)–solvente.

A caracterização das membranas deve conter informação morfológica, relacionada com a estrutura porosa (diâmetro de poros e distribuição de diâmetro de poros), propriedades químicas (hidrofilia/hidrofobia relativas), elétricas e dos materiais (polímeros) que as constituem. Mais

concretamente, a referida caracterização da membrana é realizada maioritariamente em função da membrana e não do regime de circulação. Por sua vez, o regime de circulação encontra-se relacionado com a caracterização hidrodinâmica do escoamento da alimentação, da composição físico-química, da pressão e da temperatura de operação.

### 1.3.5.1 Fluxo de permeação e Permeabilidade Hidráulica

O coeficiente de permeabilidade hidráulica,  $L_p$ , é o parâmetro mais simples de caracterização de uma membrana. Este traduz a capacidade de permeação da água pura através da membrana, sendo assim definido pela variação do volume de permeado por unidade de tempo, de área de membrana e de pressão aplicada, de acordo com a seguinte equação:

$$J_p = \frac{L_p}{\mu} \cdot \Delta P$$

**Equação 1**

Sendo,  $J_p$  o fluxo volumétrico de permeação, neste caso da água pura;  $\mu$  (Pa.s) a viscosidade do solvente e  $\Delta P$  (Pa) a pressão transmembranar aplicada.

A constante  $L_p/\mu$  ( $m \cdot s^{-1} \cdot Pa^{-1}$ ) é a permeabilidade hidráulica ou coeficiente de permeabilidade do solvente. A resistência hidráulica,  $R_m$ , é definida como o inverso da permeabilidade ( $1/L_p$ ) e é independente da viscosidade (Meireles-Masbernat & Aimar 1998).

### 1.3.5.2 Fator de rejeição

A permeabilidade de uma solução, contendo um determinado soluto, é sempre diferente do valor correspondente à permeação da água pura. Este fato deve-se à resistência à transferência de massa, causada pela introdução do soluto que é rejeitado pela membrana e acumulado à superfície da mesma.

É através do coeficiente de rejeição aparente,  $f_A$ , que é avaliada a capacidade de separação da membrana. Este é obtido a partir das concentrações de soluto no seio da alimentação e no permeado,  $C_r$  e  $C_p$ , respetivamente (Aptel & Clifton 1983).

$$f_A = \frac{C_r - C_p}{C_r}$$

**Equação 2**

Devido à ocorrência de acumulação de soluto à superfície da membrana, a concentração do mesmo na alimentação, adjacente à membrana, define-se como  $C_m$ , a qual difere do valor relativo ao seio da alimentação,  $C_r$ . Com isto, o coeficiente de rejeição intrínseco é definido por (Aptel & Clifton 1983):

$$f'_A = \frac{C_m - C_p}{C_m}$$

**Equação 3**

### 1.3.5.3 Fator de concentração volumétrico

Em processos de membranas conduzidos por pressão e em modo descontínuo de operação, em particular em ultrafiltração, é razoável assumir que o fator de rejeição,  $f$ , é independente do fator de concentração volumétrico.

O fator de concentração volumétrico (FCV) é um parâmetro determinante do processo, uma vez que está diretamente ligado ao fluxo de permeado. Durante o processo de separação por membrana, a concentração de um determinado soluto varia em função do volume de permeado recolhido, assim como em função da retenção de soluto pela membrana. O FCV é então definido por

$$FCV = \frac{V_0}{V_f} = \frac{V_0}{(V_0 - V_p)}$$

**Equação 4**

Onde  $V_0$  é o volume inicial da solução de alimentação,  $V_f$  o volume de final da solução concentrada e  $V_p$  o volume de permeado recolhido.

### 1.3.5.4 Limite de exclusão molecular (MWCO)

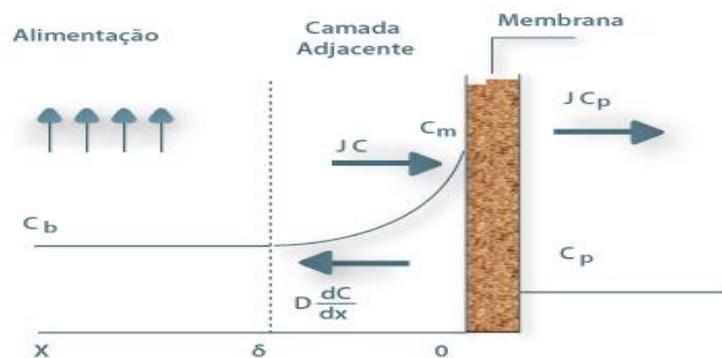
O limite de exclusão molecular (*molecular weight cut-off* - MWCO) é um parâmetro característico de cada membrana e de fácil determinação. A partir de um conjunto de soluções de referência, cujos solutos têm peso molecular conhecido, traça-se uma curva dos coeficientes de rejeição em função dos respectivos pesos moleculares. Da interceção desta curva com a horizontal relativa a uma rejeição de 0,90 ou 0,95 obtém-se uma abscissa que corresponde ao *cut-off* da membrana (MWCO) (Aptel & Clifton 1983).

### 1.3.6 Fatores que afetam o desempenho e funcionamento dos PSM

São fenômenos como a Polarização de concentração e a Colmatação que modificam a eficácia dos processos de separação por membranas. De um modo geral, com o passar do tempo e uso da membrana, verifica-se um declínio do fluxo de permeação e uma alteração de seletividade. Contudo, os fluxos iniciais de permeação podem ser restabelecidos através de limpeza mecânica ou química. (Gésan-Guiziu 1998).

### 1.3.6.1 Polarização de concentração

Durante o processo de filtração tangencial, os componentes retidos pela membrana (iões, macromoléculas, coloides ou partículas) acumulam-se progressivamente à superfície porosa da mesma. Em estado estacionário, o fluxo convectivo de um dado soluto ( $J C$ ) em direção à membrana é equilibrado pelo fluxo de soluto através da membrana e pelo fluxo difusivo do mesmo ( $-D \frac{dC}{dx}$ ), desde a superfície da membrana até ao seio da alimentação. A este fenómeno designa-se, habitualmente, por Polarização de Concentração (Gésan-Guiziu 1998).



**Figura 3** - Representação esquemática do perfil de concentrações, em estado estacionário, na fase fluida adjacente à membrana (Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos 2015).

Sendo  $C_b$  a concentração de soluto na alimentação;  $C_m$  a concentração de soluto à superfície da membrana;  $C_p$  a concentração de soluto no permeado,  $J$  o fluxo de permeado e  $\delta$  a espessura de uma camada sub-laminar.

São várias as consequências negativas impostas pelo efeito de polarização. Em primeiro lugar, o fato da concentração de soluto aumentar à superfície da membrana faz com que o fluxo de soluto através da membrana aumente e a rejeição a este baixe. Em segundo lugar, dá-se um aumento da pressão osmótica na interface membrana/solução, reduzindo assim o fluxo de água. Por fim, se a concentração local de soluto se tornar muito elevada, o mesmo pode precipitar ou formar um gel, que se impregnará na membrana (Lonsdale 1983).

É através de modelos de transferência de massa que se quantifica o efeito da polarização de concentração, nomeadamente, através dos modelos do filme e da pressão osmótica (Gésan-Guiziu 1998).

#### 1.3.6.1.1 Modelo do filme

O modelo do filme assume que o fluxo convectivo é compensado pelo fluxo de soluto através da membrana e pelo fluxo difusivo, desde a superfície da membrana até ao seio da alimentação. Em estado estacionário, o balanço de massa a um soluto, num elemento diferencial de volume situado na

camada limite laminar adjacente à membrana, de espessura  $\delta$ , conduz à seguinte expressão (Gésan-Guiziu 1998) (*vide* **Figura 3**)

$$JC_p = JC + D \frac{\partial C}{\partial y}$$

**Equação 5**

Onde,  $J$  é o fluxo volumétrico de permeado,  $C$  é a concentração do soluto,  $D$  é a difusividade molecular deste soluto,  $\frac{\partial C}{\partial y}$  é o gradiente de concentração e  $C_p$  é a concentração de soluto no permeado.

Na **Equação 5**, o termo  $JC$  representa a contribuição do fluxo transversal de soluto e o segundo termo é referente ao fluxo difusivo. No primeiro membro, o termo  $JC_p$  representa o fluxo de permeado.

Da integração da **Equação 5**, ao longo da espessura da camada de polarização, com as seguintes condições fronteira:

$$y = 0 \rightarrow C = C_m$$

**Equação 6**

$$y = \delta \rightarrow C = C_r$$

**Equação 7**

resulta a seguinte expressão:

$$J = \frac{D_{AB}}{\delta} \ln\left(\frac{C_m - C_p}{C_r - C_p}\right)$$

**Equação 8**

Onde,  $k = \frac{D_{AB}}{\delta}$  (m/s) é o coeficiente de transferência de massa;  $C_m$  concentração de soluto na membrana e  $C_r$  e  $C_p$  são as concentrações do soluto no seio da solução e no permeado, respetivamente. Note-se que este resultado teve como base o pressuposto de que a difusividade do soluto,  $D$ , é constante.

Quando o soluto é completamente retido pela membrana,  $C_p=0$  e, portanto, a **Equação 8** simplifica-se, obtendo-se:

$$J = k \ln\left(\frac{C_m}{C_r}\right)$$

**Equação 9**

### 1.3.6.1.2 Modelo da pressão osmótica

Este modelo assume que o decréscimo de fluxo de permeação e da pressão transmembranar efetiva se devem ao aumento da pressão osmótica, induzida pelo aumento de concentração de soluto junto à superfície da membrana (Renner & ABD El-Salam 1993).

Numa primeira aproximação, e para soluções diluídas ideais de solutos de baixo peso molecular, a lei de Van't Hoff (*vide* **Equação 10**) estabelece que a pressão osmótica ( $\pi$ ) varia linearmente com a concentração do soluto, sendo inversamente proporcional ao peso molecular do mesmo (Maurel 1998)

$$\pi = C \frac{RT}{M}$$

**Equação 10**

Onde, C é a concentração do soluto (kg m<sup>-3</sup>); R, a constante dos gases perfeitos; T, a temperatura absoluta e M, o peso molecular do soluto (em kDa).

Considerando o efeito da pressão osmótica à superfície da membrana, e na ausência de quaisquer outros efeitos, a **Equação 1** pode reescrever-se da seguinte forma (Gésan-Guiziu 1998):

$$J = \frac{\Delta P - \Delta \pi}{\mu_p R_m}$$

**Equação 11**

Onde, R<sub>m</sub> (ou 1/L<sub>p</sub>) é o inverso da permeabilidade hidráulica intrínseca da membrana e Δπ, a diferença entre a pressão osmótica à superfície da membrana e no permeado.

No caso de soluções concentradas, a pressão osmótica pode não ser desprezável, variando com a concentração, segundo a seguinte extensão da equação de Van't Hoff :

$$\pi = A_1 C + A_2 C^2 + A_3 C^3 + \dots$$

**Equação 12**

Onde, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub> são designados por coeficientes de virial (Cheryan 1998).

A **Equação 12** é frequentemente simplificada para a seguinte expressão, uma vez os coeficientes de virial não são de fácil acesso (Gésan-Guiziu 1998):

$$\pi = a C^n$$

**Equação 13**

Onde, a é uma constante e n um fator exponencial de valor superior a 1. As constantes a e n dependem do peso molecular e do tipo de polímero, sendo n superior a 2 para solutos macromoleculares.

A forma mais simples de se determinar C<sub>m</sub> (concentração de soluto na membrana) é recorrer ao Modelo do Filme (**Equação 9**). Em seguida, substituir a expressão daí resultante na **Equação 13** e, por fim, na **Equação 11**. Com isto, resulta a seguinte expressão:

$$J = \frac{\Delta P - a \left( \exp \left( \frac{J}{k} \right) \cdot C_r \right)^n}{\mu_p R_m}$$

**Equação 14**

A **Equação 14** traduz a variação dos fluxos de permeação normalmente observada, isto é uma variação exponencial. O aumento da pressão transmembranar aplicada conduz a um crescimento inicial dos fluxos. Contudo, à medida que o transporte convectivo de soluto, em direção à membrana, se torna mais intenso, a concentração do mesmo à superfície da membrana também se torna mais elevada, provocando assim um aumento da pressão osmótica e, conseqüentemente, a

força motriz aplicada diminui. Atingido o momento a partir do qual o crescimento da concentração,  $C_m$ , se traduz numa grande elevação da pressão osmótica, o aumento da pressão transmembranar aplicada perde totalmente o seu efeito e ocorre um abaixamento de fluxo. É de se notar que a aplicabilidade deste modelo depende da natureza do soluto que é rejeitado pela membrana e da relação entre a pressão osmótica e a sua concentração, que influenciam (Cheryan 1998).

### 1.3.6.2 Colmatação

A colmatação, também designada por “fouling”, pode ser definida como uma consequência de fenómenos resultantes de interações específicas entre a membrana e os vários solutos presentes na alimentação, ou entre o soluto adsorvido e outros que estejam presentes na sua vizinhança.

De um ponto de vista prático, é comum fazer-se a distinção entre colmatação irreversível e reversível. A colmatação irreversível, define-se como aquela que só é possível eliminar através de um procedimento químico ou mecânico (por exemplo, limpeza físico-química). A colmatação reversível, pode ser eliminada quando o problema que está associado à sua origem também o for (por exemplo, pressão transmembranar anulada, ou após lavagem com água). A soma destas duas contribuições designa-se por colmatação global ou total (Gésan-Guiziu 1998).

Um dos grandes fatores limitantes do uso de tecnologias de membranas é, precisamente, a ocorrência de colmatação, ou seja, a formação de incrustações sobre a membrana. Isto traduz-se numa eficiência reduzida das operações, devido à diminuição dos fluxos de permeação; a alterações da sua seletividade; à necessidade de limpeza mais frequente e, conseqüentemente, redução do tempo de vida das membranas (Cheryan 1998).

Existem vários mecanismos de colmatação que, na prática, ocorrem normalmente em simultâneo. Entre estes mecanismos estão a adsorção, deposição de matéria por convecção, gelificação, desnaturação, agregação ou reação (Gésan-Guiziu 1998).

#### 1.3.6.2.1 Modelo das Resistências em Série

Este modelo considera que existem outros fenómenos junto à membrana, para além da sua própria resistência intrínseca, que podem contribuir como resistências adicionais à permeação, tais como: a formação de uma camada de polarização por concentração; a eventual formação de um gel ou ainda mecanismos de colmatação.

Segundo este modelo, o fluxo de permeação pode ser descrito como

$$J_p = \frac{\Delta P}{\mu_p (R_m + R_{pc} + R_g + R_a)}$$

**Equação 15**

Sendo  $R_m$  (ou  $1/L_p$ ) a resistência intrínseca da membrana;  $R_{pc}$  a resistência devida à camada de polarização de concentração;  $R_g$  a resistência relativa à formação do gel; e  $R_a$  resistência correspondente a mecanismos de colmatação (por exemplo, adsorção) (Gésan-Guiziu 1998).

## 1.4 Estrutura da dissertação

A presente dissertação de mestrado encontra-se dividida em cinco capítulos:

1. Introdução
2. Revisão bibliográfica
3. Parte experimental
4. Resultados experimentais e discussão
5. Conclusões e perspectivas de trabalho futuro

No capítulo 1 do trabalho é feita uma introdução, onde se descreve brevemente a matéria-prima e algumas das suas aplicações, assim como a importância do seu tratamento e referentes tecnologias utilizadas. No capítulo 2 faz-se uma revisão bibliográfica, que incide sobre os componentes do soro de leite; os processos de separação com membranas utilizados na indústria em geral e nos laticínios, nomeadamente a Osmose Inversa e a Ultrafiltração; as aplicações do soro de leite e, por fim, uma pequena abordagem sobre a análise sensorial efetuada a produtos alimentares.

Relativamente à parte experimental, capítulo 3, é feita uma descrição dos procedimentos experimentais, bem como de todo o material utilizado ao longo do trabalho e os métodos analíticos utilizados. Ainda neste capítulo se apresentam todos os resultados experimentais e respetiva discussão.

Por último, é no capítulo 5 que se mencionam as principais conclusões inerentes ao estudo efetuado e se referem as perspectivas futuras de trabalho a desenvolver.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Soro de leite

#### 2.1.1 Classificação do soro de leite

Durante o fabrico convencional de queijo dá-se a separação do coágulo da fase aquosa, a qual se designa por soro de leite.

O soro pode ser classificado de acordo com o seu grau de acidez, em soro doce ou soro ácido. Esta classificação está relacionada com o método utilizado na coagulação do leite, durante o processo de fabrico do queijo que lhe dá origem (Mizubuti 1994).

O soro ácido é um subproduto do fabrico de caseinato ou de queijo do tipo *Cottage*. Nestes casos é feito um ajuste do pH do leite para cerca de 4,6, por adição de ácido, por adição de glucona-delta-lactona ou por adição de cultura de bactéria láctica, o que leva à coagulação da caseína e dá origem ao soro ácido.

Relativamente ao soro doce, este é produzido pela inoculação do leite com cultura de bactérias lácticas, seguida da adição de um agente coagulante, uma protease, que leva ao ajuste de pH para valores compreendidos entre 6,2-6,4. Este procedimento é feito, por exemplo, na produção de queijos tipo *Cheddar* (Antunes 2003).

#### 2.1.2 Composição físico-química do soro de leite

A composição do soro de leite (*vide Tabela 3*) está relacionada com o tipo de queijo que lhe deu origem. O soro representa entre 85 a 95% do volume de leite utilizado na produção de queijo e contém cerca de 55% dos nutrientes do leite, entre os quais proteínas globulares solúveis, lactose, sais minerais e vitaminas, assim como quantidades variáveis de ácido láctico e nitrogénio não solúvel (Mizubuti 1994).

**Tabela 3** – Composição dos soros doce e ácido, provenientes de leite de vaca (Antunes 2003).

<b>Composição do soro</b>	<b>Soro doce (%ST)</b>	<b>Soro ácido (%ST)</b>
Sólidos totais (ST)	6,4	6,2
Proteína	0,8	0,75
Gordura	0,5	0,04
Lactose	4,6	4,2
Cinza	0,5	0,8
Ácido láctico	0,05	0,4

### 2.1.2.1 Proteínas do soro de leite

As proteínas são macromoléculas biológicas constituídas por uma ou mais cadeias de aminoácidos. Estas têm a capacidade de realizarem inúmeras funções pelo fato de apresentarem diversidade estrutural.

As proteínas do soro de leite são definidas como as que permanecem no mesmo após a coagulação das caseínas, a pH 4,6 e a 20°C. Estas são consideradas de alta qualidade nutricional e com excepcionais propriedades funcionais, podendo dar origem a uma variada gama de produtos.

Cada proteína presente no soro tem uma determinada funcionalidade. A título de exemplo, a  $\beta$ -lactoglobulina apresenta excelentes propriedades gelatinizantes; a  $\alpha$ -lactalbumina tem a capacidade de formar uma espuma similar à clara de ovo; a lactoferrina e a lactoperoxidase apresentam propriedades bacteriostáticas (Antunes 2003).

A **Tabela 4** indica as principais características das proteínas no soro de leite.

**Tabela 4** – Características das principais proteínas do soro de leite (Daufin, Gésan-Guizoui, Muller, et al. 1998).

Proteínas do soro	Massa Molar (kg/mol)	pH <sub>isoelétrico</sub>	Fracção mássica (%)
$\beta$ -Lg	36,6	5,1-5,4	50-60
$\alpha$ -La	14,2	4,2-4,5	15-20
Imunoglobulina	140-1030	5,5-8,3	10-15
BSA	69	4,7-5,1	5-6
Lactoferrina	77-80	8,6-9,2	$\leq 1,5$
Lactoperoxidase	77-80	9-10,2	$\leq 0,5$

#### 2.1.2.1.1 Propriedades funcionais das proteínas

As propriedades funcionais das proteínas podem ser alteradas por uma vasta gama de fatores intrínsecos e extrínsecos. Relativamente aos fatores intrínsecos destacam-se os seguintes, entre muitos outros: composição de aminoácidos; conformação proteica; tamanho molecular; a hidrofobicidade molecular; os substituintes químicos e os grupos sulfidrílicos. Entre os fatores extrínsecos realçam-se os métodos de preparação; o grau de purificação; o conteúdo e a concentração de proteína; as condições ambientais; temperatura; pH e concentração.

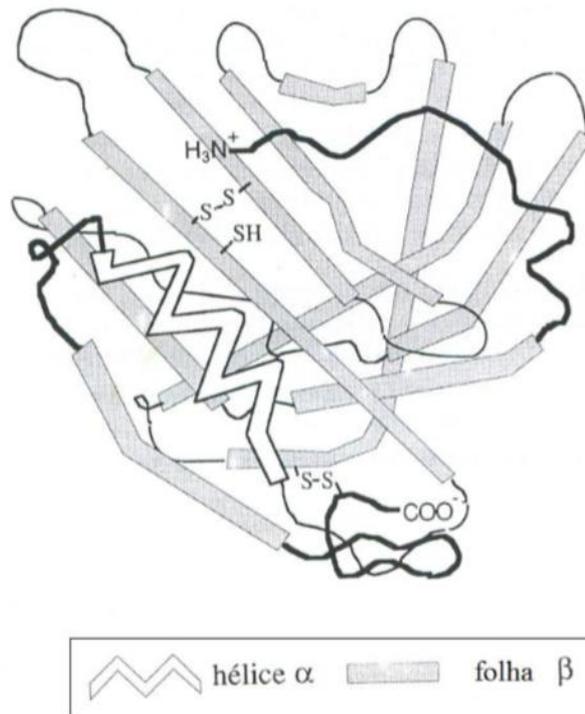
As principais propriedades funcionais das proteínas do soro de leite, de um ponto de vista tecnológico, são a solubilidade, ligação ou retenção de água, formação de espuma, gelatinização e emulsificação (Antunes 2003).

Em seguida, apresenta-se um estudo mais detalhado, incidente sobre as principais proteínas do soro de leite, com o intuito de se compreender melhor algumas das suas características e a influência de certas tecnologias sobre as mesmas.

### $\beta$ -lactoglobulina

A  $\beta$ -lactoglobulina é a principal proteína do soro de leite de bovinos, ovinos e caprinos. Esta proteína representa cerca de 10% relativamente às proteínas totais do leite e 50% relativamente às proteínas do soro de leite (Antunes 2003).

A figura seguinte ilustra a estrutura tridimensional da  $\beta$ -lactoglobulina.



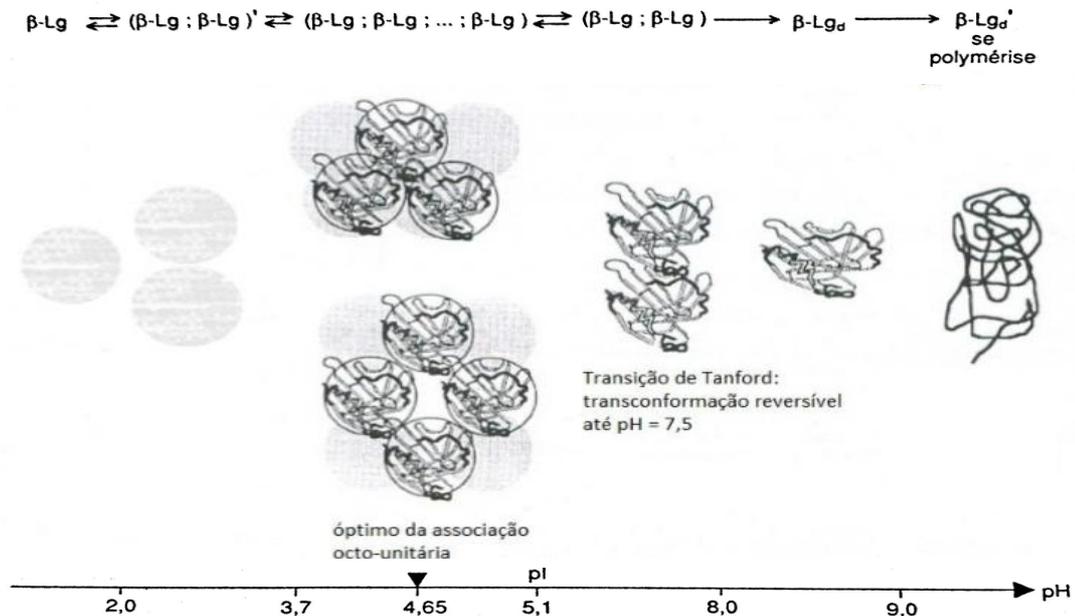
**Figura 4** – Representação esquemática da estrutura tridimensional da  $\beta$ -lactoglobulina (Cayot & Lorient 1998).

A  $\beta$ -lactoglobulina apresenta-se na forma de dímero, à temperatura ambiente e no intervalo de pH 5,2-7. Nestas condições, a estrutura proteica é constituída por duas cadeias peptídicas, associadas entre si por interações físico-químicas, às quais estão fixados lípidos, para além das proteínas básicas, como a lactoferrina ou a lisozima (Cayot & Lorient 1998).

As proteínas apresentam a sua solubilidade mais baixa no ponto isoelétrico ( $pH_i$ ). É também neste ponto que as interações proteína-proteína aumentam, uma vez que as forças eletrostáticas entre as moléculas ficam fragilizadas e há menos interação das mesmas com a água, o que proporciona um ambiente favorável à agregação e, conseqüentemente, à precipitação das moléculas (Antunes 2003).

Segundo os autores Cayot e Lorient (1998), a desnaturação térmica desta proteína é um fenómeno complexo, uma vez que depende de inúmeros fatores e condições do meio, nomeadamente do pH, composição mineral e da presença de hidratos de carbono, tais como, a lactose, glucose, galactose e sorbitol.

O esquema apresentado abaixo representa as várias conformações da  $\beta$ -lactoglobulina, em função do pH do meio em que se encontra.



**Figura 5** – Conformações da  $\beta$ -lactoglobulina em função do pH (Cayot & Lorient 1998).

Para valores de pH acima do ponto isoelétrico ( $pH_i=5,1$ ) a proteína existe na forma de dímero. Para valores de pH abaixo de 3,5 e acima de 7,5, ocorre dissociação e a proteína apresenta-se na forma monomérica. Entre os valores de pH 3,5 e 5,1 a forma dimérica da proteína polimeriza-se, originando um octómero. Outro fator relevante na estrutura desta proteína é a presença de resíduos de aminoácidos sulfurados, uma vez que facilitam a polimerização proteica, através da formação de ligações dissulfídicas intermoleculares, durante o processamento a temperatura elevada.

A desnaturação da  $\beta$ -lactoglobulina é dependente do tempo de exposição à temperatura, sendo que acima dos  $70^\circ\text{C}$  ocorrem alterações de conformação extensas. Por se tratar de uma proteína termolábil, esta torna-se biologicamente disponível, uma vez que o processamento térmico aumenta a sua digestibilidade (Antunes 2003).

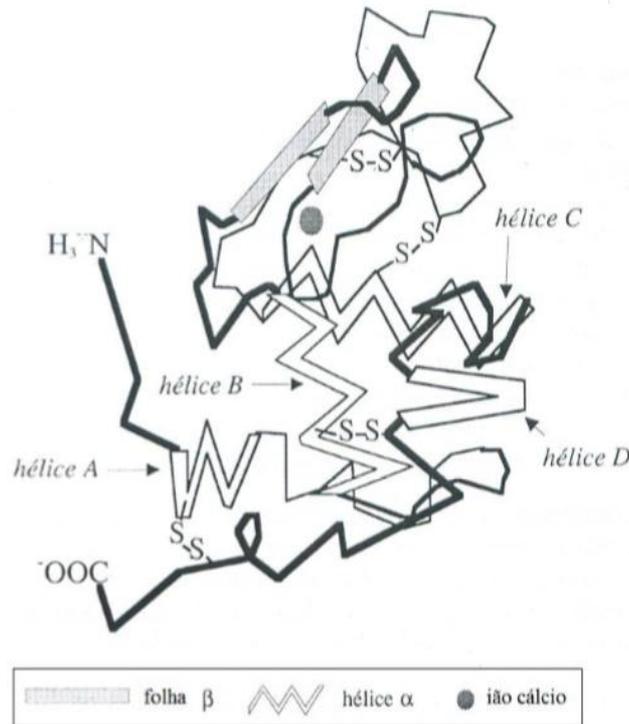
### $\alpha$ -lactalbumina

Quanto à  $\alpha$ -lactalbumina, apresenta-se com o segundo maior teor no soro de leite, constituindo cerca de 2% das proteínas totais do leite e 13% das proteínas totais do soro.

Esta proteína apresenta a característica única de ser capaz de se ligar ao cálcio (Antunes 2003). No entanto, a presença do íon cálcio, aliada à existência de quatro pontes de dissulfito, apesar de conferir estabilidade a nível estrutural da proteína, proporciona a formação de uma zona hidrófoba na sua conformação. Segundo os autores Cayot e Lorient (1998), nesta zona hidrófoba pode ocorrer a síntese de lactose, através da interação entre a  $\alpha$ -lactalbumina e a galactosiltransferase. Para além

desta ocorrência, a presença do íon cálcio também possibilita a ligação da  $\alpha$ -lactalbumina a outras proteínas, através do estabelecimento de pontes iônicas (Cayot & Lorient 1998).

A figura apresentada abaixo ilustra o modelo da estrutura terciária da  $\alpha$ -lactalbumina, na qual a zona hidrófoba está delimitada pelas hélices A, B, C e D



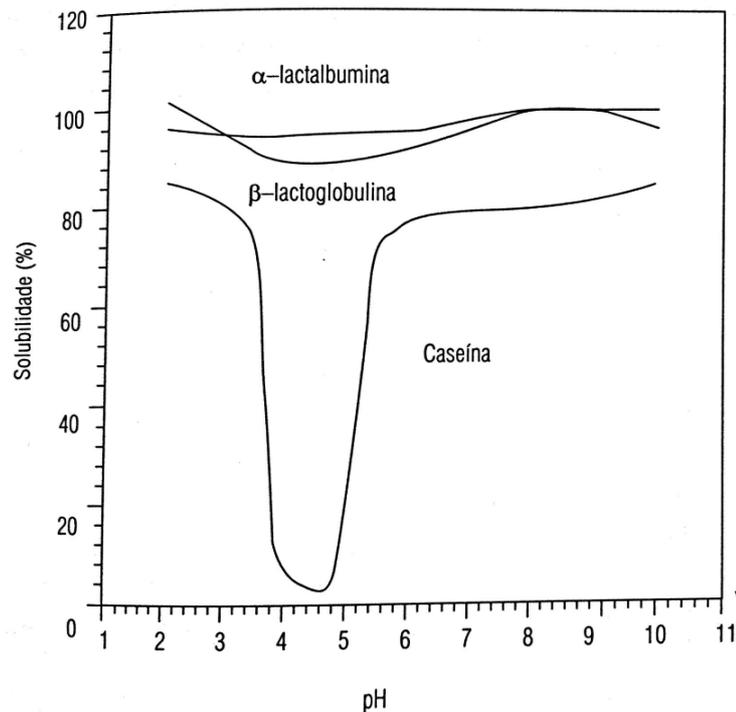
**Figura 6** – Modelo da estrutura terciária da  $\alpha$ -lactalbumina (Cayot & Lorient 1998).

A  $\alpha$ -lactalbumina é a proteína sérica mais resistente à desnaturação térmica. Para valores de pH próximos do seu ponto isoelétrico, existe uma maior aptidão da molécula para a ocorrência de modificações estruturais, pois a mobilidade das cadeias laterais torna-se mais elevada, devido à exposição dos grupos hidrófobos à fase lipídica. Sendo assim, é próximo deste valor de pH que a desnaturação térmica se torna mais crítica, uma vez que se verifica que o aquecimento a uma temperatura de 90°C conduz rapidamente à precipitação desta proteína. Para valores de pH próximos da neutralidade, os íons hidroxilo atacam as pontes de dissulfeto e formam dihidroalanina, ácido sulfídrico e ácido cisteico, caso não existam grupos tiol na solução. Este fenómeno contribui para acelerar o processo de desnaturação da proteína (Cayot & Lorient 1998).

### Proteose-Peptonas

Trata-se de uma mistura heterogênea de polipeptídeos termoestáveis (peptídeos derivados da caseína – CDP), também denominados de proteose-peptonas, os quais são solúveis em ácido (pH=4,6) e precipitáveis por ácido tricloroacético (TCA) a 12%. No soro apresenta-se em quantidades variáveis, representando cerca de 0,21% das proteínas do mesmo. Tratam-se de moléculas anfílicas, devido à presença de grupos fosfatos carregados, e apresentam sequências de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos (Antunes 2003).

A figura seguinte representa a comparação entre as curvas de solubilidade das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e caseína do soro, em função do pH da solução.



**Figura 7** - Curvas de solubilidade das proteínas  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactalbumina e caseína do soro, em função do pH da solução (Antunes 2003).

### Albumina sérica bovina (BSA)

A BSA é uma proteína globular de grandes dimensões, com um bom perfil de aminoácidos essenciais (Antunes 2003). A sua principal função biológica é fixar e transportar ácidos gordos insolúveis, lípidos, ácidos biliares, hormonas, entre outros. Segundo Cayot e Lorient (1998), é possível que a desnaturação térmica seja evitada devido à capacidade de fixação de ácidos gordos que a proteína apresenta. Outra característica que a albumina sérica bovina apresenta é a sua riqueza em hélices  $\alpha$ , assim como o fato da sua estrutura ser aberta, o que pode explicar a sua tendência para a gelificação termotrópica (Cayot & Lorient 1998).

### Imunoglobulinas

As imunoglobulinas são glicoproteínas de origem sanguínea que, por serem sintetizadas por diferentes tipos de células secretoras, apresentam uma composição muito heterogénea. Estas classificam-se em cinco categorias: IgG1, IgG2, IgA e IgM e IgE e apresentam uma base estrutural comum, em forma de Y, constituída por duas cadeias leves e duas cadeias pesadas (Cayot & Lorient 1998). Tratam-se de proteínas muito termolábeis, para as quais se desconhecem as propriedades funcionais no soro de leite (Antunes 2003).

### 2.1.2.2 Lactose

A lactose é o principal hidrato de carbono do leite da maioria dos mamíferos, mais comumente designado por açúcar do leite. Trata-se de um dissacarídeo formado por glicose e galactose.

No soro de leite, a lactose representa cerca de 70% dos sólidos totais, o que faz desta um dos componentes mais importantes e determinantes nas propriedades dos produtos obtidos a partir do soro de leite.

Em termos de aplicações, a lactose é amplamente utilizada nas indústrias alimentar e farmacêutica, como substrato de fermentação para a produção de uma grande variedade de produtos. Um dos aspetos importantes e a ter em conta nos processos de produção de produtos à base de lactose, é o fato de esta ser o principal componente do leite que afeta a pressão osmótica. Associado a este fato, está a sua cristalização, que tem um papel crucial no fabrico e armazenamento de uma variedade de produtos lácteos.(Fox 1997). Estudos comprovam que a presença de dissacarídeos, como a lactose ou a sacarose, são potenciais inibidores da coagulação térmica das proteínas, apesar de se apresentarem como promotores da desnaturação das mesmas (M.Garrett et al. 1988).

### 2.1.2.3 Sais minerais e vitaminas

Os sais minerais maioritariamente presentes no soro de leite são o potássio, sódio, cálcio e magnésio. Na **tabela 5** está indicada a composição mineral típica dos soros de leite doce e ácido.

**Tabela 5** – Composição mineral dos soros doce e ácido (Antunes 2003).

<b>Composição do soro</b>	<b>Soro doce (mg/kg)</b>	<b>Soro ácido (mg/kg)</b>
Cinzas totais	5252	7333
Fósforo	412	649
Cálcio	466	1251
Potássio	1455	1485
Sódio	505	528
Cloretos (como NaCl)	2195	2208

**Tabela 6** – Composição média de vitaminas nos soros de leite, em pó, doce e ácido\*. Adaptado de (D.Miller et al. 2007).

<b>Vitaminas</b>	<b>Soro doce</b>	<b>Soro ácido</b>
A (IU)	30	59
C (mg)	1,5	0,9
E (mg)	0,03	0,00
Tiamina (B1) (mg)	0,5	0,62
Riboflavina (B2) (mg)	2,2	2,06
Piridoxina (B6) (mg)	0,6	0,62
B12 (meg)	2,4	2,5

\*Valores obtidos por 100g de soro de leite em pó.

Note-se que o soro de leite, em pó, é obtido por eliminação de cerca de 95% da humidade presente no soro de leite líquido, mantendo-se todos os outros constituintes nas mesmas proporções relativas do lactossoro líquido (D.Miller et al. 2007).

### **2.1.3 Aplicações do soro de leite**

Os produtos proteicos obtidos a partir do soro são cada vez mais importantes para a indústria devido, não só, aos seus valores nutricionais, como também, às suas propriedades funcionais. Nos últimos quarenta anos têm sido feitos inúmeros estudos em termos de novas aplicações dos produtos de soro (Antunes 2003).

O soro de leite pode ser utilizado sob diferentes formas: soro fresco (líquido), pasteurizado ou não; soro em pó e concentrados dos componentes individuais do soro, como a lactose e proteínas (Mizubuti 1994).

Na indústria alimentar, nomeadamente, na produção de requeijão, é utilizado o soro líquido ou os concentrados e isolados proteicos do soro de leite.

#### **2.1.3.1 Soro líquido**

O soro de leite é utilizado na sua forma bruta, principalmente, como adubo para campos; alimentação animal e, no caso de pequenas unidades industriais, por vezes, a única solução economicamente viável é a sua descarga para tratamento em ETAR's municipais (Daufin, Gésan-Guiziu, Dresch, et al. 1998).

Como alternativa, o soro líquido, resultante da produção de queijos, pode ser aproveitado e utilizado no fabrico de requeijão, como foi referido anteriormente, assim como, no fabrico de bebidas lácteas.

Relativamente ao fabrico de requeijão, este é mais frequente em zonas de produção de queijo de ovelha, dado que o soro resultante conduz a rendimentos maiores de produção de requeijão. Isto verifica-se pelo fato de soro de leite de ovelha ser mais rico em matérias azotadas e lípidos,

relativamente ao soro de leite bovino. Uma das desvantagens verificadas no processo de fabrico de requeijão é o rendimento do mesmo ser baixo, uma vez que a coagulação térmica não conduz a um aproveitamento total do soro de leite. A par desta situação, a facilidade de deterioração deste produto faz com que o seu consumo seja predominantemente local.

Quanto à produção de bebidas lácteas, verifica-se que apenas os sumos naturais de frutos, bebidas alcoólicas, como vinho e cerveja, e iogurtes líquidos, têm impacto comercial (Jelen 1992).

### **2.1.3.2 Concentrados e isolados proteicos do soro de leite**

Os concentrados proteicos de soro de leite (CPS) são obtidos pela remoção de constituintes não-proteicos do soro, para que o produto final seco seja composto, no mínimo, por 25% de proteína. Normalmente, o teor proteico dos concentrados varia entre 25 e 89%, contendo alguma lactose, gordura e minerais. Comercialmente falando, o CPS com concentração proteica da ordem de 80% é mais disponível. O fabrico de CPS com 35-50% de proteína envolve várias etapas: o soro obtido durante a produção de queijo, após ser pasteurizado, é clarificado em centrífugas; em seguida, é concentrado por PSM (UF); e, por fim, pode ainda ser evaporado, para que se obtenha maior concentração de sólidos, e transformado em pó por secagem em *spray drier*. Relativamente ao fabrico de CPS com 80% de proteína, é semelhante ao descrito anteriormente, mas difere na aplicação uma operação unitária extra, a diafiltração, após a etapa de UF. A diafiltração promove a remoção mais eficaz de lactose e sais minerais, pois consiste na adição contínua de água ao concentrado obtido por UF (Antunes 2003).

Relativamente aos isolados proteicos (IPS), estes contêm entre 90 e 95% de proteína, gordura e lactose em quantidades muito pequenas, ou inexistentes, e são a forma comercial mais pura das proteínas do lactossoro. Os IPS podem ser produzidos através da combinação de duas operações, neste caso, a microfiltração (remoção da gordura) e a hidrólise de lactose (remoção da lactose). Sendo estes pré-tratamentos seguidos por UF e diafiltração é possível obter-se um isolado contendo mais de 90% de proteína. Uma forma alternativa de produção de isolados proteicos é realizar um pré-tratamento de troca iónica, seguido de UF (Antunes 2003).

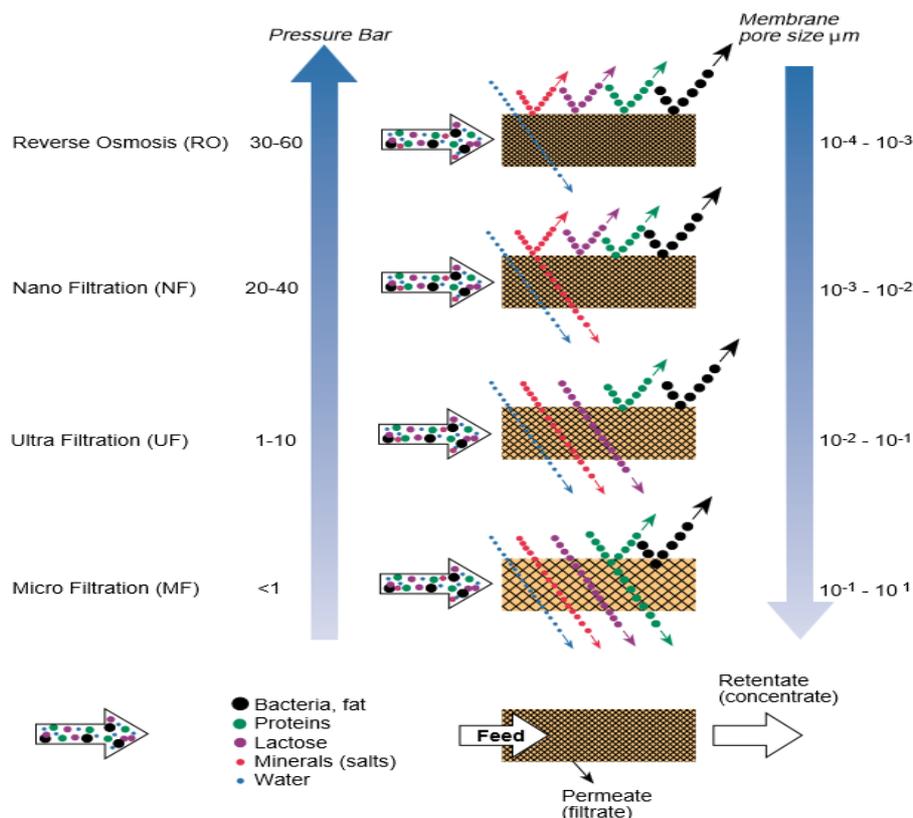
Na industria alimentar, as proteínas estão entre os principais componentes do soro de leite que condicionam a preparação, o processamento, armazenamento e consumo dos alimentos, ou seja, afetam os atributos organoléticos e a qualidade final dos produtos (Antunes 2003). Não só devido ao seu valor nutritivo, como também devido às suas excelentes propriedades funcionais, tais como: apresentarem solubilidade numa vasta gama de pH; boa capacidade de retenção de água; capacidade de formação de géis, emulsões e espumas, podendo melhorar as propriedades reológicas de certos alimentos (Maubois & Ollivier 1997). Os concentrados e isolados proteicos do soro de leite podem ser utilizados como aditivos alimentares em produtos lácteos, carnes, bebidas, alimentos cozinhados, assim como em produtos de alimentação infantil (Zydney 1998).

## 2.2 PSM aplicados na indústria dos lacticínios

A indústria dos lacticínios recorre ao processamento por membranas desde a década de 1960, para clarificar, concentrar e fracionar uma vasta variedade de produtos lácteos. Esta tecnologia veio proporcionar grandes vantagens na indústria alimentar, nomeadamente na indústria dos lacticínios, pelo facto de permitir recuperar e valorizar alguns resíduos da produção de queijo, como é o caso do soro de leite (Lipnizki 2010).

Os diferentes processos de separação com membranas podem ser classificados de acordo com a sua força motriz (Lipnizki 2010).

Na figura seguinte estão representados os PSM cuja força motriz é o gradiente de pressão



**Figura 8** – Comparação entre os vários processos de separação por membranas utilizados na indústria dos lacticínios, em termos de pressão de funcionamento, tamanho do poro das respetivas membranas. Adaptado de (Gösta Bylund 1995).

A Ultrafiltração e a Osmose Inversa foram os primeiros processos de separação com membranas utilizados na indústria dos lacticínios, nomeadamente na concentração do soro de leite. Dada a grande complexidade e diversidade de soro, em termos de composição, é necessário recorrer a diferentes processos de separação com membranas para se produzir um determinado produto.

A eficiência de uma dada separação é avaliada de acordo com a seletividade e o fluxo obtidos pela própria membrana, de acordo com a força motriz aplicada. Para além disto, o tipo de aplicação vai de encontro à composição e estrutura da membrana. Existem membranas adequadas para separar partículas de uma vasta gama de tamanhos (Mulder 1998).

### **2.2.1 Osmose Inversa**

Como o próprio nome sugere, a Osmose Inversa é o fenómeno oposto à Osmose. A Osmose descreve o fluxo espontâneo da água entre meios com diferentes concentrações de solutos, separados por uma membrana semipermeável. A água movimenta-se sempre de um meio menos concentrado em soluto (hipotónico) para um meio mais concentrado (hipertónico) (Rao 2011).

A Osmose Inversa é utilizada para separar solutos de baixo peso molecular, tais como sais inorgânicos ou pequenas moléculas orgânicas, como a glucose ou a sacarose. As membranas utilizadas neste tipo de processo apresentam uma estrutura mais fechada, o que provoca o desenvolvimento de uma maior resistência à permeação e faz com seja necessário operar-se a pressões mais elevadas do que as utilizadas em MF e UF (Mulder 1998).

Dados os desenvolvimentos contínuos relacionados com o processo e com as novas membranas de OI, esta tecnologia tem vindo a ser utilizada, não só, na dessalinização da água do mar e de águas salobras, mas também, na preparação de águas ultra-puras para a indústria e para fins médicos, sendo hoje em dia incorporada em muitos dos processos químicos, das indústrias farmacêutica e alimentar, como é o caso da concentração de sumos, produtos lácteos, etc.

A forte mineralização do soro de leite está na origem de numerosos problemas associados à sua transformação (por exemplo, cristalização da lactose, colmatação em PSM), assim como à sua utilização em produtos alimentares, nomeadamente em alimentação humana e infantil (Daufin, Gésan-Guiziu, Muller, et al. 1998). A Osmose Inversa é um dos processos utilizados para a remoção parcial da água do soro de leite, isto é, concentra o soro, deixando todos os outros constituintes nas mesmas proporções relativas encontradas no soro original (Antunes 2003). Para além deste, existem outros processos, tais como: a evaporação, cristalização e atomização. No entanto, na indústria dos lacticínios, a osmose inversa é a técnica de concentração mais utilizada, dadas as suas vantagens em relação, por exemplo, à evaporação, ou seja, o baixo consumo energético e a não desnaturação proteica induzida pelo calor (Mizubuti 1994).

### **2.2.2 Ultrafiltração**

A ultrafiltração do soro de leite é uma tecnologia aplicada na indústria de lacticínios desde o início da década de setenta (Daufin, Gésan-Guiziu, Muller, et al. 1998). Trata-se de uma operação unitária fundamental na produção de concentrados (CPS) e isolados proteicos (IPS) do soro de leite. A UF tem a capacidade de separar fisicamente as proteínas do soro e gordura da lactose e sais minerais (Antunes 2003). O grau de pureza dos CPS obtidos por UF varia entre 35-75% de proteínas, conforme o pré-tratamento do lactossoro e a utilização, ou não, da diafiltração (Daufin, Gésan-Guiziu, Muller, et al. 1998). O soro de leite flui, com pressão, através da membrana, a qual retém as proteínas e as gorduras, isto é, sofrem um processo de concentração, por apresentarem pesos moleculares muito superiores aos da lactose e dos sais minerais (compostos permeados através da membrana). A eliminação de lactose e sais minerais melhora a funcionalidade das proteínas (Antunes 2003).

Apesar de a UF ser um processo muito utilizado na indústria dos laticínios, note-se que a utilização deste apresenta ainda algumas limitações, nomeadamente, o fato de poderem ocorrer fenómenos de colmatação e de polarização de concentração, temas já anteriormente abordados (Daufin, Gésan-Guiziou, Muller, et al. 1998).

Para além das aplicações mencionadas anteriormente, a utilização da UF é, hoje em dia, generalizada em vários setores industriais, nomeadamente, na produção de água para consumo humano e no tratamento e recuperação de águas residuais industriais. No caso do tratamento de águas residuais, a UF apresenta a vantagem de para além da purificação da água, a qual pode ser reciclada ao processo, permitir a recuperação de subprodutos em muitos casos.

### **2.2.3 Processamento do soro de leite**

Apesar do valor nutricional apresentado pelo soro de leite, só nos últimos anos é que têm vindo a ser desenvolvidos novos processos comerciais para a fabricação de produtos à base de soro de leite de alta qualidade. Atualmente, os processos predominantes são a produção de soro de leite em pó, desmineralizado ou não, com lactose ou sem lactose.

O soro de leite deve ser processado logo após a sua colheita, caso contrário deve ser mantido em local fresco, a cerca de 5°C, de forma a que não ocorra o crescimento de bactérias. Se for legalmente permitido, o soro de leite pode também ser preservado pela adição bissulfito de sódio, tipicamente 0,4% calculado como SO<sub>2</sub>, ou peróxido de hidrogénio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), normalmente 0,2% de uma solução de 30% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Gösta Bylund 1995).

#### **2.2.3.1 Concentração e secagem (*drying*)**

O processo tradicional de concentração do soro de leite é feito recorrendo a evaporadores. Atualmente, a etapa de osmose inversa é muitas vezes incorporada no processo de concentração do lactossoro, com o intuito de se reduzirem custos na etapa de evaporação. A osmose inversa é utilizada, neste caso, apenas para pré-concentrar o soro de leite antes de este ser enviado para o consumidor final e/ou antes de ser evaporado até à concentração final pretendida. Uma das desvantagens apresentadas pelo soro de leite concentrado é a grande presença de lactose, a qual, sob determinadas condições de temperatura e concentração, pode cristalizar e tornar o concentrado tão viscoso ao ponto de nem fluir, antes mesmo de este sair do evaporador.

Após a etapa de concentração, segue-se a secagem (*drying*). O processo de secagem do soro de leite é semelhante ao do leite, ou seja, é realizado em secadores de rolos ou por *spray dryers*, sendo, hoje em dia, o processo mais comum de secagem. Uma das desvantagens apresentadas por este processo é o fato de ser difícil retirar a camada de soro de leite seco que fica retida na superfície do rolo, o qual está associado ao fato de ocorrer a formação de cristais de lactose. Antes de ser seco, o concentrado de soro de leite é então pré-tratado, de forma a minimizar os efeitos adversos apresentados pela presença de cristais de lactose. Para além da desvantagem

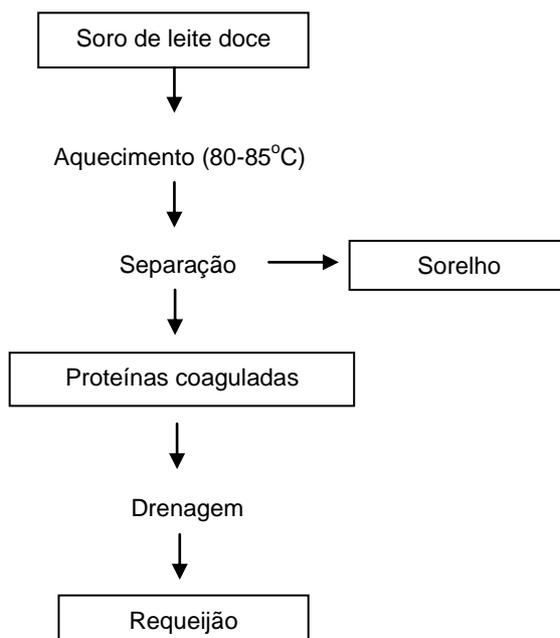
mencionadas anteriormente, a secagem por *spray drying* também apresenta algumas limitações, nomeadamente no caso do processamento de soro de leite ácido, o qual, devido à elevada concentração de ácido láctico, se torna difícil de secar, pois ocorre aglomeração e formação de grânulos no interior do secador (*spray dryer*) (Gösta Bylund 1995).

## 2.3 Tecnologias utilizadas no fabrico de requeijão

Os termos *Ricotta* (Itália), *Requesón* (Espanha) e Requeijão (Portugal) são atribuídos a queijos produzidos a partir de soro de leite (Macedo et al. 2011). A história do queijo *Ricotta* é longa e remonta à época Romana. Trata-se de um queijo muito apreciado, principalmente no sul de Itália. Dadas as controvérsias relativas ao seu processo de fabrico, nomeadamente quanto à matéria-prima utilizada (leite vs soro de leite), as estatísticas de consumo não dão uma visão realista acerca da quantidade exata de lactossoro que é usado na produção de requeijão (Jelen 1992).

### 2.3.1 Processo de fabrico tradicional de requeijão

A coagulação térmica das proteínas do soro de leite é a base do processo de fabrico tradicional de requeijão. Normalmente, a matéria prima utilizada neste processo é o soro de leite doce, isto é, obtido pelo fabrico de queijos como o *Cheddar*, *Swiss* e *Mozzarella*. Para além do lactossoro, podem ser adicionadas pequenas quantidades de leite cru (até 15%), com o intuito de se melhorar o rendimento de produção, as propriedades sensoriais e o seu valor de mercado.



**Figura 9** – Diagrama esquemático do processo de fabrico tradicional de requeijão.

O ajuste de pH, no caso de se partir de um soro doce, pode ser feito por adição de ácido cítrico ou, no caso do soro ácido, adicionando hidróxido de sódio ou bicarbonato de sódio.

Uma das desvantagens do processo tradicional de fabrico de requeijão é o longo período de tempo necessário para drenar todo o soro e a grande vulnerabilidade à contaminação e deterioração por fungos, leveduras e bactérias.

O teor de humidade do queijo obtido depende da etapa de drenagem e, conseqüentemente, todos os outros componentes podem variar consideravelmente. No caso do *Ricotta* “seco”, por exemplo, o teor de humidade final está relacionado com a capacidade de retenção da água. Apesar do *Ricotta* “seco” apresentar um teor de humidade de cerca de 60%, como se mostra na **Tabela 7**, este é caracterizado por ser quebradiço e apresentar uma consistência seca.

**Tabela 7** – Composição média dos queijos *Ricotta* fresco e seco. Adaptado de (Jelen 1992).

Tipo de produto	Composição média			
	H <sub>2</sub> O(%)	Gordura(%)	Proteína(%)	Lactose(%)
<i>Ricotta</i> fresco	68-82	4-10	7-16	3-5
<i>Ricotta</i> seco	60	5	19	4

Nos últimos anos, têm sido feitos vários estudos relativos ao desenvolvimento de novas técnicas de produção de requeijão e a nível das suas propriedades e qualidade. Atualmente, os estudos declaram que o tradicional *Ricotta* pode ser produzido a partir de soro de leite pré-concentrado por UF e com ajuste de pH entre 7-7,2 (Jelen 1992).

### 2.3.2 Utilização de concentrados proteicos, obtidos por UF de leite, para o fabrico de queijos

Hoje em dia, o processamento do leite por tecnologias de membranas é muito frequente, nomeadamente no fabrico de queijos, como é o caso do queijo *Feta*, *Mascarpone*, *Ricotta* (Requeijão) e outros queijos creme.

O uso de leite UF para a produção de queijos, juntamente com a produção de concentrados proteicos, é a aplicação mais generalizada e comum da tecnologia de membranas na indústria dos lacticínios.

São vastas as vantagens da utilização da UF como processo de concentração do leite para o fabrico de queijos, comparativamente aos métodos tradicionais utilizados. Dentre as vantagens estão as seguintes:

- i) Aumento da concentração em sólidos totais, o que faz com que o rendimento de produção dos queijos aumente e, conseqüentemente haja uma diminuição dos custos de produção em termos de energia e equipamentos;
- ii) Redução das quantidades necessárias de coagulante, durante o processo de fabrico, desde que o leite ultrafiltrado tenha uma boa capacidade de coagulação;
- iii) Redução de custos relacionados com o processo de tratamento de águas residuais;

- iv) Melhora o controle de qualidade e composição do produto final;
- v) Aumento do valor nutritivo, devido à incorporação da proteína de soro de leite no queijo.

A UF pode ser utilizada de três formas no processo de fabrico de queijos, ou seja, para pré-concentrar, para uma concentração parcial ou total. A concentração total é utilizada, por exemplo, no fabrico do queijo *Ricotta*. Neste caso, o leite (*Standardized Cheese Milk*) é concentrado em sólidos totais, através do processamento por UF, o que faz com que o rendimento máximo de produção do queijo (produto final) aumente (Lipnizki 2010).

## 2.4 Análise Sensorial e Textural

A análise sensorial é uma ciência multidisciplinar, que recorre aos órgãos dos sentidos, visão, olfato, tato, paladar e audição, para medir, analisar e interpretar as características sensoriais e a aceitabilidade de produtos alimentares e outros materiais. A análise sensorial é aplicada em muitos sectores, entre os quais, no desenvolvimento e melhoramento de produtos, no controlo de qualidade, armazenamento e desenvolvimento de novos processos (Watts et al. 1995).

Segundo Bourne (1982), os fatores de aceitabilidade sensorial dos alimentos são extremamente importantes, uma vez que um dos grandes prazeres do ser humano é comer, e trata-se de um prazer sensorial apreciado desde que a pessoa nasce.

Na avaliação da qualidade dos alimentos existem quatro fatores a ter em conta: a aparência (cor, tamanho, forma, etc.); o sabor, que inclui o gosto e o odor; a textura; e o valor nutricional (Bourne 1982).

Em muitos produtos, como o queijo e o requeijão, a textura ou as propriedades que a caracterizam, também designadas propriedades texturais, tomam particular relevância pois representam uma base essencial com um conjunto de elementos importante para a definição dos produtos e de escolha por parte dos consumidores.

### 2.4.1 Avaliação das propriedades texturais

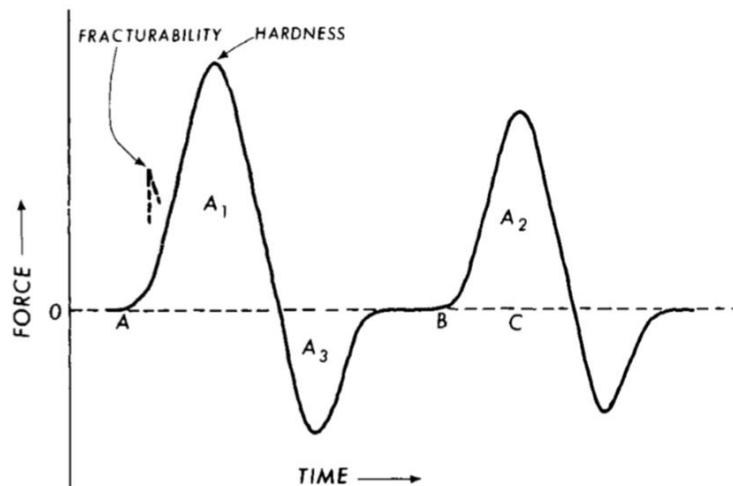
Segundo Bourne (1982), o termo “textura” deve ser encarado como um conjunto de propriedades texturais. Estas propriedades correspondem a uma grupo de características físicas, que derivam dos elementos estruturais do alimento e são detetados pela sensação do toque. Estão relacionadas com a deformação, desintegração e fluxo do alimento, quando este é submetido à aplicação de uma força, sendo medidos objetivamente em função da massa, tempo e distância.

Devida à grande variedade de alimentos e de propriedades texturais e reológicas que estes apresentam, existe uma vasta gama de métodos usados para medir essas propriedades. Como tal, têm sido classificados diferentes tipos de sistemas de avaliação textural, de acordo com o tipo de

produto a testar, por exemplo, os testes usados para cereais, carne, aves, peixe, vegetais, frutas, laticínios, gorduras, confeitaria, bebidas, leguminosas e diversos alimentos (Bourne 1982).

O texturómetro é um dos equipamentos utilizados, por exemplo, na análise das propriedades texturais do requeijão e outros queijos, através da realização de testes TPA (“Texture profile analysis”). Este tipo de equipamento caracteriza-se pela capacidade de medir diversas variáveis, sob condições controladas, como é o caso da adesividade, coesividade, dureza, elasticidade, gomosidade a mastigabilidade do alimento. O teste TPA, também comumente designado por “teste das duas dentadas”, ocorre em dois ciclos de compressão ou penetração sucessivos, com uma pausa de 5 s entre cada um, e simula, dum ponto de vista reológico, as sensações de mastigação e deglutição (Bourne 1982).

A **Figura 10** representa uma curva típica obtida por um texturómetro, durante a realização de um teste TPA.



**Figura 10** – Curva típica obtida num texturómetro, durante a realização de um teste TPA (Bourne 1982).

De acordo com a figura acima apresentada, define-se dureza como a força máxima registada no primeiro ciclo de compressão, para se obter a deformação desejada, e é expressa no sistema SI em newtons. A coesividade (adimensional) está associada às forças internas de ligação, responsáveis pela estrutura do alimento, e é traduzida pela razão entre as áreas  $A_2$  e  $A_1$ , as quais representam os trabalhos realizados sobre a amostra durante as duas compressões. Relativamente à área  $A_3$ , representa a adesividade (N.m) e define-se como o trabalho a realizar e necessário para vencer as forças de atração entre a superfície da amostra e as superfícies com as quais esta contacta durante o ensaio.

## 2.5 Enquadramento do tema e objetivos da dissertação

Atualmente, em alguns países como a Itália, Espanha e Portugal, parte da produção de soro de leite de ovelha destina-se ao fabrico de queijos como o *Ricotta*, *Requesón* e Requeijão, respetivamente, após ser processado. O processo tradicional de fabrico de requeijão conduz à produção de soro, o qual contém aproximadamente 60% da matéria seca inicialmente presente no lactossoro. Nesta matéria seca predomina a presença de lactose e sais minerais, os quais tornam o soro numa ameaça para o meio ambiente, devido à sua elevada carga orgânica (Pereira et al. 2002).

O uso de tecnologias de membranas no processamento de soro de leite de vaca, para concentrar e purificar os seus componentes, é hoje em dia comum e apresenta um crescente interesse económico, devido ao baixo consumo energético, em relação aos processos convencionais, e por se tratar de uma tecnologia “limpa”, ou seja, não prejudicial para o meio ambiente. No entanto, a falta de uniformidade na composição dos concentrados obtidos, bem como a presença de gordura nos mesmos, pode restringir a utilização deste tipo de tecnologia (Pereira et al. 2002).

Dada a carência de investigação e desenvolvimento científico-tecnológico relativo ao aproveitamento do soro de leite de mistura (vaca, cabra e ovelha), em oposição à grande valorização e vastos estudos dedicados ao aproveitamento do soro de leite de vaca, é evidente a importância de se criarem alternativas para o aproveitamento adequado do mesmo, nomeadamente quanto à produção de requeijão, proporcionando em simultâneo a possibilidade de ganhos tanto a nível ambiental como de rentabilidade de processo.

Por outro lado, o fabrico de requeijão engloba, em geral, enormes gastos energéticos, para aquecimento do soro necessário para a coagulação da proteína, com rendimentos de transformação muito baixos (3-5%), previsíveis dado o baixo teor em sólidos do soro, designadamente no que se refere à proteína.

De acordo com o que foi exposto anteriormente, esta dissertação visa contribuir para uma melhoria do conhecimento atual sobre a otimização dos processos de membranas, nomeadamente a ultrafiltração, conducente ao desenvolvimento de um novo processo de produção de requeijão, a partir de soro de leite de mistura concentrado por osmose inversa e ultrafiltração, na perspetiva do aumento do rendimento do fabrico e da diminuição dos custos energéticos do mesmo.

Consideram-se os seguintes objetivos principais do trabalho:

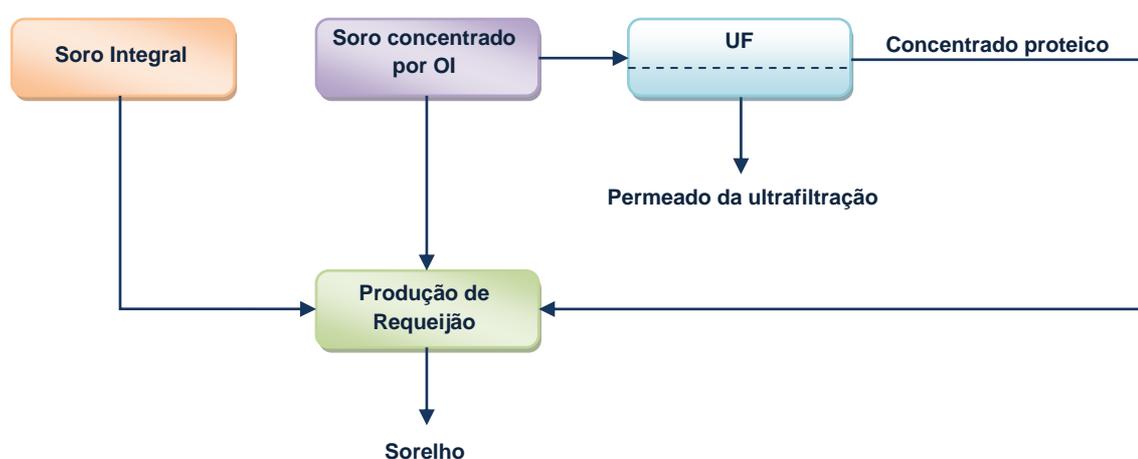
1. Otimização do processo de ultrafiltração para concentração do soro de leite de mistura;
2. Investigar a viabilidade técnica de se usarem concentrados obtidos por osmose inversa, seguida de ultrafiltração, na produção de requeijão;
3. Estudar a influência da concentração por OI/UF no aumento do rendimento de produção de requeijão;
4. Avaliação preliminar das propriedades dos requeijões obtidos a partir dos concentrados.



### 3 PARTE EXPERIMENTAL

O trabalho experimental desenvolvido envolveu várias etapas, tais como: caracterização físico-química do soro de leite inteiro e do soro de leite pré-concentrado, obtido por osmose inversa; realização de ensaios de ultrafiltração com soluções de referência (caracterização da membrana); ultrafiltração do soro de leite pré-concentrado por OI, para obtenção de concentrados proteicos e de permeados com carga orgânica reduzida, tendo sido feita a respetiva caracterização físico-química; e, por fim, a produção de requeijões a partir dos soros inteiro e pré-concentrado por OI, e dos concentrados proteicos resultantes da OI/UF.

Na **Figura 11** apresentam-se as diferentes etapas efetuadas ao longo do presente trabalho.



**Figura 11** - Diagrama esquemático das operações e fluidos envolvidos no trabalho experimental.

#### 3.1 Matéria-prima

##### 3.1.1 Soro de leite

As amostras dos soros de leite de mistura (vaca, cabra e ovelha) integral e pré-concentrado por OI, utilizadas como matéria-prima, foram cedidas pela Unidade Produtiva de Torres Vedras da empresa Portuguesa *Queijo Saloio S.A.*

Todas as amostras foram conservadas numa câmara de refrigeração a 4°C, após adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Campbell et al. 2012).

## 3.2 Equipamento

### 3.2.1 Instalação de permeação

A instalação piloto de ultrafiltração, fornecida pela *Danish Separation Systems* (DSS), é constituída por um tanque de alimentação; por uma válvula de “bypass”, que controla o caudal de circulação de alimentação; uma bomba de alta pressão; um permutador de calor; um módulo de membranas; dois manómetros (à entrada e saída do módulo de membranas) e uma válvula de *back-pressure*. Este equipamento apresenta uma grande versatilidade, uma vez que pode operar com membranas de UF, NF e OI, sendo apenas necessário trocar os módulos de membranas e os manómetros, mediante a gama de pressões a que se pretende operar.



Figura 12 – Instalação piloto de permeação.

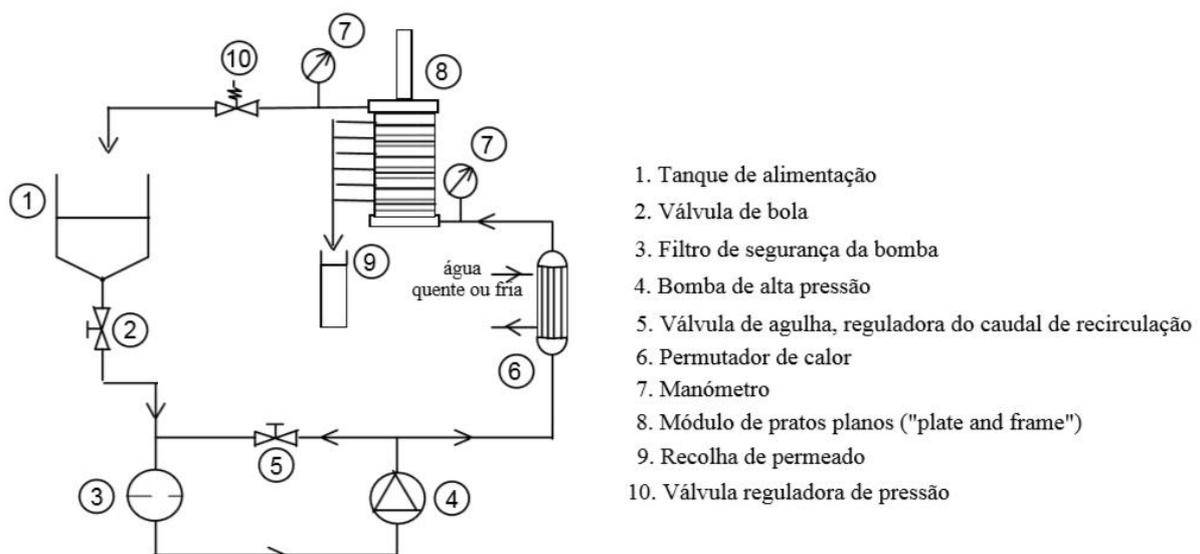
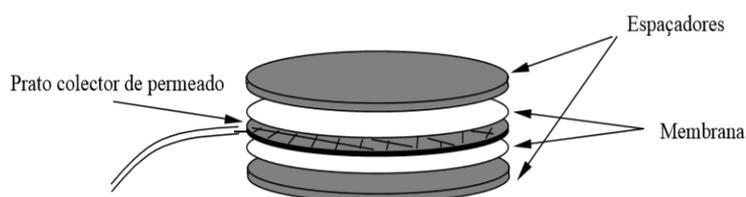


Figura 13 – Representação esquemática da instalação de permeação.

É fundamental o controlo de determinadas variáveis operatórias durante os ensaios, nomeadamente a temperatura, pressão e a velocidade de circulação. A temperatura é controlada pelo permutador de calor e por uma sonda de temperatura. A pressão transmembranar é dada pela média das pressões registadas pelos dois manómetros (entrada e saída), sendo possível operar desde 0 bar até 60 bar. Por fim, a homogeneização é garantida pela corrente de recirculação da alimentação ao tanque.

O módulo de membranas de pratos planos (*plate and frame*) é constituído pelo seguinte empilhamento: i) um prato coletor de permeado, onde em cada uma das suas faces é colocada uma membrana. Esta tem sempre a camada porosa assente no prato e a camada ativa para fora; ii) dois pratos espaçadores, que funcionam como câmaras de alimentação. Estes espaçadores têm 0.5 mm de altura e estão subdivididos em 30 canais, de forma a aumentar a velocidade tangencial sobre as membranas e, assim, favorecer a transferência de massa na camada adjacente à membrana. A **Figura 14** ilustra o esquema das secções.



**Figura 14** – Unidade básica do módulo de membranas da instalação de permeação.

A unidade possui um sistema hidráulico que permite comprimir o módulo de pratos planos, tornando-o perfeitamente estanque.

Dado que a área superficial de cada membrana é 0.018 m<sup>2</sup>, o número de pratos utilizado permite determinar a área superficial de membrana total, a qual poderá variar entre 0,036 m<sup>2</sup> (1 prato) até 0,72 m<sup>2</sup> (20 pratos). Em todos os ensaios operou-se a uma velocidade máxima de circulação (0,94 m/s) (Macedo et al. 2011).

### 3.2.2 Membranas

Para proceder à concentração do soro de leite por UF utilizaram-se membranas do tipo GR95PP, fornecidas pela *Alfa Laval*, cujas características e condições operatórias definidas pelo fabricante são apresentadas na tabela seguinte.

**Tabela 8** - Características e condições operatórias para as membranas de UF definidas pelo fabricante.

Referência da membrana	Material	MWCO (Da)	pH	Pressão (bar)	Temperatura (°C)
GR95PP	<i>Polyethersulphone</i>	2000	1-13	1-10	0-75

### 3.3 Procedimento experimental

#### 3.3.1 Modo de operação da instalação de permeação

As etapas a seguir durante os ensaios são as seguintes: arranque da instalação; período de estabilização das condições operatórias; período de recolha de amostras e paragem da instalação (*vide Figura 13*).

i) Arranque:

Antes de se colocar a bomba de alta pressão (4) em funcionamento, é necessário ligar a água de refrigeração da mesma; abrir as válvulas 2, 5 e 10; verificar se os tubos relativos ao permeado e à alimentação se encontram desbloqueados e devidamente colocados no tanque de alimentação. É importante verificar se o volume colocado no tanque de alimentação é o suficiente para que não ocorra a paragem da bomba devido à entrada de ar no sistema. Em seguida, dar duas voltas completas à válvula 10, deixando-a semi-aberta, de modo a garantir uma pressão no sistema de cerca de 2 a 3 bar, à velocidade máxima de circulação, isto é, com a válvula 5 completamente fechada. Este procedimento é importante para evitar que as membranas sejam sujeitas a grandes pressões e eventuais danos estruturais. Posto isto, ligar a bomba 4 e fechar lentamente a válvula 5, para ajustar a velocidade de circulação. Por fim, ajustar a pressão do sistema, através da válvula 10, e ligar a água de refrigeração do permutador de calor, caso se pretenda manter a temperatura da alimentação próxima dos 25°C.

ii) Estabilização das condições operatórias:

O sistema deve ser mantido em modo de recirculação total (com os tubos relativos ao permeado e à alimentação colocados no tanque de alimentação) durante cerca de 30 minutos, para garantir a estabilização das condições operatórias em todo o sistema, ou seja, a pressão, temperatura, caudal de circulação da alimentação e concentração das correntes de alimentação e permeado.

iii) Período de recolha das amostras:

Após a estabilização do sistema, segue-se o período de recolha do permeado, sendo cronometrado e registado o tempo de permeação. O fluxo volumétrico de permeação ( $J_v$ ) é obtido através da seguinte equação:

$$J_v(\text{m} \cdot \text{s}^{-1}) = \frac{V_p(\text{m}^3)}{t(\text{s})A_m(\text{m}^2)}$$

**Equação 16**

Onde, ( $V_p$ ) é o volume de permeado recolhido, ( $t$ ) o tempo de permeação gasto e ( $A_m$ ) a área útil da membrana

O volume de permeado recolhido depende do volume mínimo necessário para análise e do volume máximo de amostra que pode ser retirado, sem que ocorram variações na concentração da solução de alimentação.

Os ensaios podem ser efetuados em modo de recirculação total ou de concentração. Em recirculação total o permeado é redirecionado para o tanque de alimentação, com o intuito de se manter a concentração da alimentação constante ao longo do tempo. Relativamente ao modo de concentração, o permeado é continuamente recolhido e, como tal, o volume de alimentação diminui ao longo do tempo, concentrando a solução de alimentação. E através do FCV que se quantifica o grau de concentração (**Equação 4**)

Note-se que entre a recolha e a análise as amostras foram conservadas numa câmara frigorífica a 4°C.

iv) Paragem da instalação:

Após a recolha da amostra final de alimentação despressuriza-se gradualmente o sistema, abrindo lentamente a válvula 10, e reduz-se o caudal de circulação, abrindo lentamente a válvula 5. Por fim, desliga-se a bomba 4 e a água de refrigeração.

### **3.3.2 Condicionamento e compactação das membranas de ultrafiltração**

As membranas, antes de serem utilizadas, são imersas em água, por um período mínimo de 24h, com o intuito de se remover os resíduos de aditivos usados durante o seu fabrico.

Durante o processo de montagem das membranas nas células, e de forma a proteger as mesmas, coloca-se uma folha de papel de filtro entre a membrana e a placa. Posto isto, seguem-se as fases de condicionamento e compactação das membranas.

Após a montagem das membranas no módulo, estas são lavadas com água desionizada, durante uma hora, a uma temperatura compreendida entre 30 a 55°C, a baixas pressões e à velocidade de circulação máxima. Em seguida, efetua-se uma nova lavagem com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH), com valores de pH compreendidos entre 8,5 a 10,5. Por fim, lavam-se as membranas com água limpa, até que o pH das correntes de permeado e concentrado seja igual.

Antes de se proceder à caracterização da membrana e, conseqüentemente, aos ensaios experimentais com o soro de leite é necessário efetuar a compactação da membrana. Esta etapa tem como objetivo minimizar as alterações da estrutura das membranas, devido às pressões a que estas são sujeitas, e obter um fluxo de água independente do tempo. Deste modo, a compactação consiste na permeação de água desionizada, em modo de recirculação total, num período de três horas, a uma pressão 20% superior à pressão de operação máxima a utilizar nos ensaios posteriores.

### **3.3.3 Lavagem e desinfeção das membranas**

A lavagem/desinfeção das membranas GR95PP, antes e depois dos ensaios, decorreu de acordo com o procedimento indicado pelo fabricante, no qual se respeitam os limites de pressão (1 bar), temperatura (30-55°C), pH entre 8,5-10 (após adição de NaOH) e concentrações. A lavagem é efetuada em modo de recirculação total e, no caso de se tratar de uma lavagem apenas com água

desionizada, a condutividade da mesma deve ser inferior a 10  $\mu\text{S}/\text{cm}$  e o processo deve ser realizado a uma temperatura de cerca de 45°C durante, pelo menos, duas horas. O fluxo de permeação deve ser medido após o arrefecimento da solução, quando esta se encontrar a temperatura de cerca de 25°C. Só se aplicou o procedimento completo entre os ensaios em que se utilizaram as amostras de soro de leite, não tendo sido necessário nos casos de permeação das soluções de referência, onde a lavagem apenas com água desionizada foi eficaz na recuperação da permeabilidade hidráulica inicial (recuperação de, pelo menos, 90% do fluxo inicial de permeação). No caso de a lavagem apenas com água não ser suficiente, recorre-se ao uso de detergentes, por exemplo o Ultrasil 10 (0,1%), durante 15 minutos a 45°C.

### 3.3.4 Caracterização das membranas de ultrafiltração

A caracterização das membranas tem como objetivo a determinação dos parâmetros relativos à estrutura e eficiência da membrana, ou seja, a permeabilidade hidráulica, taxas de rejeição a solutos de referência e o *molecular weight cut-off* (MWCO).

#### 3.3.4.1 Permeabilidade hidráulica

A determinação deste parâmetro, após a compactação da membrana, é obtida através da representação do fluxo de permeação ( $J_p$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ), correspondendo ao declive desta representação linear, com ordenada na origem nula, de acordo com a **Equação 1**. Experimentalmente, a determinação da permeabilidade hidráulica das membranas de UF foi realizada medindo os fluxos de permeação da água desionizada, a várias pressões transmembranares (entre 1 e 8 bar), à temperatura de 25°C e à velocidade máxima de circulação.

#### 3.3.4.2 Rejeição a solutos de referência

A seletividade é uma das características mais importantes das membranas correspondendo à capacidade de uma membrana rejeitar preferencialmente um determinado soluto. Existem diferentes tipos de rejeição: aparente ou observada ( $f_A$ ), intrínseca ( $f'_A$ ) e real ( $f''_A$ ). Experimentalmente é possível determinar-se a rejeição aparente ( $f_A$ ), sendo esta em função do soluto, da membrana, da pressão aplicada e da hidrodinâmica do sistema. A respetiva determinação é feita a partir das concentrações do soluto no seio da solução de alimentação ( $C_r$ ) e no permeado ( $C_p$ ), de acordo com a **Equação 3**. Para além disto, é fundamental conhecer-se a rejeição aparente de determinados solutos, neste caso dos Polietilenoglicóis (PEG's 1000, 4000 e 6000), para se poder determinar o MWCO da membrana.

A determinação dos coeficientes de rejeição aparente dos solutos orgânicos de referência foi obtida através da análise ao carbono orgânico total (TOC), presente nas soluções de alimentação e

permeado. Para tal, utilizou-se um aparelho da marca *DOHRMANN (Dohrmann Carbon Analyser)*. Quanto à determinação dos coeficientes de rejeição aparente dos sais, procedeu-se à análise das condutividades das soluções de alimentação e permeado.

Nos ensaios de caracterização das membranas utilizaram-se soluções aquosas (500ppm) dos seguintes sais e solutos orgânicos de referência: Cloreto de sódio – NaCl (99 %) da *Panreac*; Sulfato de sódio – Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (99 %) da *Scharlau Chemie S.A.*; CaCl<sub>2</sub> da *Merck*; e Lactose monohidratada da *Merck*). As especificações dos PEG's encontram-se na tabela seguinte. Todos os ensaios foram realizados à pressão de 4 bar, a 25°C e à velocidade máxima de circulação.

**Tabela 9** - Especificação dos PEG's utilizados na caracterização das membranas de UF.

<b>Soluto</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>P.M.(Da)</b>	<b>Pureza</b>	<b>Marca</b>
PEG 1000		950-1050		
PEG 4000	HO(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O) <sub>n</sub> H	3500-4500	para síntese	<i>Merck</i>
PEG 6000		5000-7000		

### 3.3.4.3 Determinação do *Molecular Weight Cut-Off (MWCO)*

A determinação do MWCO foi efetuada recorrendo ao perfil de rejeição a solutos orgânicos de referência (PEG's), os quais apresentam estrutura semelhante e P.M. conhecidos. O MWCO indica a massa molecular de soluto cuja rejeição é superior a 91 % (ou a 95 % ou a 100 %). Por uma questão de precisão opta-se por fazer uma representação gráfica de  $\log(f/(1-f))$  vs. P.M., para os diferentes solutos de referência, sendo que o MWCO é determinado através da intersecção da referida reta com a reta  $\log(f/(1-f)) = 1$ .

### 3.3.5 Ultrafiltração do soro de leite

A ultrafiltração do soro de leite concentrado por OI envolveu a realização de ensaios em modo de recirculação (em que o concentrado e permeado são recirculados ao tanque de alimentação) e ensaios em modo de concentração, em que o permeado é recolhido, o que permite a concentração da alimentação.

O objetivo do ensaio em modo de recirculação total foi selecionar a condição operatória de pressão transmembranar.

Os ensaios em modo de concentração foram realizados com o objetivo de se analisar a influência do FCV na eficiência da operação, isto é, em termos de fluxos de permeação, e também na composição dos concentrados proteicos utilizados para a produção de requeijão.

### **3.3.5.1 Ensaio em modo de recirculação total**

#### **3.3.5.1.1 Variação dos fluxos de permeação em função da variação da pressão de funcionamento**

O ensaio foi realizado a várias pressões transmembranares (entre 1-40 bar), a uma velocidade de circulação máxima e constante e temperatura à volta dos 25°C. Determinaram-se os fluxos volumétricos de permeado a cada uma das pressões, de acordo com o procedimento descrito em iii) da **secção 3.3.1**, tendo sido estipulado o tempo de estabilização de 30 minutos a cada mudança de pressão.

### **3.3.5.2 Ensaio em modo de concentração**

#### **3.3.5.2.1 Variação dos fluxos de permeação em função do FCV**

A influência do fator de concentração sobre os fluxos de permeado foi analisada através da realização de dois ensaios de concentração (FCV=2), nos quais se recolheram amostras de concentrados e permeados. Estes ensaios foram todos realizados à pressão transmembranar de 12 bar, à velocidade máxima de circulação, à temperatura de cerca de 25°C. A área de membrana utilizada foi 0.072 m<sup>2</sup>, correspondente à utilização de dois pares de membranas de área unitária 0.018 m<sup>2</sup>. O FCV foi calculado de acordo com a **Equação 4**.

Recolheram-se concentrados e permeados para o fator de concentração já mencionado, nos quais se determinou a concentração de proteína bruta, lactose, sólidos totais, cinza, cloretos, matéria gorda e alguns minerais. Os concentrados finais destes ensaios (FCV=2) foram utilizados para fabrico de requeijão.

### **3.3.6 Métodos analíticos**

As amostras de soro de leite inteiro e concentrado por OI e OI/UF foram caracterizadas em termos físico-químicos. Dado não existirem normas específicas para a caracterização do lactosoro, adaptaram-se as normas referentes ao leite. Foram efetuadas as seguintes análises físico-químicas: Acidez, pH, lactose, sólidos totais, azoto total e proteína bruta, cinza, matéria gorda, sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e cloretos.

A acidez das amostras de soro foi determinada com base na Norma Portuguesa NP-470 (1983). O pH foi medido num potenciómetro de bancada (Metrohm), com um elétrodo de vidro combinado, à temperatura de referência de 25°C. O azoto total foi determinado pelo método de referência de *Kjeldahl*, sendo a proteína bruta calculada a partir da determinação do azoto total, multiplicando a concentração deste pelo fator 6.38, de acordo com a Norma Portuguesa NP-1986 (1991). A concentração de lactose foi obtida por cálculo, de acordo com o balanço seguinte:

$$\text{Lactose} = \text{Sólidos Totais} - \text{Proteína} - \text{Cinza}$$

#### **Equação 17**

Nos ensaios com os solutos de referência, a lactose foi determinada através da carência química de oxigênio (CQO), uma vez que a concentração de lactose utilizada nestes ensaios é baixa. Os teores em sólidos totais (ou resíduo seco) foram determinados através do procedimento descrito na Norma Portuguesa NP-475 (1983) e o teor em matéria gorda foi determinado pelo método de Gerber, de acordo com a Norma Portuguesa NP-469 (1983). A determinação da cinza total foi feita com base na Norma Portuguesa NP-477 (1983). O teor em cloretos foi determinado por argentimetria, segundo o processo de Charpentier-Volhard, de acordo com a NP – 471 (1983), enquanto o teor de outros elementos minerais, tais como o fósforo, sódio, potássio, cálcio e magnésio, foram determinados a partir do resíduo de cinza, após tratamento deste com solução de ácido clorídrico (6N), a quente, com posterior filtração; os elementos minerais foram doseados na solução, no Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva (INIAV), por ICP-OES (Thermo, Unicam, Mod.ÍRIS Intrepid II XSP Radial).

### **3.3.7 Produção de requeijão a partir de soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF**

A metodologia tipo utilizada para a produção de requeijão foi a que a seguir se refere para o soro integral, tendo que ser adaptado em função das características e da disponibilidade dos diferentes tipos de matéria-prima.

O soro integral (3L) foi aquecido até aos 90°C, em placa de aquecimento, com agitação suave. A esta temperatura observou-se a formação de flocos, pelo que a agitação foi desligada e o aquecimento reduzido e prolongado durante aproximadamente 2 minutos. Após este tempo, a massa resultante foi filtrada através de panos de algodão, deixando-se a escorrer durante cerca de 24 horas, sob condições de refrigeração, a 4°C. O requeijão obtido foi então pesado, numa balança técnica, para posterior determinação do rendimento do processo.

No processo de produção dos requeijões a partir dos concentrados obtidos por OI e OI/UF (FCV=2) foi necessário proceder-se a um ajuste de pH, para cerca de 6, recorrendo à adição de NaOH (1N), antes de se avançar com o aquecimento (90°C) e o restante procedimento, uma vez que os soros concentrados apresentavam um pH ligeiramente mais baixo (pH próximo de 5) e isso, conjugado com os elevados teores em lactose poderia, segundo Garret et al. (1988), comprometer a coagulação térmica.

No caso da produção dos requeijões obtidos a partir do soro de leite concentrado por OI foi utilizado um volume de 1,35 L de matéria-prima e no caso do concentrado por OI/UF, 2L de soro.

### 3.3.7.1 Composição físico-química e propriedades texturais dos requeijão

#### 3.3.7.1.1 Métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química do requeijão

Os métodos analíticos utilizados na caracterização físico-química dos requeijões foram idênticos aos usualmente utilizados para queijo.

O resíduo seco foi determinado de acordo com o processo descrito na Norma Portuguesa 3544 (1987). A cinza foi determinada de acordo com o processo descrito em AOAC (1990). O teor em lactose foi determinado de acordo com a Norma Portuguesa 2104 (1988), o teor em azoto total foi determinado pelo método de Kjeldahl, de acordo com a Norma Portuguesa 1986 (1991), e o teor em matéria gorda foi determinada de acordo com a Norma Portuguesa 2105 (1983). O teor em cloretos foi determinado por argentimetria, segundo o processo descrito na norma FIL088/ISO5943 (2006) e os elementos minerais foram determinados a partir da cinza, seguindo a mesma metodologia já descrita para o caso do soro.

#### 3.3.7.1.2 Métodos analíticos utilizados na avaliação das propriedades texturais dos requeijões

As propriedades texturais dos requeijões foram analisadas num texturómetro, do tipo TA-HDi *texture analyser*, *Stable Microsystem*, com sonda de penetração de aço inox, 5mm de diâmetro, a qual penetrou a amostra até 50% da altura da amostra, a uma velocidade de  $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ . (vide **Figura 15**), através da realização de testes TPA (*Texture profile analysis*). O teste TPA ocorre em dois ciclos de compressão ou penetração sucessivos, separados por uma pausa de 5 s. Designa-se vulgarmente por “teste das duas dentadas” (*two bite test*) porque simula, dum ponto de vista reológico, as sensações durante a mastigação e a deglutição. Foram analisados dois requeijões por ensaios, com quatro “dentadas” cada um.



**Figura 15** – Texturómetro utilizado na determinação das propriedades texturais dos requeijões.

### 3.3.7.2 Rendimento do processo de fabrico do requeijão

A avaliação do rendimento do processo de fabrico dos requeijões, a partir dos concentrados proteicos e do soro integral (método tradicional), foi feita em termos de quantidade (Kg) de produto final obtida por 100 litros de soro de leite (% m/v) tendo a pesagem do requeijão sido obtido após 24 horas, para equilíbrio da composição final.

Os resultados foram obtidos através da seguinte equação, expressa em percentagem:

$$\eta_{\text{requeijão}} (\%) = \frac{\text{Peso Requeijão (Kg)} \times 100}{\text{vol. soro}}$$

**Equação 18**



## 4 RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÃO

### 4.1 Composição físico-química do soro de leite

O soro integral estudado, de mistura de leite de diferentes espécies (vaca, cabra e ovelha), é considerado um soro doce (pH próximo de 6). Comparando os resultados obtidos (*vide Tabela 10*) com os dados da literatura, relativamente ao soro de leite de vaca (*vide Tabelas 3, secção 2.1.2*), verifica-se que existem pequenas diferenças entre os valores, nomeadamente dos sólidos totais (resíduo seco), proteína, gordura, lactose e cinza. Estas diferenças poderão estar relacionadas com a composição dos leites (cabra, vaca e ovelha) de origem e/ou com os processos de fabrico do queijo, do qual resultou o lactossoro.

Relativamente à composição mineral, constata-se que, tanto no soro de leite analisado (*vide Tabela 10*) como no soro de leite de vaca (*vide Tabela 5, secção 2.1.2*), o potássio ( $1320 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) e os cloretos (expressos em NaCl,  $3200 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) são os sais minerais predominantes. Este resultado pode ser explicado pela adição de cloreto de sódio ao leite durante o processo de fabrico do queijo a que lhes deu origem. Para além deste fato, verifica-se que existem apenas pequenas diferenças entre os resultados obtidos (*vide Tabela 10*) e os referenciados na literatura (*vide Tabela 5, secção 2.1.2*), sendo que os resultados encontrados na literatura apresentam valores ligeiramente superiores, à exceção dos cloretos, em que se verifica o contrário.

**Tabela 10** – Composição média dos soros de leite de mistura integral e concentrado por OI.

<b>Parâmetros analisados</b>	<b>Soro Integral</b>	<b>Soro concentrado por OI</b>
pH	6,38	5,71
Acidez (ml NaOH N/L)	14,8	54,70
Proteína Bruta (g/100g)	0,67	2,13
Cinza (%)	0,44	1,35
Cloretos (g NaCl/100g)	0,32	0,59
Matéria Gorda (g/100g)	0,75	0,30
Resíduo Seco (%)	6,25	17,00
Lactose (%)	4,39	13,22
Cálcio (mg/100g)	30	97,67
Fósforo (mg/100g)	30	97,33
Sódio (mg/100g)	41	116,67
Potássio (mg/100g)	132	501,00
Magnésio (mg/100g)	7	21,33

Comparando os resultados obtidos para a composição do soro de leite de mistura integral com os do soro de leite de mistura concentrado por OI (*vide Tabela 10*) verifica-se, em primeiro lugar, que o soro concentrado por OI apresenta um valor de pH inferior (cerca de 5,7) ao do soro integral, bem como uma maior acidez, devido sobretudo ao aumento de concentração da proteína, a qual triplicou. Tal como foi referenciado anteriormente, a Osmose Inversa é um dos processos utilizados para a remoção parcial da água do soro de leite, isto é, concentra o soro, deixando todos os outros constituintes nas mesmas proporções relativas encontradas no soro original (Antunes 2003).

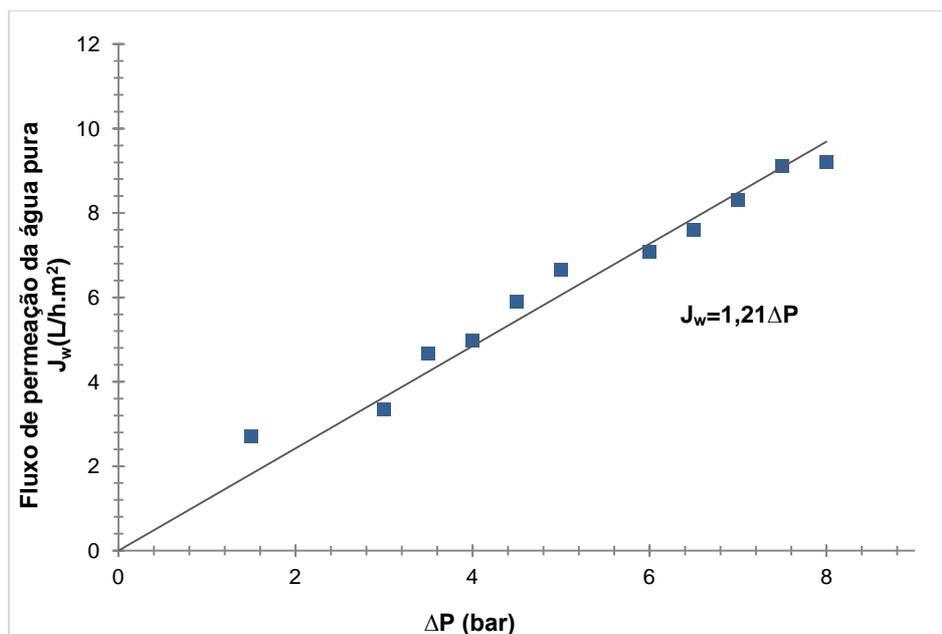
Este fato é comprovado pelos resultados obtidos (*vide Tabela 10*), uma vez que se verifica, realmente, um aumento generalizado de concentração dos componentes do soro de leite após sofrer concentração por OI. Realça-se apenas o fato de haver uma redução da concentração de matéria gorda. Esta redução é facilmente explicada pelo tratamento prévio do soro imediatamente antes de sofrer o processo de concentração por OI. Como na generalidade dos processos que utilizam membranas, a concentração por OI na empresa que cedeu o soro para este trabalho é precedida de uma separação da gordura por centrifugação.

## **4.2 Caracterização da membrana**

Nesta secção é apresentado o tratamento de dados utilizado para a determinação da permeabilidade hidráulica, das rejeições a solutos de referência e do limite de exclusão molecular (MWCO) relativas à membrana utilizada para ultrafiltração.

### **4.2.1 Determinação da permeabilidade hidráulica**

A determinação da permeabilidade hidráulica ( $L_p$ ) é feita com base na variação do fluxo de permeação da água desionizada ( $J_w$ ) em função da aplicação de diferentes pressões transmembranares (1,5-8 bar). Da representação gráfica feita com base nos resultados obtidos obteve-se, por regressão linear, o respetivo declive da reta, que corresponde à permeabilidade hidráulica característica da membrana utilizada (GR95PP).



**Figura 16** - Fluxo de permeação da água pura ( $J_w$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ). Membrana: GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima.

Assim, a membrana GR95PP apresenta uma permeabilidade hidráulica ( $L_p$ ) de 1,21 Kg.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup>.

#### 4.2.2 Rejeição a sais e a solutos orgânicos de referência

A determinação das rejeições aparentes a sais e solutos orgânicos de referência é outro dos parâmetros característicos de cada membrana e de grande relevância. Foi através da permeação das soluções aquosas de NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, lactose e PEG's 1000, 4000 e 6000 que se determinaram as respectivas rejeições aos solutos mencionados.

Os resultados obtidos em termos de rejeições aparentes encontram-se nas **Tabelas 11 e 12**.

**Tabela 11** - Rejeições aparentes,  $f_A$ , aos sais NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub> e à Lactose. Membrana: GR 95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 4 bar; Temperatura: 25°C; velocidade máxima de circulação; Concentração de soluto: 500 ppm.

Solutos de referência	$f_A$ (%)
NaCl	13
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	70
CaCl <sub>2</sub>	0,5
Lactose	18

\*As equações das retas de calibração determinadas para cada um dos solutos de referência encontram-se no **Anexo A**.

Relativamente às rejeições aparentes aos sais, verifica-se que o CaCl<sub>2</sub> apresenta uma rejeição praticamente nula, ou seja, a membrana utilizada (GR95PP) é totalmente permeável a este

sal. Em contrapartida, o Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> apresenta uma rejeição aparente elevada, na ordem dos 70%, o que significa que a membrana utilizada permeia pouco o sal em questão. Quanto ao NaCl e à lactose, estes apresentam rejeições aparentes relativamente baixas, mas ainda assim o suficiente para que parte destes fique retida, ou seja, que ocorra alguma concentração dos mesmos durante o processo de UF.

**Tabela 12** - Rejeições aparentes,  $f_A$  aos solutos de referência PEG (1000, 4000 e 6000 Da). Membrana: GR 95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 4 bar; Temperatura: 25°C; velocidade máxima de circulação; Concentração de soluto: 500 ppm.

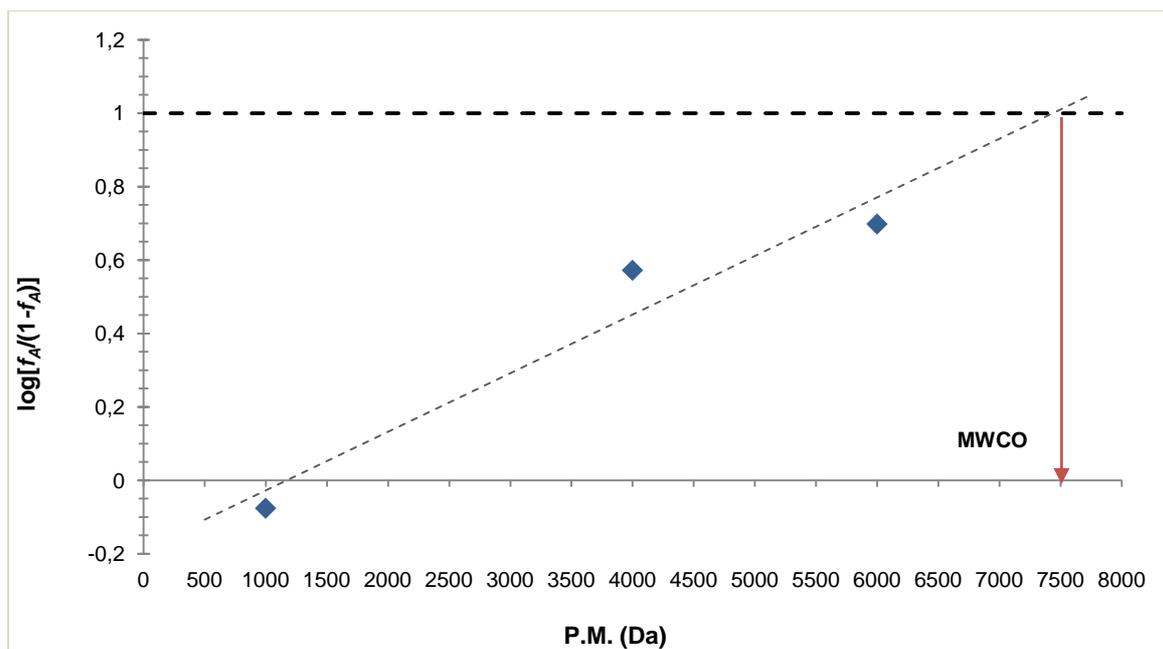
PEG (Da)	$f_A$ (%)
1000	46
4000	79
6000	83

\*As equações das retas de calibração determinadas para cada um dos solutos de referência encontram-se no **Anexo B**.

Analisando os resultados obtidos, presentes na **Tabela 12**, constata-se que os fatores de rejeição aparente dos respectivos PEG aumentam linearmente em função do aumento do seu peso molecular, como seria de esperar.

#### 4.2.3 Determinação do MWCO

A determinação do MWCO é realizada com base nas rejeições aparentes aos solutos orgânicos de referência, polietilenoglicóis (PEG's), de pesos moleculares crescentes (*vide Tabela 12*). O MWCO é obtido pela intersecção da curva de rejeição ( $f_A$ ) em função do peso molecular (P.M.). No entanto, com o intuito de se obter uma maior precisão opta-se por representar  $\log(f_A/(1-f_A))$  em função do P.M. para os diferentes solutos orgânicos de referência (PEG 1000, 4000 e 6000). Assim, o MWCO é determinado através da intersecção da reta  $\log(f_A/(1-f_A))$  vs. P.M. com a reta  $\log(f_A/(1-f_A)) = 1$ .



**Figura 17** - Determinação do limite de exclusão molecular (MWCO). Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 4 bar; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima.

Deste modo, o MWCO obtido para a membrana GR95PP é de 7500 Da. Verifica-se, assim, que o valor obtido experimentalmente é discrepante do valor indicado pelo fabricante (2000 Da). Esta diferença pode dever-se à utilização de condições experimentais distintas e/ou métodos diferentes de determinação, os quais não são indicadas no catálogo do fabricante.

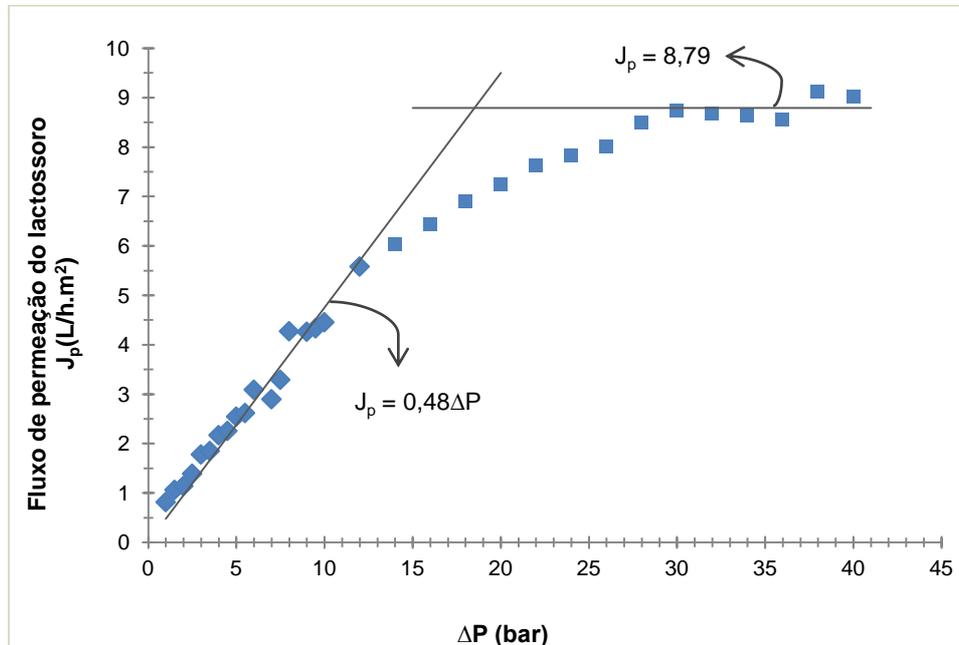
### 4.3 Ultrafiltração do soro de leite

#### 4.3.1 Ultrafiltração em modo de recirculação total

O ensaio em modo de recirculação total (i.e., recirculação do concentrado e do permeado ao tanque de alimentação) tem como objetivo principal o estudo da influência da pressão transmembranar aplicada nos fluxos de permeação do soro de leite. Optou-se por operar à velocidade máxima possível de circulação, neste caso 0,94 m/s (Macedo et al. 2011), de forma a minimizar o efeito de polarização de concentração e a consequente perda de eficiência das membranas. Para velocidades baixas de circulação o efeito de polarização de concentração é mais acentuado, podendo levar à colmatação das membranas, a qual está associada a um decréscimo adicional dos fluxos de permeação ao longo do tempo. Este decréscimo é frequentemente mais acentuado para as membranas com permeabilidades hidráulicas superiores e caracterizadas por valores de MWCO mais elevados. Note-se que o aumento da pressão de operação poderá representar um aumento da polarização de concentração, uma vez que favorece o transporte convectivo dos solutos até à superfície da membrana.

#### 4.3.1.1 Influência da variação de pressão transmembranar no fluxo de permeação

Os resultados experimentais obtidos no ensaio de permeação em modo de recirculação total encontram-se representados graficamente na figura seguinte.



**Figura 18** - Variação do fluxo de permeação do soro de leite concentrado por OI ( $J_p$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ). Membrana: GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima (0,94m/s).

Da análise do gráfico representado na **Figura 18** verifica-se que o fluxo de permeação do soro de leite aumenta linearmente com a pressão transmembranar no intervalos de pressões de 1 a 12 bar e apresenta um patamar limite a partir dos 30bar. A partir dos 12bar verifica-se que o aumento do fluxo de permeação do soro de leite com a pressão torna-se menos acentuado, apresentando um pequeno desvio à linearidade. Para uma gama de pressões próximas de zero, a variação do fluxo de permeação com a pressão pode ser descrita pela equação  $J_p = 0,48\Delta P$ . Para uma gama de pressões superiores a 30bar, a variação do fluxo de permeação com a pressão pode ser descrita pela equação  $J_p = 8,79$ , a qual representa um patamar limite de pressões. Note-se que para pressões superiores a 12 e inferiores a 30bar o fluxo limite não é atingido, o que indica que o lactossoro poderá ser processado por UF numa gama mais alargada de pressões, sem apresentar efeitos de funcionamento muito adversos para as membranas. Contudo, optou-se por operar a uma pressão que estivesse contida na zona de linearidade mais próxima da permeabilidade da água pura, o que permite aumentar o tempo de vida útil das membranas, dado que, como se pode constatar pelos resultados obtidos, existe uma tendência para a ocorrência de colmatação das membranas, a qual é constatada pela diminuição do declive da reta de ajuste aos resultados obtidos para o fluxo de permeação em função da pressão transmembranar, para gamas de pressões elevadas. Neste caso, optou-se por operar a 12 bar nos ensaios em modo de concentração, apesar desta escolha não dever depender só

deste fator, mas também da necessidade de se concentrar e isolar a fração macromolecular de peso molecular superior ao MWCO das membranas.

### 4.3.2 Ultrafiltração em modo de concentração

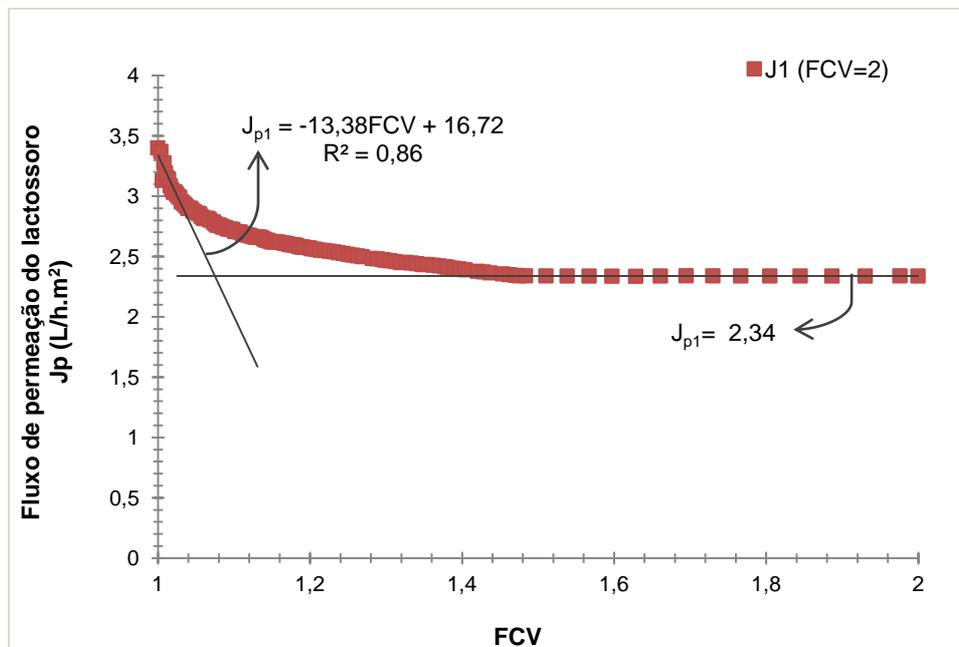
Nesta etapa do trabalho os ensaios de UF são efetuados em modo de concentração, ou seja, é feita a recirculação do concentrado para o tanque de alimentação e a recolha do permeado separadamente, pelo que a concentração dos solutos rejeitados pela membrana aumenta continuamente na alimentação.

Estes ensaios tiveram como objetivo o estudo da influência do FCV nos fluxos de permeação e o uso dos concentrados obtidos para produzir requeijão.

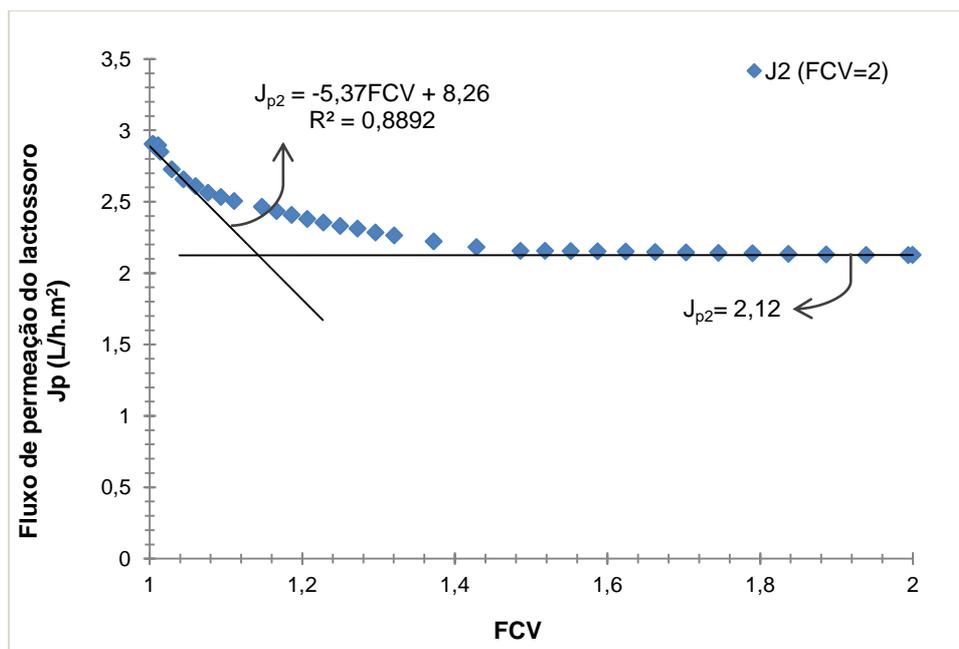
#### 4.3.2.1 Influência do FCV nos fluxos de permeação

Os ensaios de concentração foram realizados nas condições operatórias selecionadas, ou seja, à pressão transmembranar de 12 bar, à velocidade máxima de circulação de 0,94 m/s, à temperatura de cerca de 25°C e a um pH próximo de 6 (característico do lactossoro doce em estudo).

Utilizaram-se 5L e 7L de soro de leite de mistura concentrado por OI, para o 1º e 2º ensaio de UF, respetivamente. Ambas as soluções foram concentradas até um FCV de 2. A evolução dos fluxos de permeação em função dos FCV encontra-se representada nas **Figura 19 e 20**.



**Figura 19** - Variação dos fluxos de permeado com o FCV até o valor de 2.0, durante a produção de concentrados proteicos obtidos por UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI. Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 12 bar; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima (0,94m/s). Legenda: J1 corresponde aos fluxos de permeado obtidos no 1º ensaio de UF do soro de leite, respetivamente.



**Figura 20** - Variação dos fluxos de permeado com o FCV até o valor de 2.0, durante a produção de concentrados proteicos obtidos por UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI. Membrana:GR95PP; Área superficial de membrana: 0,072 m<sup>2</sup>; Pressão: 12 bar; Temperatura: 25°C; Velocidade de circulação máxima (0,94m/s). Legenda: J2 corresponde aos fluxos de permeado obtidos no 2º ensaio de UF do soro de leite, respetivamente.

Conforme se pode observar nas **Figuras 19 e 20**, os fluxos de permeado diminuem com o fator de concentração em volume, como consequência dos fenómenos da polarização por concentração e/ou colmatação das membranas, sendo maior a intensidade destes fenómenos à medida que a concentração aumenta, como seria de esperar. Em ambos os gráficos se observam duas zonas distintas. Inicialmente, uma zona linear, descrita pelas equações  $J_{p1} = -13,38FCV + 16,72$  (vide **Figura 19**) e  $J_{p2} = -5,37FCV + 8,26$  (vide **Figura 20**), em que se verifica um abaixamento dos fluxos de permeação do lactossoro à medida que o FCV aumenta. Nos resultados experimentais finais, verifica-se um patamar limite de fluxos de permeação, descrito pela equação  $J_{p2} = 0,0041FCV + 2,12$ , o que significa que os fluxos de permeação atingem um valor constante. Observam-se reduções dos fluxos de permeado de cerca de 31% e 27%, no 1º e 2º ensaio de concentração (FCV=2), respetivamente.

#### 4.3.2.2 Caracterização físico-química dos concentrados proteicos e permeados

A caracterização físico-química média dos concentrados proteicos e respetivos permeados, produzidos nas referidas condições de pressão, velocidade de circulação, temperatura e pH é apresentada nas **Tabelas 13 e 14**, respetivamente.

Conforme se pode observar, e comparando com os resultados obtidos para o soro concentrado por OI, após o processo de concentração por UF o pH dos concentrados baixou ligeiramente e a acidez aumentou. Relativamente à proteína bruta, cinza, matéria gorda, resíduo seco e lactose

verifica-se um aumento de concentração destes componentes do soro de leite, quando comparados com os valores obtidos para o soro concentrado por OI, tanto no primeiro como no segundo ensaio de UF, como seria de esperar, uma vez que os ensaios foram realizados nas mesmas condições, até ao mesmo FCV.

De entre os minerais analisados nos concentrados (**Tabela 13**), o cálcio e o fósforo foram aqueles cuja concentração aumentou ao longo do processo de UF. Apesar da concentração dos cloretos (como NaCl), sódio e potássio diminuir com o processo de concentração, nos concentrados UF1 e UF2, os cloretos continuam a ser o componente predominante (cerca de 5000 mg.kg<sup>-1</sup>), a par do sódio (cerca de 1020 mg.kg<sup>-1</sup>) e do potássio (cerca de 3760 mg.kg<sup>-1</sup>), devido à adição de cloreto de sódio que é realizada durante o processo de fabrico do queijo que deu origem ao soro de leite de mistura utilizado como matéria-prima do processo de concentração por UF.

**Tabela 13** – Composição média dos concentrados proteicos obtidos durante o processo de UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI (FCV=2).

<b>Parâmetros analisados</b>	<b>Soro concentrado OI</b>	<b>Soro concentrado UF<sub>1</sub></b>	<b>Soro concentrado UF<sub>2</sub></b>
pH	6,07	5,89	5,82
Acidez (ml NaOH N/L)	44,40	-	58,30
Proteína Bruta (g/100g)	2,14	2,81	2,52
Cinza (%)	1,34	1,00	1,36
Cloretos (g NaCl/100g)	0,62	0,54	0,50
Matéria Gorda (g/100g)	0,30	0,55	0,53
Resíduo Seco (%)	16,89	18,32	19,20
Lactose (%)	13,11	13,96	14,80
Cálcio (mg/100g)	100,00	101	127
Fósforo (mg/100g)	98,50	96	111
Sódio (mg/100g)	120,50	125	102
Potássio (mg/100g)	418,50	364	376
Magnésio (mg/100g)	21,50	21	26

Legenda: Soro concentrado OI – corresponde ao soro pré-concentrado por OI, utilizado como matéria-prima para os ensaios de concentração por UF; Soro concentrado UF<sub>1</sub> - corresponde ao concentrado obtido no 1º ensaio de concentração por ultrafiltração (FCV=2); Soro concentrado UF<sub>2</sub> - corresponde ao concentrado obtido no 2º ensaio de concentração por ultrafiltração (FCV=2).

Note-se que as diferenças verificadas entre os valores de composição obtidos nos ensaios UF1 e UF2 são reduzidas, podendo estar, muito provavelmente, dentro da variabilidade experimental associado aos métodos analíticos utilizados na determinação das respetivas composições.

Para se obterem concentrados proteicos mais puros, ou seja, com um teor mais baixo de lactose e minerais, poder-se-ia ter efetuado a diafiltração dos concentrados. No entanto, tendo em vista a utilização final destes concentrados, para a produção de requeijão, optou-se por alterar o

menos possível a composição dos concentrados, em relação ao soro de leite original, para uma melhor comparação da qualidade dos requeijões obtidos com a dos requeijões tradicionais.

**Tabela 14** - Composição média dos permeados obtidos durante o processo de UF do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI (FCV=2).

Parâmetros analisados	Permeado UF <sub>1</sub>	Permeado UF <sub>2</sub>
pH	-	5,10
Acidez (ml NaOH N/L)	-	39,90
Proteína Bruta (g/100g)	0,28	0,20
Cinza (%)	1,30	1,11
Cloretos (g NaCl/100g)	0,64	0,60
Matéria Gorda (g/100g)	0,00	0,00
Resíduo Seco (%)	7,63	8,37
Lactose (%)	6,05	7,06
Cálcio (mg/100g)	46	63
Fósforo (mg/100g)	59	76
Sódio (mg/100g)	114	104
Potássio (mg/100g)	408	368
Magnésio (mg/100g)	11	14

Legenda: Permeado UF<sub>1</sub> - corresponde ao permeado obtido no 1º ensaio de concentração por ultrafiltração (FCV=2); Permeado UF<sub>2</sub> - corresponde ao concentrado obtido no 2º ensaio de concentração por ultrafiltração (FCV=2).

Analisando os resultados presentes na **Tabela 14**, constata-se que em ambos os ensaios (UF1 e UF2) se obtiveram composições de permeado semelhantes, o que seria de esperar uma vez que os ensaios foram realizados nas mesmas condições.

Comparando os resultados da composição dos permeados com a dos respectivos concentrados (*vide Tabela 13*), verifica-se que a concentração em proteína bruta é muito baixa. Este resultado vem comprovar a eficácia da membrana utilizada no processo de UF, em termos de rejeição à proteína bruta, dado o objetivo principal desta operação é a obtenção de concentrados proteicos.

A concentração de lactose nos permeados é cerca de metade da apresentada pelos concentrados proteicos obtidos. Este resultado era expectável, uma vez que a membrana utilizada apresenta uma rejeição aparente à lactose de cerca de 18% (*vide Tabela 11*).

Os teores de resíduo seco apresentam um comportamento semelhante ao verificado para a lactose, ou seja, os permeados contêm cerca de metade do teor de resíduo seco apresentado pelos respectivos concentrados. Este resultado não é surpreendente, visto que o resíduo seco é composto maioritariamente por lactose.

Relativamente aos iões cálcio e fósforo, verifica-se que a concentração destes nos permeados é inferior à verificada nos concentrados de soro. Este comportamento poderá ter resultado,

por exemplo, da formação de complexos destes elementos com as proteínas, principalmente do cálcio, conforme o descrito na literatura (Antunes 2003; Cheryan 1998). Em contrapartida, os íons cloreto e potássio apresentam-se com uma concentração idêntica, tanto nos permeados como nos respectivos concentrados, o que revela que a membrana utilizada é permeável a estes minerais.

Quanto aos íons sódio e magnésio, verifica-se que a concentração destes nos permeados é inferior à verificada nos concentrados de soro.

Relativamente aos teores de cinza (%), verifica-se que estes são idênticos, nos permeados e respectivos concentrados. Este fato deveu-se muito provavelmente à elevada permeabilidade da membrana ao potássio, verificada pelos resultados obtidos.

Por último, constata-se que os permeados resultantes do processo de ultrafiltração são isentos de matéria gorda.

#### **4.4 Produção de requeijão a partir de soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF**

Os requeijões foram produzidos a partir dos soros de leite de mistura integral e concentrado por OI e a partir dos concentrados proteicos obtidos por ultrafiltração do soro de leite de mistura pré-concentrado por OI, nas condições experimentais referidas em **4.3.2.1**. O processo de fabrico utilizado foi previamente descrito na **secção 3.3.7**.

Na sequência dos primeiros ensaios, foi necessário fazer um ajuste de pH (até pH próximo de 6,1), através da adição de NaOH 0,1N, durante o processo de fabrico dos requeijões produzidos a partir dos concentrados obtidos por OI e por OI/UF, para recriar condições de fabrico semelhantes entre ensaios com diferentes matérias-primas. Como se pode verificar na **Tabela 13**, os soros concentrados apresentavam um pH abaixo de 6.

Durante o fabrico dos primeiros requeijões a partir dos concentrados, verificou-se que a coagulação térmica das proteínas não ocorria seguindo a mesma tecnologia utilizada no fabrico tradicional de requeijão, a partir do soro integral, mesmo incrementando a temperatura de coagulação para níveis superiores a 90°C.

Segundo Cayot e Lorient (1998), a desnaturação térmica de algumas proteínas é um fenómeno complexo, uma vez que depende de inúmeros fatores e condições do meio, nomeadamente do pH, composição mineral e da presença de hidratos de carbono, tais como, a lactose, glucose, galactose e sorbitol. Relativamente ao soro integral, para o qual as condições de fabrico de requeijão estão largamente documentadas, pode observar-se que os soros concentrados por OI ou OI/UF apresentam valores de pH nitidamente inferiores e concentrações de açúcares muito mais elevados que no soro integral, dois dos fatores apontados como condicionantes da desnaturação térmica das proteínas do soro e, sobretudo, podendo dificultar a posterior agregação das proteínas (Garret et al. 2012).

#### 4.4.1 Caracterização físico-química dos requeijões produzidos a partir do soro de leite mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF e respectivos sorelhos.

Com base nos resultados experimentais apresentados na **Tabela 15**, comparou-se a composição físico-química dos requeijões fabricados a partir dos concentrados proteicos obtidos por OI e OI/UF com a composição do requeijão produzido a partir do soro integral, o qual serviu como requeijão controle.

**Tabela 15** – Caracterização físico-química dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF.

Parâmetros analisados	R <sub>SI</sub>	R <sub>OI</sub>	R <sub>UF1</sub>	R <sub>UF2</sub>
pH	-	-	-	-
Acidez (ml NaOH N/L)	-	-	-	-
Proteína Bruta (g/100g)	9,85	12,36	13,39	13,08
Cinza (%)	1,57	3,28	1,92	1,87
Matéria Gorda (g/100g)	20,75	3,00	3,25	1,75
Resíduo Seco (%)	34,18	33,41	33,58	33,69
Lactose (%)	2,01	14,77	15,02	16,99
Cálcio (mg/100g)	386	605	293	258
Fósforo (mg/100g)	245	424	221	198
Sódio (mg/100g)	39	215	142	157
Potássio (mg/100g)	171	538	449	455
Magnésio (mg/100g)	31	64	39	38

**Legenda:** R<sub>SI</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; R<sub>OI</sub> corresponde ao requeijão e produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; R<sub>UF1</sub> corresponde ao requeijão produzidos a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); R<sub>UF2</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

No que diz respeito à comparação entre a composição físico-química dos requeijões fabricados a partir dos concentrados proteicos e o de controle (R<sub>SI</sub>), podem tirar-se várias conclusões, com base nos resultados apresentados na **Tabela 15**.

Os teores de proteína bruta dos requeijões produzidos a partir dos diversos concentrados proteicos (OI, UF1 e UF2) são superiores aos determinados no requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral (método tradicional). Dado que as proteínas foram preferencialmente retidas pelas membranas de UF, os concentrados produzidos estão enriquecidos neste componente.

Em relação à lactose, observa-se que os teores deste constituinte nos requeijões produzidos a partir dos concentrados proteicos são bem mais elevados do que os determinados no requeijão controle (R<sub>SI</sub>), de acordo com os teores de lactose muito superiores nos requeijões obtidos a partir de

soro concentrado, dada a retenção parcial pela membrana de ultrafiltração e de osmose inversa; para teores em resíduo seco semelhantes.

Os teores de resíduo seco mantêm-se próximos em todos os requeijões produzidos, embora inferiores para todos os obtidos a partir dos concentrados, mostrando uma retenção maior de humidade, provavelmente devido aos elevados teores em lactose e respetiva influência no processo de agregação da proteína (M.Garrett et al. 1988), já referido anteriormente; conjugando este aspeto com o anterior, deve referir-se que o teor em proteína superior nestes requeijões se deverá principalmente à composição da respetiva matéria-prima

Quanto às concentrações de matéria gorda nos vários requeijões, verifica-se que esta se apresenta em valores superiores no requeijão controlo, em comparação com os requeijões produzidos a partir dos concentrados proteicos. Tal fato não é surpreendente, uma vez que o requeijão controlo foi produzido a partir de lactossoro inteiro e os restantes foram obtidos a partir de concentrados proteicos, nos quais os teores de matéria gorda foram reduzidos durante os processos de OI e UF, conforme se pode constatar nas **Tabelas 10 e 13**.

Relativamente aos teores de cinza (%), verifica-se que estes são inferiores aos analisados no requeijão produzido a partir do soro concentrado por OI ( $R_{OI}$ ). Este fato deveu-se muito provavelmente ao efeito da permeação dos minerais através da membrana se sobrepôs à redução de volume durante o processo de concentração por UF. Comparando os resultados obtidos para os teores de cinza no requeijão controlo ( $R_{SI}$ ) com o  $R_{OI}$ , constata-se que este último apresenta um teor bem mais elevado do que o  $R_{SI}$ , devido ao efeito de concentração por OI.

As concentrações em elementos minerais dos soros concentrados refletem as características essenciais das membranas utilizadas (**Tabela 13**), sobretudo representadas pelos teores nos respetivos permeados. No que diz respeito aos requeijões, verifica-se que o sódio, potássio e magnésio apresentam-se em concentrações superiores nos requeijões fabricados a partir dos concentrados. Já os teores de cálcio e fósforo são superiores nos requeijões controlo ( $R_{SI}$ ) e produzido a partir de soro concentrado por OI ( $R_{OI}$ ), quando comparados os teores destes obtidos para os requeijões  $R_{UF1}$  e  $R_{UF2}$ . O diferente comportamento dos minerais analisados pode dever-se ao fato de, por exemplo, o cálcio, na forma de  $Ca^{2+}$ , participar na formação do gel que dá origem ao requeijão, afetando quer a concentração limite de proteína para a formação do gel, quer a temperatura e o tempo de gelificação (Cayot & Lorient 1998). Para além disso, o fato de, durante a obtenção dos concentrados proteicos por UF, parte deste constituinte ter permeado através da membrana, fazendo com que a sua concentração no requeijão produzido fosse menor do que a determinada nos requeijão controlo e no  $R_{OI}$ , embora os resultados apresentados na **Tabela 13** não mostrarem concentrações de cálcio e de fósforo inferiores nos soros concentrados por UF.

**Tabela 16** - Caracterização físico-química dos sorelhos resultantes da produção dos requeijões.

<b>Parâmetros analisados</b>	<b>S<sub>SI</sub></b>	<b>S<sub>OI</sub></b>	<b>S<sub>UF1</sub></b>	<b>S<sub>UF2</sub></b>
pH	6,00	5,38	5,83	5,82
Acidez (ml NaOH N/L)	13,3	54,9	50,1	52,7
Proteína Bruta (g/100g)	0,54	1,63	1,88	2,00
Cinza (%)	0,61	1,88	1,63	1,69
Matéria Gorda (g/100g)	0,00	0,00	0,00	0,00
Resíduo Seco (%)	6,11	21,34	21,37	21,75
Lactose (%)	4,96	17,83	17,86	18,06
Cálcio (mg/100g)	27	64	124	132
Fósforo (mg/100g)	33	102	127	133
Sódio (mg/100g)	57	231	154	176
Potássio (mg/100g)	220	594	495	502
Magnésio (mg/100g)	9	30	32	33

Legenda: S<sub>SI</sub> corresponde ao sorelho resultante da fabrico dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura integral; S<sub>OI</sub> corresponde ao sorelho resultante da fabrico dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; S<sub>UF1</sub> corresponde ao sorelho resultante da fabrico dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); S<sub>UF2</sub> corresponde ao sorelho resultante da fabrico dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

Em primeiro lugar, constata-se, pela análise dos resultados da **Tabela 16**, que os sorelhos resultantes do fabrico dos requeijões apresentam baixas concentrações em proteína bruta (g/100g) e, como seria de esperar, estas concentrações aumentam da mesma forma que a verificada para os respetivos requeijões (*vide Tabela 15*). Conclui-se, assim, que a maior parte da concentração proteica ficou retida nos respetivos requeijões, aquando do processo de fabrico. Este resultado é muito positivo, pois significa que é feito o devido aproveitamento, em termos de valor nutricional, deste componente no produto final.

É importante também analisar o teor em lactose (%) dos respetivos sorelhos (*vide, Tabela 16*), uma vez que o destino final deste fluído é ser descartado para o meio ambiente, após o seu devido tratamento. Como tal, é fundamental que o sorelho resultante da produção de requeijão não apresente elevada carga orgânica, para se reduzir o impacto deste a nível ambiental. O que se verifica, pela análise dos resultados da **Tabela 16**, é que os sorelhos resultantes da produção dos requeijões OI, UF1 e UF2 apresentam teores em lactose elevados e um pouco superiores aos obtidos nos respetivos requeijões (*vide Tabela 15*). Em contrapartida, o sorelho resultante da produção do requeijão SI apresenta um teor em lactose baixo, comparativamente aos restantes sorelhos, . Por outro lado, o sorelho SI apresenta um teor em lactose cerca de duas vezes superior ao apresentado pelo respetivo requeijão (requeijão SI).

Dado que o resíduo seco é composto maioritariamente por lactose, não é surpreendente o fato de este se apresentar na mesma proporção que a lactose nos respetivos sorelhos.

Quanto à matéria gorda, os sorelhos apresentam-se isentos desta, fato que também é relevante no que diz respeito ao seu posterior tratamento.

Relativamente aos elementos minerais, apresentam, no geral, concentrações inferiores nos sorelhos, comparativamente aos respetivos requeijões. À exceção do sódio e do potássio, que se apresentam com concentrações semelhantes nos requeijões e respetivos sorelhos.

#### **4.4.2 Caracterização textural dos requeijões produzidos a partir do soro de leite mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF**

Para além da composição, as características de textura do requeijão são importantes para a sua caracterização e, alegadamente, são propriedades que podem ser afetadas pela composição da matéria-prima e, portanto, pela concentração dos soros.

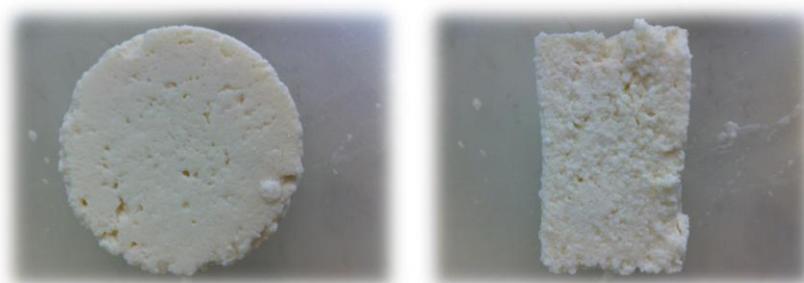
Nas **Figuras 21, 22 e 23** estão ilustrados alguns dos requeijões produzidos durante os ensaios experimentais.



**Figura 21** – Requeijões produzidos a partir de soro de leite de mistura integral (método tradicional).



**Figura 22** – Requeijão produzido a partir do soro de leite concentrado por OI/UF1 (1º ensaio de ultrafiltração, FCV=2).



**Figura 23** – Requeijão produzido a partir do soro de leite concentrado por OI/UF2(2º ensaio de ultrafiltração, FCV=2).

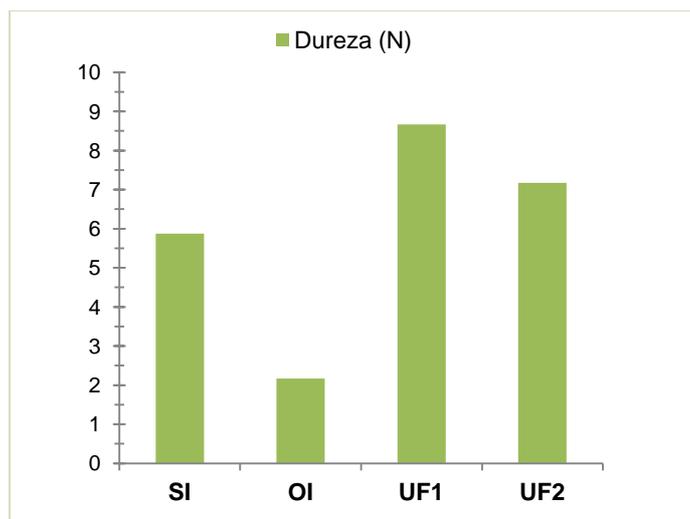
Na **tabela 17** apresentam-se os resultados obtidos da caracterização textural dos requeijões produzidos. Foi calculada uma média aritmética e respectivo desvio padrão ( $\sigma$ ) dos resultados obtidos para cada amostra. Foram realizadas, no mínimo, 6 determinações, efetuadas em vários locais da amostra, cada uma representada por duas unidades, com localização de penetração da sonda idêntica para todas as amostras, de forma a minimizar efeitos de alguma heterogeneidade na sua textura.

**Tabela 17** - Caracterização textural de requeijões produzidos a partir de lactosoro de mistura inteiro e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF.

<b>Média <math>\pm</math> <math>\sigma</math></b>	<b>Dureza (N)</b>	<b>Adesividade (N.m)</b>	<b>Coesividade</b>
R <sub>SI</sub>	5,872 $\pm$ 0,820	-443,450 $\pm$ 36,672	0,031 $\pm$ 0,002
R <sub>OI</sub>	2,172 $\pm$ 0,157	-254,776 $\pm$ 29,211	0,021 $\pm$ 0,002
R <sub>UF1</sub>	8,664 $\pm$ 0,445	-560,367 $\pm$ 47,184	0,031 $\pm$ 0,002
R <sub>UF2</sub>	7,169 $\pm$ 0,908	-413,638 $\pm$ 52,941	0,028 $\pm$ 0,003

Legenda: R<sub>SI</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; R<sub>OI</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; R<sub>UF1</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); R<sub>UF2</sub> corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

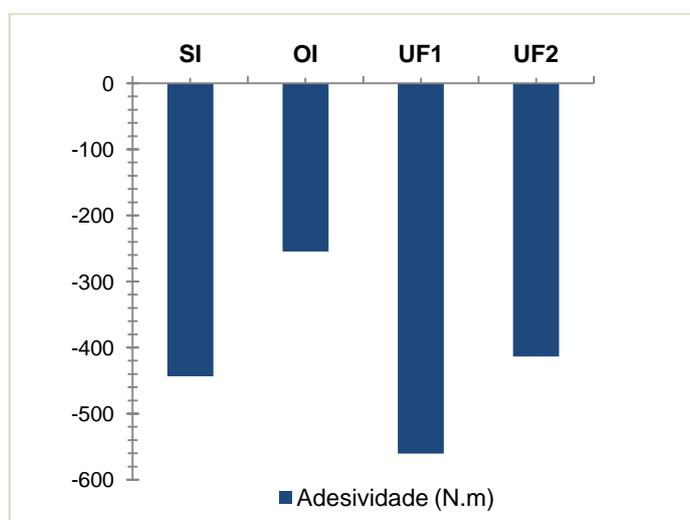
Com base nos resultados apresentados na **Tabela 17**, construíram-se os gráficos representados pelas **Figuras 24, 25 e 26**. Estes gráficos relacionam os diferentes requeijões produzidos em termos das respectivas propriedades texturais analisadas.



**Figura 24** – Comparação entre a dureza apresentada pelos requeijões produzidos.

Legenda: SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

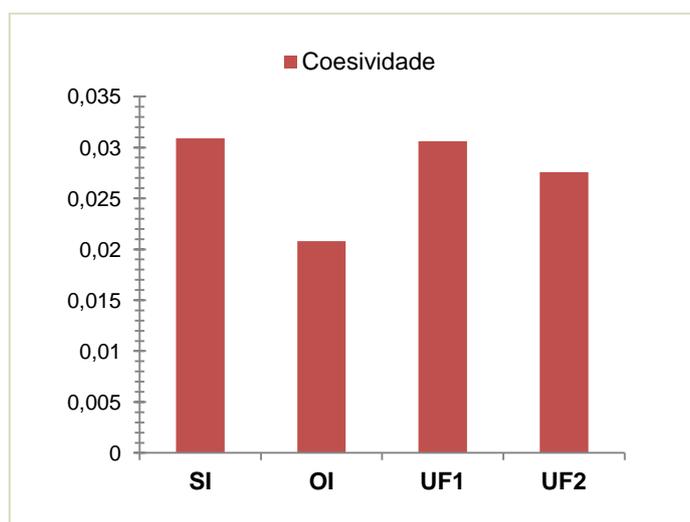
Analisando os resultados obtidos relativamente às propriedades texturais dos requeijões estudadas (*vide Tabela 17 e Figura 24*), verifica-se que os requeijões produzidos a partir dos concentrados proteicos obtidos nos ensaios UF1 e UF2 apresentam uma maior dureza, quando comparados com a dureza apresentada pelo requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral (requeijão controlo). Em contrapartida, o requeijão produzido a partir do concentrado proteico obtido por OI apresenta uma menor dureza, provavelmente traduzindo o efeito dos teores proteicos superiores, aparentemente pouco significativos mas representando teores 3 a 4 vezes superiores, mas também o efeito dos teores mais elevados de lactose e de minerais.



**Figura 25** - Comparação entre a adesividade apresentada pelos requeijões produzidos.

Legenda: SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

Quanto aos resultados obtidos relativamente à adesividade dos requeijões produzidos (*vide Tabela 17 e Figura 25*), constata-se que a adesividade medida no requeijão produzido a partir do concentrado proteico obtido por OI é inferior à obtida para os restantes requeijões. Em contrapartida, verifica-se que os requeijões produzidos a partir do soro concentrado por OI/UF, apresentam uma adesividade próxima da do requeijão controlo (SI). Apesar dos requeijões UF1 e UF2 terem sido produzidos a partir de soros concentrados por OI, seguida de UF, até um FCV=2, estes apresentam valores discrepantes de adesividade, fato que pode estar relacionado com o processo de produção dos mesmo, assim como com a diferente composição apresentada dos concentrados proteicos que lhes deram origem, designadamente no que se refere ao teor proteico.



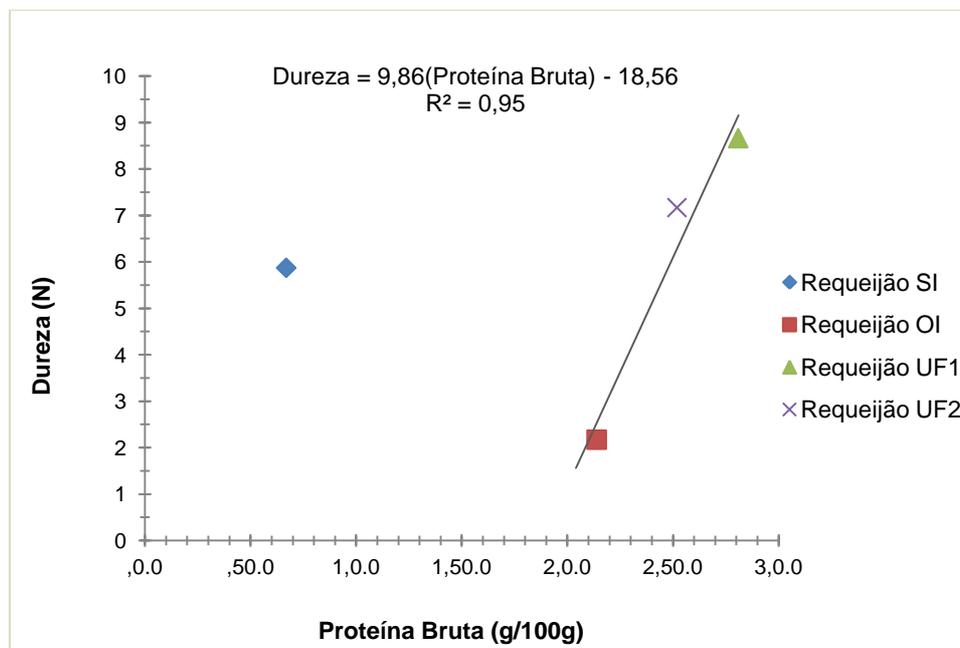
**Figura 26** - Comparação entre a coesividade apresentada pelos requeijões produzidos.

Legenda: SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

Relativamente à coesividade obtida para os diferentes requeijões (*vide Figura 26*) constata-se que estes apresentam valores muito semelhantes ao do requeijão SI (controlo), apesar de o requeijão produzido a partir de soro concentrado por OI um pouco menos coeso do que os restantes.

Para uma melhor análise da relação entre os vários parâmetros obtidos da caracterização textural dos requeijões produzidos com parâmetros da caracterização físico-química dos soros de leite de mistura integral e concentrados por OI e por OI/UF, que deram origem aos respetivos requeijões, construíram-se os gráficos representados pelas **Figuras 27 à 31**. Os gráficos das **Figuras**

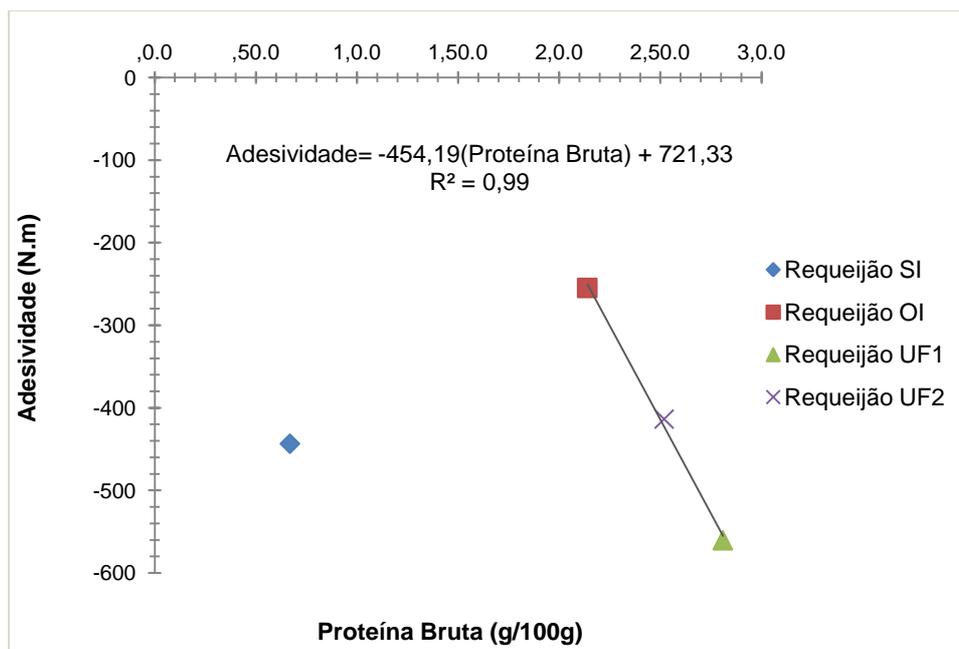
**27 à 29** representam a relação entre cada um dos parâmetros texturais dos requeijões analisados com a concentração em proteína (g/100g), presente nos soros de leite de mistura integral e concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF, que deram origem aos respectivos requeijões. Os gráficos das **Figuras 30 à 31** representam a relação entre cada um dos parâmetros texturais dos requeijões analisados com a % de lactose, presente nos soros de leite de mistura integral e concentrados proteicos obtidos por OI e por OI/UF, que deram origem aos respectivos requeijões.



**Figura 27** - Representação gráfica da variação da dureza dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

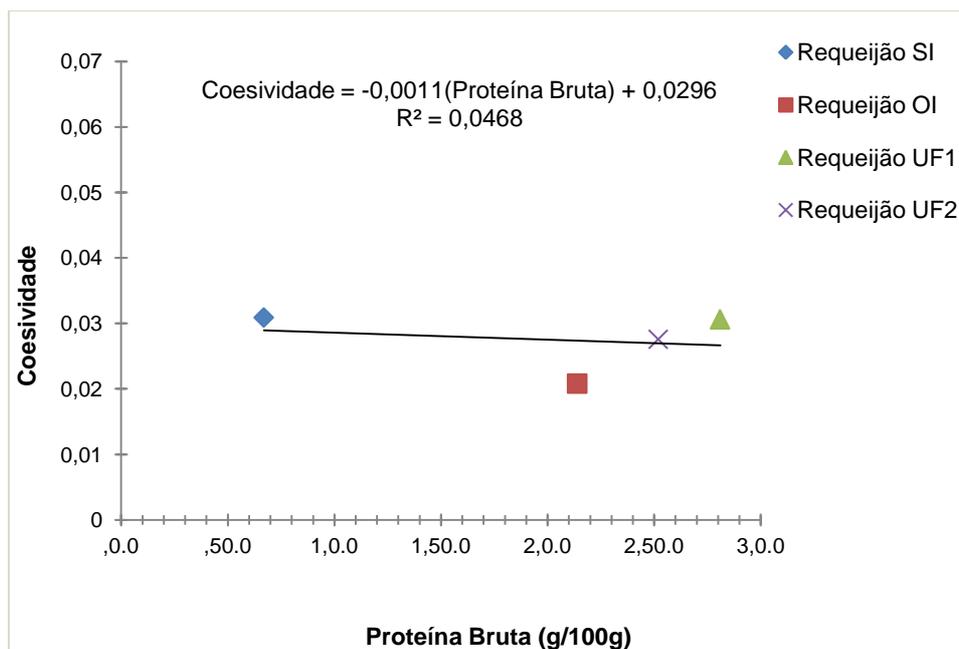
Focando apenas nos requeijões OI, UF1 e UF2, verifica-se que a dureza dos respectivos requeijões aumenta de forma linear com a concentração em proteína (g/100g), nos respectivos concentrados proteicos que lhes deram origem, de acordo com a expressão  $Dureza = 9,86(Proteína\ Bruta) - 18,56$  (vide **Figura 27**). Numa abordagem preliminar, estes resultados permitem concluir que a dureza está relacionada com a concentração proteica, fato que pode ser suportado por estudos realizados anteriormente (Macedo 2010).



**Figura 28** - Representação gráfica da variação da adesividade dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

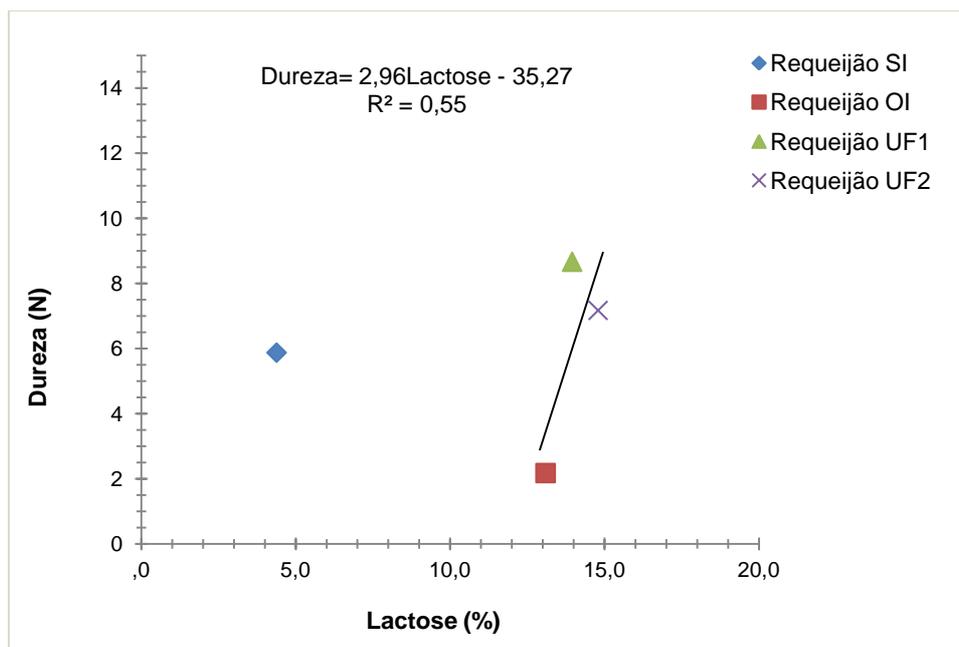
Comparando apenas os requeijões OI, UF1 e UF2, verifica-se que a adesividade dos respectivos requeijões diminui de forma linear com a concentração em proteína (g/100g) nos respectivos concentrados proteicos que lhes deram origem, de acordo com a expressão  $Adesividade = -454,19(Proteína\ Bruta) + 721,33$ .



**Figura 29** - Representação gráfica da variação da coesividade dos requeijões produzidos com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

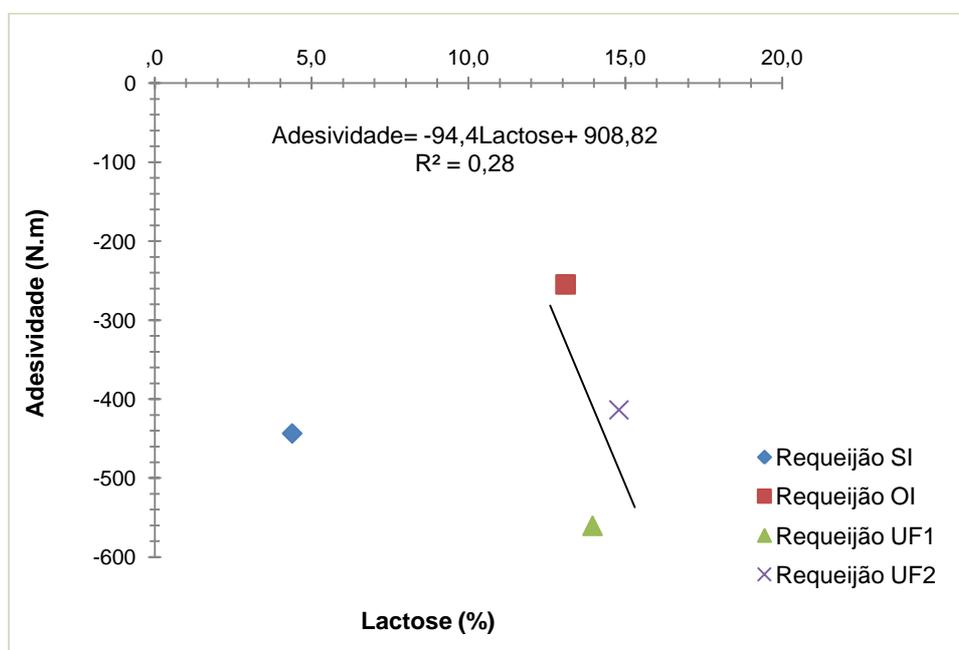
Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

Pela análise da **Figura 29**, e de acordo com o declive próximo de zero obtido pela regressão linear  $Coesividade = -0,0011(Proteína\ Bruta) + 0,0296$ , constata-se que os requeijões apresentam valores de coesividade muito semelhantes ao do requeijão SI (controle), como havia sido referido anteriormente pela análise da **Figura 26**. Também se pode concluir que a concentração proteica não tem influência sobre a coesão apresentada pelos produtos, não podendo ser estabelecida qualquer correlação entre a coesividade e a concentração em proteína bruta (g/100g), presente nos respectivos soro de leite integral e concentrados proteicos que lhes deram origem.



**Figura 30** - Representação gráfica da variação da dureza dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

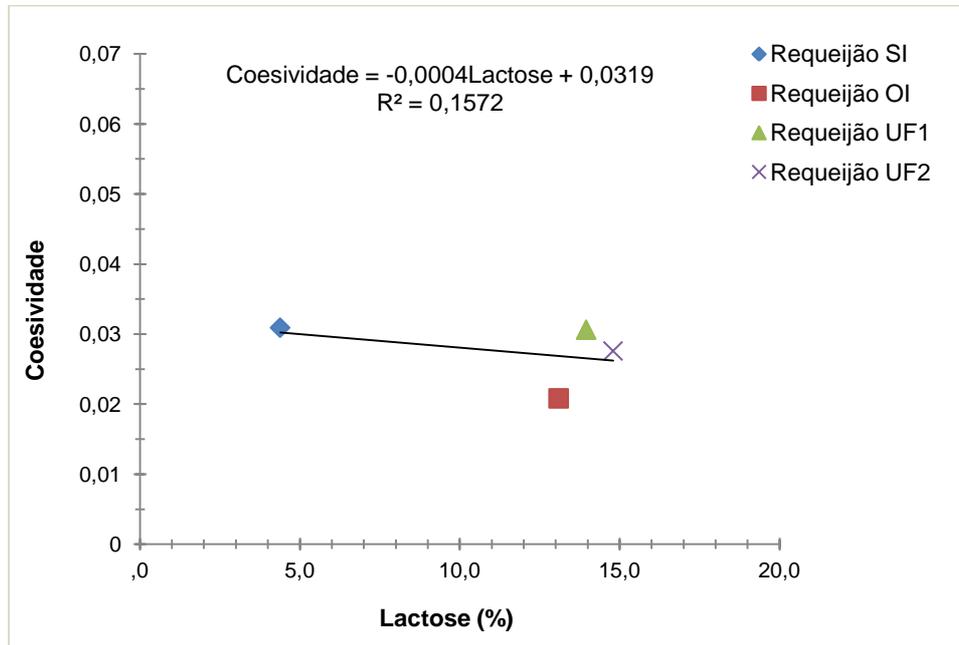
Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).



**Figura 31** - Representação gráfica da variação da adesividade dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI;

Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).



**Figura 32** - Representação gráfica da variação da coesividade dos requeijões produzidos com a % de lactose presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respectivos requeijões.

Legenda: Requeijão SI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1, FCV=2); Requeijão UF2 corresponde ao requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2, FCV=2).

Analisando as **Figuras 30, 31 e 32**, verifica-se um comportamento semelhante ao obtido anteriormente, para o caso da variação das propriedades texturais com a concentração em proteína bruta (g/100g), presente nos respectivos soro de leite integral e concentrados proteicos que lhes deram origem (*vide Figuras 27, 28 e 29*). Constata-se então que a dureza dos requeijões aumenta linearmente com a % de lactose, de acordo com a equação  $Dureza = 2,96Lactose - 35,27$ , focando apenas nos requeijões OI, UF1 e UF2 (*vide Figura 30*). Quanto à adesividade dos requeijões OI, UF1 e UF2, esta diminui de forma linear com a % de lactose, nos respectivos concentrados proteicos que lhes deram origem, de acordo com a expressão  $Adesividade = -94,4Lactose + 908,82$  (*vide Figura 31*). Por fim, e relativamente à coesividade dos requeijões produzidos, pode-se concluir que a % lactose presente nos respectivos soro de leite integral e concentrados proteicos que lhes deram origem, não tem influência sobre a coesão apresentada pelos produtos, não podendo ser estabelecida qualquer correlação entre a estas. Este resultado é comprovado pela equação obtida, através da regressão linear,  $Coesividade = -0,0004Lactose + 0,0319$ , a qual apresenta declive nulo (*vide Figura 32*).

Note-se que estes resultados seriam semelhantes caso se estivesse a analisar as propriedades texturais em função resíduo seco (%), dado que este é composto maioritariamente por lactose.

#### 4.4.3 Rendimento do processo de fabrico de queijão

A fim de se determinar o rendimento da produção de cada queijão teve-se em conta os pesos dos queijões produzidos (g), o volume de soro gasto durante o fabrico dos mesmos (L) e determinou-se, por relação direta, o peso de cada queijão (g), caso se partisse de 100L de soro.

Apresentam-se na **Tabela 18** os rendimentos obtidos para os queijões produzidos a partir do soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por OI, seguida de UF. Nesta tabela verifica-se que a concentração pelos dois processos considerados permitiu pelo menos duplicar o rendimento o que constitui uma vantagem sensível.

**Tabela 18** – Parâmetros experimentais utilizados para a determinação do rendimento do processo de fabrico dos queijões.

Parâmetros analisados	R <sub>SI</sub>	R <sub>OI</sub>	R <sub>UF1</sub>	R <sub>UF2</sub>
Peso Queijão (g)	153,72	155,63	205,8	249,59
Volume de soro gasto (L)	3	1,35	2	2
$\eta$ (%)	5,1	11,5	10,3	12,5
$\eta$ (% base seca)	1,8	3,9	3,5	4,2

Legenda: R<sub>SI</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; R<sub>OI</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; R<sub>UF1</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1); R<sub>UF2</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2).

Na **Tabela 19** constam as percentagens de retenção dos componentes do soro nos diferentes tipos de queijão, podendo observar-se que a maior eficiência no aproveitamento da proteína, a base do fabrico de queijão, se verifica no processamento a partir do soro integral, com retenção de 75% da proteína presente no soro, sendo inferior nos queijões obtidos a partir de soro concentrado por OI/UF. Em contrapartida, a retenção de lactose, que acompanha o teor de água do queijão, é superior nos queijões de soro concentrado.

**Tabela 19** – Retenção dos componentes do soro (%) no queijão em função do tipo de soro.

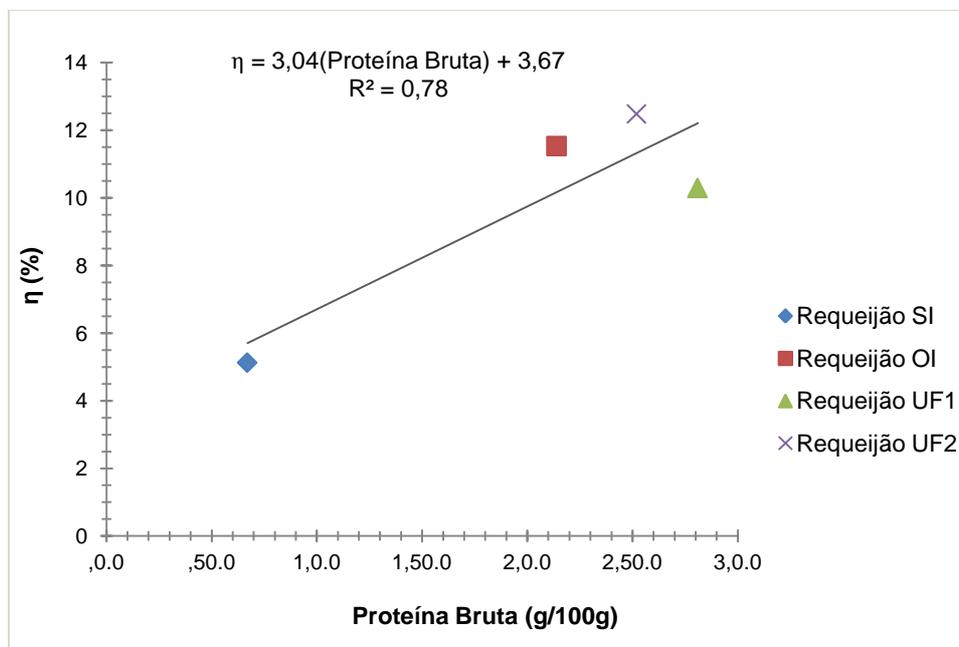
Componentes (%)	R <sub>SI</sub>	R <sub>OI</sub>	R <sub>UF1</sub>	R <sub>UF2</sub>
Proteína Bruta	75,0	66,6	49,0	64,7
Resíduo Seco	27,6	22,8	18,9	22,1
Lactose	2,3	13,0	11,1	14,3

Legenda: R<sub>SI</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; R<sub>OI</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; R<sub>UF1</sub> - queijão produzido a partir do soro de leite de mistura

concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1);  $R_{UF2}$  - requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2).

Estes dados indicam que poderá existir margem de melhoramento do processo tecnológico no sentido de um melhor aproveitamento da proteína disponível no soro concentrado, com vantagem no aumento do rendimento global da transformação o qual, como está patente na **Tabela 19**, é significativamente superior nos fabricos a partir de soro concentrado.

Com base nos resultados do rendimento ( $\eta$ ), presentes na **Tabela 18**, e nos resultados obtidos para a concentração de proteína bruta (g/100g) nos soros de leite integral, concentrado por OI e por UF (UF1 e UF2) (*vide Tabelas 10 e 13*) construiu-se o gráfico representado na **Figura 33**, com o intuito de se analisar a relação entre o rendimento de produção dos requeijões com a concentração em proteína bruta (g/100g) presente no lactossoro e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões.



**Figura 33** – Representação gráfica da variação do rendimento do processo de fabrico do requeijão ( $\eta$ ) com a concentração de proteína bruta (g/100g), presente nos soros de leite de mistura e nos concentrados proteicos que deram origem aos respetivos requeijões.

Legenda: Requeijão SI - requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura integral; Requeijão OI - requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI; Requeijão UF1 - requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (1º ensaio UF1); Requeijão UF2 - requeijão produzido a partir do soro de leite de mistura concentrado por OI/UF (2º ensaio UF2).

Da análise feita ao gráfico anterior (**Figura 33**), constata-se que os rendimentos de produção dos requeijões aumentam linearmente com o aumento da concentração de proteína bruta (g/100g) presente no lactossoro, de acordo com a expressão  $\eta = 3,04(\text{Proteína Bruta}) + 3,67$ . Assim sendo, pode-se concluir que a utilização de concentrados proteicos, resultantes da concentração por OI/UF do soro de leite, para a produção de requeijão, permite aumentar o rendimento do processo de

produção do requeijão, podendo perspetivar-se vantagem importante a nível do consumo de energia, uma vez que um dos constrangimentos do fabrico de requeijão é o consumo energético envolvido no processo produtivo.

## 5 CONCLUSÕES E PERSPETIVAS DE TRABALHO FUTURO

### 5.1 Conclusões

Face aos objetivos propostos neste trabalho podem tirar-se várias conclusões. Em termos gerais, pode-se dizer que foram feitos alguns progressos no que diz respeito à aplicação direta de concentrados proteicos obtidos por OI, seguida de UF, para fabrico de requeijão com teores reduzidos de gordura e com rendimentos de produção mais elevados.

A primeira fase do trabalho experimental incluiu a caracterização da membrana comercial utilizada nos ensaios de UF (GR95PP), tendo em conta a permeabilidade hidráulica ( $L_p$ ), as rejeições a solutos de referência e o limite de exclusão molecular (MWCO). Constatou-se que esta apresentava um valor de  $L_p$  de  $1,21 \text{ Kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$  e de MWCO de 7500 Da. A membrana GR95PP (*Alfa Laval*) revelou ser adequada para os ensaios de UF, devido aos elevados fluxos de permeação observados, nas condições operatórias definidas, ao elevado coeficiente de rejeição aparente à proteína e ao baixo coeficiente de rejeição aparente à lactose.

Nas condições operatórias utilizadas, produziram-se concentrados proteicos por ultrafiltração de soro de leite de mistura, pré-concentrado por OI, com uma concentração de proteína mais elevada, comparativamente ao soro de leite integral e aos concentrados proteicos obtidos por OI. Este resultado realça a importância e o interesse da produção de concentrados proteicos, a partir de soro de leite de mistura, embora o pré-concentrado por OI não seja particularmente adequado, em termos de valorização de produto, dado o elevado teor em lactose que aporta ao processo posterior de UF.

Comparando a composição físico-química dos requeijões produzidos a partir dos concentrados proteicos com a dos requeijões produzidos a partir do soro de leite de mistura integral, pode concluir-se que os primeiros apresentam, em geral, teores de proteína, lactose, sódio, potássio e magnésio mais elevados e teores reduzidos de matéria gorda, mostrando a influência da composição do soro/matéria-prima.

As propriedades de textura dos requeijões obtidos a partir de soro concentrado refletiram muito dos elementos da composição do requeijão, afastando-se das propriedades do requeijão de soro integral, o que pode significar eventualmente alguma dificuldade a nível da aceitação do produto, suscitando a necessidade de se encontrar formulações da composição do soro que otimizem a composição e propriedades de textura do produto final.

Quanto à produção dos requeijões a partir do soro de leite de mistura integral e dos concentrados proteicos obtidos por OI e por UF (após concentração por OI) concluiu-se que a utilização de concentrados proteicos permite aumentar de forma muito significativa (duplicar) o rendimento do processo de produção do requeijão. O rendimento da produção de requeijão a partir dos concentrados proteicos é diretamente proporcional à concentração proteica dos concentrados de soro que deram origem aos respetivos requeijões.

## 5.2 Perspetivas de trabalho futuro

No seguimento do trabalho anteriormente descrito seria interessante, em termos futuros, desenvolver um estudo mais aprofundado a vários níveis, tais como:

- A realização de ensaios de ultrafiltração, em modo de concentração, a pressões mais elevadas (na região entre 12 e 40 bar), a fim de se comparar as produtividades obtidas, em termos de fluxos de permeado e tempo necessário para atingir um determinado fator de concentração.

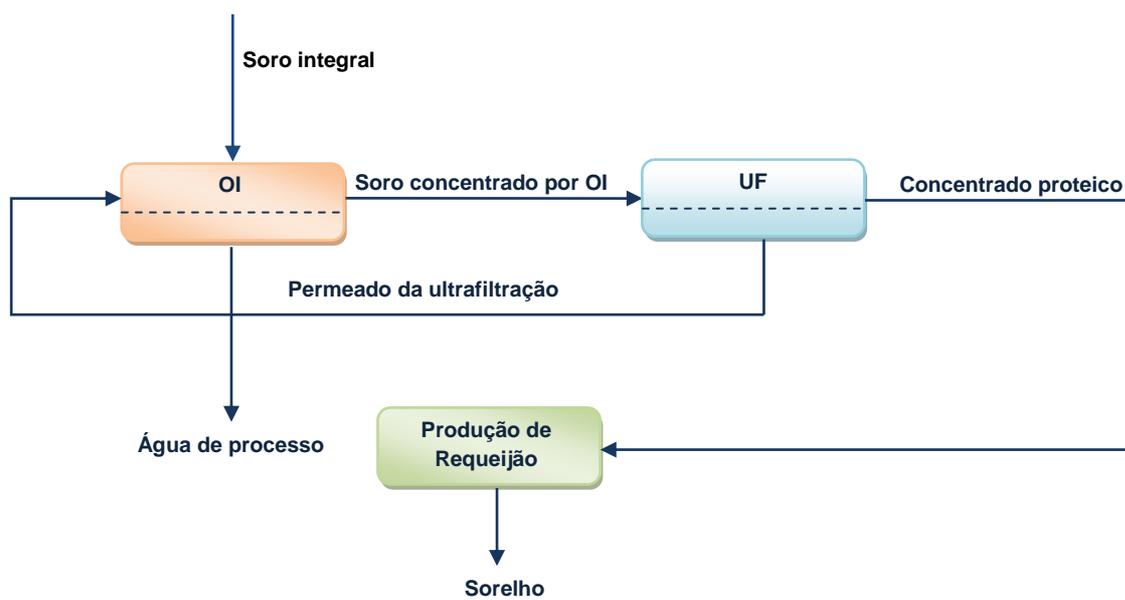
- Analisar-se a influência da diafiltração na pureza dos concentrados proteicos produzidos, com o intuito de se alargar a gama de utilizações possíveis. A título de exemplo, poderia estudar-se a viabilidade técnica de se produzir requeijões a partir de concentrados proteicos purificados por diafiltração e determinar a influência disso na composição dos mesmos, nomeadamente em termos da concentração de lactose e proteína.

- Dado que a aceitação de um produto alimentar está diretamente ligada à sua perceção sensorial sugere-se, como uma continuação deste trabalho e a fim de se complementar os resultados obtidos, que se façam análises sensoriais mais abrangentes, mais concretamente poder-se-ia recorrer a um painel de provadores, devidamente preparados, para avaliar a qualidade sensorial dos requeijões fabricados a partir dos concentrados proteicos.

- Para uma possível comercialização deste produto seria necessário fazer-se uma avaliação económica cuidada. Como tal, seria importante fazer-se uma análise dos custos de produção de requeijão a partir dos concentrados proteicos obtidos, comparativamente ao fabrico tradicional, tendo em conta a realização de balanços de massa e de energia ao processo.

- Estudar a possibilidade de uma nova formulação do produto.

- Investigar a viabilidade técnica de um novo processo de produção de requeijão integrado, tendo em vista o aproveitamento dos permeados resultantes da unidade de UF, de acordo com a seguinte proposta de flowsheet:



**Figura 34** – Proposta de *flowsheet* para processo integrado de fabrico de requeijão.



## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antunes, A.J., 2003. *Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino*, Manole.
- Aptel, P. & Clifton, M., 1983. Ultrafiltration. In P. M. Bungay, H. K. Lonsdale, & M. N. de Pinho, eds. *Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications*. D. Reidel Publishing Company.
- Baldasso, C., Barros, T.C. & Tessaro, I.C., 2011. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278(1-3), pp.381–386.
- Bourne, M.C., 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*, Academic Press.
- Campbell, R., et al., 2012. The use of lactoperoxidase for the bleaching of fluid whey. *Journal of Dairy Science*, 95, pp.2822–2900.
- Cayot, P. & Lorient, D., 1998. *Structures et technofonctions des protéines du lait*, Arilait Recherches.
- Chaufer, B., Meireles-Masbernat, M. & Aimar, P., 1998. Géométrie des modules. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 8–66.
- Cheryan, M., 1998. *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*, Taylor & Francis Routledge.
- D.Miller, G., K.Jarvis, J. & D.McBean, L., 2007. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition* 3rd ed., National Dairy Council.
- Daufin, G., Gésan-Guiziou, G., Muller, A., et al., 1998. Lactosérum. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 310–329.
- Daufin, G., Gésan-Guiziou, G., Dresch, M., et al., 1998. Traitement et recyclage des effluents de l'industrie laitière. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 343–359.
- FIL-IDF (2006). Cheese and processed cheese products. Determination of chloride content. Potentiometric titration method, Standard 88. Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- Fox;P.F., 1997. *Lactose, water, salts and vitamins* 2nd ed., Springer Science+Business Media, B.V.
- Gésan-Guiziou, G., 1998. Transfert de matière à l'interface: polarisation de concentration et colmatage. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 8–66.
- Gösta Bylund, M.S., 1995. *Dairy processing handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Sweden.
- ISO 4831 (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms - Most probable number technique. Delft, The Netherlands: International Organisation for Standardisation.
- Jelen, P., 1992. Whey cheeses and Beverages. In J. G. Zadow, ed. *Whey and Lactose Processing*. Elsevier Applied Science. London and New York, pp. 157–194.
- Lipnizki, F., 2010. Cross-Flow Membrane Applications in the Food Industry. *Membrane Technology*, 3, pp.1–24.

- Lonsdale, H.K., 1983. Reverse Osmosis. In *Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications*. Bungay, P. M. Lonsdale, H. K. de Pinho, M. N., pp. 307–342.
- M.Garrett, J., A.Stairs, R. & G. Annett, R., 1988. Thermal Denaturation and Coagulation of Whey Proteins: Effect of Sugars. *Journal of Dairy Science*.
- Macedo, A., Duarte, E. & Pinho, M., 2011. The role of concentration polarization in ultrafiltration of ovine cheese whey. *Journal of Membrane Science*, 381(1-2), pp.34–40.
- Macedo, A.T.Z.N., 2010. *Fraccionamento de Lactossoro de Ovelha por Tecnologias de Membranas e Estudo das Possíveis Utilizações dos Concentrados Obtidos*.
- Maubois, J.. & Ollivier, G., 1997. Extraction of Milk Proteins. In S. Damodaran, ed. *Food Proteins and Their Applications*. pp. 579–585.
- Maurel, A., 1998. Osmose Inverse. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 67–85.
- Meireles-Masbernat, M. & Aimar, P., 1998. Transfert de matière dans les membranes. In *Les Séparations par membrane dans les procédés de L'industrie Alimentaire*. Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Paris., pp. 8–66.
- Milk Market Observatory, 2014. *Annual Production Series of Dairy products*,
- Milk Market Observatory, 2015. *TOP 10 Importers*,
- MilkPoint.PT, 2015. Aplicação de produtos derivados de soro na fabricação de requeijão com teor reduzido de gordura. Available at: <http://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/queijos/aplicacao-de-produtos-derivados-de-soro-na-fabricacao-de-requeijao-com-teor-reduzido-de-gordura-92942n.aspx> [Accessed April 7, 2015].
- Mizubuti, I.Y., 1994. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. , pp.80–94.
- Mulder, M., 1998. *Basic Principles of Membrane Technology* 2nd ed., Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- NP 2104 (1988). Queijos e queijos fundidos. Determinação do teor de lactose. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 3544 (1987). Queijos e queijos fundidos. Determinação do resíduo seco. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 1986 (1991). Queijos e queijos fundidos. Determinação do teor de azoto total. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 2105 (1983). Queijos e queijos fundidos. Determinação do teor de matéria gorda. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 470 (1983). Leite e leites compostos. Determinação da acidez. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 471 (1983). Leite de vaca e leites de ovelha e de cabra. Determinação do teor em iões cloro. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.

- NP 477 (1983). Leite e leites compostos. Determinação da cinza total. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 469 (1983). Leite. Determinação da matéria gorda. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- NP 475 (1983). Leite, leites compostos e leites de ovelha e de cabra. Determinação da matéria gorda. Caparica, Portugal: Direção Geral da Qualidade, Instituto Português da Qualidade.
- P.da Silva, D.J., 2011. *Resíduos Na Indústria De Laticínios*,
- Pereira, C.D., Diaz, O. & Cobos, A., 2002. Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: Clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration. *International Dairy Journal*, 12(9), pp.773–783.
- Portal Laboratórios Virtuais de Processos Químicos, 2015. Modelo do Filme. Available at: [http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=206&id=57&option=com\\_content&task=view](http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=206&id=57&option=com_content&task=view) [Accessed October 1, 2015].
- Portal Lacteo, 2012. Soro de leite é foco de pesquisa para alimentos funcionais. Available at: <http://www.portalacteo.com.br/noticias/soro-de-leite-e-foco-de-pesquisa-para-alimentos-funcionais-2917/> [Accessed April 6, 2015].
- Portal Lacteo, 2014. UFV quer colocar isotónico à base de soro de leite no mercado. Available at: <http://www.portalacteo.com.br/noticias/ufv-quer-colocar-isotonico-a-base-de-soro-de-leite-no-mercado-39959/> [Accessed April 7, 2015].
- Prazeres, A.R., Carvalho, F. & Rivas, J., 2012. Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, pp.48–68.
- Rao, S.M., 2011. Reverse osmosis. *Journal of Hydrology*, 12(5), pp.68–69.
- Renner, E. & ABD El-Salam, M.H., 1993. *Application of Ultrafiltration in the Dairy industry*, Elsevier Applied Science. London and New York.
- Strathmann, H., 1983. Synthetic Membranes and their preparation. In P. M. Bungay, H. K. Lonsdale, & M. N. de Pinho, eds. *Synthetic Membranes: Science, Engineering and Applications*. D. Reidel Publishing Company.
- W. S., W.H. & Kamalesh K., S., 1992. Overview. In P. D. W. S. Winston Ho & P. D. Kamalesh K. Sirkar, eds. *Membrane Handbook*. Springer Science+Business Media, LLC, pp. 3–16.
- Watts, B.M. et al., 1995. *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*,
- Zydney, A.L., 1998. Protein separations using membrane filtration: New opportunities for whey fractionation. *International Dairy Journal*, 8(3), pp.243–250.



## 7 ANEXOS

### Anexo A – Retas de calibração do NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e Lactose

**Tabela 20** - Determinação da reta de calibração do cloreto de sódio em diferentes gamas de concentração.

Concentração (mg/L)	Condutividade a 25°C (µS/cm)	Reta de calibração
0	4,38	
555	1061	
825	1697	Condutividade=0,5058x[NaCl]
1309	2600	
1615	3170	
2128	4200	R <sup>2</sup> =0,9994

**Tabela 21** - Determinação da reta de calibração do cloreto de cálcio em diferentes gamas de concentração.

Concentração (mg/L)	Condutividade a 25°C (µS/cm)	Reta de calibração
0	1,6	
606	865	
977	1384	Condutividade=0,6925x[CaCl <sub>2</sub> ]
1261	1888	
1602	2290	
2022	2910	R <sup>2</sup> =0,9989

**Tabela 22** - Determinação da reta de calibração do sulfato de sódio em diferentes gamas de concentração.

Concentração (mg/L)	Condutividade a 25°C (µS/cm)	Reta de calibração
0	3,9	
534	881	
858	1377	Condutividade=0,6588x[Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ]
1206	1898	
1603	2450	
2012	2940	R <sup>2</sup> =0,9954

**Tabela 23** - Determinação da reta de calibração da lactose em diferentes gamas de concentração.

Concentração (mg/L)	TOC (mg/L)	Reta de calibração
0	6	
776	346	
937	395	TOC=2,3385x[Lactose]
1130	449	
1607	707	
2028	866	R <sup>2</sup> =0,9959

## Anexo B – Retas de calibração de polietilenglicóis (PEG's)

**Tabela 24** - Determinação da reta de calibração do PEG 2000 Da a diferentes gamas de concentração.

<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>TOC (mg/L)</b>	<b>Reta de calibração</b>
0	6	
608	325	
996	576	TOC=1,8686x[PEG 1000]
1368	790	
1709	899	
2180	1116	R <sup>2</sup> =0,9909

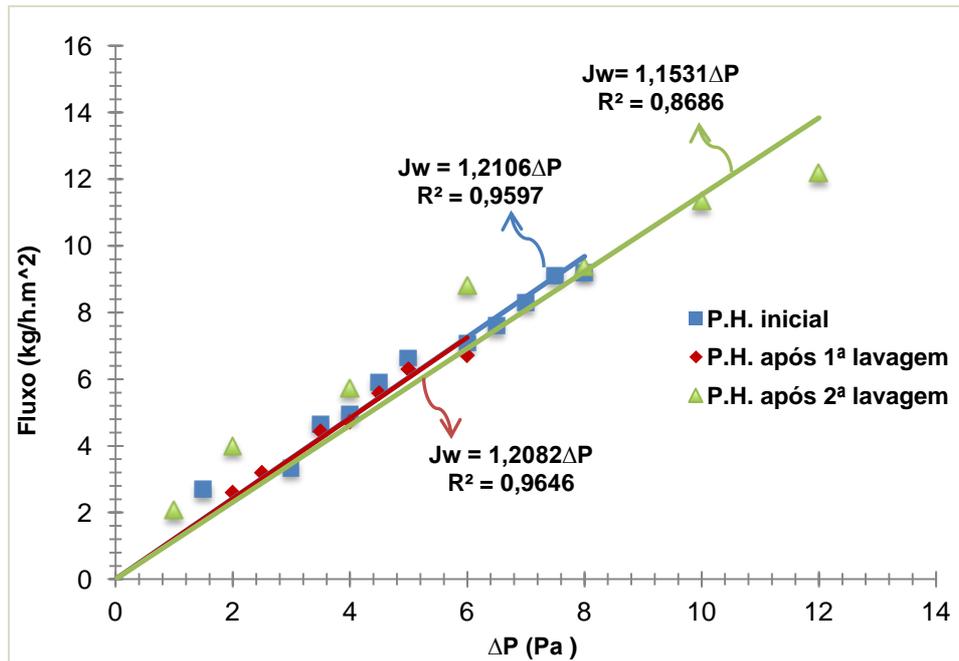
**Tabela 25** - Determinação da reta de calibração do PEG 4000 Da a diferentes gamas de concentração.

<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>TOC (mg/L)</b>	<b>Reta de calibração</b>
0	6	
605	352	
1045	594	TOC=1,8117x[PEG 4000]
1262	712	
1715	944	
2074	1123	R <sup>2</sup> =0,9984

**Tabela 26** - Determinação da reta de calibração do PEG 6000 Da a diferentes gamas de concentração.

<b>Concentração (mg/L)</b>	<b>TOC (mg/L)</b>	<b>Reta de calibração</b>
0	7	
612	354	
950	545	TOC=1,7957x[PEG 6000]
1185	673	
1735	965	
2004	1097	R <sup>2</sup> =0,9988

### Anexo C – Lavagens e regenerações da membrana GR95PP



**Figura 35** - Fluxo de permeação da água pura ( $J_w$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ), após lavagens efetuadas entre os ensaios em modo de concentração. Membrana: GR95PP; Área superficial de membrana:  $0,072 \text{ m}^2$ ; Pressão: 12 bar; Temperatura:  $25^\circ\text{C}$ ; Velocidade de circulação máxima.

A primeira lavagem corresponde à lavagem efetuada após o ensaio em modo de recirculação total, na determinação da variação do fluxo de permeação do soro de leite concentrado por OI ( $J_p$ ) em função da pressão transmembranar ( $\Delta P$ ). Após esta primeira lavagem obteve-se uma permeabilidade hidráulica de  $L_p$  de  $1,2028 \text{ Kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ . A segunda lavagem corresponde à lavagem efetuada entre os ensaios de ultrafiltração, UF1 e UF2, onde se obteve uma permeabilidade hidráulica de  $L_p$  de  $1,1538 \text{ Kg.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ .

