



# OBTENÇÃO DE CONCENTRADOS PROTÉICOS DE SORO DE LEITE E CARACTERIZAÇÃO DE SUAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS TECNOLÓGICAS\*

Carlos Henrique PAGNO\*\*  
Camila BALDASSO\*\*\*  
Isabel Cristina TESSARO\*\*\*\*  
Simone Hickmann FLORES\*\*\*\*\*  
Erna Vogt de JONG\*\*\*\*\*

■ **RESUMO:** O soro de leite, um subproduto da indústria de laticínios, representa a porção aquosa do leite separada do coágulo durante a produção de queijo. Suas proteínas possuem propriedades funcionais relevantes, tais como solubilidade e capacidade emulsificante (C.E.), que podem ser afetadas pelo alto teor de compostos não protéicos. Neste trabalho, utilizou-se a ultrafiltração (UF) associada à diafiltração (DF), com o objetivo de obter concentrados protéicos de soro de leite (CPS) e caracterizar suas propriedades funcionais tecnológicas. Para isso, realizaram-se três experimentos. Inicialmente, 30 L de soro em pó reconstituído foram concentrados através da UF, reduzindo-se o volume para 5 L e realizando-se as DF. No Experimento 1 executaram-se 4 DF, duas de 5 L e duas de 2,5 L, obtendo-se CPS-1 com 56% de proteína. No Experimento 2, duas DF de 10 L e duas de 5 L foram realizadas, obtendo-se CPS-2 com 71% de proteína. Para o Experimento 3, os ciclos foram aumentados para 6 DF de 5 L cada, obtendo-se CPS-3 com 80% de proteína. A solubilidade dos CPS variou de 70% a 85% (40°C/pH 6,8); a C.E. variou de 0,21 a 0,37 g/mg; o índice de atividade emulsificante (I.A.E.) variou de 12 a 30 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> e a estabilidade da emulsão de 7 a 16%. Índices semelhantes encontrados na literatura, indicam bom potencial para utilização em formulações alimentares.

■ **PALAVRAS-CHAVE:** Concentrados protéicos de soro de leite; ultrafiltração; diafiltração; caracterização da funcionalidade tecnológica de proteínas.

## INTRODUÇÃO

O soro lácteo, também conhecido como soro de leite, soro de queijo ou lacto-soro, é um subproduto da indústria de laticínios, representa a porção aquosa do leite que

se separa do coágulo durante a fabricação do queijo ou na produção de caseína. É composto basicamente de 94 a 95% de água, 3,8 a 4,2% de lactose, 0,8 a 1,0% proteínas e 0,7 a 0,8% de minerais. É um subproduto de relevante importância na indústria de laticínios, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional.<sup>19</sup>

No entanto, por décadas, essa parte do leite foi desperdiçada pela indústria de alimentos. Somente a partir da década de 70, pesquisadores passaram a estudar suas propriedades.<sup>18</sup> O componente mais valioso do soro são as proteínas, mas sua concentração neste líquido é reduzida, e, para realçar as suas propriedades funcionais, tais como solubilidade, emulsificação e formação de espuma, são necessárias etapas de concentração. Quando o teor de lactose é reduzido obtém-se um produto com alto teor de proteína.<sup>5</sup> Inúmeras pesquisas têm demonstrado as qualidades nutricionais das proteínas solúveis do soro do leite, também conhecidas como “*whey protein*”, em relação as suas propriedades fisiológico-funcionais, e suas vantagens em relação a outras fontes protéicas.<sup>18, 23, 37</sup> Do ponto de vista aminoacídico, as proteínas de soro contém quase todos os aminoácidos essenciais acima das recomendações da FAO/WHO,<sup>16</sup> exceto pelos aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina) que atendem às recomendações para todas as idades.<sup>30, 38</sup>

Além das propriedades nutricionais, as proteínas do soro do leite são conhecidas pela versatilidade de suas propriedades funcionais tecnológicas como ingredientes em produtos alimentícios, principalmente pela elevada solubilidade e propriedades emulsificantes.<sup>11</sup> Estas são usualmente descritas como a quantidade máxima de óleo emulsionado, sob condições específicas, por uma quantidade conhecida de proteína e que permaneça estável durante certo período de tempo a uma dada temperatura.<sup>1, 31</sup> A solubilidade é a mais importante característica de uma proteína,

\* Parte da Dissertação do Primeiro Autor.

\*\* Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Curso de Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – 91501-970 – Porto Alegre – RS – Brasil. E-mail: cpagno@gmail.com.

\*\*\* Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química – Curso de Doutorado – UFRGS – 90040-040 – Porto Alegre – RS – Brasil.

\*\*\*\* Docente do Programa de Pós Graduação em Engenharia Química (PPGEQ) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – 90040-040 – Porto Alegre – RS – Brasil.

\*\*\*\*\* Docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – 91501-970 – Porto Alegre – RS – Brasil.

pois esta tem a capacidade de afetar de maneira favorável ou desfavorável sua funcionalidade.<sup>28,33</sup>

Com a chegada de novas tecnologias, particularmente das Técnicas de Separação por Membranas e com as novas descobertas da importância das proteínas do leite em Ciência e Tecnologia de Alimentos e na Nutrição, ocorreu grande aumento das pesquisas procurando intensificar o uso dessas proteínas.<sup>6</sup>

Segundo Brans et al.<sup>7</sup> desde 1981, a UF se tornou uma das técnicas mais utilizadas para recuperar as proteínas solúveis do soro, além disso o uso da diafiltração, um modo de operação da UF, onde ocorre a adição de água em algumas etapas durante o processo de concentração, foi um fator significativo para a intensificação do uso desse processo na purificação e concentração das proteínas. Os produtos obtidos podem ser classificados como concentrados protéicos (CPS) e isolados protéicos (IPS).

Os CPS podem variar sua composição de proteínas de 35% a 80%, e os isolados protéicos de soro (IPS) devem apresentar valor superior a 90% de proteínas. Quando CPS contém em torno de 53% de proteína terão em média 35% lactose, 5% de gordura e 7% de cinzas quando a concentração de proteínas aumenta para 80%, o conteúdo de lactose decresce ficando em média 7%, gordura e cinzas entre 4 e 7% diminuindo gradativamente a medida que aumentam as lavagens com água (DF).<sup>1,19</sup>

O objetivo do trabalho foi obter CPS, para utilização em formulações alimentícias por meio do processo de separação por membranas (UF e DF) permitindo dessa forma maior remoção de lactose e sais minerais e caracterizá-los quanto às suas propriedades funcionais de solubilidade e emulsificação.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria-Prima

O soro de queijo doce em pó utilizado neste trabalho foi doado pela Eleva Alimentos (Teutônia, RS) com teor médio de 12% de proteínas.

Todo o processo foi realizado em uma planta piloto do Laboratório de Processos de Separação com Membranas – LASSEM – da UFRGS.

## Processo

O soro foi reconstituído através da sua dissolução em água destilada na temperatura de 50°C. O volume inicial ultrafiltrado foi de aproximadamente 30L (27L de água no tanque + 2,6L de água de volume morto no sistema + 1.860kg de soro em pó). As concentrações iniciais médias de proteínas e de lactose em base seca foram de 14% e 76% respectivamente.

Os experimentos realizados na unidade piloto tiveram como objetivo concentrar e purificar as proteínas do soro através da ultrafiltração em duas etapas distintas, a primeira no modo batelada (concentração) e a segunda pela diafiltração (purificação).

A membrana usada no processo foi a UF-6001, feita de polietersulfona em módulo espiral, fabricada pela KOCH MEMBRANE SYSTEMS, possuindo massa molecular de corte de 10 kDa. A pressão transmembrana foi mantida em 2 bar, com vazão de alimentação de soro de aproximadamente 840L.h<sup>-1</sup>, condições estas determinadas em experimentos anteriores realizados por Baldasso.<sup>3</sup> A temperatura foi mantida em aproximadamente 50°C, tendo em vista a temperatura de saída do soro no processo de fabricação do queijo (~60°C) e a temperatura máxima admissível pela membrana (~55°C) de acordo com o fabricante.

Nestas condições, produziu-se um concentrado (retido) que continha todas as proteínas do soro e um ultrafiltrado (permeado) formado da maior parte da água, originalmente encontrada no soro, contendo ainda grande parte da lactose, minerais, vitaminas e outros constituintes do leite, de baixo peso molecular.<sup>6</sup> Neste processo, utilizou-se um fator de concentração igual a seis (FC=6).

Para promover maior concentração das proteínas, operou-se a ultrafiltração no modo de diafiltração, que consiste em adicionar água destilada ao concentrado, na mesma taxa de remoção do permeado, para retirar o máximo de lactose e outros compostos de baixa massa molar, ao mesmo tempo concentrando e purificando ainda mais as proteínas.

A Tabela 1 apresenta os dados referentes aos experimentos de diafiltração, efetuados a fim de verificar em quais condições seria obtida uma maior purificação das proteínas.

Tabela 1 – Resumo dos experimentos realizados nas Diafiltrações.

Experimento	Nº de ciclos na DF	Diafiltração	Volume total de água utilizado
Exp. 1	4 (2+2)	2 x 5 L 2 x 2,5 L	15 L
Exp. 2	4 (2+2)	2 x 10 L 2 x 5 L	30 L
Exp. 3	6	6 x 5 L	30 L

Cada ciclo de DF equivale a adicionar ao concentrado o volume de água destilada indicado em cada experimento, mantendo-se constante o volume de retido ou concentrado.

Após a concentração e a purificação, o retido foi armazenado em frascos de vidro e congelado (-25°C), para posterior liofilização, obtendo-se assim o concentrado protéico desidratado.

#### Caracterização química dos concentrados protéicos (CPS)

Para acompanhar a evolução dos processos de UF e DF as concentrações de proteínas e lactose foram expressas em percentual mássico de base seca. A determinação do teor de sólidos totais foi obtida através da técnica gravimétrica de acordo com o método apresentado em Lanara.<sup>8</sup> A concentração de lactose foi obtida através do método do ácido dinitrossalicílico (DNS) segundo Miller<sup>24</sup> e o teor de proteína pelo método de Lowry et al.<sup>21</sup>

Ao final dos processos de concentração e liofilização dos concentrados foi realizada caracterização dos teores de umidade e de cinzas pelos procedimentos descritos no manual da AOAC,<sup>2</sup> de lipídios totais pelo método de Bligh & Dyer<sup>5</sup> e de proteínas pelo método de Lowry.<sup>21</sup>

#### Caracterização das propriedades funcionais

A caracterização das propriedades funcionais tecnológicas foi realizada a 40°C e pH 6,8 utilizando um pHmetro (Quimis mod. Q400MT) e chapa aquecedora (modelo Are).

#### Índice de solubilidade de nitrogênio (I.S.N.)

A Solubilidade dos Concentrados foi determinada através do I.S.N. proposta por Morr et al.<sup>26</sup> Com a finalidade de avaliar a relação da temperatura com a solubilidade repetiu-se o teste do I.S.N. a 60°C. Foram preparadas soluções a 1% (m/v) dos concentrados em NaCl 0,1M, o pH ajustado para 6,8 e agitadas por uma hora nas temperaturas desejadas, centrifugadas a 20.000 x g por 30 minutos. Os sobrenadantes obtidos foram filtrados em papel filtro Whatman número 1 e determinado o teor de proteína pelo método de Lowry.<sup>21</sup> A porcentagem de proteína solúvel (P.S.) foi calculada de acordo com Equação 1.

$$P.S. = \frac{[A(mg/mL) \times 50]}{W(mg) \times \frac{S}{100}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

P.S. = teor de proteínas solúveis presentes na amostra em %

A = concentração protéica no sobrenadante mg/mL

W = peso da amostra mg

S = concentração de proteína na amostra %

#### Determinação da capacidade emulsificante (C.E.)

Para determinar a C.E. utilizou-se a metodologia descrita por Vuillemand et al.,<sup>43</sup> modificada por Duarte et al.<sup>14</sup> Preparou-se uma solução de 0,1% de proteína em água, com ajuste do pH para 7,0 e alíquotas de 30mL foram então homogeneizadas em liquidificador (Osterizer Clássico 4655) na velocidade máxima, sob adição constante de óleo de soja até que ocorresse a inversão da emulsão, observada pela queda de corrente elétrica em voltímetro (Lightex LT-830B). O cálculo da C.E. foi realizado pela Equação 2:

$$C.E. = \frac{\text{Quantidade de óleo emulsionado (g)}}{\text{mg de proteína}} \quad \text{Equação 2}$$

#### Determinação do índice de atividade emulsificante (I.A.E.)

Na determinação do I.A.E., a metodologia empregada no preparo da amostra foi baseada no trabalho de Pearce & Kinsella,<sup>32</sup> modificada por Duarte et al.<sup>14</sup> Para formação da emulsão 30 mL da solução de proteína 0,1% e 10mL de óleo de soja, foram homogeneizados em liquidificador (velocidade máxima) durante um minuto. Logo após a formação da emulsão, foram retiradas alíquotas (1 mL) para diluição (1/100) em solução 0,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS) para leitura em Espectrofotômetro no comprimento de onda de 500 nm. O cálculo do I.A.E. foi feito de acordo com a equação corrigida proposta por Cameron et al.,<sup>10</sup> conforme a Equação 3.

$$I.A.E. = \frac{2 \times T}{(1 - \theta) \times C} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

T representa a turbidez = 2,303 x Absorbância (500nm) x fator de diluição/0,01m (caminho óptico das cubetas);

θ é a fração de óleo gasto para formar a emulsão = 0,25;

C é a concentração inicial de proteína ou de hidrolisado = 0,1 g%.

#### Estabilidade das emulsões (E.E.)

Para verificar a E.E. foi utilizada a metodologia descrita por Chobert et al.<sup>12</sup> Nesta, as emulsões formadas para determinação do I.A.E. foram submetidas a dois tratamentos: inicialmente a amostra ficou armazenada sob refrigeração a 4°C/24 horas. Após este período sofreu leve agitação de 30 segundos, foram retiradas alíquotas para diluição e determinação do I.A.E. O restante da emulsão foi aquecido a 80°C por 30 minutos, resfriado à temperatura ambiente e submetidas à determinação do I.A.E. Calculou-se então a variação percentual do I.A.E.% pela Equação 4.

$$\Delta I.A.E.\% = \frac{I.A.E.máx - I.A.E.mín \times 100}{I.A.E.máx}$$

Equação 4

O *I.A.E. máx.* é o maior valor obtido pela emulsão diluída logo após sua formação, e *I.A.E. mín.* é o menor valor obtido pelas alíquotas, após seu armazenamento e posteriores tratamentos. Os valores de E.E. foram calculados pela Equação 5.

$$E.E. = \frac{1}{\Delta I.A.E.\%}$$

Equação 5

### Análise Estatística dos Resultados

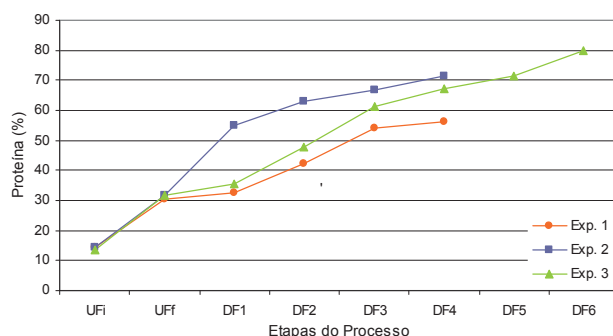
Os resultados foram expressos na forma de média e desvio padrão para cada amostra. A análise estatística foi feita utilizando o programa Excel através da ANOVA. Quando houve diferença entre as médias dos tratamentos foi aplicado o teste de Tukey ao nível de significância de 5%, segundo Bender et al. <sup>4</sup>

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Obtenção dos Concentrados Protéicos

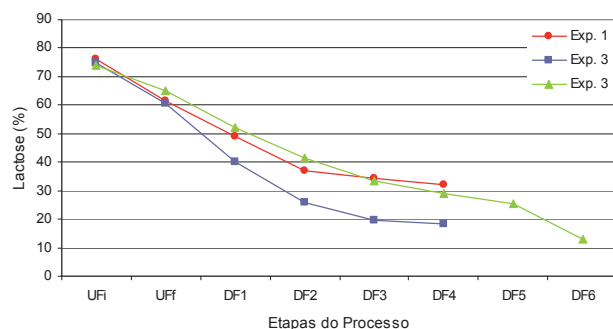
Após reconstituição do soro obteve-se volume de 30L, iniciando-se a UF identificada por UFi: utilizando fator de concentração igual a seis, o volume foi reduzido até 5L, considerado o final da ultrafiltração batelada, identificado por UFf, e o início das diafiltrações, identificadas por DF, e pelo número da etapa correspondente (1, 2, 3, 4, 5 e 6). Em cada uma das etapas as amostras foram coletadas e analisadas quanto ao percentual mássico médio de proteína e lactose, em base seca.

O percentual de proteína para o soro reconstituído foi em média de 14% em base seca: após a ultrafiltração batelada houve variação dos valores na UFf, com médias de 30% de proteína. A variação dos teores de proteína para cada etapa do processo está apresentada na Figura 1. Observa-se que o teor de proteína foi consideravelmente aumentado com as DFs, obtendo-se ao final 56% para o primeiro experimento, 71% para o segundo e 80% para o terceiro.



UFI = ultrafiltração inicial e UFf = ultrafiltração final, as diafiltrações são identificadas por DF e pela etapa correspondente.

FIGURA 1 – Percentual protéico no concentrado de soro de leite (base seca) em cada etapa do processo, para os experimentos 1, 2 e 3.



UFI = ultrafiltração inicial e UFf = ultrafiltração final, as diafiltrações são identificadas por DF e pela etapa correspondente.

FIGURA 2 – Percentual de lactose no concentrado de soro de leite (base seca) em cada etapa do processo para os experimentos 1, 2 e 3.

A Figura 2 apresenta o percentual de lactose em base seca no concentrado para cada etapa do processo de concentração e purificação das proteínas. Para lactose, o percentual na UFi ficou em média 76% base seca; houve algumas variações para a amostra na UFF, obtendo-se 61%, 60% e 65% de lactose em base seca nos experimentos 1, 2 e 3 respectivamente, no entanto, estes valores foram reduzidos acentuadamente com as DFs ficando em 31%, 18% e 10% respectivamente.

Os resultados encontrados são coerentes com a literatura, pois Butylina et al.,<sup>9</sup> Prudêncio et al.,<sup>35</sup> Rektor & Vatai,<sup>36</sup> Yee et al.,<sup>46</sup> Zydny,<sup>47</sup> realizaram trabalhos com o soro de queijo e verificaram que os componentes de baixa massa molar (lactose e sais) permeiam a membranas de UF. À medida que aumenta o número de ciclos de DF, mais água circula no sistema, as concentrações de lactose e cinzas diminuem e as de proteína aumentam.

Os teores de proteína obtidos no primeiro experimento foram menores do que os obtidos no segundo e terceiro experimentos. Vale ressaltar que nestes o volume de água para a etapa de DF foi maior, totalizando 30L, o dobro do volume utilizado para o primeiro experimento. Segundo Huffman,<sup>19</sup> a DF é um processo que visa aumentar a concentração protéica pela adição de água ao retido, “lavando” as proteínas, removendo lactose e minerais, tendo como consequência uma concentração protéica que pode chegar a valores superiores a 80%.

No entanto, quando se compara o experimento dois com o três, em ambos utilizou-se o mesmo volume de água, porém encontra-se maior concentração final no experimento três, demonstrando que a DF pode ser mais eficiente quando realizada com pequenos volumes e em maior número de vezes. Na DF 4, experimento 3, utilizando apenas 21 L de água, o teor de proteína já se assemelha a concentração final do experimento 2. Este fato proporciona maior economia de água e menor tempo de processo com menor geração de permeado.

Borges et al.,<sup>6</sup> utilizando fator de concentração igual a 12, associando a 15 ciclos de DF, encontraram para seus produtos, concentração de proteína superior a 80%.

A composição em proteínas, lactose, lipídios totais e cinzas dos três concentrados protéicos de soro obtidos em planta piloto está apresentada na Tabela 2.

Os concentrados apresentaram teor de proteínas variando de 56 a 80% e lactose de 10 a 31%. Os resultados encontrados são semelhantes aos citados por outros autores.<sup>1, 6, 19, 22</sup>

### Propriedades Funcionais Tecnológicas

As proteínas do soro do leite possuem alto valor nutricional, relatado por vários autores,<sup>23, 29, 37, 44</sup> além de relevantes propriedades funcionais tecnológicas, tais como capacidade de emulsificação, capacidade em manter estável a emulsão e principalmente solubilidade, que torna o seu uso mais efetivo como ingrediente em alimentos processados.<sup>31, 40, 42, 45</sup>

#### Solubilidade

Os percentuais de solubilidade dos CPSs obtidos podem ser observados na Figura 3. Ao comparar os concentrados de soro de leite, independente da temperatura utilizada, observou-se diferença estatística significativa entre as amostras.

Para o CPS-2 e CPS-3, quando avaliados a temperatura de 40°C em pH 6,8, seus percentuais de solubilidade foram superiores a 77% e 85% respectivamente, valores semelhantes aos citados por outros autores, ao avaliar a solubilidade de fontes protéicas, utilizando as mesmas condições de determinação.

Pelegrine & Gasparetto,<sup>33, 34</sup> obtiveram 88% de solubilidade para CPSs e 90% de solubilidade para proteínas de clara de ovo. Pacheco et al.,<sup>30</sup> obtiveram 87% e Morr & Foegeding,<sup>25</sup> 78% de solubilidade para seus CPSs.

A diferença de solubilidade entre os CPSs pode ser explicada pela diferença na sua composição, em relação aos compostos não protéicos. Em geral, os componentes não protéicos dos concentrados podem influenciar, de algum modo, na manifestação das funcionalidades tecnológicas desejadas para os CPSs.<sup>1, 31</sup>

De acordo com o trabalho realizado por Patel & Kilara,<sup>31</sup> o conteúdo de gordura, pode interferir na interação proteína-água resultando em decréscimo da solubilidade.

Tabela 2 – Composição centesimal em base seca de CPS bovino.

Componentes (% b.s.)	CPS-1	CPS-2	CPS-3
Proteína	56 ±0,03 <sup>c</sup>	71 ±0,08 <sup>b</sup>	80 ±0,06 <sup>a</sup>
Lactose	31 ±0,10 <sup>a</sup>	18 ±0,09 <sup>b</sup>	10 ±0,03 <sup>c</sup>
Lipídios totais	8 ±0,40 <sup>a</sup>	5 ±0,2 <sup>b</sup>	4 ±0,1 <sup>b</sup>
Cinzas	6 ±0,08 <sup>a</sup>	4 ±0,03 <sup>b</sup>	3 ±0,02 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p≤0,05).

Na Figura 3 pode-se observar ainda que na temperatura de 60°C, ocorreu redução da solubilidade para todos os concentrados em relação à 40°C. Pelegrine & Gasparetto,<sup>33,34</sup> observaram efeito semelhante ao avaliar o aumento da temperatura na mesma faixa de pH sobre a solubilidade de concentrados protéicos.

Mutilangi et al.,<sup>27</sup> obtiveram queda na solubilidade de seus isolados protéicos inicialmente de 100 para 49% após tratamento térmico.

Segundo Antunes,<sup>1</sup> a solubilidade dos CPSs aumenta com o aumento da temperatura de 0 a 50°C, no entanto, quando a temperatura fica elevada por determinado período de tempo a proteína sofre desnaturação, diminuindo com isso sua solubilidade.

O tratamento térmico prolongado pode mudar a conformação das proteínas, atuando sobre as ligações não covalentes envolvidas na estabilização de estruturas secundária e terciária tais como ligações de hidrogênio, ligações hidrofílicas e ligações eletrostáticas. Quando as estruturas secundárias e terciárias de uma proteína são desenoveladas, expõem os grupos hidrofóbicos, reduzindo a interação proteína-água, diminuindo assim sua solubilidade.<sup>15,33</sup>

### Capacidade de emulsificação

A C.E. é uma importante propriedade das proteínas em alimentos emulsionados, tais como queijos, sorvete, molhos para saladas e carnes processadas. A C.E. dos CPSs obtidos neste trabalho pode ser observada na Tabela 3. Comparando a C.E. dos CPSs observa-se menor C.E. no CPS-1, diferente estatisticamente dos demais tratamentos, característica esta, relacionada a menor solubilidade de suas proteínas.

As propriedades funcionais de proteínas são frequentemente afetadas pela solubilidade protéica.<sup>1</sup> Na literatura são encontrados resultados similares para C.E. de fontes protéicas com diferentes tratamentos, quando avaliadas em condições semelhantes a deste trabalho, como, por exemplo podem-se citar hidrolisados de caseína entre 0,15 e 0,25g/mg,<sup>14</sup> hidrolisados de proteínas lácteas entre 0,40 e 0,50g/mg.<sup>17</sup> Kwon & Rhee,<sup>20</sup> encontraram valores superiores ao avaliar a C.E. de proteína de coco, entre 0,74g/mg e 1,3g/mg.

### Índice da atividade emulsificante/estabilidade da emulsão

O I.A.E. e E.E. podem ser observados na Tabela 3 para os CPSs. Percebe-se que o I.A.E. teve comportamento semelhante a C.E. mostrando diferença estatística signifi-

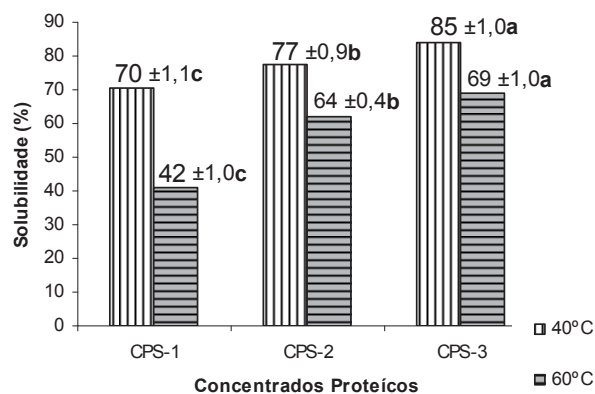


FIGURA 3 – Percentual de solubilidade dos concentrados protéicos - 1, 2 e 3 - sob diferentes temperaturas (40° e 60°C), onde letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

Tabela 3 – Propriedades funcionais tecnológicas dos CPS obtidos através da UF: C.E., I.A.E. e E.E.

Amostras de CPS	C.E. (g/mg)	I.A.E. (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	E.E. (%) <sub>x100</sub>
CPS-1	0,21 ± 0,01 <sup>b</sup>	12 ± 0,72 <sup>b</sup>	7 ± 0,97 <sup>c</sup>
CPS-2	0,34 ± 0,01 <sup>a</sup>	30 ± 0,68 <sup>a</sup>	11 ± 0,86 <sup>b</sup>
CPS-3	0,37 ± 0,06 <sup>a</sup>	28 ± 0,97 <sup>a</sup>	16 ± 0,95 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ).

cativa entre o CPS-1 e os demais tratamentos, entretanto, para CPS-2 e CPS-3 foram semelhantes estatisticamente. Resultados semelhantes podem ser observados em outros trabalhos na literatura, utilizando as mesmas condições e metodologia de determinação. Vaghela & Kilara,<sup>42</sup> obtiveram I.A.E. igual a  $31\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  para amostra de CPS comercial e entre 27 a  $33\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  para seus CPSs submetidos a diferentes tratamentos térmicos e níveis de cálcio. Fachin & Vioto,<sup>15</sup> encontraram I.A.E., semelhantes aos encontrados neste trabalho, variando de 22 a  $39\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  para CPSs submetidos a diferentes tratamentos térmicos, quando comparados ao CPS-2 e CPS-3, os mesmo autores também observaram que uma redução na pureza dos concentrados, resultou em menor I.A.E. Mutilangi et al.<sup>27</sup> ao avaliarem as propriedades funcionais de isolados protéicos, obtiveram I.A.E. inferiores aos obtidos no presente trabalho, que variaram entre 23,7 e  $27\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ .

Uma vez formada a emulsão, sem a presença de agente estabilizador esta tende a separar-se em duas fases: uma aquosa e uma oleosa. De acordo com Antunes,<sup>1</sup> as proteínas do soro de leite bovino possuem características estabilizantes, pois elas contêm grupos hidrofílicos que se ligam com o meio aquoso ou fase contínua e hidrofóbicos que se ligam com a gordura, mantendo assim uma emulsão estável.

A capacidade dos CPSs em manter estável a emulsão, ao contrário da C.E. e do I.A.E., todos os concentrados apresentaram diferença estatística significativa entre si. O CPS-3 obteve maior capacidade em manter estável a emulsão já formada, devido ao teor protéico mais elevado. Estes valores podem ser comparados a outros trabalhos na literatura que utilizaram a mesma metodologia para determinação. Furtado et al.<sup>17</sup> obtiveram E.E. nula para a maioria de seus hidrolisados de proteínas lácteas em uma ampla faixa de pH. Duarte et al.<sup>14</sup> observaram valores de 10 a 45% de E.E. para hidrolisado de caseína, independente do pH utilizado.

Na literatura encontra-se uma gama de trabalhos avaliando o I.A.E. e E.E., sejam de diferentes fontes protéicas,<sup>13, 20, 41</sup> ou de fontes semelhantes às avaliadas neste trabalho.<sup>39, 40, 42, 44, 45</sup> No entanto, não há uma padronização de metodologia.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade de utilizar a ultrafiltração na obtenção de CPS. Também demonstram a eficiência da DF contínua na purificação das proteínas e sua eficiência quando realizada em um maior ciclo de DF com pequenos volumes de água.

Como o processo não utiliza altas temperaturas, pouco afetou as propriedades funcionais tecnológicas de tais proteínas, que são mais afetadas pela sua composição de origem não protéica.

Na literatura encontram-se estudos avaliando o I.A.E. e E.E., sejam de diferentes fontes protéicas, ou de fontes semelhantes avaliadas neste trabalho, no entanto,

as formas de avaliação e as medidas destas propriedades são bastante diversas, já que não há padronização para estes métodos. Existe também a variação na composição dos produtos analisados, portanto, os resultados devem ser cuidadosamente observados quando o objetivo principal é comparação dos dados experimentais.

PAGNO, C. H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I. C.; FLORES, S. H.; JONG, E. V. Obtention of whey protein and characterization of its technological functional properties. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v. 20, n. 2, p. 231-239, abr./jun. 2009.

■**ABSTRACT:** Cheese whey is a by product of the dairy industry. It represents the aqueous portion of milk, which separates from the coagulum during the production of cheese. Their proteins have important functional properties, as solubility and emulsifying properties, which can be affected by the high quantity content of non protein components. In this work ultrafiltration operating in a diafiltration mode was used, with the purpose of concentrate and purify whey protein (CPS) and characterizing its technological functional properties. For this, three different experiments were performed. Firstly, 30 L of reconstituted whey power were concentrated by ultrafiltration (UF) operating in a batch mode with reduction of the volume to 5L, after in continue process, three different strategies operating in a diafiltration (DF) operating mode were accomplished. For experiment 1, it was made 4DF, two of 5 L and two of 2.5 L, affording WPC-1 with 56% of protein; experiment 2 also with 4DF, two with 10 L and two with 5 L, affording WPC-2 with 71% of protein; for experiment 3, DF cycles were increased to six, 5 L each, affording WPC-3 with 80% of protein. WPCs solubility ranged between 70 and 85% (40°C/pH6.8); emulsifying capacity ranged between 0.21 and 0.37g/mg; emulsifying activity index ranged between 12 and 30  $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  and emulsion stability ranged between 7 and 16%. Similar indices are found in the literature, showing good potential for use in food formulations.

■**KEYWORDS:** Whey protein concentrate; ultrafiltration; diafiltration; protein technological functional characterization.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino.** Barueri: Manole, 2003. 135p.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 15<sup>th</sup> ed. Washington, DC, 1990. methods.

3. BALDASSO, C. **Concentração e purificação das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 163 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
4. BENDER, F. E.; DOUGLAS, L. W.; KRAMER, A. **Statistical methods for food and agriculture**. Westport: Avi Publ., 1982. p. 91-94.
5. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, Canadian, v. 37, p. 911-917, 1959.
6. BORGES, P. F. Z. et al. Pilot scale production of protein concentrates from cow's milk: composition and nutritive value. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 4, p. 1-8, 2001.
7. BRANS, G. et al. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **J. Memb. Sci.**, Amsterdam, v. 243, p.263-272, 2004.
8. BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. LANARA. **Portaria 001, de 07 de outubro de 1981: métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físico-químicos**. Brasília, DF, 1981. cap. 2, p. 3, met. 3.
9. BUTYLINA, S.; LUQUE, S.; NYSTROMA, M. Fractionation of whey-derived peptides using a combination of UF and NF. **J. Memb. Sci.**, Amsterdam, v. 280, p. 418- 426, 2006.
10. CAMERON, D. R. et al. Determination of interfacial areas in emulsions using turbidimetric and droplet size data: correction of the formula for emulsifying activity index. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v. 39, p. 655-659, 1991.
11. CAPITANI, C. D. et al. Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. **Pesqui. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 40, p. 1123-1128, 2005.
12. CHOBERT, J. M.; BERTRAND-HARB, C.; NICOLAS, M. G. Solubility and emulsifying properties of caseins and whey proteins modified enzymatically by trypsin. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v. 36, p.883-892, 1988.
13. DONADEL, M. E.; FERREIRA, S. H. P. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 19, p. 380-386, 1999.
14. DUARTE, A. J. et al. Propriedades emulsificantes e solubilidade da caseína bovina e de seus hidrolisados tripticos. 1. Efeito do pH e do tempo de hidrólise. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 18, p. 295-302, 1998.
15. FACHIN, L.; VIOTTO, W. H. Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration. **Int. Dairy J.**, Barking, v. 15, p. 325-332, 2005.
16. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Protein quality evaluation: report of the joint FAO/WHO expert consultation**. Rome, 1991. 66 p. (FAO, Food and Nutrition Paper, v. 51).
17. FURTADO, M. A. M. et al. Propriedades funcionais de hidrolisados de proteína láctea co-precipitada. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 25, p. 625-639, 2001.
18. HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, p. 479-488, 2006.
19. HUFFMAN, L. M. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technol.**, Chicago, v. 50, p. 49-52, 1996.
20. KWON, K. S.; RHEE, K. C. Emulsifying capacity of coconut proteins as a function of salt, phosphate, and temperature. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Chicago, v. 73, p. 1669-1673, 1996.
21. LOWRY, O. H. et al. Protein measurements with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v. 193, p. 265-275, 1951.
22. MCDONOUGH, F. E. et al. Composition and properties of whey protein concentrates from ultrafiltration. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 57, p. 1438-1443, 1974.
23. MCINTOSH, G. H.; LE LEU, R. K. The influence of dietary proteins on colon cancer risk. **Nutr. Res.**, Tarrytown, v. 21, p. 1053-1066, 2001.
24. MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem.**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1959.
25. MORR, C. V.; FOEGEDING, E. A. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates: a status report. **Food Technol.**, Chicago, v. 44, p.100-112, 1990.
26. MORR, C. V. et al. A collaborative study to develop a standardised food protein solubility procedure. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 50, p.1715-1718, 1985.
27. MUTILANGI, W. A. M.; PANYAM, D.; KILARA, A. Functional properties of hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey protein isolate. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 61, p. 270-275, 1996.
28. NAKAI, S.; LI-CHAN, E. Structure modification and functionality of whey proteins: quantitative structure-activity relationship approach. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 68, p. 2763-2772, 1985.
29. PACHECO, M. T. B.; SGARBIERI, V. C. Effect of different hydrolysates of whey protein on hepatic glutathione content in mice. **J. Med. Food.**, New Rochelle, v. 8, p. 337-342, 2005.



30. PACHECO, M. T. B. et al. Propriedades funcionais de hidrolisados obtidos a partir de concentrados protéicos de soro de leite. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 25, p. 333-338, 2005.
31. PATEL, M. T.; KILARA, A. Studies on whey protein concentrates. 2. Foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 73, p. 2731-2740, 1990.
32. PEARCE, K. N.; KINSELLA, J. E. Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. **J. Agric. Food Chem.**, Easton, v. 26, p. 716-723, 1978.
33. PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. **Rev. Bras. Prod. Agroind.**, Campina Grande, v. 5, p. 57-65, 2003.
34. PELEGRINE, D. H. G.; GASPARETTO, C. A. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. **Lebensm. Wiss. U. Technol.**, v. 38, p. 77-80, 2005.
35. PRUDÊNÇIO, E. S. et al. Comportamento do leite de búfala (*Bubalus bubalis*) desnatado e pasteurizado durante o processo de ultrafiltração. **B. CEPPA**, Curitiba, v. 24, p. 99-114, 2006.
36. REKTOR, A.; VATAI, G.; Membrane filtration of Mozzarella whey. **Desalination**, Amsterdam, v. 162, p. 279 - 286, 2004.
37. ROSANELI, C. F. et al. Protective effect of bovine milk whey protein concentrate on the ulcerative lesions caused by subcutaneous administration of indomethacin. **J. Med. Food**, New Rochelle, v. 7, p. 309-314, 2004.
38. SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 397-409, 2004.
39. SINHÁ, R. et al. Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chem.**, London, v. 101, p. 1484-1491, 2007.
40. SODINI, I. et al. Compositional and functional properties of buttermilk: a comparison between sweet, sour, and whey buttermilk. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 89, p. 525-536, 2006.
41. TAKEITI, C. Y.; SOUZA, A. S.; NETTO, F. M. Influence of heat treatment on the solubility and emulsifying properties of soy protein isolate and its enzyme hydrolysates. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v.7, p.87-101, 2004.
42. VAGHELA, M. N.; KILARA, A. Foaming and emulsifying properties of whey protein concentrates as affected by lipid composition. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 61, p. 275-280, 1996.
43. VUILLEMARD, J. C. et al. Development of a method for the measurement of the maximum value of emulsifying capacity of milk proteins. **Milchwissenschaft**, Frankfurt, v. 45, p. 572-575, 1990.
44. WIT, J. N. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 81, p. 597-608, 1998.
45. YAMAUCHI, K.; SHIMIZU, M.; KAMIYA, T. Emulsifying properties of whey protein. **J. Food Sci.**, Chicago, v. 45, p.1237-1242, 1980.
46. YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **J. Memb. Sci.**, Amsterdam, v. 290, p. 125-137, 2007.
47. ZYDNEY, A. L. Protein separation using membrane filtration: new opportunities for whey fractionation. **Int. Dairy J.**, Barking, v.8, p. 243-250, 1998.