

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

Bruna Seguenka

**Produção de concentrado proteico e lactose de soro de leite por processos
de separação por membranas**

Passo Fundo

2016

Bruna Seguenka

**Produção de concentrado proteico e lactose de soro de leite por processos
de separação por membranas**

Dissertação de Mestrado apresentada para
obtenção do título de Mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos
Orientador: Prof. Dr. Vandré Barbosa Brião

Passo Fundo

2016

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

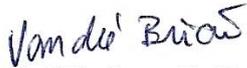
A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

Produção de concentrado proteico e lactose de soro de leite por processos de
separação por membranas

Elaborada por
Bruna Seguenka

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora


Vandrê Barbosa Brião, Dr., UPF
(Orientador/Presidente)


Luciane Maria Colla, Dra., UPF


Juliana Steffens, Dra., URI

**Passo Fundo, RS, Brasil
2016**

CIP – Catalogação na Publicação

S456p Seguenka, Bruna
Produção de concentrado proteico e lactose de soro de leite
por processos de separação por membranas / Bruna Seguenka. –
2016.
[98] p. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Vandr e Barbosa Brião.
Disserta o (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) – Universidade de Passo Fundo, 2016.

1. Lactose. 2. Ultrafiltra o. 3. Proteínas – Análise.
4. Soro do leite. 5.  gua – Uso. I. Brião, Vandr e Barbosa,
orientador. II. Título.

CDU: 664

Cataloga o: Bibliotecária Schirlei T. da Silva Vaz - CRB 10/1364

*Dedico este trabalho aos meus pais,
Ivete e Juarez Seguenka*

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus que permitiu que tudo isso acontecesse e por ter me dado força e saúde para superar as dificuldades.

Ao professor Dr. Vandr e Barbosa Brião, pela orienta o, apoio e confiança posta em mim. Agradeço também por todo conhecimento transmitido, sendo fundamental para realiza o desta disserta o.

A FAPERGS (Fundaa o de Amparo   Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo suporte financeiro.

Aos membros da banca, pela aten o e contribui o para a conclusão deste trabalho e todos os demais professores do Programa de Pós Gradua o em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos ensinamentos e aten o dispensados durante o mestrado.

A empresa parceira da pesquisa, Relat - Laticínios Renner S.A., pela disponibilidade e por cederem a matéria-prima para o desenvolvimento dos estudos.

Ao colega Silvio Cesar Rodegheri e ao SARLE/UPF pelo auxílio nas análises.

Aos funcionários e amigos João Barcelos e Clarice Ângela Alves, e aos estagiários e amigos Adriana Milani, Vinicius Castoldi, Sandrini Slongo, Alessandra Pezzini, Augusto Hemkemeier, Tassiele Toledo, Tobias Ponzoni e Vinicius Lang pelo auxílio na realiza o dos experimentos. E aos colegas do PPGCTA-UPF, pelo convívio repleto de alegria, troca de informaçoes e conhecimentos.

Aos meus pais, Ivete e Juarez Seguenka, e avós João e Antonina Seguenka e Ercolina Ped  pelo amor, incentivo e apoio incondicional. A minha sogra Onira de Vargas Borges que   como uma mãe pra mim e está sempre ao meu lado me apoiando e incentivando. Aos meus irmãos Camila, Jaqueline e João Pedro e demais familiares e amigos pelo carinho e incentivo que dispensaram a mim.

As minhas amigas Camila Silveira, Larrisa Rigo, Eliane Novak, Iane Gonzatto, que mesmo longe estão sempre presentes em meu cora o e que são como irmãs pra mim.

Aos meus padrinhos Luiz Carlos Gutkoski e Renata Cerutti por todo amor e carinho, por estarem sempre presentes e pelos conselhos sábios que me deram.

Um agradecimento especial ao meu marido, Eduardo de Vargas Borges, pelo apoio, paciência, conselhos, amizade e por estar sempre ao meu lado durante esta jornada.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuir m para a conclusão desta disserta o de mestrado, obrigada.

“Filhos brilhantes, alunos fascinantes...”

Bons filhos conhecem o prefácio da história dos seus pais. Filhos brilhantes vão muito mais longe, conhecem os capítulos mais importantes das suas vidas.

Bons alunos escondem certas intenções, mas alunos fascinantes são transparentes. Eles sabem que quem não é fiel à sua consciência tem uma dívida impagável consigo mesmo.

A grandeza de um ser humano não está no quanto ele sabe, mas no quanto ele tem consciência que não sabe. O destino não é frequentemente inevitável, mas uma questão de escolha. Quem faz escolha, escreve sua própria história, constrói seus próprios caminhos.

Os sonhos não determinam o lugar onde vocês vão chegar, mas produzem a força necessária para tirá-los do lugar em que vocês estão.

Bons alunos aprendem a matemática numérica, alunos fascinantes vão além, aprendem a matemática da emoção, que não tem conta exata e que rompe a regra da lógica. Nessa matemática, você só aprende a multiplicar quando aprende a dividir, só consegue ganhar quando aprende a perder, só consegue receber, quando aprende a se doar.

Uma pessoa inteligente aprende com os seus erros, uma pessoa sábia vai além, aprende com os erros dos outros, pois é uma grande observadora.

Procurem um grande amor na vida e cultivem-no. Pois, sem amor, a vida se torna um rio sem nascente, um mar sem ondas, uma história sem aventura! Mas, nunca esqueçam, em primeiro lugar tenham um caso de amor consigo mesmos.”

(Augusto Cury)

RESUMO

O soro de leite é o líquido gerado na produção de queijo. Ele contém cerca de 50% dos sólidos presentes no leite, incluindo 20% da proteína, mais de 99 % da lactose e parte dos minerais e vitaminas solúveis em água. Estima-se que a produção de soro foi 6,6 milhões de toneladas em 2014. Para cada litro de soro desperdiçado perdem-se cerca de 50 g de lactose e 10 g de proteína com elevado valor nutricional e funcional. O soro de leite é um dos subprodutos agroindustriais que apresenta um grande potencial para um maior aproveitamento, pois somente 50% do volume produzido é reutilizado. Apesar da sua inclusão em diversos produtos alimentícios, o soro de leite líquido ou na forma de pó ainda possui baixo valor comercial, sem agregação de valor ao mesmo. O objetivo do trabalho foi obter um processo integrado de fracionamento dos constituintes do soro de leite, para obtenção do concentrado proteico de soro (CPS), lactose concentrada (LC) e minimizar os gastos de água no processo. O fracionamento do soro de leite ocorreu por processos de separação por membranas: ultrafiltração para produção do CPS a partir do soro de leite e nanofiltração para produção da LC a partir do permeado da ultrafiltração, empregando etapas de diafiltração (DF) após a concentração dos componentes, para obter maior grau de pureza. A redução de consumo de água no processo procedeu-se realizando o tratamento dos permeados das diafiltrações por osmose inversa. Os produtos foram caracterizados por suas propriedades físico-químicas. Os resultados demonstraram que a ultrafiltração, seguida de diafiltração separou as proteínas do soro reduzindo 100 % da lactose e 78 % das cinzas do soro de leite, obtendo-se um CPS com 89,95 % de proteínas, em base seca. A nanofiltração, seguida de diafiltração, concentrou a lactose e reduziu 84 % dos íons monovalentes presentes no permeado da ultrafiltração, obtendo-se uma LC com 95 % de lactose, em base seca. A aplicação da osmose inversa tornou o permeado da DF passível de reutilização e permitiu a redução de 41 % do consumo de água pura no processo. Os resultados obtidos demonstraram a viabilidade de utilizar a ultrafiltração e a nanofiltração, integrados com etapas de diafiltração, para fracionar os componentes do soro, agregando valor a este subproduto e reconhecendo o soro de leite como uma matéria-prima importante para a cadeia do leite.

Palavras-chave: Diafiltração. Nanofiltração. Osmose inversa. Ultrafiltração.

ABSTRACT

Whey is the liquid generated in the production of cheese. It contains about 50% of the solids present in milk, including 20% of protein, over 99% of the lactose and some of the minerals and water soluble vitamins. It is estimated that the whey generated in 2014 was 6,6 million tons. For each liter of whey approximately 50 g of lactose and 10 g of protein (high nutritional and functional value) are lost. Whey is a by-product of the agroindustrial which has a great potential for further use, since only 50 % of the volume produced is reused. Despite their inclusion in various food products, the liquid whey or in powder form has low commercial value, without aggregation of the same value. The objective was to obtain an integrated process fractioning of whey constituents, for obtaining whey protein concentrate (WPC), concentrated lactose (CL) and minimize water spent in the process. The whey fractionation it occurred by membrane separation processes: WPC production by ultrafiltration from the whey and nanofiltration for the production of CL from the ultrafiltration permeate, employing steps diafiltration (DF) after the concentration of the components, to obtain higher purity. The reduction in consumption water in the process proceeded to realizing the treating the diafiltration permeate by reverse osmosis. The products were characterized by their physicochemical properties. The results demonstrated that the ultrafiltration, followed by diafiltration separates the whey proteins reducing 100 % lactose and 78 % of ash the whey, yielding a WPC with 89.95 % protein, dry basis. The nanofiltration, followed by diafiltration, concentrated the lactose, and reduced 84 % of monovalent ions present in the ultrafiltration permeate, yielding an CL with 95 % of lactose, on dry base. The application of reverse osmosis become liable to reuse the DF permeate and allowed a reduction of 41 % of pure water consumption in the process. The results showed the feasibility of using ultrafiltration and nanofiltration, integrated with steps of diafiltration, to fractionate serum components, adding value to this by-product and recognizing the whey as an important raw material for the milk chain.

Key-words: Diafiltration. Nanofiltration. Reverse osmosis. Ultrafiltration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Espectro de filtração segundo o tamanho das partículas	20
Figura 2 - Tipos de filtração usando membrana de microfiltração: filtração convencional “dead end” (a) e filtração tangencial “cross flow” (b).....	21
Figura 3 - Molécula química da lactose.....	33
Figura 4 - Diagrama geral do aproveitamento do soro - fabricação de derivados proteicos....	34
Figura 5 – Método empregado para o fracionamento do soro de leite	45
Figura 6 - Piloto de filtração do Laboratório de Operações Unitárias do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo.....	46
Figura 7 – Composição de proteínas, lactose, gordura, cinzas (a) e sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (b) nas diferentes etapas do processamento para produção do concentrado proteico de soro	54
Figura 8 - Fluxo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$) para a membrana de ultrafiltração com soro de leite, a uma pressão de 2 bar.....	58
Figura 9 - Composição de proteínas, lactose, gordura, cinzas (a), sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (b) nas diferentes etapas do processamento para produção da lactose concentrada.....	60
Figura 10 - Fluxo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$) para a membrana de nanofiltração com permeado da ultrafiltração, a uma pressão de 20 bar	63
Figura 11 – Comparação entre o concentrado proteico de soro produzido pelo método tradicional sugerido (dialisado com água pura) e outro produzido aplicando na primeira etapa de diafiltração o permeado tratado por osmose inversa	68
Figura 12 – Balanço de massa do processo sugerido para a redução do consumo de água	69
Figura 13 - Fluxo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$) para a membrana de osmose inversa a uma pressão de 20 bar	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição físico-química do soro de leite	29
Tabela 2 - Teor de sais presentes no soro de leite	30
Tabela 3 - Quantidades médias de vitaminas e minerais em 100 g de soro doce em pó.....	30
Tabela 4 - Composição proteica do soro de leite.....	31
Tabela 5 - Caracterização dos principais produtos derivados do soro de queijo.....	35
Tabela 6 - Composição média do concentrado proteico de soro (CPS)	36
Tabela 7 - Composição média de aminoácidos por grama de proteína presente no concentrado proteico de soro	37
Tabela 8 – Caracterização do permeado da ultrafiltração	39
Tabela 9 - Composição dos íons presentes no permeado da ultrafiltração.....	40
Tabela 10 - Caracterização do soro de leite e do concentrado proteico de soro.....	55
Tabela 11 - Caracterização do permeado da ultrafiltração (UFP) e da lactose concentrada (LC)	61
Tabela 12 – Caracterização do permeado da diafiltração do concentrado proteico de soro tratado por osmose inversa (OI)	64
Tabela 13 - Caracterização do permeado da diafiltração da lactose concentrada tratado por osmose inversa (OI).....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características do processo de ultrafiltração	22
Quadro 2 - Características do processo de nanofiltração	23
Quadro 3 - Características do processo de osmose inversa	24
Quadro 4 - Exemplos de propriedades tecno-funcionais conferidas a alimentos por concentrados proteicos de soro.....	38
Quadro 5 - Análises empregadas para caracterização dos produtos.....	50
Quadro 6 - Análises empregadas para sais	51
Quadro 7 - Análises empregadas para caracterização dos permeados das diafiltrações antes e depois de serem tratados por osmose inversa.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- A: área da membrana (m^2)
- BSA: albumina do soro bovino
- CPS: concentrado proteico de soro do leite
- C_P : concentração de soluto no permeado ($g L^{-1}$)
- C_R : concentração de soluto no retido ($g L^{-1}$)
- DBO: demanda bioquímica de oxigênio ($mg O_2.L^{-1}$)
- DF: diafiltração
- DQO: demanda química de oxigênio ($mg O_2 L^{-1}$)
- dV/dt : volume de permeado recolhido (L) em função do tempo para a permeação (h)
- FC: fator de concentração
- GMP: glicomacropéptido
- Ig: imunoglobulina
- Ig's: imunoglobulinas
- IPS: isolado proteico de soro
- J_P : fluxo permeado ($L m^{-2} h^{-1}$)
- LC: lactose concentrada
- MF: microfiltração
- MMC: massa molar de corte (kDa)
- NF: nanofiltração
- OI: osmose inversa
- P: permeabilidade
- pI: ponto isolétrico
- PSM: processo de separação por membranas
- R: coeficiente de retenção (%)
- T: tempo (min)
- UF: ultrafiltração
- UFP: permeado da ultrafiltração
- V: volume (L)
- V_o : volume inicial da solução (L)
- V_P : volume permeada da solução (L)
- V_R : volume do retido (L)

VDF: fator de diluição de volume

Δp : pressão transmembrana (bar)

α -La: α -lactalbumina

β -Lg: β -lactoglobulina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS.....	20
2.1.1	Ultrafiltração.....	22
2.1.2	Nanofiltração	22
2.1.3	Osmose inversa.....	23
2.1.4	Diafiltração	24
2.1.5	Problemas que afetam os processos de separação por membranas	25
2.1.6	Fluxo de permeado	26
2.1.7	Seletividade da membrana.....	27
2.1.8	Fator de concentração	28
2.2	SORO DE LEITE	28
2.2.1	Proteínas do soro	30
2.2.2	Lactose presente no soro.....	33
2.2.3	Processamento do soro de leite.....	34
2.2.4	Produção e composição dos concentrados proteicos de soro	35
2.3	PERMEADO DA ULTRAFILTRAÇÃO	39
2.3.1	Produção da lactose concentrada.....	40
2.4	CONSUMO DE ÁGUA NA DIAFILTRAÇÃO.....	41
2.5	O REÚSO DE ÁGUAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL VIGENTE	42
3	MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1	MATÉRIA-PRIMA	44
3.2	MÉTODO DE TRABALHO	44
3.2.1	Método para produção do concentrado proteico de soro.....	45
3.2.2	Método para produção da lactose concentrada.....	48
3.2.3	Proposição do reúso de água	49
3.2.4	Caracterização dos produtos.....	50
3.2.5	Caracterização dos produtos da proposição do reúso de água.....	51
3.2.6	Limpeza das membranas	52
3.2.7	Análise estatística dos resultados	53

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1	PRODUÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DE SORO	54
4.1.1	Fluxos de permeado da ultrafiltração	57
4.2	PRODUÇÃO DA LACTOSE CONCENTRADA.....	59
4.2.1	Fluxos de permeado da nanofiltração	62
4.3	PROPOSIÇÃO DO REÚSO DE ÁGUA	64
4.3.1	Fluxos de permeado da osmose inversa	70
5	CONCLUSÃO.....	72
5.1	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	72
	REFERÊNCIAS	73
	ANEXO A – MÓDULO PILOTO DE FILTRAÇÃO.....	85

1 INTRODUÇÃO

De acordo com dados da Associação Brasileira das Indústria de Queijo (ABIQ, 2014), estima-se que o Brasil tenha produzido 6,6 milhões de toneladas de soro de leite em 2014. No território brasileiro, grande parte do soro não é aproveitada, sendo destinada para fins não nobres, como alimentação animal ou mesmo despejada indevidamente em corpos hídricos. Mas este problema não é apenas nacional, estima-se que a produção mundial de soro de leite seja de 180-190 milhões de t ano⁻¹, sendo processado apenas 50 % deste montante (MOLLEA et al., 2013). Além do baixo valor comercial do soro, seu elevado teor de água dificulta seu uso em produtos alimentícios convencionais. O soro de leite, no entanto, é um líquido que contém nutrientes que poderiam ser melhor aproveitados, especialmente para alimentação humana. A questão é transformar este subproduto, de algo que é visto como um problema, em uma oportunidade, oferecendo alternativas para que se consiga aproveitar todo este volume de soro de leite.

Segundo Smithers (2015), o soro já é considerado uma matéria-prima de alto valor, por possuir constituintes de importância comercial. As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes de proteínas (SHAHID et al., 1999). Mais de 250.000 t ano⁻¹ de concentrados proteicos de soro, com alta concentração de proteínas, são fabricados globalmente (USDEC, 2014) e a demanda por tais produtos é tão alta que a produção é por vezes limitada pela disponibilidade de soro de leite doce (SMITHERS, 2015). No Brasil, cerca de 50 % do soro não é aproveitado (MAGALHÃES et al., 2011), ao mesmo tempo que é um grande importador de proteínas do soro, pois seu beneficiamento requer a aplicação de tecnologias ainda não adaptadas à realidade nacional, mas já se visualiza os primeiros passos para atender este mercado (ALMEIDA et al., 2014). A produção de concentrados proteicos de soro, valoriza o processo, mas sua produção deve ser associada ao aproveitamento da lactose para evitar a geração de um novo efluente com alta carga orgânica (ATRA et al., 2005).

Os concentrados proteicos de soro podem ser aplicados na panificação e em produtos infantis (ALMEIDA et al., 2014). Devido a sua capacidade de geleificação e absorção de água é viável sua aplicação como ingrediente em produtos assados e em carne processada. Como emulsificante, encontram ampla aplicação na formulação de molhos para saladas, cremes artificiais de café, bebidas nutricionais e sopas. São também utilizados em produtos extrusados à base de milho, batata e arroz (USDEC, 2014).

O uso potencial da lactose do soro como um produto de valor agregado já é bem reconhecido. Pode ser utilizada na formulação de alimentos sem ofuscar o sabor natural de outros componentes, por possuir poder adoçante inferior ao da sacarose. Também pode ser usada como um suplemento em fórmulas infantis, contribuir para a cor e sabor na panificação, ser usada para a produção de glicose e galactose por hidrólise (SOUZA et al., 2010) e ser aplicada na indústria de doces (ATRA et al, 2005).

Os processos de separação por membranas (PSM) apresentam grande potencial para fracionar os componentes do soro, por possibilitar que o processamento do soro resulte em produtos com características tecnológicas adequadas para serem utilizados nesses diversos tipos de aplicações. E mesmo possuindo algumas limitações como a queda do fluxo de permeado durante o processo causando alterações da membrana e ser uma tecnologia de custo elevado devido a pequena vida útil das membranas e a troca periódica dos módulos (MULDER, 1996), a valorização e o aumento da rentabilidade sobre o soro de leite compensam os altos custos do processamento.

A ultrafiltração (UF) é uma das técnicas mais utilizadas para recuperar as proteínas solúveis do soro (BRANS et al., 2004; SMITHERS, 2015). Os componentes que permeiam pela membrana de UF formam o permeado da ultrafiltração (UFP) que apresenta pouca ou nenhuma aplicação industrial (YEE et al., 2007), rico em oligossacarídeos com composições semelhantes àqueles presentes no leite humano, é um subproduto que também pode ser aproveitado (BARILE et al., 2009). A nanofiltração (NF) pode ser utilizada na recuperação dessa lactose (ATRA et al., 2005; SMITHERS, 2015).

A diafiltração (DF), associada aos PSM (ultrafiltração e nanofiltração), intensifica a remoção de solutos da amostra (FERREIRA, 2011) aumentando o grau de pureza das proteínas e da lactose. Empregada após a concentração, está associada com alto consumo de líquido diafiltrante, normalmente água, com alto teor de pureza (BALDASSO et al., 2011). Para a realidade de uma empresa que processe altos volumes de soro para a produção de concentrados proteicos e lactose do soro, o alto consumo de água durante essa etapa é um obstáculo não apenas econômico, mas também ambiental.

A redução do consumo de água na etapa de diafiltração é essencial para tornar viável o processo de separação e purificação da proteína e da lactose. A osmose inversa (OI) têm mostrado um comportamento satisfatório no tratamento destes fluxos de baixa poluição e é uma técnica promissora por ser considerada uma "tecnologia limpa". A boa qualidade da água obtida com essa técnica e as altas taxas de recuperação, são vantagens importantes

(SUÁREZ; RIERA, 2015). A demanda crescente por água tem feito do reúso planejado da água um tema atual e de grande importância.

No Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, o projeto enquadra-se no desenvolvimento de produtos e processos para a indústria de alimentos, na linha de pesquisa denominada “Processos biotecnológicos e não convencionais na produção de alimentos e ingredientes”. O projeto apresenta inovação trazendo uma alternativa para a utilização do soro de leite, evitando a geração de um novo efluente com alta carga orgânica por fracionar e aproveitar também a lactose. Foi proposto um processo detalhado de fracionamento dos compostos do soro de leite com a possibilidade de reutilizar parte das águas das diafiltrações reduzindo custos de operação e impacto ambiental, contribuindo para transformar o soro de leite em produtos com valor agregado e maior aplicabilidade por apresentarem alto grau de pureza e concentração de sódio reduzida.

O objetivo geral foi propor um processo integrando ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa para a separação e purificação de proteínas e lactose do soro de leite.

A partir disso, os objetivos específicos foram:

- a) Desenvolver um processo integrado de ultrafiltração, nanofiltração e diafiltração para concentrar e purificar as proteínas e a lactose do soro com alto grau de pureza.
- b) Produzir o concentrado proteico de soro em pó, utilizando o processo de ultrafiltração, e caracterizar quanto seu conteúdo de proteínas e outros constituintes.
- c) Concentrar e purificar o permeado da ultrafiltração, utilizando o processo de nanofiltração para produzir a lactose concentrada e fazer a sua caracterização.
- d) Aumentar a pureza da proteína e da lactose usando a diafiltração como processo complementar.
- e) Separar e caracterizar as correntes que carregam menor carga orgânica na diafiltração da proteína e da lactose e aplicar o processo de osmose inversa para obter um permeado (água purificada), com qualidade físico-química de água passível de reúso pela indústria.
- f) Aplicar a água de reúso no processo de produção do concentrado proteico de soro e avaliar se há interferências na composição do produto final.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

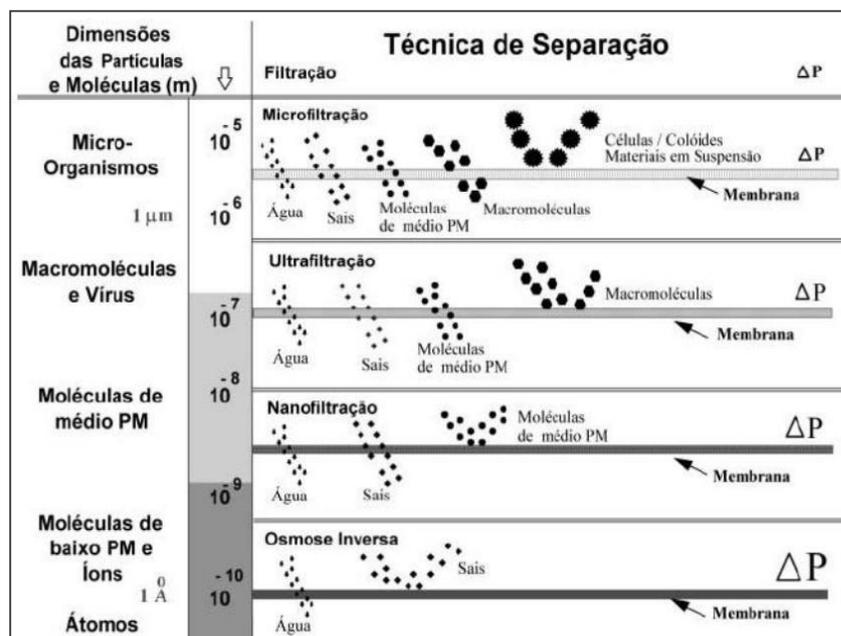
2.1 PROCESSOS DE SEPARAÇÃO POR MEMBRANAS

Os processos de separação com membranas (PSM) são usados desde o início do século XX, tendo sido Zsigmondy, na Alemanha, que introduziu as primeiras membranas. No entanto, o grande incremento na aplicação industrial destas tecnologias só ocorreu a partir do final dos anos 60, com o desenvolvimento de membranas assimétricas (MULDER, 1996).

No campo das tecnologias de separação, os processos com membranas são com frequência, economicamente preferíveis aos processos clássicos de separação (SARMENTO, 2007), em algumas aplicações estes processos se apresentam como a única alternativa técnica de separação (HABERT et al., 2006). Na produção de compostos com elevado grau de pureza, essa tecnologia se apresenta como uma alternativa promissora e viável (SARMENTO, 2007).

Em processos que utilizam membranas porosas, a capacidade seletiva está diretamente associada à relação entre o tamanho das espécies presentes e o tamanho dos poros da membrana (Figura 1). Este é o caso de processos como a microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa (HABERT et al., 2006). Essas quatro operações são as mais utilizadas nas indústrias de laticínios (CARVALHO; MAUBOIS, 2010).

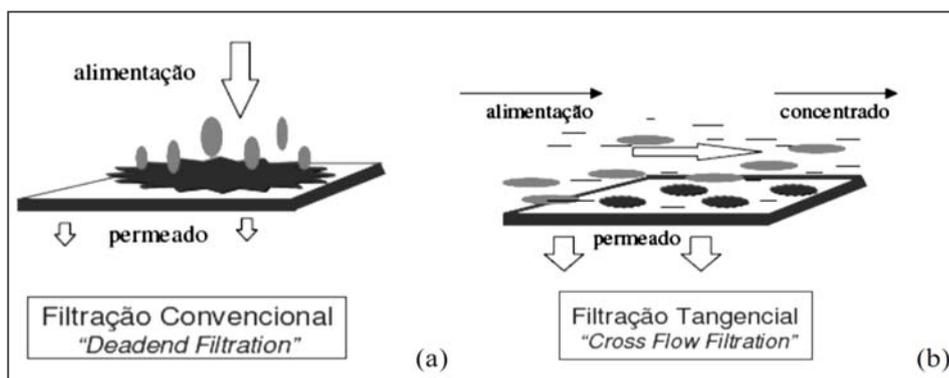
Figura 1 - Espectro de filtração segundo o tamanho das partículas



Fonte: Habert et al. (2006)

Em geral, são aplicados gradientes de pressão, concentração, temperatura ou potencial elétrico para gerar o movimento das espécies químicas envolvidas através da membrana (MULDER, 1996; RODRIGUES, et al., 2003). Os processos de separação com membranas são operados no modo tangencial (Figura 2), que também pode ser chamada de *cross flow* ou filtração dinâmica. Nesse modo, a solução escoia paralelamente à superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado transversalmente. Diferente do modo convencional (Figura 2), também chamado de *dead end* ou filtração estática, na qual uma solução ou suspensão é pressionada contra a membrana. O permeado atravessa a membrana e o soluto ou materiais em suspensão são retidos, acumulando-se na interface membrana/solução, formando o fenômeno chamado de polarização de concentração (HABERT et al., 2006).

Figura 2 - Tipos de filtração usando membrana de microfiltração: filtração convencional “dead end” (a) e filtração tangencial “cross flow” (b)



Fonte: Habert et al. (2006)

Os processos de separação por membranas possuem como principais vantagens economia de energia, seletividade, separação de compostos termolábeis e simplicidade de operação e escalonamento. São operados à temperatura ambiente, podendo ser aplicados no fracionamento de misturas envolvendo substâncias termo sensíveis. Por estes motivos, têm sido amplamente empregados na indústria farmacêutica e de alimentos. Ao contrário da maioria dos processos de separação, os PSM são simples do ponto de vista operacional e em termos de escalonamento (*scale up*). Os sistemas são modulares e os dados para o dimensionamento de uma planta podem ser obtidos a partir de equipamentos pilotos operando com módulos de membrana de mesma dimensão daqueles utilizados industrialmente (HABERT et al., 2006).

O emprego dos PSM na purificação de efluentes da indústria de alimentos, com o objetivo de reutilizá-los, apresenta-se como um desafio, tendo em vista que o volume e a

carga desses efluentes apresentam uma grande variação. O reuso dessa fração concentrada (ou retida) apresenta-se como uma motivação adicional, pois muitas vezes é uma corrente rica em nutrientes (BRIÃO; TAVARES, 2007).

2.1.1 Ultrafiltração

As membranas comerciais de ultrafiltração (UF) são especificadas através da sua massa molar de corte (MMC). O MMC é definida como a massa molar para a qual a membrana apresenta retenção igual ou maior a 90 %. A unidade mais utilizada é o Dalton (Da) (ALVES et al., 2014).

A ultrafiltração é um processo intermediário referente ao tamanho dos poros (BRIÃO; TAVARES, 2007) e é empregado para a separação de macromoléculas com massa molar superior a 1 kDa (RODRIGUES et al., 2003).

O Quadro 1 apresenta as características do processo de UF.

Quadro 1 - Características do processo de ultrafiltração

Processo	Força Motriz	Diâmetro das partículas retidas	Solutos retidos	Aplicações
Ultrafiltração (UF)	ΔP 2 – 10 bar (0,2 MPa a 1 MPa)	$10^{-3} - 1 \mu m$	Proteínas, pigmentos, óleos, açúcar, produtos orgânicos e micropartículas	Fracionamento/ concentração de proteínas, recuperação de pigmentos/óleos

Fonte: Habert et al. (2006); Muro et al. (2012)

2.1.2 Nanofiltração

As propriedades das membranas de nanofiltração (NF) situam-se entre a ultrafiltração e a osmose inversa (PÉREZ-GONZÁLEZ et al., 2015). É uma operação que possui gradiente de pressão como força motriz e utiliza membranas com poros de tamanho médio de 1 nm, que corresponde a um peso molecular de 300-500 Da (MOHAMMAD et al., 2014).

O Quadro 2 apresenta as características do processo de NF.

Quadro 2 - Características do processo de nanofiltração

Processo	Força Motriz	Diâmetro das partículas retidas	Solutos retidos	Aplicações
Nanofiltração (NF)	ΔP 5 – 25 bar (0,5 MPa a 2,5 MPa)	$10^{-3} - 10^{-2} \mu m$	Pigmentos, sulfatos, cátions divalentes, ânions divalentes, lactose, sacarose e cloreto de sódio	Purificação de enzimas; remoção de íons monovalentes

Fonte: Habert et al. (2006); Muro et al. (2012)

As membranas de nanofiltração são caracterizadas pela rejeição (R) de íons monovalentes e bivalentes. Nestas membranas, a rejeição de íons monovalentes geralmente é baixa em função da concentração de alimentação e as características da membrana (FRÉGER et al., 2000).

2.1.3 Osmose inversa

A osmose inversa (OI) é um processo de separação com membranas usado quando se deseja reter solutos de baixa massa molar, tais como sais inorgânicos ou pequenas moléculas orgânicas como glicose. Por este motivo, as membranas de OI devem ser mais fechadas (poros menores) apresentando, portanto, uma maior resistência à permeação e, conseqüentemente, pressões de operação mais elevadas do que as utilizadas em NF. O nome osmose inversa se deve ao fato de que neste tipo de processo o fluxo permeado é no sentido inverso do fluxo osmótico normal (HABERT et al., 2006).

O Quadro 3 apresenta as características do processo de OI.

Quadro 3 - Características do processo de osmose inversa

Processo	Força Motriz	Diâmetro das partículas retidas	Solutos retidos	Aplicações
Osmose Inversa (OI)	ΔP 10 – 100 bar (1,0 MPa a 10,0 MPa)	$10^{-4} - 10^{-3} \mu\text{m}$	Sais, cloreto de sódio e íons inorgânicos	Tratamentos avançados de águas e efluentes líquidos; concentração de sólidos

Fonte: Cavalcanti (2012); Habert et al. (2006); Muro et al. (2012)

De todas as tecnologias de membranas, osmose inversa é o método que está ganhando maior aceitação em todo o mundo no tratamento da água, bem como em aplicações de dessalinização devido ao seu custo, simplicidade e desempenho competitivo (SUÁREZ; RIERA, 2015).

Suárez et al. (2014) afirmam que a OI é o processo que assegura a maior qualidade a água, e permitem uma redução de sais dissolvidos em níveis elevados.

2.1.4 Diafiltração

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

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

2.1.5 Problemas que afetam os processos de separação por membranas

As alterações no desempenho das membranas podem ser causadas por diversos fatores, tais como a polarização por concentração e a colmatação da membrana também chamada de *fouling*. Estes fatores induzem a resistências adicionais ao transporte através da membrana (MULDER, 1996).

O *fouling* pode ser definido como a deposição indesejável e irreversível de partículas dissolvidas, suspensas ou coloidais na superfície da membrana. O *fouling* inclui os fenômenos de adsorção, bloqueio de poros, precipitação e formação de torta (MULDER, 1996; RAUTENBACH; ALBRECHT, 1989).

Durante o processamento do soro de leite é comum ocorrer a incrustação da membrana devido à grande diversidade de componentes lácteos que participam na incrustação. A deposição de proteína e precipitação mineral são os principais contribuintes para a incrustação. Os fatores de hidrodinâmica, como pressão e velocidade de fluxo cruzado desempenham um papel importante no padrão de fluxo e nas características de incrustação (BASSO, 2014).

Medidas que visem à redução da incidência destes fenômenos são bastante importantes, uma vez que o declínio de fluxo pode ser responsável por perdas econômicas. Mais importante, entretanto, é o discernimento entre o fator causador deste fenômeno, principalmente entre os fenômenos de polarização por concentração e *fouling* (embora ambos não possam ser considerados independentes, pois um fator - polarização por concentração, pode ser o causador do outro - *fouling*) (BALDASSO, 2008).

A polarização por concentração é um fenômeno reversível, ou seja, quando o estado estacionário é atingido, o fluxo através da membrana é menor do que o fluxo inicial, mas este cessa quando o processo deixa de operar (MULDER, 1996). Segundo Bacchin et al. (2006), a zona de polarização não pode ser evitada, mas os seus efeitos na redução do fluxo permeado podem ser controlados através das condições operacionais, como baixa pressão e alta turbulência junto à superfície da membrana.

A manipulação das condições de operação podem reduzir o fenômeno de polarização por concentração. Diminuir a pressão transmembrana, aumentar a velocidade de escoamento ao longo da membrana, alterar a configuração do módulo (diminuindo seu comprimento, aumentando o diâmetro hidráulico ou testando uma configuração diferente, geometria dos espaçadores) ou, até mesmo, aumentar a temperatura da alimentação são ações que podem ser tomadas para diminuir este problema (MULDER, 1996).

Embora todos os métodos citados acima ajudem a reduzir o *fouling* de alguma maneira, os métodos que visam à limpeza da membrana para desobstrução dos poros devem ser utilizados periodicamente, pois a diminuição do fluxo através da membrana pode ocorrer mesmo que as condições de operação escolhidas sejam apropriadas (MULDER, 1996). A limpeza hidráulica, a limpeza mecânica e a limpeza química são os métodos que podem ser utilizados. Dentre estes métodos, a limpeza química é o mais importante, pois envolvem uma grande variedade de agentes químicos que podem ser usados separadamente ou em conjunto. Alguns exemplos são ácidos (como o H₃PO₄ e o ácido cítrico), bases (NaOH), detergentes (alcalinos, não iônicos), enzimas (proteases, amilases, glicanases), agentes complexantes (EDTA), desinfetantes (H₂O₂, NaOCl) e vapor de água (MULDER, 1996).

2.1.6 Fluxo de permeado

O fluxo permeado representa a vazão (volumétrica, mássica ou molar) de permeado por unidade de área da membrana e é determinado pela força motriz aplicada e pela resistência apresentada pela membrana (ou por sua permeabilidade), que muitas vezes, são proporcionais (BALDASSO, 2008).

O fluxo através da membrana pode simplesmente ser definido como o volume de permeado que flui através da membrana por unidade de área e tempo, como mostrado na Equação 1 (CUARTAS-URIBE et al., 2009).

$$J_P = \frac{1}{A} \cdot \frac{dV}{dt} \quad (1)$$

Sendo:

J_P : fluxo do permeado (L m⁻² h⁻¹);

A: área da membrana (m²);

$\frac{dV}{dt}$: volume de permeado recolhido (L) em função do tempo para a permeação (h).

O fluxo permeado depende das propriedades da membrana, do produto a ser separado e das condições de operação tais como a pressão transmembrana, velocidade de escoamento tangencial e fator de concentração. Ele é fortemente influenciado pela temperatura da solução de alimentação, pois o fluxo é função da viscosidade dinâmica da solução que, por sua vez, é função da temperatura. Assim, quanto maior a temperatura, menor a viscosidade e maior o fluxo de permeado (BALDASSO, 2008).

2.1.7 Seletividade da membrana

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

A eficácia dos PSM é estabelecida pela rejeição (R) da membrana frente ao componente que se deseja separar (SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001). Este coeficiente estabelece a percentagem de um componente retido pela membrana em um processo de separação e é dado pela Equação 2 (MULDER, 1996; ATRA et al, 2005; CUARTAS-URIBE et al., 2009).

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

Sendo:

C_P : concentração do permeado

C_R : concentração do retido

O valor de R varia entre 100 % (retenção completa do soluto) e 0 % (soluto e solvente atravessam livremente a membrana) (BALDASSO, 2008).

O conceito utilizado para definir o peso molecular de um soluto no qual a membrana apresenta rejeição é o corte que ela possui. Sendo assim, a membrana que apresentar um corte de 40.000 Da terá rejeições acima de 90 % para solutos com peso molecular maior que este corte. Entretanto, a massa molecular não deve ser considerada como o único critério de seletividade de uma membrana porosa. Muitas vezes, os compostos rejeitados formam uma

camada na superfície da membrana, que atua como uma membrana dinâmica capaz de reter com mais eficiência outros compostos (MULDER, 1996).

2.1.8 Fator de concentração

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

O FC é definido conforme a Equação 3, descrita abaixo (ATRA et al., 2005):

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

Sendo:

V_O : volume inicial da solução (L);

V_R : volume do retido (L);

V_P : volume da solução permeada (L).

2.2 SORO DE LEITE

O soro de leite é o principal subproduto da indústria leiteira (DAS et al., 2015), sendo o líquido remanescente da coagulação das caseínas micelares da produção de queijo (LUCK et al., 2013). Esta fração compreende de 80 a 90% do volume de leite que entra no processo de fabricação de queijos (LEITE et al., 2012).

A composição do soro e o seu sabor dependem do tipo de coagulação do leite, da operação de fabricação do queijo e dos tratamentos posteriores do soro, como a pasteurização e a refrigeração. Do ponto de vista industrial, existem dois tipos de soro de leite; soro ácido ($\text{pH} < 5,1$) e soro doce ($\text{pH} > 5,6$) (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

O soro doce é obtido por coagulação enzimática do leite, pela adição da enzima renina, que tem a propriedade de coagular a caseína. É um subproduto da produção de queijo, como por exemplo, o Cheddar. O soro ácido é obtido por coagulação ácida do leite, sendo o subproduto do fabrico de caseína alimentar ou queijo fresco como o cottage (LUCK et al., 2013; ALVES et al., 2014).

Dos constituintes do leite, está presente na composição do soro mais de 99 % da lactose, 20% da proteína total, vitaminas solúveis (ATRA et al., 2005; BALDASSO et al., 2011) e sais minerais, incluindo cloretos de sódio e potássio, sais de cálcio (principalmente fosfato) e outros (PESCUMA et al., 2010). O soro também contém ácido láctico ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), ácido cítrico e compostos nitrogenados não-proteicos (DRAGONE et al., 2009). Sua composição depende da composição química do leite (Tabela 1) que varia de acordo com a alimentação, reprodução, diferença individual de cada animal e do clima (PRAZERES; CARVALHO; RIVAS, 2012).

Tabela 1 - Composição físico-química do soro de leite

	Soro	% média do soro em relação ao leite
pH	6.21 – 6.70	–
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	4.67 – 6.04	–
Densidade (g L^{-1})	1021–1023	–
Nitrogênio não-proteico ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	~ 0.037	–
Proteína ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	0,53 – 1,05	23
Gordura ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	0,05 – 0,63	9
Cinzas ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	0,37 – 0,95	94
Lactose ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	4,2 – 5,3	99
Sólidos totais ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	4,63 – 7,3	52

Fonte: Adaptado de Räsänen et al. (2002); Suárez et al., (2006)

Os componentes individuais do soro de leite com maior significância incluem α -lactalbumina, β -lactoglobulina, albumina de soro bovino, imunoglobulinas, lactoferrina e a lactoperoxidase. O soro também é constituído de lactose e seus derivados, como lactulose, lactitol, e oligossacarídeos. Outros componentes do leite com menor significância biológica incluem os sais (Tabela 2) do leite e componentes relacionados com a caseína (HORTON, 1995).

Tabela 2 - Teor de sais presentes no soro de leite

Sais	Soro	
	(mg kg ⁻¹)	(mg L ⁻¹)
Sódio (Na)	~ 349	313 – 493
Potássio (K)	~ 1450	1055 – 1535
Cálcio (Ca)	~ 358	231,6 – 384,8
Magnésio (Mg)	~ 69	54,4 – 73
Fósforo (P)	~ 346	237,1 – 275,0
Cloreto (Cl ⁻)	~ 1080	1000 – 1418

Fonte: Adaptado de Räsänen et al. (2002); Suárez et al., (2006)

O soro contém também a maioria das vitaminas presentes no leite (solúveis em água), como a vitamina B12, a vitamina B6, ácido pantotênico, riboflavina, tiamina, vitamina C, retinol (vitamina A). As quantidades destes compostos presentes no soro de queijo em pó estão apresentadas na Tabela 3 (MILLER et al., 2000).

Tabela 3 - Quantidades médias de vitaminas e minerais em 100 g de soro doce em pó

CONSTITUINTE	UNIDADES	QUANTIDADE
Vitamina A	IU	44
Vitamina C	mg	1,5
Vitamina E	mg	0,03
Tiamina (B1)	mg	0,5
Riboflavina (B2)	mg	2,2
Piridoxina (B6)	mg	0,6
Vitamina B12	mcg	2,4
Ácido pantotênico	mg	5,6
Niacina	mg	1,3
Cálcio	mg	796
Fósforo	mg	931
Sódio	mg	1079
Potássio	mg	2080
Magnésio	mg	176
Zinco	mg	1,97

Fonte: adaptado de Miller et al. (2000)

2.2.1 Proteínas do soro

As proteínas presentes no leite compreendem duas frações principais: as caseínas (80%) e as proteínas do soro (20%) (ALVES et al., 2014). As proteínas do soro (Tabela 4) são produzidas como um coproduto das indústrias de queijo coalho e caseína (LUCK et al., 2013).

Tabela 4 - Composição proteica do soro de leite

Proteínas	(%)
β -lactoglobulina (β -Lg)	45 - 57
α -lactalbumina (α -La)	15 - 25
Albumina do soro bovino (BSA)	4 - 5
Imunoglobulinas (Ig's)	7 - 10
Glicomacropéptido (GMP)	10 - 20
Lactoferrina	0,2 - 2
Lactoperoxidase	~ 0,3
Lisozima	~ 0,004
Proteose peptona	6 - 18
Outras	8

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

As proteínas do soro são um grupo de proteínas que permanecem solúveis no soro do leite após a precipitação da caseína a um pH 4,6 e temperatura de 20 °C (FARRELL JR et al., 2006). A solubilidade das proteínas diminui se forem submetidas a um pH ácido ou condições de alta temperatura (ZHAO et al., 2015). A desnaturação e pequena perda de solubilidade ocorrem quando submetidas a temperaturas superiores a 60 °C e uma solução com valores de pH de 4,6 - 6,0 (MING, 2000). Outras causas de desnaturação são a radiação ultravioleta, a concentração salina ou a ação mecânica. Com a desnaturação, ocorre a modificação da conformação globular das proteínas para a forma linear (WALSTRA et al., 2005).

As duas principais frações proteicas do soro são β -lactoglobulina e α -lactoalbumina que estão presentes em maior concentração e constituem, aproximadamente, 70% das proteínas totais do soro. Estão presentes também a albumina do soro bovino, a imunoglobulina, os glicomacropéptidos e outras subfrações, que se apresentam em pequenas concentrações no leite, como a lactoferrina, a lisozima, a lactoperoxidase, entre outras (HARAGUCHI et al., 2006; METSÄMUURONEN; NYSTRÖM, 2009).

A β -lactoglobulina é a fração mais abundante do soro de leite da maioria dos mamíferos. Apresenta peso molecular de 18,4 a 36,8 kDa e é o péptido que apresenta maior teor de aminoácidos de cadeia ramificada (162 aminoácidos), cerca de 25,1 % (EDWARDS et al., 2009).

A α -lactoalbumina é a segunda maior fração proteica do soro de leite (SHANNON et al., 2003). Contendo 123 aminoácidos e tem uma massa molar de 14,2 kDa, está presente

no soro de leite de todos os mamíferos (EDWARDS et al., 2009). É uma proteína com forte afinidade para o Ca^{2+} e outros cátions que, em maior ou menor grau, modulam a sua estrutura, estabilidade e função. Caracteriza-se por ser de fácil e rápida digestão. Contém o maior teor de triptofano (6 %) entre todas as fontes proteicas alimentares, sendo, também, rica em lisina, leucina, treonina e cistina (MARKUS et al., 2002).

A albumina do soro bovino corresponde cerca de 10 % das proteínas do soro do leite. É um peptídeo de alto peso molecular (66,3 kDa), rico em cistina (aproximadamente 6 %). Trata-se de uma proteína com 582 aminoácidos. Possui 17 ligações dissulfureto que estabilizam a sua estrutura terciária. Esta proteína atinge o seu ponto isoelétrico a pH 4,8 (HARAGUCHI et al., 2006).

As imunoglobulinas são proteínas de alto peso molecular (150 -1.000 kDa). Suas principais ações biológicas residem na imunidade passiva e atividade antioxidante. As imunoglobulinas ou anticorpos são produzidas pelos linfócitos B. Na sua estrutura, possuem uma ou mais unidades básicas compostas por duas cadeias leves (23 kDa) e duas cadeias pesadas (53 kDa) (KORHONEN et al. 2000; HARAGUCHI et al., 2006).

Os glicomacropéptídeos são peptídeos terminais de 64 aminoácidos com baixo peso molecular (6,7 - 8 kDa). O glicomacropéptídeo é um peptídeo resistente ao calor e a mudanças de pH. É derivado da digestão da kapa-caseína, pela ação da quimosina durante a coagulação do queijo (BRODY, 2000; HARAGUCHI et al., 2006).

A lactoferrina (LF) é sintetizada pelos neutrófilos, possui uma cadeia de 689 aminoácidos e um peso molecular de ~ 80,0 kDa. A LF tem um ponto isoelétrico de 9,4. A sua alta afinidade pelo ferro e a capacidade de ligação da sua extremidade N-terminal fortemente catiónica são características estruturais responsáveis pelas várias atividades biológicas (SIMPSON; NICHOLAS, 2002; STEIJNS; VAN HOOIJDONK, 2000).

A lactoperoxidase pertence à família das peroxidases, um grupo de enzimas largamente distribuídas na natureza. Em termos estruturais, trata-se de uma cadeia polipeptídica de 612 aminoácidos com um peso molecular de 78,4 kDa. Tal como a lactoferrina, é uma proteína básica e o seu ponto isoelétrico é de 9,6 (KUSSENDRAGER; VAN HOOIJDONK, 2000).

As proteose peptonas possuem 38 peptídeos da fração das proteínas do soro. São resistentes ao aquecimento (95-100 °C durante 30 min) e insolúveis em ácido tricloroacético (8 a 12 %) (ANDREWS; ALICHANIDIS, 1983).

A lisozima possui peso molecular de ~15 kDa e é uma enzima que catalisa a hidrólise das ligações β -1,4 entre o ácido N-acetilmurâmico e a 2-acetilamino-2-desoxi-D-glucose (SHAH, 2000).

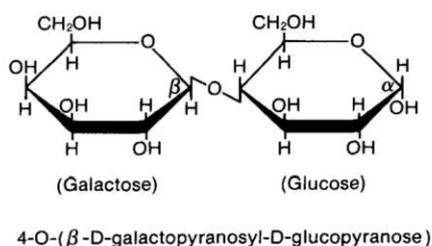
As sub-frações ou peptídeos secundários das proteínas do soro são assim denominadas por se apresentarem em pequenas concentrações no leite. Compreendem as sub-frações beta-microglobulinas, gama-globulinas, lactolina, relaxina, lactofano e aminoácidos livres (HARAGUCHI et al., 2006).

Os fatores importantes para a utilização das proteínas do soro são suas propriedades funcionais, tais como: emulsificação, alta solubilidade, geleificação, formação de espumas, capacidade de reter água e viscosidade (MING, 2000). Proteínas de soro de leite em pó são comumente usados como ingredientes, devido às suas características funcionais excepcionais (HEINO et al., 2007; MARCELO; RIZVI, 2008).

2.2.2 Lactose presente no soro

O leite possui uma proporção de 4,4-5,2 % de lactose (em média), sendo um dos principais constituintes do soro de leite (ZISU, 2014). A lactose (Figura 3) é um dissacarídeo com partículas de diâmetro inferior a 1 nm (MANAN; KARIM; KIT, 1999), composto por glicose e galactose, estando o grupo aldeído da galactose unido ao grupo C-4 da glicose mediante uma ligação β -1-4- glicosídica (WALSTRA et al., 2001).

Figura 3 - Molécula química da lactose



Fonte: Hobman (1984)

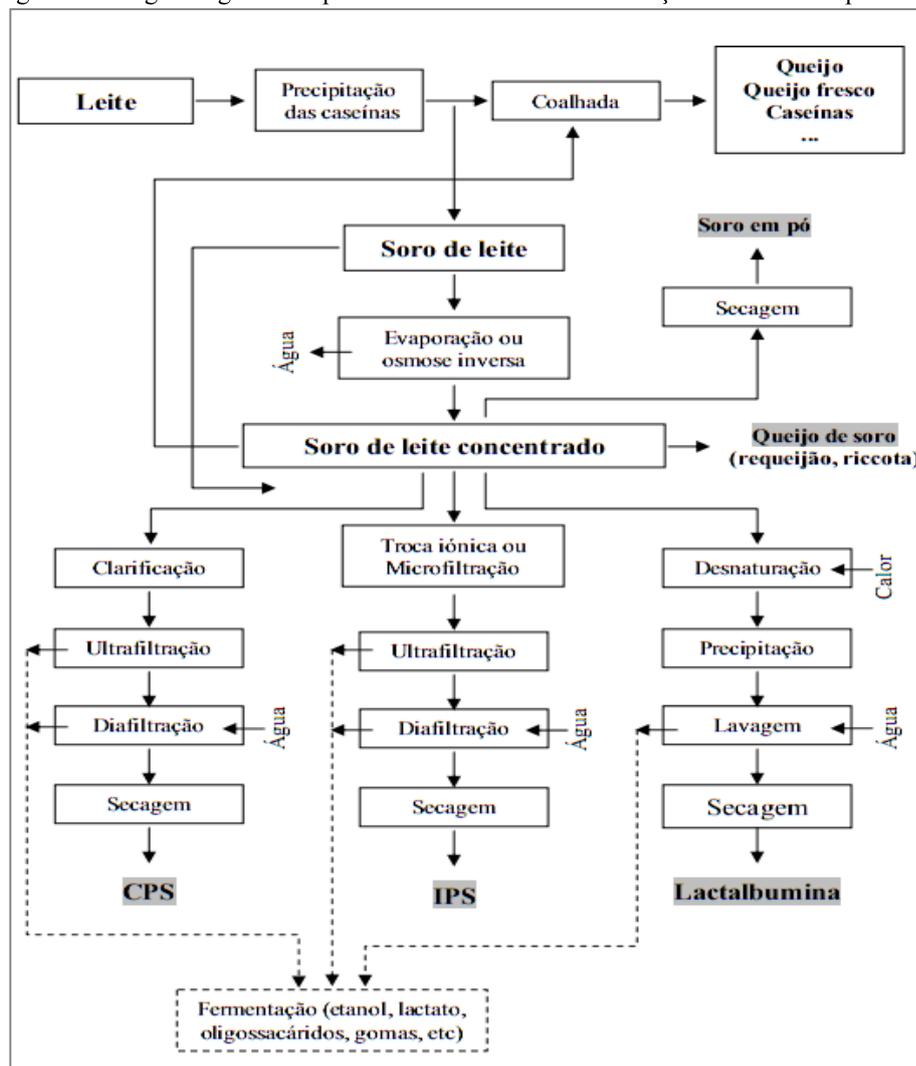
Um dos maiores obstáculos da utilização do soro é a grande quantidade de lactose presente (aproximadamente 70% dos sólidos totais), a qual contribui para sua baixa solubilidade, baixo poder adoçante e sua pobre digestibilidade quando utilizado como alimento. A lactose também é pouco fermentável quando comparada a outros açúcares (CARMINATTI, 2001).

A título de comparação do poder de doçura relativo, a frutose tem o índice 130, a sacarose 100 (padrão), a glicose 75, a galactose 32 e a lactose apenas 17 (ZADOW, 1984).

2.2.3 Processamento do soro de leite

O fracionamento dos constituintes do soro é uma alternativa para melhorar a dinâmica da cadeia do soro de leite (Figura 4).

Figura 4 - Diagrama geral do aproveitamento do soro - fabricação de derivados proteicos



Fonte: Adaptado de Huffman; Harper (1999); Malcata (1999)

Vários processos podem ser utilizados para a separação e purificação, podendo ser gerados diversos produtos a partir do soro de leite como: soro de leite em pó, concentrado proteico de soro (CPS), isolado proteico de soro (IPS), soro em pó parcialmente desmineralizado, entre outros (BALDASSO, 2008).

A produção dos derivados de soro em pó envolve a combinação de diferentes processos, como microfiltração (MC), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF), diafiltração (DF), evaporação e secagem (ALMEIDA et al., 2009).

Os produtos obtidos a partir do fracionamento do soro (Tabela 5), dependendo do processamento a que são submetidos, geram produtos com características diferentes do soro em pó propriamente dito (BALDASSO, 2008).

Tabela 5 - Caracterização dos principais produtos derivados do soro de queijo

Produto	Proteína (%)	Lactose (%)	Gordura (%)	Sais (%)	Umidade (%)
Soro em pó	10-15	63-75	1,0-1,5	8,2-8,8	3,5-8,0
Soro em pó deslactosado	18-24	52-58	1,0-4,0	11-22	3,0-4,0
Soro em pó desmineralizado	11-15	70-80	0,5-1,8	1,0-7,0	3,0-4,0
CPS 35	34-36	46-52	3,0-4,5	6,5-8,0	3,0-4,5
CPS 50	50-52	33-37	5,0-6,0	7,5-8,5	3,5-4,5
CPS 65	63-65	20-23	5,0-6,0	3,0-7,0	3,5-4,5
CPS 80	80-82	4-8	4,0-8,0	3,0-4,0	3,5-4,5
IPS	> 90	0,5-1,0	0,5-1,0	2,0-3,0	3,5-4,5
Lactose	-	> 99	-	0,3	1

*CPS – Concentrado proteico de soro; IPS – Isolado proteico de soro. (%) percentual mássico em base seca
Fonte: Baldasso (2008)

Os diferentes produtos gerados a partir do soro diferenciam-se de acordo com o seu teor de proteína. Eles podem ser classificados em três tipos principais: o soro de leite em pó com baixo teor de proteína (proteína \leq 35 %), o concentrado proteico de soro com 35-80 % de proteína e o isolado proteico de soro com um teor de proteína maior que 90 % (SIKAND et al., 2011; JERVIS et al., 2012).

2.2.4 Produção e composição dos concentrados proteicos de soro

Como a concentração de proteínas no soro é muito reduzida, tecnologias de separação e concentração são usadas para aumentar sua composição (BALDASSO, 2008). A prática industrial para a produção de concentrados proteicos de soro de leite é a utilização de membranas de ultrafiltração com peso molecular nominal de corte de 10 kDa ou de 20 kDa para reter as proteínas do soro e deixar passar a lactose e moléculas pequenas (ARUNKUMAR; ETZEL, 2015).

A separação dos nutrientes, principalmente proteínas e gordura, por ultrafiltração deve ser realizada em condições operacionais que permitam obter a máxima retenção destes compostos. A pressão de operação tem efeito direto no fluxo permeado, enquanto que a velocidade tangencial minimiza a polarização de concentração na corrente do retido, e pode refletir tanto no fluxo permeado quanto na eficiência de separação (BRIÃO; TAVARES, 2012). Para a produção do CPS, as melhores condições de funcionamento para o processo de UF, no qual obteve-se maior rejeição das proteínas e menor colmatação da membrana foram a força motriz de 2 bar (2 kPa) a uma temperatura de 50 °C (KONRAD et al., 2012). Viganó e Mosman (2011), confirmaram estas condições. Utilizando uma membrana de UF com peso molecular de corte de 10 kDa, obtiveram uma rejeição de proteínas acima de 97 %, de lactose de 11-15 %, de cinzas de 25-27 % e de 100 % para gorduras.

O processo de concentração de soro por ultrafiltração permite que se obtenha CPS com teores de proteína de cerca de 30 %, um valor ainda baixo do ponto de vista comercial para o produto final (ANTUNES, 2003). O aperfeiçoamento das técnicas de fracionamento, empregando bateladas de diafiltração após a pré-concentração do soro, contribui para aumentar a pureza desse nutriente (BALDASSO, 2008; RÄSÄNEN et al., 2002). A diafiltração permite um melhor controle da composição final, obtendo-se concentrações de até 60-80 % de proteínas em base úmida (ANTUNES, 2003). Dependendo da especificidade das proteínas no produto, o valor comercial de um concentrado proteico pode chegar a ser 40 vezes maior que o do soro de leite em pó (ZADOW, 1992).

O material retido na diafiltração pode ser seco em *spray dryer* (CROGUENNEC, 2006), obtendo-se o CPS em pó (LUCK et al., 2013). A Tabela 6 apresenta a composição média de um concentrado proteico de soro.

Tabela 6 - Composição média do concentrado proteico de soro (CPS)

Parâmetros	100 g de CPS
Valor calórico (kcal)	414
Proteína (g)	80
Gordura (g)	7
Carboidratos (g)	8
Ferro (mg)	1,2
Sódio (mg)	170
Cálcio (mg)	600

Fonte: Adaptado de Salzano Jr (2002)

No caso dos CPS, a denominação comercial é referida ao teor aproximado de proteínas, assim o produto CPS80 terá um teor em proteínas próximo de 80 % (HUFFMAN; HARPER, 1999).

O valor biológico das proteínas dos CPS é alto. Possuem em sua composição alto conteúdo de aminoácidos essenciais, que são aqueles obtidos somente por meio da alimentação, devido a incapacidade do organismo de sintetizá-los. Os aminoácidos essenciais respondem por aproximadamente 60 % do teor proteico total do soro, além disso, essas proteínas contêm uma alta concentração de aminoácidos de cadeia ramificada como leucina, isoleucina e valina (Tabela 7) (MARSHALL, 2004; HARAGUCHI et al., 2006).

Tabela 7 - Composição média de aminoácidos por grama de proteína presente no concentrado proteico de soro

Aminoácido	mg g⁻¹ de proteína
Alanina	4,9
Arginina	2,4
Asparagina	3,8
Ácido Aspártico	10,7
Cisteína	1,7
Glutamina	3,4
Ácido Glutâmico	15,4
Glicina	1,7
Histidina	1,7
Isoleucina	4,7
Leucina	11,8
Lisina	9,5
Metionina	3,1
Fenilalanina	3,0
Prolina	4,2
Serina	3,9
Treonina	4,6
Triptofano	1,3
Tirosina	3,4
Valina	4,7

Fonte: Adaptado de Etzel (2004)

O CPS tem aplicação na panificação e em produtos infantis, sendo uma excelente maneira de fortificar esses alimentos com proteínas e, assim, aumentar o seu valor nutricional (ALMEIDA et al., 2014). Devido a sua capacidade de geleificação e absorção de água é viável sua aplicação com ingrediente em produtos assados e em carne processada. Como emulsificante, os concentrados proteicos de soro encontram ampla aplicação na formulação de molhos para saladas, cremes artificiais de café, bebidas nutricionais e sopas. São também utilizados em produtos extrusados à base de milho, batata e arroz (USDEC, 2014). O Quadro 4 resume algumas aplicações industriais dos concentrados proteicos de soro.

Quadro 4 - Exemplos de propriedades tecno-funcionais conferidas a alimentos por concentrados proteicos de soro

Propriedade funcional	Setor alimentar	Percentual de proteína	Aplicações
Viscosidade	Sobremesas	35	Chocolates, marshmallow, <i>nougat</i> , barras de cereais, glacê.
Solubilidade, estabilidade coloidal	Bebidas	35	Bebidas fortificadas com proteínas, bebidas isotônicas, bebidas gaseificadas, chás gaseificados, bebidas para crianças, sucos, iogurtes, bebidas substituintes de refeições.
Emulsificação	Sopas, alimentos infantis	85	Sopas com baixo teor ou zero gordura, molhos para saladas, queijos fundidos.
Formação de espuma	Confeitaria	35	Glacê, creme de leite UHT, <i>chantilly</i> , chocolates aerados.
Geleificação	Produtos lácteos	65	Iogurte, <i>frozen yogurt</i> , sorvete.
Elasticidade	Panificação	65	<i>Brownie</i> , bolo, <i>cookies</i> , pães, <i>muffins</i> , massa para pizza, biscoitos, <i>waffles</i> .
Absorção de água e gordura	Produtos de carne	85	Salsicha, bife de <i>hambúguer</i> , presunto, <i>nuggets</i> e embutidos.

Fonte: Alves et al. (2014)

2.3 PERMEADO DA ULTRAFILTRAÇÃO

O permeado da ultrafiltração do soro de leite (UFP) é um coproduto obtido quando soro de queijo é passado através de uma membrana de ultrafiltração (UF) para concentrar as proteínas do soro. As proteínas do soro são retidas pela membrana, enquanto que os compostos de baixo peso molecular, tais como lactose, sais, oligossacarídeos e os peptídeos passam através da membrana originando o permeado da ultrafiltração (DALLAS et al., 2014).

O permeado da ultrafiltração ainda é considerado um resíduo pela indústria de laticínios, pois carrega mais de 80 % da carga orgânica inicial do soro, e o valor econômico dessa corrente ainda é baixo (SARON, 2003; BARILE et al., 2009). Possui uma demanda biológica de oxigênio de 30000 - 45000 mg O₂ L⁻¹ e não pode ser despejado diretamente no esgoto (ATRA et al., 2005).

A caracterização do permeado da ultrafiltração segundo Cuartas-Uribe et al. (2007) e Suárez et al. (2009) está descrita na Tabela 8.

Tabela 8 – Caracterização do permeado da ultrafiltração

	Permeado da UF (CUARTAS-URIBE et al., 2007)	Permeado da UF (SUÁREZ et al., 2009)
pH	6,3	6,44 – 6,77
Condutividade (µs cm ⁻¹)	5800	5460 -5770
Proteína (g 100g ⁻¹)	0,21	0,01 – 0,072
Lactose (g 100g ⁻¹)	4,19	4,5 – 4,8
Cinzas (g 100g ⁻¹)	-	0,44 – 0,47
Sólidos totais (g 100g ⁻¹)	-	5,27 – 5,36
Sódio (mg L ⁻¹)	370	405 - 461
Potássio (mg L ⁻¹)	1480	1625 - 1742
Magnésio (mg L ⁻¹)	72	75 - 82
Cálcio (mg L ⁻¹)	-	254 - 277
Fósforo (mg L ⁻¹)	-	329 – 443

Fonte: Cuartas-Uribe et al (2007) e Suárez et al. (2009)

A Tabela 9 apresenta a composição dos íons que estão presentes no permeado da ultrafiltração.

Tabela 9 - Composição dos íons presentes no permeado da ultrafiltração

Parâmetros	Valores
Cloretos (mg L ⁻¹)	1640
Sódio (mg L ⁻¹)	460
Potássio (mg L ⁻¹)	1700
Magnésio (mg L ⁻¹)	100
Sulfatos (mg L ⁻¹)	110
Cálcio (mg L ⁻¹)	289
Fosfatos (mg L ⁻¹)	550

Fonte: adaptado de Cuartas-Uribe (2009)

2.3.1 Produção da lactose concentrada

O aproveitamento do permeado da ultrafiltração não pode ser ignorado. Novas tecnologias têm sido desenvolvidas (usando nanofiltração ou osmose reversa) para purificação e concentração da lactose (ATRA et al., 2005). A aplicação da nanofiltração (NF) para concentração e purificação da dessa corrente de permeado, valoriza este subproduto e abre possibilidades para sua aplicação industrial (SOARES et al., 2011). A vantagem da NF em comparação com os outros processos é que desmineraliza e concentra ao mesmo tempo. O nível máximo de desmineralização por NF é de cerca de 35 % de redução do teor de cinzas (LIPNIZKI, 2010).

Para a concentração e purificação do permeado da UF, as melhores condições de funcionamento para o processo de NF seguido de DF (aqueles que impliquem na menor perda de lactose e maior remoção de sais), foram a força motriz de 20 bar (2MPa) e um fator de diluição de volume em torno de 2 (CUARTAS-URIBE et al., 2009). Segundo Atra et al. (2005), resultados experimentais utilizando membrana NF, com uma pressão de 20 bar são positivos. Através da aplicação de uma batelada de diafiltração é possível aumentar o nível de desmineralização em até 45 % (LIPNIZKI, 2010).

A nanofiltração retém os sais bivalentes (tais como cálcio, magnésio e fosfatos) e permite a permeação dos sais monovalentes (sódio e potássio), mas os sais monovalentes não são totalmente removidos durante a concentração. Após a concentração por nanofiltração a lactose ainda permanece com uma porcentagem de sais. Por isso a aplicação de etapas de diafiltração são indicadas para remover a maior concentração de sais possível, já que esse tipo de produto apresenta baixa aceitação sensorial pelo alto teor de sais minerais (SOARES et al., 2011).

O permeado da UF, após seu tratamento, é um ingrediente versátil na formulação de vários alimentos por conferir sabor agradável, enriquecer de minerais com alta biodisponibilidade e substituir carboidratos (ZACARCHENCO et al., 2012).

A lactose pode ser utilizada na formulação de alimentos sem ofuscar o sabor natural de outros componentes, por possuir poder adoçante inferior ao da sacarose. Quando usada em produtos assados, a lactose promove a reação de *Maillard*, o que melhora a coloração da crosta. Em altas temperaturas, a lactose carameliza e contribui para o sabor e cor (SOUZA et al., 2010). A lactose concentrada também pode ser aplicada na indústria de doces (ATRA et al., 2005).

2.4 CONSUMO DE ÁGUA NA DIAFILTRAÇÃO

A diafiltração (DF) está associada com alto consumo de líquido diafiltrante, normalmente água, com alto teor de pureza (BALDASSO et al., 2011). A quantidade água adicionada pode variar, mas, na maioria dos casos, utiliza-se cerca de 50 % do volume de soro processado (ZACARCHENCO et al., 2012). Segundo Pagno et al. (2009), para alcançar maiores concentrações de proteína, seja adicionado de água um volume igual a 100 % do volume inicial de soro processado. Todo volume de água adicionado ao processo é removido no permeado, gerando grande volume de efluente (BALDASSO et al., 2011).

O permeado do processo de purificação por diafiltração também pode ser tratado utilizando a filtração por osmose inversa. A água de permeado, possui baixas concentrações de lactose e sais, o que torna possível a reciclagem e a reutilização do permeado para outros fins (ATRA et al., 2005). Após tratamento por OI, os permeados das diafiltrações podem ser utilizados num projeto de reaproveitamento de água, reduzindo assim os custos de água no processo (MINHALMA, et al., 2007; LIPNIZKI, 2010).

2.5 O REÚSO DE ÁGUAS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS E A LEGISLAÇÃO AMBIENTAL VIGENTE

Água de reúso é toda e qualquer água que obedece aos padrões exigidos para sua utilização após algum tratamento. Empregada no reaproveitamento da água e conservação dos recursos hídricos em determinados fins específicos, nos setores urbano, rural ou industrial (TELLES; COSTA, 2007). A reutilização da água na indústria tem um papel importante para toda a sociedade, em função do alto consumo de água utilizada nos processos industriais (SIMÕES NETO et al., 2010).

Além dos benefícios de imagem, o especialista em recursos hídricos da ANA (Agência Nacional de Águas), Cláudio Itaborahy, é enfático ao defender que a implantação de um programa de conservação e reúso de água pelo setor industrial reverte-se em benefícios econômicos que permitem aumentar a eficiência produtiva. Uma consequência direta da implantação de um programa deste é a redução do consumo de água e do volume de efluentes gerados (FISPAL, 2016).

A reutilização de águas não é algo simples, pois a prática do reúso requer uma série de cuidados quanto à qualidade da água e sua destinação (CUNHA, 2008). Especialmente quando essa abordagem é realizada com o tratamento *in plant*, na qual processos são instalados em complementação aos tradicionais, buscando remover a carga orgânica do efluente e recuperando para a reutilização (BRUM et al., 2009). Para que a prática do reúso seja implantada, torna-se essencial que normas, padrões e bases legais sejam estabelecidos para garantir os mínimos padrões de segurança à saúde e ao meio ambiente, impedindo o oferecimento de água contaminada por poluentes de qualquer natureza (CUNHA, 2008).

No Brasil a prática ainda é bastante insipiente e pouco pesquisada, há pouca experiência em reúso planejado e institucionalizado. É necessária implantação de projetos pilotos, cujos resultados irão fornecer dados para o desenvolvimento de normas, diretrizes e padrões adaptados às condições e características brasileiras, quanto à qualidade das águas. Tais subsídios, fornecidos pelas diretrizes presentes nas legislações referentes ao tema, podem servir de base à criação de novas leis e normas que visem consolidar a prática do reúso de água (ALMEIDA, 2011).

Devido à falta de uma legislação específica, para o reúso com fins potáveis, a indústria de alimentos considera as diretrizes da Portaria 2914/2011, do Ministério da Saúde do Brasil, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade (BASSO, 2014).

Contudo, a Portaria 2914/2011 não estabelece alguns parâmetros de potabilidade como DQO, matéria orgânica, nitrogênio entre outros. Assim alguns dos parâmetros podem ser relacionados à Norma Européia. A Diretiva do Conselho 80/778/CEE de 15 de julho de 1980, complementada pela Diretiva do Conselho 98/83/EC, de 3 de novembro de 1998, são as normas utilizadas para avaliar a qualidade da água potável destinada ao consumo humano (BASSO, 2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

O soro de leite líquido, desnatado e pasteurizado utilizado neste trabalho foi cedido pela empresa Relat - Laticínios Renner S.A., localizada no município de Estação, no Rio Grande do Sul – Brasil.

O soro foi coletado na empresa, após sua pasteurização, em dois recipientes de 50 L e foi processado no mesmo dia. Durante o transporte e até o início do processo, foi mantido sob refrigeração a 0 °C.

Foram realizadas cinco coletas de soro e o mesmo número de experimentos.

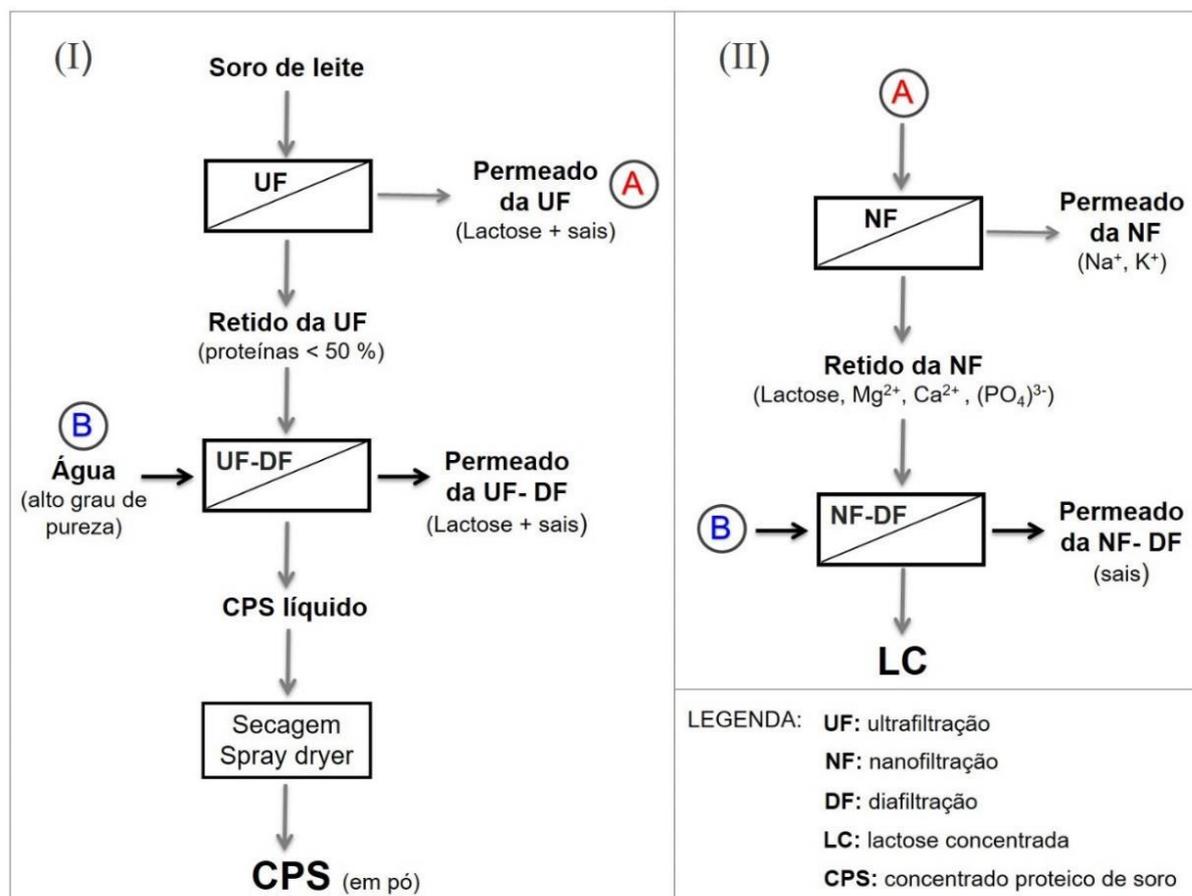
3.2 MÉTODO DE TRABALHO

O soro do leite foi processado por duas etapas diferentes: ultrafiltração e nanofiltração.

A redução do consumo de água foi realizada utilizando o processo de osmose inversa.

A Figura 5 apresenta o método que foi empregado para o fracionamento do soro de leite. Objetivou-se com isso, obter dois produtos principais: o concentrado proteico de soro (I) e a lactose concentrada (II).

Figura 5 – Método empregado para o fracionamento do soro de leite

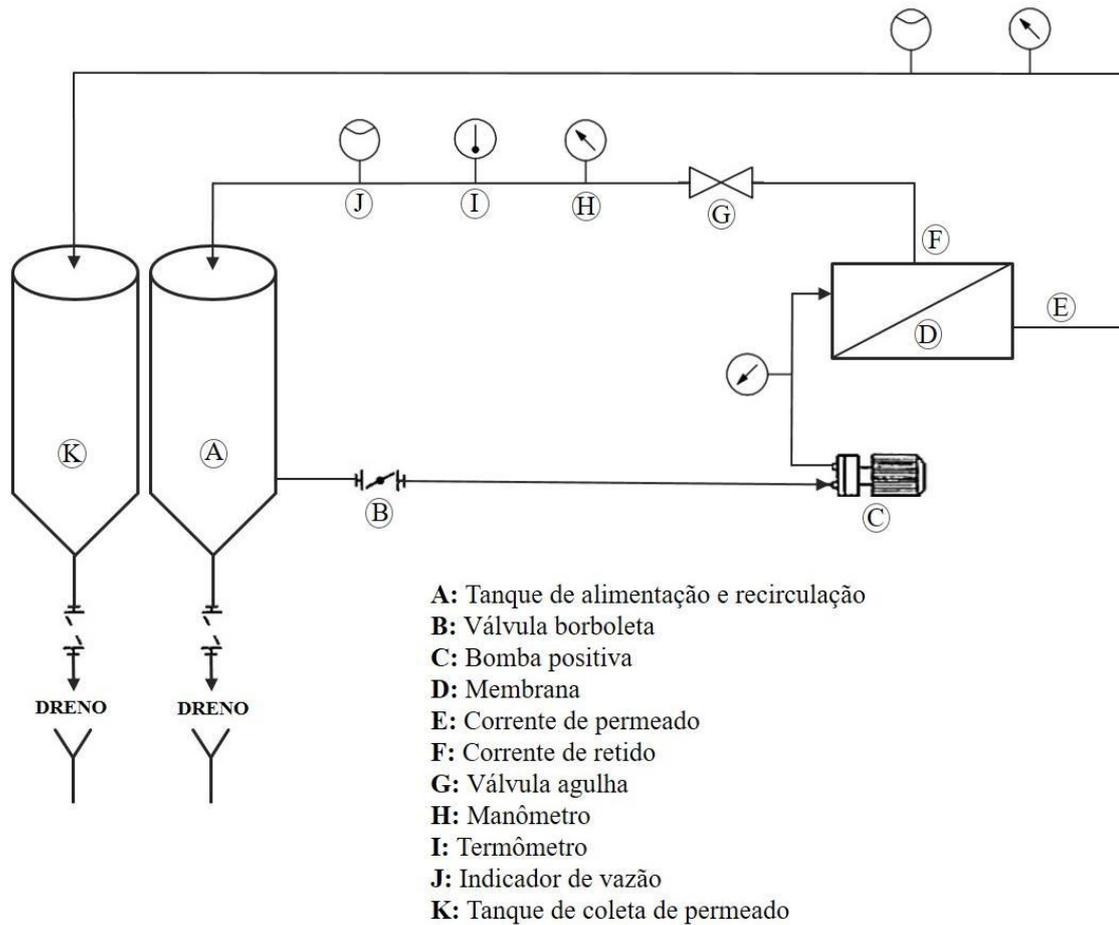


3.2.1 Método para produção do concentrado proteico de soro

A produção do CPS ocorreu em três etapas: concentração por ultrafiltração, purificação das proteínas por diafiltração e secagem. O método para produção do CPS foi elaborado seguindo as condições de processo sugeridas por Pagno et al. (2009) e Baldasso et al. (2011).

O experimento foi realizado em um módulo piloto de filtração tangencial (Figura 6) da WGM Systems (São Paulo – Brasil).

Figura 6 - Piloto de filtração do Laboratório de Operações Unitárias do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo



Fonte: próprio autor

O piloto de filtração é composto de dois tanques de aço inoxidável com capacidade de 40 L cada. A alimentação do sistema foi feita manualmente em bateladas alimentadas. Ligou-se o painel digital e ajustou-se os limites de pressão e temperatura da operação e o tempo em que se desejava realizar a coleta de dados. Após, ligou-se o piloto e ajustou-se a pressão desejada aumentando a vazão da bomba pelo aumento da frequência no painel digital. Após o ajuste da pressão, a bomba positiva pressurizou o líquido contra a membrana, separando o retido do permeado. O retido retornou ao tanque de alimentação e foi pressurizado novamente contra a membrana. A temperatura do soro foi controlada pelo trocador de calor do piloto de filtração alimentado com água a 0 °C. A coleta de dados foi toda automatizada com o auxílio de medidores digitais de vazão, pressão e temperatura. O painel digital enviou os dados direto para um computador que registra os dados em uma tabela, na fração de tempo optada pelo operador.

O módulo foi operado com uma membrana de ultrafiltração, aplicando uma pressão de 2 bar. A membrana que foi utilizada é de poliamida, de configuração espiral, com peso molecular de corte de 10 kDa e área de 1,8 m². Modelo 2538-K131-VYV da marca KOCH *Membrane Systems*. Foram aplicadas as mesmas condições de processamento para as etapas de concentração e purificação.

No processo de concentração das proteínas, o soro fluiu, sobre pressão, através da membrana, a qual permitiu a passagem de água, sais e lactose, que constituíram a solução chamada de permeado da UF. O retido pela membrana de UF foi denominado como retido da UF. Foi adicionado ao tanque de alimentação um volume de 100 L de soro de leite reduzindo este volume até 12 L (volume mínimo que o piloto de filtração suporta), sendo o fator de concentração do processo de 8,33. Ao mesmo tempo que o soro foi concentrado, uma parte dos sais e da lactose permearam pela membrana.

Após a concentração do soro, foi obtida uma corrente de retido que ainda continha uma pequena concentração de lactose e sais. A diafiltração possibilitou a permeação da lactose e dos sais que ainda estavam contidos no retido, elevando o teor de proteínas no CPS.

A UF foi operada no modo de DF para realizar a etapa de purificação das proteínas. Para realizar uma etapa de diafiltração, adicionou-se água com alto grau de pureza (permeado de osmose inversa com condutividade elétrica inferior a 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$) ao retido, um volume proporcional ao volume inicial de soro empregado no processo. A água pura diluiu o retido reduzindo o efeito de polarização por concentração, aumentando o fluxo temporariamente. O retido diluído fluiu, sob pressão, através da membrana, facilitando a permeação de lactose e sais que ainda estavam presentes no CPS. O mesmo volume de água pura adicionada ao retido foi recolhido no permeado, fazendo com que o retido voltasse ao seu volume inicial de 12 L. Foram realizadas várias etapas de DF até atingir a máxima remoção de lactose e sais possível. Para definir quantas etapas de DF eram necessárias, acompanhou-se a condutividade por condutivímetro (TEC-4MP, TECNAL) e os sólidos solúveis (°brix) no retido e no permeado para avaliar a necessidade de mais etapas de diafiltração.

O procedimento foi repetido várias vezes até o permeado da diafiltração apresentar uma condutividade menor que 200 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Foram realizadas três etapas de diafiltração para que o permeado apresentasse esta condutividade.

Ao final desse processo, foi obtido o concentrado proteico de soro (CPS) líquido.

Para a obtenção do CPS em pó, o CPS líquido foi seco em *spray dryer* modelo LM – MSD 1.0, do fabricante Labmaq, usando um bico atomizador de tamanho 3 com uma

velocidade de secagem de $0,5 \text{ L h}^{-1}$, temperatura de entrada de $190 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura e saída de $90 \text{ }^\circ\text{C}$ (VALDUGA et al., 2006).

A membrana de ultrafiltração foi caracterizada pela rejeição de proteínas e pelo fluxo de permeado para o processamento do soro de leite. Registrou-se o fluxo durante a etapa de concentração a cada 15 L de permeado coletado e na etapa de purificação registrou-se o fluxo inicial e final de cada diafiltração aplicada.

3.2.2 Método para produção da lactose concentrada

A produção da lactose concentrada (LC) ocorreu em duas etapas: concentração por ultrafiltração e purificação da lactose por diafiltração. A LC foi obtida seguindo as condições de processo sugeridas por Atra et al. (2005), Suárez et al. (2006) e Suárez et al. (2009).

O experimento foi realizado no mesmo módulo piloto de filtração tangencial (Figura 6) da *WGM Systems* (São Paulo – Brasil) utilizado para produção do concentrado proteico de soro (CPS). O piloto permite a troca da membrana. O tamanho dos poros da membrana que define qual modo de filtração tangencial (ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa) será operado pelo piloto de filtração.

A operação do piloto de filtração da lactose procedeu-se da mesma forma que a descrita para a produção do CPS.

O módulo foi operado com uma membrana de nanofiltração, aplicando uma pressão de 20 bar. A membrana que foi utilizada é de poliamida, de configuração espiral, com peso molecular de corte de 200 Da e área de $1,8 \text{ m}^2$. Modelo 2538-SR3D-VYV da marca *KOCH Membrane Systems*. Foram aplicadas as mesmas condições de processamento para as etapas de concentração e purificação.

No processo de concentração da lactose, o permeado da ultrafiltração (UFP) fluiu, sobre pressão, através da membrana, a qual permitiu a passagem de água e sais monovalentes, que constituíram a solução chamada de permeado da NF. O retido pela membrana de NF foi denominado como retido da NF. Foi adicionado ao tanque de alimentação um volume de 88 L de UFP reduzindo este volume até 12 L. O fator de concentração do processo foi de 7,33. Ao mesmo tempo que a lactose foi concentrada, uma parte dos sais monovalentes permearam pela membrana.

Após a concentração da lactose, foi obtida uma corrente de retido que ainda continha uma pequena concentração de lactose e sais.

A NF foi operada no modo de diafiltração (DF) para realizar a etapa de purificação da lactose. O método procedeu-se da mesma forma que a DF para produção do CPS, mas utilizando uma membrana de NF. Foram realizadas várias etapas de DF até atingir a máxima remoção de sais possível. O acompanhamento do processo procedeu-se igual ao descrito na produção do CPS.

O procedimento foi repetido várias vezes até o permeado da diafiltração apresentar uma condutividade menor que $200 \mu\text{S cm}^{-1}$. Foram realizadas três etapas de diafiltração para que o permeado apresentasse esta condutividade.

Ao final desse processo, foi obtida a lactose concentrada.

A membrana de nanofiltração foi caracterizada pela rejeição de lactose e pelo fluxo de permeado para o processamento do UFP. Registrou-se o fluxo durante a etapa de concentração a cada 15 L de permeado coletado e na etapa de purificação registrou-se o fluxo inicial e final de cada diafiltração aplicada.

3.2.3 Proposição do reúso de água

Os permeados das etapas de diafiltração (DF) que carregavam menor carga orgânica (últimas etapas de diafiltração) foram coletados e tratados por osmose inversa (OI).

Do processo de produção do concentrado proteico de soro (CPS), o permeado da terceira etapa de diafiltração (DF 3) foi separado para ser tratado por OI.

Do processo de produção da lactose concentrada (LC), os permeados da segunda e terceira etapas de diafiltração (DF 2 e 3), unidos como um só permeado, foram separados para serem tratados por OI.

O experimento foi realizado no mesmo módulo piloto de filtração tangencial (Figura 6) da WGM Systems (São Paulo – Brasil) utilizado para produção do CPS e da LC.

O módulo foi operado com uma membrana de osmose inversa, aplicando uma pressão de 20 bar (BRIÃO et al., 2014). A membrana que foi utilizada é de poliamida, de configuração espiral, com peso molecular de corte de 200 Da e área de $1,8 \text{ m}^2$. Modelo 2538-HRX-VYV da marca KOCH *Membrane Systems*.

No processo de tratamento dos permeados das diafiltrações, os permeados fluíram, sobre pressão, através da membrana, a qual permitiu a passagem de água purificada (água de reúso). As impurezas e sais ficam retidos pela membrana.

A abordagem para aplicação da água de reúso foi realizada no modelo de tratamento *in plant*, na qual o efluente é recuperando para a reutilização (BRUM et al., 2009).

A água de reúso foi utilizada na primeira etapa de diafiltração (DF 1) para produção do concentrado proteico de soro (a segunda e terceira etapas de diafiltração foram realizadas com a água pura). Para a produção do CPS utilizando a água de reúso, seguiu-se o procedimento descrito no item 3.2.1.

A caracterização química do CPS produzido com a água de reúso foi comparada com a caracterização do CPS produzido utilizando somente água pura nas etapas de diafiltração.

A membrana de osmose inversa foi caracterizada pelo fluxo de permeado. Registrou-se o fluxo a cada 10 L de permeado tratado.

3.2.4 Caracterização dos produtos

O soro de leite, o concentrado proteico de soro (CPS) líquido, o CPS em pó, o permeado da ultrafiltração, a lactose concentrada, e os permeados e retidos das etapas de concentração e diafiltração foram caracterizados quanto às suas propriedades químicas. Em uma caracterização inicial foram analisados os conteúdos de proteínas, lactose, cinzas, gordura, umidade e sólidos totais (Quadro 5).

Quadro 5 - Análises empregadas para caracterização dos produtos

Compostos	Metodologia	Referência
Proteína	Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR) e Método de Kjeldahl	Sikand et al. (2011) / MAPA (2006) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Lactose	Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR) e Método Lane-Eynon	Sikand et al. (2011) / MAPA (2006) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Gordura	Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR) e Extração de gordura por Soxhlet	Sikand et al. (2011) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Cinzas	Incineração em Mufla a 500 °C	AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Umidade	Secagem em estufa a 105 °C	AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)
Sólidos Totais	Espectroscopia no infravermelho próximo (FTIR) e Secagem em estufa a 105 °C	AOAC (1995) / INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008)

O fator de conversão de nitrogênio para proteína usado foi 6,38 (NIELSEN, 1998).

Os produtos principais do processo foram caracterizados também quanto ao seu teor de nitrogênio livre. A amostra foi preparada para a análise por precipitação ácida com solução

de tricloroacético pelo método sugerido por Gripon et al. (1995) e analisadas pelo método de nitrogênio por Kjeldahl (MAPA, 2006).

Os produtos das principais etapas dos processos foram caracterizados quanto ao seu conteúdo de sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (Quadro 6).

Quadro 6 - Análises empregadas para sais

Compostos	Metodologia
Sódio e Potássio	Fotômetro de chama (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p. 744)
Magnésio e Cálcio	Absorção atômica (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p. 747)
Fósforo	Espectrofotometria na região do visível (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p. 752)

3.2.5 Caracterização dos produtos da proposição do reúso de água

Os permeados das diafiltrações, antes e após serem recuperados pelo processo de osmose inversa, foram caracterizados pelas características físico-químicas descritas no Quadro 7.

Quadro 7 - Análises empregadas para caracterização dos permeados das diafiltrações antes e depois de serem tratados por osmose inversa

Compostos	Metodologia
Matéria orgânica	Determinação de oxigênio consumido pelo método do permanganato de potássio (KMnO ₄) (ABNT/ NBR 10739 - Set/1989)
Turbidez	Analisada por Turbidímetro Portátil (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008)
Cor	Métodos colorimétricos 2120 C e 2130 B (APHA, 2000).
pH	Potenciômetro (pH METER TEC-2) de marca TECNAL
Condutividade Elétrica	Condutivímetro (TEC-4MP, TECNAL)
Demanda Química de Oxigênio (DQO)	Por espectrofotometria (APHA, 2000)
Fósforo	Espectrofotometria na região do visível (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008, p. 752)
Óleos e Graxas	Extração de gordura por Soxhlet (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008)

3.2.6 Limpeza das membranas

A permeabilidade da membrana (fluxo de permeado) com água pura foi verificada, para cada uma das membranas utilizadas (ultrafiltração, nanofiltração e osmose inversa), antes de iniciar os processos de filtração. Esse procedimento deve ser realizado para garantir a desobstrução total dos poros da membrana que deve atingir o mesmo fluxo após as limpezas.

Limpeza da membrana consiste em uma lavagem de água que foi realizada após a ultrafiltração, a nanofiltração e a osmose inversa.

O procedimento de limpeza utilizado foi aquele descrito pelo fabricante do equipamento, e adaptado para este trabalho. A limpeza da membrana de ultrafiltração foi realizada após cada utilização do equipamento, consistindo das seguintes etapas:

1. Dois enxágues com 100 L de água, descartando-se o permeado e o retido;
2. Limpeza alcalina (pH entre 10,0 e 10,5) com solução aquecida à temperatura entre 45°C e 50°C, preparada com hidróxido de sódio 1,0 N, diluído em permeado de osmose inversa e recirculação de permeado e retido por 30 minutos;
3. Novo enxágue conforme o primeiro passo, medindo-se o pH e repetindo-se o procedimento até a neutralização;
4. Limpeza ácida realizada com uma solução preparada com ácido nítrico (pH entre 1,8 e 2,0) e temperatura entre 45°C e 50°C e recirculação de permeado e retido por 30 minutos;
5. Novo enxágue conforme o primeiro passo, medindo-se o pH e repetindo-se o procedimento até a neutralização;
6. Limpeza cloro-alcalina, realizada do mesmo modo citado na etapa 2, entretanto, após preparada a solução alcalina, adicionou-se hipoclorito de sódio comercial até que se atingisse a concentração de 200 mg.L⁻¹ na solução. A concentração de cloro livre foi monitorada com um kit de análise rápida (La Motte, modelo PCT-DR), e quando necessário, adicionou-se hipoclorito de sódio para manter a concentração de cloro na solução. A solução foi recirculada por 30 minutos.
7. Cinco enxágues com água descartando-se o permeado e o retido até que o pH da água se mantivesse neutro. A eficiência da limpeza foi determinada pela medida do fluxo com permeado de osmose inversa, devendo essa atingir no mínimo 95% do valor de água permeada antes da realização do ensaio.

Nos momentos em que o fluxo desejado não pôde ser alcançado através da utilização das etapas anteriores, foram acrescentados mais alguns passos, aplicados de acordo com cada situação:

8. Limpeza alcalina (etapa 2) com adição de um detergente não-iônico (Ultrakleen II) na concentração de 0,1% do volume da solução. Procedeu-se com a recirculação durante 30 minutos, deixou-se de molho por um período de 2 horas e nova recirculação por 30 minutos;
9. Novo enxágue conforme o primeiro passo, medindo-se o pH e repetindo-se o procedimento até a neutralização;
10. Limpeza alcalina (etapa 2) com adição de uma enzima na concentração de 0,5% do volume da solução. Procedeu-se com a recirculação durante 30 minutos a uma temperatura de 42°C, deixou-se de molho por um período de 10 horas e nova recirculação por 30 minutos;
11. Novo enxágue conforme o primeiro passo, medindo-se o pH e repetindo-se o procedimento até a neutralização.
12. Cinco enxágues com água descartando-se o permeado e o retido até que o pH da água se mantivesse neutro; medida de fluxo (etapa 7).

3.2.7 Análise estatística dos resultados

Os resultados obtidos foram expostos à análise estatística através da Análise de Variância (ANOVA) e pelo teste *t* ou pelo teste de *Tukey*, a 5% de significância.

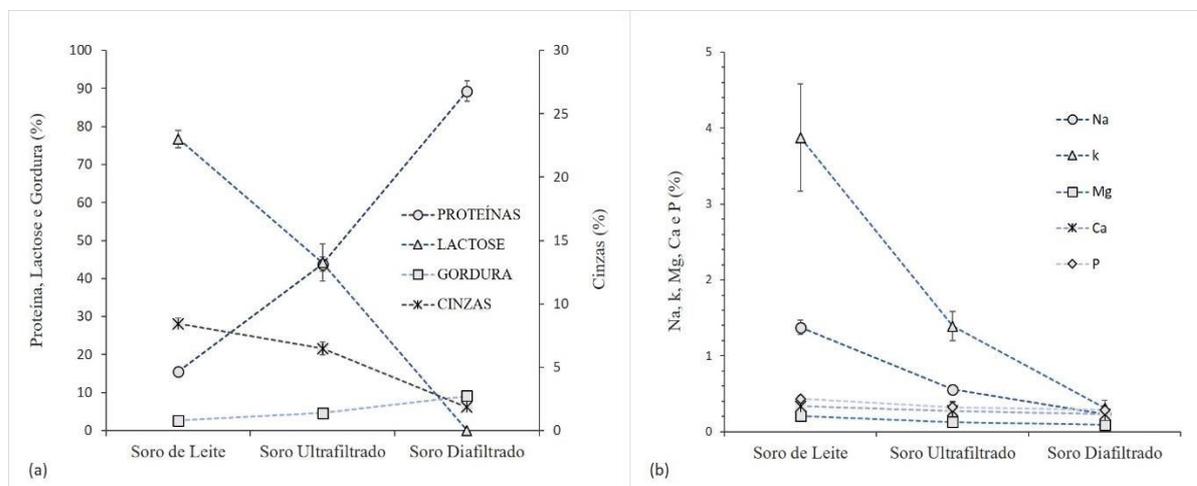
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRODUÇÃO DO CONCENTRADO PROTEICO DE SORO

A rejeição de proteínas pela membrana de ultrafiltração (UF) variou entre 88,6 e 94,6 %. A rejeição não foi total, pois glicomacropéptídeos presentes no soro, com peso molecular de 6,7-8,0 kDa ($6700 - 8000 \text{ g mol}^{-1}$), permeiam os poros da membrana de UF de 10 kDa (10000 g mol^{-1}). Os glicomacropéptídeos estão presentes no soro com uma proporção de 10-20 % das proteínas (BRODY, 2000; HARAGUCHI et al., 2006). Leindecker (2011), que utilizou membranas planas poliméricas, comprova que a membrana UF de massa molar de corte de 10 kDa apresenta a maior retenção de proteínas comparada com membranas de 30 e 50 kDa. A maior rejeição atingida pelo autor foi de 80 %, retendo 8 % menos proteínas que as desse estudo. As. Atra et al. (2005) utilizou uma membrana com menor massa molar de corte (6-8 kDa) e uma pressão de 1 bar, atingiu rejeições de proteína (92-98 %), próximas as deste estudo. No entanto, diferentes tipos de soros possuem variações em sua composição o que pode levar a essas pequenas diferenças de rejeições.

A Figura 7 apresenta os componentes presentes no retido da UF ao final da etapa de concentração (Soro Ultrafiltrado) e ao final da etapa de purificação por diafiltração (Soro Diafiltrado). Na Figura 7, observou-se o aumento da concentração de proteína e a redução da concentração de lactose, cinzas, sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo.

Figura 7 – Composição de proteínas, lactose, gordura, cinzas (a) e sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (b) nas diferentes etapas do processamento para produção do concentrado proteico de soro



*média \pm desvio padrão; valores em base seca; Soro Ultrafiltrado: caracterização ao final da etapa de concentração por ultrafiltração; Soro Diafiltrado: caracterização ao final da etapa de purificação por diafiltração.

O sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo reduziram um total de 83 %, 92 %, 57 %, 32 % e 33 %, respectivamente. Do total de redução do sódio, 59 % permeou a membrana de UF durante a concentração e a etapa de purificação por diafiltração aumentou a redução do sódio em 24 %.

Na Figura 7 observa-se também a importância da diafiltração para uma maior purificação das proteínas, pois lactose e sais foram removidos em grandes proporções nesta etapa.

A Tabela 10 apresenta a caracterização do soro de leite e do concentrado proteico de soro em pó obtido após a etapa de secagem em *spray dryer*.

Tabela 10 - Caracterização do soro de leite e do concentrado proteico de soro

Parâmetros Avaliados	Soro de Leite	CPS em pó
pH	6,51±0,06	-
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	4396±360	-
Sólidos solúveis ($^{\circ}\text{brix}$)	6,5±0,20	-
Sólidos totais (%)	5,49±0,08 ^a	93,71±0,67 ^b
Umidade (%)	94,51±0,08 ^a	6,29±0,67 ^b
Proteína ³ (%)	15,53±1,07 ^a	89,95±1,80 ^b
Lactose ³ (%)	76,70±2,28	ND
Gordura ³ (%)	2,68±0,20 ^a	5,98±0,71 ^b
Cinzas ³ (%)	8,43±0,42 ^a	2,15±0,22 ^b
Nitrogênio não-proteico ³ (%)	1,06±0,16 ^a	0,08±0,04 ^a
Sódio ³ (ppm)	13739±962 ^a	1294±580 ^b
Potássio ³ (ppm)	38743±7051 ^a	2879±1170 ^a
Magnésio ³ (ppm)	2089±151 ^a	330±58 ^a
Cálcio ³ (ppm)	3357±393 ^a	1108±504 ^b
Fósforo ³ (ppm)	4334±391 ^a	417±93 ^a

* 1. Resultados de média \pm desvio padrão; letras diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste *t*;

2. ND: não detectado pelo método analítico utilizado;

3. valores em base seca.

A caracterização do soro de leite (Tabela 10), quanto às concentrações de proteínas, lactose, gordura e cinzas está próxima dos valores apresentados por Räsänen et al. (2002), Rao (2002), Suárez et al. (2006) e Suárez et al. (2009).

Suárez et al. (2006) e Suárez et al. (2009) relataram para o soro de leite concentrações de sódio na faixa de 313-493 mg L⁻¹. O soro de leite utilizado nesse trabalho possuía 37 % mais sódio (781 mg L⁻¹, base úmida) que o utilizado por estes autores. A quantidade desse sal, depende do tipo de queijo processado e das quantidades de NaCl empregada em sua produção.

Segundo Rodrigues (2011), para ser denominado como concentrado proteico de soro, o mesmo deve conter uma concentração de proteína maior que 25 % e segundo Pagno et al. (2009) os CPS podem variar sua composição de proteínas de 35 % a 80 %. Após a secagem em spray dryer, obteve-se um CPS em pó (base seca) com teor de proteínas próximo a 90 %, 5,98 % de gordura, 2,15 % de cinzas e a lactose não foi detectada pelo método oficial indicado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Tabela 10).

Assim, o CPS obtido neste trabalho é considerado um CPS-80 por Smithers (2015), mas está próximo de ser considerado um isolado proteico de soro (IPS) que possui teor de proteína maior que 90 %.

Atualmente, a legislação brasileira não dispõe de um regulamento específico para produtos com baixo teor de lactose. Contudo, segundo a legislação aplicada para esse tipo de produto, a Portaria nº 29 de 1998 do Ministério da Saúde, alimentos especialmente formulados para atender portadores de intolerância à ingestão de dissacarídeos como a lactose podem conter no máximo 0,5 g do nutriente por 100 g ou 100 mL do produto final. Desse modo o CPS produzido pode ser considerado como um produto deslactosado.

O processo sugerido neste trabalho tomou por base as condições de processo estudadas por Baldasso et al. (2011) e Pagno et al. (2009), mas para atingir melhores resultados, uniu-se as melhores condições sugeridas por cada um deles com adaptações necessárias para melhorar o processo. Com isso, pode-se maximizar os resultados e atingir um produto final com quase 19 % e 10 % mais proteínas que a maior concentração atingida por Baldasso et al. (2011) (71 %) e Pagno et al. (2009) (80 %), respectivamente. O produto final obtido por este último autor ainda ficou com um residual de lactose de 10 a 31 % e com o processo sugerido neste trabalho a lactose se aproximou de 0 % de modo que não pôde ser identificada pelo método oficial.

Borges et al. (2001), também estudaram o processo de separação com membranas de UF de 10 kDa para fracionar e concentrar as proteínas do soro, mas aplicaram a diafiltração de modo contínuo diferente do sugerido (diafiltração aplicada em bateladas). Esses autores

obtiveram um CPS com concentração de cinzas e lipídios (2,77 e 4,48 %) próximas ao CPS produzido (Tabela 10), mas com 6 % menos proteínas e com um residual de quase 9 % de lactose.

Dos sais presentes no soro de leite, o sódio é o único indesejável no produto final. A redução do teor de sódio dos alimentos tem sido orientada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 2013). O sódio é o segundo mineral com maior concentração no soro de leite (Tabela 10), motivo pelo qual o produto “soro de leite em pó” que não passou por um processo de desmineralização apresenta os altos valores de sódio, sendo um obstáculo para sua aplicação industrial. O soro de leite caracterizado possui em média um teor de sódio em base seca de $1,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e após a etapa de concentração e de purificação, obteve-se um produto final com um teor de sódio de $0,13 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. No Brasil, o consumo médio de sódio excede em mais de duas vezes a ingestão máxima de sódio recomendada pela OMS de 2 g d^{-1} (SARNO et al., 2013), sendo evidente a necessidade de redução desse componente em produtos industrializados. O consumo de 100 g de soro de leite em pó, quase atingiria o limite máximo orientado, dificultando sua aplicação e mostrando a importância do processamento para abrir oportunidades para sua utilização.

Muitos governos, como o brasileiro, seguem a regulamentação do *Codex Alimentarius* para a inserção de *claims* nas embalagens de produtos industrializados. Segundo essa regulamentação, quando a concentração de sódio for menor que $120 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de alimento, indica-se que a presença desse mineral no produto é baixa. O CPS produzido neste trabalho está bem próximo de apresentar essa indicação ($129 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) (CODEX, 2013).

A redução de 100 % do sódio não seria possível, pois segundo Fennema (2010), apenas 96 % do sódio presente no leite (e que é transferido para o soro na fabricação de queijo) é ultrafiltrável.

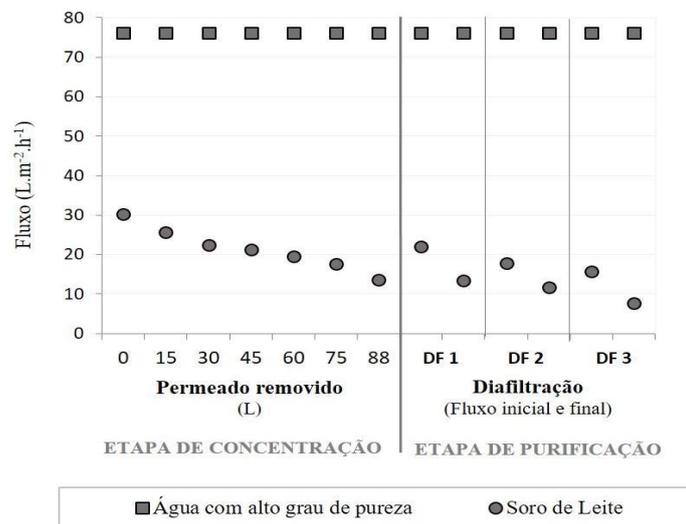
4.1.1 Fluxos de permeado da ultrafiltração

A Figura 8 apresenta o fluxo de permeado para o processamento de soro de leite por UF, durante as etapas de concentração e purificação, e o fluxo de água com alto grau de pureza.

O fluxo da água com alto grau de pureza ($76 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) apresentado na Figura 8 representa o fluxo da membrana de UF sem a presença de sólidos, ou seja, sem nenhum impedimento à permeação, como a presença de sólidos e o *fouling*. Esse dado é muito importante para a limpeza da membrana, pois a permeabilidade da membrana com água pura

garante a recuperação do fluxo inicial antes de iniciar um novo processo de filtração (CUARTAS-URIBE et al., 2009).

Figura 8 - Fluxo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$) para a membrana de ultrafiltração com soro de leite, a uma pressão de 2 bar



O fluxo da etapa de concentração do soro de leite iniciou em $30 L m^{-2} h^{-1}$ e foi reduzindo à medida que o volume de permeado removido aumentava ao mesmo tempo que aumentava a concentração dos sólidos no retido. Esse evento também foi observado por Baldasso et al. (2011).

Segundo Leindecker (2011), as quedas dos fluxos são normais devido à formação da camada de polarização por concentração, ao *fouling* (acúmulo de matérias depositadas na membrana durante a fase de polarização da concentração, também chamado de colmatação da membrana) e ao aumento da concentração da solução. Segundo Rao (2002), a ocorrência da colmatação tem sido atribuída principalmente às proteínas do soro e à precipitação de fosfato de cálcio na camada gel que se forma em membranas que processam leite, seus derivados e subprodutos.

Rao (2002) estudou os mecanismos de redução de fluxo de permeado em processos de UF de soro de leite. Em seus estudos, pôde observar que houve um declínio de 25-30 % do fluxo de permeado, após 1 h de operação.

Durante a etapa de purificação por diafiltração, observou-se um aumento do fluxo no início de cada etapa de DF. Segundo Zacarchenco et al. (2012), esse aumento de fluxo ocorre porque a água adicionada dilui os sólidos presentes no retido, mas esse aumento não chegou a

ser igual ao inicial do processo, mostrando que a membrana já apresentava sinais de colmatação.

Conforme a água adicionada é removida no permeado e o retido recupera sua concentração inicial, o fluxo ($8 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) volta a cair, chegando a ser, ao final de todo o processo para a produção do CPS, 73 % menor que o inicial.

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

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

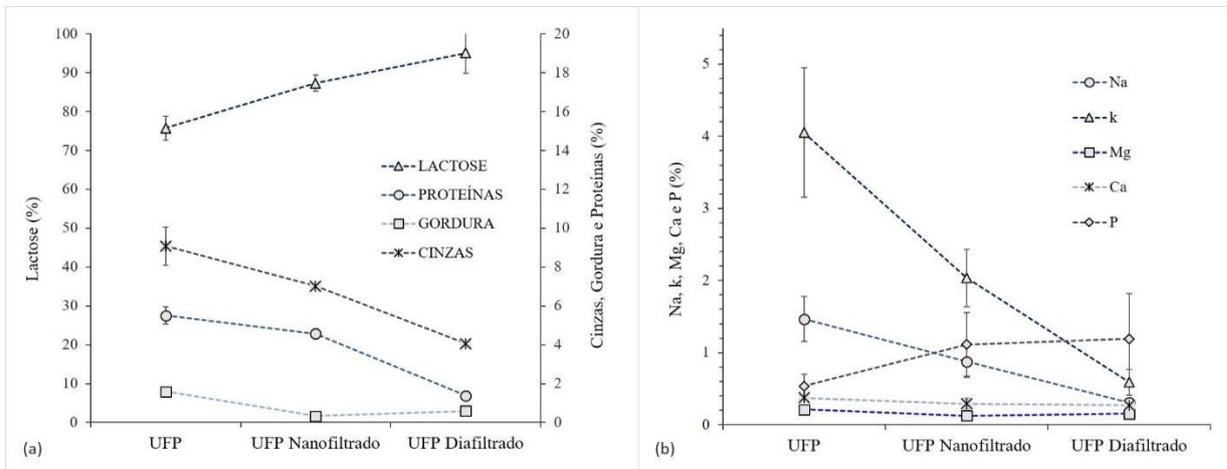
4.2 PRODUÇÃO DA LACTOSE CONCENTRADA

A membrana de NF, apresentou uma rejeição média de 98,85 % de lactose e uma permeabilidade de 17 % de cinzas. A permeabilidade é o inverso da rejeição (HABERT et al., 2006). Segundo Rice et al. (2009), a nanofiltração (NF) permite a concentração do teor de lactose, com a remoção concomitante de sais monovalentes (Na^+ e K^+). Os sais bivalentes como cálcio, magnésio e fósforo, também presentes no permeado da ultrafiltração, tendem a ser retidos pela membrana de NF, já que seu peso molecular é maior que a abertura dos poros da membrana ($200 \text{ g mol}^{-1} \text{ Da}$).

A rejeição de lactose ficou de acordo com as rejeições obtidas por Suárez et al. (2009), 97,3-99,8 %. Já Cuartas-Uribe et al (2009), obteve a rejeição de lactose 9 % menor (89 %). Ele utilizou a mesma pressão aplicada neste estudo, mas com uma membrana com peso molecular de corte de 400 Da, podendo ser esta a explicação por ter obtido uma menor rejeição de lactose.

A Figura 9 apresenta a caracterização do permeado da ultrafiltração, do retido ao final da etapa de concentração (UFP Nanofiltrado) e do retido ao final das etapas de purificação por diafiltração (UFP Diafiltrado). Observou-se o aumento da lactose e a redução de proteínas e cinzas.

Figura 9 - Composição de proteínas, lactose, gordura, cinzas (a), sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (b) nas diferentes etapas do processamento para produção da lactose concentrada



*média \pm desvio padrão; valores em base seca; UFP: permeado da ultrafiltração; UFP Nanofiltrado: caracterização do retido (lactose concentrada) ao final da etapa de concentração por nanofiltração; UFP Diafiltrado: caracterização do retido (lactose concentrada) ao final da etapa de purificação por diafiltração.

A processo sugerido aumentou 20 % o teor de lactose (12 % na concentração e 8 % na purificação), e reduziu 75 % o teor de proteína e 62 % o teor de gordura. Sabe-se que as proteínas e a gordura não permeiam a membrana de NF. Essa redução deve-se pelo acúmulo e incrustação desses componentes na membrana. Rice et al. (2009), identificou a presença de proteínas na camada incrustada da membrana de nanofiltração, apesar da concentração inicial de proteína ser muito baixa no permeado da ultrafiltração.

Suárez et al. (2006) realizando a dessalinização parcial do UFP por nanofiltração, obteve um grau de remoção de sal mineral de 27-36 %. Já Suárez et al. (2009), obtiveram um grau de remoção total de cinzas de 38 % após a diafiltração. O processo sugerido neste trabalho, atingiu um total de remoção de 55 % das cinzas, mostrando-se mais eficiente que os processos empregados por estes autores.

Segundo Lipnizki (2010), o nível máximo de desmineralização por nanofiltração é de 35 % de redução de cinzas e com a aplicação de uma etapa de diafiltração seria possível aumentar esse nível até 45 %. O processo aplicado neste estudo, superou em 10 % as expectativas de Lipnizki.

O processo sugerido neste trabalho alcançou uma redução de sódio de 79 % (41 % durante a concentração e 38 % na purificação) e 85 % de potássio (50 % durante a concentração e 36 % na purificação).

Segundo Salehi (2014) a rejeição de íons bivalentes pela membrana de nanofiltração é superior a 95 %, ou seja, eles tendem a ficar presentes no retido e concentram junto com a lactose. Mas dos íons bivalentes presentes no UFP, apenas o fósforo aumentou (55 %). O

magnésio e o cálcio reduziram 29 % e 27 %, respectivamente. Junto com as proteínas, Rice et al. (2009), observaram que o sal de cálcio influencia para a incrustação da membrana e análises realizadas na membrana incrustada demonstraram a presença do mineral na camada de incrustação. Essa redução de magnésio e cálcio pode ser explicada por esse fenômeno observado pelos autores.

Somando-se as concentrações dos íons monovalentes (sódio e potássio) obteve-se uma redução total de 84 % desses compostos e somando-se as concentrações dos íons bivalentes (cálcio, magnésio e fósforo) obteve-se um aumento total desses íons de 30 %.

A Tabela 11 apresenta a caracterização (média e desvio padrão) do permeado da ultrafiltração e da lactose concentrada.

Tabela 11 - Caracterização do permeado da ultrafiltração (UFP) e da lactose concentrada (LC)

Parâmetros Avaliados	UFP	LC
pH	6,55±0,05 ^a	6,12±0,20 ^b
Condutividade (µS cm ⁻¹)	3998±403 ^a	2814±560 ^b
Sólidos solúveis (°brix)	5,05±1,44 ^a	10,98±1,10 ^b
Sólidos totais (%)	4,48±0,19 ^a	10,03±1,00 ^b
Umidade (%)	95,52±0,19 ^a	89,72±1,22 ^b
Proteína ² (%)	5,51±0,45 ^a	1,38±0,24 ^b
Lactose ² (%)	75,71±3,13 ^a	95,07±5,20 ^b
Gordura ² (%)	1,59±0,17 ^a	0,60±0,13 ^b
Cinzas ² (%)	9,08±1,00 ^a	4,05±0,23 ^b
Nitrogênio não-proteico ² (%)	0,78±0,33 ^a	0,44±0,05 ^a
Sódio ² (ppm)	14668±3113 ^a	3078±194 ^b
Potássio ² (ppm)	40516±8976 ^a	5872±1792 ^a
Magnésio ² (ppm)	2122±449 ^a	1529±340 ^a
Cálcio ² (ppm)	3723±669 ^a	2702±442 ^b
Fósforo ² (ppm)	5358±1614 ^a	12509±6943 ^a

* 1. Resultados de média ± desvio padrão; letras diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa (p < 0,05) pelo Teste t;

2. valores em base seca.

As concentrações de lactose, proteína, gordura, cinzas e sólidos totais do UFP, ficaram próximos aos valores indicados por Rice et al. (2009).

Leindecker (2011), também observou uma pequena passagem de proteínas do soro para o permeado da ultrafiltração.

Ao final do processo, obteve-se uma LC com 95,07 % de lactose com apenas 4,05 % de cinzas em base seca. Atra et al. (2005), utilizando uma membrana de NF de 400 Da obteve uma LC com concentração superior a 25 %. Quase 70 % menor que a LC obtida pelo processo sugerido.

A maior parte do sódio presente no soro de leite passou para o permeado durante a etapa de concentração, dando ao sódio o lugar de segundo metal em maior presença no permeado da ultrafiltração (Tabela 11). Assim como o soro de leite, a alta presença de sódio dificultaria a aplicação da lactose. Após o processamento, a concentração de sódio no UFP passou de 1,5 g 100 g⁻¹ para 0,3 g 100 g⁻¹.

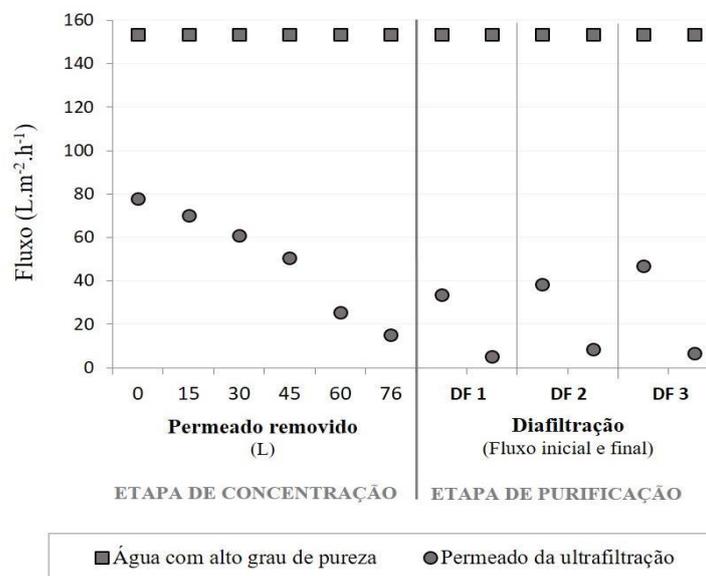
Apesar da grande redução, esta não foi o suficiente para que o produto fosse considerado sem sódio pela regulamentação do *Codex Alimentarium* (sódio menor 5 mg 100 g⁻¹ de alimento) (CODEX, 2013). Mesmo sabendo que o sódio permeia a membrana de NF, 100 % de sua redução não é possível, pois segundo Salehi (2014) a permeação máxima de um íon monovalente pela membrana de NF é de 80 %. Suárez et al. (2009) obteve a permeabilidade de sódio menor que 60 %.

As pequenas concentrações de magnésio, cálcio, potássio e fósforo que permaneceram (Tabela 10 e Tabela 11), tanto no concentrado proteico de soro como na lactose concentrada, tornam o produto final com características diferenciadas, pois o consumo destes sais é desejável para os diferentes usos dos produtos. As proteínas do soro e a lactose podem ser utilizados em fórmulas infantis (CUARTAS-URIBE et al., 2010; GALUS e KADZIŃSKA, 2016), sendo uma excelente maneira de fortificar esses alimentos e aumentar o seu valor nutricional. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), alimento enriquecido ou fortificado é todo aquele ao qual for adicionado um nutriente com a finalidade de reforçar seu valor nutricional, seja repondo quantitativamente os nutrientes destruídos durante o processamento do alimento, seja suplementando-os com nutrientes em nível superior ao seu conteúdo normal (BRASIL, 1998).

4.2.1 Fluxos de permeado da nanofiltração

A Figura 10 apresenta o fluxo de permeado para o processamento do permeado da ultrafiltração por NF, durante as etapas de concentração e purificação, e o fluxo de água com alto grau de pureza.

Figura 10 - Fluxo de permeado ($L m^{-2} h^{-1}$) para a membrana de nanofiltração com permeado da ultrafiltração, a uma pressão de 20 bar



O fluxo da água com alto grau de pureza ($153 L m^{-2} h^{-1}$) apresentado na Figura 10 representa o fluxo da membrana de NF sem nenhum impedimento a permeação, ou seja, sem sólidos na solução de alimentação ou *fouling*.

O fluxo do processo de concentração da lactose iniciou em $78 L m^{-2} h^{-1}$ e foi reduzindo a medida que aumentava o volume de permeado removido. Assim como no processo do soro de leite, em cada etapa de diafiltração o fluxo aumentava devido a diluição dos sólidos.

Rice et al. (2009) observou que o sal de cálcio influencia claramente para a incrustação da membrana em processos de filtração do permeado da ultrafiltração. Ele identificou a presença do mineral e uma quantidade de proteínas na camada incrustada, apesar da concentração inicial de proteína ser muito baixa no UFP.

Atra et al. (2005), que realizou o mesmo procedimento conseguiu manter os fluxos de permeado acima de $40 L.m^2.h^{-1}$, utilizando 20 bar de pressão. Segundo Rice et al. (2009), o comportamento da incrustação da membrana, durante o processamento do permeado da ultrafiltração, pode variar de forma significativa de acordo com o lote, devido a pequenas diferenças de composição.

A zona de polarização não pode ser evitada, mas os seus efeitos na redução do fluxo permeado podem ser controlados através das condições operacionais, como baixa pressão e alta turbulência junto à superfície da membrana (BACCHIN et al., 2006).

4.3 PROPOSIÇÃO DO REÚSO DE ÁGUA

A Tabela 12 apresenta a caracterização do permeado da terceira etapa de diafiltração do processo de produção do CPS, antes e depois do processamento por osmose inversa, comparadas com a caracterização da água com alto grau de pureza utilizada no processo.

Tabela 12 – Caracterização do permeado da diafiltração do concentrado proteico de soro tratado por osmose inversa (OI)

Parâmetros Avaliados	Permeado 1**	Permeado 1 tratado por OI	Água pura***	Portaria 2914/2011 (VMP)	Diretiva Europeia 98/83/EC (VMP)
pH	6,6±0,007 ^a	6,6±0,05 ^a	6,5±0,04 ^a	6,0-9,5	6,5 a 9,5
Condutividade (µS cm ⁻¹)	97,6±7,91 ^a	8,15±5,64 ^b	26,10±3,39 ^c	-	2500
Cor (Hz)	5±1,41 ^a	1,5±0,70 ^b	1,5±0,7 ^b	15	-
Turbidez (NTU)	6,5±2,12 ^a	0,5±0,7 ^b	0,5±0,7 ^b	5,0	-
Óleos e graxas (mg L ⁻¹)	4,5±3,3 ^a	1,7±0,1 ^a	2,3±1,6 ^a	-	-
Matéria Orgânica (mg L ⁻¹ de O ₂)	0,61±0,11 ^a	0,31±0,009 ^b	0,05±0,02 ^c	-	≤ 5,0
DQO (mg L ⁻¹)	173±26 ^a	26,54±7,89 ^b	10,36±8,16 ^b	-	-
Sódio (mg L ⁻¹)	125±22 ^a	6,37±0,86 ^b	4,78±0,85 ^b	-	-
Potássio (mg L ⁻¹)	36,32±0,70 ^a	2,77±0,01 ^b	2,77±0,005 ^b	-	-
Magnésio (mg L ⁻¹)	43,89±9,34 ^a	1,2±0,24 ^b	2,79±1,93 ^b	-	-
Cálcio (mg L ⁻¹)	159±8,0 ^a	3,15±0,42 ^b	4,72±1,03 ^b	-	-
Fósforo (mg L ⁻¹)	0,2±0,01 ^a	0,2±0,08 ^a	0,05±0,03 ^b	-	-

*Resultados de média ± desvio padrão; letras diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa (p < 0,05) pelo Teste de Tukey; VMP: valor máximo permitido;

**Permeado 1: permeado coletado da terceira etapa de diafiltração aplicada no processo de produção do concentrado proteico de soro por ultrafiltração;

*** Água potável tratada por osmose inversa utilizada no processo tradicional de diafiltração.

A Tabela 13 apresenta a caracterização dos permeados da segunda e da terceira etapa de diafiltração (misturados como amostra única) do processo de produção da LC, antes e depois do processamento por osmose inversa, comparadas com a caracterização da água com alto grau de pureza utilizada no processo.

Tabela 13 - Caracterização do permeado da diafiltração da lactose concentrada tratado por osmose inversa (OI)

Parâmetros Avaliados	Permeado 2**	Permeado 2 tratado por OI	Água pura***	Portaria 2914/2011 (VMP)	Diretiva Europeia 98/83/EC (VMP)
pH	6,5±0,13 ^a	6,5±0,053 ^a	6,5±0,04 ^a	6,0-9,5	6,5 a 9,5
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	133,3±5,65 ^a	41,75±9,54 ^b	26,10±3,39 ^c	-	2500
Cor (Hz)	5,5±0,7 ^a	1,5±0,7 ^b	1,5±0,7 ^b	15	-
Turbidez (NTU)	2,5±0,7 ^a	0,5±0,7 ^b	0,5±0,7 ^b	5,0	-
Óleos e graxas (mg L^{-1})	6,3±4,4 ^a	2,4±0,08 ^a	2,3±1,6 ^a	-	-
Matéria Orgânica (mg L^{-1} de O_2)	1,24±0,09 ^a	0,37±0,08 ^b	0,05±0,02 ^c	-	≤ 5,0
DQO (mg L^{-1})	130±2,87 ^a	80,24±2,33 ^b	10,36±8,16 ^c	-	-
Sódio (mg L^{-1})	175±59 ^a	7,27±0,62 ^b	4,78±0,85 ^c	-	-
Potássio (mg L^{-1})	127±16 ^a	4,54±1,16 ^b	2,77±0,005 ^c	-	-
Magnésio (mg L^{-1})	110±32 ^a	2,06±0,04 ^b	2,79±1,93 ^b	-	-
Cálcio (mg L^{-1})	155±7,57 ^a	6,43±0,51 ^b	4,72±1,03 ^c	-	-
Fósforo (mg L^{-1})	0,4±0,007 ^a	0,2±0,12 ^b	0,05±0,03 ^b	-	-

*Resultados de média ± desvio padrão; letras diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$) pelo Teste de Tukey; VMP: valor máximo permitido;

**Permeado 2: permeado coletado da segunda e da terceira etapa de diafiltração (permeados misturados) aplicada no processo de produção da lactose concentrada por nanofiltração;

***Água potável tratada por osmose inversa utilizada no processo tradicional de diafiltração.

Na indústria de laticínios há uma grande diversidade de efluentes gerados. Riera et al. (2013) apresentam um resumo das diferentes características dessas águas residuais. De todas essas correntes, os condensados de vapor são considerados por Chmiel et al. (2000) e Mavrov e Bélières (2000) as águas residuais menos poluentes geradas pela indústria láctea. Eles caracterizam essa corrente com valores que variam entre 4,0-8,5 para pH, 2-720 mg L^{-1} para DQO e 6-190 $\mu\text{S cm}^{-1}$ para condutividade. Para Suárez e Riera (2015), os fluxos de águas residuais de baixa poluição são caracterizados por apresentarem DQO inferior a 700 mg L^{-1} e condutividades inferiores a 2200 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Os permeados das diafiltrações (permeado 1 e permeado 2) apresentam suas características dentro desses intervalos, desse modo podem ser consideradas águas residuais de baixo impacto que não necessitam de vários estágios de tratamento para reúso.

Esses resultados comprovam que segregar esses permeados da diafiltração e realizar o seu tratamento antes de se misturar com outras correntes é uma prática sábia. Segundo Vouch et al. (2008) seria um desperdício misturar essa corrente a carga final de efluentes.

A turbidez indica a presença de material particulado e/ou coloidal. Os baixos valores nos permeados da diafiltração são indicativos de baixas concentrações desses materiais,

havendo apenas resíduos destes na água tratada por OI. Quanto à cor, é um parâmetro importante para a aceitação do consumidor e todas as correntes apresentaram baixos valores de cor.

Mavrov e Bélières (2000) e Suárez e Riera (2015) sugerem que a água de reúso utilizada na indústria de alimentos (que possam entrar em contacto com alimentos ou com superfícies posteriormente expostas ao produto), deva possuir qualidade igual ou melhor que a água potável. De fato, a legislação brasileira não prevê ainda parâmetros e normativas para água de reúso, mas se seguirmos as normativas de potabilidade, a Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde pode indicar alguns parâmetros. Essa teve como base as guias de qualidade de água potável da OMS e dispõe que para turbidez o valor máximo permitido é de 0,5 NTU (para águas que passaram por tratamento completo ou filtração direta) e para cor um limite máximo permitido de 15 Hz. As águas tratadas e a água pura analisadas (Tabela 12 e Tabela 13) atingiram as condições estipuladas pela legislação.

O processo de osmose inversa reduziu 70 % e 73 % de cor, 82 % e 80 % de turbidez e 49 % e 70 % de matéria orgânica, para o permeado 1 (Tabela 12) e o permeado 2 (Tabela 13) respectivamente. A legislação brasileira não prevê a matéria orgânica como parâmetro de controle para água potável, mas a diretriz da União Europeia (EUROPE, 1998) prevê que a matéria orgânica não deve ultrapassar 5 mg L⁻¹ em águas destinadas para abastecimento urbano. Logo, os permeados tratados permaneceriam dentro desses padrões.

O pH não variou. Todos permaneceram dentro do intervalo de pH no que se refere à água doce tipo CLASSE 1 (pH entre 6,0 e 9,0), para águas de abastecimento que é estabelecido pela resolução do CONAMA nº 357/2005.

Os outros parâmetros avaliados não são atribuídos pela legislação para controle da água potável, mas são de grande importância para avaliar se água recuperada é adequada para aplicação no processo de diafiltração. Segundo Riera et al. (2013), os valores de condutividade e DQO, são utilizados como propriedades para definir a carga de poluição das águas residuais.

A presença de matéria orgânica e a DQO mostram que há resíduos de compostos orgânicos (como lactose, peptídeos e ácidos graxos) nas águas de diafiltração. No entanto, a OI atinge boas rejeições desses compostos de modo que baixas concentrações desses dois parâmetros foram encontradas nos permeados tratados por OI. Isto mostra que o tratamento proposto tem um forte potencial para a redução do consumo de água na produção integrada do concentrado proteico e lactose a partir do soro de leite.

A DQO do permeado 2 tratado por OI foi alto, mas o baixo valor de matéria orgânica apresentado para a mesma amostra, levou-nos a considerar um provável erro analítico para a DQO.

A sustentabilidade tem sido foco de vários estudos na indústria de laticínios (BALLANEC et al., 2002, 2005; BASKARAN et al., 2003; BASSO, 2014; BRIÃO; TAVARES, 2012; CHMIEL et al., 2000; KOYUNCU et al., 2000; MAVROV et al., 2001; RIERA et al., 2013; SARKAR et al., 2006; SUÁREZ et al., 2014; SUÁREZ; RIERA, 2015; TURAN, 2004; VOURCH et al., 2005, 2008), sendo a maioria dos trabalhos no tratamento de efluentes com processos de separação por membranas. No entanto, o que se observa, de um modo geral, devido às membranas não serem barreiras perfeitas, há um residual de DQO na grande maioria dos permeados obtidos. No entanto, isto não impossibilita o seu reúso, conforme vários casos relatados por diversos autores.

Como esperado, a presença de sódio, potássio, magnésio e cálcio elevam a condutividade dos dois permeados de diafiltração. Do mesmo modo, o tratamento por OI remove esses sais reduzindo a condutividade da água tratada. Segundo Macedonio et al. (2012), a osmose inversa separa os sais com uma rejeição de 98-99,5 %. Para o permeado 1 as reduções de sódio, potássio, magnésio e cálcio foram maiores que 92 % e para o permeado 2 maiores que 96 %.

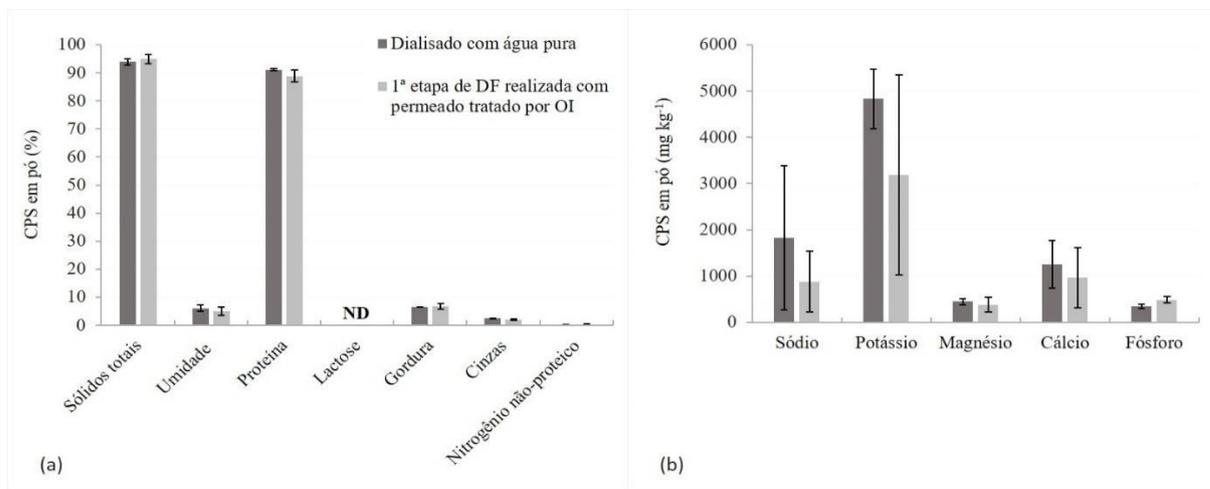
Para Mavrov e Bélières (2000), Suárez et al. (2014) e Suárez e Riera (2015), de todas as possibilidades de reutilização, os parâmetros mais restritivos são dados pelas especificações da água da caldeira. Para esta, a condutividade (25 °C) deve ser menor que 40 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Pode-se dizer que os permeados tratados estão coerentes com este padrão.

Vourch et al. (2008), após aplicar um estágio do processo de osmose inversa para realizar a recuperação de águas residuais de uma indústria de laticínios, obteve uma água purificada com uma condutividade menor que 50 $\mu\text{S cm}^{-1}$. E qualificou esta água apta para ser utilizada na limpeza e como água de aquecimento e refrigeração. Segundo ele, para que a água de reúso fique altamente purificada a ponto de ser aplicada em funções que possa ocorrer o contato com produtos alimentícios, tem-se a necessidade de realizar dois estágios de osmose inversa (OI + OI) na água residual.

Segundo Cuartas-Uribe et al. (2007), a condutividade elétrica ideal da água para realizar a diafiltração deveria ser inferior a 5 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Após o tratamento por osmose inversa, mesmo sendo muito baixas, as condutividades dos permeados tratados não atingiram a condutividade indicada por estes autores. Para Vourch et al. (2008), essa condutividade corresponde essencialmente pela presença de íons monovalentes.

Mesmo apresentando pequenas concentrações de sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (Tabela 12 e Tabela 13), o permeado tratado não interferiu na pureza da proteína quando aplicado na primeira etapa de diafiltração do processo de produção do CPS (Figura 11). A concentração de proteínas no produto final não apresentou diferença significativa quando comparado com o CPS dialisado com a água pura.

Figura 11 – Comparação entre o concentrado proteico de soro produzido pelo método tradicional sugerido (dialisado com água pura) e outro produzido aplicando na primeira etapa de diafiltração o permeado tratado por osmose inversa

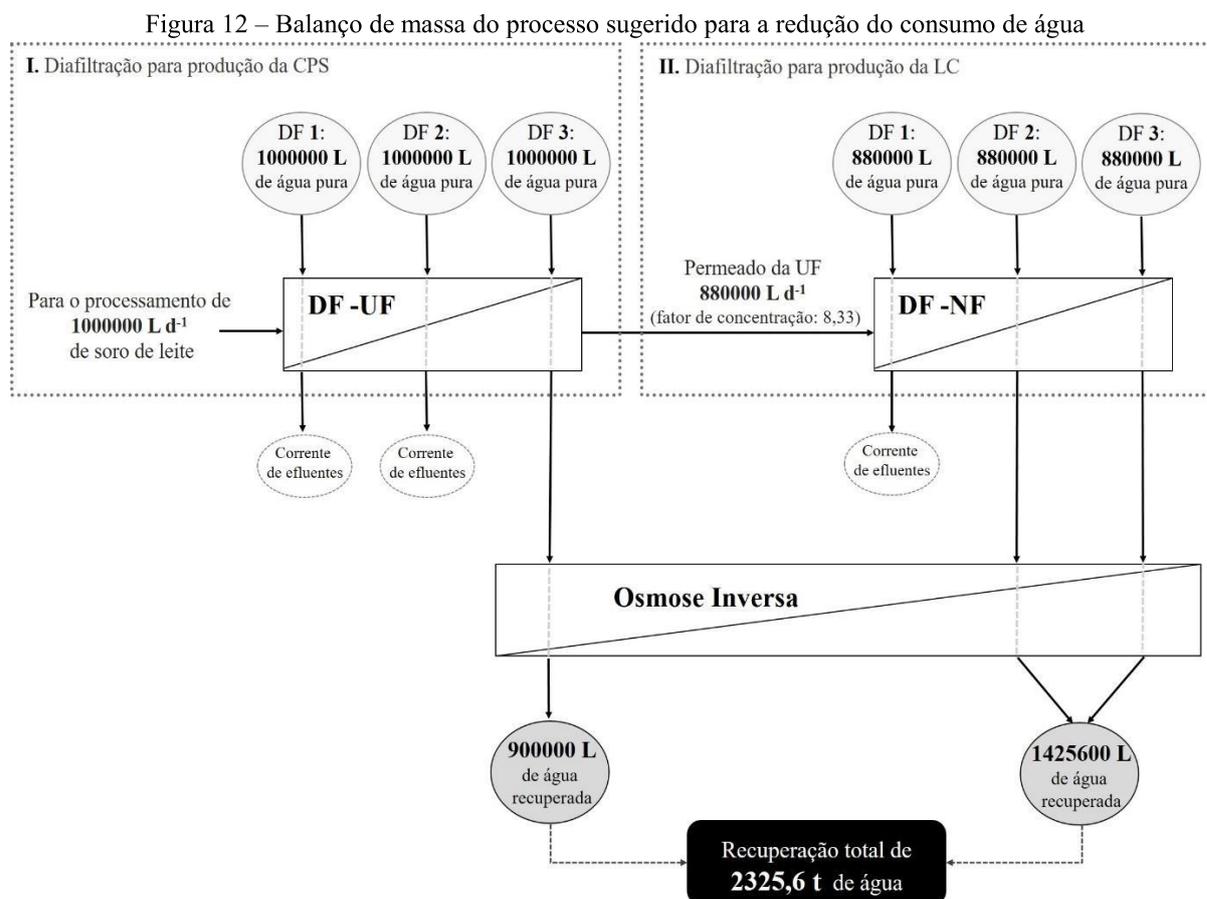


* resultados de média \pm desvio padrão; valores em base seca; ND: não detectado; (a): sólidos totais, umidade, proteína, lactose, gordura, cinzas e nitrogênio não-proteico (%); (b): sódio, potássio, magnésio, cálcio e fósforo (mg kg⁻¹).

Os dois concentrados proteicos de soro apresentaram concentrações de proteínas próximas de 90 % e concentrações de cinzas menores que 2,5 %. A lactose não pode ser identificada nos dois produtos.

A reutilização dos permeados das diafiltrações não afetou na qualidade do produto final. No geral, os estudos preliminares mostram que é possível a sua reutilização após o tratamento por osmose inversa, mas é necessária a sequência dos estudos para avaliar se os parâmetros microbiológicos atendem os requisitos estipulados pela legislação. O controle bacteriológico é de suma importância quando a água reutilizada entra em contacto com os alimentos.

A Figura 12 apresenta o balanço de massa para recuperação das águas tratadas em função de uma fábrica que processe 1000000 L de soro por dia (capacidade de processamento da empresa Relat-Laticínios Renner S.A. que produz soro de leite em pó e que cedeu o soro para a realização desse projeto), com uma recuperação de 90 % dos permeados das diafiltrações tratados.



Fonte: próprio autor

Para a realidade de uma empresa que processe altos volumes de soro para a produção de CPS e LC, seguindo o sugerido neste trabalho, o alto consumo de água durante a etapa de purificação por diafiltração é um obstáculo não apenas econômico, mas também ambiental. A demanda crescente por água tem feito do reúso planejado da água um tema atual e de grande importância.

A redução do consumo de água na etapa de diafiltração é essencial para tornar viável o processo de separação e purificação da proteína e da lactose. Destaca-se esse fato pois uma vez que são utilizados $5,64 \text{ L}$ de água de diafiltração para cada litro de soro de leite alimentado ao processo, uma empresa que processa 1000 t de soro por dia consumiria 5640 t de água pura e seria igual o volume de efluente gerado, o que torna o processo inviável na ótica da sustentabilidade.

Recuperar as correntes que carregam menor carga orgânica (últimas etapas de diafiltração) no processo de purificação da proteína e da lactose pode reduzir significativamente os custos de operação. Seguindo o exemplo apresentado na Figura 13, uma empresa que processe 1000000 L d^{-1} de soro consegue recuperar 41% da água utilizada

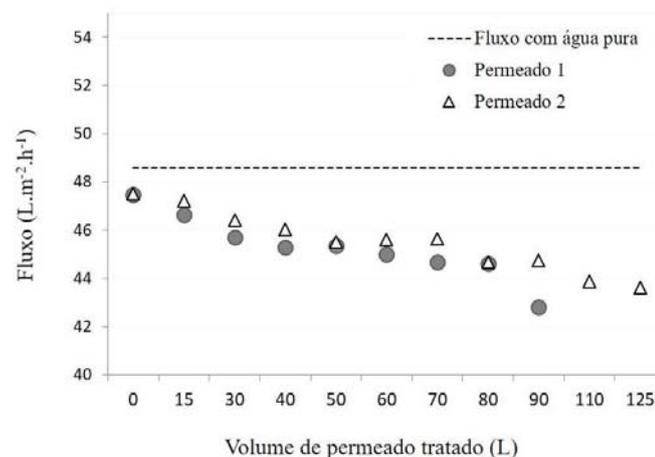
durante as diafiltrações. E essa água recuperada pode ser reutilizada no mesmo processo de diafiltração para produção do CPS sem ocasionar danos a qualidade do produto final como já apresentado na Figura 11. Um *scale-up* foi sugerido por Vourch et al. (2008), ele indica que uma área de 540 m² de membranas de OI permite a recuperação de 100000 L d⁻¹ de águas residuais, com uma recuperação de 95 % e fluxo constante de 11 L m⁻² h⁻¹.

Neste estudo, foi possível demonstrar que, o consumo de água potável na indústria de processamento de soro, onde a finalidade seja a produção de proteínas e lactose com elevado grau de pureza, pode ser drasticamente reduzido pela reutilização da água das diafiltrações.

4.3.1 Fluxos de permeado da osmose inversa

A Figura 13 apresenta o fluxo de permeado para o tratamento dos permeados das diafiltrações do processo de produção do CPS (permeado 1) e da LC (permeado 2) e o fluxo com água pura, em função do volume de permeado recuperado no processo de OI, para um grau de recuperação de 90 %.

Figura 13 - Fluxo de permeado (L m⁻² h⁻¹) para a membrana de osmose inversa a uma pressão de 20 bar



Os fluxos, para os permeados (1 e 2), iniciaram com valores próximos ao fluxo da membrana com água pura (48,5 L m⁻² h⁻¹), e foram reduzindo a medida que aumentava o volume de água tratada. Mas essa redução foi de apenas ~10 %. Durante todo o processamento os fluxos se mantiveram acima de 42 L m⁻² h⁻¹.

Basso (2014) aplicou o processo de separação por membranas por osmose inversa para o tratamento de efluentes gerados na produção de soro de leite em pó, e o fluxo inicial e final atingido por ela foi de 78,87 L m⁻² h⁻¹ e 61,97 L m⁻² h⁻¹ (pressão de 20 bar e 20

°C), respectivamente. Mesmo apresentando fluxos mais altos, o fluxo do processo estudado por ela também foi reduzindo a medida que a água era tratada e ao final apresentou uma redução 10 % maior que a desse estudo.

Suárez e Riera (2015), explicam que o declínio no fluxo de permeado das membranas de OI ocorrem devido aos mesmos problemas identificados no processo de ultrafiltração e nanofiltração no fracionamento do soro de leite. São problemas como bloqueio de partículas, polarização por concentração e entupimento após a operação contínua a longo prazo.

Vourch et al. (2008) estudou 11 fábricas de laticínios que usam OI como uma técnica para recuperar a água. Ele comprovou que é comum ocorrer a redução do fluxo de permeado conforme aumenta o volume de água recuperada. Em seus experimentos ele obteve um fluxo médio na faixa de 11-13 L m⁻² h⁻¹. Fluxos bem mais baixos que os apresentados neste estudo, isso pode estar relacionado com a qualidade do efluente tratado. Mas ao aplicar uma segunda etapa de OI, obteve um fluxo 71 % maior que na primeira etapa (52 L m⁻² h⁻¹).

5 CONCLUSÃO

O processo sugerido permitiu a produção do concentrado proteico de soro com pureza de 90 % e de lactose com pureza de 95 % abordando uma visão global do processo e com um foco na sustentabilidade hídrica, reutilizando 41 % das águas da diafiltração.

O processo sugerido para a produção do concentrado proteico de soro possibilita o aumento de 83 % do teor de proteínas presentes no soro de leite com uma redução total de 78 % das cinzas. E para a produção da lactose concentrada, possibilita o aumento de 20 % da concentração da lactose presente no permeado da ultrafiltração atingindo uma remoção de 84 % de íons monovalentes.

Aplicando as etapas de diafiltração, pode-se atingir 83 % de redução do sódio presente no soro de leite e 79 % do sódio presente no permeado da ultrafiltração. A redução do sódio aumenta as possibilidades de aplicação dos produtos gerados em outros alimentos industrializados.

A recuperação dos permeados das diafiltrações por osmose inversa reduz 41 % da água utilizada no processo e torna essa água passível de reutilização, deixando o processo com uma maior sustentabilidade hídrica e sem alterar as características do produto final.

5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A sequência dos estudos desse projeto pode seguir com:

- a) A aplicação do concentrado proteico em outros produtos alimentícios (sorvetes, bolos, etc.);
- b) A adição de uma etapa de eletrodialise no processo de produção do concentrado proteico de soro e da lactose concentrada para aumentar a redução de sais;
- c) Dessalinização complementar dos produtos obtidos visando aumentar a pureza do CPS e da lactose;
- d) Purificação da lactose buscando atingir nível farmacêutico;
- e) Implementação de uma etapa de eletrodialise visando maior remoção de sais;
- f) Reaproveitamento dos permeados das primeiras etapas de diafiltração.

REFERÊNCIAS

- ABIQ (Associação Brasileira das Indústria de Queijo). **Notícias**. Publicado em: <http://www.abiq.com.br/abiq_noticias.asp?PaginaAtual=2&busca=&codigo_categoria=&codigo_subcategoria>. Acesso em: 07 nov. 2014.
- ALMEIDA, D. F.; SOUZA, A. B.; STEPHANI, R.; NEVES, H. C. Anuário de guia de referência do setor lácteo: ingredientes lácteos proteicos. **Leite & Derivados**, p. 14-16, mar./abr., 2014.
- ALMEIDA, R. G. Aspectos legais para a água de reúso. **VÉRTICES**, Campos dos Goytacazes/RJ, v. 13, n. 2, p. 31-43, 2011.
- ALVES, M.P.; MOREIRA, R.O.; RODRIGUES JUNIOR, P.H.; MARTINS, M.C.F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 212-226, mai./jun., 2014.
- ANDREWS, A.T.; ALICHANIDIS, E. Proteolysis of caseins and the proteose-peptone fraction of bovine milk. **Journal of Dairy Research**, n. 50, p. 275-290, 1983.
- ANTUNES, A.J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**. Barueri: Manole, SP, 2003
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis of AOAC international**. 16 ed., Arlington: AOAC International, 1995.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21 ed., Washington: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 2005.
- ATRA, R.; VATAI, G.; BEKASSY-MOLNAR, E.; BALINT, A. Investigation of ultra and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. **Journal of Food Engineering**, v. 67, n. 3, p. 325-332, 2005.
- ARUNKUMAR, A.; ETZEL, M.R. Negatively charged tangential flow ultrafiltration membranes for whey protein concentration. **Journal of Membrane Science**, v. 475, p. 340–348, 2015.
- BACCHIN, P.; AIMAR, P.; FIELD, R.W. Critical and sustainable fluxes: theory, experiments and applications. **Journal of Membrane Science**, v. 281, p. 42-69, 2006.
- BAKER, R. W. **Membrane Technology and Applications**. 2 ed., Menlo Park, California: John Wiley & Sons Ltd., 2004.
- BALLANEC, B.; GÉSAN-GUIZIOU, G.; CHAUFER, B.; RABILLER-BAUDRY, M.; DAUFIN, G. Treatment of dairy process waters by membrane operation for water reuse and milk constituents concentration. **Desalination**, v. 147, n. 1-3, p. 89-94, 2002.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0011-9164\(02\)00581-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0011-9164(02)00581-7)

BALANNEC, B.; VOURCH, M.; RABILLER-BAUDRY, M.; CHAUFER, B. Comparative study of different nanofiltration and reverse osmosis membranes for dairy effluent treatment by dead-end filtration. **Separation Purification Technology**, v. 42, n. 2, p. 195-205, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2004.07.013>

BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, RS, 2008.

BALDASSO, C.; BARROS, T. C.; TESSARO, I. C. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. **Desalination**, v. 278, n. 1-3, p. 381-386, 2011.

BARILE, D.; TAO, N.; LEBRILLA, C.B.; COISSON, J.D.; ARLORIO, M.; GERMAN, J.B. Permeate from cheese whey ultrafiltration is a source of milk oligosaccharides. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 524-530, 2009.

BASKARAN, K.; PALMOWSKI, L. M.; WATSON, B. M. Wastewater reuse and treatment options for the dairy industry. **Water Science & Technology: Water Supply**, v. 3, n. 3, p. 85-91, 2003.

BASSO, C. D. **Tratamento por osmose inversa de efluentes gerados na produção do soro de leite em pó**. Dissertação (para obtenção do título de Mestre em Engenharia). Universidade de Passo Fundo, Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil e Ambiental, Passo Fundo, RS, 2014.

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

BRANS, G.; SCHROEN, C.G.P.H.; SMAN, R.G.M.; BOOM, R.M. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. **Journal of Membrane Science**, v. 243, n. 2, p. 263-272, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de agosto de 2005.

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

BRIÃO, V. B.; MAGOGA, J.; HEMKEMEIER, M.; BRIÃO, E. B.; GIRARDELLI, L.; SBEGHEN, L.; FAVARETTO, D. P. C. Reverse osmosis for Desalination of water from the Guarani Aquifer system to produce drinking water in southern Brazil. **Desalination**, v. 344, p. 402-411, 2014.

BRIÃO, V. B.; TAVARES, C. R. G. Nota Científica: Ultrafiltração de efluente da indústria de laticínios para recuperação de nutrientes: efeito da pressão e da velocidade tangencial. **Braz. J. Food Technol**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 352-362, 2012.

BRIÃO, V.B.; TAVARES, C.R.G. Ultrafiltração como processo de tratamento para o reúso de efluentes de laticínios. Nota Técnica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.12, p. 134-138, 2007.

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

BRUM, L. F. W.; SANTOS JÚNIOR, L. C. O.; BENEDETTI, S. Reaproveitamento de água de processo e resíduos da indústria de laticínios. **2nd International Workshop: Advances in Cleaner Production**, São Paulo: Brazil, May 20th-22nd, 2009.

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

CHMIEL, H.; MAVROV, V.; BÉLIÈRES, E. Reuse of vapour condensate from milk processing using nanofiltration. **Filtr. Sep.**, v. 37, p. 24–27, 2000.

CARMINATTI, C. A. **Ensaios de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizada Beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, p. 79, 2001.

CARVALHO, B.M.A. **Detecção de soro de queijo em leite por espectrofotometria no infravermelho médio**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2007.

CARVALHO, A. F.; MAUBOUIS, J. L. **Applications of membrane technologies in the dairy industry**. In: COIMBRA, J. S. R.; TEIXEIRA, J. A. Engineering aspects of milk and dairy products. Boca Raton: CRC Press, cap. 3, p. 33-57, 2010.

CAVALCANTI, J. E. W. de A. **Manual de Tratamento de Efluentes Industriais**. 2 ed., São Paulo: Engenho Editora Técnica Ltda., 500 p., 2012.

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

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, nº 053, de 18/03/2005.

CROGUENNEC, T. Interfacial and foaming properties of sulfhydryl-modified bovine β -lactoglobulin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 302, n. 1, p. 32-39, 2006.

CUARTAS-URIBE, B.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E.; BES-PIA, A. Comparison of two nanofiltration membranes NF200 and Ds-5 DL to demineralize whey. **Desalination**, v. 199, p. 43-45, 2006.

CUARTAS-URIBE, B.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E.; BES-PIA, A. Comparison of the Behavior of Two Nanofiltration Membranes for Sweet Whey Demineralization. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, 2007.

CUARTAS-URIBE, B.; ALCAINA-MIRANDA, M.I.; SORIANO-COSTA, E.; MENDOZA-ROCA, J.A.; IBORRA-CLAR, M.I., LORA-GARCÍA, J. A study of the separation of lactose from whey ultrafiltration permeate using nanofiltration. **Desalination**, v. 241, p. 244-255, 2009.

CUNHA, V. D. **Estudo para proposta de critérios de qualidade da água para reúso urbano**. Dissertação (Mestrado), Escola Politécnica da Universidade São Paulo, Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento Ambiental, 2008.

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

DAS, B.; SARKARA, S.; SARKARA, A.; BHATTACHARJEE, S.; BHATTACHARJEE, C. Recovery of whey proteins and lactose from dairy waste: A step towards green waste management. **Process Safety and Environmental Protection**, 2015.

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

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

ETZEL, M. R. Manufacture and Use of Dairy Protein Fractions. **J. Nutr.**, v. 134, n. 4, 2004.

EUROPE, Council Directive 98/83/EC, of 03 November 1998. **Official Journal of the European Communities**, Europe: 05 December 1998.

FARRELL JR, H. M.; MALIN, E. L.; BROWN, E. M.; QI, P. X. Casein micelle structure: What can be learned from milk synthesis and structural biology? **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 11, p. 135-147, 2006.

FENNEMA, O.R.; PARKIN, K.L.; DAMODARAN, S. **Química de alimentos de Fennema**. 4 ed., Porto Alegre: ARTMED EDITORA S.A., 2010, 900p.

FERREIRA, A. M. G. **Efeito de alta pressão na diálise de uma solução de uma proteína com sal**. Dissertação (Mestrado), Universidade de Aveiro, Departamento de Química, 2011.

FISPAL tecnologia. **Boas práticas de reúso de água na indústria de alimentos e bebidas.** E-book, 2016. Disponível em: <http://www.fispaltecnologia.com.br/blog/wp-content/uploads/2016/01/EBook01b.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2016.

FRÉGER, V.; ARNOT, T.C.; HOWELL, J.A. Separation of concentrated organic/ionorganic salt mixtures by nanofiltration. **Journal of Membrane Science**, n. 178, p. 185-193, 2000.

GALUS, S.; KADZIŃSKA, J. Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 78-86, 2016.

GRIPON, J. C.; DESMAZEAUD, M. J.; LE BARS, D.; BERGERE, J. L. Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II. - INFLUENCE DE LAPRESURE COMMERCIALE. **Le Lait**, n. 548, p. 502-516, 1995.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de separação por membranas.** Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

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

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

HOBMAN, P.G. Review of processes and products for utilization of lactose in deproteinated milk serum. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 2630-2653, 1984.

HORTON, B.S. Commercial Utilization of Minor Milk Components in the Health and Food Industries. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2584-2589, nov., 1995.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos/ coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 p.

IDF (International Dairy Federation). **The quality, treatment and use of condensate and reverse osmosis permeates.** Bull, n. 232, 1988.

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

KONRAD, G.; KLEINSCHMIDT, T.; FABER, W. Ultrafiltration flux of acid whey obtained by lactic acid fermentation. **International Dairy Journal**, v. 22, p. 73-77, 2012.

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

KOYUNCU, I.; TURAN, M.; TOPACIK, D.; ATES, A. Application of low pressure nanofiltration membranes for the recovery and reuse of dairy industry effluents. **Water Science and Technology**, London, v. 41, n. 1, p. 213-221, 2000.

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

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

LEINDECKER, G. C. Separação das proteínas do soro do leite in natura por ultrafiltração. Monografia (Formação em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LEITE, M. T.; BARRZO, M. A. S.; RIBEIRO, E. J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, p. 9, 2012.

LIPNIZKI, F. **Cross-Flow Membrane Applications in the Food Industry**. In: PEINEMANN, K.V.; NUNES, S.P.; GIORNO, L. Membrane Technology, Membranes for Food Applications. Weinheim: Wiley-VCH, v. 3, p. 01-24, 2010.

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

MACEDONIO, F.; DRIOLI, E.; GUSEV, A. A.; BARDOW, A.; SEMIAT, R.; KURIHARA, M. Efficient technologies for worldwide clean water supply. **Chemical Engineering and Processing**, v. 51, p. 2–17, 2012.

MAGALHÃES, K. T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J. M.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A.; SILVA, J. B. A.; SCHWAN, R. F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v. 126, p. 249-253, 2011.

MALCATA, F.X. Critical issues affecting the future of dairy industry: individual contributions in the scope of a global approach. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1595-1611, 1999.

MANAN, D. M. A.; KARIM, A. A.; KIT, W. K. Lactose content of modified enzyme-treated 'dadih'. **Food Chemistry**, n. 65, p. 439-443, 1999.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). Instrução normativa SDA nº 68 de 12/12/2006. Anexo métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 14 dez 2006.

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

MARKUS, C. R.; OLIVER, B.; DE HAAN, E. H. F. Whey Protein rich in alfa-lactoalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress vulnerable subjects. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, p. 1051-6, 2002.

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

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**, v. 9, n. 2, p. 136-156, 2004.

MAVROV, V.; BÉLIÈRES, E. Reduction of water consumption and wastewater quantities in the food industry by water recycling using membrane processes. **Desalination**, v. 131, p. 75–86, 2000.

MAVROV, V.; CHMIEL, H.; BÉLIÈRES, E. Spent process water desalination and organic removal by membranes for water reuse in the food industry. **Desalination**, Amsterdam, v. 138, n. 1-3, p. 65-74, 2001.

METSÄMUURONEN, S; NYSTRÖM, M. Enrichment of α -lactalbumin from diluted whey with polymeric ultrafiltration membranes. **Journal of Membrane Science**, v. 337, n. 1-2, p. 248-256, 2009.

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

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

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria N° 2914 de 12 de Dezembro de 2011**. Disponível em: 96 http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_2914-11.pdf. Acessado em: 5 de fevereiro de 2016.

MINHALMA, M.; MAGUEIJO, V.; QUEIROZ, D.P.; DE PINHO, D.M. Optimization of “Serpa” cheese whey nanofiltration for effluent minimization and by-products recovery. **J. Environ. Management**, v. 82, p. 200-206, 2007.

MOHAMMAD, A.W.; TEOWA, Y.H.; ANG, W.L.; CHUNG, Y.T.; OATLEY-RADCLIFFE, D.L.; HILAL, N. Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. **Desalination**, p. 29, nov., 2014.

MOLLEA, C.; MARMO, L.; BOSCO, F. **Valorisation of cheese whey, a by-product from the dairy industry**. Chapter 24, In: MUZZALUPO, I. Publisher: InTech, 2013. <http://dx.doi.org/10.5772/53159> (ISBN: 978-953-51-0911-2).

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**. 2. ed. USA: Kluwer Academic Pub, 1996.

MURO, C.; RIERA, F.; DÍAZ, M. D. C. **Membrane separation process in wastewater treatment of food industry**. Chapter 14. In: VALDEZ, B. Food Industrial Processes - Methods and Equipment. Publisher: InTech, Chapters published, 2012. DOI: 10.5772/2491, ISBN 978-953-307-905-9.

NIELSEN, S.S. **Food Analysis**. Gaithersburg: Aspen Publisher, 630 p., 1998.

PAGNO, C.H.; BALDASSO, C.; TESSARO, I.C.; FLORES, S.H.; de JONG, E.V. obtenção de concentrados proteicos de soro de leite e caracterização de suas propriedades funcionais tecnológicas. **Alim. Nutr.**, v.20, n.2, p. 231-239, abr./jun., 2009.

PÉREZ-GONZÁLEZ, A.; IBÁÑEZ, R.; GÓMEZ, P.; URTIAGA, A.M.; ORTIZ, I.; IRABIEN, J.A. Nanofiltration separation of polyvalent and monovalent anions in desalination brines. **Journal of Membrane Science**, v. 473, p. 16–27, 2015.

PESCUMA, M. et al. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 73-81, 2010.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012.

PRUDÊNCIO, E.S.; MÜLLER, C.M.O.; FRITZEN-FREIRE, C.B.; AMBONI, R.D.M.C.; PETRUS, J.C.C. Effect of whey nanofiltration process combined with diafiltration on the rheological and physicochemical properties of ricotta cheese. **Food Research International**, v. 56, p. 92–99, 2014.

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

RÄSÄNEN, E.; NYSTRÖM, M.; SAHLSTEIN, J.; TOSSAVAINEN, O. Comparison of commercial membranes in nanofiltration of sweet whey. **Lait**, n. 82, p. 343-356, 2002.

RAUTENBACH, R.; ALBRECHT, R. **Membrane Processes**. New York: John Wiley & Sons, USA, 459 p., 1989.

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

RIERA, F. A.; SUÁREZ, A.; MURO, C. Nanofiltration of UHT flash cooler condensates from a dairy factory: Characterisation and water reuse potential. **Desalination**, v. 309, p. 52–63, 2013.

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

- RODRIGUES, S. L. C.; MOREIRA, R. L. S.; CARDOSO, M. H.; MERÇON, F.; Avaliação de parâmetros de ultrafiltração de suco de banana. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 23, p. 98-101, 2003.
- SALEHI, F. Current and future applications for nanofiltration technology in the food processing. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, p. 161–177, 2014.
- SALZANO JR, I. Nutritional supplements: practical applications in sports, human performance and life extension. **Symposium series 007**; São Paulo; p. 75-202, 2002.
- SARKAR, B.; CHAKRABARTI, P. P.; VIJAYKUMAR, V.; KALE, V. Wastewater treatment in dairy industries - possibility of reuse, **Desalination**, Amsterdam, v. 195, n. 1-3, p. 141-152, 2006.
- SARMENTO, L. A. V. **Obtenção e separação de polifenóis de sementes de cacau por extração supercrítica associada a membranas**. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2007.
- SARNO, F.; CLARO, R. M.; LEVY, R. B.; BANDONI, D. H.; MONTEIRO, C. A. Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009. **Rev Saúde Pública**, v. 47, p. 571-578, 2013.
- SARON, M.L.G. **Aproveitamento do permeado de soro de leite bovino através da transformação da lactose em lactulose e como ingrediente para meios de cultura de bactérias probióticas**. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, SP, 2003.
- SCHNEIDER, R.P.; TSUTIYA, M.T. **Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reúso**. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001.
- SEADER, J.; HENLEY, E.; ROPER, D. **Separation Process Principles**. John Wiley & Sons, 2010.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Ministério da Saúde. Portaria nº. 29. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de alimentos para fins especiais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 13 jan. 1998.
- SHAH, N.P. Effects of milk-derived bioactives: an overview. **British Journal of Nutrition**, v. 84, p. 3-10, 2000.
- SHANNON, L. K.; CHATTERTON, D.; NIELSEN, K.; LÖNNERDAL, B. Glycomacropeptide and alfa- lactoalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 77, p. 1261-8, 2003.
- SIKAND, V.; TONG, P. S.; ROY, S.; RODRIGUES-SAONA, L. E.; MURRAY, Solubility of commercial milk protein concentrates and milk protein isolates. **Journal of Dairy Science**, n. 94 , v. 12 , p. 6194 – 6202, 2011.

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

SHAHID, F.; ARACHCHI, J. V., JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. **Food science & technology**, v. 10, n. 2, p. 37-51, 1999.

SIMÕES NETO, A. A.; NADU, J. C.; RODRIGUES, S. O.; DA COSTA, S. S. A. **Aplicação da prática de conservação e reúso de água como ferramenta de redução do seu consumo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação do Curso de Engenharia Civil), Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo, 2010.

SMITHERS, G. W. Whey-ing up the options – Yesterday, today and tomorrow. **International Dairy Journal**, v. 48, p. 2-14, 2015.

SOARES, D.S.; FAI, A.E.C.; OLIVEIRA, A.M.; PIRES, E.M.F.; STAMFORD, T.L.M. Aproveitamento de soro de queijo para produção de iogurte probiótico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.996-1002, 2011.

SOUZA, R. R.; Bergamasco, R.; Costa, S. C.; Feng, X.; Faria, S. H. B.; Gimenes, M. L. Recovery and purification of lactose from whey. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 49, p. 1137–1143, 2010.

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

SUÁREZ, A.; LOBO, A.; ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Partial demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by nanofiltration at pilot-plant scale. **Desalination**, v. 198, p. 274–281, 2006.

SUÁREZ, E.; LOBO, A.; ÁLVAREZ, S.; RIERA, F.A.; ÁLVAREZ, R. Demineralization of whey and milk ultrafiltration permeate by means of nanofiltration. **Desalination**, v. 241, p. 272-280, 2009.

SUÁREZ, A.; FIDALGO, T.; RIERA, F. A. Recovery of dairy industry wastewaters by reverse osmosis. Production of boiler water. **Separation and Purification Technology**, v. 133, p. 204–211, 2014.

SUÁREZ, A.; RIERA, F. A. Production of high-quality water by reverse osmosis of milk dairy condensates. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, p. 1340–1349, 2015.

SUÁREZ, A.; FERNÁNDEZ, P.; IGLESIAS, J. R.; IGLESIAS, E.; RIERA, F. A. Cost assessment of membrane processes: A practical example in the dairy wastewater reclamation by reverse osmosis. **Journal of Membrane Science**, 2015.

TELLES, D. D.; COSTA, R. H. P. G. **Reúso da Água: Conceitos, Teorias e Práticas**. São Paulo: Blucher, 2007. 311 p.

TURAN, M. Influence of filtration conditions on the performance of nanofiltration and reverse osmosis membranes in dairy wastewater treatment. **Desalination**, Amsterdam, v. 170, n. 1, p. 83-90, 2004.

USDEC. United States Dairy Export Council. **Dairy Ingredients Application Library – WPC & WPI**. Disponível em: <<http://www.usdec.org/Library/DIAL.cfm>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

USDA. United States Department of Agriculture. **Dairy: world markets and trade**, jul., 2014. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/dairy.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2014.

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

VAN DER HORST, H.C.; TIMMER, J.M.K.; ROBBERTSEN, T.; LEENDERS, J. Use of nanofiltration for concentration and demineralization in the dairy industry: Model for mass transport. **Journal of Membrane Science**, n. 104, p. 205-218, 1995.

VIGANÓ, G.; MOSMAN, J. **Obtenção de concentrado protéico de soro de leite por ultrafiltração e sua aplicação na produção de bebida láctea**. Projeto (Trabalho de conclusão de curso em Engenharia de Alimentos). Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2011.

VOURCH, M.; BALANNEC, B.; CHAUFER, B.; DORANGE, G. Nanofiltration and reverse osmosis of model process waters from the dairy industry to produce water for reuse. **Desalination**, v. 172, p. 245–256, 2005.

VOURCH, M.; BALANNEC, B.; CHAUFER, B.; DORANGE, G. Treatment of dairy wastewater by reverse osmosis for water reuse. **Desalination**, v. 219, p. 190–202, 2008.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 729 p., 2001.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy science and technology**. 2 ed., New York: Taylor & Francis Group, 768 p., 2005.

WGM Sistemas. **Manual de operação do piloto de osmose reversa para Universidade Federal de Passo Fundo**. WGM sistemas Imp. Exp. LTDA, SÃO PAULO – SP.

WHO - World Health Organization. Global action plan for the prevention and control of non-communicable diseases 2013-2020. World Health Organization, 2013. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/94384/1/9789241506236_eng.pdf

YEE, K.W.K.; WILEY, D.E.; BAO, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, n. 290, p. 125-137, 2007.

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

ZADOW, J. G. Lactose – properties and uses. **Journal of dairy science**, v. 67, n. 11, p. 2654-2679, 1984.

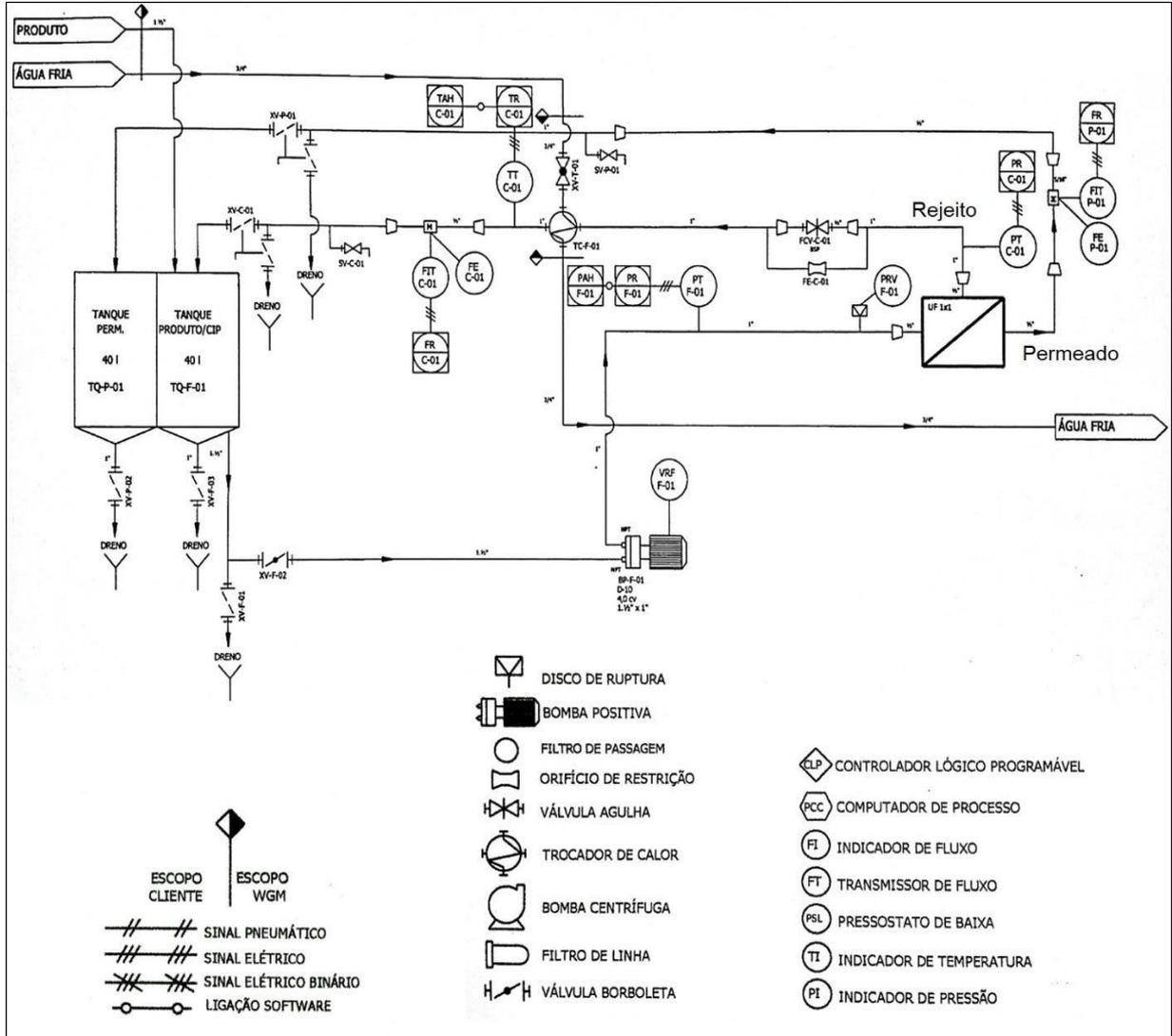
ZADOW, J. G. **Whey and Lactose Processing**. England: Elsevier Applied Science, 1992.

ZHAO, L.; CAI, X.; HUANG, S.; WANG, S.; HUANG, Y.; HONG, J.; RAO, P. Isolation and identification of a whey protein-sourced calcium-binding tripeptide Tyr-Asp-Thr. **International Dairy Journal**, V. 40, p. 16-23, 2015.

ZISU, B.; SCIBERRAS, B.; JAYASENA, V.; WEEKS, M.; PALMER, M.; DINCER, T.D. Sonocrystallisation of lactose in concentrated whey. **Ultrasonics Sonochemistry**, v, 21, p. 2117–2121, nov., 2014.

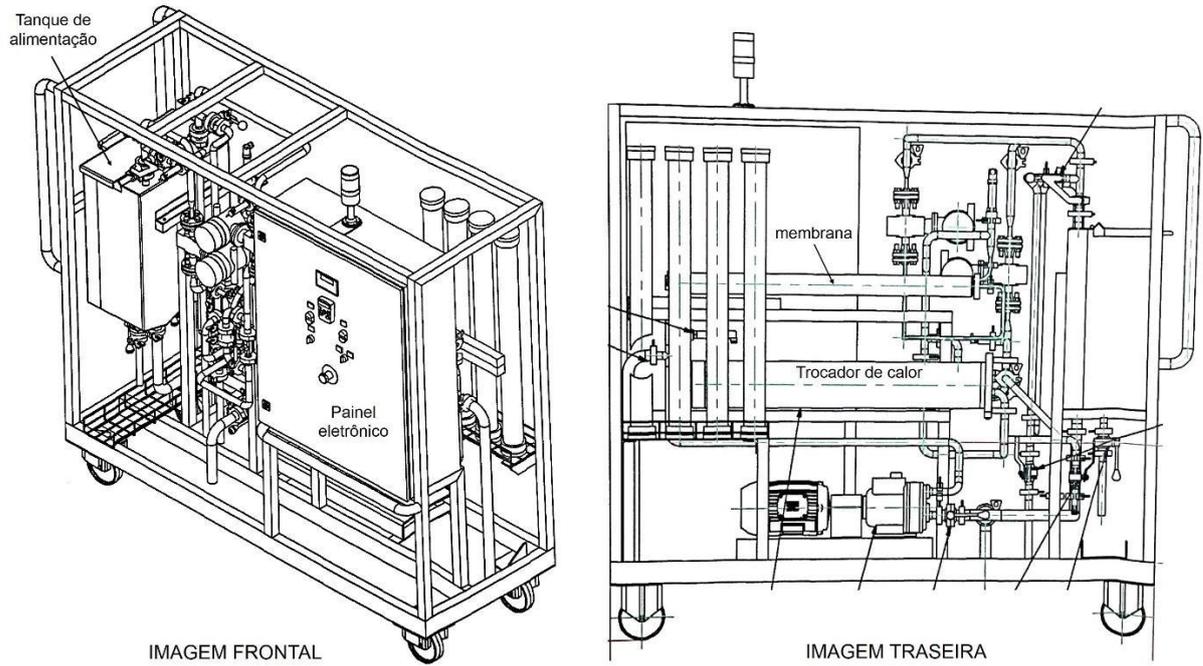
ANEXO A – MÓDULO PILOTO DE FILTRAÇÃO

Figura 1 - Módulo de filtração por PSM



Fonte: WGM systems

Figura 2 - Piloto de filtração do Laboratório de Operações Unitárias do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo



Fonte: WGM *sistems*