

Universidade Federal de Juiz de Fora
Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados
Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados

Alisson Borges de Souza

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA TECNOLÓGICA DA RELAÇÃO SORO-
PROTEÍNA/CASEÍNAS DURANTE CONDIÇÕES SIMULADAS DE
PROCESSAMENTO TÉRMICO**

Juiz de Fora
2013

ALISSON BORGES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA TECNOLÓGICA DA RELAÇÃO SORO-
PROTEÍNA/CASEÍNAS DURANTE CONDIÇÕES SIMULADAS DE
PROCESSAMENTO TÉRMICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, EMBRAPA Gado de Leite e EPAMIG/ILCT, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa Júnior

JUIZ DE FORA

2013

Souza, Alisson Borges.

Avaliação da influência tecnológica da relação soro-proteína/caseínas durante condições simuladas de processamento térmico/Alisson Borges de Souza.– 2013.

78 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013.

1. Tecnologia de Alimentos. 2. Indústria alimentícia. 3. Viscosidade. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, fonte de força para superar os obstáculos.

À minha mãe, pelo apoio incansável durante todos estes anos de luta e crescimento. Ao meu Pai que mesmo não podendo estar presente em vida neste momento saiba que essa conquista foi obtida somente através de tudo que me ensinou.

À minha noiva Marina, grande companheira de todos os momentos e grande incentivadora em cada conquista.

À minha sobrinha Júlia e minha irmã e meu cunhado, pelo carinho e apoio.

À Universidade Federal de Juiz de Fora, EMBRAPA e EPAMIG, pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Gemacom Tech, nas pessoas de Henrique, Geraldo Magela, Seila e Renata, pela oportunidade de realizar este sonho e por todo o apoio.

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Gonçalves Costa Júnior, pela orientação, apoio e principalmente pela amizade em todos estes anos de convivência.

Ao amigo Rodrigo Stephani, pela amizade, apoio constante, ensinamento, por ter iniciado esta linha de pesquisa e por ser meu primeiro mentor na vida profissional.

À amiga Débora pela convivência, apoio e amizade.

À todos os colegas da Gemacom Tech que de alguma forma fizeram parte desta conquista, muito obrigado pela amizade e convívio agradável. Em especial, ao Rafael, Flávio, Eli, João Paulo, Gabriel, Vinícius, Isabela, Bárbara e Thomaz.

Ao Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira pela grande contribuição para a realização do trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu, pelos ensinamentos e exemplo de humildade; e as amigas Profa. Sandra e Creuza pelo apoio.

À Vanessa Rios de Souza pela contribuição na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Ítalo Tuler Perrone pela amizade e apoio.

Aos amigos de São João Nepomuceno, aos amigos da turma de 2003 do ILCT e aos colegas do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

A todos meus familiares que me ajudaram nesta jornada, em especial, à minha tia Jackeline e Zé Carlim e meu avós Efigênia e Bartolomeu.

RESUMO

As proteínas de fontes tradicionais estão sendo cada vez mais utilizadas como ingredientes em um grande número de alimentos formulados. As propriedades tecno-funcionais das proteínas estão relacionadas a várias características moleculares gerais como hidratação, atividade de superfície e tipo de interação proteína-proteína, favorecidas por desdobramento parcial das estruturas. Destas interações o pH do meio apresenta-se como um grande interferente na intensidade e tipo de reação ocorrida. A intensidade de desnaturação e interação das diferentes proteínas ocorre em diferentes formas e intensidade quando se varia o valor de pH do meio em que estas se encontram. Assim, este trabalho teve como objetivo geral a verificação da influência das interações soro-proteínas/caseínas na evolução da viscosidade e perfil de textura de produtos lácteos em diferentes valores de pH, utilizando o simulador o Analisador Rápido de Viscosidade (RVA) e aplicação tecnológica em queijos processados. Foram analisadas amostras comerciais de concentrado protéico de soro (WPC) e concentrado protéico de leite (MPC). A concentração sólido-líquido da solução avaliada no RVA foi $0,3 \text{ g.g}^{-1}$ de matéria seca em água, devido à grande sensibilidade do sistema à concentração de sólidos. A solução teve o pH ajustado para os valores de 6,0, 6,5 e 7,0. Os resultados foram interpretados em função das viscosidades finais após processamento em RVA. Foi possível otimizar as diferentes condições das variáveis dos concentrados protéicos e pH da solução com a interpretação dos perfis viscográficos obtidos, com referência ao comportamento térmico do WPC e do MPC. O RVA pode ser considerado uma ferramenta analítica emergente para o estudo e conhecimento das tecno-funcionalidades, utilizando a análise de viscosidade para estimar a desnaturação protéica. Foi possível também otimizar as diferentes proporções de WPC e MPC para alteração dos parâmetros de textura de queijos processados cremosos, sendo o pH também um fator de influência nesta otimização.

Palavras-chave: textura, viscosidade, pH, WPC, MPC, RVA

ABSTRACT

The traditional sources of protein are being increasingly used as ingredients for a large number of formulated foods. The techno-functional properties of proteins are related to various general and molecular characteristics such as hydration, surface activity and type of protein-protein interactions, facilitated by partial unfolding of structures. From these interactions, the medium pH is presented as a major interferer in intensity and type of reaction that takes place. The intensity of denaturation and interaction of different proteins occur in different forms and intensity accordingly to the pH value of the medium in which they are located. This study aimed to verify the influence of interactions between whey /casein in the evolution of the viscosity and texture profile of dairy products at different pH values, using Rapid Viscosity Analyzer (RVA) simulator and its technological application in processed cheese. We have analyzed samples of commercial whey protein concentrate (WPC) and milk protein concentrate (MPC). The solid-liquid concentration of the solution measured in the RVA was 0.3 g.g^{-1} of dry weight in water due to the high sensitivity of the system to solid concentration. The solution was adjusted to pH values of 6.0, 6.5 and 7.0. The results were interpreted in terms of the final viscosity after processing at RVA. It was possible to optimize the different conditions of variables of concentrated protein solution and of the pH of the solution with the interpretation of the obtained viscosity profiles with reference to the thermal behavior of MPC and WPC. The RVA can be considered an emerging analytical tool for the study and knowledge of the technological features, using the analysis to estimate the viscosity of protein denaturation. It was also possible to optimize the different proportions of WPC and MPC to change the parameters of texture for creamy processed cheese and the pH was also an influencing factor in this optimization.

Keywords: texture, viscosity, pH, WPC, MPC, RVA

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Produtos lácteos protéicos desidratados	23
FIGURA 2	Prefis viscográficos dos tratamentos 100% Concentrado Protéico de Leite em diferentes pH.....	52
FIGURA 3	Prefis viscográficos dos tratamentos 75% MPC e 25% WPC em diferentes pH.....	52
FIGURA 4	Prefis viscográficos dos tratamentos 50% MPC e 50% WPC em diferentes pH.....	53
FIGURA 5	Prefis viscográficos dos tratamentos 25% MPC e 75% WPC em diferentes pH.....	53
FIGURA 6	Prefis viscográficos dos tratamentos 100% Concentrado Protéico de Soro em diferentes pH.....	54
FIGURA 7	Perfis viscográficos dos diferentes níveis de concentrados proteicos em condições simuladas de processamento térmico e pH 6,0.....	54
FIGURA 8	Perfis viscográficos dos diferentes níveis de concentrados proteicos em condições simuladas de processamento térmico e pH 6,5.....	55
FIGURA 9	Perfis viscográficos dos diferentes níveis de concentrados proteicos em condições simuladas de processamento térmico e pH 7,0.....	55
FIGURA 10	Superfície de Resposta obtidas para viscosidade final com diferentes concentrados protéicos no RVA.....	59
FIGURA 11	Análise de Regressão – Dureza	64
FIGURA 12	Análise de Regressão – Adesividade.....	65
FIGURA 13	Análise de Regressão – Elasticidade.....	67
FIGURA 14	Análise de Regressão – Mastigabilidade.....	68
FIGURA 15	Porta-amostra e agitador para análise em RVA	72
FIGURA 16	Queijo Processado Cremoso 100% WPC	72
FIGURA 17	Queijo Processado Cremoso 100% MPC	72
FIGURA 18	Solução 100% WPC após Processamento no RVA	72
FIGURA 19	Solução 100% MPC após Processamento no RVA	72

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Concentrações das proteínas majoritárias do leite.....	15
TABELA 2	Propriedades de algumas proteínas do leite.....	18
TABELA 3	Composição aproximada dos produtos lácteos líquidos, concentrados e em pó.....	19
TABELA 4	Impacto nas proteínas induzido pelo processamento do MPC.....	28
TABELA 5	Distribuição do nitrogênio nos leites cru, pasteurizado e fervido.....	33
TABELA 6	Desnaturação das soroproteínas.....	34
TABELA 7	Principais avaliações textuométricas e suas características.	39
TABELA 8	Matriz de planejamento para um Box-Behnken 3x5.....	41
TABELA 9	Concentrados protéicos avaliados e sua origem.....	42
TABELA 10	Análises Químicas dos Concentrados Protéicos.....	43
TABELA 11	Proporções de Concentrados Protéicos nos tratamentos avaliados.....	44
TABELA 12	Configurações do processamento térmico.....	45
TABELA 13	Matriz de planejamento para um Box-Behnken 3x5.....	46
TABELA 14	Formulação dos Queijos Processados Cremosos.....	47
TABELA 15	Proporções de Concentrados Protéicos utilizados na produção dos Queijos Processados.....	48
TABELA 16	Resultados das análises físico-químicas dos concentrados protéicos.....	51
TABELA 17	Teor de proteína nas soluções utilizadas para os ensaios no RVA.....	51
TABELA 18	Matriz de Planejamento fatorial completo Box Behnken 3x5 e resultados de viscosidades finais (mPa.s).....	57
TABELA 19	Resultados das análises textuométricas nos diferentes tratamentos de queijos processados.....	62
TABELA 20	Análise de Variância – Dureza.....	63
TABELA 21	Teste de Médias Tukey – Dureza.....	63
TABELA 22	Análise de Variância - Adesividade.....	64

TABELA 23	Teste de Médias Tukey – Adesividade.....	65
TABELA 24	Análise de Variância - Elasticidade.....	66
TABELA 25	Análise de Variância - Mastigabilidade.....	67
TABELA 26	Teste de Médias Tukey - Mastigabilidade.....	68
TABELA 27	Diagrama de otimização da utilização de concentrados protéicos para processamento de Queijos Processados Cremosos.....	69
TABELA 28	Diagrama de otimização de concentrados protéicos em relação ao pH e viscosidade após processamento.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
AOAC	<i>Association of official analytical chemists</i>
AS	Albumina Sérica
BSA	Albumina do soro bovino
CN	Caseínas
DF	Diafiltração
DWP	Soro em pó desmineralizado
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FIL	<i>Fédération Internationale de Laiterie</i>
Ig	Imunoglobulinas
MF	Microfiltração
Min	Minuto
mPa.s	miliPascal segundo
MPC	Concentrado protéico de leite
MPI	Isolado protéico de leite
MPP	Produto lácteo protéico
N-caseínico	Nitrogênio caseínico
N-não-caseínico	Nitrogênio não caseínico
N-soroproteínas	Nitrogênio das soroproteínas
N-total	Nitrogênio total
N- β -lactoglobulina	Nitrogênio da β -lactoglobulina
P	Nível de significância
pH	Potencial hidrogeniônico
PP	Proteose-peptonas
RPM	Rotações por minuto
RVA	Analisador Rápido de Viscosidade
S	Segundo
SA	Soroalbumina
SMP	Leite em pó desnatado
SP	Soro Proteínas
TMP	Proteína total do leite

TCW	<i>Thermocline for Windows™</i>
UF	Ultrafiltração
V _F	Viscosidade final
WP	Soro em pó
WPC	Concentrado protéico de soro
WPI	Isolado protéico de soro
UHT	Ultra alta temperatura
α-LA	α-lactoalbumina
α _{S1} -CN	α _{S1} – caseínas
α _{S2} -CN	α _{S2} – caseínas
β-CN	β – caseínas
β-LG	β-lactoglobulina
γ-CN	γ – caseínas
κ-CN	κ – caseínas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Proteínas do leite.....	15
2.2	Concentrados protéicos.....	19
2.2.1	Concentrado Protéico de Soro	24
2.2.2	Concentrado Protéico de Leite	27
2.3.	Desnaturação Protéica	31
2.3.1	Efeito do pH na desnaturação protéica.....	36
2.4	Analisador Rápido de Viscosidade (RVA)	37
2.5	Análise Texturométrica	38
2.6	Planejamento Fatorial.....	40
2.6.1	Planejamento Box-Behnken	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1	Amostras dos concentrados protéicos desidratados	42
3.2	Caracterização físico-química	43
3.3	Processamento térmico	43
3.4	Preparo das amostras e ajuste do pH	43
3.5	Configurações do <i>Rapid Visco Analyser</i> (RVA).....	44
3.6	Planejamento fatorial Box-Behnken 3x5 para Viscosidade Final após Processamento térmico no RVA.....	45
3.7	Avaliação Tecnológica do efeito dos Concentrados Protéicos na Fabricação de Queijos Processados Cremosos.....	47
3.8	Análise de Perfil de Textura.....	48
3.9	Análise Estatística dos dados.....	48
3.10	Análise visual da textura em queijos e em RVA.....	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1	Caracterização Físico- Química dos Concentrados Protéicos	50
4.2	Perfis Viscográficos dos Concentrados Protéicos em diferentes valores de pH superfície de resposta obtida para os tratamentos.....	52

4.3	Estudo da aplicação de concentrados protéicos de soro e leite em diferentes proporções na produção de queijos processados.....	61
4.3.1.	Dureza.....	63
4.3.2.	Adesividade.....	64
4.3.3.	Elasticidade.....	66
4.3.1.	Mastigabilidade.....	67
4.4	Diagramas de Otimização da utilização de concentrados protéicos	69
4.5	Avaliação Visual de Textura de Queijos Processados e Soluções de Análise do Simulador de Processamento Térmico (RVA)	72
5	CONCLUSÕES	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

1. INTRODUÇÃO

As proteínas de origem animal e vegetal estão sendo cada vez mais utilizadas como ingredientes em um grande número de alimentos formulados. Os benefícios das proteínas do leite como ingredientes em outros alimentos originam-se de suas excelentes propriedades nutricionais e sua capacidade de contribuir para propriedades tecno-funcionais, sensoriais e reológicas nos produtos finais. Entretanto, essas propriedades não costumam ser entendida com detalhes suficientes que permitam que a estrutura protéica alcance um melhor desempenho.

As propriedades tecno-funcionais das proteínas estão relacionadas a várias características moleculares como hidratação, atividade de superfície e tipo de interação proteína-proteína, favorecidas por desdobramento parcial das estruturas.

No Brasil, o entendimento das interações envolvidas e avaliação do efeito das proteínas lácteas como ingrediente industrial, ainda carece de maior número de trabalhos buscando o desenvolvimento de uma melhor adequação da utilização destas proteínas dentro de cada perfil tecnológico desejado nas diversas linhas de processamento. O entendimento da interação das proteínas lácteas proporciona às indústrias alimentícias a obtenção de uma relação que proporcione um melhor custo/benefício da utilização de cada tipo de proteína dentro das características desejadas no produto final, trazendo assim ao mercado produtos que utilizem como ingredientes tecnológicos proteínas de elevado valor biológico.

Diante destas interações o pH do meio apresenta-se como um grande interferente na intensidade e tipo de reação ocorrida. A intensidade de desnaturação e interação das diferentes proteínas ocorre em diferentes formas e intensidade quando se varia o valor de pH do meio em que estas se encontram. É com este conhecimento que este trabalho vem avaliar o grau de variação de viscosidade após o tratamento térmico de soluções contendo diferentes proporções de caseínas/soroproteínas em diferentes valores de pH. Assim, a avaliação da desnaturação térmica ocorrida foi realizada através da interpretação da variação da evolução da viscosidade durante o tratamento térmico em diferentes proporções de concentrado protéico de soro e concentrado protéico de leite.

É neste contexto que se inserem os resultados obtidos e avaliados neste estudo, tendo sempre dois direcionamentos muito claros: o primeiro no que se refere

a informações de desempenho tecnológico, com avaliações sobre o comportamento dos concentrados protéicos de leite e de soro em condições industriais simuladas de processamento em diferentes valores de pH. A segunda avaliação tecnológica ocorreu por meio da aplicação destas diferentes proporções de concentrado protéico de soro/concentrado protéico de leite na produção de queijos processados cremosos, avaliando os efeitos destes no perfil de textura dos produtos finais.

Assim, este trabalho teve como objetivo geral a verificação da influência das interações soroproteínas/caseínas na evolução da viscosidade e perfil de textura de produtos lácteos em diferentes valores de pH, utilizando o simulador o Analisador Rápido de Viscosidade (RVA) e aplicação tecnológica em queijos processados. Os objetivos específicos foram:

- verificar a evolução da viscosidade em diferentes proporções de soroproteínas/caseínas, durante o processamento térmico simulado pelo RVA.
- verificar a influência do pH na variação da viscosidade final após processamento térmico em RVA de soluções contendo diferentes relações de soroproteínas/caseínas;
- otimizar a escolha de proteínas lácteas, para aplicações tecnológicas em laticínios, por meio da análise de viscosidade durante o processamento e análise de textura em queijos processados cremosos;
- avaliar o impacto de cada tipo de concentrado protéico nas análises de perfil de textura dos queijos processados.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Proteínas do Leite

O leite contém de 30 a 36 g/L de proteína total de alta qualidade nutritiva. Existem basicamente seis produtos genéticos majoritários da glândula mamária: α_{s1} caseínas, α_{s2} caseínas, β caseínas, κ caseínas, β lactoglobulinas e α lactoalbuminas. Cada uma dessas proteínas exibe polimorfismo genético por serem produtos de genes codominantes, alelos e autossômicos. Assim, as proteínas do leite ficam classificadas como caseínas ou soroproteínas, conforme Tabela 1. O leite também contém vários componentes protéicos que são na verdade grandes polipeptídeos. Eles resultam da proteólise das proteínas lácteas, pela protease plasmina, que é derivada do sangue. Desse modo, encontramos as γ caseínas, que são fracionadas junto às caseínas, e a maior parte das proteose-peptonas, as quais estão presentes no soro (FARRELL et al., 2004).

TABELA 1 Concentrações das proteínas majoritárias do leite

Proteína e sua abreviatura sugerida	Concentração em leite desnatado (g.L ⁻¹)
Caseínas (CN)	26 a 34
α_{s1} – caseínas (α_{s1} -CN)	12 a 15
α_{s2} – caseínas (α_{s2} -CN)	3 a 4
β – caseínas (β -CN)	9 a 11
κ – caseínas (κ -CN)	2 a 4
Soroproteínas (SP)	2,6 a 5,7
β – lactoglobulina (β -LG)	2 a 4
α – lactoalbumina (α -La)	0,6 a 1,7

Fonte: Farrell et al. (2004)

A divisão destas proteínas em dois grupos: caseínas ou soroproteínas, está relacionado a algumas propriedades chaves que facilitam a diferenciação entre elas e que são apresentadas a seguir de acordo com Fox (2003):

- Solubilidade em pH 4,6: As caseínas, por definição, são insolúveis em pH 4,6 enquanto que as soroproteínas são solúveis sob as condições iônicas do leite neste pH, se não desnaturadas, embora menos do que no pH normal do leite. A precipitação isoelétrica das caseínas é de grande importância industrial, pois permite a produção de caseínas e caseinatos, produtos lácteos fermentados e queijos produzidos sob coagulação ácida.
- Coagulação proteolítica: as caseínas são coaguladas por enzimas específicas enquanto que as soroproteínas não possuem a mesma susceptibilidade. Esta propriedade das caseínas são exploradas na produção de queijos, onde aproximadamente 75% de todos os queijos são produzidos por este tipo de coagulação.
- Estabilidade térmica: as caseínas são altamente estáveis ao tratamento térmico. Leite em pH 6,7 pode ser aquecido a 100°C por 24 h sem coagulação e resiste ao aquecimento a 140°C por 20 a 25 minutos; a solução aquosa de caseinato de sódio é ainda mais estável e pode ser aquecida a 140°C por muitas horas sem alterações aparentes. A estabilidade térmica das soroproteínas são típicas de proteínas globulares e elas são desnaturadas completamente sob aquecimento de 90°C por 10 minutos. A alta estabilidade térmica das caseínas permite a produção de produtos lácteos esterilizados com mudanças físicas e químicas relativamente pequenas.
- Estado físico no leite: as soroproteínas existem no leite como monômeros em estruturas terciárias. Já as caseínas existem como amplo agregado coloidal conhecido como micela. A coloração branca do leite é em grande parte devido ao espalhamento de luz pelas micelas de caseínas.
- Composição de aminoácidos: As caseínas contêm altos níveis de prolina a qual está largamente presente nas estruturas α e β (17% do total de resíduos da β -CN). As micelas de caseínas contêm aproximadamente 0,8% de fósforo, mas o grau de fosforilação varia nas caseínas individualmente. As porções de fosfato estão ligadas as caseínas como fosfomonoesteres de serina.
- Local de biossíntese: As caseínas são sintetizadas na glândula mamária e são importantes para este órgão. Presumidamente, elas são sintetizadas para satisfazer as necessidades do recém-nascido. As principais soroproteínas são também sintetizadas dentro da glândula e a maior parte possui funções

biológicas. Várias proteínas menores do leite são derivadas do sangue por transporte seletivo ou pela rota paracelular.

A precisa estrutura da micela de caseínas ainda é discutível. Diferentes modelos têm sido propostos ao longo dos últimos 45 anos. Um destes modelos inclui o chamado “núcleo-revestido”, cuja proposta indica que o interior da micela é composto por proteínas diferentes daquelas da parte mais externa; e outro denominado de “estrutura de subunidades”, cujo termo submicela é acrescido (DE KRUIF; HOLT, 2003; FOX; MCSWEENEY, 1998, 2003; HORNE, 2009; ROLLEMA, 1992). Neste modelo, as micelas são formadas por submicelas, grosseiramente esféricas, contendo agregados de várias moléculas de caseínas, com a seguinte relação: [α_{s1} : α_{s2} : ($\beta + \gamma$): $\kappa = 4: 1: 4: 1,3$], mantidas unidas por interações hidrofóbicas e pontes salinas. Fosfato de cálcio amorfo liga as submicelas entre si, com participação de ésteres fosfatos. Dessa forma, quase todas as regiões nas moléculas de caseínas têm mobilidade restrita.

Outros modelos consideram a micela como uma estrutura protéica de rede porosa (de conformação não fixa), na qual os nano *clusters* de fosfato de cálcio são responsáveis pelas ligações cruzadas das proteínas, mantendo a rede estruturada (HOLT, 1992). O modelo proposto por Horne (1998) assume que a associação das micelas de caseínas é coordenada por um balanço das interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre as moléculas de caseínas α_{s1} , α_{s2} , e β caseínas, consistindo de distintas regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. Algumas propriedades e concentrações das proteínas do leite são apresentadas na TABELA 2.

Um fator em comum a todos os modelos é que a porção carboxi-terminal da κ -caseínas está, predominantemente, presente como filamentos flexíveis, orientados para o meio externo. A κ -caseínas possui regiões de grande hidrofília em sua molécula, se orientando para o lado de fora da micela, enquanto que as demais se orientam para o interior. Isto ocasiona um impedimento estérico e eletrostático à aglomeração da micela (WALSTRA; VAN VLIET, 1986). É glicosilada, possuindo ácido N-acetil-neuramínico, ácido glutâmico e ácido piroglutâmico e graças à sua solubilidade ao cálcio iônico, independente da temperatura ocupa uma posição de destaque na estabilização da micela. Possui ainda uma região de maior hidrofília na parte terminal da molécula, a partir do aminoácido 106, sendo a sua região inicial hidrofóbica.

TABELA 2 Propriedades de algumas proteínas do leite.

Propriedades	Caseínas				Soroproteínas		
	α_{S1} (B)	α_{S2} (A)	β (A ²)	κ (A)	β -LG (B)	α -LA (B)	Albumina Sérica
Massa Molar	23.614	25.230	23.983	19.023 ¹	18.283	14.176	66.267
Resíduos de aminoácidos/molécula	199	207	209	169	162	123	582
Fosfoserina (resíduo/mol)	8	11	5	1	0	0	0
Cisteína (resíduo/mol)	0	2	0	2	5	8	35
Pontes –S – S –/mol	0	1	0	-	2	4	17
Hexoses (resíduo/mol)	0	0	0	2,3 ²	0	0 ³	0
Cálcio iônico (Ca ²⁺) ligado	++	++	+	-	-	-	-

Fonte: Adaptado de Walstra *et al.* (2001)

¹ Excluindo os resíduos de carboidrato

² Valor médio aproximado

³ Uma pequena parte das moléculas contém resíduos de carboidrato

A β -lactoglobulina é a mais abundante soroproteína do leite bovino, representando aproximadamente 50% do total de soroproteínas e aproximadamente 12% do total de proteínas do leite. Ela consiste de 162 resíduos por monômero, com uma massa molecular de aproximadamente 18 kDa. É rica em aminoácidos sulfurados os quais apresentam um alto valor biológico. Contêm duas pontes dissulfeto intramolecular e um mol de cisteína por monômero. A cisteína é importante na reação durante a desnaturação térmica, pois ocorre uma ponte dissulfeto intermolecular com a κ -CN, sendo também responsável pela alteração de sabor no leite tratado termicamente (FOX, 2003).

A α -lactoalbumina representa aproximadamente 20% das proteínas do soro bovino (3,5% das proteínas totais do leite) e a principal proteína do leite humano. Ela é uma pequena proteína de aproximadamente 14 kDa. É relativamente rica em triptofano (4 resíduos por molécula) e contém aproximadamente 1,9% de enxofre, os

quais são responsáveis por 4 pontes dissulfeto intramoleculares por mol (FOX, 2003).

2.2 Concentrados Protéicos

Tanto a concentração como a composição de proteínas é importante nos concentrados de leite e produtos em pó, com alguns produtos sendo caracterizados pela presença destas proteínas. Por exemplo, concentrados protéicos de leite (MPC) e concentrados protéicos de soro (WPC) são classificados de acordo com o conteúdo de proteínas, conforme pode ser visto na TABELA 3.

TABELA 3 Composição aproximada dos produtos lácteos líquidos, concentrados e em pó (g.100 g⁻¹)

Produto	Água	Gorduras	Proteínas	Carboidratos	Minerais
Leites fluidos					
Leite integral	87	3,7	3,3	4,8	0,7
Leite desnatado	90	<0,1	3,4	4,9	0,75
Leites concentrados					
Leite integral evaporado					
Padrão Americano	72,7-74,7	7,5 – 7,8	6,5 – 7,1	9 - 10	1,3 – 1,6
Padrão Britânico	67 - 69	9 - 10	8 - 9	11,0 – 12,5	1,9 - 2,1
Leite desnatado evaporado	79,5	0,3	7,6	11	1,6
Leite condensado açucarado	27	9	8	55	1,8
Leite desnatado condensado açucarado	28	0,3	10	59	2,3
Leite em pó					
Leite em pó integral	2 - 4	25-28	25-27	37-38	6-7
Leite em pó desnatado	3-5	0,7 – 1,3	35 - 37	49 - 52	7,5 – 8,0
Buttermilk em pó	2,8-3,8	3-6	33-36	47-49	7-8
Creme em pó	2,6-3,0	55-70	12-15	13-24	2,0-3,5
Proteína de leite e de soro em pó					
MPC 42	3,5	1,0	42	46	7,5
MPC 70	4,2	1,4	70	16,2	8,2
MPC 75	5,0	1,5	75	10,9	7,6
MPC 80	3,9	1,8	80	4,1	7,4
MPC 85	4,9	1,6	85	1,0	7,1
Caseinato (Ca, K, Na)	3-5	0,9-1,5	89-95	0,2	3,3-5
Caseínas (ácida)	9,5	0,8	97	0,1	1,8

Continuação tabela 3 composição aproximada dos produtos lácteos líquidos, concentrados e em pó (g.100 g⁻¹)

Produto	Água	Gorduras	Proteínas	Carboidratos	Minerais
Caseínas (enzimática)	9,5	0,8	90,5	0,1	8,5
Concentrado protéico de soro (baixa proteína)	4,6	2-4	34-36	44-53	7-8
Concentrado protéico de soro (média proteína)	4,3	5	53	35	7
Concentrado protéico de soro (alta proteína)	3-4	4-6	59-65	21-22	3,5-4
Concentrado protéico de soro (muito alta proteína)	4-5	0,3-7,0	72-81	2-13	2,6-6,5
Isolado protéico de soro	2,5-6	0,1-0,7	89-93	0,1-0,8	1,4-3,8
Soro proteínas fracionadas					
α fração	4,5	1,0	81,5	7	3,4
β fração	4,5	0,4	87	0,5	3,0
Hidrolisado de proteínas do leite	4	5	81,5	3	4,5
Soro em pó					
Soro em pó (ácido)	<3,5	0,8	9-12	65-69	11-12
Soro em pó (doce)	3-6	0,8-1,5	12-13	70-73	7,5-8,5
Soro em pó (desmineralizado)	<3	<1,5	>11	78-82	<4
Soro em pó (desproteínizado)	3	0,2-1	2,5	80-85,5	8,5-10
Soro em pó (reduzida lactose)	2-3	1-4	18-25	40-60	11-27
Produtos Miscelâneos					
Lacotse (grau alimentício)	0,5	0,1	0,1	99	0,1-0,3
Formula infantil	2-3	26-39	10-18	40-60	8

Fonte: Tamime (2009)

A TABELA 3 mostra a diferença no teor de proteína de diferentes produtos em pó. Quatro tipos de produtos padrão destacam como tendo um elevado teor de proteína: caseínas (ácido ou enzimática), MPC 85, WPC 80 e isolado protéico de soro. Contudo, o tipo de proteína difere consideravelmente, com caseínas, sendo quase inteiramente caseínas, MPC contendo caseínas e soroproteínas em semelhante proporção ao leite original e os produtos de soroproteínas, WPC, quase exclusivamente soroproteínas. Ainda na tabela 3, as composições de duas diferentes caseínas são mostradas. Este é um bom exemplo de um produto com

semelhante nome produzido por diferentes métodos e tendo diferentes composições. Caseínas (enzimática) produzida por coagulação das caseínas por ação da quimosina é ausente de caseínomacropeptídeo (CMP) que fica contido no soro, enquanto que a caseínas (ácida), produzida por precipitação ácida contém o GMP (TAMINE, 2009).

A forma na qual as caseínas existem nos produtos lácteos é determinada pelo processamento utilizado. Por exemplo, caseínas que são produzidas por precipitação ácida estão em sua maioria na forma não micelar, enquanto que a caseínas de leite em pó desnatado ou concentrado protéico de leite estão em sua maioria na forma micelar (MULVIHILL; ENNIS, 2003). Entretanto, pode ser notado que embora as micelas no leite contenham 4-5 g de água por grama de proteína, a micelas em pó contém pouca água e, por isso, são bastante diferentes da micela nativa.

As micelas no leite variam o seu diâmetro de 30 a 300 nm (VARNAM; SUTHERLAND, 2001). Contudo, após tratamento térmico este tamanho é incrementado. Martin et al. (2007) encontrou o tamanho das micelas aumentando em média 3, 6 e 39 nm após baixo tratamento (79°C/5s), médio tratamento térmico (90°C/30s) e alto tratamento térmico (120°C/4min.) respectivamente. O aumento ocorre devido a ligação das soroproteínas desnaturadas sob as micelas (OLDFIELD et al., 2005). A remoção de água por evaporação resulta em um grande incremento de 60, 78 e 94 nm para leites de baixo, médio e alto tratamento térmico, respectivamente. Este incremento no tamanho da micela foi atribuído a contínua ligação das soroproteínas desnaturadas durante o tratamento térmico das micelas durante evaporação e também as caseínas solúveis e cálcio movidos do soro para a micela (MARTIN et al., 2007).

Mudanças nas proteínas durante a estocagem podem ter um efeito marcado nas propriedades de alguns produtos lácteos desidratados. Por exemplo, a solubilidade do MPC em pó decresce com o tempo de estocagem, particularmente em elevadas temperaturas, podendo variar entre 32% e 98% a sua perda de solubilidade. O material insolúvel tem sido mostrado como partículas de grandes dimensões, em que as micelas de caseínas são unidas por fracas interações não covalentes proteína-proteína. As principais proteínas individuais presentes são α e β caseínas, κ caseínas e β lactoglobulina onde estão também presentes agregados

protéicos por pontes dissulfeto, mas não sendo estas a causa principal do material insolúvel (HAVEA, 2006).

A solubilidade das caseínas preparadas por precipitação ácida pode ser aumentada pela reação com álcalis. Se hidróxido de sódio é usado para solubilizar caseínas ácidas, se produz caseinato de sódio, um comum produto, o qual é utilizado em diversas aplicações industriais. Caseinato de sódio é também o material inicial para produção de caseínas fracionadas (FOX, 1991). Este processo é baseado no fato que a β caseínas torna-se solúvel em baixas temperaturas, 4°C, e pode ser separada do remanescente micelar por membranas filtrantes.

Caseinatos podem ser altamente solúveis em água e bastante insípido se o pH durante a produção nunca for maior que 7. Durante a produção de caseinatos, o tempo durante o qual a solução de caseinato é mantida a alta temperatura deve ser minimizada para limitar a extensão de escurecimento. A duração na qual as caseínas são expostas em alto pH durante dissolução mostrou também ser reduzido, e desde então iniciando a formação de lisinoalanina e o desenvolvimento de sabores desagradáveis (TAMINE, 2009).

Conforme apresentado na tabela 3, grandes variedades de produtos estão sendo manufaturados pelas indústrias de laticínios. Estes produtos incluem os tradicionais derivados lácteos protéicos desidratados como o leite em pó desnatado (SMP), soro em pó (WP) e o soro em pó desmineralizado (DWP), além dos produtos de alta concentração protéica como as caseínas, caseinatos, concentrados protéicos de soro (WPC), isolados protéicos de soro (WPI), concentrados protéicos de leite (MPC) e isolados protéicos de leite (MPI). Diferentes etapas de fabricação estão presentes nas manufaturas destes produtos, conforme está apresentado na Figura 1, estando a variação em sua composição apresentada na TABELA 3.

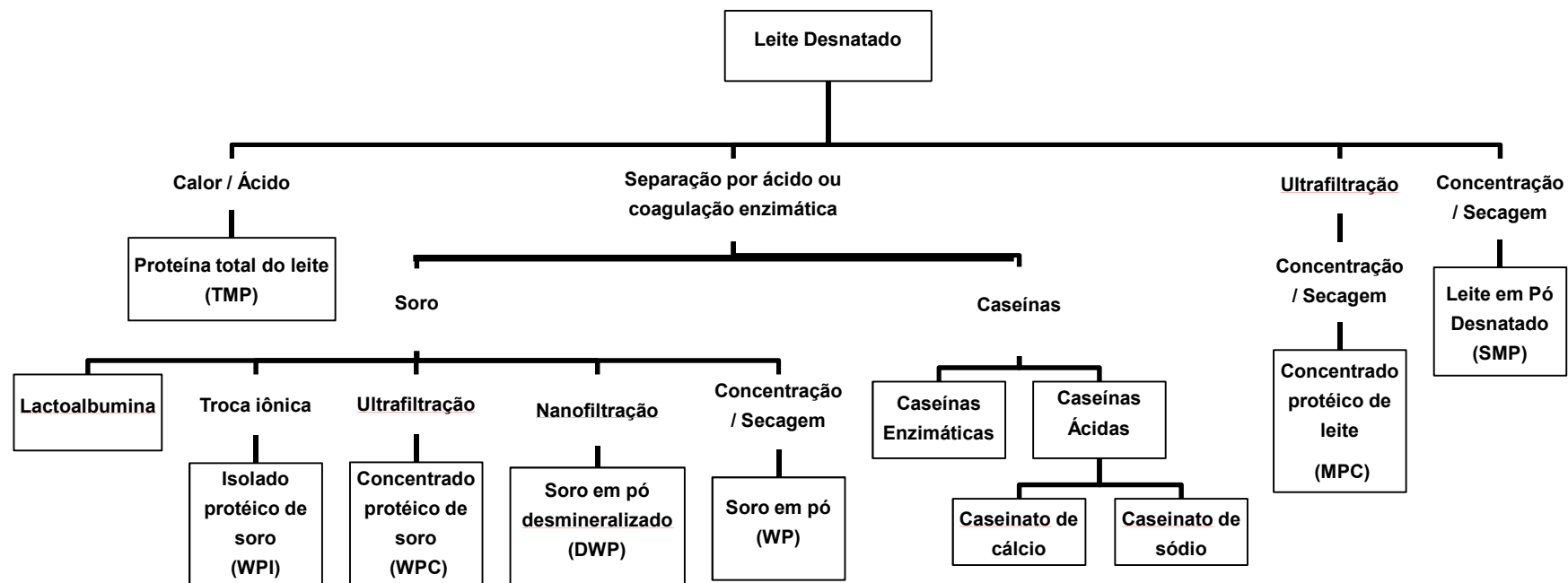


FIGURA 1 Produtos lácteos protéicos desidratados

Fonte: Singh (2009)

2.2.1 Concentrado Protéico de Soro (WPC)

O WPC tem aplicação em produtos cárneos, bebidas, panificação e produtos infantis. As principais características de funcionalidade dos derivados de soro incluem a forte interação com água, emulsificação, aeração, e gelificação. As funcionalidades destes produtos não dependem somente da composição, mas também dos vários processos a que são submetidos durante a fabricação (DE WIT *et al.*, 1996).

Aproximadamente $\frac{1}{5}$ da fração protéica encontrada no leite, refere-se como soroproteínas, que não são retidas nem na coagulação ácida nem enzimática, e assim permanecem no soro gerado pelo processo comum de fabricação de queijos. É bem conhecido que diversas espécies de proteínas, incluindo as frações de soroproteínas, são sensíveis ao calor. Estas soroproteínas em temperaturas maiores que 72°C sofrem desnaturação e, especialmente na ausência de caseínas, podem ocasionar a coagulação, insolubilização e precipitação. Em muitos casos, a precipitação está inclinada a sedimentação, contudo, sob condições de baixa força iônica e pH 6,5-7,0, aquecimento do sistema de soroproteína produz agregados não sedimentáveis denominados como polímeros solúveis (FOX, 1991).

O coágulo de soro proteínas aquecido é geralmente muito frágil, e pode ser facilmente quebrado em partículas muito finas as quais, são ainda insolúveis e então produzem um sedimento no sistema do soro aquecido, especificamente após acidificação para aproximadamente pH 4,5. Este sedimento pode ser decantado, lavado e seco facilmente. Tais soroproteínas em pó são frequentemente referidas como lactoalbumina tradicional ou lactoalbumina simples.

Segundo Tamine (2009), a fração soroproteína inclui alguns dos componentes do leite de maior valor nutricional e nutracêutico, tais como lactoferrina, lactoperoxidase, imunoglobulinas e outras espécies de proteínas menores. Embora, estes pós estejam sendo fabricados por meio de alguns processos especializados, o volume de soroproteínas em pó produzido industrialmente hoje são de concentrado protéico de soro (WPC) e isolados protéicos de soro (WPI).

Como é típico da produção de alimentos concentrados e desidratados, a clássica evaporação em múltiplo-estágio, seguida por um adequado processo de secagem, são de longe as duas operações unitárias mais comumente realizadas no processo de produção de concentrados e produtos desidratados base soro. Embora, em geral, o desenho do processo seja similar ao de produção de leite em pó desnatado, há algumas diferenças importantes no *design* do equipamento e na condução da operação de secagem. Muitos produtos a base de soro são difíceis de secar, necessitando de um equipamento especializado, onde, por exemplo, o estágio final de evaporação usado para produção de soro concentrado deve apresentar um desenho diferente daquele usado na produção de leites concentrados.

Outros processos de concentração e fracionamento, usados com frequência especialmente na produção de soro em pó modificado e produtos de soroproteínas, incluem toda família de processos de membrana, envolvendo também o processo de troca iônica, eletrodialise, cromatografia e outras técnicas de processamento avançadas. Praticamente todo processamento inclui esquemas de tecnologia de centrifugação clássicos em lácteos, tratamento térmico ou outras formas de aquecimento, e frequentemente várias etapas de cristalização da lactose. O tratamento térmico imediato de todo soro de queijo contendo microrganismos do fermento é um dos mais importantes pré-tratamentos para evitar excessivo desenvolvimento de ácido láctico continuando a atividade fermentativa (TAMINE, 2009).

Há diferentes razões para a inclusão da etapa de cristalização da lactose, tecnologicamente necessária na secagem de soro modificado e regular, sendo destacada a redução da higroscopicidade no produto em pó. Conseqüentemente, a construção dos cristalizadores e a condução do processo de cristalização devem ser diferentes. Neste caso, o objetivo é facilitar produção de grandes cristais de lactose, facilitar a separação deles do líquido original e subsequente lavagem. Ao contrário, a pré-cristalização da lactose antes da secagem do soro em pó deveria resultar em cristais muito pequenos (não excedendo 50-100 μm) de modo que não impeça o subsequente processo de secagem em spray. Uma típica etapa de cristalização

pode consistir do resfriamento controlado (cerca de $2^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$) por 12-16 h com sementeira de lactose finamente moída. *Flash cooling* não deve ser utilizado para evitar a nucleação espontânea e produção de falsos cristais, resultando no aparecimento de partículas excessivamente grandes (TAMINE, 2009).

Outro passo usado periodicamente na secagem de soro em pó regular é a intencional desnaturação das soroproteínas sensíveis ao calor por um severo tratamento térmico em alta temperatura (80-90°C) combinadas com longo tempo de retenção. É lógico que este tratamento produzirá soro em pó com menor solubilidade protéica as quais, podem não ser importantes em muitas aplicações de soro em pó. Este tratamento térmico pode diminuir possivelmente dificuldades na evaporação onde, se a temperatura necessária for de aproximadamente 70°C, a sensibilidade térmica das soroproteínas pode causar excessiva queima na superfície de aquecimento e/ou formação de depósito na calândria do evaporador, conduzindo ocasionalmente a completa parada de escoamento.

Muitos produtos a base de soro são produzidos pela técnica de secagem em *spray dryer* utilizando atomizador de bico. Usando tipicamente temperaturas de 160-180°C e 80-90°C para as temperaturas do ar de entrada e saída, respectivamente, sempre com um correto processo de evaporação, esta técnica é bem estabelecida e não resulta em excessivo dano as soroproteínas. Para produtos onde o estado nativo das soroproteínas é requerido, tais como no caso do WPC e WPI em pó, uma secagem em dois estágios poderia ser usada com rigorosos controles das temperaturas do ar de entrada e especificamente na de saída. Estes e similares produtos de soro modificados requerem especial cuidado e, frequentemente, especializado equipamento de secagem empregado para não modificar a qualidade do produto final (TAMINE, 2009).

A ultrafiltração (UF) dos permeados de leite ou soro são essencialmente soluções de lactose com elevado nível de impureza causado pelos minerais e outros componentes menores do soro. Secagem dos permeados não é somente difícil devido ao alto conteúdo de lactose, mas também por ser antieconômico devido ao baixo valor de mercado destes produtos em pó. A etapa de pré-cristalização da lactose é uma necessidade, mas incrementa o custo. Produtos a base de soro

requerem especiais técnicas de embalagem, especialmente em casos onde a cristalização não tem sido incluída. A secagem em spray de um produto de pobre pré-cristalização resultará em um pó de alta higroscopicidade que causará empedramento se não protegido da umidade. O alto valor dos WPCs e WPIs oferecidos no mercado, tais como os produtos oferecidos para praticantes de atividade física, são frequentemente embalados em embalagens com porção de controle em alumínio, alguns usando gás inerte ou mesmo atmosfera modificada (TAMINE, 2009).

2.2.2. Concentrado Protéico de Leite (MPC)

MPCs são comumente adicionados ao leite ou queijos formulados para aumentar a concentração de proteínas e/ou rendimento do produto final e pode também ser utilizado para melhorar as características de textura do iogurte. O uso do MPC em bebidas nutricionais está crescendo, onde nestas aplicações este concentrado protéico contribui com ambas as proteínas do leite (caseínas e soro proteínas), na mesma proporção que no leite, porém com concentração de lactose muito menor (BALDWIN; PEARCE, 2005).

O processo de conversão do leite ou do soro fluido em pó altera a natureza e o comportamento dos componentes do leite. Fatores que afetam a capacidade de absorção de água das proteínas lácteas incluem: composição; estrutura protéica e conformação; carga superficial e polaridade; presença de carboidratos, lipídeos e sais; pH; força iônica; temperatura; grau de desnaturação e agregação; e formação de pontes dissulfídicas (DAMODARAN, 1996; GARCIA *et al.*, 1997).

A modificação na estrutura das proteínas e consequentemente as interações entre as mesmas e também com outros compostos não protéicos, é extremamente determinante para comportamento funcional dos produtos desidratados.

As mudanças ocorridas nas proteínas induzidas pelo processamento dos concentrados protéicos desidratados foram recentemente apresentadas por Singh (2009) e sumarizadas na TABELA 4.

TABELA 4 Impacto nas proteínas induzido pelo processamento do MPC

Processo	Efeito nas proteínas do leite
Pré-aquecimento	Desnaturação das soroproteínas; associação das soroproteínas com as micelas de caseínas; mudanças no tamanho das micelas, com migração de compostos salinos da parte solúvel para coloidal; abaixamento de pH
Evaporação	Aumento dos sais coloidais, aumento no tamanho das micelas; abaixamento do pH
Aquecimento do concentrado	Redução da viscosidade do concentrado; aumento dos sais coloidais; novas agregações de soro proteína e suas associações com micelas de caseínas
Ultrafiltração / Diafiltração	Inchaço das micelas de caseínas, perda de cálcio e fosfato coloidais para a fase solúvel, dissociação das micelas e caseínas, agregação e dissociação das caseínas durante diafiltração
Secagem	Remoção rápida da água; menores mudanças nas proteínas relativamente

Fonte: Singh (2009)

O processo de ultrafiltração do leite desnatado permite que água, lactose, compostos nitrogenados não protéicos e sais solúveis passem pela membrana enquanto as micelas de caseínas e as soroproteínas são retidas. A temperatura de UF tem grande impacto sobre a composição do concentrado. Altas temperaturas resultam em altas taxas de fluxo de permeado e baixa retenção de componente de baixa massa molecular.

Diafiltração (DF) é aplicada para a produção de produtos lácteos com alta concentração de proteínas, tipicamente acima de 800 g.kg⁻¹. Água purificada é comumente utilizada. O número de estagios de DF e o volume de água utilizada

depende do projeto, do tipo de operação da planta de UF, e da especificação desejada do produto final.

Os processos de UF e DF do soro são geralmente realizados à aproximadamente 50°C. Esta temperatura é considerada ideal, pois nela uma boa taxa de fluxo é alcançada e a desnaturação térmica das soroproteínas é evitada.

Os evaporadores a vácuo de filme descendente são os predominantes nas indústrias de laticínios e são projetados para a máxima remoção de água do leite com o menor efeito sobre a qualidade do pó. O evaporador de filme descendente tem baixo tempo de residência (tipicamente de 3 a 6 minutos) e opera sob vácuo, tornando possível a temperatura de ebulição do produto entre 40°C e 70°C. Aproximadamente 80% da água pode ser removida do leite, concentrando de 90 g.kg⁻¹ a 140 g.kg⁻¹ de sólidos totais para 440 g.kg⁻¹ a 500 g.kg⁻¹ de sólidos. No caso de soro, este percentual final varia entre 550 g.kg⁻¹ a 600 g.kg⁻¹ de sólidos.

A evaporação promove inúmeras mudanças nos produtos lácteos (SINGH; NEWSTEAD, 1992). O pH do leite diminui durante a concentração, com uma média variando de 6,7 no início para 6,3 com 450 g.kg⁻¹ de sólidos totais. Isto se deve particularmente as mudanças no equilíbrio salino, quando mais fosfato de cálcio é transferido da forma solúvel para o estado coloidal, com concomitante liberação de íons hidrogênio. Não existe desnaturação significativa de β -LG ou Ig durante a evaporação do leite desnatado até 450 g.kg⁻¹ de sólidos totais, entretanto alguma desnaturação de α -LA pode ocorrer (OLDFIELD *et al.*, 2005). Isto se deve em parte à maior estabilidade das soroproteínas em altas concentrações de sólidos totais, devido ao efeito estabilizador da lactose sobre a estrutura da proteína. No entanto, há um aumento nos valores de β -LG e α -LA associadas com as micelas após a evaporação, que pode ser atribuído principalmente à diminuição do pH durante a evaporação (OLDFIELD *et al.*, 2005).

As micelas de caseínas geralmente aumentam de tamanho por causa do acréscimo de fosfato de cálcio coloidal ou pelo aumento de associações das soroproteínas com as micelas. Infelizmente, não existem dados confiáveis disponíveis sobre a distribuição do tamanho das micelas de caseínas em sistemas altamente concentrados, principalmente porque técnicas de medições confiáveis

também não estão desenvolvidas (SINGH, 2009). Além disso, o leite concentrado é muito difícil de ser manipulado por causa de sua alta viscosidade e tendência à gelificação.

Sob normais condições de evaporação com temperaturas abaixo de 70°C, as alterações nas proteínas nesta etapa de fabricação são comparativamente menores que aquelas ocorridas durante a etapa de pré-aquecimento (SINGH; CREAMER, 1991).

A secagem por *spray dryer* é a mais utilizada para os produtos lácteos desidratados. O objetivo é remoção da água remanescente da concentração para a produção de pó com 30 g.kg⁻¹ a 50 g.kg⁻¹ de umidade. O produto é atomizado em um spray fino, que proporcionará uma grande área de superfície sobre a qual a secagem irá atuar. Na câmara de secagem, as gotas são intimamente misturadas com entrada de ar quente (150°C a 250°C). Inicialmente as gotas do produto são rapidamente secas até a temperatura de bulbo úmido (45°C a 60°C), entretando, com a queda das gotas ao longo da câmara de secagem, as mesmas começam a ficar menos umidas e a temperatura das partículas conseqüentemente aproxima-se da temperatura do ar de saída (70°C a 90°C).

Existem diferentes configurações dos equipamentos de secagem. Podem ser com ou sem fluidizadores internos e externos, com dois ou múltiplos estágios de secagem que são energeticamente mais eficientes e menos agressivos às propriedades do pó dos MPPs comparados com as secagem de um único estágio.

As condições de secagem influenciam as propriedades dos produtos lácteos protéicos desidratados: solubilidade, densidade, molhabilidade e fluidez do pó (PISECKY, 1997). A temperatura do ar de saída na câmara de secagem é extremamente impactante na solubilidade do pó (SINGH, 2009). Entretanto, pouco se sabe sobre as mudanças ocorridas nas proteínas durante a secagem. As propriedades naturais dos componentes do leite são essencialmente pouco modificadas pela secagem em condições moderadas. A distribuição do tamanho das micelas de caseínas, a estabilidade térmica e as características de coagulação por quimosina, são substancialmente recuperadas pela reconstituição do leite após a secagem.

Sob típicas condições de secagem, as soroproteínas não são desnaturadas em valores significativos. Oldfield *et al.* (2005) mostraram que a desnaturação das soroproteínas durante a secagem foi mínima, com nenhuma perda aparente de Ig G e apenas uma pequena perda de BSA (3-7%). Mesmo variando a temperatura do ar de entrada e saída (200°C/100°C e 160°C/89°C), aparentemente não houve efeito significativo sobre a desnaturação das soroproteínas. Entretanto, condições de alta temperatura de saída (>80°C), podem proporcionar reações (parte reação de Maillard entre a lactose e as proteínas) que diminuem o valor nutricional do produto (GUYOMARC'H *et al.*, 2000).

A secagem também promove mudanças no equilíbrio salino, como por exemplo, aumento no fosfato de cálcio coloidal e por consequência diminuição do pH. Foram demonstradas que as concentrações de cálcio solúvel e fosfato solúvel em leite desnatado reconstituído são cerca de 20% inferiores às do leite original (LE GRAET; BRULE, 1982).

2.3. Desnaturação Protéica

A mais importante reação durante o tratamento térmico de produtos lácteos é a desnaturação protéica das soroproteínas, interações dessas com as micelas de caseínas e agregação/dissociação das micelas de caseínas.

Segundo Araújo (1995), a desnaturação altera várias propriedades importantes das proteínas, do ponto de vista da tecnologia de alimentos. A proteína desnaturada é, geralmente, menos solúvel ou até mesmo insolúvel, promove aumento na viscosidade do alimento e tem a reatividade de seus grupos laterais intensificada. O autor prossegue afirmando que a proteína desnaturada é mais sensível   hidrólise por enzimas proteolíticas.

A desnaturação das soroproteínas afeta a conformação tridimensional e as características funcionais das mesmas. O grau de desnaturação térmica das soroproteínas varia em função da intensidade do tratamento térmico aplicado ao leite no processamento de diferentes derivados. Dessa forma, a desnaturação deve

ser conduzida de forma a beneficiar as propriedades importantes para cada derivado lácteo.

Alterações na conformação protéica podem afetar a termodinâmica de ligação com a água por alterar a disponibilidade de sítios polares ou sítios de hidratação. A transição da conformação globular compacta da molécula de proteína, para a conformação aleatória, resulta no aumento da área superficial disponível e exposição de peptídeos e cadeias laterais de aminoácidos, antes escondidos que, desta forma, podem interagir com a água (KINSELLA, 1982).

Dentre as proteínas do leite, as soroproteínas são as mais termolábeis e a ordem de instabilidade térmica é: Igs > BSA > β -LG A > β -LG B > α -LA (DANNENBERG; KESSLER, 1988; OLDFIELD *et al.*, 1998a).

O comportamento térmico das soroproteínas é governado, principalmente, pelas propriedades da β -lactoglobulina que, por sua vez, são afetadas pelo pH do meio, lactose, cloreto de sódio, íons cálcio e outros.

Particularmente, a β -lactoglobulina e a BSA comandam a agregação de proteínas por meio da troca tiol-dissulfeto e reações de oxidação-redução durante o tratamento térmico.

As temperaturas às quais o leite é submetido durante o processamento conduzem a mudanças físico-químicas nas diferentes frações protéicas e, correspondentemente, na distribuição de nitrogênio nas mesmas. Na TABELA 5, o somatório das porcentagens ultrapassa os 100%, devido aos parâmetros N-soroproteínas, N- β -lactoglobulina e nitrogênio-não-protéico serem parte do N-não-caseínico, porém, estão expressos como porcentagens do N-total. Com o aumento da temperatura, há aumento do N-caseínico e diminuição do N-não caseínico (N-soroproteínas e N- β -lactoglobulina).

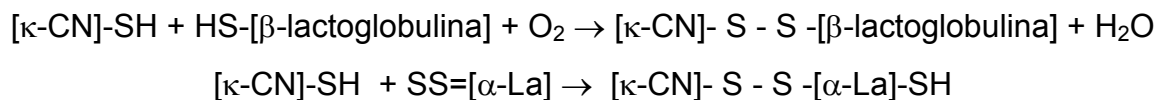
O aumento da porcentagem de N-caseínico de acordo com o aumento da temperatura não significa que o teor verdadeiro de caseínas nesses leites aumente. Trata-se de um aumento aparente devido à formação de complexos entre as proteínas do soro e as caseínas.

TABELA 5 Distribuição do nitrogênio em leites cru, pasteurizado e fervido

Fração Nitrogenada	Distribuição das frações nitrogenadas (%)		
	Cru	Pasteurizado	Fervido
N-total	100,0	100,0	100,0
N-caseínico	78,3 ± 0,5	80,1 ± 0,1	90,5 ± 1,9
Nitrogênio-não-caseínico	21,7 ± 0,5	19,90 ± 0,6	9,5 ± 1,9
N-soroproteína	16,2 ± 0,9	14,3 ± 0,9	3,9 ± 1,8
N-β-lactoglobulina	8,4 ± 1,3	6,9 ± 1,2	0,2 ± 0,2
Nitrogênio-não-protéico	5,5 ± 0,7	5,6 ± 0,6	5,6 ± 0,6

Fonte: Wolfschoon-Pombo *et al.* (1982)

A κ-caseínas, em especial, tem a capacidade de reagir com o grupamento sulfidrila das proteínas do soro desnaturadas, possivelmente da forma abaixo (FOX, 1991):



Estes complexos são co-precipitados com as caseínas na determinação do N-não-caseínico, resultando em maior teor de N-caseínico nos leites pasteurizado e fervido.

A α-lactoalbumina não possui grupos SH e sim quatro grupos S-S/mol.

Para que a α-lactoalbumina se ligue à κ-caseínas, primeiro deve ocorrer a quebra do grupo S-S pelo oxigênio. Além de ser mais termorresistente, seu grupo funcional apresenta maior dificuldade para se ligar à κ-caseínas, por isso é pouco relevante para a estabilidade térmica do leite.

A diminuição aparente no teor de soroproteína é resultado das características químicas e da estrutura globular dessas proteínas. Elas se encontram molecularmente dissolvidas e susceptíveis à desnaturação térmica (FOX, 1991).

A desnaturação das soroproteínas afeta a conformação tridimensional e propriedades funcionais das mesmas. Assim, é de esperar-se um comportamento

ligeiramente diferente da soroproteína do leite fervido, se comparado com o pasteurizado, por exemplo, no relativo à capacidade de absorver água, de gelificar, emulsificar, na viscosidade e outros.

O grau de desnaturação térmica das soroproteínas varia em função da intensidade do tratamento térmico aplicado ao leite no processamento de diferentes derivados (TABELA 6). Dessa forma, a desnaturação deve ser conduzida de forma a beneficiar as propriedades importantes para cada derivado.

TABELA 6 Desnaturação das soroproteínas

Tratamento térmico	Desnaturação das soroproteínas (%)
Leite pasteurizado	11
UHT direto	50
Fervido	75
UHT indireto	90
Esterilizado	100

Fonte: Compilado de Wolfschoon-Pombo *et al.* (1982)

A cinética da desnaturação térmica das soroproteínas é complexa, com efeito significativo nas mudanças entre 80-100°C. A reação de desnaturação mostra uma relação não linear de Arrhenius; existe uma notável mudança dependente da temperatura próximo de 80-90°C para ambas α -LA e β -LG. A energia de ativação aparente está na faixa de 260 kJ.mol⁻¹ a 280 kJ.mol⁻¹ para a β -LG e 270 kJ.mol⁻¹ a 280 kJ.mol⁻¹ para a α -LA em temperaturas abaixo de 90°C (DANNENBERG; KESSLER, 1988; OLDFIELD *et al.*, 1998a). Em temperaturas mais altas, a energia de ativação é menor, variando de 54 kJ.mol⁻¹ a 60 kJ/mol para a β -LG e de 55 kJ.mol⁻¹ a 70 kJ/mol para a α -LA, indicando interação química (agregação).

Oldfield *et al.* (1998b) sugeriu que existem pelo menos três possíveis espécies de desnaturação da β -LG que podem associar com as micelas: (i) monômero de β -LG desdobrado, (ii) auto-agregação de β -LG e (iii) agregados de β -LG/ α -LA. A taxa relativa de associação destas espécies com as micelas de caseínas depende da temperatura e gradiente de aquecimento, que por sua vez afetam as

taxas relativas de desdobraimento e formação das diferentes espécies agregadas. Em temperaturas elevadas e taxas de aquecimento rápido, todas as soroproteínas do leite começam a se desdobrar em um curto período de tempo, apresentando assim mais oportunidade para os monômeros de β -LG desdobrados se auto-agregarem, que conseqüentemente fará a associação com as micelas de caseínas menos eficiente.

Estes agregados de β -LG poderiam sobressair da superfície das micelas de caseínas promovendo um efeito estérico para novas associações de β -LG. Além disso, estes agregados podem ter seus grupos reativos sulfidrílicos enterrados no interior do agregado, e portanto, indisponíveis para as reações de transferência sulfidril-dissulfeto com a κ -caseínas micelar. A formação de β -LG desdobrada pode ser promovida por longos períodos de aquecimento a temperaturas baixas, ou por aquecimento em uma taxa lenta até a temperatura desejada. Estas moléculas monoméricas de β -LG desdobradas penetram na camada capilar da κ -caseínas com maior facilidade e tem o grupo sulfidrílico mais facilmente acessível.

Além do tempo e da temperatura de aquecimento, vários outros fatores influenciam a extensão da associação das soroproteínas desnaturadas com as micelas de caseínas, que incluem o pH do leite antes do aquecimento, as concentrações de cálcio e fosfato solúveis e a concentração de sólidos do leite (SINGH, 1995). Aquecimento em valor de pH inferior a 6,7 resulta em uma maior quantidade de soroproteína desnaturada associada com as micelas de caseínas, enquanto em pH mais alto, os complexos de soroproteína e κ -caseínas dissociam-se das superfície das micelas, aparentemente por causa de dissociação da κ -caseínas (SINGH; FOX, 1985).

Associações das soroproteínas modificam as superfícies das micelas de caseínas e podem ser capazes de influenciar a funcionalidade de alguns ingredientes lácteos reconstituídos.

2.3.1. Efeito do pH na desnaturação protéica

As proteínas são mais estáveis à desnaturação em seus pontos isoelétricos do que em qualquer outro pH. Em pH neutro, a maioria das proteínas estão carregadas negativamente. Como a energia repulsiva eletrostática líquida é pequena em comparação a outras interações favoráveis, a maior parte das proteínas é estável em pH próximo do neutro. No entanto, a forte repulsão eletrostática intramolecular pela alta carga líquida em valores extremos de pH resulta em expansão e desdobramento da molécula protéica. O grau de desdobramento é maior em valores extremos de pH alcalino do que em valores extremos de pH ácido. O primeiro comportamento é atribuído à ionização dos grupos carboxílicos, sulfidríla e fenólico, parcialmente inseridos, que levam a cadeia polipeptídica a desenovelar-se à medida que eles tentam se expor ao ambiente aquoso. A desnaturação induzida pelo pH é, em sua maioria, reversível. Entretanto, em alguns casos, hidrólises parciais de ligações peptídicas, desamidação de Asn e Gln, destruição de grupos sulfidríla em pH alcalino ou agregação podem resultar na desnaturação irreversível das proteínas (FENNEMA, 2010).

De todos os fatores tecnológicos, o efeito do pH na formação dos complexos induzidos pelo calor e a distribuição deles no leite tem sido o mais investigado. Nos recentes estudos, tem sido aceito que a proporção destes complexos protéicos presentes na fase soro ou micelar tem aumentado e reduzido conforme se varia a faixa de pH entre 6,5 e 7,5 (DONATO *et al.*, 2009).

Anema *et al.* (2004), mostrou que o pH do leite no tratamento térmico pode modificar as propriedades de géis ácidos preparados após tratamento térmico do leite. Comparado com amostras aquecidas no pH natural, incrementando o pH no tratamento térmico para aproximadamente pH 7,1 incrementou a firmeza dos géis, onde decrescendo o pH no tratamento térmico a pH 6,5 observou-se marcadamente uma diminuição na firmeza dos géis ácidos.

Estes resultados foram explicados pelas mudanças na interação entre as soroproteínas desnaturadas com as micelas de caseínas durante o tratamento térmico, onde os níveis de soroproteínas desnaturadas associadas com as micelas

de caseínas decresceram à medida que o pH durante o tratamento térmico foi elevado (ANEMA et al., 2004). No aquecimento em pH 6,5, aproximadamente 80% das soroproteínas desnaturadas estão associadas com as micelas de caseínas, enquanto no pH 7,1 somente 30% das soroproteínas desnaturadas estão associadas com as micelas.

2.4 Analisador Rápido de Viscosidade (RVA)

O *Rapid Visco Analyser* (RVATM), ou Analisador Rápido de Viscosidade é um viscosímetro rotacional capaz de mensurar continuamente a viscosidade de uma amostra sob condições controladas de temperatura (BOOTH; BASON, 2007). É um instrumento com interface computacional, desenvolvido pela Newport Scientific (Warriewood, Austrália), para avaliar as propriedades intrínsecas à viscosidade dos amidos, cereais, massas e outros alimentos. A capacidade do RVA em suspender uma amostra no solvente mantê-la em suspensão durante todo o teste e aplicar apropriada agitação que pode ser configurada conforme processo industrial, fazem com que o mesmo tenha grande valor em inúmeros processos de pesquisas. Ele é especialmente usual para testes de matérias que exigem relativos testes complexos, usando variações de temperatura e agitação, permitindo que o material demonstre as suas propriedades em relação à viscosidade. O instrumento combinado com o software *Thermocline for Windows*TM (TCW), é capaz de aquecer e resfriar a amostra em mais de 100 diferentes gradientes de temperatura, em períodos variando de segundos ou até mais de 100 horas.

O material a ser avaliado é disposto em um porta-amostra de alumínio, juntamente com o solvente. Para hidrocolóides como o amido, normalmente são necessário 2 g a 4 g de amostra, tendo a massa final (amostra juntamente com o solvente) aproximadamente 25 g a 30 g. O solvente mais comum é a água, mas outros solventes como tampões de pH, etanol, e etileno glicol podem ser utilizados. O agitador plástico é acoplado ao sensor de torque que está diretamente ligado ao motor elétrico montado no cabeçote do RVA. Configurando o motor para altas rotações, muitas amostras em pó podem ser efetivamente e convenientemente

suspensas no solvente. O equipamento permite configurações de rotação de 0 rpm a 1200 rpm. Em relação à temperatura, diferentes perfis podem ser programados, com diferentes gradientes de aquecimento e resfriamento, sendo a temperatura máxima de 100°C.

As diferentes combinações de agitação, aquecimento e resfriamento ao longo do tempo, permitem criar curvas de viscosidade do material que mostram características como número de inflexões, picos e vales. As coletas de dados podem ser feitas a cada 0,5, 1, 2, 4 e 8 segundos entre as leituras. Estas informações podem ser utilizadas para caracterizar o material em diferentes testes (BOOTH; BASON, 2007).

Podemos definir viscosidade como sendo a resistência de um fluido ao escoamento (STEFFE, 1996). No RVA, a resistência ao escoamento da amostra que está sendo testada é mensurada pela rotação do agitador na mesma em uma velocidade conhecida. Esta resistência da amostra ao escoamento promove um torque em direção oposta à rotação. Para manter a velocidade constante, o motor diretamente ligado ao agitador, precisa fornecer um torque igual e oposto, sendo este mensurado e convertido para leitura de viscosidade.

2.5. Análise Texturométrica

Textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos, detectadas pelos sentidos da visão, audição, tato e interações entre estes (BOURNE, 2002).

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, a textura é definida como todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (ABNT, 1993).

A classificação dos termos de textura para sólidos e semissólidos levou a um método de perfil de descrição da textura (TPA) aplicável para medidas sensoriais e instrumentais (BOURNE, 2002).

Os métodos instrumentais de análise de textura avaliam propriedades mecânicas a partir de forças aplicadas ao alimento tais como compressão,

cisalhamento, corte e tensão. A Análise do Perfil de Textura (TPA) instrumental aplica sucessivas forças deformantes, numa simulação da ação de compressão e corte dos dentes durante a mastigação (LI *et al.*, 1998).

Os resultados obtidos nas avaliações de cor e textura instrumentais podem ser correlacionados a percepção humana, permitindo a compreensão do significado dessas características na avaliação da qualidade sensorial do alimento.

As análises texturométricas por meio dos equipamentos comercializados hoje representam uma análise de fácil determinação, precisão e exatidão além de compreender uma forma mais rápida e menos dependente de avaliadores. Desta forma, este tem sido hoje o método mais utilizado para esta avaliação.

Tabela 7. Principais avaliações texturométricas e suas características

Parâmetros	Definição	Determinação instrumental
Dureza	Propriedade característica de um material sólido ou pastoso, que expressa sua resistência a deformações permanentes e está diretamente relacionada com a força de ligação dos átomos.	Força máxima registrada no primeiro ciclo de penetração ou compressão. Na maior parte dos casos a dureza está relacionada com a força de ruptura do material.
Elasticidade	Materiais que se deformam ao serem submetidos a ações externas, retornando à sua forma original quando a ação externa é removida.	Porcentagem de recuperação do material. É a razão entre duas deformações e é dado por b/a .
Adesividade	É a propriedade da matéria pela qual se unem duas superfícies de substâncias iguais ou diferentes quando entram em contato, e se mantêm juntas por forças intermoleculares.	O trabalho necessário para ultrapassar as forças de atração entre o material e a superfície da sonda.
Mastigabilidade	É a sensação do trabalho de mastigação na boca devido à resistência do alimento	Energia requerida para mastigar o alimento. É dada por: $\text{gomosidade} \times \text{elasticidade}$.

Fonte: Bourne, 2002

2.6. Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística que vem sendo muito utilizada na otimização de sistemas contendo duas ou mais variáveis e que se deseja saber se ocorre interação entre essas variáveis (NETO *et al.* 2007). Os resultados obtidos por planejamentos fatoriais, muitas vezes, não seria possível de serem alcançados por métodos univariados ou, provavelmente, seria necessário um número maior de ensaios o que resultaria num tempo maior para a otimização do sistema.

Além disso, o planejamento fatorial é um recurso elegante capaz de auxiliar no planejamento dos experimentos para a obtenção dos dados de forma organizada e sistemática. Entretanto, o sucesso de um planejamento fatorial dependerá do conhecimento claro de seus objetivos e da maneira em que será estruturado e realizado (STEPHANI, 2010).

Para executar um planejamento fatorial é necessário definir quais são os fatores relevantes para o sistema e especificar os níveis em que cada fator será estudado, isto é, os valores dos fatores que serão empregados em cada ensaio.

2.6.1 Planejamento Box-Behnken

O planejamento Box-Behnken é um planejamento fatorial incompleto de três níveis, 3^k . É utilizado quando se deseja obter uma descrição mais detalhada sobre o sistema, realizando menos experimentos que seriam requeridos por um planejamento completo (FERREIRA *et al.*, 2007). O planejamento Box-Behnken permite ainda a modelagem de superfícies de resposta.

O número de ensaios, n , é definido de acordo com a Equação 1:

$$n = 2k(k-1) + n_{PC} \quad (\text{Equação 1})$$

em que: k é o número de fatores;

n_{PC} é o número de réplicas no ponto central.

Para um planejamento Box-Behnken 3x5 com triplicata no ponto central, ou seja, 3 níveis de pH e 5 níveis de concentrados proteicos. A matriz de planejamento é mostrada na TABELA 8.

TABELA 8 Matriz de planejamento para um Box-Behnken 3x5

Exp.	X₂	X₁
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	1
4	-0.5	-1
5	-0.5	0
6	-0.5	1
7	0	-1
8	0	0
9	0	1
10	0.5	-1
11	0.5	0
12	0.5	1
13	1	-1
14	1	0
15	1	1
16	0	0
17	0	0

3. MATERIAL E MÉTODOS

Diante da diversidade de configurações possíveis para a realização da análise no simulador de processamento térmico, RVA, foram realizados ensaios prévios com o objetivo de definir a melhor configuração de processamento térmico, faixa de pH de estudo, além da definição da melhor concentração a ser utilizada. No caso deste estudo, os concentrados protéicos selecionados puderam ser classificados quanto à origem da sua obtenção (derivado de leite ou derivado de soro), onde ambos apresentam a mesma faixa especificada para o teor de proteína.

O delineamento experimental empregado foi determinado após a realização dos testes preliminares, que consistiram na avaliação da influência das

concentrações de cada concentrado protéico e as faixas de pH que melhor respeitaram os limites de trabalho do equipamento.

A definição da avaliação tecnológica destes concentrados protéicos aplicados a um derivado lácteo foi realizada após todos os ensaios no RVA, onde se avaliou o real interesse do aprofundamento técnico e a representatividade destas variações tecnológicas encontradas nos ensaios do simulador de processamento térmico.

3.1 Amostras dos concentrados protéicos desidratados

Foram selecionados dois tipos de concentrados protéicos desidratados para avaliação, estando os critérios de escolha relacionados às seguintes importâncias: uso industrial no Brasil, importância econômica atual, amplitude de utilização em diferentes áreas e prospecção de utilização futura.

Desta forma, uma amostra de produção industrial de cada concentrado protéico foi previamente selecionada, levando em consideração a qualidade dos produtos e data de fabricação. Os produtos foram gentilmente adquiridos e fornecidos pela empresa Gemacom Tech e estão descritos na TABELA 9.

TABELA 9 Concentrados protéicos avaliados e sua origem

Produto	Origem
Concentrado protéico de leite em pó (MPC70)	EUA
Concentrado protéico de soro em pó (WPC70)	EUA

Não foram utilizadas amostras de referência produzidas em escala laboratorial, devido à dificuldade de encontrar fornecedores e também pelo objetivo do trabalho em obter resultados que possam ser levados para o ambiente produtivo de maneira mais direta.

3.2. Caracterização físico-química

Os produtos foram analisados no Laboratório de Pesquisa do Instituto de Laticínios Cândido Tostes da EPAMIG e Laboratório de Pesquisa Desenvolvimento e Inovação da Gemacom Tech, segundo os componentes de maior interesse para o estudo em questão: teor de gordura, proteína, cinzas, lactose, pH, umidade e concentração de proteína na base seca. Assim, foram determinadas as seguintes análises para os produtos apresentados na TABELA 10.

TABELA 10 Análises físico-químicas dos concentrados protéicos

Análises	Concentrado protéico de leite	Concentrado protéico de soro
Gorduras Totais	AOAC 989.05	AOAC 989.05
Umidade	AOAC 925.45	AOAC 925.45
Proteína Total	AOAC 991.20	AOAC 991.20
Proteína na base seca	Cálculo	Cálculo
Lactose	Cálculo	Cálculo
Resíduo Mineral Fixo (RMF)	AOAC 900.02	AOAC 900.02
pH	AOAC 981.12	AOAC 981.12

3.3. Processamento térmico

Foi pré-selecionado o processamento térmico à 95°C por 5 minutos, por ser o mais utilizado para o processamento de queijos processados, leites fermentados, petit suisse, creme de leite pasteurizado e bebidas lácteas aromatizadas pasteurizadas pelas indústrias de laticínios.

3.4. Preparo das amostras e ajuste do pH

Com o objetivo de avaliar o efeito das diferentes proporções de MPC/WPC no comportamento reológico durante o tratamento térmico, os tratamentos foram divididos conforme TABELA 11:

TABELA 11 – Proporções de concentrados protéicos nos tratamentos avaliados

Tratamentos	Níveis				
	T1	T2	T3	T4	T5
MPC/WPC (%)	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0

Os ensaios foram realizados em duplicatas réplicas autênticas das amostras utilizando água como solvente, juntamente com hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ou ácido láctico $90\% \text{m.v}^{-1}$ para ajuste do pH. Todas as pesagens foram realizadas diretamente no copo de ensaio do RVA sempre calculando a dosagem para obter a concentração de $0,3\text{g}$ de base seca por grama de água ($\text{g base seca/g água}$) e quantidade final aproximada em $27,5 \text{ g}$. Os produtos desidratados foram mantidos em embalagens herméticas devido às características higroscópicas das amostras, evitando assim absorção de umidade. Antes do preparo dos ensaios, análises de umidade foram feitas para se obter o cálculo exato da quantidade de amostra a ser utilizado devido a sua concentração de base seca.

Para garantir a completa uniformização das soluções a serem analisadas, a rotação do RVA foi configurada para 1000 rpm durante os primeiros 60 segundos , a uma temperatura constante de 30°C .

As soluções tiveram o pH ajustado para $6,0$; $6,5$ e $7,0$, com variação máxima aceitável de $\pm 0,1$ unidades de pH, utilizando solução $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de hidróxido de sódio ou ácido láctico $90\% \text{m.v}^{-1}$.

3.5 Configurações do *Rapid Visco Analyser* (RVA)

O equipamento utilizado neste trabalho foi o modelo *4500* da PERTEN INSTRUMENTS instalado na unidade industrial do município de Guarani, Minas Gerais, da empresa GEMACOM TECH e gentilmente cedido para os estudos. O software utilizado para coleta dos dados foi o *Thermocline for Windows*, TCW. As

configurações das simulações de processamento térmico estão descritas na TABELA 12:

TABELA 12 Configurações do processamento térmico (95°C por 5 minutos)

Tempo	Comando	Valor
0 min 00 s	Temperatura (°C)	30
0 min 00 s	Rotação (rpm)	1000
1 min 00 s	Rotação (rpm)	150
1 min 00 s	Temperatura (°C)	30
8 min 00 s	Temperatura (°C)	95
13 min 00 s	Temperatura (°C)	95
20 min 00 s	Temperatura (°C)	30
25 min 00 s	Temperatura (°C)	30
25 min 01 s	Término	X

De acordo com a configuração do equipamento, o intervalo entre as leituras de viscosidade foi de 4 segundos.

Os gradientes de aquecimento e resfriamento também foram padronizados no nível de 9,3°C por minuto.

Os perfis viscográficos obtidos foram interpretados em relação à viscosidade final obtida após todo o processamento térmico definido na TABELA 12.

A definição de avaliação somente do parâmetro viscosidade final, foi realizada avaliando a representatividade de todos os pontos apresentados no gráfico juntamente com seu interesse para área tecnológica assim como o histórico de resultados e avaliações realizados no estudo descrito por Stephani (2010).

Os 5 minutos finais do processamento foi utilizado com o objetivo de simular o stress mecânico final ocorrido na grande maioria dos processos industriais.

3.6 Planejamento fatorial Box-Behnken 3x5 para viscosidade final após processamento térmico no RVA

Para estudo da otimização da aplicação das diferentes misturas de concentrados protéicos e pH durante o processamento térmico, um planejamento fatorial Box-Behnken 3x5 foi realizado a fim de avaliar o efeito do processamento

térmico sobre as características destas diferentes misturas e pH's, mediante o monitoramento da viscosidade final (V_F) obtida pelas soluções após o completo ciclo de aquecimento e resfriamento. Os fatores selecionados estão apresentados na TABELA 13.

TABELA 13 Matriz de planejamento para um Box-Behnken 3x5

		Níveis				
Fatores		(-1)	(-0.5)	(0)	(0.5)	(1)
X_1 - pH		6.0		6.5		7.0
X_2 - MPC / WPC (%)		0/100	25/75	50/50	75/25	100/0

Exp.	X_2	X_1
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	1
4	-0.5	-1
5	-0.5	0
6	-0.5	1
7	0	-1
8	0	0
9	0	1
10	0.5	-1
11	0.5	0
12	0.5	1
13	1	-1
14	1	0
15	1	1
16	0	0
17	0	0

A TABELA 13 apresenta a matriz de planejamento, com as combinações dos níveis e dos fatores, onde os experimentos 8, 16 e 17 são réplicas do ponto central. Os procedimentos foram realizados de forma aleatória por meio de sorteio.

3.7. Avaliação tecnológica do efeito dos concentrados protéicos na fabricação de queijos processados cremosos

Após avaliação dos perfis de viscosidade foi realizado a seleção dos quatro tratamentos de maior variabilidade para aplicação em queijo processado cremoso, sendo esta seleção realizada a partir dos resultados encontrados na avaliação em RVA. Os mesmos foram aplicados em duplicatas réplicas autênticas na formulação descrita na TABELA 14, onde foi realizado o processamento em três condições diferentes: Tratamento 1: Controle de pH por meio da adição de ácido cítrico no início da fabricação; Tratamento 2: sem adição de ácido cítrico para controle do pH final do produto; Tratamento 3: adição de ácido cítrico para controle do pH final no momento do término do processamento.

TABELA 14 – Formulação dos Queijos Processados Cremosos

Ingredientes	Quantidades
Creme de Leite	500 g
Massa Láctea	255 g
Concentrado Protéico	112,5 g
Citrato de Sódio	10 g
Tripolifosfato de sódio	6,4 g
Água	111,1 g
Cloreto de Sódio	3 g

Foi realizada a adição de 2 g de ácido cítrico nos tratamentos 1 e 3 para obtenção do pH final de 5,6 desejado para este tipo de produto.

Além dos tratamentos descritos acima durante o processamento do produto a avaliação foi realizada utilizando os seguintes concentrados protéicos selecionados, apresentados na TABELA 15, após etapa de avaliação reológica no RVA.

O processamento foi realizado em equipamento de aquecimento indireto e alta rotação, Thermomix, da empresa Vorwerk. Todos os ingredientes foram adicionados no início da fabricação, sendo o aquecimento realizado à 90°C sendo mantido nesta temperatura por 3 minutos. A rotação utilizada varou entre 4.000 à 5.000 rpm.

TABELA 15 – Proporções de concentrados protéicos utilizados na produção dos queijos processados

Tratamentos	Níveis			
	T1	T2	T3	T4
MPC/WPC (%)	0/100	50/50	75/25	100/0

3.8. Análise de Perfil de Textura

O perfil de textura foi obtido por teste de dupla compressão das amostras de queijo processado em analisador de textura CT3 (Brookfield). As condições utilizadas nos testes foram: tipo de teste: Análise do Perfil de Textura (TPA); velocidade de teste: 1,0 mm/s; distância de compressão: 10 mm; força mínima de contato: 10,0 g; probe utilizada: cilindro de acrílico de altura: 20mm; Largura: 40mm; e diâmetro: 38,1mm. Os dados foram coletados no programa “TexturePro CT V1.2”.

Foram analisados os parâmetros dureza, adesividade, elasticidade e mastigabilidade. Para cada amostra foram realizadas duas repetições.

3.9. Análise estatística dos dados

Os resultados de viscosidade final obtidos nas avaliações utilizando RVA foram analisados através da superfície de resposta no experimento Box-Behnken 3x5 onde os cálculos dos efeitos foram obtidos pelo emprego do programa Microsoft Excel 2007 (Microsoft Co.).

Os resultados obtidos no teste de perfil de textura foram analisados por meio da aplicação do coeficiente de correlação e da regressão, a fim de concluir sobre a definição dos principais fatores a serem avaliados na interpretação do efeito dos tratamentos no perfil de textura dos queijos processados. Também foram conduzidas análises de variância (ANOVA) a fim de testar as diferenças nas variáveis estudadas com os concentrados protéicos em relação à proporção e a forma de ajuste do pH final do produto. O teste de médias Tukey também foi utilizado para definição do

nível de significância da variação entre os tratamentos. Empregou-se o programa SISVAR versão 5.3 para análises estatísticas.

Para a análise de regressão foram aceitos os modelos que apresentaram nível de significância igual ou menor que 5% para modelo e para a análise de correlação, foram aceitos coeficientes com nível de significância igual ou menor que 5%.

3.10. Análise visual da textura em queijos e em RVA

A análise visual da textura em queijos e em RVA foi realizado após todo o processamento térmico empregado nestas avaliações. Esta avaliação, foi realizada somente através da comparação visual da diferença de textura nos produtos, sendo apresentadas neste trabalho através do emprego de fotografia.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização Físico-Química dos Concentrados Protéicos

A composição dos concentrados protéicos lácteos é um fator importante dentro do estudo reológico nas condições de processamento térmico. Com a determinação do teor de umidade de cada produto consegue-se utilizar uma quantidade fixa de sólidos totais a ser empregado em cada ensaio, eliminando assim a possibilidade de variação causada por diferentes teores de umidade. Assim, os cálculos de preparo das soluções utilizaram como referência o teor de sólidos totais de cada concentrado protéico, obtendo assim soluções referentes à matéria seca em água (g.g^{-1}).

Outros dados importantes obtidos na caracterização química das amostras foram os teores de proteína e gordura. A proteína na base seca também é uma forma mais usual de trabalho com os concentrados protéicos, devido à característica de higroscopicidade dos mesmos e possibilidade de erro analítico devido ao ganho de umidade e conseqüentemente de massa do produto e diminuição percentual no teor de proteína total.

A Tabela 16 mostra os teores de proteína, gorduras totais, umidade, lactose, resíduo mineral fixo e ainda o pH dos concentrados protéicos utilizados nas simulações de processamento térmico em RVA deste estudo, condizentes aos dados da bibliografia (SINGH, 2009).

A concentração de proteína é um dos principais fatores a ser observado quando se trabalha com concentrado protéico. O WPC e o MPC utilizados neste estudo foram de alto teor protéico (variando de $643,6 \text{ g.g}^{-1}$ à $652,9 \text{ g.g}^{-1}$). Assim, com as aplicações realizadas à $0,3\text{g.g}^{-1}$ tem-se o teor de proteína em cada ensaio de processamento térmico, conforme apresentado na Tabela 17.

Avaliando a Tabela 17 é possível verificar a padronização do teor de proteína em todas as avaliações realizadas, onde partindo das concentrações protéicas apresentadas na Tabela 16 e utilização da concentração de $0,3\text{g.g}^{-1}$ na solução a ser utilizada no ensaio, obteve-se um teor constante de $0,2 \text{ g}$ de proteína em cada grama de água utilizada na preparação da amostra.

TABELA 16 Resultados das análises físico-químicas dos concentrados protéicos

Análises	100% WPC	75%WPC / 25% MPC	50%WPC / 50% MPC	25%WPC / 75% MPC	100% MPC
Gorduras Totais (g.kg ⁻¹)	16,0	15,0	12,0	10,0	8,0
Umidade (g.kg ⁻¹)	54,0	53,0	52,5	52,0	51,0
Proteína Total (g.kg ⁻¹)	643,6	645,0	648,3	651,0	652,9
Proteína na base seca ¹ (g.kg ⁻¹)	680,0	682,0	684,0	688,0	688,0
Lactose ¹ (g.kg ⁻¹)	254,4	215,0	175,1	135,08	95,7
RMF (g.kg ⁻¹)	32,0	45,0	51,5	61,0	71,0
pH	6,30	6,46	6,62	6,80	6,85

¹ valores calculados

TABELA 17 Teor de proteína nas soluções utilizadas para os ensaios no RVA

Análises	100% WPC	75%WPC / 25% MPC	50%WPC / 50% MPC	25%WPC / 75% MPC	100% MPC
Proteína na base seca (g.kg ⁻¹)	680,0	682,0	683,0	688,0	688,0
Proteína em solução 0,3g.g ⁻¹ (g.g ⁻¹)*	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

*valor calculado

4.2. Perfis viscográficos dos concentrados protéicos em diferentes valores de pH e superfície de resposta obtida para os tratamentos

Os perfis viscográficos dos diferentes concentrados protéicos em condições simuladas de processamento térmico estão apresentados nas figuras 2 à 6, onde em cada gráfico temos o perfil do concentrado protéico em cada pH.

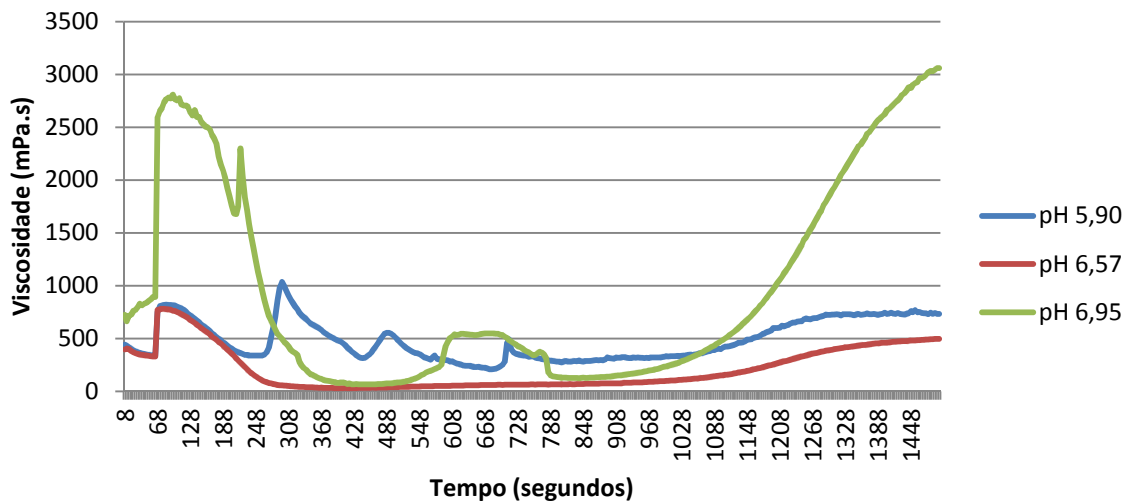


Figura 2 – Perfil Viscográfico dos tratamentos 100% concentrado protéico de leite em diferentes pH em RVA

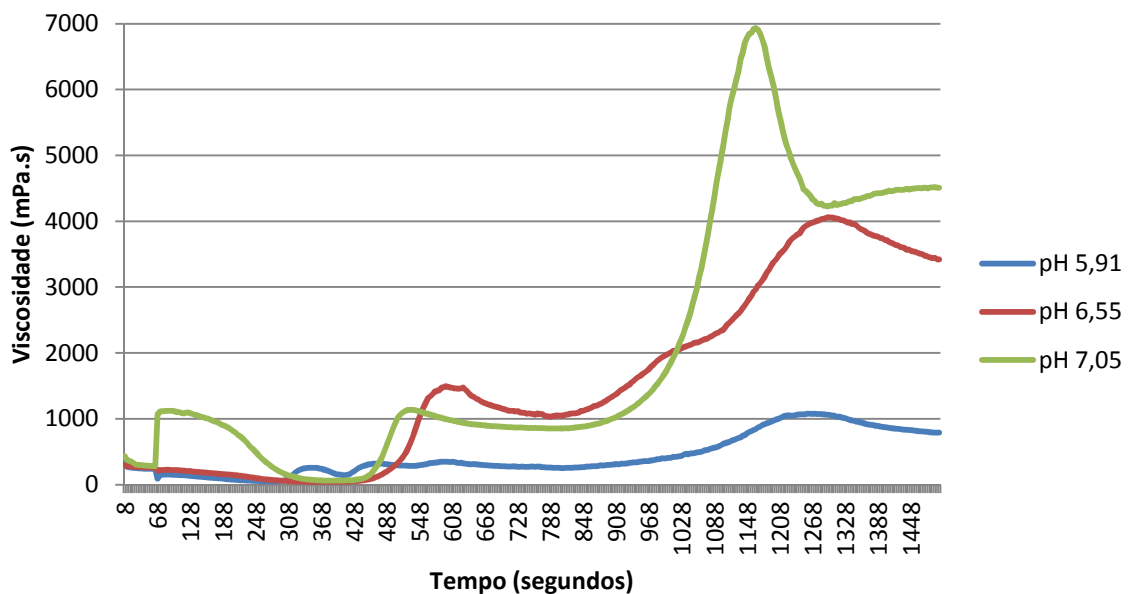


Figura 3 – Perfil Viscográfico dos tratamentos 75% MPC e 25% WPC em diferentes pH em RVA

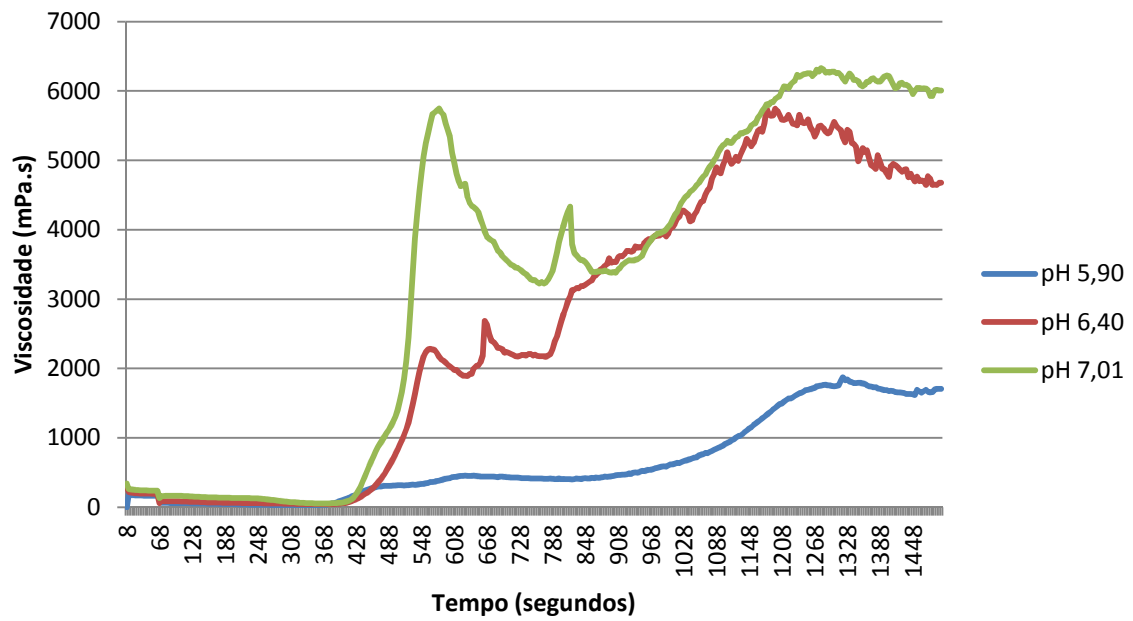


Figura 4 – Perfil Viscográfico dos tratamentos 50% MPC e 50% WPC em diferentes pH em RVA

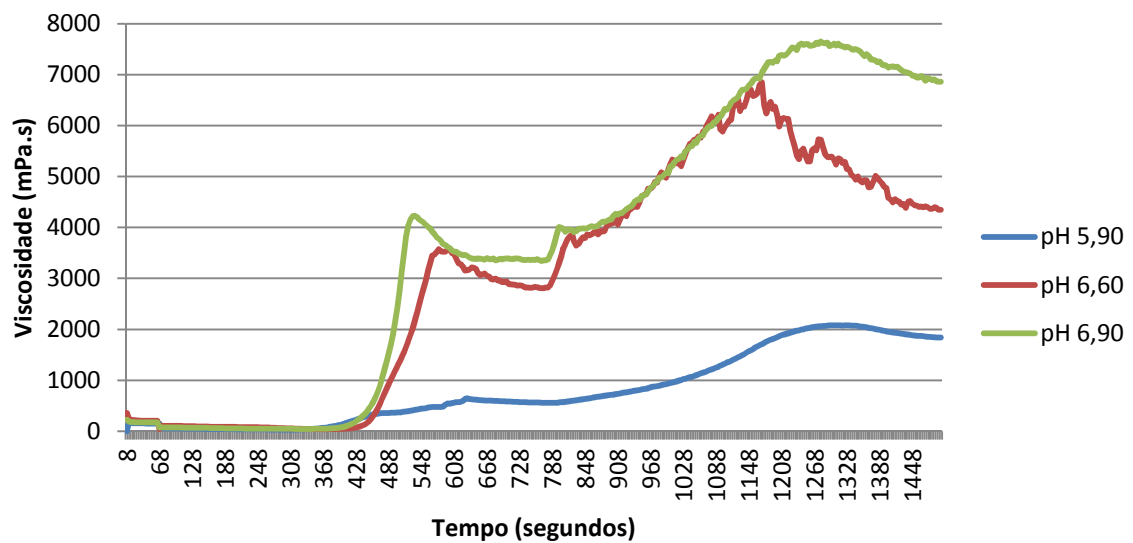


Figura 5 – Perfil Viscográfico dos tratamentos 25% MPC e 75% WPC em diferentes pH em RVA

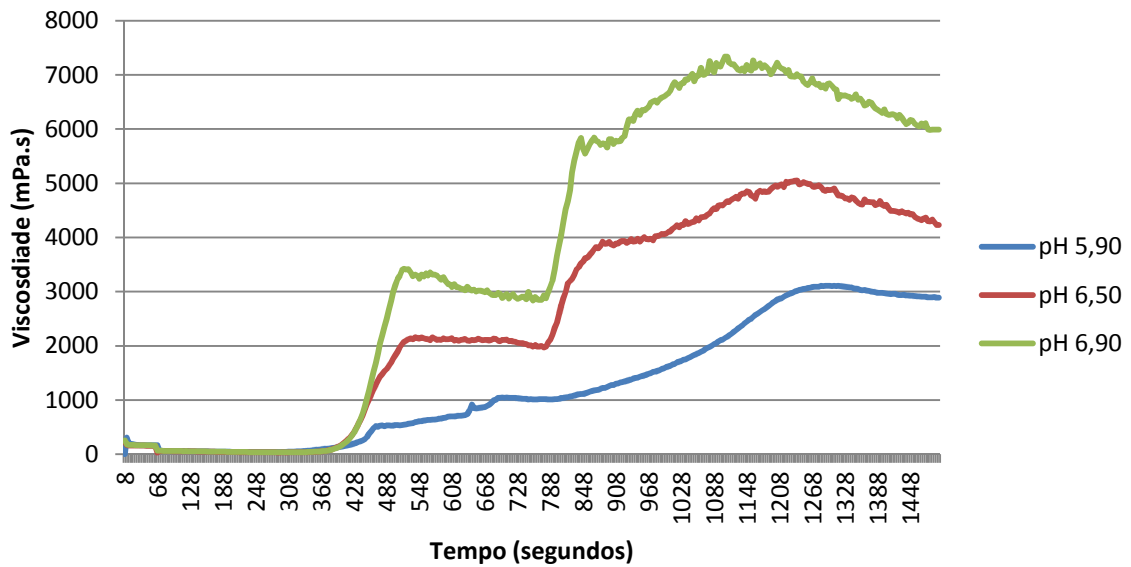


Figura 6 – Perfil Viscográfico dos tratamentos 100% Concentrado Protéico de Soro em diferentes pH em RVA

De acordo, com as avaliações realizadas nos diferentes valores de pH foi possível agrupar os diferentes tratamentos conforme apresentado nas Figuras 7 à 9.

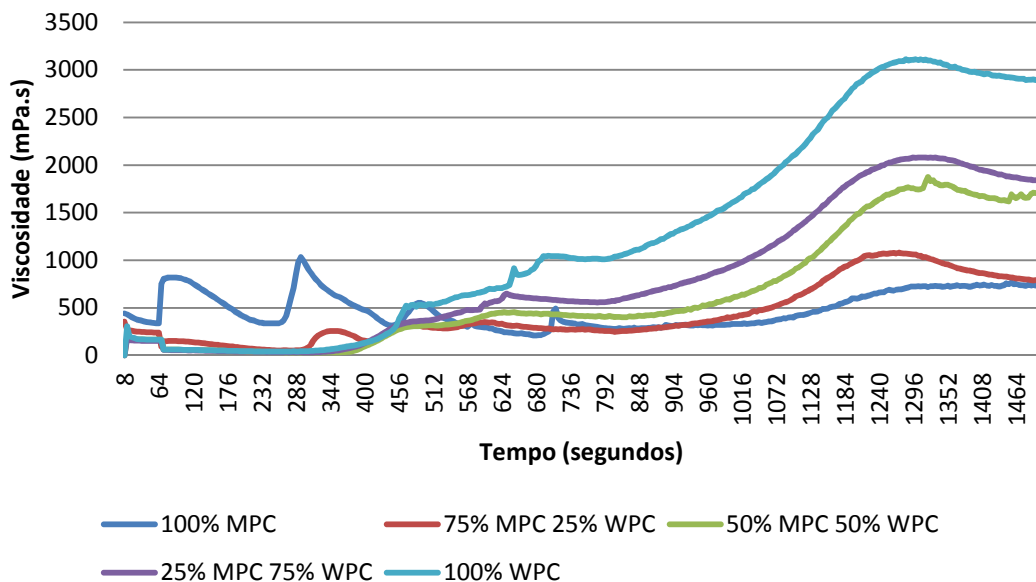


Figura 7 – Perfis viscográficos dos diferentes níveis de concentrado proteico em condições simuladas de processamento térmico e pH 6,0

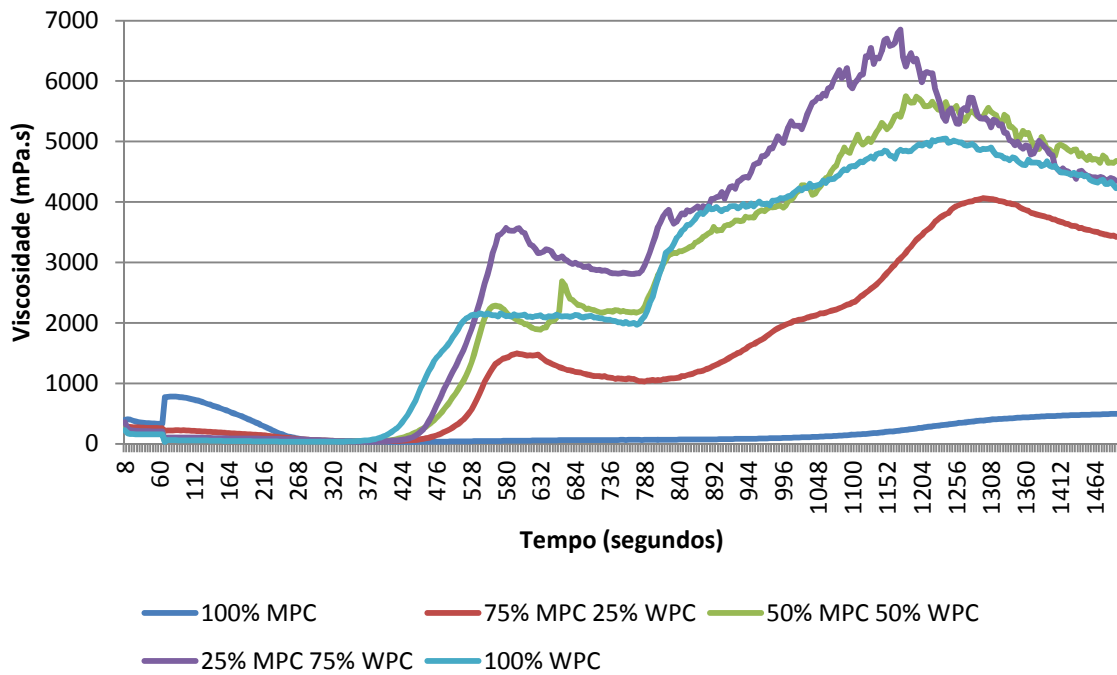


Figura 8 – Perfis viscosográficos dos diferentes níveis de concentrado proteico em condições simuladas de processamento térmico e pH 6,5

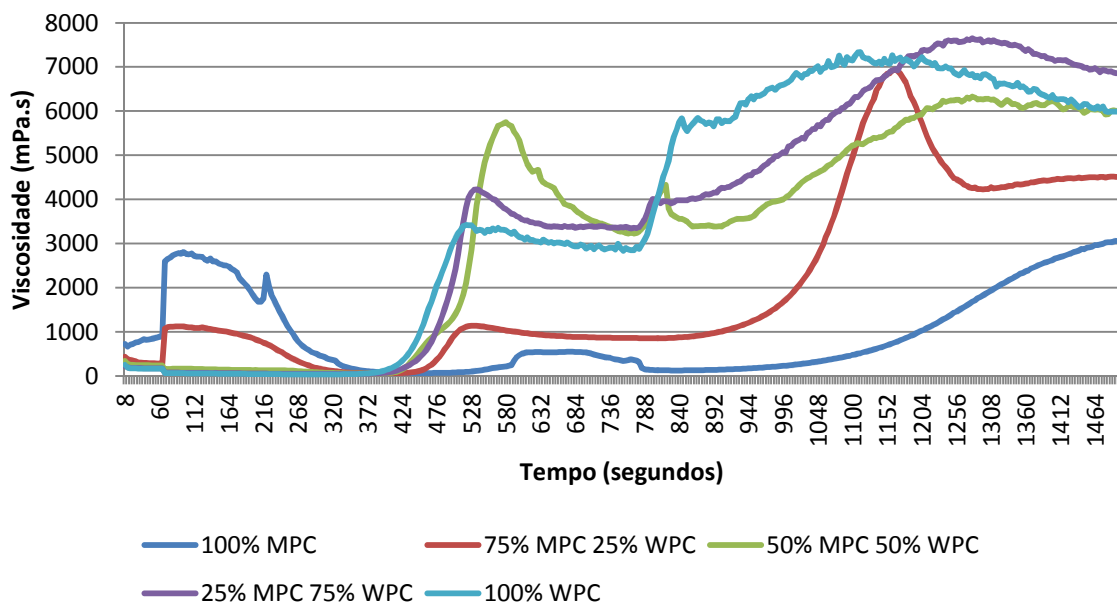


Figura 9 – Perfis viscosográficos dos diferentes níveis de concentrado proteico em condições simuladas de processamento térmico e pH 7,0

O estudo da viscosidade de proteínas permite determinar a relação entre as interações das moléculas protéicas, as funcionalidades das mesmas e também as propriedades de processamento, as quais impactam diretamente na configuração das linhas de industrialização, no gasto energético, na qualidade do produto final e na otimização do uso das matérias-primas.

A utilização do RVA como simulador de processamento industrial representa uma importante base para avaliação das características e alterações ocorridas durante o tratamento térmico utilizando a variação de viscosidade como parâmetro para observação das interações e alterações estruturais. Nesta avaliação é possível determinar a viscosidade máxima durante o processamento, a queda de viscosidade após processamento térmico, a temperatura mínima para se atingir a alteração requerida ou não em um produto e a viscosidade final após o tratamento térmico.

Para avaliação das alterações reológicas ocorridas nas diferentes combinações de concentrados protéicos foi utilizado somente a viscosidade final (V_F) após processamento, que representa a etapa final onde todas as alterações já ocorreram, sendo assim o ponto de avaliação de grande representatividade nos processos industriais.

Com esta avaliação tem-se uma importante observação da capacidade de absorção de água de uma determinada formulação, que é uma das propriedades de grande importância tecnológica para as indústrias, pois proporciona uma ampla variedade de aplicações com foco não somente no processo mas também no perfil do produto final a ser obtido.

Além dos diferentes pontos de coleta da viscosidade, o RVA fornece um perfil viscográfico completo da amostra avaliada, possibilitando utilizar um conjunto maior de dados para caracterizar diferentes matrizes e comportamentos reológicos. O RVA também se apresenta como um equipamento de alta sensibilidade à observação da variação de viscosidade ocorrida durante o processamento térmico.

Os perfis gráficos apresentados forneceram os valores de viscosidade final para cada tipo de produto e pH, que serão apresentados na TABELA 18.

TABELA 18 – Matriz de planejamento fatorial completo Box Behnken 3x5 e resultados de viscosidades finais (mPa.s)

Fatores	Níveis				
	(-1)	(-0.5)	(0)	(0.5)	(1)
X ₁ - pH	6.0		6.5		7.0
X ₂ - MPC/ WPC (%)	0/100	25/75	50/50	75/25	100/0

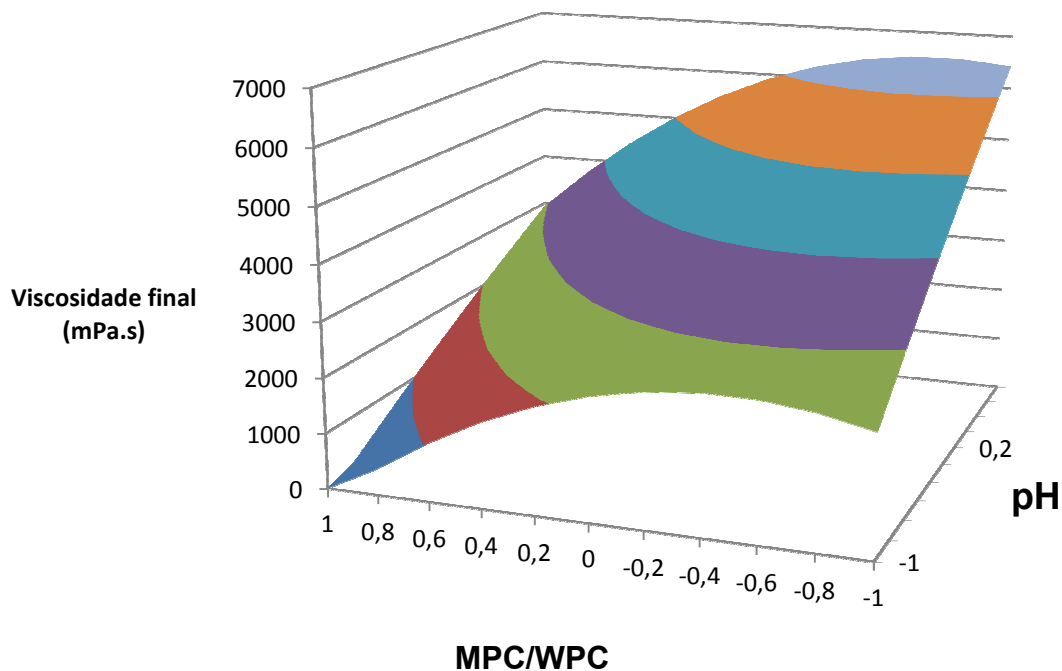
MPC – concentrado protéico de leite;
WPC – concentrado protéico de soro

Exp.	X ₂	X ₁	Viscosidade Final
1	-1	-1	2892 mPa.s
2	-1	0	4230 mPa.s
3	-1	1	5991 mPa.s
4	-0.5	-1	1840 mPa.s
5	-0.5	0	4348 mPa.s
6	-0.5	1	6859 mPa.s
7	0	-1	1705 mPa.s
8	0	0	4678 mPa.s
9	0	1	6006 mPa.s
10	0.5	-1	790 mPa.s
11	0.5	0	3422 mPa.s
12	0.5	1	4511 mPa.s
13	1	-1	733 mPa.s
14	1	0	496 mPa.s
15	1	1	3060 mPa.s
16	0	0	4376 mPa.s
17	0	0	4493 mPa.s

Analisando os resultados da TABELA 18, verifica-se que o maior valor de V_F obtido (6859 mPa.s) foi na condição de 25% WPC e 75% MPC em pH 7,0 e a menor V_F (496 mPa.s) em condição de 100% MPC e pH 6,0. Estes resultados demonstram a influência destas variáveis no grau de desnaturação térmica das soroproteínas dos concentrados protéicos durante o processamento térmico. Isto pode ser explicado pela diferença de concentração de soroproteínas de acordo com a proporção de WPC/MPC.

Pelo modelo pode-se observar que as variáveis x_1 e x_2 foram significativas para o intervalo de 95% de confiança, sendo que x_1 apresentou efeito positivo e x_2 negativo para a resposta viscosidade final. Contudo, o efeito de interação não foi significativo para o intervalo investigado. Apesar da pequena falta de ajuste do modelo para $\alpha = 0,05$ (p -valor = 0,0475) a superfície de resposta foi obtida e confirmada através de análises realizadas nos intervalos não verificados na obtenção inicial do modelo.

Figura 10 – Superfície de Resposta obtidas para viscosidade final com diferentes concentrados protéicos no RVA



Pela análise de superfície de resposta infere-se que a viscosidade final tende a aumentar quando x_1 (pH) é mantida no nível alto e x_2 (relação MPC / WPC) no nível baixo, respectivamente. Por outro lado a viscosidade é a menor possível quando x_1 é mantida no nível baixo para x_2 no nível alto. Desta forma podemos descrever a avaliação da seguinte forma:

- Em pH 7,0 e 100% de concentrado protéico de soro resulta em maior viscosidade final.
- em pH 6,0 e 100% de concentrado protéico de leite resulta em menor viscosidade final.

Finalmente, com este modelo ajustado, permite-se obter informação a respeito da viscosidade em função da variação do pH e do percentual de concentrado protéico de soro ou leite adicionado dentro dos níveis estudados.

Assim, confirma-se o fato onde quando o leite é aquecido, reações competitivas e interdependentes ocorrem e a importância de cada reação é determinada pela condição de aquecimento ou composição/concentração do leite ou mesmo de cada tipo de proteína. Considerando a composição protéica do leite, a reação de particular importância representa a desnaturação das soroproteínas, as interações das soroproteínas com outras proteínas e a reação de dissociação da micela de caseínas.

Dannenbergh e Kessler (1998), mostraram como a cinética de desnaturação térmica das soroproteínas possui efeito significativo nas temperaturas acima de 90°C, principalmente na β -LG e α -LA. A alteração na conformação protéica aumenta a área superficial disponível e expõe peptídeos e cadeias laterais de aminoácidos, antes escondidos que, desta forma, podem interagir com a água aumentando assim a viscosidade.

Sodini et al., (2005), avaliando o efeito da adição de concentrado protéico de soro em iogurte verificaram que o pH e o tratamento térmico dos concentrados protéicos tem um significativo efeito na propriedade física do iogurte. Neste estudo foi visto que o alto pH é mais favorável para obtenção melhores propriedades tecnofuncionais na produção de iogurte.

Anema et al. (2004), têm mostrado que o pH do leite no tratamento térmico pode modificar as propriedades de géis ácidos preparados após tratamento térmico do leite. Comparado com amostras aquecidas no pH natural, incrementando o pH no tratamento térmico para aproximadamente pH 7,1 incrementou a firmeza dos géis, onde decrescendo o pH no tratamento térmico a pH 6,5 observou-se marcadamente uma diminuição na firmeza dos géis ácidos. Estes resultados foram explicados pelas

mudanças na interação entre as soroproteínas desnaturadas com as micelas de caseínas durante o tratamento térmico, onde os níveis de soroproteínas desnaturadas associadas com as micelas de caseínas decresceram à medida que o pH durante o tratamento térmico foi elevado. No aquecimento em pH 6,5, aproximadamente 80% das soroproteínas desnaturadas estão associadas com as micelas de caseínas, enquanto no pH 7,1 somente 30% das soroproteínas desnaturadas estão associadas com as micelas.

Esta mesma avaliação foi observada por Law & Leaver (2000), que destacaram que a reação de desnaturação da β -LG e α -LA é acentuada quando o pH do leite é incrementado e retardada quando o pH é reduzido. Outra observação em relação a este grupo de proteína podemos ainda citar o aumento das interações hidrofóbicas ocorridas após a desnaturação o que representa um grande fator de impacto na perda de solubilidade destas proteínas.

Diante deste cenário, confirma-se a obtenção de maior viscosidade quando utilizado somente 100% WPC ou 75%WPC / 25%MPC, ambos em pH 7,0, onde é conhecida a maior concentração de soroproteínas que representam as proteínas de impacto dentro do estudo da desnaturação térmica protéica de produtos lácteos.

4.3. Estudo da aplicação de concentrados protéicos de soro e leite em diferentes proporções na produção de queijos processados

Após as devidas fabricações para obtenção dos queijos processados, foram realizadas análises textuométricas conforme resultados apresentados na TABELA 19.

Diante da interpretação dos resultados, foi realizado o teste estatístico ANOVA por meio dos dois fatores de estudo: ajuste do pH e concentração MPC/WPC, verificando assim cada fator isolado e a interação entre os mesmos. Desse modo, foi obtido três fontes de variação: Ajuste do pH, concentração MPC/WPC e a interação Ajuste do pH x Concentração MPC/WPC, que serão analisados para cada parâmetro presente no estudo de textura.

TABELA 19. Resultados das análises de perfil de textura nos diferentes tratamentos de queijos processados

Tratamentos	Níveis			
	T1	T2	T3	T4
Sem ajuste pH (pH 6,2± 0,1)	100%	75%/25%	50%/50%	100%
	MPC			WPC
Dureza (g)	1689	940	1007	1887
Adesividade (mJ)	51	21	21	0,2
Elasticidade (mm)	14	11	10	8
Mastigabilidade (mJ)	158	71	62	91
Ajuste de pH inicial (pH 5,6± 0,1)	100%	75%/25%	50%/50%	100%
	MPC			WPC
Dureza (g)	1066	758	1006	1585
Adesividade (mJ)	25	23	14	0,2
Elasticidade (mm)	12	10	8	7
Mastigabilidade (mJ)	64	54	41	55
Ajuste de pH final (pH 5,6± 0,1)	100%	75%/25%	50%/50%	100%
	MPC			WPC
Dureza (g)	1079	781	1010	1685
Adesividade (mJ)	37	21	12	0,2
Elasticidade (mm)	13	11	7	7
Mastigabilidade (mJ)	100	60	37	74

4.3.1. Dureza

Em relação ao atributo dureza, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao ajuste de pH e em relação a proporção de WPC/MPC. Já em relação à interação entre estes dois fatores não foi observado diferença significativa ($p < 0,05$).

TABELA 20. Análise de Variância – Dureza

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Ajuste pH	2	363806,0625	181903,0312	0,0044*
Concentração WPC	3	2710260,2812	903420,0937	0,0000*
Ajuste pH x Concentração WPC	6	276978,9375	46163,1562	0,1110
Erro	12	247796,3750	20649,6979	
Total Corrigido	23	3598841,65625		

Em relação ao ajuste de pH, foi aplicado teste de Tukey conforme resultado apresentado abaixo:

TABELA 21. Teste de Médias Tukey – Dureza

Tratamentos	Médias	
Ajuste pH Inicial	1103,56	A1
Ajuste pH Final	1138,62	A1
Sem ajuste pH	1380,50	A2

De acordo com os resultados apresentados para o teste de média verifica-se uma diferença significativa para o parâmetro dureza em relação ao tempo de ajuste do pH durante o processamento de queijos processados cremosos. Assim, com a avaliação realizada verificamos uma diferença significativa ($p < 0,05$) do tratamento sem ajuste de pH para os tratamentos onde houveram algum tipo de ajuste. Com esta avaliação é possível observar o efeito do pH sobre a dureza do produto, onde no tratamento sem ajuste de pH, ou seja, quando o processamento é realizado em pH mais elevado ($\text{pH } 6,2 \pm 0,1$) foi obtido um maior resultado para este parâmetro comparado aos tratamentos com ajuste de pH ($5,6 \pm 0,1$).

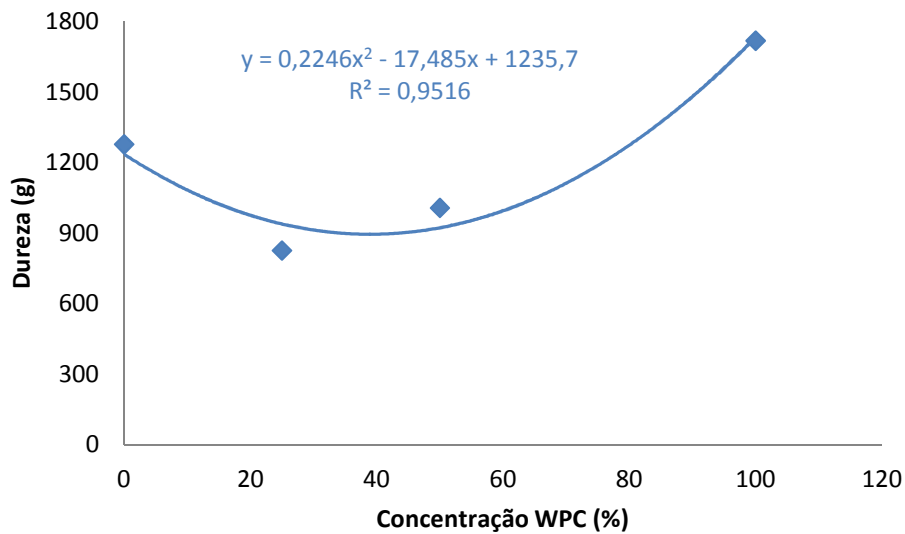


Figura 11. Análise de Regressão – Dureza

Avaliando a influência da proporção de WPC/MPC no parâmetro dureza, percebe-se uma redução no valor deste até o nível de 40%WPC/60%MPC, atingindo o maior valor quando o nível de WPC atinge 100% dentro da proporção de concentrado protéico utilizado.

4.3.2. Adesividade

Em relação ao atributo adesividade, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao ajuste de pH, em relação a proporção de WCP/MCP e em relação à interação entre estes dois fatores.

TABELA 22. Análise de Variância – Adesividade

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Ajuste pH	2	266,6407	133,3203	0,0103*
Concentração WPC	3	4340,6555	1446,8851	0,0000*
Ajuste pH x Concentração WPC	6	517,1228	86,1871	0,0136*
Erro	12	233,0586	19,4215	
Total Corrigido	23	5357,4777		

Para a visualização da tendência dos dados, tem-se a regressão do desdobramento do ajuste do pH dentro da proporção WPC/MPC. Desta maneira, pode-se visualizar a influencia do pH e da concentração de WPC/MPC na adesividade.

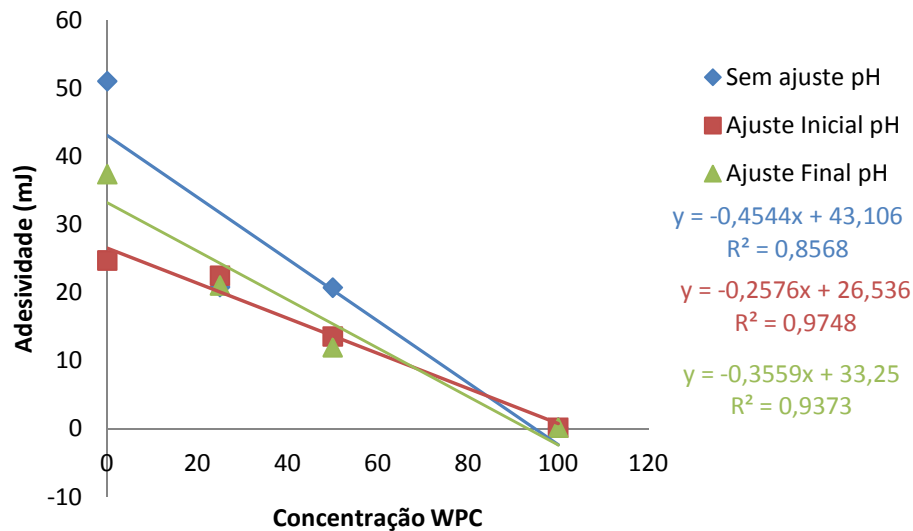


Figura 12. Análise de Regressão – Adesividade

Para melhor visualização da diferença entre os tratamentos tem-se a Tabela 23, onde foi realizado o teste de médias para facilitar a obtenção do grau de significância das variações.

TABELA 23. Teste de Médias Tukey - Adesividade

Concentração WPC	Ajuste pH			Média
	Sem ajuste	Ajuste Inicial	Ajuste final	
0	51,08 Ac	24,75 Bb	37,42 Cc	37,75 c
25	20,86 Ab	22,52 Ab	21,09 Ab	21,49 b
50	20,77 Ab	13,59 Ab	13,01 Ab	15,46 b
100	0,20 Aa	0,20 Aa	0,20 Aa	0,20 a
Média	22,23 B	15,27 A	17,68 AB	

As letras maiúscula diferenciam as amostra entre as linhas e as letras minúsculas diferenciam as colunas pelo Teste de Tukey a 5%

Assim, analisando a primeira coluna, quando não houve ajuste de pH, a concentração do WPC influenciou na adesividade, sendo que na concentração de 0% de WPC a adesividade foi maior, seguida pela concentração de 25%, 50% e

100% respectivamente. Quando o ajuste de pH foi realizado no momento inicial da produção somente foi observado diferença significativa em relação ao tratamento com 100% de WPC, sendo este o menor valor entre os tratamentos. Avaliando o ajuste de pH no momento final da fabricação obteve-se a mesma diferença observada no tratamento sem ajuste de pH.

Já analisando a primeira linha, na concentração de 0% de WPC o ajuste do pH influenciou na adesividade, sendo que quando não houve ajuste de pH a adesividade foi maior, que quando teve ajuste final, e esta por sua vez foi maior que quando teve ajuste inicial. Nas demais proporções de WPC/MPC não houveram diferenças significativas entre os resultados para o parâmetro adesividade ($p < 0,05$).

4.3.3. Elasticidade

Em relação ao atributo elasticidade, houve diferença significativa ($p < 0,05$) apenas em relação a proporção de WPC/MPC. Já em relação ao ajuste do pH e em relação à interação entre estes dois fatores não foi observado diferença significativa.

TABELA 24. Análise de Variância – Elasticidade

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Ajuste pH	2	9,8652	4,9326	0,0612
Concentração WPC	3	116,5826	38,8608	0,0000*
Ajuste pH x Concentração WPC	6	5,9678	0,9946	0,6433
Erro	12	16,6338	1,3861	
Total Corrigido	23	149,0494		

Assim, de acordo com as diferenças observadas tem-se a análise de regressão apresenta na Figura 13.

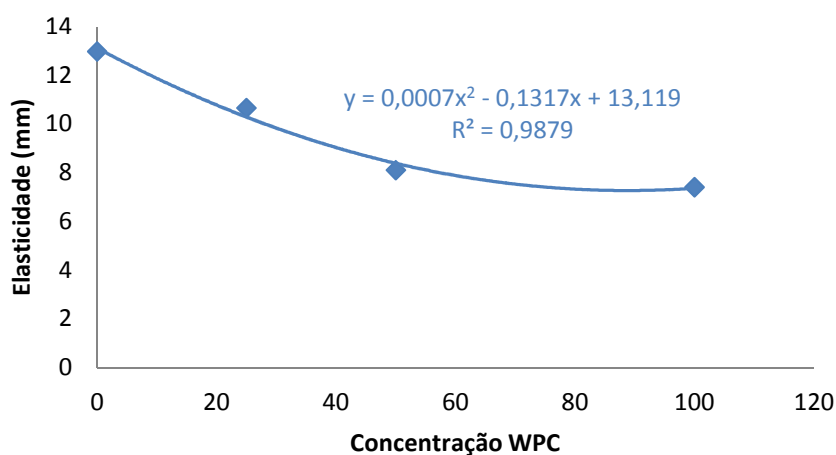


Figura 13. Análise de Regressão – Elasticidade

De acordo com o gráfico de regressão, é possível observar a redução na elasticidade do produto à medida que se aumenta a concentração de WPC na formulação do produto.

4.3.4. Mastigabilidade

Em relação ao atributo mastigabilidade, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao ajuste de pH, em relação a proporção de WPC/MPC e em relação à interação entre estes dois fatores.

TABELA 25. Análise de Variância – Mastigabilidade

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Pr>Fc
Ajuste pH	2	7236,2588	3618,1294	0,0001*
Concentração WPC	3	12167,5792	4055,8597	0,0000*
Ajuste pH x Concentração WPC	6	3983,7518	663,9586	0,0187*
Erro	12	1962,4257	163,5354	
Total Corrigido	23	25350,0155		

Para a visualização da tendência dos dados, tem-se a regressão do desdobramento do ajuste do pH dentro da proporção WPC/MPC. Desta maneira,

pode-se visualizar a influencia do pH e da concentração de WPC/MPC na mastigabilidade.

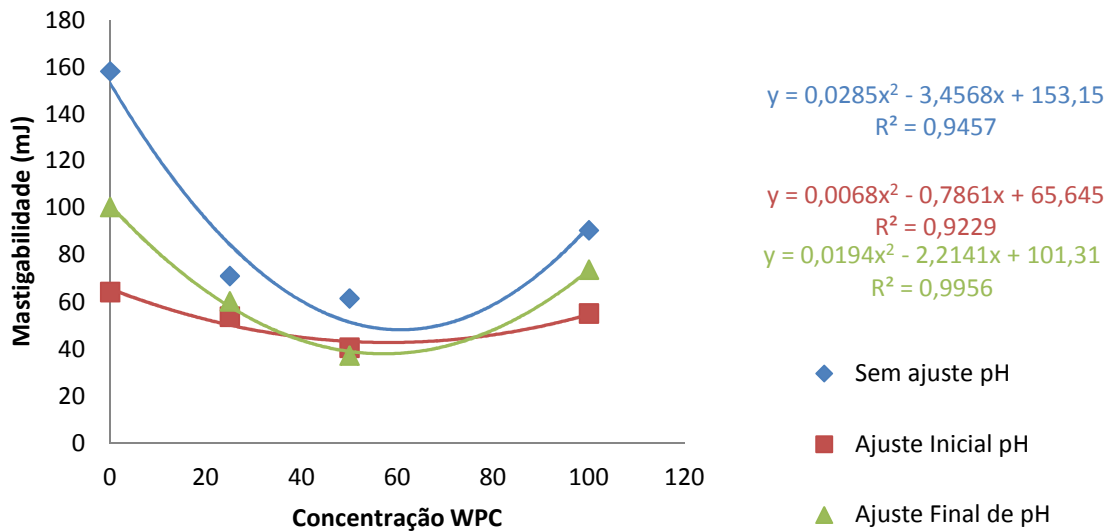


Figura 14 – Análise de Regressão – Mastigabilidade

TABELA 26. Teste de Médias Tukey - Mastigabilidade

Concentração WPC	Ajuste pH			Média
	Sem ajuste	Ajuste Inicial	Ajuste final	
0	158,18 Cb	64,30 Aa	100,44 Bb	107,64 c
25	71,10 Aa	53,81 Aa	60,38 Aa	61,76 ab
50	61,56 Aa	40,57 Aa	37,28 Aa	46,47 a
100	90,53 Ba	55,16 Aa	73,85 ABab	73,18 b
Média	95,34 B	53,46 A	67,99 A	

As letras maiúscula diferenciam as amostra entre as linhas e as letras minúsculas diferenciam as colunas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade

Assim, analisando a primeira coluna, quando não houve ajuste de pH, a concentração do WPC influenciou na mastigabilidade, sendo que na concentração de 0% de WPC a mastigabilidade foi maior, seguida pela concentração de 100%, estando as concentrações de 25% e 50% na faixa intermediária, não havendo diferença significativa entre estas últimas. Quando o ajuste de pH foi realizado no momento inicial da produção não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações. Avaliando o ajuste de pH no momento final da fabricação obteve-se a mesma diferença observada no tratamento sem ajuste de pH.

Já analisando a primeira linha, na concentração de 0% de WPC o ajuste do pH influenciou na adesividade, sendo que quando não houve ajuste de pH a adesividade foi maior, não variando significativamente em relação ao tratamento com ajuste de pH no final do processo. Quando o ajuste de pH foi realizado no momento inicial do processo, foi observado um menor valor para este parâmetro nesta concentração. Nas demais proporções de WPC/MPC não houveram diferenças significativas entre os resultados para o parâmetro mastigabilidade.

4.4. Diagramas de Otimização da utilização de concentrados protéicos

De acordo com os dados apresentados no item 4.3. é possível apresentar a TABELA 27 com o resumo da influência de cada tipo de concentrado protéico nos parâmetros analisados nos queijos processados cremoso no pH $5,6 \pm 0,1$.

Na tabela 28, é possível verificar o grau de aumento de viscosidade para cada proporção de concentrado protéico em cada valor de pH analisado, no RVA.

TABELA 27. Diagrama de otimização da utilização de concentrados protéicos para processamento de Queijos Processados Cremosos

Diagrama de otimização da utilização de concentrados protéicos para processamento de Queijos Processados Cremosos	pH $5,6 \pm 0,1$				Comparativo entre valores de pH	
	MPC	WPC/MPC		WPC	pH 5,6	pH 6,3
	100	25/75	50/50	100		
Dureza	+++	+	++	++++	+	++
Adesividade	++++	+++	++	+	+	++
Elasticidade	++++	+++	++	+	++	++
Mastigabilidade	++++	++	++	+++	+	++

Para o parâmetro dureza é obtido um maior resultado utilizando somente WPC, seguido pelo tratamento 100% MPC e posteriormente as misturas destes concentrados conforme apresentação no diagrama. Na visualização quanto maior o

número de sinais positivo (+) maior o impacto deste concentrado na avaliação realizada. Assim, é possível verificar que no tratamento contendo somente soroproteínas é obtido um maior valor de dureza para o queijos processados. Analisando, o efeito do pH na dureza, foi possível observar que quanto maior o valor de pH maior o impacto no aumento da dureza do produto.

A adesividade também foi influenciada pelo relação de WPC/MPC no produto, onde quanto maior o teor de MPC maior o valor atingido para este parâmetro, ou seja, quanto maior a proporção de caseínas maior o valor obtido para adesividade. Foi observado também que quanto maior o pH maior o valor obtido na mensuração da adesividade.

Já em relação a elasticidade, foi obtida a mesma relação de influência observada para a adesividade, diferenciando somente devido a não interferência do pH no resultado deste parâmetro. Assim, verificamos também para este parâmetro que quanto maior a proporção de caseínas maior o valor obtido para adesividade.

Analisando a mastigabilidade não foi observada variação nos tratamentos onde houveram misturas dos concentrados, estando estes sob menor impacto neste parâmetro, comparando aos tratamentos 100% WPC e 100% MPC, onde este último influenciou de forma mais positiva.

Em relação a interferência da variação do pH nas características de textura dos queijos processados cremosos podemos observar a diferença significativa da alteração deste, do valor de 5,6 para 6,3, nas características de dureza, adesividade e mastigabilidade. Esta diferença pode ser explicada pela diferença do nível de desnaturação térmica ocorrida nestes diferentes níveis de concentrados proteicos, ou seja, nas diferentes relações de caseínas/soroproteínas presentes no produto. Além deste fator, podemos citar também dentro desta aplicação a possível interferência dos sais citrato de sódio e tripolifosfato de sódio nestes diferentes valores de pH.

Estes resultados seguem resultados observados por Anema *et al.* (2004), Sodini *et al.* (2005) e Law & Leaver (2000). Resultados envolvendo estudo de textura em queijos processados utilizando concentrados protéicos não foram encontrados para discussão destas variações.

TABELA 28. Diagrama de otimização de concentrados protéicos em relação ao pH e viscosidade após processamento

Diagrama de otimização da viscosidade final de processamento em relação ao pH	Concentração 0,2g proteína / g de água				
	MPC	WPC/MPC	WPC	WPC/MPC	WPC/MPC
	100	25/75	100	50/50	75/25
pH 7,0	3060	4511	6006	6006	6859

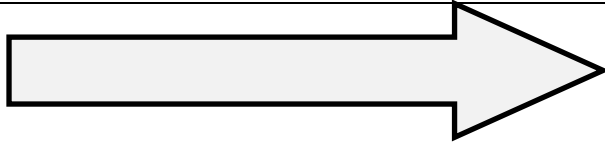


Diagrama de otimização da viscosidade final de processamento em relação ao pH	Concentração 0,2g proteína / g de água				
	MPC	WPC/MPC	WPC	WPC/MPC	WPC/MPC
	100	25/75	100	75/25	50/50
pH 6,5	496	3422	4230	4348	4678

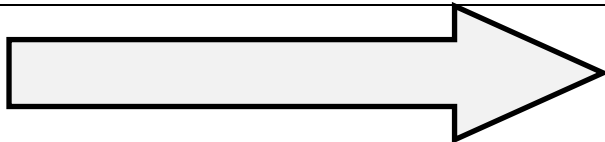
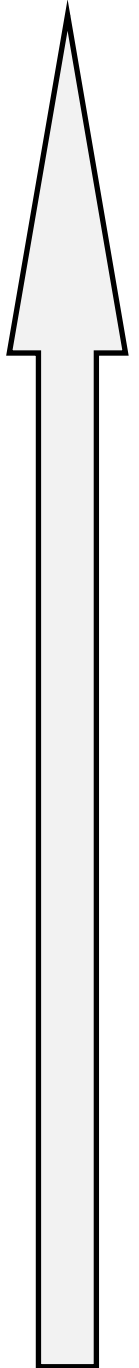
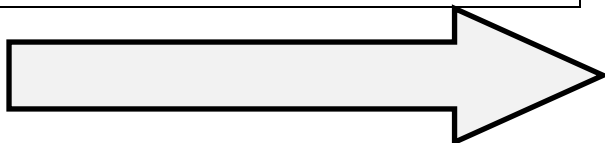


Diagrama de otimização da viscosidade final de processamento em relação ao pH	Concentração 0,2g proteína / g de água				
	MPC	WPC/MPC	WPC/MPC	WPC/MPC	WPC
	100	25/75	50/50	75/25	100
pH 6,0	733	790	1705	1840	2892



4.5. Avaliação Visual de Textura de Queijos Processados e Soluções de Análise do Simulador de Processamento Térmico (RVA)

Outra avaliação evidenciada durante os estudos representa a diferença de textura, considerando o aspecto liso e rugoso observados visualmente. Assim, conforme apresentado nas figuras 16 à 19, diferenças ocorridas em relação ao tipo de concentrado protéico utilizado foi evidente nas concentrações utilizadas.



Figura 15. Porta-amostra e agitador para análise em RVA



Figura 16. Queijo Processado Cremoso 100% WPC Figura 17. Queijo Processado Cremoso 100% MPC



Figura 18. Solução 100% WPC após Processamento no RVA Figura 19. Solução 100% MPC após Processamento no RVA

Esta ocorrência explica-se observando a diferença entre a concentração de soroproteínas presentes em cada tratamento. Assim, quanto maior o teor de WPC utilizado na avaliação, maior a concentração de soroproteínas e conseqüentemente maior o grau de desnaturação protéica durante o processamento térmico o que evidencia a obtenção de uma textura rugosa. A menor estabilidade térmica destas proteínas causando o alto grau de interação entre estas representa a causa destas alterações visuais de textura nos produtos lácteos onde o elevado processamento térmico é utilizado.

Estes resultados condizem com a avaliação de Fox (2003), que descreve que as caseínas são altamente estáveis ao tratamento térmico onde leite em pH 6,7 pode ser aquecido a 100°C por 24 hs sem coagulação, resistindo ao aquecimento de até 140°C por 20 a 25 minutos.

Assim, a variação de textura observada nos tratamentos com maior teor de WPC condiz com os resultados que descrevem estas soroproteínas como as mais termolábeis do leite. Esta instabilidade térmica é governada, principalmente, pelas propriedades da β -lactoglobulina que, por sua vez, são afetadas pelo pH do meio, lactose, cloreto de sódio, íons cálcio e outros (DANNENBERG; KESSLER, 1988; OLDFIELD *et al.*, 1998a).

Law & Leaver (2000), que destacaram que a reação de desnaturação da β -LG e α -LA é acentuada quando o pH do leite é incrementado e retardada quando o pH é reduzido. Outra observação em relação a este grupo de proteína podemos ainda citar o aumento das interações hidrofóbicas ocorridas após a desnaturação o que representa um grande fator de impacto na perda de solubilidade destas proteínas.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que:

- variações nas proporções de concentrado protéico de soro e concentrado protéico de leite alteram as características reológicas dos produtos lácteos onde é realizado algum tipo de processamento térmico a 95°C;
- após processamento térmico a 95°C / 5 minutos é obtido uma viscosidade máxima quando se utiliza 100% concentrado protéico de soro em pH 7,0 e mínima quando se utiliza 100% concentrado protéico de leite em pH 6,0;
- o RVA mostrou-se conveniente para a simulação dos processamentos térmicos das soluções dos concentrados protéicos;
- variações nas proporções de concentrado protéico de soro e concentrado protéico de leite alteram a dureza, mastigabilidade, elasticidade e adesividade de queijos processados;
- quanto maior o pH durante o processamento térmico maior a viscosidade final obtida em todos as proporções de concentrados protéicos;
- alteração do pH de queijos processados cremosos que utilizam concentrados protéicos modificam características de dureza, adesividade e mastigabilidade destes produtos;
- quanto maior a proporção de concentrado protéico de soro maior a alteração na textura dos produtos lácteos processados termicamente causando o aparecimento de textura rugosa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEMA, S.G.; LOWE, E.K.; LI, Y. Effect of pH on the viscosity of heated reconstituted skim milk. *International Dairy Journal*, v. 14, 541-548, 2004.

ANEMA, S.G. The whey proteins in milk: thermal denaturation, physical interactions and effects on the functional properties of milk. In: THOMPSON, A.; BOLAND, M.; SINGH, H. **Milk protein: from expression to food**. New York: Academic/Press, 2009. p.239-273.

ARAUJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Imprensa Universitária da UFV, 1995. 335 p.

BALDWIN, A.; PEARCE, D. Milk powder. In: ONWULATA, C. **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton, New York: Taylor e Francis, 2005. p.387-434.

BENNETT, L.; POLLARD, A.; ROSS, A.S. Characterizing the properties of protein-rich ingredients and foods. In: CROSBIE, G. B.; ROSS, A. S., eds. **The RVA Handbook**. United States of America: AACC International, 2007. cap. 8, p.95-112.

BOOTH, R.; BASON M. Principles of operation and experimental techniques. In: CROSBIE, G. B.; ROSS, A. S., eds. **The RVA Handbook**. United States of America: AACC International, 2007. cap. 1, p.1-17.

BOURNE, M.C. **Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement**. Geneva, New York: Academic Press. 2002.

DAMODARAN, S. Functional properties. In: NAKAI, S.; MODLER, H. W. **Food proteins: properties and characterization**. New York: VCH, 1996. p.167-234.

DANNENBERG, F.; KESSLER, H.G. Reaction kinetics of the denaturation of whey proteins in milk, *J Food Sci*, v.53, p.258-263. 1998.

DE KRUIF, C.G.; HOLT, C. Casein micelle structure, functions and interactions. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry**. 3.ed. New York, Kluwer: Academic/Plenum Publisher, 2003. v.1, p.233-276.

DE WIT, J.N. Functional properties of whey proteins . In: FOX, P.F. **Developments in food proteins**. London, Elsevier Science Publishers, 1989. v.4, p.285-321.

DE WIT, J.N.; KLARENBECK, G.; ADAMSE, M. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates. 2. Effects of processing history and compositions, *Neth Milk Dairy J*, v.40, p.41-56, 1996.

DONATO, L.; GUYOMARC'H, F. Formation and properties of the whey protein/k-casein complexes in heated skim milk – A review. *Dairy Science and Technology*, v. 89, 3-29, 2009.

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

FARREL, H.M. Jr., Jimenez-Flores, R.; Bleck, G.T.; Brown, E.M.; Butler, J.E.; Creamer, L.K.; Hicks, C.L.; Hollar, C.M.; Ng-Kwai-Hang, K.F.; Swaisgood, H.E. Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, v. 87, p. 1641-1674, 2004.

FERREIRA, S.L.C.; BRUNS, R.E.; FERREIRA, H.S.; MATOS, G.D.; DAVID, J.M.; BRANDÃO, G.C.; DA SILVA, E.G.P.; PORTUGAL, L.A.; DOS REIS, P.S.; SOUZA, A.S.; DOS SANTOS, W.N.L.; Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, Netherlands, v. 597, n. 2, p. 179- 186, aug. 2007.

FENNEMA, O. R; PARKIN, K.L.; DAMODARAN, S.. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FOX, P.F. Heat induced coagulation of milk. In: FOX, P.F. **Developments in dairy chemistry**. London, Applied Science Publishers, 1982. v.1, p.189-228.

FOX, P. F. **Food chemistry**. Part III. Cork: Cork University College, 1991. 201 p.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. London: Chapman & Hall, 1998.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry**. 3.ed. New York, Kluwer: Academic/Plenum Publisher, 2003. v.1.

GARCIA, M. C. et al. Composition and characterization of soybean and related products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v. 37, n. 4, p. 361-391, jun. 1997.

GUYOMARC'H, F.; WARIN, F.; MUIR, D.D.; LEAVER, J. Lactosylation of milk proteins during the manufacture and storage of skim milk powders, *Int Dairy J*, v.10, p.863-872, 2000.

HAVEA, P. Protein interactions in milk protein concentrate powders. *International Dairy Journal*, v. 16, 415-422, 2006.

HOLT, C. Structure and stability of bovine casein micelles. *Adv Protein Chem*, v.43, p.64-151, 1992.

HORNE, D.S. Casein interactions: Casting light on the black boxes, the structure in dairy products, *Int Dairy J*, v.8, p.171-177, 1998.

HORNE, D.S. Casein micelle structure and stability. In: THOMPSON, A.; BOLAND, M.; SINGH, H. **Milk protein: from expression to food**. New York: Academic/Press, 2009. p.133-157

KINSELLA, J. E. Relationships between structure and functional properties of food proteins. In: FOX, P. F.; CONDON, J. J. **Food proteins**. New York: Applied Science, 1982. p. 51-103.

KINSELLA, J.E. Milk proteins: physico-chemical and functional properties, *CRC Crit Rev Food Sci Nutr*, v.21, p.197-262, 1984.

KINSELLA, J.E.; WHITEHEAD, D.M. Protein in whey: Chemical, physical, and functional properties, *Adv Food Nutr Res*, v.33, 343-438, 1989

LAW, A.J.R.; LEAVER, J. Effect of pH on the Thermal Denaturation of Whey Proteins in Milk. *Journal Agriculture Food Chemistry*, v. 48, 672-679. 2000.

LE GRAET, Y.; BRULE, G. Effect of concentration and drying on mineral equilibria of skim milk and retentates, *Lait*, v.62, p.113-125, 1982.

MARTIN, G.J.O.; WILLIAMS, R.P.W.; DUSTAN, D.E. Comparison of casein micelles in raw and reconstituted milk. *Journal of Food Science*, v.90, 4543-4551, 2007.

MULVIHILL, D.M. Production, functional properties and utilization of milk protein products. In: FOX, P.F. **Advanced Dairy chemistry**. 2.ed. Barking, Essex: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.369-404.

MULVIHILL, D.M.; ENNIS, M.P. Functional milk proteins: production and utilization. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry**. 3.ed. New York, Kluwer: Academic/Plenum Publisher, 2003. v.1, p.1775-1228.

OLDFIELD, D.J.; SINGH, H.; TAYLOR, M. W.; PEARCE, K.N. Kinetics of denaturation and aggregation of whey proteins in skim milk heated in an ultra-high temperature (UHT) pilot plant, *Int. Dairy J*, v.8, p.311-318, 1998a.

OLDFIELD, D.J.; SINGH, H.; TAYLOR, M. W. Association of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with the casein micelles in skim milk heated in an ultra-high temperature plant, *Int. Dairy J*, v.8, p.765-770, 1998b.

OLDFIELD, D.J.; SINGH, H.; TAYLOR, M. W. Effect of preheating and other process parameters on whey protein reactions during skim milk powder manufacture, *Int. Dairy J*, v.15, p.501-511, 2005.

PISECKY, J. **Handbook of milk powder manufacture**. Copenhagen, Denmark: Niro A/S, 1997.

- ROLLEMA, H.S. Casein association and micelle formation. In: FOX, P.F. **Advanced Dairy chemistry**. 2.ed. Barking, Essex: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.111-140.
- SINGH, H. Heat stability of milk, *Int J Dairy Technol*, v. 57, p.111-119, 2004.
- SINGH, H. Milk protein functionality in food colloids. In: DICKINSON, E. **Food Colloids: interactions, microstructure and processing**. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 2005. p.179-193.
- SINGH, H. Protein interactions and functionality of milk protein products. In: CORREDIG, M. ed. **Dairy-derived ingredients: food and nutraceutical uses**. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd, 2009. cap. 25, p.644-674.
- SINGH, H.; CREAMER, L.K. Denaturation, aggregation and the stability of milk protein during the manufacture of skim milk powder, *Int. Dairy Res*, v.58, p.269-283, 1991.
- SINGH, H.; CREAMER, L.K. Heat stability of milk. In: FOX, P.F. **Advanced Dairy chemistry**. 2.ed. Barking, Essex: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.621-656.
- SINGH, H.; FOX, P.F. Heat stability of milk: pH-dependent dissociation of micellar κ -casein on heating milk at ultrahigh temperatures, *Int. Dairy Res*, v.52, p.529-538, 1995.
- SINGH, H.; NEWSTEAD, D.F. Aspects of proteins in milk powder manufacture. In: FOX, P.F. **Advanced Dairy chemistry**. 2.ed. Barking, Essex: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.735-765.
- SODINI, I.; MATTAS, J.; TONG, P.S. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. *International Dairy Journal*, v. 16, 1464-1469. 2006.
- STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. 2.ed. East Lansing: Freeman Press, 1996.
- TAMINE, A.Y. **Dairy Powders and Concentrated Products**. 1.ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2009.
- VARNAM, A.H. SUTHERLAND, J.P. **Milk and Milk Products: Technology, Chemistry and Microbiology**. Gaithersburg: Aspen Publishers. 2001.
- WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Dairy Technology. Principles of milk properties and processes**. Zaragoza: Editorial Acribia, 2001. 730 p.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Química y física lactológica**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1984. 423 p.

WALSTRA, P.; VAN VLIET, T. Physical chemistry of curd making. *Neth Milk and Dairy Journal*, 40 (2/3) : 241-259,1986.

WOLFSCHOON-POMBO, A.F.; FERNANDES, R. M.; GRANZINOLLI, G. G. M. Efeitos da pasteurização-HTST e da fervura doméstica sobre a proteína do leite. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 37, n. 223, p. 3-7, 1982.