

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

RODRIGO STEPHANI

**COMPORTAMENTO DE PRODUTOS LÁCTEOS PROTÉICOS EM DIFERENTES  
CONDIÇÕES SIMULADAS DE PROCESSAMENTO TÉRMICO**

Juiz de Fora  
2010

**RODRIGO STEPHANI**

**COMPORTAMENTO DE PRODUTOS LÁCTEOS PROTÉICOS EM DIFERENTES  
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. Paulo Henrique Fonseca da Silva

JUIZ DE FORA

2010

Stephani, Rodrigo.

Comportamento de produtos lácteos protéicos em diferentes condições simuladas de processamento térmico / Rodrigo Stephani. – 2010.

147 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados)—Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2010.

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

CDU 664

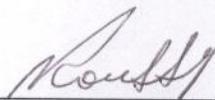
# COMPORTAMENTO DE PRODUTOS LÁCTEOS PROTÉICOS EM DIFERENTES CONDIÇÕES SIMULADAS DE PROCESSAMENTO TÉRMICO

Rodrigo Stephani

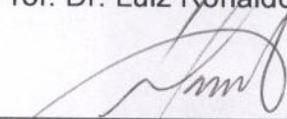
ORIENTADOR: Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

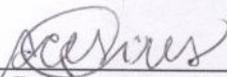
Aprovada em 15/12/2010



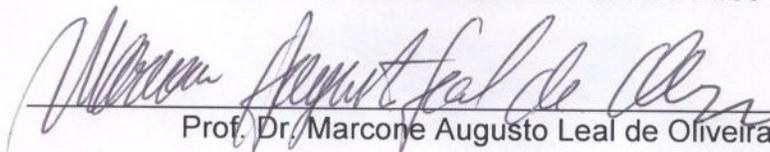
Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu



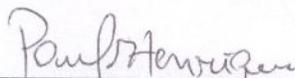
Prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado



Prof. Dr.ª Ana Clarissa dos Santos Pires



Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira



Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva

À minha esposa, Renata,  
aos meus pais, Adalgiza e Josmar,  
dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Henrique Fonseca da Silva, pela estimada orientação, pelos ensinamentos, pelos desafios, incentivos e principalmente pela amizade.

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

À Gemacom Tech, pela oportunidade única de viver um ideal, conduzido a várias mãos e por todo o apoio.

Ao Instituto de Laticínios Cândido Tostes, por ser meu berço profissional.

Ao amigo Me. Henrique de Castro Neves, por ter acreditado em mim e sempre mantido os caminhos livres para o meu crescimento. Foi fundamental a sua parceria durante o curso.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira, por ser um eterno orientador, mostrando caminhos tão diferentes na minha formação.

Ao Prof. Dr. Ítalo Tuler Perrone, pela incomparável generosidade e por me apresentar o caminho da ciência.

Ao Prof. Dr. Marcone Augusto Leal de Oliveira pela inesquecível disciplina de Planejamento Estatístico de Experimentos e pela grande contribuição para a realização do trabalho.

Ao Prof. Braz dos Santos Neves por ser meu primeiro mentor.

Ao Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu pela acolhida calorosa de sempre.

Aos amigos Alisson, Erick e Flávio do Departamento de PD&I da Gemacom Tech, pela amizade e convivência.

A todos os colegas da Gemacom Tech, que de alguma forma, fizeram parte destes anos de trabalho e amizade nas muitas horas de convívio. Em especial, à Débora, Eli, João Neves, João Paulo, Vinícius e Vitor.

À Profa. Ma. Regina Célia Mancini por ter aberto a minha primeira porta e sempre me apoiar.

Às amigas Eloá Corrêa de Souza e Raquel Pigozzo Almeida pelos anos de carinho e amizade, nunca deixando o espírito "*ILCTiano*" ser esquecido.

À Mariana Ramos de Almeida, pela paciência e colaboração neste trabalho com o PCA.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Ao amigo Jansen Kelis por ser o meu padrinho profissional.

À Nilza pela a atenção e carinho de todo dia, e por ser um exemplo de força.

Às minhas cunhadas, Míriam e Rayanne pelo convívio familiar.

Aos meus irmãos Humberto e Cristiano, pela dignidade e honra de não desistir jamais.

Aos meus sobrinhos Gabriel, Maria Eduarda e Matheus pela inocência pura e verdadeira.

Ao Geraldo Magela e a Seila por estenderem as mãos sempre quando precisei, fazendo-se presentes na minha vida de forma ímpar e imensurável. Meus verdadeiros agradecimentos pessoais.

Aos meus pais, por toda a luta e garra ao longo dos anos para tornar as nossas vidas melhores. Vocês dois são o meu exemplo de superação e família. Que Deus os proteja e faça da trajetória de suas vidas ensinamentos para as próximas gerações.

À Renata, minha esposa, por todo o carinho, respeito e compreensão ao longo destes anos. Sem você nada teria sido possível!

Muito obrigado.

*“Para saber mandar é preciso saber fazer.  
Para saber fazer é necessário aprender fazendo”  
Autor desconhecido*

## RESUMO

Produtos lácteos protéicos (MPPs) são rotineiramente utilizados pelas indústrias, com o objetivo de promover melhoria na textura, no rendimento e na palatabilidade dos alimentos processados. Entender o comportamento da evolução da viscosidade de soluções protéicas utilizadas como ingredientes na matriz alimentícia é de fundamental importância para a indústria, pois esta propriedade influencia os atributos dos produtos processados. O objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento da evolução da viscosidade das soluções de MPPs em diferentes concentrações, quando submetidos a diferentes condições de processamento térmico, utilizando o Analisador Rápido de Viscosidade (RVA) como simulador de processo. Foram analisadas amostras comerciais de leite em pó desnatado (SMP), concentrado protéico de soro (WPC), concentrado protéico de leite (MPC), soro em pó (WP) e soro em pó desmineralizado (DWP). Os intervalos das concentrações sólido-líquido das soluções avaliadas foram 0,1 g.g<sup>-1</sup> a 0,45 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca em água para o MPC, 0,1 g.g<sup>-1</sup> a 0,4 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca em água para o WPC e 0,5 g.g<sup>-1</sup> a 0,8 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca em água para SMP, WP e DWP, devido à grande sensibilidade do sistema à concentração de sólidos. Diferentes tratamentos térmicos aplicados pelas indústrias brasileiras foram utilizados, com temperaturas entre 65°C a 95°C e tempo de retenção entre 5 minutos a 30 minutos. Os resultados foram interpretados em função das viscosidades durante o aquecimento e resfriamento. Foi possível otimizar as diferentes condições das variáveis dos MPPs com a interpretação dos perfis viscográficos obtidos, com referência ao comportamento térmico das proteínas, especialmente para o SMP, MPC e o WPC, apresentando similaridade nas características viscográficas das soluções, quando avaliadas a 65°C por 30 minutos, nas concentrações 0,29 g.g<sup>-1</sup>, 0,34 g.g<sup>-1</sup> e 0,24 g.g<sup>-1</sup> de proteína em água respectivamente, 0,29 g.g<sup>-1</sup>, 0,26 g.g<sup>-1</sup> e 0,16 g.g<sup>-1</sup> de proteína em água para estes MPPs em 85°C por 15 minutos e 95°C por 5 minutos, e também 0,30 g.g<sup>-1</sup> e 0,24 g.g<sup>-1</sup> de proteína em água respectivamente para o MPC e WPC na mesma condição de 95°C por 5 minutos. Em adição, o RVA pode ser considerado um ferramenta analítica emergente para o estudo e conhecimento das funcionalidades dos MPPs, otimizando a escolha da aplicação tecnológica na indústria de alimentos, utilizando a análise de viscosidade para estimar a desnaturação protéica.

Palavras-chave: proteína láctea, funcionalidade, viscosidade

## ABSTRACT

Milk protein products (MPPs) are routinely used by the industry, aiming to provide improved texture, yield and palatability for processed food. Understanding the viscosity evolution behavior of protein solutions used as food ingredients in the food matrix is of fundamental importance to the industry, because this property may influence the attributes of processed products. The objective of this study was to evaluate the viscosity evolution behavior of the MPP<sub>s</sub> solutions in different concentrations, when used in different conditions of thermal processing by means of Rapid Visco Analyzer (RVA) as a process simulator. Commercial samples of skimmed milk powder (SMP), whey protein concentrate (WPC), milk protein concentrate (MPC), whey powder (WP) and demineralized whey powder (DWP) were analyzed. The solid-liquid ratio solutions evaluated were 0.1 g.g<sup>-1</sup> to 0.45 g.g<sup>-1</sup> of dry solids in water for the MPC, 0.1 g.g<sup>-1</sup> to 0.4 g.g<sup>-1</sup> of dry solids in water for the WPC and 0.5 g.g<sup>-1</sup> to 0.8 g.g<sup>-1</sup> of dry solids in water for SMP, WP and DWP because of the sensibility of the system to the solid concentration process itself. The Brazilian industrial heat treatment set ups were used, with temperatures ranging from 65°C to 95°C and retention time from 5 minutes to 30 minutes. Thus, the results were interpreted according to the viscosities during heating and cooling. It was possible to optimize the different conditions of parameters of the MPPs with the interpretations of the viscographic profiles obtained in respect to the thermal behavior of proteins, especially for the SMP, MPC and WPC. The data showed similarity in viscographic characteristics of the solutions when evaluated at 65°C for 30 minutes at concentrations 0.29 g.g<sup>-1</sup>, 0.34 g.g<sup>-1</sup> and 0.24 g.g<sup>-1</sup> of protein in water respectively, 0.29 g.g<sup>-1</sup>, 0.26 g.g<sup>-1</sup> and 0.16 g.g<sup>-1</sup> of protein in water to these MPPs at 85°C for 15 minutes and 95°C for 5 minutes, and also 0.30 g.g<sup>-1</sup> and 0.24 g.g<sup>-1</sup> of protein in water respectively for the MPC and WPC in the same condition of 95°C for 5 minutes. The RVA can indeed be considered an emerging analytical tool for the study and knowledge of PDI that can help to optimize the choice for the technological application in the food industry, through analysis of viscosity to estimate the rate of protein denaturation.

Keywords: milk protein, functionality, viscosity

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Produtos lácteos protéicos desidratados.....	27
FIGURA 2	Representação esquemática da decomposição por PCA.....	44
FIGURA 3	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com leite em pó desnatado.....	67
FIGURA 4	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com leite em pó desnatado.....	67
FIGURA 5	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com leite em pó desnatado.....	68
FIGURA 6	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com leite em pó desnatado.....	69
FIGURA 7	Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com leite em pó desnatado.....	70
FIGURA 8	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com leite em pó desnatado.....	71
FIGURA 9	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com leite em pó desnatado.....	74
FIGURA 10	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia ( $MPC_1$ ).....	76
FIGURA 11	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia ( $MPC_1$ ).....	77
FIGURA 12	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia ( $MPC_1$ ).....	77
FIGURA 13	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia ( $MPC_1$ ).....	79
FIGURA 14	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia ( $MPC_1$ ).....	80

FIGURA 15	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC <sub>1</sub> ) .....	82
FIGURA 16	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	84
FIGURA 17	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	84
FIGURA 18	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	85
FIGURA 19	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	86
FIGURA 20	Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	87
FIGURA 21	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	88
FIGURA 22	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC <sub>2</sub> ) .....	91
FIGURA 23	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com soro em pó .....	93
FIGURA 24	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com soro em pó .....	94
FIGURA 25	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com soro em pó .....	94
FIGURA 26	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com soro em pó .....	95
FIGURA 27	Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com soro em pó .....	97

FIGURA 28	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com soro em pó.....	98
FIGURA 29	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com WP.....	101
FIGURA 30	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com soro em pó desmineralizado .....	103
FIGURA 31	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com soro em pó desmineralizado .....	104
FIGURA 32	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com soro em pó desmineralizado .....	104
FIGURA 33	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado.....	105
FIGURA 34	Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado.....	107
FIGURA 35	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado.....	108
FIGURA 36	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com DWP .....	111
FIGURA 37	Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de soro.....	113
FIGURA 38	Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de soro.....	114
FIGURA 39	Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de soro.....	114
FIGURA 40	Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de soro .....	115
FIGURA 41	Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com concentrado protéico de soro .....	117
FIGURA 42	Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de soro .....	118
FIGURA 43	Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com WPC .....	121

FIGURA 44	Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_P$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA: (A) concentração constante no nível -1 ( $0,2 \text{ g.g}^{-1}$ ), (B) concentração constante no nível 0 ( $0,3 \text{ g.g}^{-1}$ ) e (C) concentração constante no nível +1 ( $0,4 \text{ g.g}^{-1}$ ).....	130
FIGURA 45	Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_P$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA: (A) temperatura constante no nível -1 ( $65^\circ\text{C}$ ), (B) temperatura constante no nível 0 ( $85^\circ\text{C}$ ) e (C) temperatura constante no nível +1 ( $95^\circ\text{C}$ ).....	131
FIGURA 46	Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_P$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA: (A) tempo constante no nível -1 (5 minutos), (B) tempo constante no nível 0 (15 minutos) e (C) tempo constante no nível +1 (30 minutos).....	132
FIGURA 47	Seleção da configuração do processamento para otimização da viscosidade final atribuída ao uso de WP .....	133
FIGURA 48	Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de baixo tratamento térmico ( $65^\circ\text{C}$ por 30 minutos) .....	136
FIGURA 49	Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de médio tratamento térmico ( $85^\circ\text{C}$ por 15 minutos) .....	137
FIGURA 50	Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de alto tratamento térmico ( $95^\circ\text{C}$ por 5 minutos) .....	138

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Propriedades de algumas proteínas do leite. (Adaptada) .....	24
TABELA 2	Concentrações das principais frações protéicas do leite bovino .....	25
TABELA 3	Composição típica de proteínas lácteas desidratadas.....	28
TABELA 4	Composição típica do concentrado protéico do soro (WPC) ...	29
TABELA 5	Composição de alguns produtos a base de proteínas lácteas.	32
TABELA 6	Impacto nas proteínas induzido pelo processamento do SMP e MPC .....	33
TABELA 7	Distribuição do nitrogênio nos leites cru, pasteurizado e fervido .....	35
TABELA 8	Desnaturação das soroproteínas.....	37
TABELA 9	Matriz de planejamento para um Box-Behnken 3 <sup>3</sup> .....	47
TABELA 10	Produtos lácteos protéicos avaliados e sua origem .....	49
TABELA 11	Relação das análises, por tipo de amostra de MPP segundo informações de fabricantes e laboratórios privados.....	50
TABELA 12	Concentrações das soluções dos MPPs avaliadas no RVA ....	52
TABELA 13	Configurações do processamento térmico nível baixo (65°C por 30 minutos).....	53
TABELA 14	Configurações do processamento térmico nível baixo (85°C por 15 minutos).....	53
TABELA 15	Configurações do processamento térmico nível médio (95°C por 5 minutos).....	53
TABELA 16	Descrição dos dados coletados no perfil viscográfico.....	54
TABELA 17	Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial Box-Behnken 3 <sup>3</sup> .....	55
TABELA 18	Matriz de planejamento para o Box-Behnken 3 <sup>3</sup> do WPC .....	56
TABELA 19	Resultados das análises, por tipo de amostra de MPP.....	62
TABELA 20	Teor de proteína total (g.g <sup>-1</sup> ) nas soluções reidratadas dos MPPs .....	63
TABELA 21	Teor de gorduras totais (g.g <sup>-1</sup> ) nas soluções reidratadas dos MPPs .....	64

TABELA 22	Teor de lactose ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs....	65
TABELA 23	Teor de cinzas ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs.....	66
TABELA 24	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do SMP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	72
TABELA 25	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do SMP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações .....	72
TABELA 26	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do SMP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	75
TABELA 27	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do SMP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	75
TABELA 28	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) .....	76
TABELA 29	Média das viscosidades finais ( $V_F$ ) do MPC <sub>1</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	81
TABELA 30	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ) do MPC <sub>1</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	81
TABELA 31	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) .....	83
TABELA 32	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do MPC <sub>2</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	89
TABELA 33	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do MPC <sub>2</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações .....	89
TABELA 34	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do MPC <sub>2</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	92

TABELA 35	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do MPC <sub>2</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	92
TABELA 36	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) .....	93
TABELA 37	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	99
TABELA 38	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações .....	99
TABELA 39	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do WP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	102
TABELA 40	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do WP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	102
TABELA 41	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) .....	103
TABELA 42	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do DWP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	109
TABELA 43	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações .....	109
TABELA 44	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do DWP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	112
TABELA 45	Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	112
TABELA 46	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) .....	113

TABELA 47	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WPC nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	119
TABELA 48	Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WPC nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações .....	120
TABELA 49	Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do WPC nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos .....	122
TABELA 50	Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações.....	122
TABELA 51	Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) .....	123
TABELA 52	Matriz de planejamento para o Box-Behnken $3^3$ e resultados de viscosidades finais - $V_F$ (mPa.s).....	125
TABELA 53	Estimadores do modelo viscosidade final - $V_F$ .....	127
TABELA 54	Identificação dos ensaios com os MPPs em RVA .....	135

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
AOAC	<i>Association of official analytical chemists</i>
BSA	Albumina do soro bovino
CMC	Carboximetilcelulose
DF	Diafiltração
DWP	Soro em pó desmineralizado
FAO	<i>Food and agriculture organization</i>
FIL	<i>Fédération Internationale de Laiterie</i>
IgA	Imunoglobulina A <sup>k</sup>
IgG <sub>1</sub>	Imunoglobulina G <sub>1</sub>
IgG <sub>2</sub>	Imunoglobulina G <sub>2</sub>
IgM	Imunoglobulina M
Igs	Imunoglobulinas
MF	Microfiltração
IN	Instrução normativa
min	Minuto
mPa.s	Milipascal segundo
MPC	Concentrado protéico de leite
MPC <sub>1</sub>	Concentrado protéico de leite com hidratação prévia
MPC <sub>2</sub>	Concentrado protéico de leite sem hidratação prévia
MPI	Isolado protéico de leite
MPP	Produto lácteo protéico
MPPs	Produtos lácteos protéicos
NMP	Número mais provável
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
PCA	Análise de Componentes Principais

PCs	Componentes principais
PC1	Primeiro componente principal
PC2	Segundo componente principal
pH	Potencial hidrogeniônico
PS	Proteínas do soro
rad.s <sup>-1</sup>	Radianos por segundo
RVA	Analizador Rápido de Viscosidade
s	Segundo
SA	Soroalbumina
SC	Componente secretor
SMP	Leite em pó desnatado
TMP	Proteína total do leite
TCW	<i>Thermocline for Windows</i> <sup>TM</sup>
UF	Ultrafiltração
UFC	Unidade formadora de colônia
V <sub>F</sub>	Viscosidade final
V <sub>P</sub>	Viscosidade de pico
V <sub>R</sub>	Viscosidade de retenção
WP	Soro em pó
WPC	Concentrado protéico de soro
WPI	Isolado protéico de soro
UHT	Ultra alta temperatura
α-LA	α-lactoalbumina
α <sub>S1</sub> -CN	α <sub>S1</sub> – caseína
α <sub>S2</sub> -CN	α <sub>S2</sub> – caseína
β-CN	β – caseína
β-LG	β-lactoglobulina
γ-CN	γ – caseína
κ-CN	κ – caseína
∫/t	Área por unidade tempo

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO .....	23
2.1	Composição protéica do leite .....	23
2.2	Produtos lácteos protéicos .....	26
2.3	Interações protéicas durante as etapas de fabricação dos produtos lácteos protéicos.....	31
2.3.1	Pré-aquecimento .....	33
2.3.2	Evaporação .....	38
2.3.3	Concentração por ultrafiltração e diafiltração .....	39
2.3.4	Secagem .....	40
2.4	Analisador Rápido de Viscosidade (RVA) .....	42
2.5	Análise de componentes principais (PCA) .....	44
2.6	Planejamento Fatorial.....	45
2.6.1	Planejamento Box-Behnken .....	46
3	MATEIRAL E MÉTODOS .....	48
3.1	Amostras dos produtos lácteos protéicos desidratados .....	48
3.2	Caracterizações químicas e microbiológicas.....	49
3.3	Processamento térmico .....	51
3.4	Preparo das amostras .....	51
3.5	Configurações do <i>Rapid Visco<sup>TM</sup> Analyser</i> (RVA) .....	52
3.6	Planejamento fatorial Box-Behnken 3 <sup>3</sup> para o WPC .....	54
3.7	Análises dos resultados.....	57
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
4.1	Ensaio preliminares .....	59
4.2	Análise dos resultados da caracterização química e microbiológica dos MPPs .....	60
4.3	Produtos lácteos protéicos derivados de leite .....	67
4.3.1	Leite em pó desnatado .....	67
4.3.2	Concentrado protéico de leite com hidratação prévia – MPC <sub>1</sub> .....	76
4.3.3	Concentrado protéico de leite sem hidratação prévia – MPC <sub>2</sub> .....	83
4.4	Produtos lácteos protéicos derivados de soro .....	93

4.4.1	Soro em pó.....	93
4.4.2	Soro em pó desmineralizado.....	103
4.4.3	Concentrado protéico de soro.....	115
4.5	Interpretação da evolução da viscosidade em condições simuladas de processamento térmico no RVA.....	123
4.6	Planejamento fatorial Box-Behnken 3 <sup>3</sup> para o WPC.....	125
4.7	Análise de Componentes Principais (PCA).....	134
5	CONCLUSÕES.....	140
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	141
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	142

## 1 INTRODUÇÃO

Produtos lácteos protéicos (MPPs) são importantes para a nutrição humana e promovem uma ampla variedade de propriedades dinâmicas funcionais, largamente exploradas pelas indústrias de alimentos, com o objetivo de proporcionar melhorias de textura, rendimento e palatabilidade aos produtos processados.

Diferentes métodos de produção em escala industrial dos MPPs têm sido desenvolvidos ao longo dos últimos 40 anos. Como resultado, uma grande variedade de produtos, especificamente designados para estas aplicações, está sendo manufaturada pelas indústrias de laticínios. Estes produtos incluem os tradicionais derivados lácteos protéicos desidratados como o leite em pó desnatado (SMP), o soro em pó (WP) e o soro em pó desmineralizado (DWP), além dos produtos de alta concentração protéica como as caseínas, os caseinatos, os concentrados protéicos de soro (WPC), os isolados protéicos de soro (WPI), os concentrados protéicos de leite (MPC) e os isolados protéicos de leite (MPI). Os processos utilizados na manufatura destes produtos tendem a modificar a estrutura nativa das proteínas lácteas, podendo levar a novas interações proteína-proteína e consequentemente gerar impacto sobre a funcionalidade tecnológica das mesmas.

O uso de diferentes tratamentos térmicos nas indústrias de alimentos é um dos principais fatores de influência sobre as propriedades dinâmicas funcionais dos MPPs, dentre as quais a desnaturação térmica das soroproteínas é determinante para a obtenção das características desejáveis no produto processado. A compreensão do comportamento da desnaturação térmica destas proteínas na matriz a ser aplicada é de fundamental importância para o controle tecnológico do processamento.

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 valor tecnológico, com indicações claras sobre o comportamento dos MPPs em condições industriais simuladas de processamento, e o segundo do ponto de vista analítico, pois permite examinar a qualidade do MPP por um foco diferente do tradicional, trazendo informações que contribuem na seleção, qualificação e caracterização do mesmo.

Este trabalho teve como objetivo geral estudar a influência de diferentes condições de processamento térmico na evolução da viscosidade dos produtos lácteos protéicos desidratados, após reidratação adequada, utilizando como simulador o Analisador Rápido de Viscosidade (RVA). Os objetivos específicos foram:

- realizar a análise contínua de viscosidade visando favorecer a escolha dos produtos lácteos protéicos, para aplicações tecnológicas em laticínios;
- identificar os efeitos das variáveis envolvidas no processamento térmico das soluções dos produtos lácteos protéicos desidratados;
- avaliar o uso do RVA como um simulador de processamento térmico para os produtos lácteos protéicos desidratados;
- avaliar o uso dos perfis viscográficos dos MPPs, obtidos em condições de processamento térmico no RVA, como possíveis indicadores das suas características de funcionalidade

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Composição protéica do leite

O principal componente quantitativo do leite é a água, seguida pela lactose, gordura e proteína (caseína e soroproteína). O leite também contém pequena quantidade de minerais, específicas proteínas do sangue, enzimas e pequenos intermediários da síntese mamária. A composição do leite varia de acordo com a raça e a sanidade do animal, estágio de lactação e o tipo e a quantidade de alimentação, dentre outros (WALSTRA; JENNESS, 1984).

O leite bovino normal contém aproximadamente  $35 \text{ g.L}^{-1}$  de proteína, a qual pode ser fracionada em caseínas e soroproteínas. Segundo Walstra & Jenness, (1984) as caseínas são um grupo de fosfoproteínas específicas do leite as quais se precipitam com acidificação a pH 4,6, presente na forma de micelas. Nesta categoria são inclusas quatro tipos de cadeias polipeptídicas designadas  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$  e  $\kappa$ -caseínas, junto com alguns derivados formados pela proteólise destas. Micelas de caseína são partículas coloidais com 80 nm a 300 nm de diâmetro (média aproximada de 150 nm), consistindo a base seca de aproximadamente 94% de proteína e 6% aproximadamente de matéria inorgânica como cálcio, fosfato, magnésio e citrato, sendo um importante composto inorgânico presente o fosfato de cálcio coloidal.

A precisa estrutura da micela de caseína 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 “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 caseína, com a seguinte relação: [ $\alpha_{S1}$ :  $\alpha_{S2}$ : ( $\beta + \gamma$ ):  $\kappa = 4: 1: 4: 1,3$ ], 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 caseína 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 caseína é coordenada por um balanço das interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre as moléculas de caseínas  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ , e  $\beta$  caseínas, consistindo de distintas regiões hidrofóbicas e hidrofílicas. Algumas propriedades e concentrações das proteínas do leite são apresentadas nas TABELAS 1 e 2.

TABELA 1 Propriedades de algumas proteínas do leite. (Adaptada)

Propriedades	Caseínas				Soro Proteínas		
	$\alpha_{S1}$ (B)	$\alpha_{S2}$ (A)	$\beta$ (A <sup>2</sup> )	$\kappa$ (A)	$\beta$ -LG (B)	$\alpha$ -LA (B)	Albumina Sérica
Unidade de massa atômica	23.614	25.230	23.983	19.023 <sup>1</sup>	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 <sup>2</sup>	0 <sup>3</sup>	0 <sup>4</sup>	0
Cálcio iônico (Ca <sup>2+</sup> ) ligado	++	++	+	-	-	( <sup>5</sup> )	-

Fonte: Walstra *et al.* (2001)

<sup>1</sup> Excluindo os resíduos de carboidrato

<sup>2</sup> Valor médioaproximado

<sup>3</sup> 8 em alguma variante pouca freqüente

<sup>4</sup> Uma pequena parte das moléculas contém resíduos de carboidrato

<sup>5</sup> Menos de 1 mol de Ca<sup>2+</sup> por mol

Um fator em comum a todos os modelos é que a porção carboxi-terminal da  $\kappa$ -caseína está, predominantemente, presente como filamentos flexíveis, orientados para o meio externo. A  $\kappa$ -caseína possui regiões de grande hidrofília em sua molécula, se orientando para o lado de fora da micela, enquanto as demais se

orientam para o interior. Isto ocasiona um impedimento estérico e eletrostático a uma aglomeração da micela, Walstra & Van Vliet (1986). Assim, a  $\kappa$ -CN ocupa uma posição de destaque, atuando como estabilizadora da micela, graças à sua solubilidade ao cálcio iônico ( $\text{Ca}^{2+}$ ), independente da temperatura. É glicosilada, possuindo ácido N-acetil-neuramínico, ácido glutâmico e ácido piroglutâmico.

As principais frações das proteínas do soro são  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG), albumina do soro bovino (BSA),  $\alpha$ -lactoalbumina ( $\alpha$ -LA) e imunoglobulinas (Igs). Diversas revisões abrangendo as estruturas e propriedades das proteínas do soro têm sido publicadas (EDWARDS *et al.*, 2009; HAMBLING *et al.*, 1992; KINSELLA; WHITEHEAD, 1989).  $\beta$ -LG é a mais abundante soro proteína, representando aproximadamente 50% do total das soro proteínas do leite bovino, tem uma massa molecular de 18.000 unidades de massa atômica, possui duas ligações dissulfeto internas e um grupo tiol livre.

TABELA 2 Concentrações das principais frações protéicas do leite bovino

Proteína e sua abreviatura sugerida	Concentração no leite desnatado ( $\text{g.L}^{-1}$ )
$\alpha_{S1}$ – caseína ( $\alpha_{S1}$ -CN)	12 a 15
$\alpha_{S2}$ – caseína ( $\alpha_{S2}$ -CN)	3 a 4
$\beta$ – caseína ( $\beta$ -CN)	9 a 11
$\kappa$ – caseína ( $\kappa$ -CN)	2 a 4
$\beta$ – lactoglobulina ( $\beta$ -LG)	2 a 4
$\alpha$ – lactoalbumina ( $\alpha$ -La)	0,6 a 1,7
Soroalbumina (SA)	0,4
Imunoglobulina $G_1$ (Ig $G_1$ )	0,3 a 0,6
Imunoglobulina $G_2$ (Ig $G_2$ )	0,05
Imunoglobulina $A^7$ (IgA)	0,01
Imunoglobulina M (IgM)	0,09
Componente secretor (SC)	0,02 a 0,10
Lactoferrina (LF)	0,02 -0,10

Fonte: Farrell (2004)

## 2.2 Produtos lácteos protéicos

Produtos lácteos protéicos podem ser definidos como produtos lácteos concentrados ou desidratados que quando adicionados aos derivados de leite ou outros alimentos processados na forma de ingredientes, contribuem na melhoria da composição nutricional e também na funcionalidade durante e após o processamento (SINGH, 2009).

As propriedades funcionais tecnológicas têm sido definidas como qualquer propriedade dos alimentos ou dos seus componentes, excetuando-se as nutricionais, que influencie a sua aceitação e utilização. Essas dependem das propriedades físicas e químicas das proteínas, que são muito importantes para o preparo de determinados alimentos, afetando sua conservação, estocagem e aceitação pelos consumidores (SGARBIERI, 1996).

Grande variedade de produtos, especificamente designados para estas aplicações, estão sendo manufaturados pelas indústrias de laticínios (FURTADO, 2000). 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 na manufatura destes produtos, conforme está apresentado na Figura 1. Estes produtos apresentam variação em relação à concentração de proteína, minerais, lipídeos e lactose.

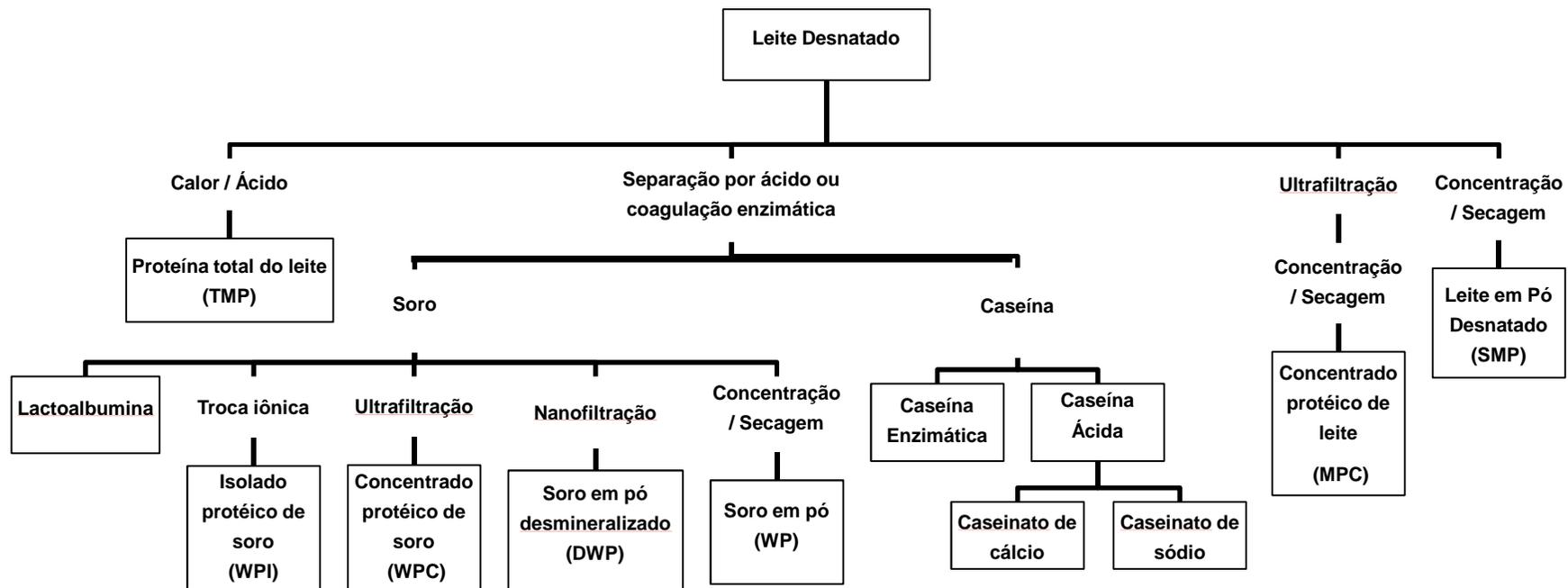


FIGURA 1 Produtos lácteos protéicos desidratados

Fonte: Singh (2009)

Os tradicionais produtos lácteos protéicos, leite em pó desnatado (SMP) e o soro em pó (WP), têm uma longa história de uso como ingredientes nos produtos alimentícios, por exemplo, nas bebidas, sorvetes, pães e bolos entre outros. O SMP pode ser classificado quanto ao índice de desnaturação protéica (WPNI) como baixo, médio e alto tratamento térmico. Leite em pó com alta concentração de proteína variando entre 500 g.kg<sup>-1</sup> a 850 g.kg<sup>-1</sup> são normalmente classificados como concentrados protéicos de leite (MPC), sendo os principais o MPC56, MPC70 e MPC85, onde o número é referente à concentração aproximada de proteína. A composição de diferentes produtos está apresentada na TABELA 03:

TABELA 3 Composição típica de proteínas lácteas desidratadas

Constituinte (g.kg <sup>-1</sup> )	SMP	MPC56	MPC70	MPC85
Lipídeos	8	13	14	10
Proteína	340	571	700	850
Lactose	535	301	170	30
Minerais	79	77	72	70
Umidade	38	38	44	40

SMP = Leite em pó desnatado, MPC = Concentrado protéico de leite em pó

Fonte: Singh (2009)

O processo de fabricação do SMP consiste em diferentes etapas como: (i) desnate e pasteurização do leite cru, (ii) pré-aquecimento do leite com possíveis combinações entre tempo/temperatura, (iii) concentração do leite em evaporadores de múltiplos efeitos, (iv) tratamento térmico do concentrado para reduzir a viscosidade inicial na entrada da câmara de secagem, e (v) secagem do concentrado.

Na fabricação do MPC, leite desnatado é concentrado por ultrafiltração (UF) para aumentar o conteúdo de proteína e remover parte da lactose e os sais. Para os produtos com concentração mais alta de proteína, (normalmente acima de 700 g.kg<sup>-1</sup> de proteína na base seca) diafiltração (DF) é normalmente aplicada. Geralmente,

nenhuma etapa de pré-aquecimento é necessária. Depois da UF e DF do SMP, o retentado é evaporado para aumentar a concentração de sólidos e depois desidratado em câmara de secagem.

MPCs são comumente adicionados ao leite ou queijos formulados para aumentar a concentração de proteínas e/ou rendimento do produto final. MPC pode ser utilizado para melhorar as características de textura do iogurte. O uso do MPC em bebidas nutricionais está crescendo. Nestas aplicações, MPC contribui com ambas as proteínas do leite (caseína e soroproteínas), na mesma proporção que o leite, porém com concentração de lactose muito menor (BALDWIN; PEARCE, 2005).

A produção dos derivados de soro em pó envolve a combinação de diferentes processos como UF, NF, DF, osmose reversa, troca iônica, evaporação e secagem (Hobman, 1992). Os produtos comerciais incluem os concentrados protéicos de soro (WPCs), isolados protéicos de soro (WPIs) e proteínas fracionadas como a  $\alpha$ -LA e  $\beta$ -LG (MULVIHILL, 1992). Os mais importantes sob o ponto de vista comercial são o WPC (aproximadamente  $850 \text{ g.kg}^{-1}$  de proteína) e o WPI (aproximadamente  $950 \text{ g.kg}^{-1}$  de proteína). Composição típica de WPC em escala industrial é apresentada na TABELA 4.

TABELA 4 Composição típica do concentrado protéico do soro (WPC)

Constituinte	Faixa de variação ( $\text{g.kg}^{-1}$ )
Umidade	33 a 45
Proteína	730 a 860
Lactose	8 a 76
Lipídeos	33 a 74
Fosfolipídeos	8 a 15,5
Cinzas	25 a 53

Fonte: Singh (2009)

O WPC tem aplicação em produtos cárneos, bebidas, panificação e produtos infantis (KINSELA, 1984; DE WIT, 1989). As principais características de funcionalidade dos derivados de soro incluem a forte interação com água,

emulsificação, aeração, e geleificação. As funcionalidades destes produtos não dependem somente da composição, mas também dos vários processos a que são submetidos durante o processo de fabricação (DE WIT *et al.*, 1996).

A caseína, principal proteína do leite, pode ser extraída via precipitação por três processos: (i) por adição de ácido mineral, (ii) por ação de culturas lácticas que utilizam a lactose para o seu metabolismo e liberam ácido láctico, e (iii) por ação da quimosina ou outra protease microbiana apropriada (MULVIHILL, 1992; MULVIHILL; ENNIS, 2003). O processo via ácido mineral envolve a acidificação do leite desnatado pasteurizado (72°C por 15 segundos) usando ácido sulfúrico ou ácido clorídrico para reduzir o pH a aproximadamente 4,6 a 20°C. No processo de fabricação por ácido láctico, leite desnatado pasteurizado é inoculado com bactérias lácticas selecionadas e incubado entre 22°C a 26°C. As bactérias se desenvolvem no leite produzindo ácido láctico, abaixando o pH, e eventualmente provocando a precipitação isoelétrica das proteínas. No processo enzimático, quimosina de vitelo ou proteases microbianas são adicionadas ao leite desnatado, seguida de incubação a 30°C. A ação da quimosina é clivar a ligação feni lalanina (105) – metionina (106) da  $\kappa$ -CN, resultando em agregação das partículas de caseína.

Para os três tipos de caseína, a coalhada obtida é aquecida, geralmente por adição direta de vapor, entre 50°C a 55°C para promover uma maior agregação das partículas de caseína e facilitar a sinérese. A coalhada é então lavada com água, seguida da dessoragem para reduzir a umidade entre 500 a 600 g.kg<sup>-1</sup>. A secagem desta massa de caseína é mais comum em secadores horizontais tipo fluido-vibratório.

Caseinato de sódio é geralmente preparado pela solubilização da caseína ácida com hidróxido de sódio (NaOH) pelo incremento de pH para 6,7 a 7,0 para produzir uma solução de aproximadamente 230 g.kg<sup>-1</sup> de sólidos. Esta solução é então desidratada em secagem por spray. Um processo similar é usado na fabricação do caseinato de cálcio, sendo que o hidróxido de cálcio neste caso é utilizado para neutralizar a acidez da coalhada formada.

Um produto de proteína incluindo a caseína e as soroproteínas, conhecido como proteína total do leite, pode ser fabricado por diversas variações nos processos apresentados anteriormente.

Os produtos de caseína possuem uma grande variedade de aplicações como ingredientes alimentícios, com o objetivo de contribuir na formação de emulsões, retenção de água e melhorias nas propriedades nutricionais dos alimentos. A caseína resiste a tratamentos térmicos mais elevados, enquanto as soroproteínas, mais termolábeis, desnaturam-se com grande facilidade. A capacidade destas proteínas quanto à retenção de água é aumentada com a adição de fosfatos (hexametáfosfatos) e de citratos, bem como com tratamentos térmicos mais drásticos, decrescendo com a elevação da concentração dos íons cálcio e magnésio (MOSQUIM, 1999).

### **2.3 Interações protéicas durante as etapas de fabricação dos produtos lácteos protéicos**

O processo de conversão do leite ou do soro líquido 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 conseqüentemente as interações entre as mesmas e também com outros compostos não protéicos, é extremamente determinante para comportamento funcional dos produtos desidratados.

TABELA 5 Composição de alguns produtos a base de proteínas lácteas<sup>a</sup>.

Produto	Método de obtenção	Isolado de	Composição geral (g.kg <sup>-1</sup> )			
			Proteína bruta	Carboidratos	Cinzas	Gordura
Caseína ácida	Coagulação ácida	Leite desnatado	830 a 950	1 a 10	23 a 30	20 <sup>f</sup>
Caseinato Na	Ácido + NaOH	Leite desnatado	810 a 880	1 a 5	45 <sup>f</sup>	20 <sup>f</sup>
Caseína do coalho	Coagulação enzimática	Leite desnatado	790 a 830	1 <sup>f</sup>	70 a 80	10 <sup>f</sup>
Isolado de PS <sup>b</sup>	Troca iônica	Soro lácteo	850 a 920	20 a 80	10 a 60	10 <sup>f</sup>
Concentrado de PS	Ultrafiltração	Soro lácteo	500 a 850	80 a 400	10 a 60	<10
Concentrado de PS	Eletrodialise + cristalização da lactose	Soro lácteo	270 a 370	400 a 600	10 a 100	40 <sup>f</sup>
Soro em pó <sup>c</sup>	Desidratação por atomização	Soro lácteo	110 <sup>f</sup>	730 <sup>f</sup>	80 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>
Complexo de PS	Metafosfato	Soro lácteo	550 <sup>f</sup>	130 <sup>f</sup>	130 <sup>f</sup>	50 <sup>f</sup>
Complexo de PS	CMC	Soro lácteo	500 <sup>f</sup>	200 <sup>d f</sup>	80 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>
Complexo de PS	Fe + polifosfato	Soro lácteo	350 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>	540 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>
Lactalbumina	Calor + ácido <sup>e</sup>	Soro lácteo	780 <sup>f</sup>	100 <sup>f</sup>	50 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>
Coprecipitado	Calor + ácido <sup>e</sup>	Leite desnatado	850 <sup>f</sup>	10 <sup>f</sup>	80 <sup>f</sup>	20 <sup>f</sup>

Fonte: Walstra *et al.* (2001)

<sup>a</sup> Nestes processos de elaboração sempre se inclui a dessecação até 3-8% de água

<sup>b</sup> PS = Proteínas do soro

<sup>c</sup> Dados que são fornecidos a título de comparação

<sup>d</sup> Inclui CMC (carboximetilcelulose)

<sup>e</sup> e/ou CaCl<sub>2</sub>

<sup>f</sup> valores aproximados

As mudanças ocorridas nas proteínas induzidas pelo processamento dos produtos lácteos protéicos desidratados foram recentemente apresentadas por Singh (2009) e sumarizadas na TABELA 6.

TABELA 6 Impacto nas proteínas induzido pelo processamento do SMP e MPC

Processo	Efeito nas proteínas do leite
Pré-aquecimento	Desnaturação das soro proteínas; associação das soro proteínas com as micelas de caseína; mudanças no tamanho das micelas, com difusão de compostos salinos da fase contínua para a fase coloidal; abaixamento de pH
Evaporação	Aumento do 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 caseína
Ultrafiltração / Diafiltração	Inchaço das micelas de caseína, perda de cálcio e fosfato coloidais para a fase contínua, dissociação das micelas e caseína, agregação e dissociação das caseínas durante diafiltração
Secagem	Remoção rápida da água; menores mudanças nas proteínas relativamente

Fonte: Singh (2009)

### 2.3.1 Pré-aquecimento

O pré-tratamento térmico convencionalmente refere-se ao aquecimento dado ao leite ou soro antes da evaporação e secagem. O principal objetivo deste pré-aquecimento é alterar as características de funcionalidade do pó e elevar a temperatura do produto o suficiente para assegurar que o mesmo entre no primeiro

efeito do evaporador em condições de ebulição. As temperaturas de aquecimento variam de 72°C por 15 segundos a 120°C por 2 minutos. Este aquecimento provoca competição e também reações interdependentes nas proteínas do leite, e este assunto tem sido discutido em um grande número de revisões e livros (FOX, 1982; SINGH; CREAMER, 1992; SINGH; NEWSTEAD, 1992; SINGH, 2004; O'CONNEL; FOX, 2003; ANEMA, 2009).

A mais importante reação durante o pré-aquecimento é a desnaturação protéica das soroproteínas, interações das soroproteínas com as micelas de caseína e agregação/dissociação das micelas de caseína.

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 à 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 protegidos), 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 >  $\beta$ -LG A >  $\beta$ -LG B >  $\alpha$ -LA (DANNENBERG; KESSLER, 1988; OLDFIELD *et al.*, 1998a).

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

Particularmente, a  $\beta$ -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 (TABELA 7). Nesta tabela, a somatória das porcentagens ultrapassa os 100%, devido aos parâmetros N-soroproteínas, N- $\beta$ -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- $\beta$ -lactoglobulina).

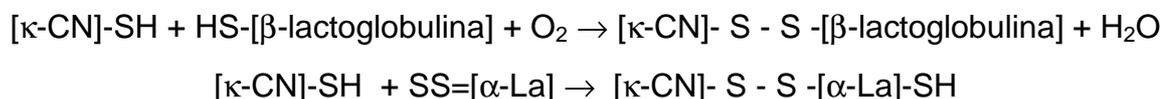
TABELA 7 Distribuição do nitrogênio nos leites cru, pasteurizado e fervido

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

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

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

A  $\kappa$ -caseína, em especial, tem a capacidade de reagir com o grupamento sulfidril das proteínas do soro desnaturadas, possivelmente da forma abaixo (FOX, 1991):



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

A  $\alpha$ -lactoalbumina não possui grupos SH e sim quatro grupos S-S/mol.

Para que a  $\alpha$ -lactoalbumina se ligue à  $\kappa$ -caseína, 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  $\kappa$ -caseína, 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 proteínas do soro 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 8). Dessa forma, a desnaturação deve ser conduzida de forma a beneficiar as propriedades importantes para cada derivado.

TABELA 8 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 soro proteínas é complexa, com efeito significativo nas mudanças entre 80-100°C (LARSON; ROLLERI, 1955) . A reação de desnaturação mostra um relação não linear de Arrhenius; existe uma notável mudança dependente da temperatura próximo de 80-90°C para ambas  $\alpha$ -LA e  $\beta$ -LG. A energia de ativação aparente está na faixa de 260 kJ.mol<sup>-1</sup> a 280 kJ.mol<sup>-1</sup> para a  $\beta$ -LG e 270 kJ.mol<sup>-1</sup> a 280 kJ/mol para a  $\alpha$ -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<sup>-1</sup> a 60 kJ/mol para a  $\beta$ -LG e de 55 kJ.mol<sup>-1</sup> a 70 kJ/mol para a  $\alpha$ -LA, indicando interação química (agregação).

Oldfield *et al.* (1998b) sugeriu que existem pelo menos três possíveis espécies de desnaturação da  $\beta$ -LG que podem associar com as micelas: (i) monômero de  $\beta$ -LG desdobrado, (ii) auto-agregação de  $\beta$ -LG e (iii) agregados de  $\beta$ -LG/ $\alpha$ -LA. A taxa relativa de associação destas espécies com as micelas de caseína depende da temperatura e gradiente de aquecimento, que por sua vez afetam as taxas relativas de desdobramento 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  $\beta$ -LG desdobrados se auto-agregarem, que conseqüentemente fará a associação com as micelas de caseína menos eficiente. Estes agregados de  $\beta$ -LG poderiam sobressair da superfície da micela de caseína promovendo um efeito estérico para novas associações de  $\beta$ -LG. Além disso, estes

agregados podem ter seus grupos reativos sulfidrílicos enterrado no interior do agregado, e portanto, indisponível para as reações de transferência sulfidril-dissulfeto com a  $\kappa$ -caseína micelar. A formação de  $\beta$ -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  $\beta$ -LG desdobradas penetram na camada capilar da  $\kappa$ -caseína 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 caseína, 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 caseína, enquanto em pH mais alto, os complexos de soroproteína e  $\kappa$ -caseína dissociam-se das superfícies das micelas, aparentemente por causa de dissociação da  $\kappa$ -caseína (SINGH; FOX, 1985).

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

### **2.3.2 Evaporação**

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 as qualidades 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 a 70°C. Aproximadamente 80% da água pode ser removida do leite, concentrando de 90 g.kg<sup>-1</sup> a 140 g.kg<sup>-1</sup> de sólidos totais para 440 g.kg<sup>-1</sup> a 500 g.kg<sup>-1</sup> de sólidos. No caso de soro, este percentual final varia entre 550 g.kg<sup>-1</sup> a 600 g.kg<sup>-1</sup> de sólidos.

A evaporação promove inúmeras mudanças nos sistemas 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  $450 \text{ g.kg}^{-1}$  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  $\beta$ -LG ou Ig G durante a evaporação do leite desnatado até  $450 \text{ g.kg}^{-1}$  de sólidos totais, entretanto alguma desnaturação de  $\alpha$ -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  $\beta$ -LG e  $\alpha$ -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 caseína 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 caseína 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  $70^\circ\text{C}$ , as alterações nas proteínas nesta etapa de fabricação são comparativamente menores que aquelas ocorridas durante a etapa de pré-aquecimento (SINGH; CREAMER, 1991). Para o processamento do soro, uma temperatura de  $50^\circ\text{C}$  durante a evaporação é efetiva para uma concentração do retentado da UF/DF acima de  $400 \text{ g.kg}^{-1}$  de sólidos totais e assegurar a não desnaturação térmica da soroproteínas.

### **2.3.3 Concentração por ultrafiltração e diafiltração**

O processo de ultrafiltração do leite desnatado (UF) permite que água, lactose, compostos nitrogenados não protéicos e sais solúveis passem pela membrana enquanto as micelas de caseína e as soro proteínas 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 MPP com alta concentração de proteínas, tipicamente acima de  $800 \text{ g.kg}^{-1}$ . Água purificada é comumente utilizada. O número de estágios 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.

Relativamente poucos trabalhos sobre o comportamento das micelas durante UF/DF têm sido publicados. Srilaorkul *et al.* (1991) usando microscopia eletrônica, mostrou que o tamanho da maior proporção das micelas de caseína (80 nm a 100 nm) no leite foi reduzido (para 60 nm a 80 nm) para valores de concentração fator 5. Esta diminuição no tamanho das micelas de caseína foi atribuída principalmente às mudanças nas concentrações dos sais, particularmente cálcio e fosfato. Em contraste, McKenna (2000) encontrou que houve pequena mudança no tamanho das partículas nos primeiros estágios da UF, mas a média aumentou significativamente na etapa final do processo de UF e particularmente durante a DF. McKenna (2000) observou um progressivo inchaço das micelas e caseína e a formação de material não micelar.

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

#### **2.3.4 Secagem**

A secagem por spray-drier é a mais utilizada para os MPPs desidratados. O objetivo é remoção da água remanescente da concentração para a produção de pó com  $30 \text{ g.kg}^{-1}$  a  $50 \text{ g.kg}^{-1}$  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 ( $150^{\circ}\text{C}$  a  $250^{\circ}\text{C}$ ). Inicialmente as gotas do produto são rapidamente secas até a temperatura de bulbo úmido ( $45^{\circ}\text{C}$  a  $60^{\circ}\text{C}$ ), entretanto, 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 a 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. O distribuição do tamanho das micelas de caseína, 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).

Para a secagem do retentado da UF de soro, é usual a utilização de câmaras de secagem equipadas com atomizador de bico. Tipicamente, as temperaturas do ar de entrada e saída são 160°C a 180°C e menor que 80 °C, respectivamente (HOBMAN, 1992)

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).

#### **2.4 Analisador Rápido de Viscosidade (RVA)**

O *Rapid Visco<sup>TM</sup> Analyser* (RVA<sup>TM</sup>), 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<sup>TM</sup>* (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 necessários 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 0 rad.s<sup>-1</sup> a 125,7 rad.s<sup>-1</sup>. 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 esta 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 agitado, precisa fornecer um torque igual e oposto, sendo este mensurado e convertido para leitura de viscosidade.

Devido as suas características, Bennet *et. al.* (2007) sugerem o uso do RVA na caracterização das propriedades dos ingredientes e alimentos ricos em proteínas. Amostras de leite em pó desnatado, e concentrado protéico de soro processados com diferentes tratamentos térmicos tiveram suas propriedades de viscosidade avaliadas pelo RVA, e correlacionadas com a proporção de soroproteínas solúvel. Proteínas de soja, glúten, gelatina, proteínas de ovo, leite condensado açucarado e queijos também foram submetidos a diferentes perfis de avaliação no RVA e cada grupo de produtos apresentou respostas viscográficas específicas quanto ao tipo de processamento, pH, concentração e forma de hidratação, mostrando a sensibilidade do equipamento a diversas influências nas proteínas deste produtos. Simulações do processamento de iogurte também foram realizadas no RVA, desde o preparo da base, o tratamento térmico, fermentação, quebra do gel e resfriamento. Assim, obtendo-se um perfil viscográfico de todas as etapas da fabricação.

## 2.5 Análise de componentes principais (PCA)

O uso de análises estatísticas multivariadas para a interpretação de dados analíticos vem se tornando uma importante ferramenta para a interpretação de dados analíticos nos últimos anos, principalmente aquelas com base na análise exploratória de dados, reconhecimento de padrões e análise discriminante.

Os métodos de reconhecimento de padrões permitem identificar similaridades e diferenças nas propriedades das amostras e/ou variáveis. Os métodos de reconhecimento de padrões podem ser supervisionados e não supervisionados. Os métodos não supervisionados, denominados também de métodos de análise exploratória, são aqueles usados apenas para examinar similaridades ou diferenças entre amostras, exemplo, a Análise por Componentes Principais (PCA, do inglês, *Principal Component Analysis*) (MASSART, 1997). O PCA é dos métodos multivariados mais simples e pode ser usado para explicar a estrutura de covariância-variância de um conjunto de dados usando uma combinação linear das variáveis originais para formar componentes principais (PCs) (BRERETON, 2000). As combinações das dimensões originais descrevem a maior variação entre os conjuntos de dados, e a maioria das informações do conjunto de dados original pode ser explicada por um pequeno número de variáveis.

A PCA faz uma aproximação da matriz de dados em termos da soma de várias matrizes de posto 1, na qual posto significa um número que expressa a dimensionalidade da matriz, como mostra a FIGURA 2.

$$X = T_1 P_1^T + T_2 P_2^T + \dots + T_a P_a^T$$

FIGURA 2 Representação esquemática da decomposição por PCA.

Esta matriz pode ser escrita como produto de dois vetores, escore **t** e peso **p**, conforme a apresentado na Equação 1.

$$X = t_1 p_1 + t_2 p_2 + \dots + t_a p_a \quad (\text{Equação 1})$$

para “**a**” componentes principais. Outra maneira de escrever a Equação 1 é por meio da Equação 2:

$$X = TP^T \quad (\text{Equação 2})$$

onde **X** é o conjunto original dos dados com **n** linhas (amostras) e **m** colunas (variáveis); **T** é a matriz dos escores com **n** linhas e **d** colunas (número de componentes principais, novas coordenadas no novo sistema de eixos) **P** é a matriz dos *loadings* (informação do peso de cada variável original na formação dos novos eixos) com **d** linhas e **m** colunas.

O novo conjunto de variáveis (componentes principais) é a combinação linear das variáveis originais. A PCA tenta agrupar aquelas variáveis que estão altamente correlacionadas numa nova variável chamada componente principal. Usualmente a grande fração da variância é descrita nos primeiros componentes principais, sendo possível visualizar os dados pelo gráfico dos escores de um componente contra o outro. O gráfico de escores mostra similaridade e as diferenças entre as amostras e o gráfico dos pesos mostra a contribuição de cada variável para o modelo das componentes principais.

## 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 sofisticado 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.

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 3:

$$n = 2k(k-1) + n_{PC} \quad (\text{Equação 3})$$

onde:  $k$  é o número de fatores;

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

Para um planejamento Box-Behnken  $3^3$  com triplicata no ponto central, a matriz de planejamento é mostrada na TABELA 9.

TABELA 9 Matriz de planejamento para um Box-Behnken  $3^3$ 

Ensaio	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Resposta
1	-1	-1	0	$Y_1$
2	1	-1	0	$Y_2$
3	-1	1	0	$Y_3$
4	1	1	0	$Y_4$
5	-1	0	-1	$Y_5$
6	1	0	-1	$Y_6$
7	-1	0	1	$Y_7$
8	1	0	1	$Y_8$
9	0	-1	-1	$Y_9$
10	0	1	-1	$Y_{10}$
11	0	-1	1	$Y_{11}$
12	0	1	1	$Y_{11}$
13	0	0	0	$Y_{13}$
14	0	0	0	$Y_{14}$
15	0	0	0	$Y_{15}$

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Devido às diferentes configurações possíveis para o uso do RVA como simulador de processamento térmico, faz-se obrigatório ensaios prévios para cada tipo ou classe de produto a ser analisado. No caso deste estudo, os MPPs selecionados podem ser classificados quanto à origem da sua obtenção (derivados de leite ou derivados de soro) e também quanto à concentração de proteína (produtos de alta concentração protéica WPC / MPC e produtos de baixa concentração protéica WP / DWP e SMP).

O delineamento experimental empregado foi determinado após a realização dos testes preliminares, que consistiram na avaliação da influência da velocidade de  $5,2 \text{ rad.s}^{-1}$ ,  $15,7 \text{ rad.s}^{-1}$  e  $31,4 \text{ rad.s}^{-1}$  do agitador no RVA, e as faixas de concentrações de cada ingrediente lácteo respeitando os limites de trabalho do equipamento.

#### 3.1 Amostras dos produtos lácteos protéicos desidratados

Foram selecionados cinco tipos de MPPs desidratados para avaliação, estando os critérios de escolha relacionados abaixo em ordem de importância:

- uso industrial no Brasil
- produção industrial nacional
- importância econômica atual
- amplitude de utilização em diferentes áreas
- prospecção de utilização futura

Desta forma, uma amostra de produção industrial de cada MPP foi previamente selecionada no mercado nacional ou no exterior, 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 10.

TABELA10 Produtos lácteos protéicos avaliados e sua origem

Produto	Origem
Leite em pó desnatado	Brasil
Concentrado protéico de leite em pó (MPC70)	EUA
Soro de leite em pó	Brasil
Soro de leite em pó desmineralizado 40%	Brasil
Concentrado protéico de soro em pó (WPC80)	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 Caracterizações químicas e microbiológicas

Os produtos tiveram as suas características químicas e microbiológicas previamente informadas pelos seus fabricantes por meio de laudos de análises dos lotes adquiridos. Foram realizadas algumas análises para aferição dos resultados informados pelos laudos no Laboratório de Análise de Produtos da empresa Gemacom Tech. Assim, foram determinadas as seguintes análises para os produtos apresentados na TABELA 11.

TABELA 11 Relação das análises, por tipo de amostra de MPP segundo informações de fabricantes e laboratórios privados

Análises	Derivados de leite		Derivados de soro		
	Leite em pó desnatado	Concentrado protéico de leite	Soro de leite em pó	Soro de leite desmineralizado	Concentrado protéico de soro
Gorduras Totais	IN n°68 de 12/12/2006	AOAC 989.05	FAO, 1976	FAO, 1976	AOAC 989.05
Umidade	FIL 26A: 1993	AOAC 925.45	FIL 26A: 1993	FIL 26A: 1993	AOAC 927.05 17 <sup>th</sup>
Proteína Total	IN n°68 de 12/12/2006	AOAC 991.20	FIL 20B: 1993	FIL 20B: 1993	AOAC 991.20
Proteína na base seca	Cálculo	Cálculo	Cálculo	Cálculo	Cálculo
Lactose	Cálculo	Cálculo	Cálculo	Cálculo	Cálculo
Cinzas	IN n°68 de 12/12/2006	AOAC 900.02	AOAC 15 <sup>th</sup> , 1990	AOAC 15 <sup>th</sup> , 1990	AOAC 900.02
Acidez	FIL 81:1981	FIL 81:1981	FIL 81: 1981	FIL 81: 1981	n.a. <sup>1</sup>
Cloreto	n.a. <sup>1</sup>	n.a. <sup>1</sup>	n.a. <sup>1</sup>	LANARA	n.a. <sup>1</sup>
pH	n.a. <sup>1</sup>	AOAC 981.12	Adolfo Lutz	Adolfo Lutz	AOAC 981.12
Peso específico	n.a. <sup>1</sup>	C314 VK Density Tapper	Niro Atomizer	Niro Atomizer	C314 VK Density Tapper
Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios	FIL 100B:1991	AOAC 989.10	FIL 100B:1991	FIL 100B:1991	AOAC 989.10
Coliformes 30°C	APHA 1992	AOAC 989.10	APHA 1992	APHA 1992	AOAC 989.10
<i>Escherichia coli</i>	APHA 1992	AOAC 989.10	APHA 1992	APHA 1992	AOAC 989.10
Fungos filamentosos e Leveduras	FIL 94B: 1990	AOAC 989.10	FIL 94B: 1990	FIL 94B: 1990	AOAC 989.10
Estafilococos coagulase positiva	FIL 138:1986	AOAC 2003.08	FIL 138:1986	FIL 138:1986	AOAC 2003.08
<i>Salmonella sp</i>	FIL 93B:1995	AOAC 967.25	FIL 93B:1995	FIL 93B:1995	AOAC 967.25

<sup>1</sup> não analisado

### 3.3 Processamento térmico

Três níveis de processamento térmico (baixo, médio e alto) foram utilizados para simular diferentes processamentos térmicos em cada amostra de MPP, sendo estes selecionados por serem os mais utilizados para o processamento de queijos, leites fermentados, petit suisse, creme de leite pasteurizado e bebidas lácteas aromatizadas pasteurizadas pelas indústrias de laticínios: 65°C por 30 minutos (baixo), 85°C por 15 minutos (médio) e 95°C por 5 minutos (alto).

### 3.4 Preparo das amostras

Conforme recomendação de Bennet *et. al.* (2007), todas as amostras foram previamente hidratadas antes de serem submetidas ao RVA. Foram preparadas em duplicatas réplicas autênticas das soluções, utilizando água destilada como solvente e agitação constante durante 30 minutos à temperatura de 25°C para os MPPs. Todas estas soluções foram elaboradas com 100 g de água e quantidade suficiente de MPP para obter a concentração desejada de base seca (g base seca/g água). Os produtos desidratados foram mantidos em embalagens herméticas devido às características higroscópicas das amostras, evitando assim absorção de umidade. Antes do preparo de cada solução, análises de umidade foram feitas para se obter o cálculo exato da quantidade de MPP a ser utilizado devido a sua concentração de base seca. As concentrações das soluções avaliadas de cada produto estão apresentadas na TABELA 12. Devido às características de solubilidade do MPC, também foram realizadas simulações de processamento térmico sem hidratação prévia adicionando este MPP diretamente em água já na cuba do equipamento. As abreviações MPC<sub>1</sub> e MPC<sub>2</sub> se referem, respectivamente, às soluções de MPC com hidratação prévia e sem hidratação prévia.

Nas simulações, 25 g de cada solução foram previamente pesadas na cuba de aquecimento do RVA. No caso do MPC, sem hidratação prévia, os cálculos foram realizados para que a solução preparada diretamente na cuba também apresentasse 25 g de massa final.

Para garantir a completa uniformização das soluções a serem analisadas, a rotação do RVA foi configurada para  $104,7 \text{ rad.s}^{-1}$  durante os primeiros 60 segundos, a uma temperatura constante de  $30^\circ\text{C}$ .

TABELA 12 Concentrações das soluções dos MPPs avaliadas no RVA

Produto	Concentração $\text{g.g}^{-1}$ (base seca em água)	
	Com hidratação prévia	Sem hidratação prévia
Leite em pó desnatado (SMP)	0,5 / 0,6 / 0,7 / 0,8	X
Concentrado protéico de leite (MPC)	0,1 / 0,12 / 0,14 / 0,16	0,3 / 0,35 / 0,4 / 0,45
Soro de leite em pó (WP)	0,5 / 0,6 / 0,7 / 0,8	X
Soro de leite em pó desmineralizado 40% (DWP)	0,5 / 0,6 / 0,7 / 0,8	X
Concentrado protéico de soro (WPC)	0,1 / 0,2 / 0,3 / 0,4	X

As soluções de SMP, WP, DWP e WPC tiveram o pH ajustado para 6,5, utilizando solução  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  de hidróxido de sódio. Para as soluções de MPC, devido à característica do produto, o pH foi mais alto que 6,5. Para evitar qualquer tipo de interferência ácida, optou-se por trabalhar com o pH original do mesmo, que variou entre 6,7 a 6,9.

### 3.5 Configurações do *Rapid Visco™ Analyser* (RVA)

O equipamento utilizado neste trabalho foi o modelo *Series 4* (RVA-4) da NEWPORT SCIENTIFIC instalado na unidade industrial 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 nas TABELAS 13, 14 e 15:

TABELA 13 Configurações do processamento térmico nível baixo (65°C por 30 minutos)

Tempo	Comando	Valor
0 min 00 s	Temperatura (°C)	30
0 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	104,7
1 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	15,7
1 min 00 s	Temperatura (°C)	30
6 min 24 s	Temperatura (°C)	65
36 min 24 s	Temperatura (°C)	65
39 min 06 s	Temperatura (°C)	30
44 min 06 s	Temperatura (°C)	30
44 min 07 s	Término	X

TABELA 14 Configurações do processamento térmico nível médio (85°C por 15 minutos)

Tempo	Comando	Valor
0 min 00 s	Temperatura (°C)	30
0 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	104,7
1 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	15,7
1 min 00 s	Temperatura (°C)	30
9 min 30 s	Temperatura (°C)	85
24 min 30 s	Temperatura (°C)	85
28 min 42 s	Temperatura (°C)	30
33 min 42 s	Temperatura (°C)	30
33 min 43 s	Término	X

TABELA 15 Configurações do processamento térmico nível alto (95°C por 5 minutos)

Tempo	Comando	Valor
0 min 00 s	Temperatura (°C)	30
0 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	104,7
1 min 00 s	Rotação (rad.s <sup>-1</sup> )	15,7
1 min 00 s	Temperatura (°C)	30
11 min 00 s	Temperatura (°C)	95
16 min 00 s	Temperatura (°C)	95
21 min 00 s	Temperatura (°C)	30
26 min 00 s	Temperatura (°C)	30
26 min 01 s	Término	X

Para todos os três níveis de tratamento, o intervalo entre as leituras de viscosidade foi de 4 segundos.

Os gradientes de aquecimento e resfriamento também foram padronizados entre os níveis, sendo 6,5°C por minuto e 13,0°C por minuto respectivamente.

Os perfis viscográficos obtidos foram interpretados em relação a quatro diferentes dados coletados, que estão descritos na TABELA 16.

TABELA 16 Descrição dos dados coletados no perfil viscográfico

Dados	Identificação	Descrição
1	Viscosidade de Pico – $V_P$	Maior viscosidade obtida durante o processamento térmico antes do início do resfriamento
2	Viscosidade de retenção – $V_R$	Viscosidade obtida no final do tempo de retenção do processamento térmico
3	Viscosidade final – $V_F$	Última leitura de viscosidade obtida no final da análise
4	Área por unidade tempo – $\int/t$	Valor da integração do perfil viscográfico, dividido pelo tempo total da análise

Os cálculos de integração dos perfis viscográficos foram realizados no software MICROCAL™ ORIGIN® versão 6.0.

Todos os cálculos de integração foram feitos com os perfis viscográficos a partir do tempo 67 segundos, descartando assim o tempo de agitação com velocidade de 104,7 rad.s<sup>-1</sup>, conforme descrito na etapa de preparo das amostras.

### 3.6 Planejamento fatorial Box-Behnken 3<sup>3</sup> para WPC

Para o estudo da otimização entre a concentração, temperatura e tempo nas condições simuladas de processamento térmico no RVA, foi selecionado o WPC entre os MPPs disponíveis para as avaliações, por ser um produto de alto teor protéico e de grande utilização nas indústrias de alimentos, como ingrediente para atribuir propriedades de funcionalidade.

Um planejamento fatorial Box-Behnken  $3^3$  foi realizado a fim de avaliar o efeito do processamento térmico sobre as características deste MPP, 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 17.

TABELA 17 Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial Box-Behnken  $3^3$

Fatores	Níveis dos fatores		
	-1	0	+1
Tempo (minutos)	5	15	30
Temperatura (°C)	65	85	95
Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	0,2	0,3	0,4

A TABELA 18 apresenta a matriz de planejamento, com as combinações dos níveis e dos fatores, onde os experimentos 13, 14 e 15 são réplicas do ponto central. Os procedimentos foram realizados de forma aleatória por meio de sorteio.

TABELA 18 Matriz de planejamento para o Box-Behnken 3<sup>3</sup> do WPC

Aleatorização	Tempo (nível)	Tempo (minutos)	Temperatura (nível)	Temperatura (°C)	Concentração (nível)	Concentração (g.g <sup>-1</sup> )
10	0	15	1	95	-1	0,2
6	1	30	0	85	-1	0,2
3	-1	5	1	30	0	0,3
12	0	15	1	95	1	0,4
4	1	30	1	95	0	0,3
2	1	30	-1	65	0	0,3
14	0	15	0	85	0	0,3
5	-1	5	0	85	-1	0,2
8	1	30	0	85	1	0,4
13	0	15	0	85	0	0,3
15	0	15	0	85	0	0,3
1	-1	5	-1	65	0	0,3
7	-1	5	0	85	1	0,4
9	0	15	-1	65	-1	0,2
11	0	15	-1	65	1	0,4

### 3.7 Análises dos resultados

Os resultados obtidos foram analisados por meio do coeficiente de correlação e da regressão, a fim de concluir sobre a definição dos principais fatores a serem utilizados na interpretação do perfil viscográfico dos MPPs nas condições simuladas no RVA. Também foram conduzidas análises de variância a fim de testar as diferenças nas variáveis estudadas com os MPPs em relação à concentração e ao processamento térmico. Empregou-se o sistema para análises estatísticas SAEG 9.1

Para a análise de regressão foram aceitos os modelos que apresentaram nível de significância igual ou menor que 5% para modelo e para coeficientes linear e quadrático, quando for o caso.

Para a análise de correlação, foram aceitos coeficientes com nível de significância igual ou menor que 5%.

As superfícies de resposta e cálculos dos efeitos foram obtidos pelo emprego do programa computacional STATISTIC 6.0 (Statsoft, Inc.) e para a ANOVA, Microsoft Excel 2007 (Microsoft Co.).

Para a análise exploratória por tipo de processamento térmico entre os MPPs, os resultados do RVA foram organizados em matrizes com os tratamentos (MPP e Concentração) nas linhas e as médias das leituras de viscosidade de todo o perfil viscográfico nas colunas e, então, submetidos a Análise de Componentes Principais (PCA), a partir da matriz de covariância, utilizando PLS Toolbox v.2.9.2.9 (Eigen Vector Research Inc., Wenatchee, WA), operando em ambiente MATLAB (R2007B, v. 7.5.0.342, Inc. A Mathworks, Natick, MA).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades reológicas dos alimentos dependem da interação da água com outros constituintes, especialmente com as macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos. 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 e na otimização do uso das matérias-primas.

A possibilidade de uso do RVA como um simulador de processamento térmico, abre a perspectiva do acompanhamento on-line da evolução da viscosidade do produto durante todo o procedimento, permitindo mensurar a viscosidade máxima adquirida pelo mesmo durante o seu aquecimento (viscosidade de pico –  $V_P$ ) dentro do equipamento, se há alguma perda de viscosidade durante o tempo em que fica retido na temperatura de processamento (viscosidade de retenção –  $V_R$ ) e qual é o seu comportamento durante a etapa de resfriamento (viscosidade final –  $V_F$ ).

Estes três diferentes pontos de coleta de viscosidade visam não somente monitorar as características reológicas do produto, mas também possibilitar a inferência sobre como o processamento influi nos constituintes do alimento. A capacidade de absorção de água 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. Neste contexto, diferentes tratamentos matemáticos se tornam valiosas ferramentas quando se deseja obter uma resposta mais completa do comportamento do produto (área por unidade de tempo -  $\int/t$ ).

#### 4.1 Ensaios preliminares

Após a realização de diferentes testes no RVA com cada MPP em diferentes concentrações variando de  $0,05 \text{ g.g}^{-1}$  a  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca em rotações de  $5,2 \text{ rad.s}^{-1}$ ,  $15,7 \text{ rad.s}^{-1}$  e  $31,4 \text{ rad.s}^{-1}$ , foi constatada que as rotações de  $5,2 \text{ rad.s}^{-1}$  e  $31,4 \text{ rad.s}^{-1}$  não atenderiam às amostras selecionadas de MPP para o estudo. Com  $5,2 \text{ rad.s}^{-1}$ , foi observada uma dificuldade de homogeneidade das amostras e com  $31,4 \text{ rad.s}^{-1}$  obteve-se um excesso de estresse físico, dificultando a visualização da evolução da viscosidade. Desta forma, a rotação de  $15,7 \text{ rad.s}^{-1}$  foi selecionada como padrão para todos os ensaios.

A rotação é uma configuração importante do equipamento, pois é responsável não somente pela qualidade da informação coletada da viscosidade, mas também pela manutenção da homogeneidade da amostra e também na transferência de calor do bloco de aquecimento para solução contida dentro do porta-amostra.

As concentrações utilizadas dos MPPs neste estudo levaram em consideração os limites de trabalho do equipamento. Desta forma, foram excluídas concentrações que ultrapassassem a viscosidade de  $15.000 \text{ mPa.s}$ .

A hidratação prévia dos MPPs antes da análise no RVA também foi um procedimento observado durante os ensaios preliminares e considerado importante sob o ponto de vista da padronização da marcha analítica e também em relação a uma característica em comum de todos os MPPs, utilizados que é o fato de serem desidratados.

A viscosidade de soluções protéicas diluídas depende da forma e tamanho da partícula, assim como da hidratação e da carga elétrica da proteína. Aumento na hidratação da molécula produz aumento da viscosidade intrínseca. A viscosidade intrínseca é dependente do volume hidrodinâmico ocupado por unidade de massa da macromolécula, um parâmetro estrutural, interpretada em termos de conformação molecular, hidratação e flexibilidade das cadeias de polímeros em solução. Assim, para todos os MPPs a hidratação prévia em água a temperatura controlada sob agitação constante foi um procedimento padrão.

No caso específico do MPC, o aumento substancial da viscosidade ainda durante a hidratação, limitou a concentração de preparo ao valor máximo de 0,16 g.g<sup>-1</sup>. Assim, apenas para o MPC foram feitos dois procedimentos diferentes. Na faixa de concentração de 0,10 g.g<sup>-1</sup> a 0,16 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca, a hidratação prévia foi seguida (MPC<sub>1</sub>). Porém esta faixa de concentração limita a visualização do efeito da evolução da viscosidade durante a simulação do tratamento térmico. Assim sendo, outro procedimento foi realizado para uma faixa de concentração de 0,30 g.g<sup>-1</sup> a 0,45 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca, já pesando diretamente a massa da amostra dentro da cuba de aquecimento do RVA sem nenhuma hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>).

Após a realização e análise dos resultados dos testes preliminares, foi possível a determinação do delineamento experimental descrito no presente trabalho.

#### **4.2 Análise dos resultados da caracterização química e microbiológica dos MPPs**

A composição dos MPPs é um fator primordial no estudo da reologia dos mesmos quando em condições simuladas de processamento térmico. Conhecendo-se o teor de sólidos totais, pode-se padronizar a metodologia analítica, desconsiderando a umidade da amostra e utilizando como referência a matéria seca. Assim, os cálculos de preparo das soluções utilizaram como referência o teor de sólidos totais de cada MPP, obtendo assim soluções referentes à matéria seca em água (g.g<sup>-1</sup>).

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 MPPs, devido à característica de higroscopicidade dos mesmos e possibilidade de erro analítico devido ao ganho de umidade e conseqüentemente massa do produto e diminuição percentual no teor de proteína total. A referência da proteína na base seca elimina qualquer fonte de equívoco devido a este tipo de situação.

As amostras coletadas e utilizadas neste trabalho apresentaram as suas características composicionais e microbiológicas condizentes aos dados da bibliografia (SINGH, 2009).

As TABELAS 20, 21, 22, 23 mostram os teores de proteína, gorduras totais, lactose e cinzas das soluções dos MPPs utilizadas nas simulações de processamento térmico em RVA deste estudo.

A concentração de proteína é um dos principais fatores a ser observado quando se trabalha com MPPs. O WPC e o MPC utilizados neste estudo foram de alto teor protéico ( $785,4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de proteína para o WPC e  $714,3\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de proteína para o MPC), o oposto observado para o SMP ( $351,5\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de proteína), WP ( $123,6\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de proteína) e DWP ( $122,8\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de proteína). Devido à necessidade de reidratação dos produtos em água para a execução das simulações no RVA, foi possível ajustar o teor protéico das soluções para uma nova classificação dos MPPs. Assim, conforme apresentado na TABELA 20, temos o SMP, MPC<sub>2</sub> (sem hidratação prévia) e o WPC em uma faixa de concentração de proteína de  $0,08\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a  $0,34\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  nas soluções avaliadas, permitindo desta forma então, classificar este grupo como sendo de alto teor protéico. De forma análoga, classificou-se o grupo de baixo teor protéico, que compreende o MPC<sub>1</sub> (com hidratação prévia), o DP e DWP em uma faixa de  $0,06\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  a  $0,12\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de proteína.

Uma grande diversidade de metodologias foi encontrada para as análises laboratoriais dos MPPs realizadas pelos fabricantes do Brasil, Estados Unidos e também pelos laboratórios (TABELA 19). Entretanto, a análise de teor de sólidos totais foi feita individualmente para cada MPP antes do preparo de cada solução, garantindo assim a segurança necessária para a realização dos cálculos.

TABELA 19 Resultados das análises, por tipo de amostra de MPP

Análises	Derivados de leite		Derivados de soro		
	Leite em pó desnatado	Concentrado protéico de leite	Soro de leite em pó	Soro de leite desmineralizado	Concentrado protéico de soro
Gorduras Totais (g.kg <sup>-1</sup> )	15,9	9,7	15	5	61,5
Umidade (g.kg <sup>-1</sup> )	32,5	42,7	18	17	33,9
Proteína Total (g.kg <sup>-1</sup> )	351,4	714,3	123,6	122,8	785,3
Proteína na base seca (g.kg <sup>-1</sup> )	363,2	746,2	125,9	124,9	812,8
Lactose (g.kg <sup>-1</sup> )	511	161,3	768,9	795,9	95,7
Cinzas (g.kg <sup>-1</sup> )	89,2	72,0	74,5	59,3	23,6
Acidez (g ácido láctico.L <sup>-1</sup> )	1,4	1,5	1,7	1,4	n.a. <sup>1</sup>
Cloretos (g.kg <sup>-1</sup> )	n.a. <sup>1</sup>	n.a. <sup>1</sup>	n.a. <sup>1</sup>	10,8	n.a. <sup>1</sup>
pH	n.a. <sup>1</sup>	6,95	6,13	6,10	6,33
Peso específico (g.mL <sup>-1</sup> )	n.a. <sup>1</sup>	0,52	0,74	0,63	0,43
Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios	2,6 x 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	9,6 x 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	4,2 x 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	3,9 x 10 <sup>3</sup> UFC.g <sup>-1</sup>	7 x 10 <sup>2</sup> UFC.g <sup>-1</sup>
Coliformes 30°C	< 10 NMP.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	< 10 NMP.g <sup>-1</sup>	< 10 NMP.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>
<i>Escherichia coli</i>	< 1 NMP.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	< 3 NMP.g <sup>-1</sup>	< 1 NMP.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>
Fungos filamentosos e Leveduras	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	40 UFC.g <sup>-1</sup>	< 1 UFC.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>
Estafilococos coagulase positiva	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>	< 1 UFC.g <sup>-1</sup>	< 1 UFC.g <sup>-1</sup>	< 10 UFC.g <sup>-1</sup>
<i>Salmonella</i> sp	ausente em 25 g	ausente em 375 g	ausente em 25 g	ausente em 25 g	ausente em 375 g

<sup>1</sup> não analisado

TABELA 20 Teor de proteína total ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs\*

Concentração de matéria seca em água ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Concentração de proteína total ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPS				
	Leite em pó desnatado (SMP)	Concentrado protéico de leite (MPC)	Soro de leite em pó (WP)	Soro de leite desmineralizado (DWP)	Concentrado protéico de soro (WPC)
0,1	X	0,07 <sup>1</sup>	X	X	0,08
0,12	X	0,09 <sup>1</sup>	X	X	X
0,14	X	0,10 <sup>1</sup>	X	X	X
0,16	X	0,12 <sup>1</sup>	X	X	X
0,2	X	X	X	X	0,16
0,3	X	0,22 <sup>2</sup>	X	X	0,24
0,35	X	0,26 <sup>2</sup>	X	X	X
0,4	X	0,32 <sup>2</sup>	X	X	0,33
0,45	X	0,34 <sup>2</sup>	X	X	X
0,5	0,18	X	0,06	0,06	X
0,6	0,22	X	0,08	0,07	X
0,7	0,25	X	0,09	0,09	X
0,8	0,29	X	0,10	0,10	X

\* valores calculados

<sup>1</sup> com hidratação prévia

<sup>2</sup> sem hidratação prévia

TABELA 21 Teor de gorduras totais ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs\*

Concentração de matéria seca em água ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Concentração de gorduras totais ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPS				
	Leite em pó desnatado (SMP)	Concentrado protéico de leite (MPC)	Soro de leite em pó (WP)	Soro de leite desmineralizado (DWP)	Concentrado protéico de soro (WPC)
0,1	X	0,001 <sup>1</sup>	X	X	0,006
0,12	X	0,001 <sup>1</sup>	X	X	X
0,14	X	0,001 <sup>1</sup>	X	X	X
0,16	X	0,002 <sup>1</sup>	X	X	X
0,2	X	X	X	X	0,013
0,3	X	0,003 <sup>2</sup>	X	X	0,019
0,35	X	0,004 <sup>2</sup>	X	X	X
0,4	X	0,004 <sup>2</sup>	X	X	0,025
0,45	X	0,005 <sup>2</sup>	X	X	X
0,5	0,008	X	0,008	0,003	X
0,6	0,01	X	0,009	0,003	X
0,7	0,012	X	0,011	0,003	X
0,8	0,013	X	0,012	0,003	X

\* valores calculados

<sup>1</sup> com hidratação prévia

<sup>2</sup> sem hidratação prévia

TABELA 22 Teor de lactose ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs\*

Concentração de matéria seca em água ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Concentração de lactose ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPS				
	Leite em pó desnatado (SMP)	Concentrado protéico de leite (MPC)	Soro de leite em pó (WP)	Soro de leite desmineralizado (DWP)	Concentrado protéico de soro (WPC)
0,1	X	0,02 <sup>1</sup>	X	X	0,01
0,12	X	0,02 <sup>1</sup>	X	X	X
0,14	X	0,02 <sup>1</sup>	X	X	X
0,16	X	0,03 <sup>1</sup>	X	X	X
0,2	X	X	X	X	0,02
0,3	X	0,05 <sup>2</sup>	X	X	0,03
0,35	X	0,06 <sup>2</sup>	X	X	X
0,4	X	0,07 <sup>2</sup>	X	X	0,04
0,45	X	0,08 <sup>2</sup>	X	X	X
0,5	0,26	X	0,39	0,40	X
0,6	0,32	X	0,47	0,49	X
0,7	0,37	X	0,55	0,57	X
0,8	0,42	X	0,63	0,65	X

\* valores calculados

<sup>1</sup> com hidratação prévia

<sup>2</sup> sem hidratação prévia

TABELA 23 Teor de cinzas ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPs\*

Concentração de matéria seca em água ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Concentração de cinzas ( $\text{g.g}^{-1}$ ) nas soluções reidratadas dos MPPS				
	Leite em pó desnatado (SMP)	Concentrado protéico de leite (MPC)	Soro de leite em pó (WP)	Soro de leite desmineralizado (DWP)	Concentrado protéico de soro (WPC)
0,1	X	0,008 <sup>1</sup>	X	X	0,002
0,12	X	0,009 <sup>1</sup>	X	X	X
0,14	X	0,011 <sup>1</sup>	X	X	X
0,16	X	0,012 <sup>1</sup>	X	X	X
0,2	X	X	X	X	0,005
0,3	X	0,023 <sup>2</sup>	X	X	0,007
0,35	X	0,026 <sup>2</sup>	X	X	X
0,4	X	0,030 <sup>2</sup>	X	X	0,010
0,45	X	0,034 <sup>2</sup>	X	X	X
0,5	0,046	X	0,038	0,030	X
0,6	0,055	X	0,046	0,036	X
0,7	0,065	X	0,053	0,042	X
0,8	0,074	X	0,061	0,048	X

\* valores calculados

<sup>1</sup> com hidratação prévia

<sup>2</sup> sem hidratação prévia

### 4.3 Produtos lácteos protéicos derivados de leite

#### 4.3.1 Leite em pó desnatado

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o SMP estão apresentados nas FIGURAS 3, 4 e 5 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

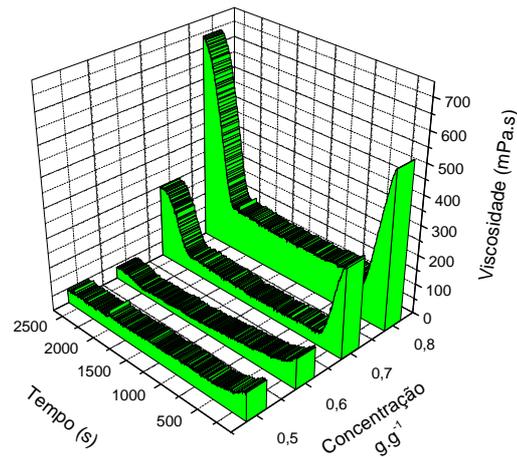


FIGURA 3 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com leite em pó desnatado

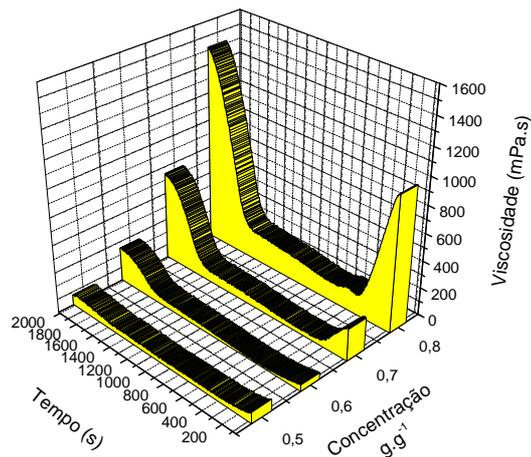


FIGURA 4 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com leite em pó desnatado

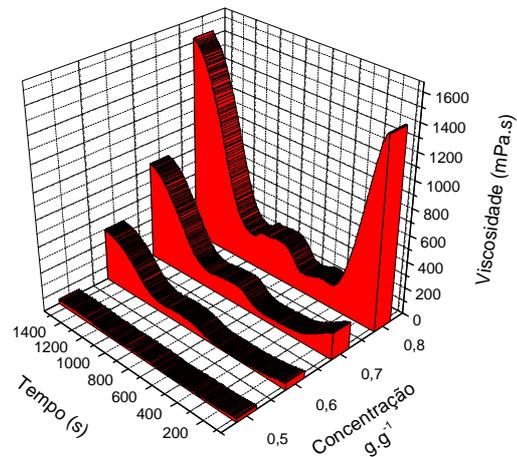


FIGURA 5 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com leite em pó desnatado

A análise de variância para  $V_P$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,003$ ). Tais resultados demonstram a influência destas duas variáveis na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo SMP.

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 318 mPa.s na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 27 mPa.s com  $0,6 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O aumento de viscosidade durante o processamento térmico apresenta implicações negativas sob o ponto de vista tecnológico, pois pode dificultar a transferência de calor nos equipamentos e o fluxo dos produtos nas linhas industriais, e facilitar a formação de depósitos com consequente diminuição do tempo útil de trabalho da linha sem interrupções para o processo de limpeza.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da viscosidade com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 6 são apresentados os resultados para  $V_P$  do SMP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

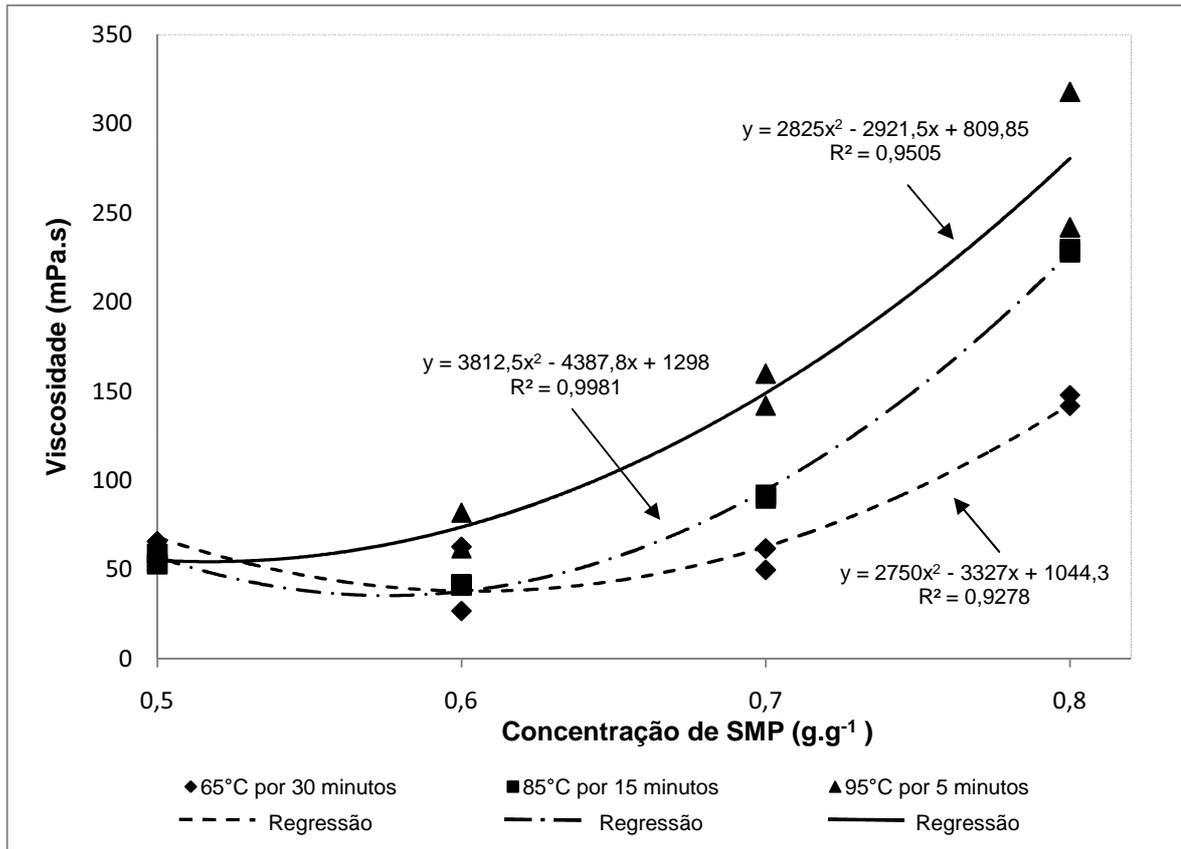


FIGURA 6 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com leite em pó desnatado

Com base no exposto na FIGURA 6 pode-se perceber que o incremento da viscosidade de pico ocorreu com o aumento da concentração de SMP e também com o aumento da intensidade do tratamento térmico. As curvas e equações obtidas são úteis para o acompanhamento do fenômeno e permitem estimar o comportamento conjunto da viscosidade de pico e variação da concentração para cada tipo de processamento.

A análise de variância para  $V_R$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o tempo de retenção, proporcionada pelo SMP.

O valor máximo de  $V_R$  obtido no estudo foi 308 mPa.s na condição de 0,8 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 1 mPa.s com 0,6 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

A viscosidade após o tempo de retenção é uma variável de importância tecnológica, por fornecer informações da influência do tratamento térmico sobre a matriz protéica. Somente após o completo período de retenção à temperatura de exposição, é possível compreender se a configuração do processamento está adequada para o uso do MPP como um ingrediente que contribuirá nas características de funcionalidade da matriz avaliada.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_R$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 7 são apresentados os resultados para  $V_R$  do SMP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

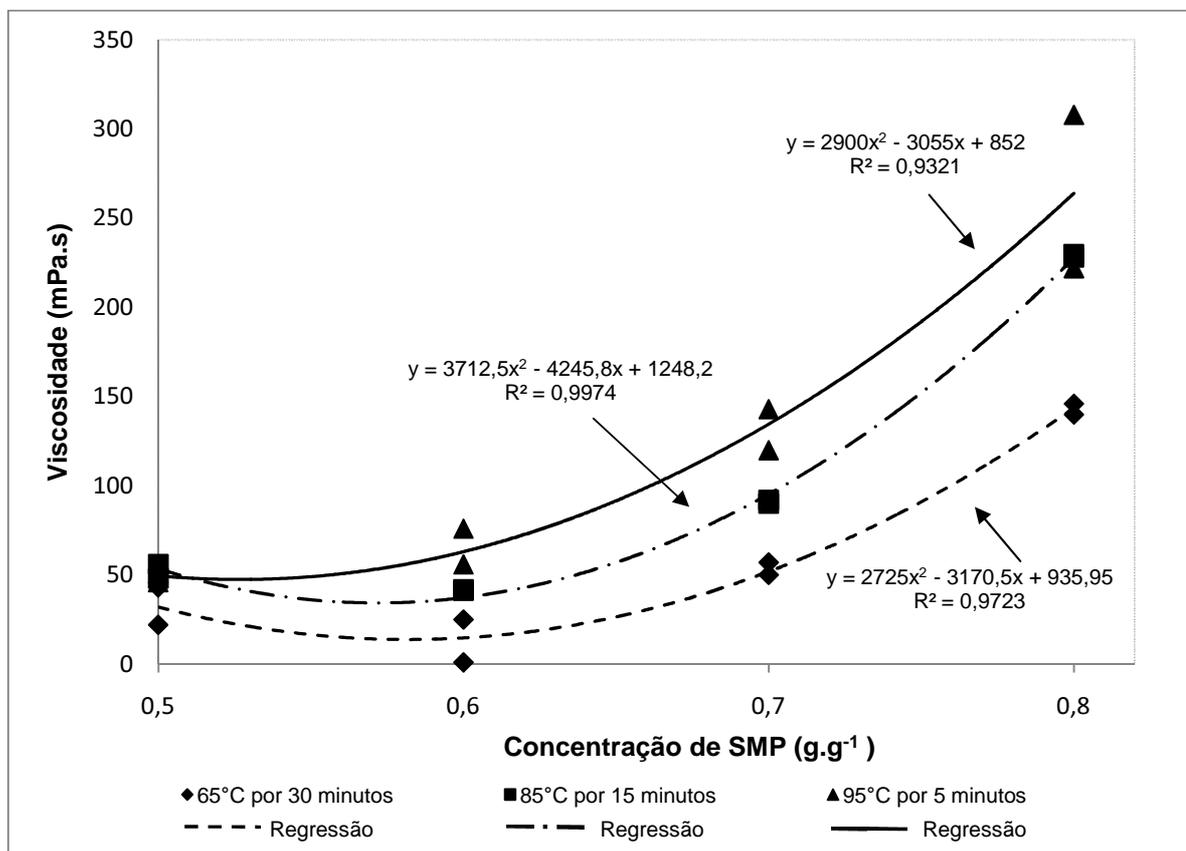


FIGURA 7 Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com leite em pó desnatado

Os perfis de evolução da viscosidade de retenção para o SMP na faixa de concentração 0,5 g.g<sup>-1</sup> a 0,8 g.g<sup>-1</sup>, nos três níveis de tratamento térmico são muito

semelhantes aos perfis da  $V_P$ , sendo bem descritos por equações polinomiais de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 1645 mPa.s na condição de 0,8 g.g<sup>-1</sup> a 85°C por 15 minutos e o mínimo 19 mPa.s com 0,5 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_F$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 8 são apresentados os resultados para  $V_F$  do SMP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

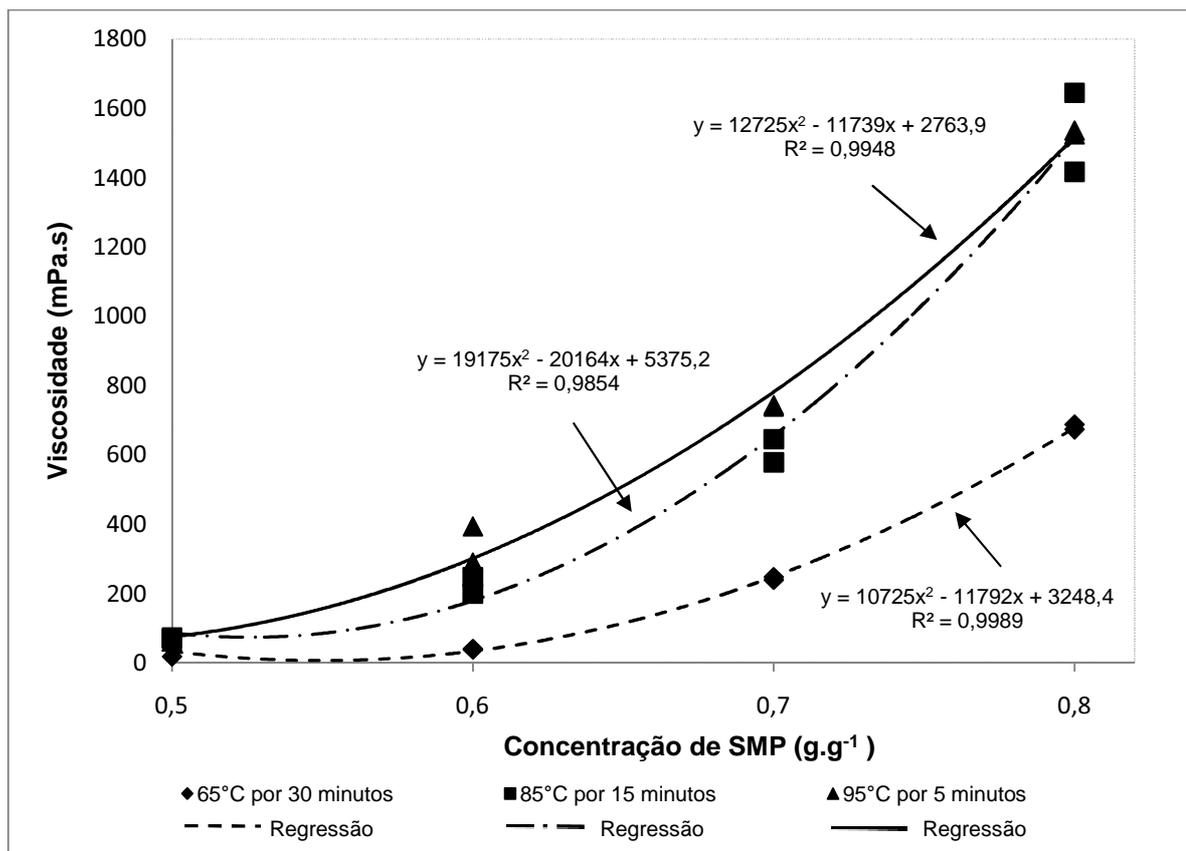


FIGURA 8 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com leite em pó desnatado

Observa-se na FIGURA 8 que no nível máximo de concentração ( $0,8 \text{ g.g}^{-1}$ ), o alto e o médio tratamento térmico apresentam valores de  $V_F$  próximos, indicando que é possível otimizar o gasto energético e o tempo de processamento, quando se aplica o mesmo objetivando propriedade reológica.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias de  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 24 e 25.

TABELA 24 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do SMP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,8	218 a	212 a	1248 a
0,7	99 b	92 b	533 b
0,6	53 b	40 c	202 c
0,5	59 b	44 c	56 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 25 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do SMP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
95°C por 5 minutos	140 a	128 a	669 a
85°C por 15 minutos	104 ab	103 a	610 a
65°C por 30 minutos	78 b	60 b	249 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  manifestaram-se claramente ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  e os binômios  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e  $85^\circ\text{C}$  por 15 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Um comportamento semelhante observado em todas as condições avaliadas com SMP é o fato da evolução da viscosidade apresentar um decréscimo no valor da  $V_R$ , em relação à  $V_P$ , mostrando que o ponto ótimo para o incentivo da viscosidade no processamento foi ultrapassado.

A análise de variância para  $\int/t$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis no completo perfil viscográfico do SMP.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 563 na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 16 com  $0,6 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O fato da integração do perfil viscográfico não trazer informação de transcrição direta em nível tecnológico como a leitura de viscosidade, esta análise de todos os pontos de coleta de dados obtidos durante o processamento, contribui para um resultado de alta confiança, pois são utilizados 646, 490 e 375 números de medidas respectivamente para cada simulação no baixo, médio e alto tratamento térmico. A relevância destes dados fica mais clara quando comparada aos obtidos para  $V_P$ ,  $V_R$ , e  $V_F$  (1 unidade de medida para cada).

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $\int/t$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 9 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do SMP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

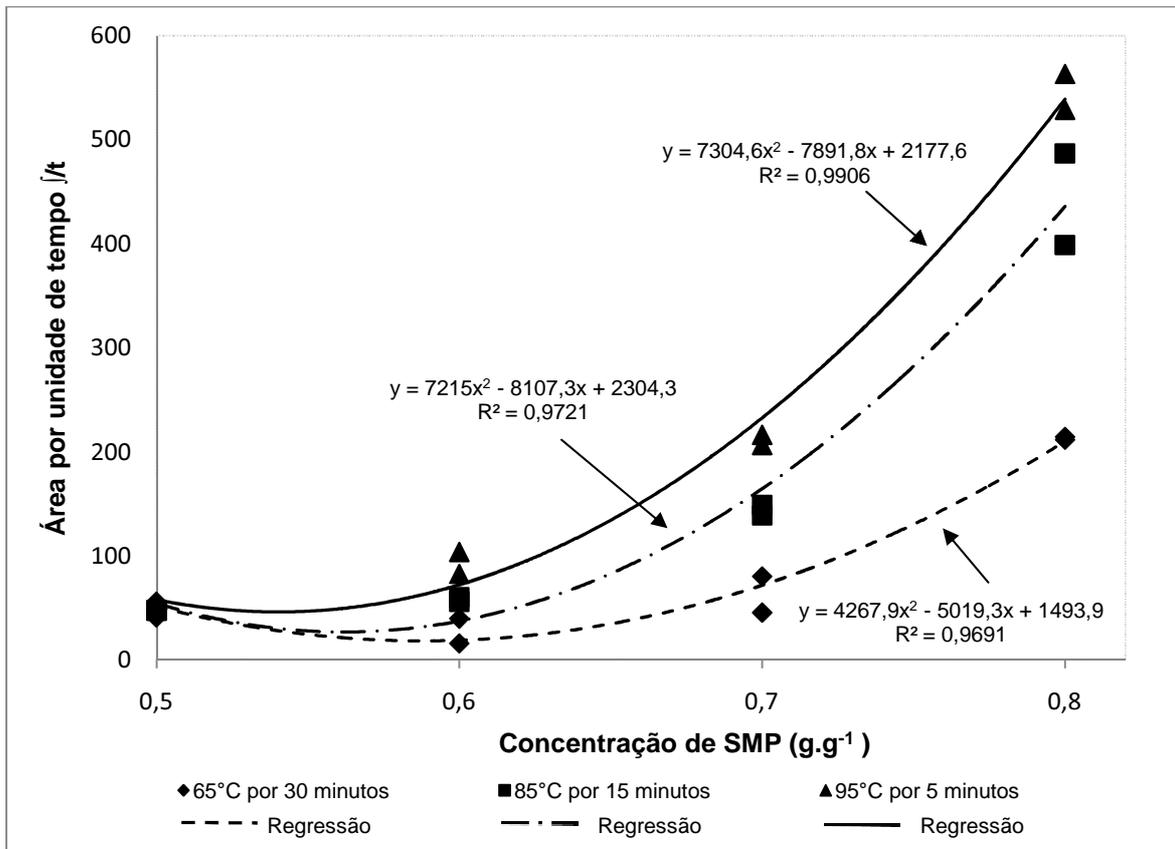


FIGURA 9 Evolução da área por unidade de tempo ( $J/t$ ) nas condições simuladas com leite em pó desnatado

As regressões para  $J/t$  demonstram que a evolução da viscosidade do SMP na faixa de concentração estudada nos três processamentos térmicos segue um comportamento explicado por equações polinomiais de grau dois, assim como para  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$ .

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias das  $J/t$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 26 e 27.

TABELA 26 Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do SMP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
0,8	401 a
0,7	139 b
0,6	60 b
0,5	49 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 27 Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do SMP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
95°C por 5 minutos	225 a
85°C por 15 minutos	173 a
65°C por 30 minutos	88 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A avaliação sobre a magnitude dos efeitos da concentração e processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  pode ser feita para  $\int/t$ , demonstrando ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  e os binômios 95°C por 5 minutos e 85°C por 15 minutos d e maior propensão a exibir valores mais altos de viscosidade.

Esta similaridade entre os resultados obtidos para  $\int/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  é depreendida quando se analisa os coeficientes de correlação apresentados na TABELA 28.

TABELA 28 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ )

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo ( $\int/t$ )	Coeficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,980 (*)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,977 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,979 (*)

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ ).

#### 4.3.2 Concentrado protéico de leite com hidratação prévia – MPC<sub>1</sub>

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o MPC<sub>1</sub> estão apresentados nas FIGURAS 10, 11 e 12 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

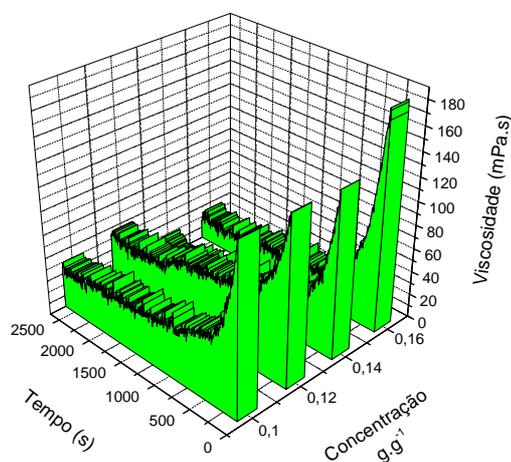


FIGURA 10 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

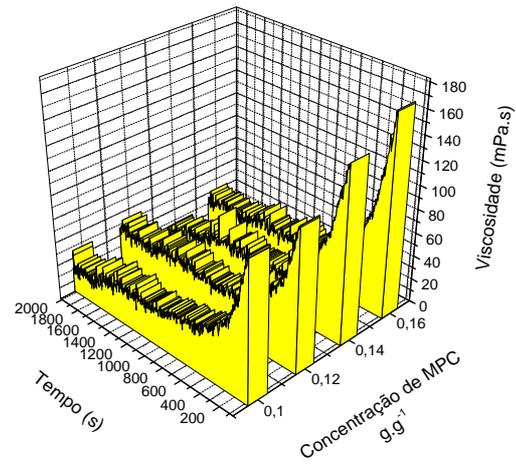


FIGURA 11 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

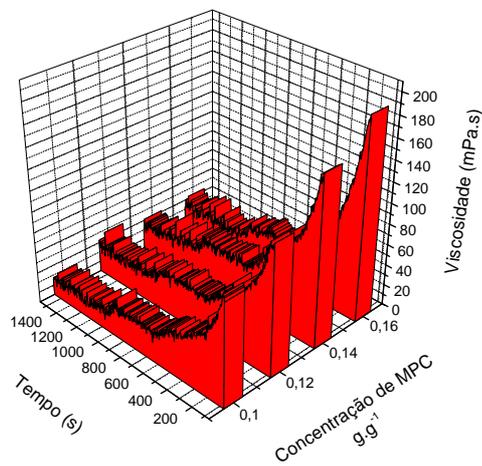


FIGURA 12 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

A análise de variância para  $V_P$  mostrou efeito estatisticamente significativo para processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tal resultado demonstra a influência desta variável na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo MPC<sub>1</sub>.

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 84 mPa.s na condição de 0,12 g.g<sup>-1</sup> a 65°C por 30 minutos e o mínimo 39 mPa.s com 0,1 g.g<sup>-1</sup> submetido a 95°C por 5 minutos.

O MPC<sub>1</sub> apresenta características de hidratação típicas, diferenciando-se dos demais MPPs avaliados neste estudo. A concentração máxima a ser preparada da solução de MPC<sub>1</sub> com os mesmos procedimentos realizados para os outros produtos foi 0,16 g.g<sup>-1</sup>. Isto ocorreu devido ao grande aumento de viscosidade à temperatura de 25°C, impossibilitando a manutenção da agitação da solução no período de 30 minutos, o que interferiu a garantia da uniformidade da mesma.

O principal fator que afeta a solubilidade do MPC<sub>1</sub> parece estar relacionado com a taxa de transferência de água na partícula de pó mais do que aos processos térmicos durante a fabricação (SCHUCK et al., 1994). Diferentes métodos para a produção de MPC<sub>1</sub> com alta solubilidade em água fria têm sido propostos, envolvendo a adição de sais monovalentes no retentado da ultrafiltração antes da secagem (CARR, 2002) ou reposição parcial (aproximadamente 30%) do teor de cálcio do retentado da ultrafiltração por íons sódio (BHASKAR et al., 2001).

Na FIGURA 13 são apresentados os resultados para  $V_P$  do MPC<sub>1</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

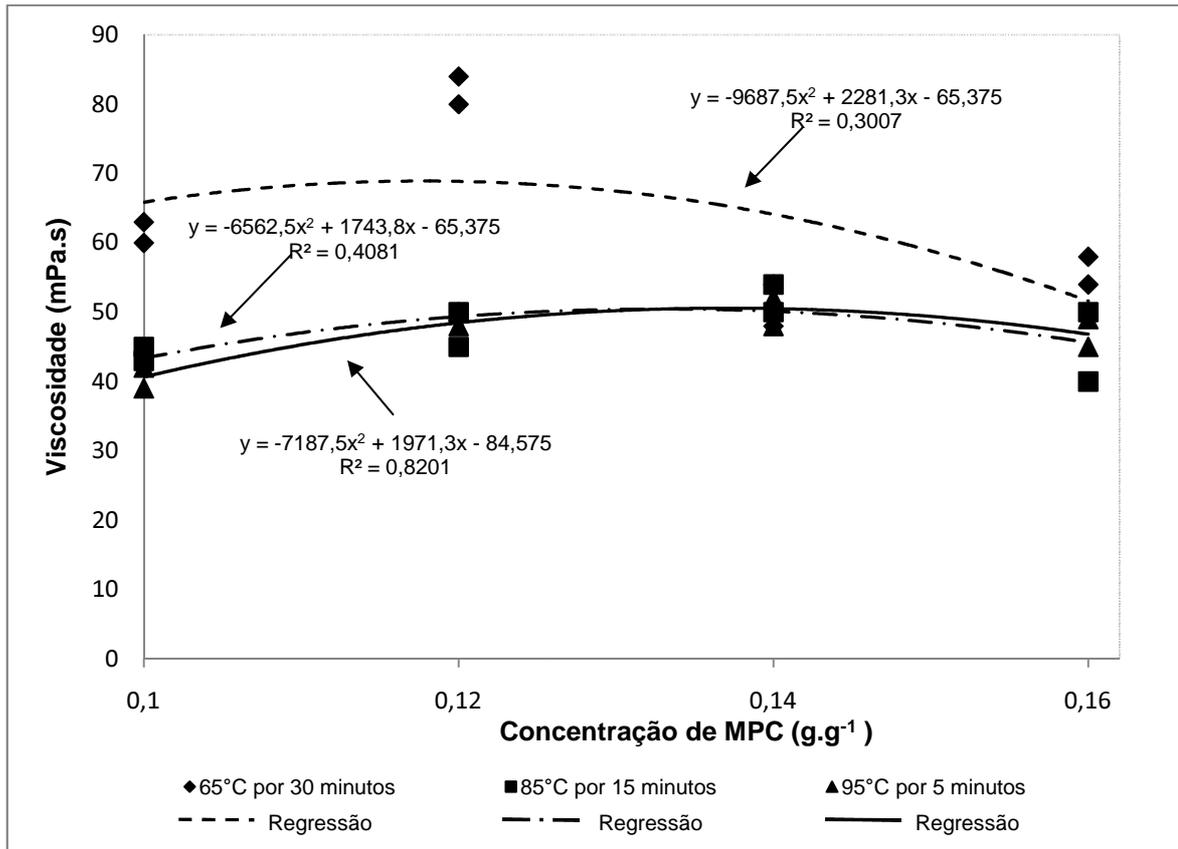


FIGURA 13 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

Com base no exposto na FIGURA 13 pode-se perceber que a evolução da viscosidade de pico para as soluções de MPC<sub>1</sub> com concentração entre 0,1 g.g<sup>-1</sup> e 0,16 g.g<sup>-1</sup>, não é bem explicada. As curvas e equações obtidas não são úteis para o acompanhamento do fenômeno.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeito estatisticamente significativo para concentração ( $P < 0,001$ ). Tal resultado demonstra a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 50 mPa.s na condição de 0,12 g.g<sup>-1</sup> a 65°C por 30 minutos e o mínimo 10 mPa.s com 0,14 g.g<sup>-1</sup> submetido a 85°C por 15 minutos.

Na FIGURA 14 são apresentados os resultados para  $V_F$  do MPC<sub>1</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

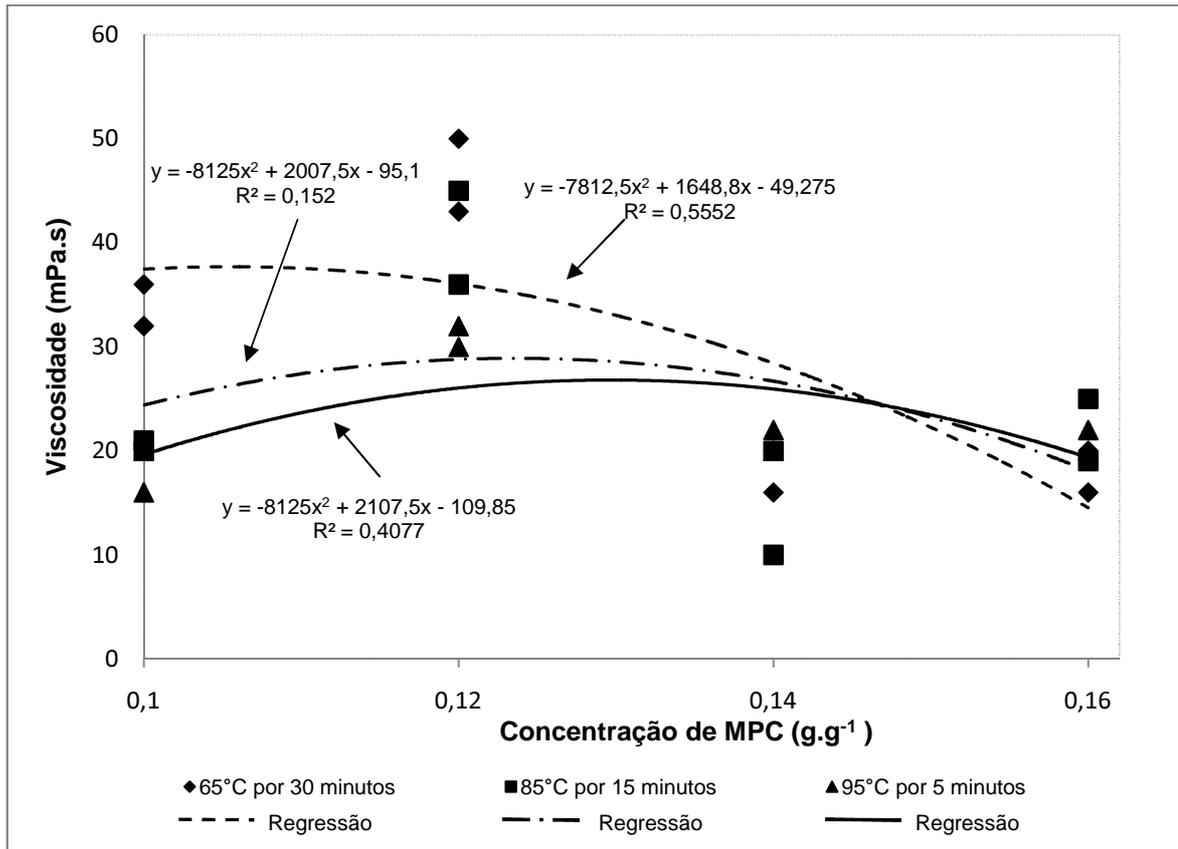


FIGURA 14 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

Com base no exposto na FIGURA 14 pode-se perceber que assim como na evolução da viscosidade de pico, a evolução da viscosidade de retenção para as soluções de MPC<sub>1</sub> com concentração entre 0,1 g.g<sup>-1</sup> e 0,16 g.g<sup>-1</sup>, não é bem explicada. A baixa concentração do teor de proteína é a principal razão pela qual os resultados obtidos não são bem explicados pelas curvas, pois o incremento de viscosidade nesta faixa é pequeno. Em baixos valores absolutos de viscosidade (0 mPa.s a 60 mPa.s), a sensibilidade de leitura do RVA fica comprometida, sendo esta uma característica de construção do próprio equipamento.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias da V<sub>F</sub> entre as concentrações e também para V<sub>P</sub> entre os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 29 e 30.

TABELA 29 Média das viscosidades finais ( $V_F$ ) do MPC<sub>1</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração (g.g <sup>-1</sup> )	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,16	20 b
0,14	18 b
0,12	39 a
0,10	24 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 30 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ) do MPC<sub>1</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)
95°C por 5 minutos	47 b
85°C por 15 minutos	47 b
65°C por 30 minutos	63 a

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Os perfis viscográficos obtidos para o MPC<sub>1</sub> nesta faixa de concentração, revelam uma característica inerente ao produto que é a alta viscosidade antes do processamento e diminuição expressiva durante o tratamento térmico, sem nenhum tipo de incremento de viscosidade mesmo após resfriamento. Estes resultados estão de acordo com a proposta feita por Schuck et al., (1994), para explicar a pouca solubilidade do MPC<sub>1</sub> à baixas temperaturas.

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre a  $V_F$  e  $V_P$  respectivamente, apresentaram-se estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ). Entretanto, não é possível correlacionar nenhum fator tecnológico às variáveis que exibiram os valores mais altos de viscosidade.

Estes dados, entretanto, são pertinentes sob o ponto de vista tecnológico, pois indicam que o MPC<sub>1</sub> nesta faixa de concentração possui baixa viscosidade durante o processamento térmico, o que pode contribuir para a sua escolha frente a outros MPPs de alto teor protéico. As características do mesmo não afetam drasticamente as variáveis da linha de industrialização, sendo uma excelente alternativa para agregar proteína a diferentes matrizes alimentícias, sem alterar as suas características reológicas de processo.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 59 na condição de 0,12 g.g<sup>-1</sup> a 65°C por 30 minutos e o mínimo 29 com 0,14 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Na FIGURA 15 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do MPCs<sub>1</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

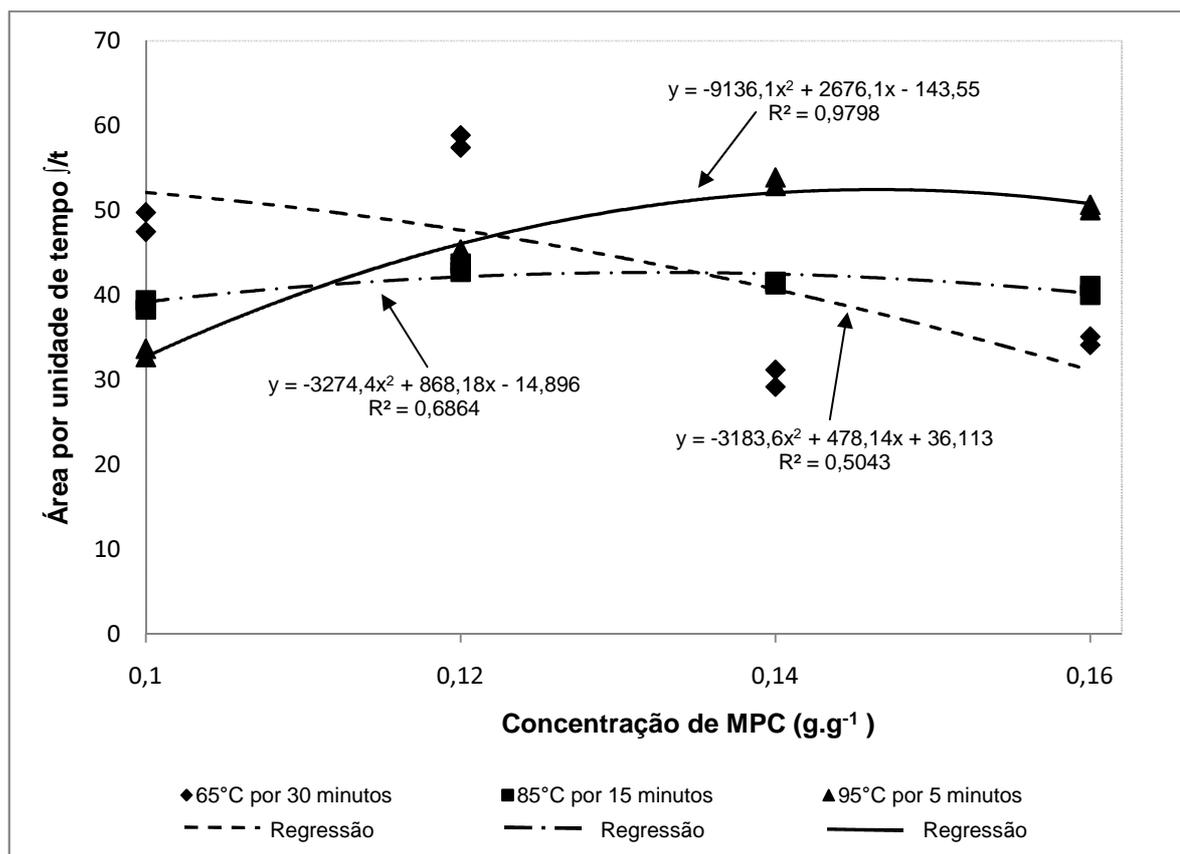


FIGURA 15 Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com concentrado protéico de leite com hidratação prévia (MPC<sub>1</sub>)

Com base no exposto na FIGURA 15 pode-se perceber que, assim como na evolução da viscosidade de pico e a na evolução da viscosidade final, a evolução da viscosidade analisada pelo foco da área por unidade de tempo, para as soluções de MPC<sub>1</sub> com concentração entre 0,1 g.g<sup>-1</sup> e 0,16 g.g<sup>-1</sup>, não é bem explicada.

Os dados de correlação da  $\int/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$ , são apresentados na TABELA 31 e indicam a baixa correlação existente entre as mesmas .

TABELA 31 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ )

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo ( $\int/t$ )	Coeficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,564 (**)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,778 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,588 (**)

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ ).

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,01$ ).

#### 4.3.3 Concentrado protéico de leite sem hidratação prévia – MPC<sub>2</sub>

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o MPC<sub>2</sub> estão apresentados nas FIGURAS 16, 17 e 18 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

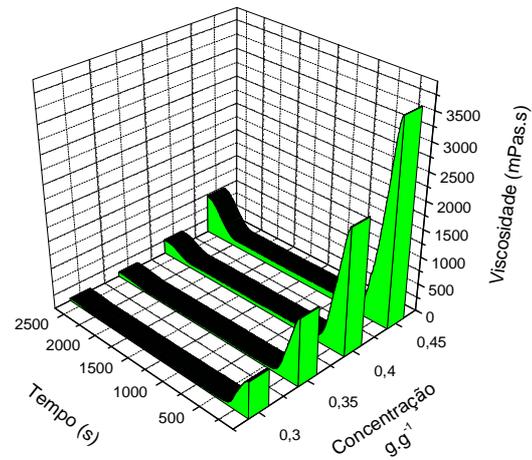


FIGURA 16 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>)

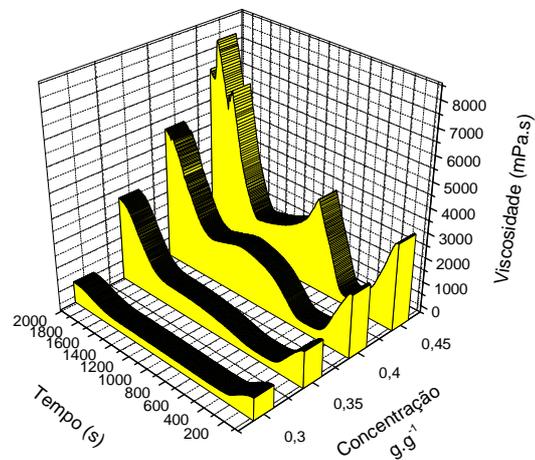


FIGURA 17 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>)

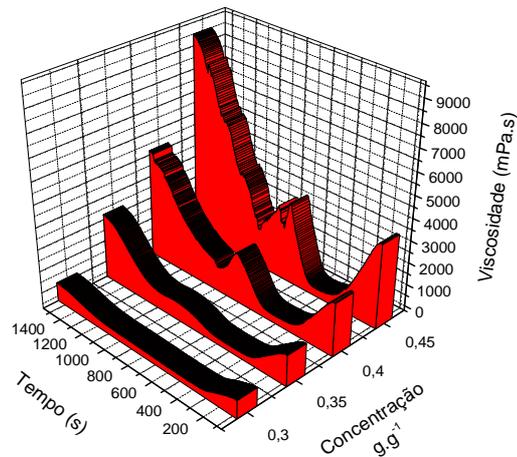


FIGURA 18 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia ( $MPC_2$ )

A análise de variância para  $V_P$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo  $MPC_2$

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 3568 mPa.s na condição de 0,45  $g.g^{-1}$  a 85°C por 30 minutos e o mínimo 20 mPa.s com 0,3  $g.g^{-1}$  submetido a 65°C por 30 minutos.

O aumento de viscosidade para um valor de 3568 mPa.s durante o processamento térmico, apresenta implicações negativas sob o ponto de vista tecnológico, pois pode dificultar a transferência de calor nos equipamentos e o fluxo dos produtos nas linhas industriais, e facilitar a formação de depósitos com conseqüente diminuição do tempo útil de trabalho da linha sem interrupções para o processo de limpeza.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da viscosidade com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 19 são apresentados os resultados para  $V_P$  do  $MPC_2$  nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

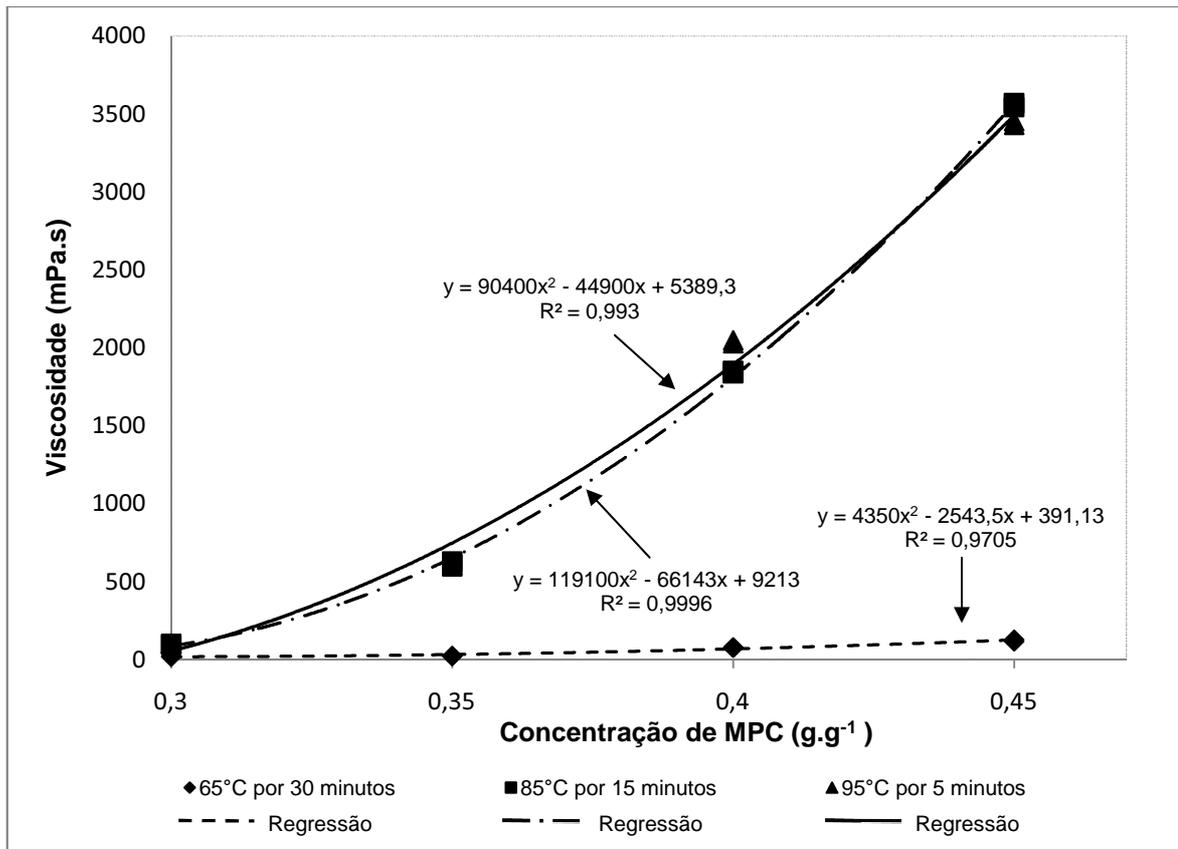


FIGURA 19 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>)

Com base no exposto na FIGURA 19 pode-se perceber que o incremento da viscosidade de pico ocorreu com o aumento da concentração de MPC<sub>2</sub> e também com o aumento da intensidade do tratamento térmico. Contudo, os alto e médio tratamentos térmicos mostram similaridade quanto ao fenômeno. As curvas e equações obtidas são úteis para o acompanhamento da evolução e permitem estimar o comportamento conjunto da viscosidade de pico e variação da concentração para cada tipo de processamento.

A análise de variância para  $V_R$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o tempo de retenção, proporcionada pelo MPC<sub>2</sub>.

O valor máximo de  $V_R$  obtido no estudo foi 2180 mPa.s na condição de 0,45 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 20 mPa.s com 0,3 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_R$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 20 são apresentados os resultados para  $V_R$  do MPC<sub>2</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

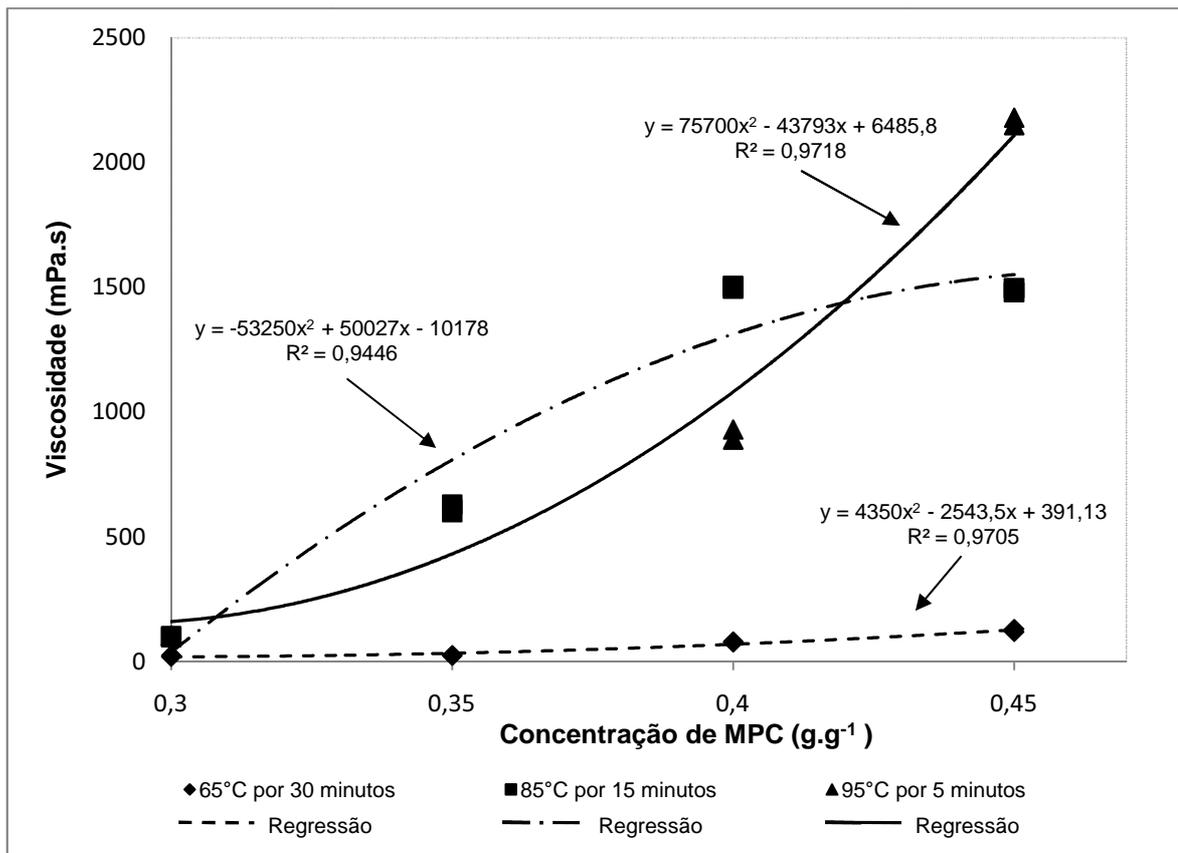


FIGURA 20 Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>)

Os perfis de evolução da viscosidade de retenção para o MPC<sub>2</sub> na faixa de concentração 0,3 g.g<sup>-1</sup> a 0,45 g.g<sup>-1</sup>, nos três níveis de tratamento térmico são muito distintos entre si, mostrando o impacto do tipo de processamento na  $V_R$ , sendo bem descritos por equações polinomiais de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 9050 mPa.s na condição de 0,45  $\text{g.g}^{-1}$  a 95°C por 5 minutos e o mínimo 44 mPa.s com 0,3  $\text{g.g}^{-1}$  submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_F$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 21 são apresentados os resultados para  $V_F$  do MPC<sub>2</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

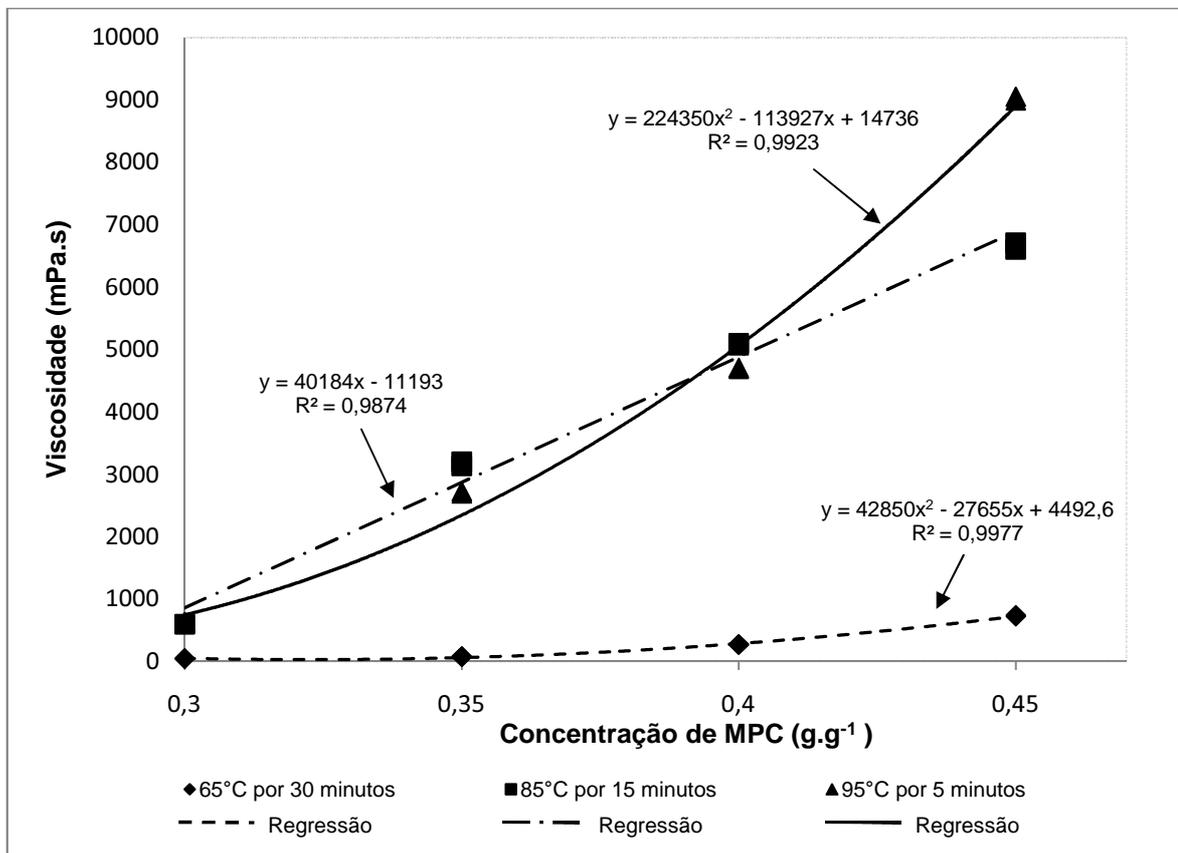


FIGURA 21 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia (MPC<sub>2</sub>)

Observa-se na FIGURA 21 que, no nível de concentração 0,4  $\text{g.g}^{-1}$ , o alto e o médio tratamento térmico apresentam valores de  $V_F$  próximos, indicando que é

possível otimizar o gasto energético e o tempo de processamento, quando se aplica o MPC<sub>2</sub> objetivando propriedade reológica.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias de V<sub>P</sub>, V<sub>R</sub> e V<sub>F</sub> entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 32 e 33.

TABELA 32 Média das viscosidades de pico (V<sub>P</sub>), retenção (V<sub>R</sub>) e finais (V<sub>F</sub>) do MPC<sub>2</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração (g.g <sup>-1</sup> )	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,45	2374 a	1259 a	5469 a
0,40	1321 ab	830 ab	3351 ab
0,35	416 bc	416 bc	1984 bc
0,30	76 c	76 c	424 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 33 Média das viscosidades de pico (V<sub>P</sub>), retenção (V<sub>R</sub>) e finais (V<sub>F</sub>) do MPC<sub>2</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
95°C por 5 minutos	1547 a	945 a	4263 a
85°C por 15 minutos	1530 a	927 a	3876 a
65°C por 30 minutos	63 b	63 b	282 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  apresentaram-se estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de  $0,45 \text{ g.g}^{-1}$  e os binômios  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e  $85^\circ\text{C}$  por 15 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Um comportamento semelhante observado em todas as condições avaliadas com MPC<sub>2</sub> é o fato da evolução da viscosidade apresentar um decréscimo no valor da  $V_R$ , em relação à  $V_P$ , mostrando que o ponto ótimo para o incentivo da viscosidade no processamento foi ultrapassado.

A análise de variância para  $\int/t$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis no completo perfil viscográfico do MPC<sub>2</sub>.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 3113 na condição de  $0,45 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 58 com  $0,3 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O fato da integração do perfil viscográfico não trazer informação de aplicação direta aos processamentos tecnológicos como a viscosidade, a avaliação de todos os pontos de coleta de dados obtidos durante a análise, contribui para a interpretação, pois são utilizados 646, 490 e 375 números de medidas respectivamente para cada simulação no baixo, médio e alto tratamento térmico. A relevância destes dados fica mais clara quando comparada aos obtidos para  $V_P$ ,  $V_R$ , e  $V_F$  (uma unidade de medida para cada).

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $\int/t$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 22 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do MPC<sub>2</sub> nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

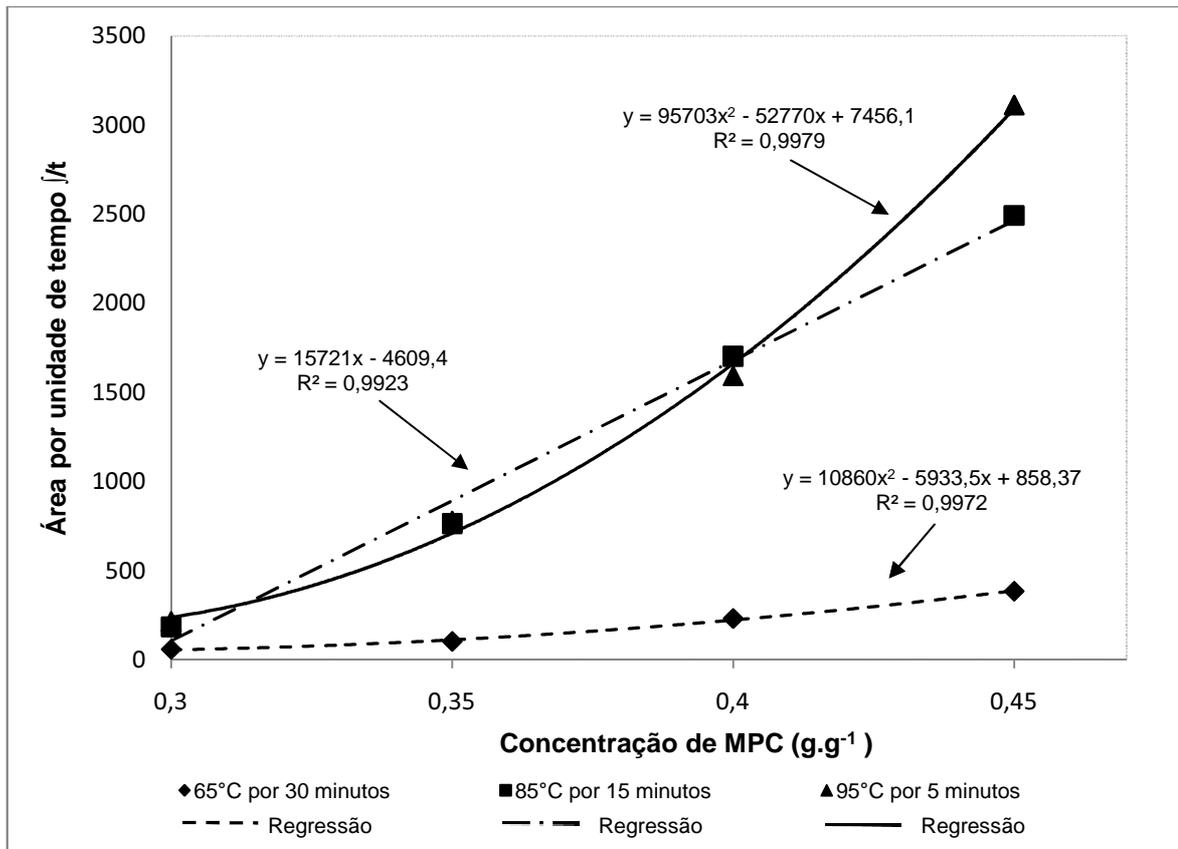


FIGURA 22 Evolução da área por unidade de tempo ( $J/t$ ) nas condições simuladas com concentrado protéico de leite sem hidratação prévia ( $MPC_2$ )

As regressões para  $J/t$  demonstram que a evolução da viscosidade do  $MPC_2$  na faixa de concentração estudada nos três processamentos térmicos seguem um comportamento explicado por equações polinomiais de grau dois (alto e baixo tratamento térmico) e equação linear (médio tratamento térmico).

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias das  $J/t$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 34 e 35.

TABELA 34 Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do MPC<sub>2</sub> nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração (g.g <sup>-1</sup> )	Média das áreas por unidade de tempo (mPa.s)
0,8	1996 a
0,7	1176 b
0,6	548 bc
0,5	153 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 35 Média das áreas por unidade de tempo ( $\int/t$ ) do MPC<sub>2</sub> nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Concentração (g.g <sup>-1</sup> )	Média das áreas por unidade de tempo (mPa.s)
95°C por 5 minutos	1425 a
85°C por 15 minutos	1286 a
65°C por 30 minutos	194 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A avaliação sobre a magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  pode ser feita para  $\int/t$ , demonstrando ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de 0,45 g.g<sup>-1</sup> e os binômios 95°C por 5 minutos e 85°C por 15 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Esta similaridade entre os resultados obtidos para  $\int/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  é depreendida quando se analisa os coeficientes de correlação apresentados na TABELA 36.

TABELA 36 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ )

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo ( $\int/t$ )	Coeficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,984 (*)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,980 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,991 (*)

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ ).

#### 4.4 Produtos lácteos protéicos derivados de soro

##### 4.4.1 Soro em pó

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o WP estão apresentados nas FIGURAS 23, 24 e 25 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

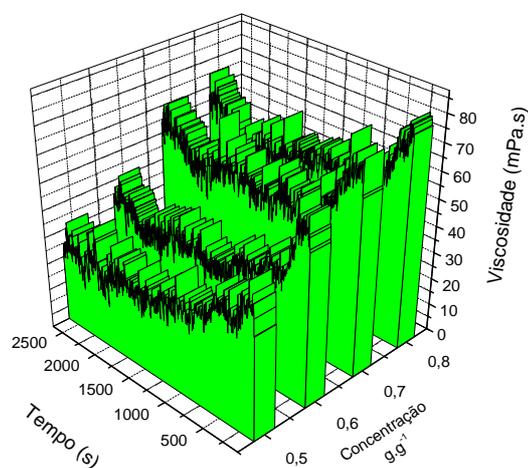


FIGURA 23 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com soro em pó

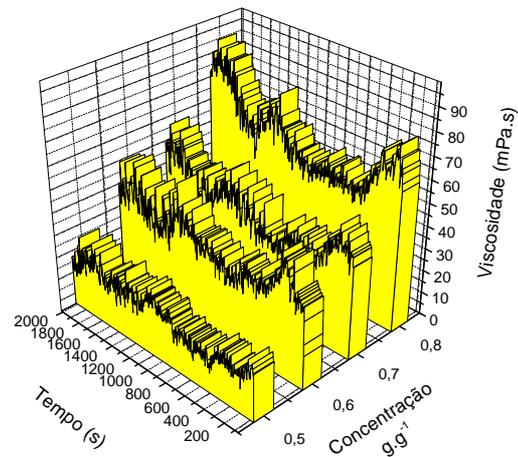


FIGURA 24 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com soro em pó

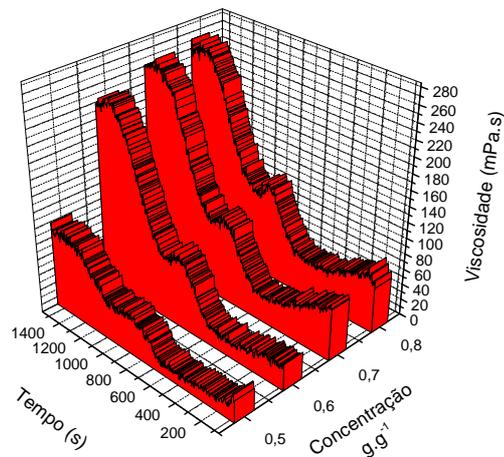


FIGURA 25 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com soro em pó

A análise de variância para  $V_p$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo SMP.

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 126 mPa.s na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 30 mPa.s com  $0,5 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $85^\circ\text{C}$  por 15 minutos.

O aumento de viscosidade durante o processamento térmico apresenta implicações negativas sob o ponto de vista tecnológico, pois pode dificultar a transferência de calor nos equipamentos e o fluxo dos produtos nas linhas industriais, e facilitar a formação de depósitos com conseqüente diminuição do tempo útil de trabalho da linha sem interrupções para o processo de limpeza.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da viscosidade com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 26 são apresentados os resultados para  $V_P$  do WP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

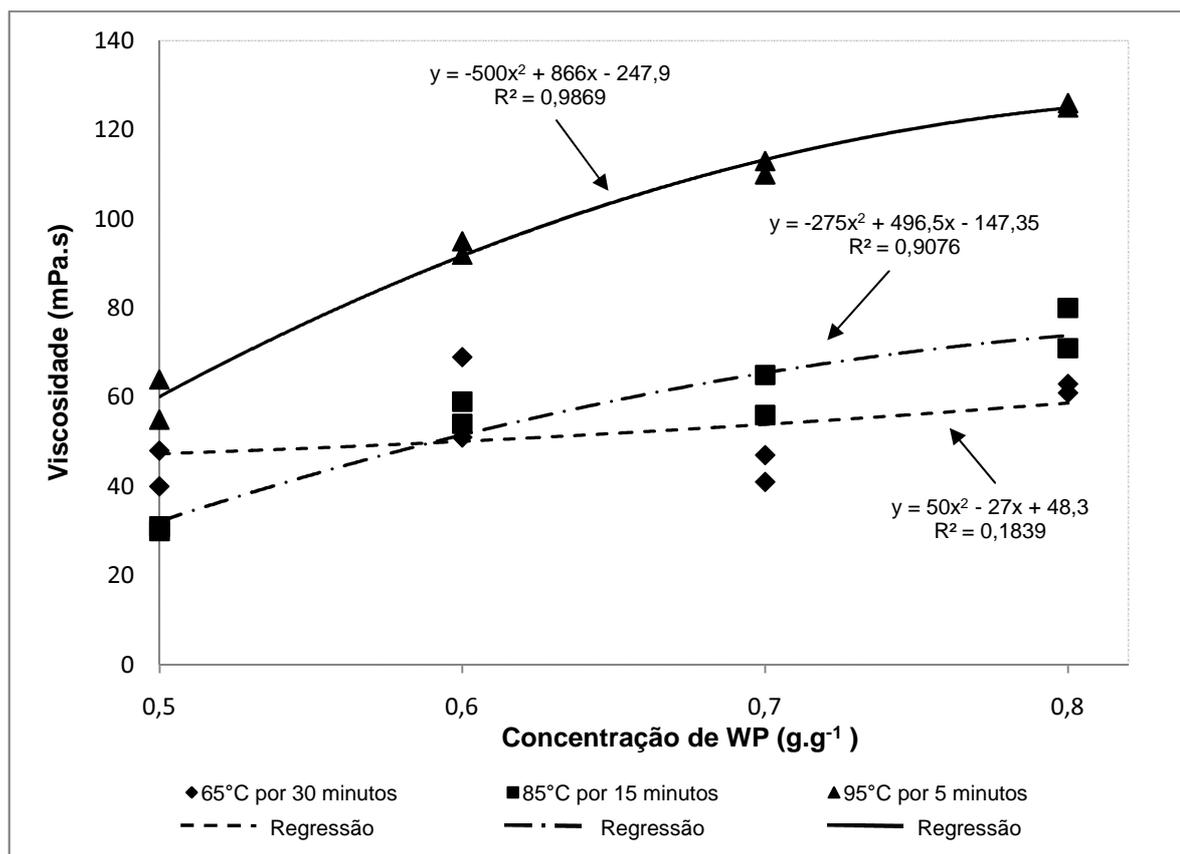


FIGURA 26 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com soro em pó

Com base no exposto na FIGURA 26 pode-se perceber que o incremento da viscosidade de pico ocorreu com o aumento da concentração de WP somente nos tratamentos térmicos alto e médio, Também houve incremento com o aumento da intensidade do tratamento térmico. As curvas e equações obtidas são úteis para o acompanhamento do fenômeno e permitem estimar o comportamento conjunto da viscosidade de pico e variação da concentração para cada tipo de processamento.

A análise de variância para  $V_R$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o tempo de retenção, proporcionada pelo WP.

O valor máximo de  $V_R$  obtido no estudo foi 117 mPa.s na condição de 0,8 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 10 mPa.s com 0,5 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

A viscosidade após o tempo de retenção é uma variável de importância tecnológica, por fornecer informações da influência do tratamento térmico sobre a matriz protéica. Somente após o completo período de retenção à temperatura de exposição, é possível compreender se a configuração do processamento está adequada para o uso do MPP como um ingrediente que contribuirá nas características de funcionalidade da matriz avaliada.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_R$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 27 são apresentados os resultados para  $V_R$  do WP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

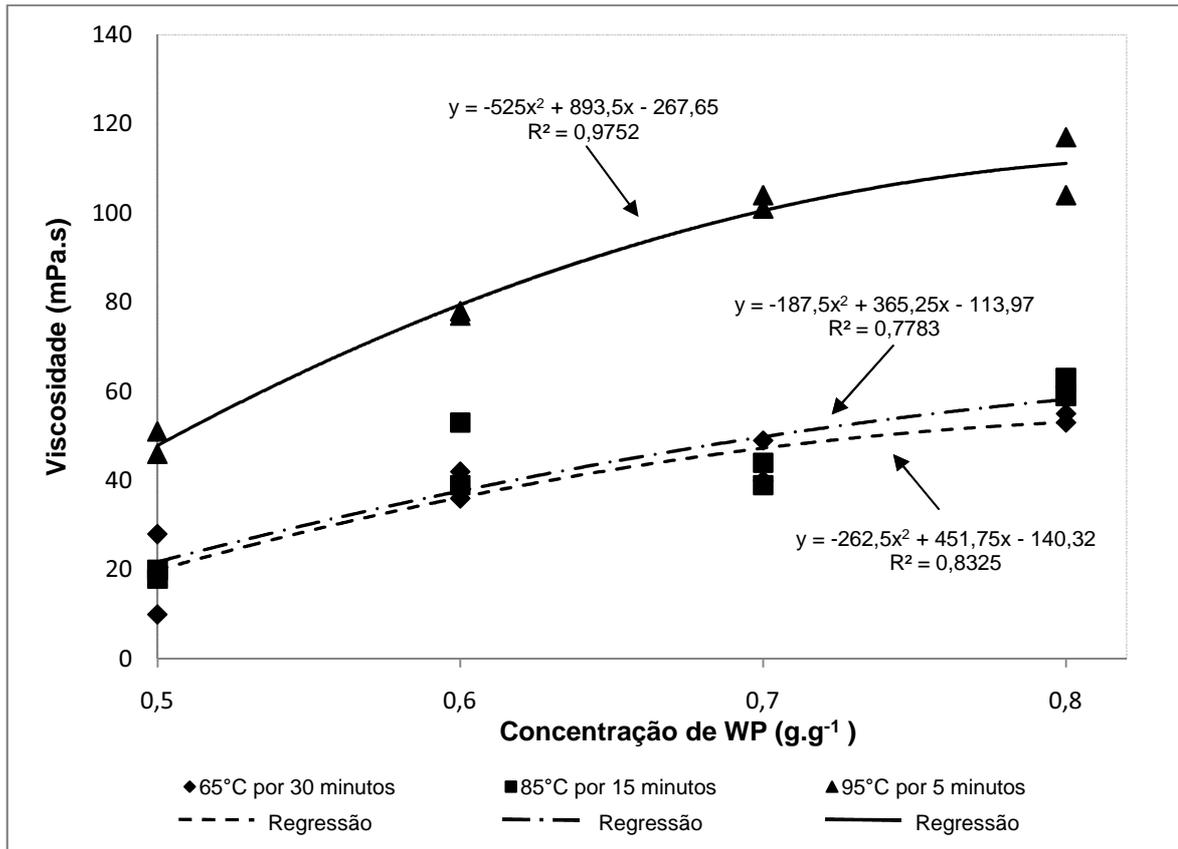


FIGURA 27 Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com soro em pó

O perfil de evolução da viscosidade de retenção para o WP na faixa de concentração 0,5 g.g<sup>-1</sup> a 0,8 g.g<sup>-1</sup>, no nível de tratamento térmico alto, é bem descrito por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração. Entretanto, para a mesma faixa de concentração, os perfis do baixo e médio tratamentos térmicos apresentaram similaridade e baixo R<sup>2</sup>.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 256 mPa.s na condição de 0,7 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 7 mPa.s com 0,5 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_F$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 28 são apresentados os resultados para  $V_F$  do WP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

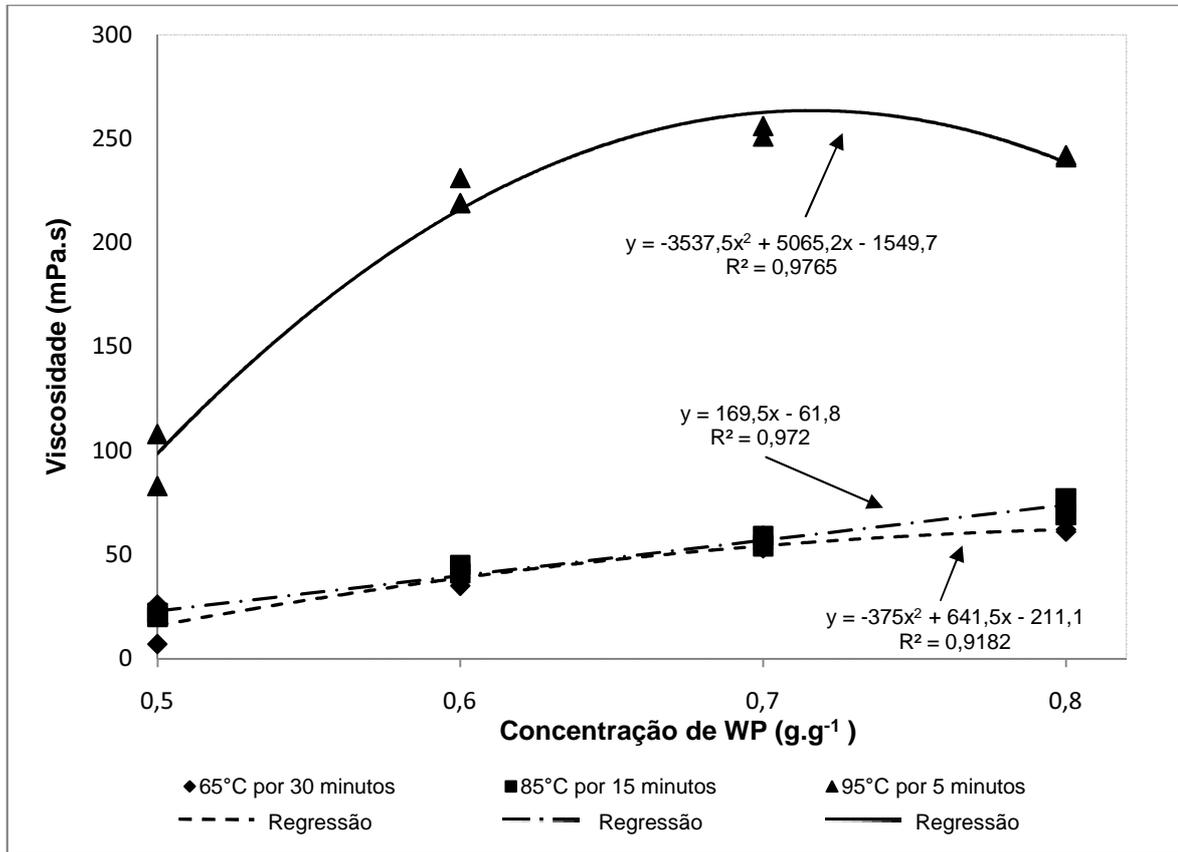


FIGURA 28 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com soro em pó

Observa-se na FIGURA 28 a mesma avaliação para a viscosidade final que a realizada para  $V_R$ . O perfil no nível de tratamento térmico alto é bem descrito por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias de  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 37 e 38.

TABELA 37 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,8	88 a	75 a	125 a
0,7	72 a	63 ab	122 a
0,6	70 a	54 b	102 a
0,5	45 b	29 c	44 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 38 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
95°C por 5 minutos	98 a	85 a	204 a
85°C por 15 minutos	56 b	42 b	48 b
65°C por 30 minutos	52 b	39 b	43 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  apresentaram-se estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ), sendo as concentrações de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$ ,  $0,7 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,6 \text{ g.g}^{-1}$ , e o binômio 95°C por 5 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Um comportamento semelhante observado em todas as condições avaliadas com WP é o fato da evolução da viscosidade apresentar um decréscimo no valor da

$V_R$ , em relação à  $V_P$ , mostrando que o ponto ótimo para o incentivo da viscosidade no processamento foi ultrapassado.

A análise de variância para  $\int/t$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis no completo perfil viscográfico do WP.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 116 na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 20 com  $0,5 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O fato da integração do perfil viscográfico não trazer informação de aplicação direta aos processamentos tecnológicos como a viscosidade, a análise de todos os pontos de coleta de dados obtidos durante o processamento, contribui para um resultado de alta confiança, pois são utilizados 646, 490 e 375 números de medidas respectivamente para cada simulação nos baixo, médio e alto tratamentos térmicos. A relevância destes dados fica mais clara quando comparada aos obtidos para  $V_P$ ,  $V_R$ , e  $V_F$  (uma unidade de medida para cada).

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $\int/t$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 29 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do WP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

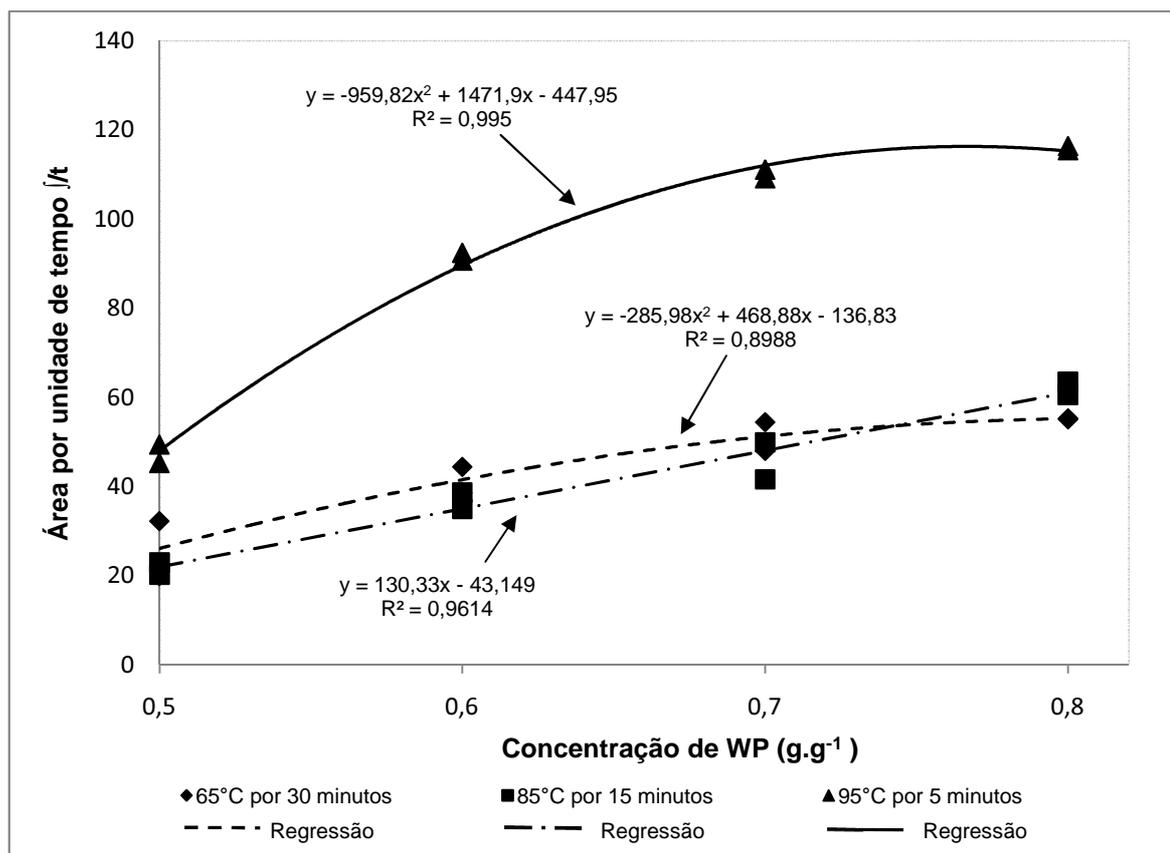


FIGURA 29 Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com WP

A regressão para  $\int/t$  demonstram que a evolução da viscosidade do WP na faixa de concentração estudada para o nível de tratamento térmico alto é bem descrita por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias das  $\int/t$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 39 e 40.

TABELA 39 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do WP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
0,8	78 a
0,7	69 ab
0,6	57 b
0,5	32 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 40 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do WP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
95°C por 5 minutos	91 a
85°C por 15 minutos	44 b
65°C por 30 minutos	42 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A avaliação sobre a magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  pode ser feita para  $\dot{J}/t$ , demonstrando ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), sendo as concentrações de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$ ,  $0,7 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,6 \text{ g.g}^{-1}$ , e o binômio 95°C por 5 minutos os de maior propen são a exibir valores mais altos de viscosidade.

Esta similaridade entre os resultados obtidos para  $\dot{J}/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  é depreendida quando se analisa os coeficientes de correlação apresentados na TABELA 41.

Na TABELA 41 têm-se os coeficientes de correlação da  $\int/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$ .

TABELA 41 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ )

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo ( $\int/t$ )	Coeficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,962 (*)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,977 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,961 (*)

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ )

#### 4.4.2 Soro em pó desmineralizado

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o DWP estão apresentados nas FIGURAS 30, 31 e 32 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

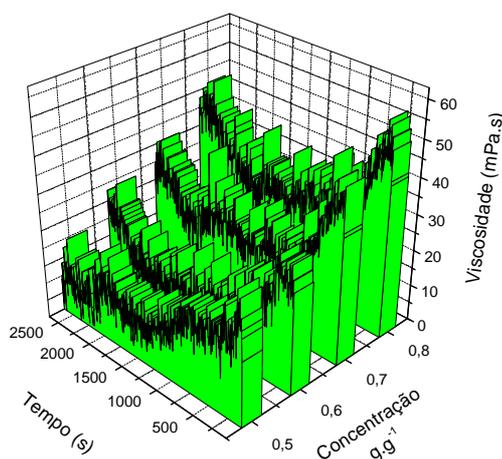


FIGURA 30 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com soro em pó desmineralizado

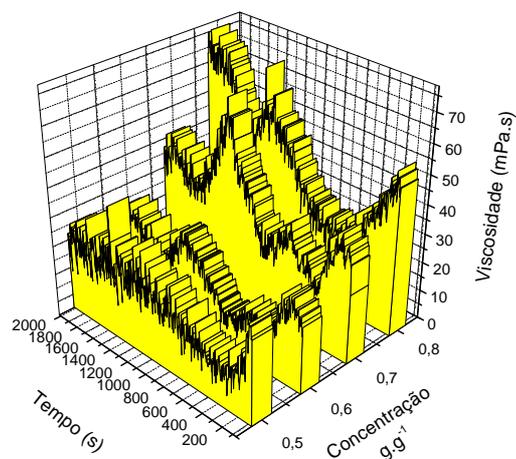


FIGURA 31 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com soro em pó desmineralizado

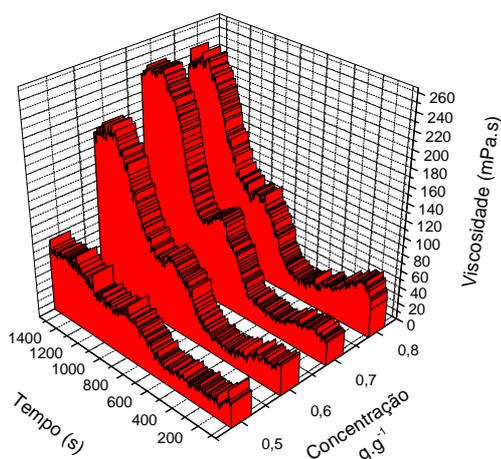


FIGURA 32 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com soro em pó desmineralizado

A análise de variância para  $V_p$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo DWP.

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 114 mPa.s na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 27 mPa.s com  $0,5 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O aumento de viscosidade durante o processamento térmico apresenta implicações negativas sob o ponto de vista tecnológico, pois pode dificultar a transferência de calor nos equipamentos e o fluxo dos produtos nas linhas industriais e facilitar a formação de depósitos com conseqüente diminuição do tempo útil de trabalho da linha sem interrupções para o processo de limpeza.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da viscosidade com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 33 são apresentados os resultados para  $V_P$  do DWP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

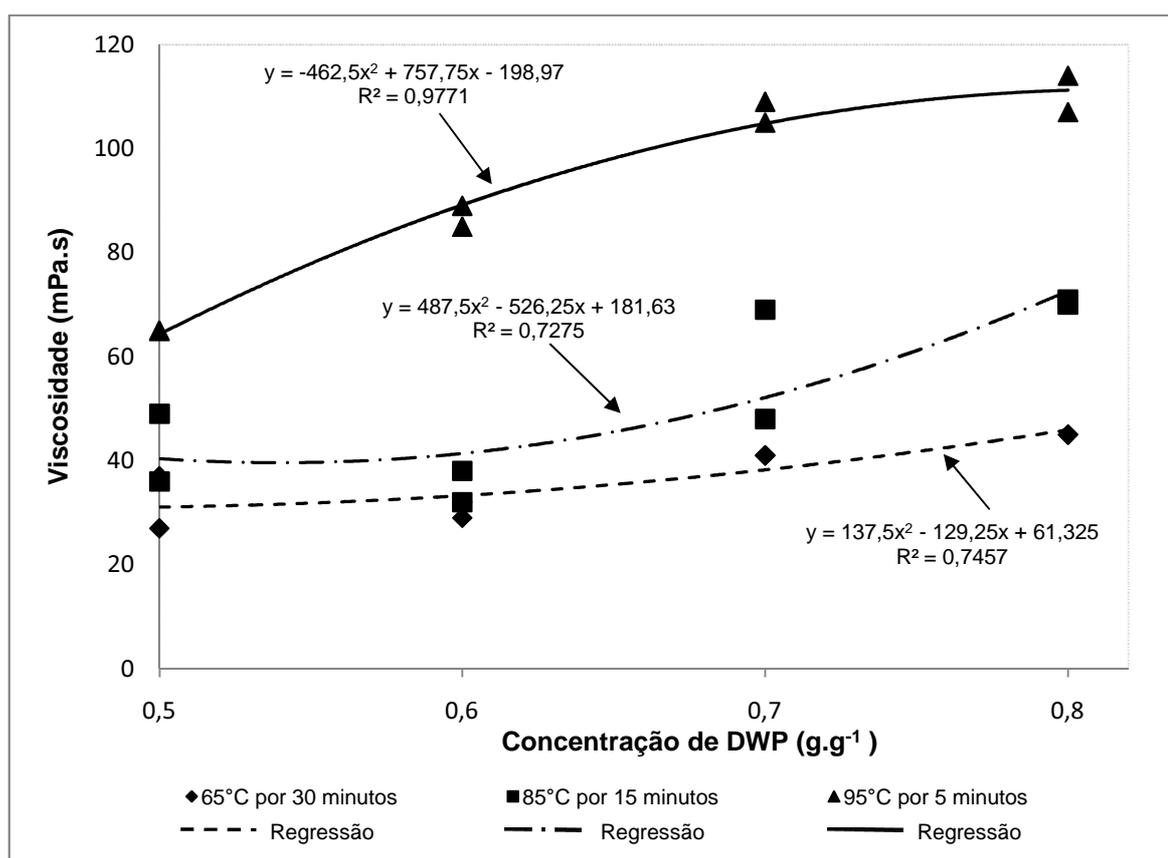


FIGURA 33 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado

Com base no exposto na FIGURA 33 pode-se perceber que o incremento da viscosidade de pico ocorreu com o aumento da concentração de DWP somente nos tratamentos térmicos alto e médio, Também houve incremento com o aumento da intensidade do tratamento térmico. As curvas e equações obtidas são úteis para o acompanhamento do fenômeno e permitem estimar o comportamento conjunto da viscosidade de pico e variação da concentração para cada tipo de processamento.

A análise de variância para  $V_R$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após tempo de retenção, proporcionado pelo DWP.

O valor máximo de  $V_R$  obtido no estudo foi 110 mPa.s na condição de 0,8 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 10 mPa.s com 0,6 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

A viscosidade após o tempo de retenção é uma variável de importância tecnológica, por fornecer informações da influência do tratamento térmico sobre a matriz protéica. Somente após o completo período de retenção à temperatura de exposição, é possível compreender se a configuração do processamento está adequada para o uso do MPP como um ingrediente que contribuirá nas características de funcionalidade da matriz avaliada.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_R$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 34 são apresentados os resultados para  $V_R$  do DWP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

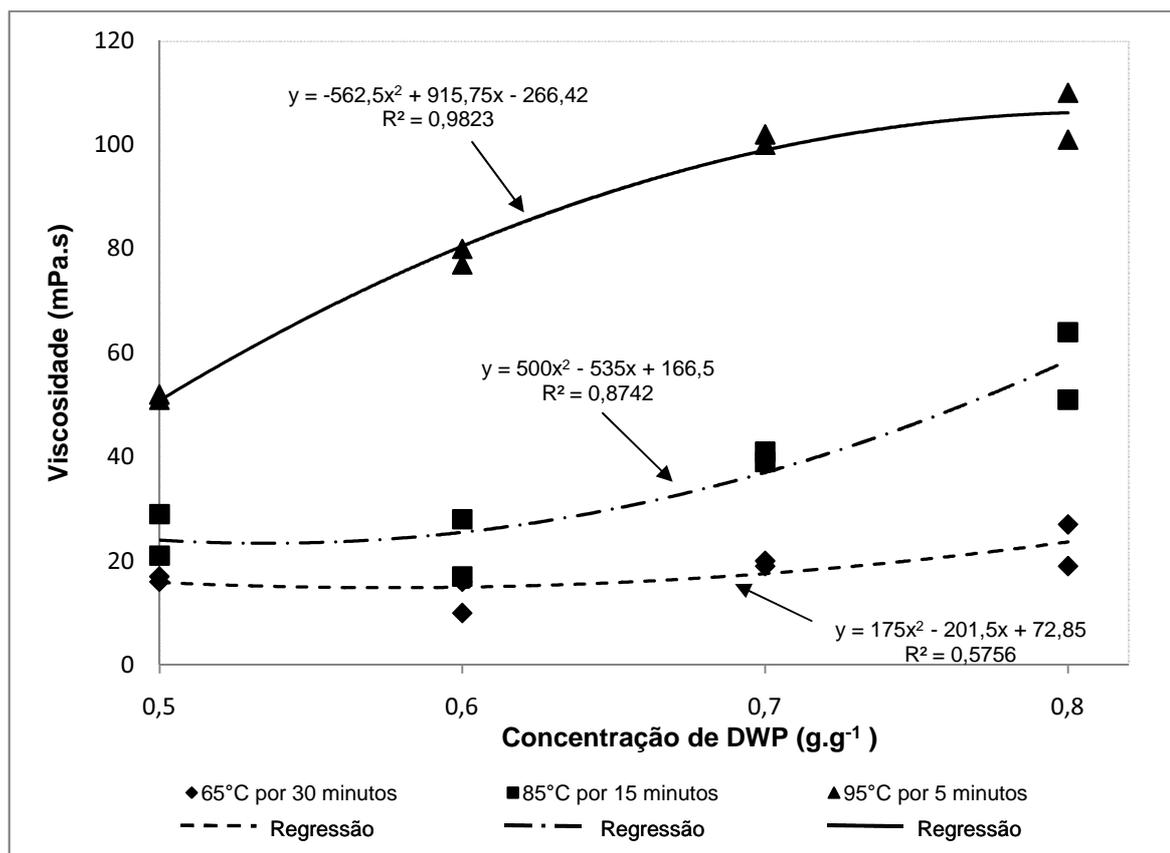


FIGURA 34 Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado

O perfil de evolução da viscosidade de retenção para o DWP na faixa de concentração 0,5 g.g<sup>-1</sup> a 0,8 g.g<sup>-1</sup>, no nível de tratamento térmico alto é bem descrito por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração. Entretanto, para a mesma faixa de concentração, os perfis do baixo e médio tratamentos térmicos apresentaram baixo R<sup>2</sup>.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,002$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 255 mPa.s na condição de 0,8 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 9 mPa.s com 0,5 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_F$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 35 são apresentados os resultados para  $V_F$  do DWP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

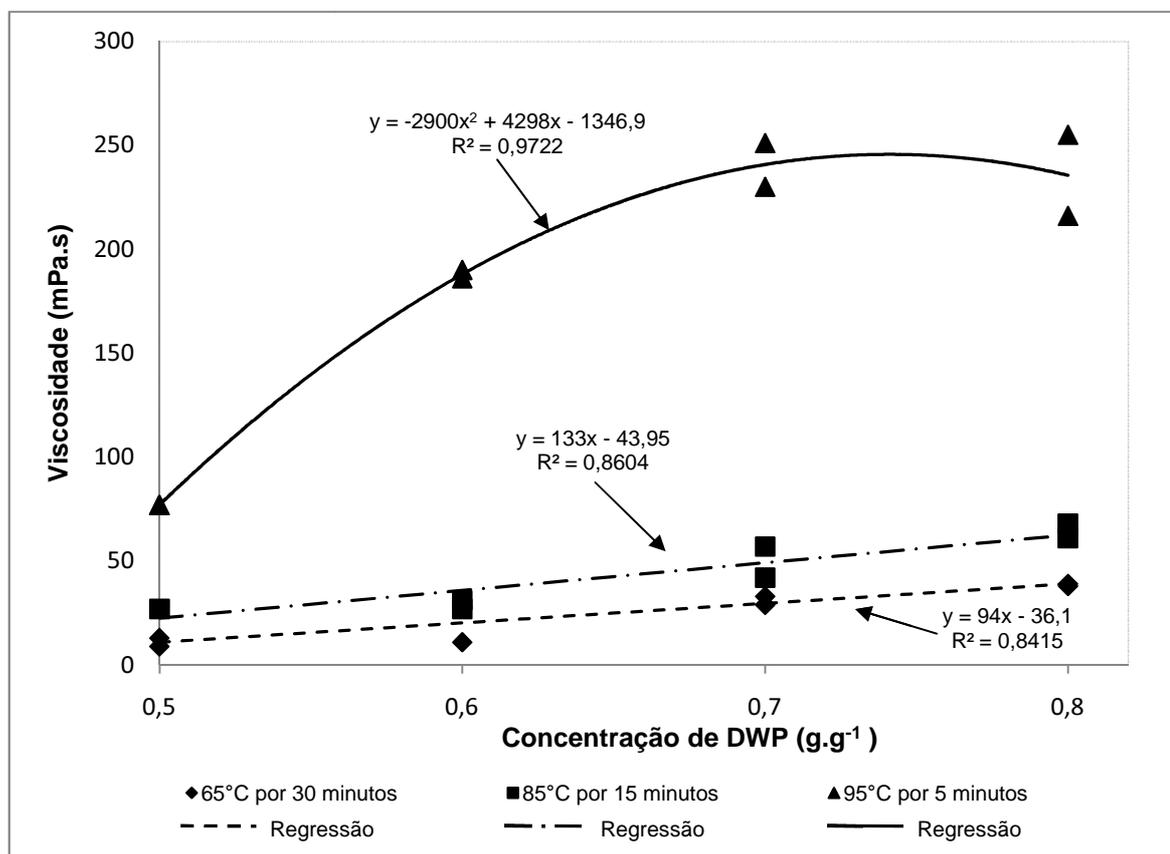


FIGURA 35 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com soro em pó desmineralizado

Observa-se na FIGURA 35 a mesma avaliação para a viscosidade final que a realizada para  $V_R$ . O perfil no nível de tratamento térmico alto é bem descrito por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias de  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 42 e 43.

TABELA 42 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do DWP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,8	75 a	62 a	113 a
0,7	69 a	54 ab	107 a
0,6	51 b	38 bc	79 ab
0,5	46 b	31 c	39 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 43 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
95°C por 5 minutos	92 a	84 a	185 a
85°C por 15 minutos	52 b	36 b	42 b
65°C por 30 minutos	37 c	18 c	25 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  apresentaram-se estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ), sendo as concentrações de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,7 \text{ g.g}^{-1}$ , e o binômio 95°C por 5 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Um comportamento semelhante observado em todas as condições avaliadas com DWP é o fato da evolução da viscosidade apresentar um decréscimo no valor da  $V_R$ , em relação à  $V_P$ , mostrando que o ponto ótimo para o incentivo da viscosidade no processamento foi ultrapassado.

A análise de variância para  $\int/t$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após a retenção.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 99 na condição de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  a  $95^\circ\text{C}$  por 5 minutos e o mínimo 15 com  $0,5 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a  $65^\circ\text{C}$  por 30 minutos.

O fato da integração do perfil viscográfico não trazer informação de aplicação direta aos processos tecnológicos como a viscosidade, a avaliação de todos os pontos de coleta de dados obtidos durante a análise, contribui para a interpretação, pois são utilizados 646, 490 e 375 números de medidas respectivamente para cada simulação no baixo, médio e alto tratamento térmico. A relevância destes dados fica mais clara quando comparada aos obtidos para  $V_P$ ,  $V_R$ , e  $V_F$  (uma unidade de medida para cada).

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $\int/t$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 36 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do DWP nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

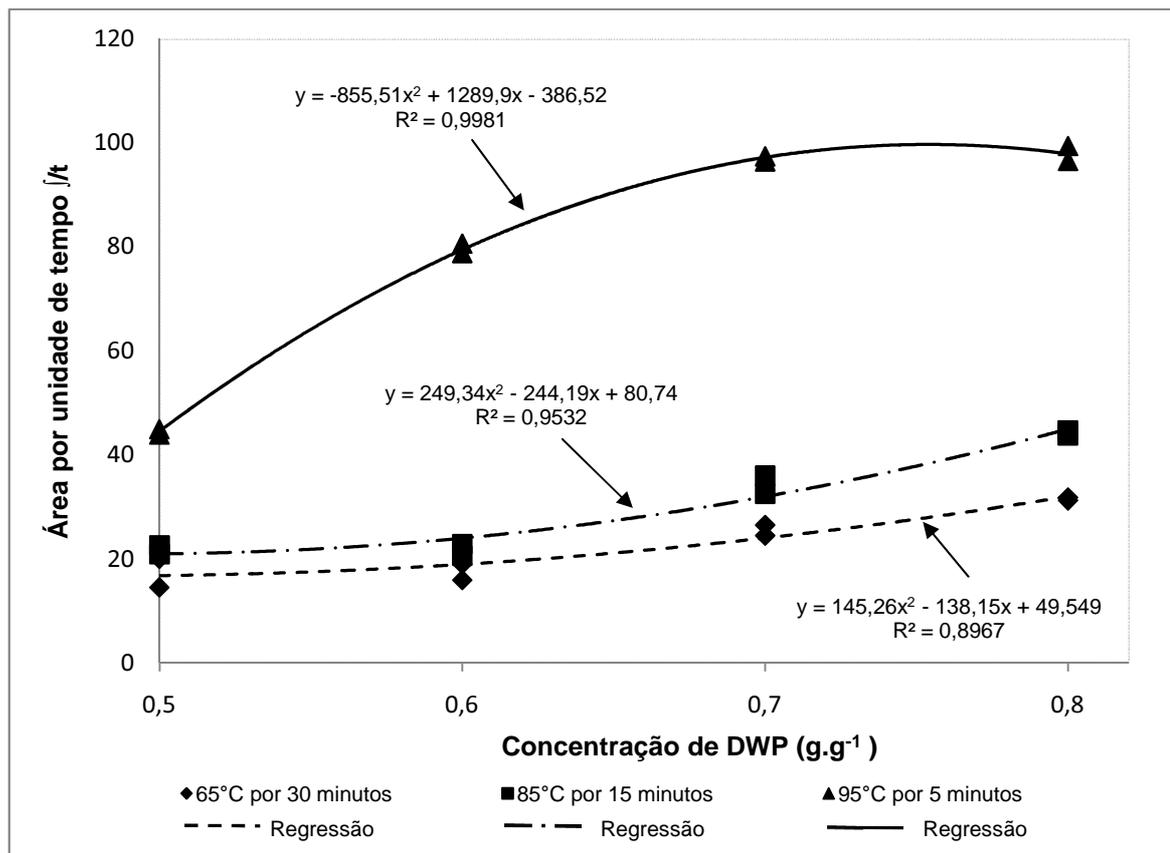


FIGURA 36 Evolução da área por unidade de tempo ( $l/t$ ) nas condições simuladas com DWP

A regressão para  $l/t$  demonstra que a evolução da viscosidade do DWP na faixa de concentração estudada para o nível de tratamento térmico alto é bem descrita por uma equação polinomial de grau dois, com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias das  $l/t$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 44 e 45.

TABELA 44 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do DWP nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
0,8	58 a
0,7	52 ab
0,6	40 bc
0,5	28 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 45 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
95°C por 5 minutos	80 a
85°C por 15 minutos	30 b
65°C por 30 minutos	23 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A avaliação sobre a magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  pode ser feita para  $\dot{J}/t$ , demonstrando ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), sendo as concentrações de  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,7 \text{ g.g}^{-1}$ , e o binômio 95°C por 5 minutos os de maior propen são a exibir valores mais altos de viscosidade.

Esta similaridade entre os resultados obtidos para  $\dot{J}/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  é depreendida quando se analisa os coeficientes de correlação apresentados na TABELA 46.

Na TABELA 46 têm-se os coeficientes de correlação da  $\int/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$ .

TABELA 46 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo ( $\int/t$ )

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo ( $\int/t$ )	Coefficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,975 (*)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,978 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,990 (*)

(\*) estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ )

#### 4.4.3 Concentrado protéico de soro

Os perfis viscográficos dos processamentos térmicos simulados em RVA para o WPC estão apresentados nas FIGURAS 37, 38 e 39 respectivamente para baixo, médio e alto tratamento térmico.

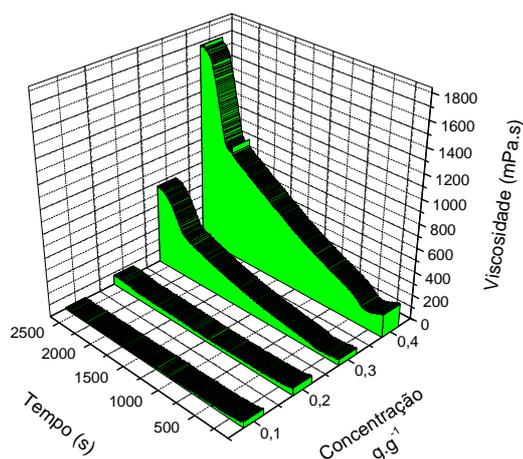


FIGURA 37 Perfis viscográficos na condição simulada de baixo tratamento térmico com concentrado protéico de soro

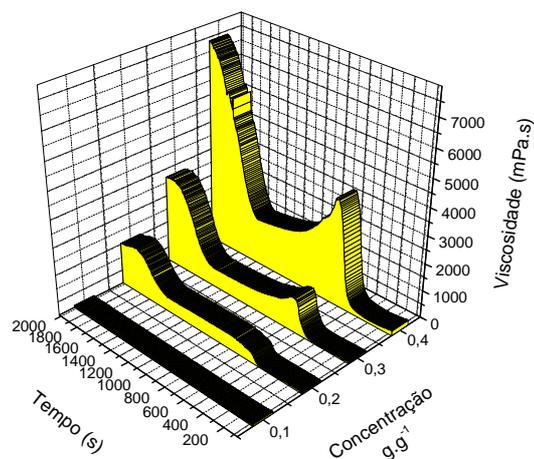


FIGURA 38 Perfis viscográficos na condição simulada de médio tratamento térmico com concentrado protéico de soro

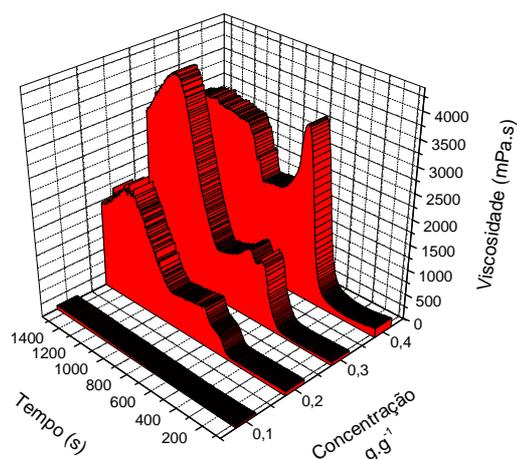


FIGURA 39 Perfis viscográficos na condição simulada de alto tratamento térmico com concentrado protéico de soro

A análise de variância para  $V_p$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade máxima obtida durante o processo, proporcionada pelo WPC.

O valor máximo de  $V_P$  obtido no estudo foi 3892 mPa.s na condição de 0,4 g.g<sup>-1</sup> a 85°C por 30 minutos e o mínimo 26 mPa.s com 0,1 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

O aumento de viscosidade durante o processamento térmico apresenta implicações negativas sob o ponto de vista tecnológico, pois pode dificultar a transferência de calor nos equipamentos e o fluxo dos produtos nas linhas industriais e facilitar a formação de depósitos com conseqüente diminuição do tempo útil de trabalho da linha sem interrupções para o processo de limpeza.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da viscosidade com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 40 são apresentados os resultados para  $V_P$  do WPC nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

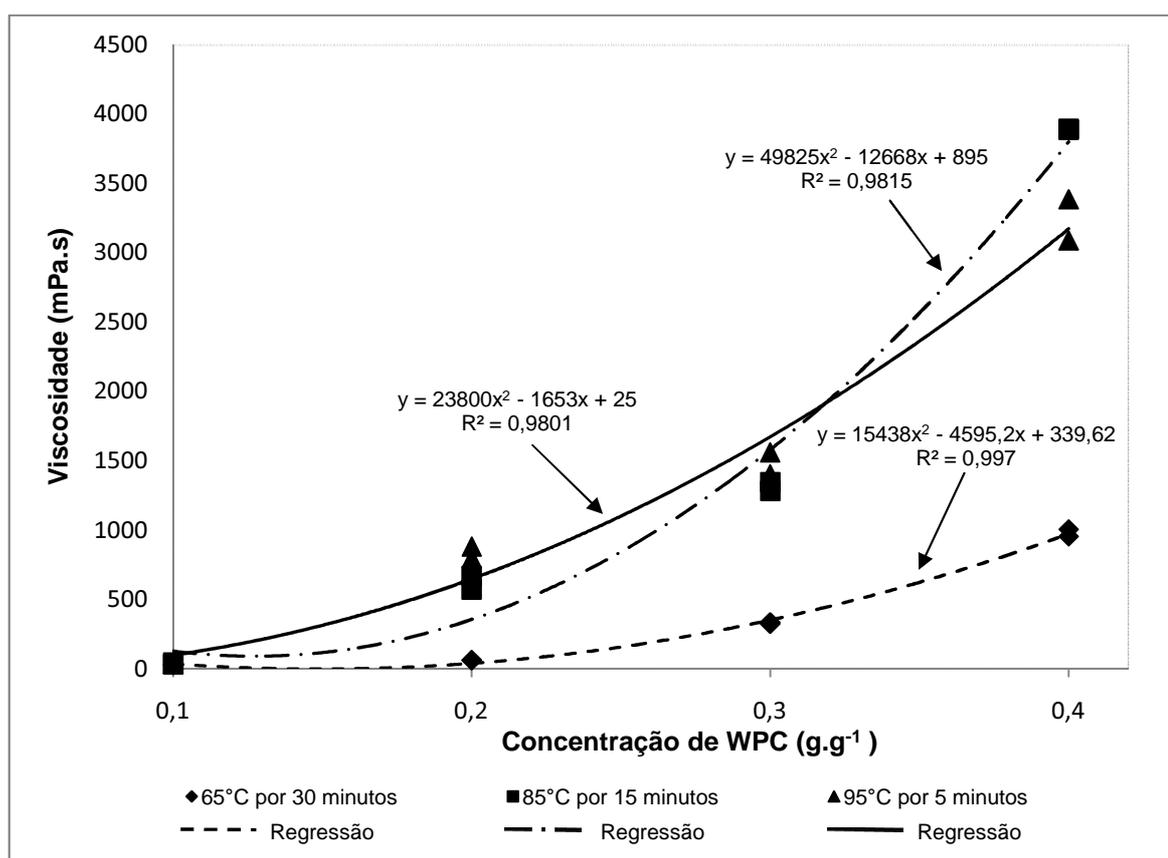


FIGURA 40 Evolução da viscosidade de pico nas condições simuladas com concentrado protéico de soro

Com base no exposto na FIGURA 40 pode-se perceber que o incremento da viscosidade de pico ocorreu com o aumento da concentração de WPC e também com o aumento da intensidade do tratamento térmico. As curvas e equações obtidas são úteis para o acompanhamento do fenômeno e permitem estimar o comportamento conjunto da viscosidade de pico e variação da concentração para cada tipo de processamento.

A análise de variância para  $V_R$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o tempo de retenção, proporcionada pelo WPC.

O valor máximo de  $V_R$  obtido no estudo foi 2086 mPa.s na condição de 0,4 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 5 minutos e o mínimo 2 mPa.s com 0,1 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

A viscosidade após o tempo de retenção é uma variável de importância tecnológica, por fornecer informações da influência do tratamento térmico sobre a matriz protéica. Somente após o completo período de retenção à temperatura de exposição, é possível compreender se a configuração do processamento está adequada para o uso do MPP como um ingrediente que contribuirá nas características de funcionalidade da matriz avaliada.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_R$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 41 são apresentados os resultados para  $V_R$  do WPC nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

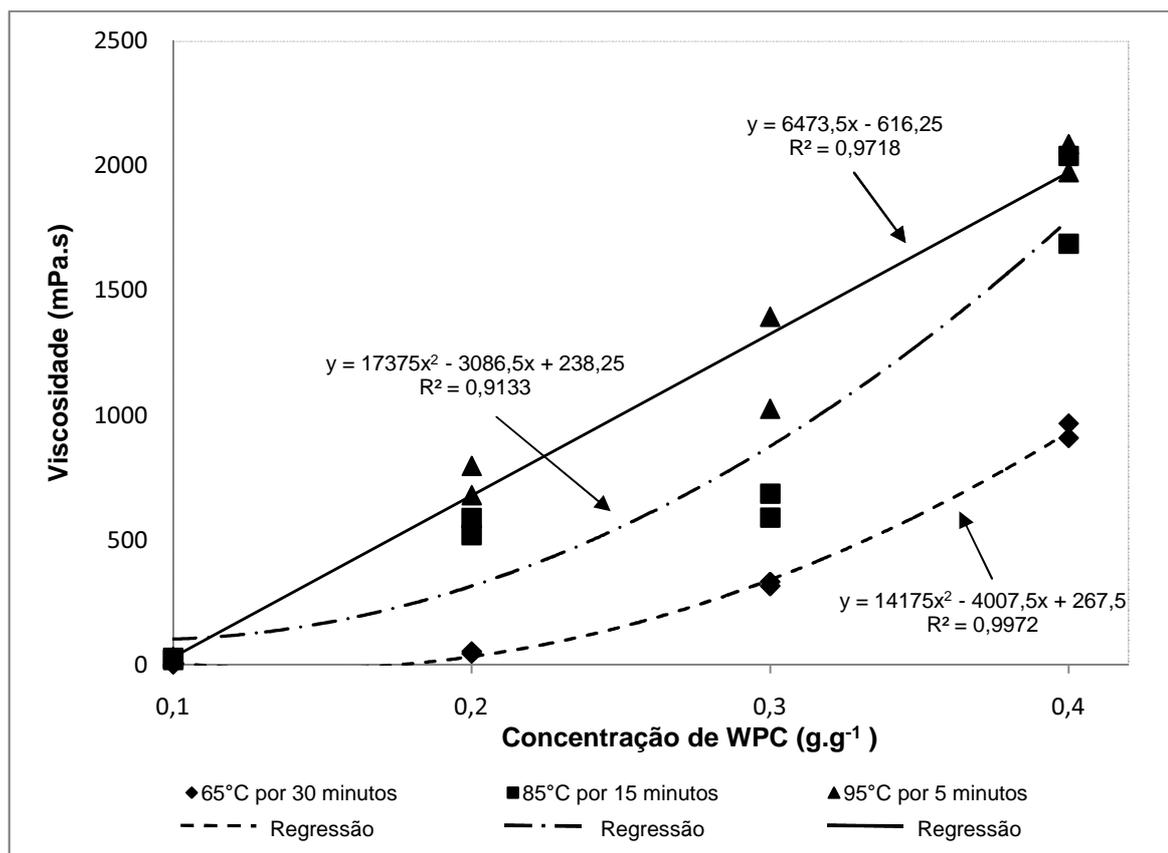


FIGURA 41 Evolução da viscosidade de retenção nas condições simuladas com concentrado protéico de soro

Observa-se na FIGURA 41 que no nível máximo de concentração (0,4 g.g<sup>-1</sup>), os alto e o médio tratamentos térmicos apresentam valores de  $V_R$  próximos, indicando que é possível otimizar o gasto energético e o tempo de processamento, quando se aplica WPC objetivando propriedade reológica. Os perfis de evolução da viscosidade de retenção para o WPC na faixa de concentração 0,1 g.g<sup>-1</sup> a 0,4 g.g<sup>-1</sup>, nos três níveis de tratamento térmico são muito distintos entre si, mostrando o impacto do tipo de processamento na  $V_R$ , sendo bem descritos por equações polinomiais de grau dois (médio e baixo tratamentos térmicos) e equação linear (alto tratamento térmico), com os valores crescentes para a viscosidade com o aumento proporcional da concentração.

A análise de variância para  $V_F$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,005$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após o resfriamento.

O valor máximo de  $V_F$  obtido no estudo foi 10105 mPa.s na condição de 0,4 g.g<sup>-1</sup> a 85°C por 15 minutos e o mínimo 6 mPa.s com 0,1 g.g<sup>-1</sup> submetido a 65°C por 30 minutos.

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $V_F$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 42 são apresentados os resultados para  $V_F$  do WPC nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

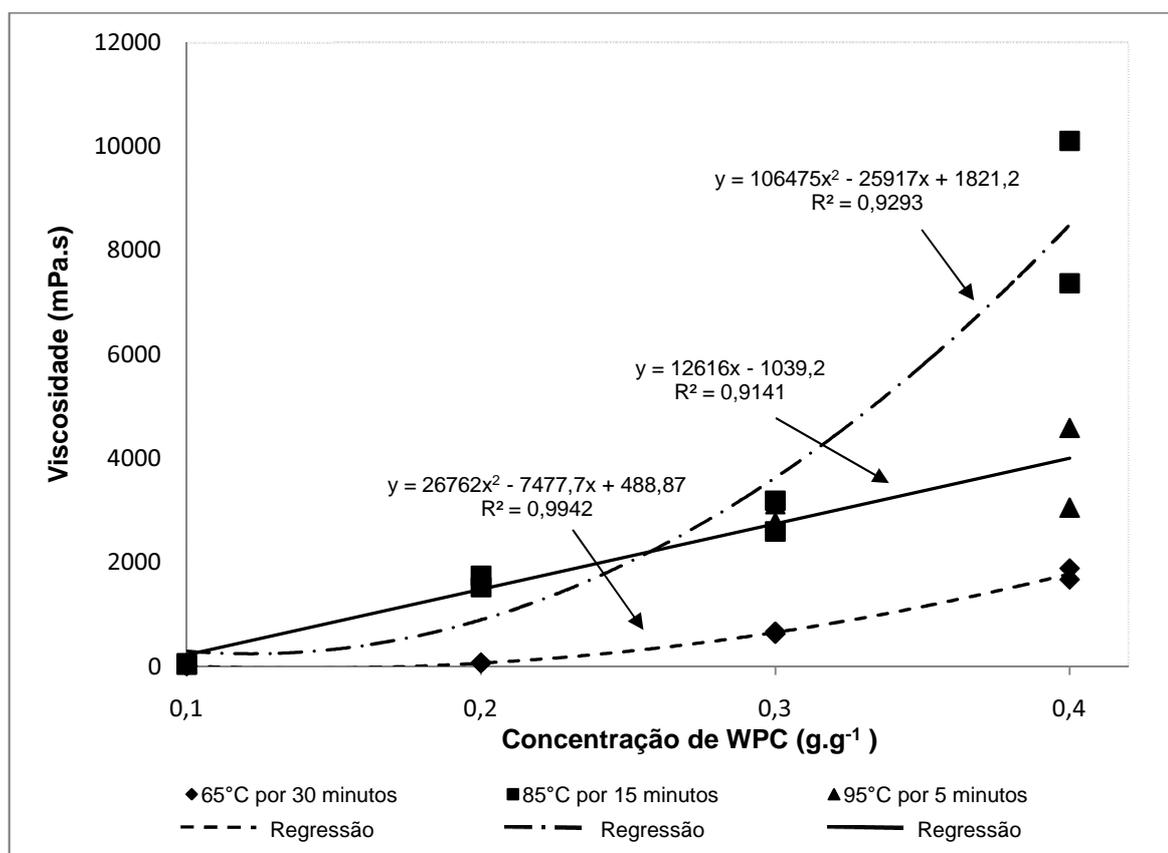


FIGURA 42 Evolução da viscosidade final nas condições simuladas com concentrado protéico de soro

Observa-se na FIGURA 42 completa distinção entre as evoluções de viscosidade final para o WPC na faixa de concentração 0,1 g.g<sup>-1</sup> a 0,4 g.g<sup>-1</sup>, mostrando o impacto do tipo de processamento na  $V_F$ . Os tratamentos térmicos são bem descritos por equações polinomiais de grau dois (médio e baixo tratamentos térmicos) e equação linear (alto tratamento térmico), com os valores crescentes para

a viscosidade com o aumento proporcional da concentração. O alto e o médio tratamentos térmicos apresentam valores de  $V_F$  distintos, em especial na concentração  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$ , mostrando uma inversão nos valores máximos, indicando que é possível otimizar o gasto energético e o tempo de processamento, quando se aplica WPC objetivando propriedade reológica. É possível que este comportamento a  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  no alto tratamento térmico seja devido à auto-agregação das soroproteínas, diminuindo assim as suas associações com a água, influenciando a viscosidade.

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias de  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 47 e 48.

TABELA 47 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WPC nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
0,4	2701 a	1610 a	4779 a
0,3	1040 b	724 b	2162 b
0,2	506 bc	447 b	1115 b
0,1	33 c	19 c	35 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 48 Média das viscosidades de pico ( $V_P$ ), retenção ( $V_R$ ) e finais ( $V_F$ ) do WPC nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Processamento térmico	Média das viscosidades de Pico (mPa.s)	Média das viscosidades de retenção (mPa.s)	Média das viscosidades finais (mPa.s)
95°C por 5 minutos	1465 a	1002 a	3328 a
85°C por 15 minutos	1397 a	770 a	2115 ab
65°C por 30 minutos	349 b	329 b	627 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  apresentaram-se estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  e os binômios 95°C por 5 minutos e 85°C por 15 minutos os mais propensos a exibir valores mais altos de viscosidade.

Um comportamento semelhante observado em todas as condições avaliadas com WPC é o fato da evolução da viscosidade apresentar um decréscimo no valor da  $V_R$ , em relação à  $V_P$ , mostrando que o ponto ótimo para o incentivo da viscosidade no processamento foi ultrapassado.

A análise de variância para  $\int/t$  mostrou efeitos estatisticamente significativos para concentração ( $P < 0,001$ ) e processamento térmico ( $P < 0,001$ ). Tais resultados demonstram a influência destas variáveis na viscosidade obtida após a retenção.

O valor máximo de  $\int/t$  obtido no estudo foi 3062 na condição de  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  a 85°C por 15 minutos e o mínimo 11 com  $0,1 \text{ g.g}^{-1}$  submetido a 65°C por 30 minutos.

O fato da integração do perfil viscográfico não trazer informação de aplicação direta aos processamentos tecnológicos como a viscosidade, a avaliação de todos os pontos de coleta de dados obtidos durante a análise, contribui para a interpretação, pois são utilizados 646, 490 e 375 números de medidas respectivamente para cada simulação no baixo, médio e alto tratamento térmico. A relevância destes dados fica mais clara quando comparada aos obtidos para  $V_P$ ,  $V_R$ , e  $V_F$  (uma unidade de medida para cada).

Com auxílio do ajustamento das curvas, foi possível descrever a evolução da  $\int/t$  com o aumento da concentração nos três processamentos térmicos.

Na FIGURA 43 são apresentados os resultados para  $\int/t$  do WPC nos processamentos de alto, médio e baixo tratamento térmico e suas regressões.

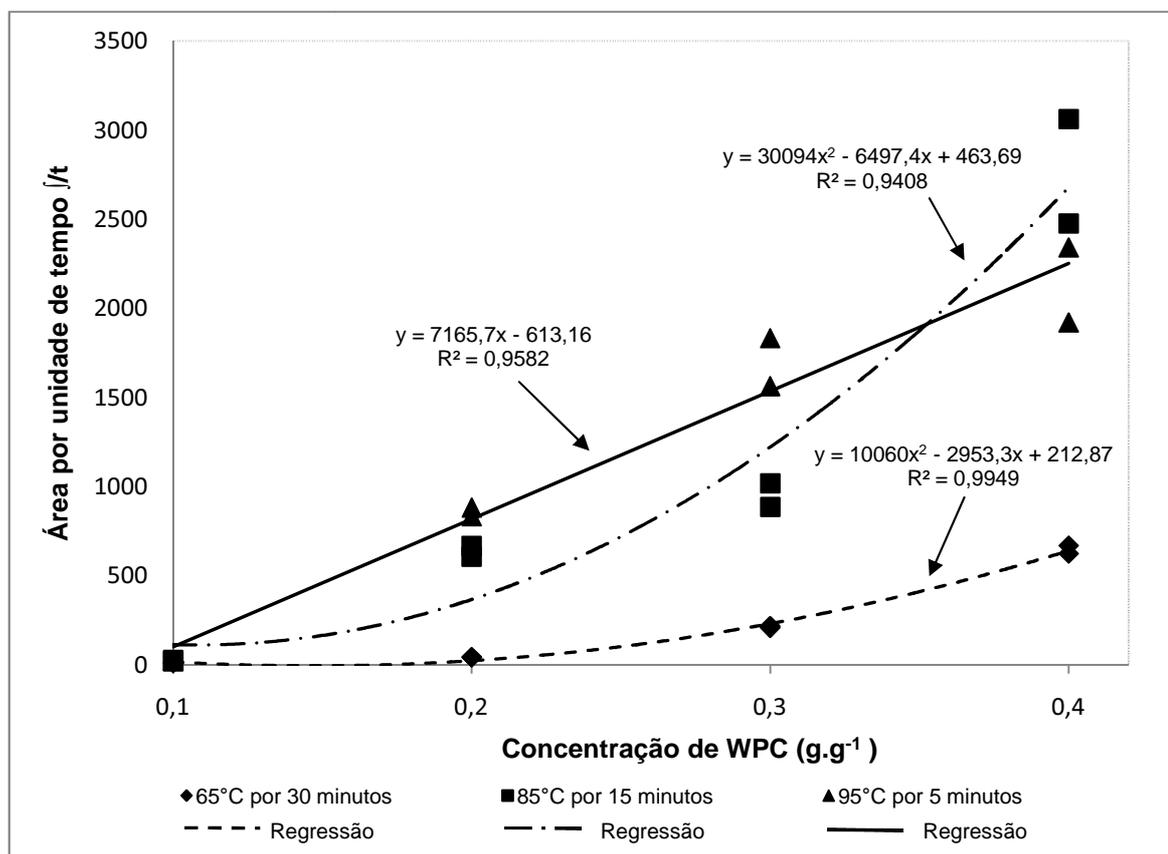


FIGURA 43 Evolução da área por unidade de tempo ( $\int/t$ ) nas condições simuladas com WPC

As regressões para  $\int/t$  deixam claro que a evolução da viscosidade do WPC na faixa de concentração estudada nos três processamentos térmicos segue comportamentos distintos, com interpretações similares as feitas na  $V_F$ .

A aplicação do teste de Tukey para comparação de médias das  $\int/t$  entre as concentrações e também para os processamentos térmicos forneceu os resultados expressos nas TABELAS 49 e 50.

TABELA 49 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do WPC nas quatro concentrações do estudo nos diferentes processamentos térmicos

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
0,8	1850 a
0,7	955 b
0,6	513 bc
0,5	20 c

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

TABELA 50 Média das áreas por unidade de tempo ( $\dot{J}/t$ ) do DWP nos três processamentos térmicos do estudo nas diferentes concentrações

Concentração ( $\text{g.g}^{-1}$ )	Média das áreas por unidade de tempo ( $\text{mPa.s}$ )
95°C por 5 minutos	1178 a
85°C por 15 minutos	1096 a
65°C por 30 minutos	229 b

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

A mesma avaliação sobre a magnitude dos efeitos da concentração e do processamento térmico sobre as  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  pode ser feita para  $\dot{J}/t$ , demonstrando ser estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ), sendo a concentração de  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  e os binômios 95°C por 5 minutos e 85°C por 15 minutos os de maior propensão a exibir valores mais altos de viscosidade.

Esta similaridade entre os resultados obtidos para  $\dot{J}/t$  com as viscosidades  $V_P$ ,  $V_R$  e  $V_F$  é depreendida quando se analisa os coeficientes de correlação apresentados na TABELA 51.

TABELA 51 Coeficientes de correlação para área por unidade de tempo (J/t)

Variável testada para correlação com a área por unidade de tempo (J/t)	Coeficiente de correlação
Viscosidade de Pico – $V_P$	0,967 (*)
Viscosidade de retenção – $V_R$	0,959 (*)
Viscosidade final – $V_F$	0,938 (*)

(\*)estatisticamente significativo ( $P < 0,001$ )

#### 4.5 Interpretação da evolução da viscosidade em condições simuladas de processamento térmico no RVA

Cinco diferentes MPPs foram utilizados neste estudo, sendo dois de origem de leite (leite em pó desnatado e concentrado protéico de leite) e três de origem de soro (soro em pó, soro em pó desmineralizado e concentrado protéico de soro). O fenômeno observado da evolução da viscosidade durante e após o tratamento térmico, pode estar condicionado à composição qualitativa e quantitativa das porções protéicas dos produtos lácteos.

As características estruturais das proteínas em alimentos são afetadas por suas interações com água por meio de ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Assim, quando há maior proporção e ou exposição de aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas, as proteínas apresentam menor capacidade de hidratação do que quando é composta por aminoácidos com cadeias laterais hidrofílicas, que podem formar mais facilmente ligações de hidrogênio com a água (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). Contudo, a água passa a apresentar menor mobilidade, pela exposição de grupos hidrofóbicos, com o aumento da viscosidade. Dessa forma, as interações proteína-água afetam a estabilidade das moléculas e agrupamentos protéicos, como as micelas de caseína e as funcionalidades das proteínas em matérias-primas e produtos alimentícios (DAMODARAN, 2010).

As interações de vários grupos reativos, como tiol ou as porções hidrofóbicas expostas na superfície das moléculas de proteína, conduzem a formação de ligações intermoleculares covalentes ou não covalentes, que resultam em agregações

protéica e/ou polimerização. Essas mudanças moleculares alteram as características funcionais das proteínas, como hidratação, solubilidade, viscosidade de soluções, formação de filmes, gelificação e adsorção na interface entre as fases aquosas e lipídicas (DAMODARAN, 2010).

O aumento rápido e expressivo da viscosidade das soluções dos MPPs durante o aquecimento no RVA, obtendo muitas vezes inclinações acentuadas de viscosidade, pode ser explicado em relação à desnaturação das soroproteínas por serem consideradas como mudanças de cooperação: a ruptura de algumas das ligações no interior da molécula faz com que o restante dos enlaces se tornem menos estáveis e muitos se rompem simultaneamente. Isto explica porque a desnaturação ocorre em uma faixa muito estreita de temperatura e concentração (WALSTRA *et al.* 2001).

Neste estudo, é possível inferir que os aumentos de viscosidade observados nas diferentes simulações de processamento térmico não tiveram contribuição direta da desnaturação das moléculas de caseína, pois estas quase não possuem estruturas secundárias ou terciárias. Conforme descrito por Walstra *et al.* (2001), as caseínas não se insolubilizam por aquecimentos a temperaturas inferiores a 100°C, somente ocorrendo em temperaturas mais altas. Desta forma, pode-se atribuir o aumento da viscosidade das soluções de MPPs durante o processamento à desnaturação térmica das soroproteínas e suas associações com as micelas de caseína.

Um comportamento freqüente em muitas simulações avaliadas foi  $V_P > V_R$ , ou seja, as médias das viscosidades de pico foram maiores que as médias das viscosidades de retenção. Podemos atribuir esta perda de viscosidade a dois fatores. O primeiro é o estresse físico ao qual as soluções são submetidas durante todo o tempo de análise ( $15,7 \text{ rad.s}^{-1}$ ), fazendo com que a estrutura protéica tenha perda de parte da sua capacidade de interação com água devido à energia mecânica aplicada e o fluxo de produto dentro da cuba de aquecimento. O segundo está relacionado à agregação de  $\beta$ -LG e também formação de agregados de  $\beta$ -LG/ $\alpha$ -LA que ocorrerão a uma taxa associada ao tempo de exposição à alta temperatura. Durante o tempo de retenção, as soroproteínas estarão se desdobrando em um curto período de tempo, apresentando assim mais oportunidade para os monômeros

de  $\beta$ -LG desdobrados se auto-agregarem (OLDFIELD *et al.*,1998b), e desta forma diminuindo a interação com a água, diminuindo assim a viscosidade da solução.

Durante a etapa de resfriamento, outro efeito comum a diferentes ensaios foi o aumento substancial da viscosidade até a temperatura final de 30°C. O aumento da viscosidade das soluções protéicas durante o resfriamento é um comportamento atribuído não somente à diminuição da mobilidade molecular devido à diminuição da energia do sistema, mas também às associações das soroproteínas as superfícies das micelas de caseína durante o processamento térmico, modificando as características das mesmas, formando estruturas maiores e mais hidrofílicas, sendo capazes de influenciar na funcionalidade de alguns produtos lácteos protéicos (SINGH, 2009).

#### 4.6 Planejamento fatorial Box-Behnken 3<sup>3</sup> para o WPC

O planejamento fatorial Box-Behnken 3<sup>3</sup> foi realizado nas condições simuladas com o WPC em RVA e a TABELA 52 apresenta a matriz de planejamento, e os resultados.

TABELA 52 Matriz de planejamento para o Box-Behnken 3<sup>3</sup> e resultados de viscosidades finais -  $V_F$  (mPa.s)

Experimento	Tempo	Temperatura	Concentração	Viscosidade final (mPa.s)
1	-1	-1	0	150
2	1	-1	0	669
3	-1	1	0	3119
4	1	1	0	4380
5	-1	0	-1	1827
6	1	0	-1	2198
7	-1	0	1	8293
8	1	0	1	2752
9	0	-1	-1	29
10	0	1	-1	2139
11	0	-1	1	932
12	0	1	1	8578
13	0	0	0	3180
14	0	0	0	3188
15	0	0	0	2595

Tempo (minutos): (-1) 5; (0) 15; (+1) 30; Temperatura (°C): (-1) 65; (0) 85; (+1) 95;

Concentração (g.g<sup>-1</sup>): (-1) 0,2; (0) 0,3; (+1) 0,4

Analisando os resultados na TABELA 52, verifica-se que o maior valor de  $V_F$  obtido (8578 mPa.s) foi na condição de 0,4 g.g<sup>-1</sup> a 95°C por 15 minutos e a menor  $V_F$  (29 mPa.s) em 0,2 g.g<sup>-1</sup> a 65°C por 15 minutos. Estes resultados demonstram a influência destas três variáveis na desnaturação térmica das soroproteínas do WPC. Uma  $V_F$  de 8293 mPa.s próxima a máxima obtida na condição anterior, foi na condição de 0,4 g.g<sup>-1</sup> a 85°C por 5 minutos, mostrando que é possível otimizar a aplicação de energia, e manter um resultado final equivalente dentro do aspecto da viscosidade desejada.

Análise de regressão por superfície de resposta para viscosidade final foi realizada usando o modelo quadrático completo. Os estimadores dos parâmetros populacionais do modelo foram calculados pelo método dos mínimos quadrados. As matrizes  $X$  e  $Y$  usadas para determinação dos estimadores estão apresentadas abaixo.

$$X = \begin{matrix} M & X_1 & X_2 & X_3 & X_1^2 & X_2^2 & X_3^2 & X_{12} & X_{13} & X_{23} \\ \begin{pmatrix} +1 & -1 & -1 & 0 & +1 & +1 & 0 & +1 & 0 & 0 \\ +1 & +1 & -1 & 0 & +1 & +1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ +1 & -1 & +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & -1 & 0 & 0 \\ +1 & +1 & +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & +1 & 0 & 0 \\ +1 & -1 & 0 & -1 & +1 & 0 & +1 & 0 & +1 & 0 \\ +1 & +1 & 0 & -1 & +1 & 0 & +1 & 0 & -1 & 0 \\ +1 & -1 & 0 & +1 & +1 & 0 & +1 & 0 & -1 & 0 \\ +1 & +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & +1 & 0 & +1 & 0 \\ +1 & 0 & -1 & -1 & 0 & +1 & +1 & 0 & 0 & +1 \\ +1 & 0 & +1 & -1 & 0 & +1 & +1 & 0 & 0 & -1 \\ +1 & 0 & -1 & +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & 0 & -1 \\ +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & +1 & +1 & 0 & 0 & +1 \\ +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ +1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \end{matrix} \quad Y = \begin{matrix} V_F \\ \begin{pmatrix} 150 \\ 669 \\ 3119 \\ 4380 \\ 1827 \\ 2198 \\ 8293 \\ 2752 \\ 29 \\ 2139 \\ 932 \\ 8578 \\ 3180 \\ 3188 \\ 2595 \end{pmatrix} \end{matrix}$$

onde:

$X_1$  é o fator tempo;

$X_2$  é o fator temperatura ;

$X_3$  é o fator concentração;

- $X_1^2$  é o parâmetro quadrático para tempo;  
 $X_2^2$  é o parâmetro quadrático para temperatura;  
 $X_3^2$  é o parâmetro quadrático para concentração;  
 $X_{12}$  é a interação tempo com temperatura;  
 $X_{13}$  é a interação tempo com concentração;  
 $X_{23}$  é a interação temperatura com concentração.

A TABELA 53 mostra os valores calculados para os coeficientes e  $p$ -valores para o modelo ajustado. Usando um nível de significância de 4%, é considerado que um fator afeta a resposta se os coeficientes diferirem de zero ou o  $p$ -valor for menor que 0,04 (RAGONESE *et al.*, 2002).

TABELA 53 Estimadores do modelo viscosidade final -  $V_F$

Termo	Viscosidade Final - $V_F$		
	Coeficiente	Erro padrão ( $\pm$ )	$p$ -valor
Constante	$2,99 \times 10^3$	$1,96 \times 10^2$	$4,29 \times 10^{-3}$
Tempo	$-4,24 \times 10^2$	$1,20 \times 10^2$	$7,19 \times 10^{-2}$
Temperatura	$2,05 \times 10^3$	$1,20 \times 10^2$	$3,41 \times 10^{-3}$
Concentração	$1,80 \times 10^3$	$1,20 \times 10^2$	$4,46 \times 10^{-3}$
Tempo x Tempo	$-3,01 \times 10^1$	$1,77 \times 10^2$	$8,81 \times 10^{-1}$
Temperatura x Temperatura	$-8,78 \times 10^2$	$1,77 \times 10^2$	$3,83 \times 10^{-2}$
Concentração x Concentração	$8,10 \times 10^2$	$1,77 \times 10^2$	$4,46 \times 10^{-2}$
Tempo x Temperatura	$1,86 \times 10^2$	$1,70 \times 10^2$	$3,89 \times 10^{-1}$
Tempo x Concentração	$-1,48 \times 10^3$	$1,70 \times 10^2$	$1,30 \times 10^{-2}$
Temperatura x Concentração	$1,38 \times 10^3$	$1,70 \times 10^2$	$1,48 \times 10^{-2}$

Os resultados apresentados na TABELA 53 mostram que os termos: temperatura, concentração, temperatura x temperatura, tempo x concentração e temperatura x concentração são significativos para  $V_F$  em um nível de 96% de confiança. Sendo assim, todas as variáveis afetam os resultados de viscosidade final.

O ajuste do modelo foi avaliado através de análise de variância (ANOVA). O modelo de regressão ajustado não apresenta falta de ajuste no nível de confiança de 96%, uma vez o p-valor foi de 0,046 valor para razão entre a média quadrática devido à falta de ajuste e a média quadrática devido ao erro puro com três e dois graus de liberdade, respectivamente. Assim foi possível obter nove superfícies de resposta para o modelo viscosidade final, representadas nas FIGURAS 44, 45 e 46.

É possível observar que os mais altos valores de viscosidade final apresentam-se em diferentes regiões, dependendo da variável que se usa como constante.

Analisando os modelos com as concentrações de WPC constantes (FIGURAS 44A, 44B e 44C), no nível mais baixo de concentração ( $0,2 \text{ g.g}^{-1}$ ), os valores mais altos de  $V_F$  são obtidos na região de nível alto para o tempo e médio e alto para a temperatura (+1; 0, +1) (FIGURA 44A). No nível médio de concentração ( $0,3 \text{ g.g}^{-1}$ ), é possível obter os valores mais altos de  $V_F$  (FIGURA 44B) nos três níveis de tempo e no nível médio e alto para a temperatura (-1, 0, +1; 0, +1). Considerando o nível alto de concentração ( $0,4 \text{ g.g}^{-1}$ ), obtêm-se os valores mais altos de  $V_F$  (FIGURA 44C) na região de níveis negativo e positivo respectivamente para o tempo e a temperatura (-1; +1).

Análises similares podem ser feitas para os modelos com as temperaturas de processamento constantes (FIGURAS 45A, 45B e 45C). Nos três níveis de temperatura (65°C, 85°C e 95°C), os valores mais altos de  $V_F$  (FIGURAS 45A, 45B e 45C respectivamente) são obtidos nas regiões de níveis negativos para o tempo e positivos para a concentração (-1; +1). Assim como se observa nos modelos para as concentrações constantes, nestes modelos as  $V_F$  também apresentam tendência de incremento nos valores absolutos conforme se varia os níveis de temperatura do mais baixo (65°C) para o mais alto (95°C).

Nas três superfícies onde o tempo foi mantido constante (FIGURAS 46A, 46B e 46C), os valores mais altos de  $V_F$  são obtidos nas regiões de níveis positivos para a temperatura e a concentração (+1; +1). Nestes casos, observa-se uma tendência inversa do comportamento da  $V_F$  em relação aos modelos de temperatura constante. Um decréscimo nos valores absolutos das viscosidades finais ocorre conforme se varia os níveis de tempo do mais baixo (5 minutos) para o mais alto (30 minutos). Este comportamento pode ser atribuído a cinética de desnaturação das soroproteínas.

Nos níveis positivos de temperatura e concentração, a solução de WPC com  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  de base seca em água em uma condição de  $95^\circ\text{C}$ , apresenta grande efeito de desnaturação térmica das soroproteínas, devido à alta temperatura e alta concentração de proteínas. Dannenberg e Kessler, 1988 mostraram como a cinética de desnaturação térmica das soroproteínas possui efeito significativo nas temperaturas acima de  $90^\circ\text{C}$ , principalmente na  $\beta$ -LG e  $\alpha$ -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 (KINSELLA, 1982) aumentando assim a viscosidade. Entretanto, devido à ausência de outros tipos de proteínas como as caseínas, a auto-agregação de  $\beta$ -LG e agregados de  $\beta$ -LG/ $\alpha$ -LA ocorrerão a uma taxa associada ao tempo de exposição à alta temperatura. Desta forma, observa-se que este tipo de interação possui efeito negativo sobre o incremento de viscosidade. 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  $\beta$ -LG desdobrados se auto-agregarem (OLDFIELD *et al.*, 1998b), e desta forma uma diminuição da interação com a água é esperada.

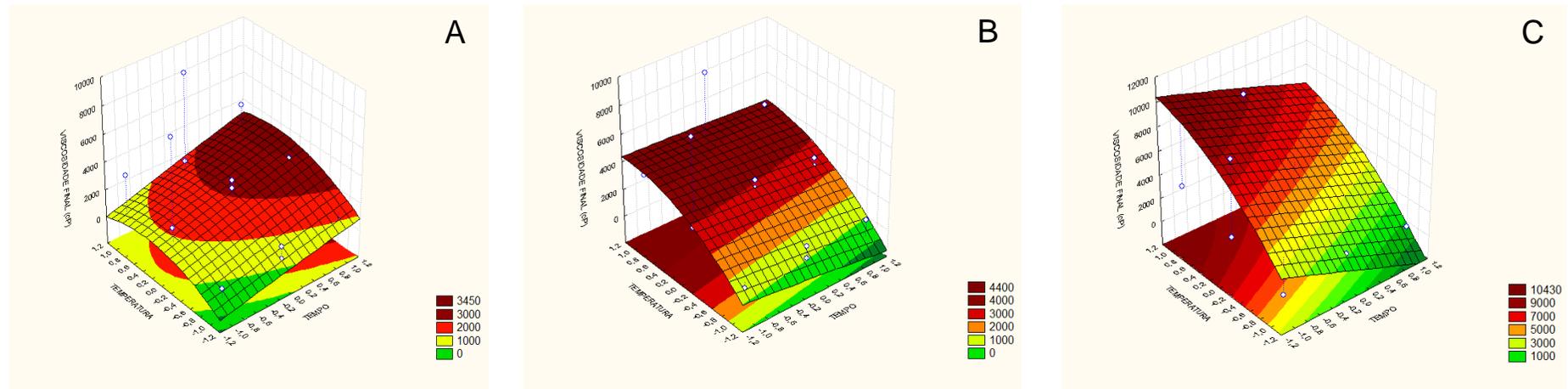


FIGURA 44 Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_F$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA : (A) concentração constante no nível -1 ( $0,2 \text{ g.g}^{-1}$ ), (B) concentração constante no nível 0 ( $0,3 \text{ g.g}^{-1}$ ) e (C) concentração constante no nível +1 ( $0,4 \text{ g.g}^{-1}$ )

$$-878,1*y^2+185,5*x*y-1478,*(-1)*x+1384,*(-1)*y-985,3$$

$$-878,1*y^2+185,5*x*y-1478,*0,*x+1384,*0,*y+0,$$

$$-878,1*y^2+185,5*x*y-1478,*1,*x+1384,*1,*y+2605,2$$

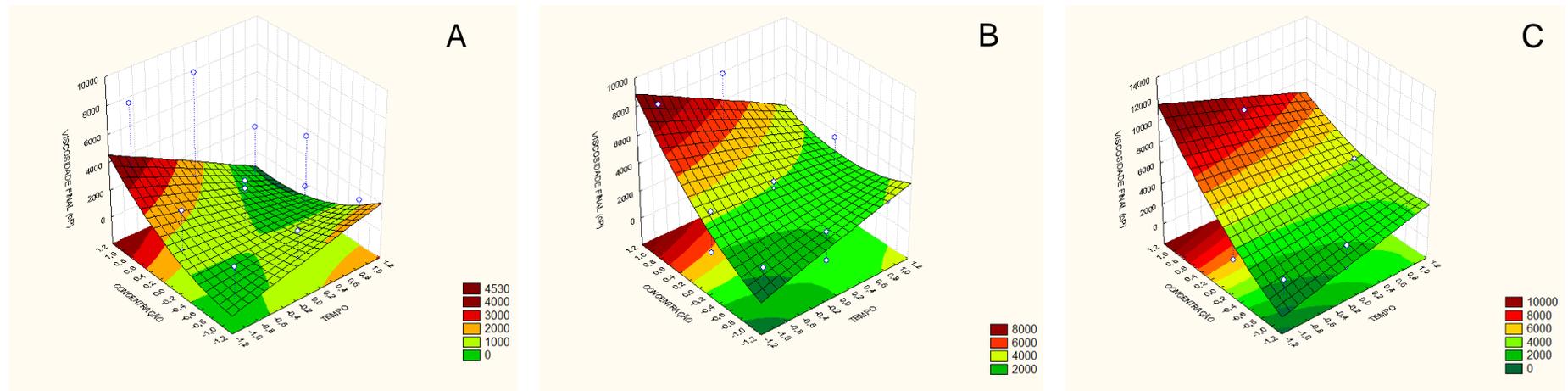


FIGURA 45 Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_F$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA : (A) temperatura constante no nível -1 (65°C), (B) temperatura constante no nível 0 (85°C) e (C) temperatura constante no nível +1 (95°C)

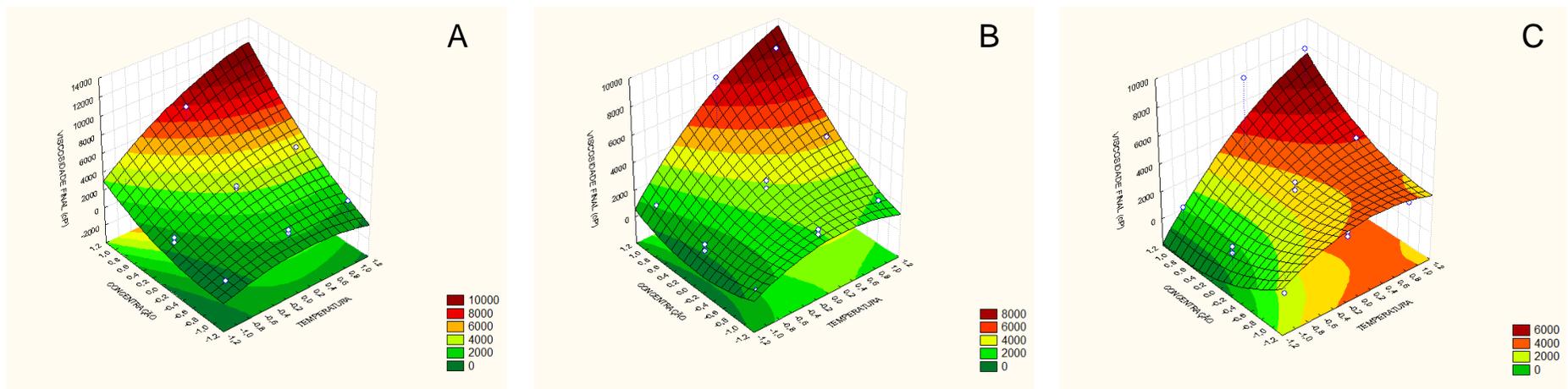


FIGURA 46 Superfícies de respostas obtidas para viscosidade final ( $V_F$ ) para as condições simuladas com WPC no RVA : (A) tempo constante no nível -1 (5 minutos), (B) tempo constante no nível 0 (15 minutos) e (C) tempo constante no nível +1 (30 minutos)

Um diagrama para a configuração das três variáveis de processamento para o WPC é apresentado na FIGURA 47, com o objetivo de otimizar a viscosidade final atribuída pelo WPC. Deve-se selecionar a coluna com a variável que não possui flexibilidade de configuração.

Diagrama de otimização dos parâmetros de processamento para o WPC80			Fator mantido constante								
			Concentração (g.g <sup>-1</sup> )			Temperatura (°C)			Tempo (minutos)		
			0,2	0,3	0,4	65	85	95	5	15	30
Fator a ser selecionado para a obtenção da máxima V <sub>F</sub>	Concentração (g.g <sup>-1</sup> )	0,2									
		0,3									
		0,4				○	○	○	○	○	○
	Temperatura (°C)	65									
		85	○	○							
		95	○	○	○				○	○	○
	Tempo (minutos)	5		○	○	○	○	○			
		15		○							
		30	○	○							
Incremento da Viscosidade Final – V <sub>F</sub> (mPa.s) no fator mantido constante			3450	4400	10000	4530	8000	10000	10000	8000	6000

FIGURA 47 Seleção da configuração do processamento para avaliação da viscosidade final atribuída ao uso de WP

#### 4.7 Análise de Componentes Principais (PCA)

Com o objetivo de obter uma análise exploratória por busca de padrões com todos os MPPs, os resultados dos três tipos de processamento térmico foram organizados em três diferentes matrizes, com os tratamentos (tipo de MPP e concentração) nas linhas e as médias das leituras de viscosidade de todo o perfil viscosográfico nas colunas.

Assim, obteve-se matriz 1 (24 x 375), matriz 2 (24 x 490) e matriz 3 (24 x 646) para o alto, o médio e o baixo tratamentos térmicos respectivamente, sendo “*número de tratamentos x número das médias de viscosidades lidas*”. Os ensaios foram identificados na ordem que estão apresentados na TABELA 54.

O uso da Análise de Componentes Principais tornou possível a avaliação conjunta de 9.000, 11.760 e 15.504 dados experimentais para o alto, o médio e o baixo tratamento térmico respectivamente. Esta coletânea de dados faz com que as informações fornecidas pelo PCA sejam expressivamente relevantes sob o ponto de vista analítico.

A FIGURA 48 mostra os escores de PCA dos dois primeiros componentes para o baixo tratamento térmico (matriz 3), que representam 98,44% da variação total dos dados. Com a projeção dos dois componentes principais, é possível observar a formação de diferentes grupos entre as amostras de MPPs.

No quadrante positivo para PC1 e PC2, observa-se que os ensaios 4, 23 e 24 estão em uma mesma região determinada pelo primeiro componente principal, o qual explica a maior variedade das amostras (85,16%). Respectivamente temos os ensaios 0,8 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca do SMP, 0,4 g.g<sup>-1</sup> e 0,45 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca do MPC<sub>2</sub>. Já no quadrante positivo para PC1 e negativo para PC2, vê-se as amostras 19 e 20 (0,3 g.g<sup>-1</sup> e 0,4 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca do WPC) na mesma região para PC2. O quadrante positivo para PC2 e negativo para PC1 apresenta os ensaios 21 e 22 (0,3 g.g<sup>-1</sup> e 0,35 g.g<sup>-1</sup> de base seca do MPC<sub>2</sub>) e no negativo para PC1 e PC2 todos os demais experimentos em um *cluster*.

TABELA 54 Identificação dos ensaios com os MPPs em RVA

Tipo do MPP	Concentração de matéria seca (g.g <sup>-1</sup> )	Identificação
Leite em pó desnatado – SMP	0,5	1
	0,6	2
	0,7	3
	0,8	4
Concentrado protéico de leite – MPC <sub>1</sub>	0,1	5
	0,12	6
	0,14	7
	0,16	8
Soro em pó – WP	0,5	9
	0,6	10
	0,7	11
	0,8	12
Soro em pó desmineralizado – DWP	0,5	13
	0,6	14
	0,7	15
	0,8	16
Concentrado protéico de soro - WPC	0,1	17
	0,2	18
	0,3	19
	0,4	20
Concentrado protéico de leite – MPC <sub>2</sub> (sem hidratação prévia)	0,3	21
	0,35	22
	0,40	23
	0,45	24

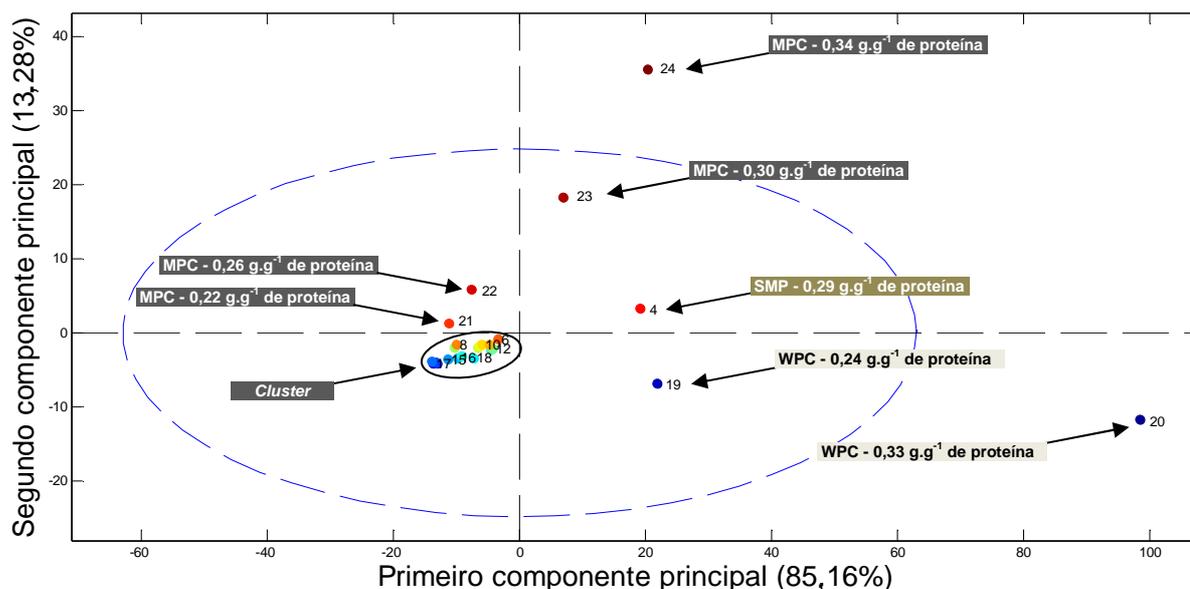


FIGURA 48 Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de baixo tratamento térmico (65°C por 30 minutos).

É possível ver na FIGURA 48 que o PC1 identificou a influência do baixo tratamento térmico nas soluções dos produtos com teor protéico mais alto e o PC2 diferenciou a influência deste tratamento térmico quanto à origem dos MPPs (leite ou soro), exceto para aqueles envolvidos no cluster, devido à baixa concentração protéica. O teor protéico de separação no PC1 para os MPPs de origem de leite (quadrante superior direito do gráfico) foi 0,29 g.g<sup>-1</sup> de proteína para o SMP e 0,30 g.g<sup>-1</sup> de proteína para o MPC<sub>2</sub>, valores próximos se considerarmos a diferença de concentração da matéria seca do ensaio 4 (0,8 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca do SMP) e 23 (0,3 g.g<sup>-1</sup> de matéria seca do MPC<sub>2</sub>). Para os de origem de soro, o teor de separação no PC1 foi 0,24 g.g<sup>-1</sup> de proteína do WPC, indicando a maior influência do baixo tratamento térmico sobre os componentes do WPC em relação ao SMP e MPC<sub>2</sub>. Os ensaios 4, 19 e 24 estão na mesma região de PC1, indicando similaridade nas características viscográficas dos mesmos, sendo estes SMP, WPC e MPC<sub>2</sub> respectivamente.

A FIGURA 49 mostra os escores de PCA dos dois primeiros componentes para o médio tratamento térmico (matriz 2), que representam 95,24% da variação

total dos dados. Com a projeção dos dois componentes principais, também é possível observar a formação de diferentes grupos entre as amostras de MPPs.

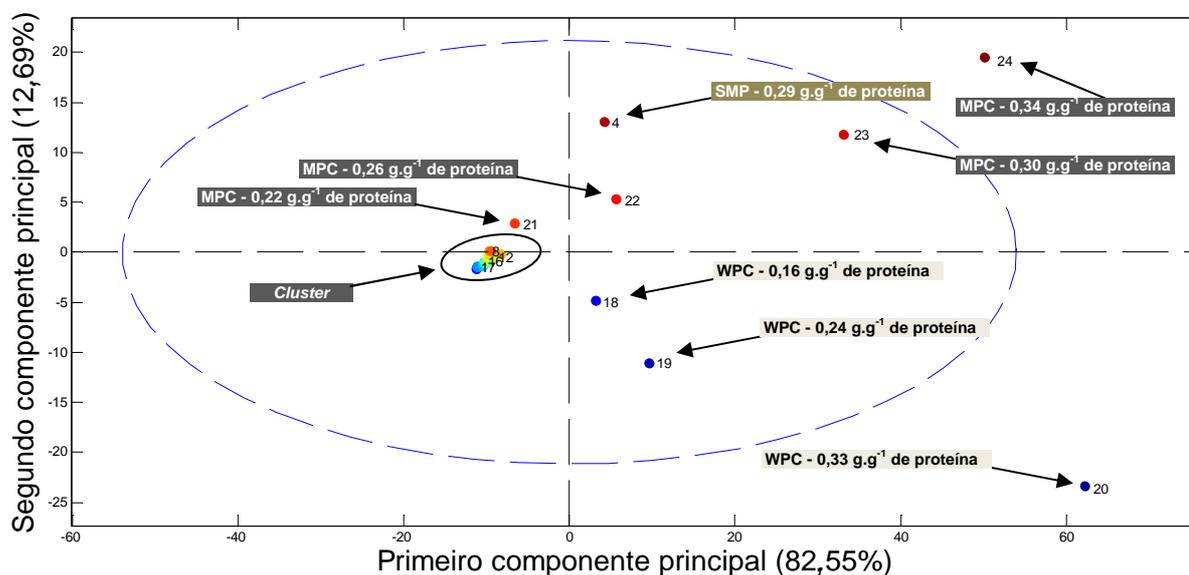


FIGURA 49 Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de médio tratamento térmico (85°C por 15 minutos).

Para o médio tratamento térmico, no quadrante positivo para PC1 e PC2, observa-se que além dos ensaios 4, 23 e 24 que já estavam para o baixo tratamento térmico, o ensaio 22 também passa a se apresentar na mesma região determinada pelo primeiro componente principal para o SMP a  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca. Observa-se também, o deslocamento dos experimentos 23 e 24 para o lado direito deste quadrante, deixando clara a influência do médio tratamento térmico no MPC<sub>2</sub> à concentração de  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,45 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca. Já no quadrante positivo para PC1 e negativo para PC2, vê-se também a inserção de mais um ensaio (número 18, WPC  $0,16 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca), além do 19 e 20 ( $0,3 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do WPC), em regiões diferentes para PC2. O quadrante positivo para PC2 e negativo para PC1 apresenta apenas o ensaio 21 ( $0,3 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seco do MPC<sub>2</sub>) e no negativo para PC1 e PC2 todos os demais ensaios em um *cluster*.

É possível ver na FIGURA 49 que o PC1 continuou identificando a influência do tratamento térmico nas soluções dos produtos com teor protéico mais alto e o

PC2 diferenciando a influência deste tratamento térmico quanto à origem dos MPPs (leite ou soro), exceto para aqueles envolvidos no cluster, devido à baixa concentração protéica. O teor protéico de separação no PC1 para os MPPs de origem de leite (quadrante superior direito do gráfico) foi  $0,29 \text{ g.g}^{-1}$  de proteína do SMP e  $0,26 \text{ g.g}^{-1}$  de proteína para o MPC<sub>2</sub>, indicando que o MPC<sub>2</sub> apresenta maior influência do médio tratamento térmico comparado ao SMP para as faixas de concentrações estudadas. Para os de origem de soro, o teor de separação no PC1 foi  $0,16 \text{ g.g}^{-1}$  de proteína do WPC, indicando a maior influência do médio tratamento térmico sobre os componentes do produto em relação ao baixo processamento térmico. Este três ensaios estão na mesma região de PC1, indicando similaridade nas características viscográficas dos mesmos.

A FIGURA 50 mostra os escores de PCA dos dois primeiros componentes para o médio tratamento térmico (matriz 1), que representam 94,59% da variação total dos dados. Com a projeção dos dois componentes principais, é possível observar a formação de diferentes grupos entre as amostras de MPPs.

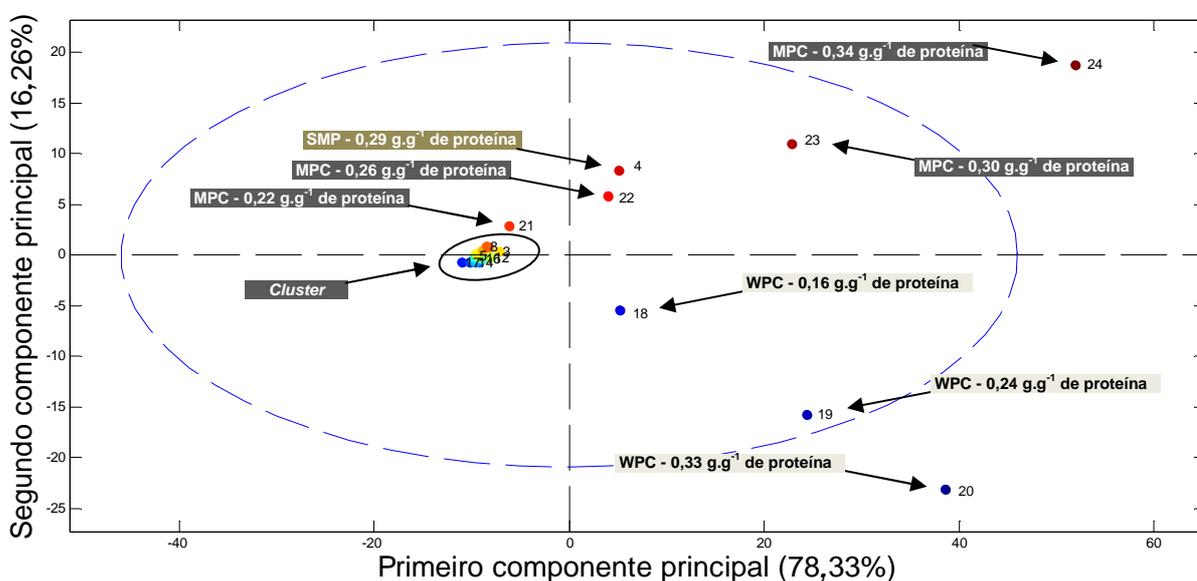


FIGURA 50 Gráfico de escores para PC1 vs. PC2 no processamento de alto tratamento térmico (95°C por 5 minutos).

A disposição dos ensaios no gráfico de escores para o alto tratamento térmico não diferencia muito em relação ao de médio tratamento térmico. No entanto, é possível notar similaridade entre os ensaios 4, 22 e 18 (respectivamente  $0,8 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do SMP,  $0,35 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do MPC<sub>2</sub>, e  $0,2 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do WPC) , e também dos ensaios 23 e 19 ( $0,4 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do MPC<sub>2</sub> e  $0,3 \text{ g.g}^{-1}$  de matéria seca do WPC) no PC1.

É possível ver na FIGURA 50 que o PC1 continuou identificando a influência do tratamento térmico nas soluções dos produtos com teor protéico mais alto, determinando inclusive similaridade da evolução da viscosidade entre o SMP, MPC e WPC nas concentrações de  $0,29 \text{ g.g}^{-1}$ ,  $0,26 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,16 \text{ g.g}^{-1}$  de proteína respectivamente, além do MPC e WPC a  $0,30 \text{ g.g}^{-1}$  e  $0,24 \text{ g.g}^{-1}$  de proteínas também para PC1.

Os produtos que foram dispostos no *cluster*, não tiveram suas características de influência do tratamento térmico bem definidas, devido à baixa concentração protéica, indicando que este método de análise explica melhor os produtos de alto teor de proteína na solução, vide que as soluções do MPC<sub>1</sub> também estão associadas ao *cluster*.

Para os três processamentos térmicos, foi possível utilizar os gráficos de PCA para identificar se a origem do MPP era de leite ou de soro nas soluções de alto teor protéico. Foi possível também observar as similaridades das influências dos tratamentos térmicos na evolução da viscosidade, nas soluções dos SMP, MPC<sub>2</sub> e WPC, tornando possível determinar a concentração protéica necessária para a obtenção da mesma evolução de viscosidade entre as soluções destes produtos.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nas condições empregadas neste trabalho e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- os teores de matéria seca e de proteína contribuíram para o aumento de viscosidade das soluções dos MPPs, quando submetidas ao processamento térmico;
- as variáveis tempo e temperatura do processamento térmico influenciaram os perfis viscográficos, as viscosidades de pico, retenção e final das soluções dos MPPs;
- os perfis viscográficos dos MPPs mostraram-se adequados para revelar as características de funcionalidade durante e após o tratamento térmico;
- a análise de componentes principais dos perfis viscográficos durante o processamento térmico das soluções permitiram demonstrar se o MPP era originado de leite ou de soro; e
- o RVA mostrou-se conveniente para a simulação dos processamentos térmicos das soluções dos MPPs.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAS

O presente trabalho proporcionou uma nova perspectiva, pelo seu caráter pioneiro, ao utilizar o Analisador Rápido de Viscosidade como simulador de tratamento térmico para produtos lácteos protéicos, visto que poucas ferramentas analíticas estão disponíveis para a compreensão dos efeitos do processamento sobre estes ingredientes amplamente empregados pelas indústrias de alimentos.

A adequação do Analisador Rápido de Viscosidade para otimização e escolha correta dos produtos lácteos protéicos, separadamente e em diferentes combinações, visando aplicações tecnológicas no setor industrial, configura-se em uma valiosa aplicabilidade, por permitir o acompanhamento, em tempo real, do perfil viscográfico gerado pela desnaturação térmica das soroproteínas.

O trabalho revelou um olhar singular na forma de explorar as características de funcionalidades dos produtos lácteos protéicos de diferentes origens, tendo aqueles de maior expressão avaliados nas configurações de processamentos térmicos mais usuais na indústria nacional.

Este estudo abre caminhos para que os efeitos de variáveis como pH, diferentes gradientes de aquecimento e resfriamento, sistemas combinados de MPPs e tempo de hidratação possam ser examinados em trabalhos futuros.

A simulação de tratamentos térmicos em produtos lácteos protéicos também aponta para a necessidade de investigar e interpretar os aspectos termodinâmicos e os diferentes tipos de interações intermoleculares que ocorrem durante o processamento térmico, como as interações hidrofóbicas.

Tendo em vista que as abordagens do presente estudo e seus desdobramentos ocorrem em uma linha de pesquisa ainda incipiente, o desenvolvimento deste projeto é um estímulo ao fortalecimento de um grupo de trabalho interinstitucional e multidisciplinar, em que diferentes abordagens, modelos e fundamentos contribuam para a compreensão dos fenômenos relacionados às funcionalidades dos produtos lácteos protéicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BARKER, M.; RAYENS, W. Partial least squares for discrimination. *J. Chemometrics*, v.17, p. 66 – 173, 2003.

BHASKAR, G.V.; SINGH, H.; BLAZEY, N.D. **Milk protein concentrate products and process**. *International Patent Specification WO01/41578*, Palmerston North, New Zealand, New Zealand Dairy Research Institute, 2001.

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.

BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry, *Analyst*, v.125, p.2125 – 2154, 2000.

BRERETON, R.G. **Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant**. University of Bristol, UK: Wiley, 2003.

CARR, A. J. Milk protein concentrate products and uses thereof. *International Patent Specification WO02/196208A2*, Wellington, New Zealand, New Zealand Dairy Research Institute, 2002.

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

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

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.

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.

FARRELL JR., H. M. et al. Nomenclature of the proteins of cow's milk - sixth revision. *Journal of Dairy Science*, v.87, n.6, 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. **Food Chemistry**. 3 ed. New York: Marcel Dekker, 1997.

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.

FURTADO, M.A.M. Utilização de proteínas do leite como ingrediente. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, MG, v. 54, n. 316, p.11-16, 2000.

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.

HAMBLING, S.G.; MCALPINE, A. S.; SAWYER, L.  $\beta$ -Lactoglobulin. In: FOX, P.F. **Advanced Dairy chemistry**. 2.ed. Barking, Essex: Elsevier Applied Science, 1992. v.1, p.141-190.

HARDING, S. E. The intrinsic viscosity of biological macromolecules. Progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, Elmsford, v. 68, n. 2-3, p. 207–262, Sept. 1997.

HOBMAN, P.G. Ultrafiltration and manufacture of whey protein concentrates. In: ZADOW, J.G. **Whey and lactose processing**. London: Elsevier Applied Science, 1992. p.195-230.

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.

LARSON, B.L.; ROLLERI, G.D. Heat denaturation of the specific serum proteins in milk. *Journal of Dairy Science*, v. 38, p. 351-360, 1955.

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.

MASSART, D.L.; VANDEGINSTE, B.G.M.; BUYDENS, S.J.; LEWI, P.J.; SMEYERS-VERBEKE, J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Parte B**, Elsevier, Amsterdam, 1997.

MCKENNA, A.B.. **Effect of processing and storage on reconstitution properties of whole milk and ultrafiltered skim milk powders**. 2000. Tese de PhD – Massey University, Palmerston North, New Zealand.

METZGER, L. Nonstarch applications: Cheese meltability and simulated processing. In: CROSBIE, G. B.; ROSS, A. S., eds. **The RVA Handbook**. United States of America: AACC International, 2007. cap. 9, p113-118.

MOSQUIM, M.C.A. **Fabricando Sorvetes com Qualidade**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1999.

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.

NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E.. **Como Fazer Experimentos**. 3ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 2007.

O'CONNEL, J.E.; FOX, P.F. Heat induced coagulations of milk. In: FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry**. 3.ed. New York, Kluwer: Academic/Plenum Publisher, 2003. v.1, p.879-930.

ORDÓÑEZ, J.A.P.; CAMBERO, M.I.R.; FERNÁNDEZ, L.A.; et al. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v.1, 2005. 294p.

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  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -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.

OTTO, M. **Chemometrics - Statistics and Computer application in Analytical Chemistry**. Wiley: Weinheim, 1999.

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

RAGONESE, R.; MACKA, M.; HUNGHESE, J.; PETOEZ, P.; The use of the Box–Behnken experimental design in the optimisation and robustness testing of a capillary electrophoresis method for the analysis of ethambutol hydrochloride in a pharmaceutical formulation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, England, v. 27, n. 6, p.995-1007, mar. 2002

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.

SCHUCK, P.; PIOT, M.; MEJEAN, S.; LE GRAET, Y.; FAUQUANT, J.; BULE, G.; MABOUI, J. Spray drying of native phosphocaseinate obtained by membrane microfiltration. *Lait*, v.74, p.375-388, 1994.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SILVA, P.H.F. **Leite UHT**: fatores determinantes para sedimentação e gelificação. 2003. Lavras, 2003. 147p. Tese de Doutorado – Departamento de Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Lavras.

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  $\kappa$ -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.

SRILAORKUL, S.; OZIMEK, L.; OORAIKUL, B.; HADZIYEV, D.; WOLFE, F. Effect of ultrafiltration of skim milk on casein micelle size distribution in retentate, *J Dairy Sci*, v.74, p.50-57, 1991.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. 2.ed. East Lansing: Freeman Press, 1996.

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.