

UTILIZAÇÃO DO SORO COMO SUBSTRATO PARA PRODUÇÃO DE AGUARDENTE: ESTUDO CINÉTICO DA PRODUÇÃO DE ETANOL

Antusia dos Santos Barbosa

Mestranda da pos graduação da UFCG – Campina Grande - PB E-mail: antusiasb@hotmail.com

Eliane Rolim Florentino

Prof. D. Sc. do Departamento de Química – Universidade Estadual da Paraíba - UEPB E-mail: elianerf@yahoo.com.br

Isanna Menezes Florêncio

Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola – Universidade Federal de Campina Grande
E-mail: isannamenezes@hotmail.com

Alfredina dos Santos Araújo

Prof. D. Sc. do - UATA /CCTA - UFCG – Pombal – PB E-mail: alfredina@ccta.ufcg.edu.br

RESUMO - Dentre os subprodutos da indústria de laticínios, o soro de queijo é o constituinte de maior importância, seja pelo volume gerado, sejam pela capacidade poluente do mesmo, que lançado em corpos receptores pode causar graves problemas ambientais. Aproximadamente, entre 75% e 85% do volume de leite destinado à fabricação de queijos resulta em soro. O soro de queijo contém metade do extrato seco do leite, representado por lactose, proteínas solúveis e sais. A grande quantidade de soro produzida nas queijarias gera uma preocupação com relação ao meio ambiente, pois cada litro de soro lançado em um corpo receptor ocasiona uma Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em torno de 60.000 mg/L. A conversão do soro de queijo em etanol pode ser mais uma alternativa para a disposição do mesmo, pois além de se obter uma redução na DQO é possível se obter um insumo importante que é o etanol. A obtenção do etanol através da fermentação tem como substrato o soro de queijo desidratado. Utiliza-se neste trabalho a levedura *Saccharomyces cerevisiae* em diferentes condições de cultivo, levando-se em conta a quantidade de inóculo, de sacarose, o pH e temperatura de fermentação.

Palavras-chave: fermentação, soro de queijo, etanol, lactose.

EL USO DE SUERO COMO SUSTRATO PARA LA PRODUCCIÓN DE AGUARDIENTE: ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL

RESUMEN - Entre los subproductos de la industria láctea, el suero es el componente más importante, es generado por el volumen, es la capacidad de contaminar el mismo, que se lanzó en la recepción de las aguas pueden causar graves problemas ambientales. Aproximadamente, entre el 75% y el 85% del volumen de leche para la fabricación de los resultados de queso en el suero. El suero contiene la mitad de los sólidos de leche, representado por la lactosa, proteínas solubles y sales. La gran cantidad de suero de leche producida en el queso se plantea una preocupación por el medio ambiente, ya que cada litro de solución de reparto en un cuerpo de agua receptor causa una Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) alrededor de 60.000 mg / L. La conversión de suero de queso en el etanol puede ser una alternativa útil para la prestación de que debido a que además de lograr una reducción de DQO es posible obtener un componente importante que es el etanol. La producción de etanol por fermentación es el sustrato de suero de leche seca. Se utiliza en este estudio la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en diferentes condiciones de cultivo, teniendo en cuenta la cantidad de inóculo, sacarosa, el pH y la temperatura de fermentación.

Palabras llave: fermentación, suero de queso, etanol, lactosa.

USE OF SERUM AS A SUBSTRATE FOR PRODUCTION OF MARC: KINETIC STUDY OF THE PRODUCTION OF ETHANOL

ABSTRACT - Among the byproducts of the dairy industry, the whey is the most important constituent, is generated by volume, is the capacity to pollute the same, which launched in receiving waters can cause severe environmental problems. Approximately, between 75% and 85% of the volume of milk for the manufacture of cheese results in serum. The whey contains half of the milk solids, represented by lactose, soluble proteins and salts. The large amount of whey produced in cheese raises a concern for the environment, as each liter of solution cast into a receiving water body causes

a Biochemical Oxygen Demand (BOD) around 60,000 mg / L. Conversion of cheese whey into ethanol may be a useful alternative for the provision of that because in addition to achieving a reduction in COD is possible to obtain an important component that is ethanol. The production of ethanol by fermentation is the substrate of dried whey. It is used in this study the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in different growing conditions, taking into account the amount of inoculum, sucrose, pH and temperature of fermentation.

Keywords: fermentation, cheese whey, ethanol, lactose

INTRODUÇÃO

A produção de queijo de coalho no Brasil é restrito à região Nordeste, em destaque aos estados da Paraíba, Ceará, Rio Grande do Norte e Pernambuco, onde o produto é tradicional e, portanto bastante consumido (LEITE JÚNIOR *et al.*, 2000). Sua produção rural tem participação considerável na economia, colocando-se como extremamente expressiva na formação de renda dos produtores de leite.

Um subproduto resultante da fabricação do queijo é o soro de queijo, tecnicamente chamado de “lactossoro”, contém, aproximadamente, uma boa parte dos sólidos presentes no leite também é uma mistura de proteínas, lactose, sais minerais e contém uma pequena quantidade de gordura do leite. Contém aminoácidos facilmente digeríveis, ricos também em vitaminas, tais como: tiamina, riboflavina, vitamina B₆ e B₁₂ e ácido pantotênico. (BEHMER, 1991; DALLAS, 1999; USDEC, 2002). Além das propriedades nutricionais, o soro apresenta proteínas com importantes propriedades funcionais como: emulsificante, espumante e gelificante, tornando-o ingrediente de alto valor tecnológico no empregam em produtos lácteos e alimentícios diversos (ROSENBERG, 1995).

O soro de queijo é um subproduto de importância relevante, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional. Em média a fabricação de 1 kg de queijo necessita de 10 L de leite e fornece 9 L de soro, considerando que a produção de queijos no Brasil está em torno de 450 mil toneladas por ano tem-se o equivalente a 4.050 mil toneladas de soro de queijo sendo produzidos no país. (COSTA, 1995; SANTOS & FERREIRA, 2001; RICHARDS, 2002).

Segundo COSTA (1995), SANTOS & FERREIRA (2001) e RICHARDS (2002) Citado por FLORENTINO (2006), O soro contém em sua composição média, 6,9% de sólidos totais, 0,6% de sais minerais, 0,3% de gordura, 0,9% de proteínas, 5,0% de lactose e 0,1% de ácido láctico resultante da fermentação da lactose. Dessa forma, esse volume equivale a aproximadamente 24.300 toneladas de sais minerais, 36.450 toneladas de proteínas, 12.150 toneladas de gordura e 202.500 toneladas de lactose, demonstrando que o problema relacionado a poluição é bem mais sério do que se imagina. O que significa que o descarte do soro sem um tratamento eficiente não é só um crime previsto por lei, mas é também rejeitar um alimento que possui alta qualidade nutricional.

O soro de queijo pode ser visto sob dois aspectos: como agente de poluição, se considerado produto descartável, pois a descarga de soro em cursos d'água pode provocar a destruição da flora e fauna devido à sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que é de 30.000 a 40.000 mg de oxigênio por litro de soro, este valor é aproximadamente 100 vezes maior que o de um esgoto doméstico. Ou pode ser considerado produto nobre pelo seu teor de proteínas solúveis, ricas em aminoácidos essenciais, pela presença de vitaminas do grupo B e pelo elevado teor de lactose e sais (NEVES, 1993).

Atualmente, a legislação ambiental vem se tornando cada vez mais rígida. As indústrias de laticínios procuram alternativas para aproveitamento do soro de queijo. Dentre as várias técnicas de aproveitamento do soro do queijo destaca-se como substrato para fermentação, sendo também matéria-prima bastante interessante na fabricação de vários produtos, entre eles a aguardente.

O termo “aguardente” é uma denominação comum a todas as bebidas em cujo processo de obtenção esteja incluído uma etapa de fermentação alcoólica e outra de destilação do fermentado. São bebidas fortes de fácil conservação, de uso geral e universal, com teores alcoólicos variando de 38 a 54°GL. Comercialmente é comum a graduação de 41°GL. Os gostos e aromas são diversos, assim como as matérias primas de que são obtidas, mas o efeito de seu uso é o mesmo (CARDOSO, 2001). Na fabricação de aguardente, a Paraíba ocupa um lugar privilegiado, com contínuo crescimento. É tanto mercado produtor como consumidor. O presente trabalho tem por finalidade pesquisar o soro de queijo na produção de aguardente, adaptável nas pequenas queijeiras paraibanas, adaptando-se a tecnologia de produção de etanol obtido do soro de queijo para produção artesanal de aguardente, minimizando ou eliminando o impacto ambiental causado e gerando diversificação produtiva da matéria prima, total aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática e aumento da fonte de renda para os pequenos produtores rurais.

A utilização do leite na alimentação humana é muito antiga sendo desconhecida à data em que o homem passou a beber o leite de algum animal selvagem. Mas acredita-se que o primeiro animal foi a ovelha, depois a cabra e posteriormente a vaca fora ordenhada para alimentar o homem (BEHMER, 1991).

O leite, alimento comum a quase todas as sociedades, é fonte de cálcio, micronutriente importante em todas as fases da vida, principalmente durante a

infância para mineralização e manutenção do crescimento ósseo (BEZERRA & TOLEDO, 1997; PHILIPPI; CRUZ; COLUCCI, 2003).

De acordo com BEHMER (1991) em circunstâncias naturais, é uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e gosto adocicado ou um produto secretado pelas glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos. Sua importância é de ser uma excelente fonte de minerais, entre os quais o cálcio, o fósforo, o magnésio e o zinco. Contém ainda proteínas de

elevada qualidade ou valor biológico (ricas em aminoácidos essenciais), por isso, podem ser mais facilmente absorvidas e vitaminas (principalmente A e do complexo B).

A composição do leite varia com a raça, alimentação, idade, período de lactação, época do ano e sistema de ordenha da vaca (BEHMER, 1991).

A composição média do leite de vaca está especificada na Tabela 1.

TABELA 1. Composição do leite de vaca em percentagens.

Componentes	Teores (%)
Água	87,50
Matéria Gorda	3,60
Caseína	3,00
Lactose	4,60
Albumina	0,60
Sais minerais	0,70

Fonte: BEHMER, 1991.

Em épocas pré-históricas, antes que o homem pudesse ler ou escrever, um legendário mercador viajante da Arábia, atravessando uma agreste seção montanhosa da Ásia, já cansado, depois de uma áspera subida sob sol causticante, fez uma pausa para restaurar suas forças e se alimentar. Tinha trazido como alimento tâmaras secas e, dentro de um cantil feito de estômago seco de carneiro, certa quantidade de leite de cabra. Mas, quando ele levou aos lábios o cantil para sorver o leite, somente um líquido fino e aquoso escorreu do seu interior. Curioso Kanana, o lendário viajante cortou o cantil e viu, para sua surpresa, que o leite tinha se transformado numa coalhada branca, não muito desagradável ao paladar de um homem faminto. O coalho existente no estômago parcialmente seco do carneiro havia coagulado o leite e o resultado dessa operação foi o QUEIJO. Isso se passou há milhares de anos. E, ainda hoje se faz o queijo exatamente de modo semelhante: coagulando o leite com coalho oriundo do estômago de bezerras. O queijo é um dos mais antigos alimentos preparados que a história da humanidade registra. A arte da fabricação de queijos tem seu início perdido num passado remotíssimo, milhares de anos antes do nascimento de Cristo. Os egípcios estão entre os primeiros povos que cuidaram do gado e tiveram, no leite e no queijo, fonte importante de sua alimentação (Valsechi, 2001).

De acordo com VALSECHI (2001), o queijo teve um desenvolvimento lógico e inevitável, pois era o único meio pelo qual os elementos nutritivos do leite podiam ser

preservados. Os antigos gregos reverenciaram o queijo como um alimento dos deuses. A fabricação de queijo na Grécia já era bem conhecida no tempo de Homero, embora o país, devido ao seu terreno montanhoso, não fosse abundante em terras de pastagens. Hipócrates em seus escritos refere-se ao queijo feito do leite de égua e, também, de leite de cabra, o que podia indicar que esses dois animais eram mais apropriados para viverem em terrenos montanhosos. Durante o reinado dos Césares, a fabricação de queijos e o desenvolvimento de laticínios estenderam-se rapidamente por toda a Europa e tornou-se uma importante indústria agrícola onde quer que se estendessem as pastagens abundantes. Roma, brilhante centro de civilização antiga, era um rico mercado para queijo. Nas pródigas e fartas mesas de banquetes dos dignitários romanos, o queijo estava invariavelmente presente e era considerado, uma rara e saborosa iguaria.

Embora alguns queijos fossem fabricados na Itália, a principal fonte de abastecimento era a Suíça onde a vegetação luxuriante das encostas dos Alpes forneceria abundante pastagem e, além do mais, havia a mais pura água de montanha. Assim nasceu um produto mundialmente famoso e uma indústria que, séculos mais tarde, rapidamente criou raízes e floresceu no novo mundo. (Valsechi, 2001)

Segundo a Portaria Nº 146 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por “queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do leite reconstituído (integral,

parcial ou totalmente desnatado), coagulados pela ação física do Coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas de ácidos orgânicos, isolados ou combinados todos de qualidade apta para uso alimentar, como ou sem agregação de substâncias alimentares e, ou especiarias e, ou condimentos, aditivos específicos indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

Queijo é o produto obtido pela coagulação do leite, seguida de uma desidratação da coalhada, podendo ser de massa fresca ou de massa maturada. O valor nutritivo do queijo o coloca entre os alimentos mais completos e recomendáveis para a dieta de um indivíduo, pois 19 apresentam alta concentração de proteínas, gordura, sais minerais e vitaminas. Comparando-o com a carne, seu valor nutritivo é semelhante, sendo que o do queijo é mais concentrado. Ele também favorece o fortalecimento dos dentes e ossos devido ao alto teor de cálcio e fósforo ANDRADE (2008).

Segundo ANDRADE (2008), Existe diversas maneiras de se classificar um queijo, entre elas apresentaremos três critérios de classificação:

- **Classificação quanto à maneira de obtenção da massa:**

Massa obtida por coalho: são aqueles queijos onde a precipitação da massa é obtida pela coagulação enzimática do leite. Entre eles temos o queijo prato, minas, parmesão, mussarela, etc.;

Massa obtida por fermentação ácida: a precipitação do leite é obtida pela fermentação ácida do leite, reduzindo o pH do mesmo até o ponto isoelétrico do leite quando então ocorre a precipitação, como o queijo Cottage-cheese;

Massa extraída do soro: a precipitação da massa é obtida pela aplicação do calor, ajudado pela adição de uma solução ácida, como o queijo Ricota;

Massa obtida por fusão: esta massa é obtida pela ação do calor com os sais fundentes, como os queijos fundidos ou pasteurizados.

- **Classificação quanto ao tratamento da massa:**

Massa crua: são os queijos cuja massa não sofre nenhum aquecimento, além daquele do leite para que se processe a coagulação;

Massa semicozida: são os queijos cuja massa sofre um aquecimento em torno de 41-42°C;

Massa cozida: são aqueles queijos cuja massa sofre um aquecimento superior a 45°C, podendo chegar a 51°C.

- **Classificação dos queijos quanto ao teor de gordura:**

Queijo gordo: teor de gordura superior a 40%;

Queijo meio gordo: teor de gordura entre 25 e 40%;

Queijo magro: teor de gordura entre 15 e 25%;

Queijo desnatado: teor de gordura inferior a 15%.

Queijo “tipo coalho”

O queijo “Tipo Coalho” é um produto típico do Sertão nordestino e tem lugar de destaque entre as iguarias da culinária da região. Produzido de forma artesanal por produtores rurais e pequenas empresas. Seu processo de fabricação é baseado na coagulação do leite, prensagem e na salga da massa. Para se obter um produto de qualidade não há necessidade de grandes investimentos em equipamentos, o que torna o queijo “Tipo Coalho” uma boa opção econômica para pequenos produtores. Embora simples, o processo vem sendo a cada dia aperfeiçoado nos cuidados com a qualidade do produto, para satisfação do consumidor. Os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco são considerados os maiores produtores do queijo de coalho. (ANDRADE, 2008).

A obtenção higiênica do leite é o primeiro ponto crítico no processo de fabricação de queijos e de outros derivados, uma vez que os microrganismos podem ser introduzidos no produto (SCHOLZ, 1997; LANGE & BRITO, 2003). Desta forma, a qualidade do produto final é influenciada pelas condições higiênico-sanitárias em que o leite foi obtido, pelo processamento na indústria, pelas condições de sanitização do ambiente, qualidade da água e pelo armazenamento e transporte da matéria-prima entre outros.

Soro de Queijo

Desconhece-se ao certo a data de início da fabricação de queijos, sendo que a mais antiga referência à produção deste precioso alimento parece ter sido a que Samuel fez na Bíblia, cerca de 3.000 anos a.C. No entanto, há vestígios do fabrico de queijos desde o homem pré-histórico, através de desenhos e instrumentos encontrados. Desde então, o soro como produto secundário, mostrou ser um problema de despejo (REBELO, 1983).

Na Idade Média, o soro era utilizado em drogas farmacêuticas como componente de ungüentos para queimaduras, como bálsamo para pele ou como porção neutralizante para cabelos, mas raramente era usado na alimentação humana (KOSIKOWSKI, 1979). O uso do soro teve grande evidência em meados do século XIX, na Europa Ocidental, com a criação de mais de 400 “casas de soro”. Por volta de 1940, na Europa Central, foi usado no tratamento de dispepsia, uremia, gota, anemia, artrite, doenças hepáticas e até tuberculose, quando se recomendava a ingestão de cerca de 1.500g/dia de soro (HOLSINGER *et al.*, 1974).

Em decorrência dos problemas enfrentados pelas indústrias para efetuarem o tratamento do soro como resíduo industrial, adequando-o às exigências dos órgãos de inspeção e saúde pública, começou na década de 60 os

testes de aproveitamento para o soro de queijo (KOSIKOWSKI, 1967; NELSON & BROWN, 1969).

O soro do leite, tecnicamente intitulado “lacto soro”, é um subproduto resultante da fabricação de queijo ou da extração da caseína. Segundo ABREU (2005), constitui a porção ou fase aquosa do leite, resultante da dessoragem do coágulo e pode ser caracterizado como um líquido amarelo-esverdeado, dependendo do tipo de queijo, pode possuir sabor ligeiramente ácido ou doce. Cerca de 85% a 95% do volume de leite utilizado na fabricação de queijos resultam em soro (10 litros de leite produzem, aproximadamente, 1 kg de queijo e 9 litros de soro), o qual contém aproximadamente metade dos sólidos do leite. Incluindo nessa proporção o melhor do leite como proteínas solúveis, nitrogênio não protéico, sais minerais, vitaminas e, principalmente, a lactose.

São constantes os esforços para aproveitamento de resíduos agroindustriais em todo mundo. Em particular, o soro do leite, pela abundância de produção, características nutricionais e elevada capacidade poluente, tem sido, há tempo, motivo de vários estudos (SILVA, 2000). Contudo se faz necessário o estudo de formas para conservá-lo e utilizá-lo minimizando problemas, tanto de ordem ambiental como nutricional, em benefício da fauna, flora, animais domésticos e do próprio homem, utilizando o soro como alimento de alto valor nutricional.

Segundo NEVES (1993), o soro de queijo recebe grande importância quando visto sob dois aspectos: como agente de poluição, se considerado produto descartável, pois a descarga de soro em cursos d'água pode provocar a destruição da flora e fauna devido à sua alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO), que é de 30.000 a 40.000 mg de O₂ por litro de soro. Ou pode ser considerado produto nobre pelo seu teor de proteínas solúveis, ricas em aminoácidos essenciais, pela presença de vitaminas do grupo B e pelo elevado teor de lactose e sais.

Através de vários processos, o soro pode ser seco e utilizado como alimento ou aditivo alimentar, ou pode ser convertido em produtos químicos, combustíveis e outros produtos através da fermentação. Um dos maiores obstáculos da utilização do soro é a grande quantidade de lactose presente, a qual contribui para sua baixa solubilidade, baixo poder adoçante e sua pobre

digestibilidade quando utilizado como alimento. A lactose também é pouco fermentável quando comparada a outros açúcares (YANG & OKOS citado por CARMINATTI, 2001).

O soro de queijo vem sendo utilizado principalmente como alimento animal na sua forma bruta ou processado em pó para a produção de biscoitos e alimentos lácteos (PONSANO *et al.*, 1995).

Outro setor que vem utilizando o soro de queijo como matéria-prima ou ingrediente é o setor lácteo, principalmente na produção de bebidas lácteas. Também tem sido por diferentes motivos, estudada por pesquisadores, sua conversão em bebidas, fermentada ou não, é uma das mais atrativas opções, seja pela simplicidade do processo, ou pela utilização de equipamentos do próprio beneficiamento do leite ou em função das propriedades funcionais da proteína do soro (ALMEIDA *et al.*, 2001).

O soro de queijo não só permite ao fabricante reduzir o custo total dos ingredientes como também apresentam a importante vantagem de possuir propriedades funcionais excepcionais, além de ser uma fonte concentrada de nutrientes lácteos, sobretudo proteínas de elevado valor nutricionais e cálcio.

Segundo (BURRINGTON, 2000; ALMEIDA *et al.*, 2001), bebidas lácteas à base de soro são de grande valor dietético, de fácil digestão. Leves e agradáveis para ser consumida. Iogurte e bebidas lácteas com excelente sabor são produzidos com o uso de soro desmineralizado ou soro concentrado. A concentração de ácido láctico, acetaldeído e diacetil (compostos associados ao *flavor* característico de iogurte e bebida láctea) e igual ou mais alta em amostras de iogurte ou bebida láctea no qual se utilizou soro concentrado para substituir parcialmente os sólidos de leite desnatado (HUGUNIM, 1999).

O soro do queijo apresenta em sua composição, pouca quantidade de gordura, compostas por ácidos graxos de baixo ponto de fusão (em torno de 29°C); proteínas hidrossolúveis dentre elas a α -Lactoalbumina e a β -Lactoglobulina, respectivamente com massas molares (MM) em torno de 14.000 e 18.000 Daltons; lactose; minerais e vitaminas hidrossolúveis (SGARBIERI, 1996).

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal média do soro do queijo, matéria prima utilizada no presente estudo.

TABELA 2. Composição centesimal do soro de queijo.

Componentes	Teores (%)
Água	93,39 $\pm$ 0,44
Extrato seco total (EST)	6,61 $\pm$ 0,44
Gordura	0,43 $\pm$ 0,19
Proteína	0,78 $\pm$ 0,25
Lactose	4,90 $\pm$ 0,11
Sais minerais	1,59 $\pm$ 0,02

Fonte: SERPA, 2005.

Aproximadamente cerca de 50% do soro mundialmente produzido já se encontra industrializado, sob a forma de bebidas fermentadas, sucos, aditivos para panificação, e utilização na produção animal, como complementos para leitões. Uma parcela é desidratada e comercializada como fonte energética e nutritiva sob a forma de pó, pois o mesmo retém aproximadamente 75% dos nutrientes do leite, além de ser responsável por uma parcela que varia entre 80 e 90% de sua composição total (ALMEIDA, *et al.*, 2001).

As proteínas do soro possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes de proteínas, tais como: ovos, leite, carne bovina e soja. O Índice de Eficiência de Proteínas (IEP) do soro é de 3,2. O IEP baseia-se numa escala que varia de 0 a 3,5 e que permite avaliar a qualidade das proteínas, ou seja, quanto mais elevado o valor IEP melhor a qualidade de proteína. Dessa forma, o IEP das proteínas do soro permite considerá-los como excelente do ponto de vista nutricional (SHAHID *et al.*, 1999). Os aminoácidos essenciais respondem por aproximadamente 60% do teor protéico total do soro, contendo níveis extraordinariamente elevados de leucina e lisina, além de constituir uma boa fonte de aminoácidos contendo enxofre, tais como: cisteína e metionina (BURRENTON, 2000).

Quase todos os aminoácidos presente no soro tipo doce superam as doses diárias mínimas de nutrientes recomendados pela organização mundial de saúde (OMS) e pela Food Agricultural Organization (FAO) tanto para crianças como para adultos (MING, 2000).

O uso de proteínas do soro como ingredientes em alimentos funcionais está aumentando, conforme têm aumentado a capacidade tecnológica da indústria para produzir concentrados de proteínas de soro, isolada de proteínas séricas totais. Até agora estes produtos têm sido comercializados como ingredientes com funções tecnológicas ou características nutritivas gerais (USDEC, 2002). Conhece-se desde muito tempo, as qualidades nutritivas das proteínas do soro, sendo consideradas atualmente como um dos componentes alimentícios mais adequados as dietas de culturistas de atletas que desejam aumentar sua massa muscular. Estão sendo realizados estudos sobre os efeitos fisiológicos específicos das proteínas do soro, em seu conjunto ou de proteínas individuais, para sua utilização como produtos funcionais na nutrição humana (USDEC, 2000).

Seus benefícios para a saúde fazem das proteínas do soro um dos mais importantes produtos no crescente mercado de ingredientes alimentares. Uma das razões para sua crescente participação neste mercado é sua excepcional capacidade de servir como veículo para cálcio, sendo que a interação proteína-mineral potencializa a biodisponibilidade não somente do cálcio, mas também do fósforo. Além disso, a combinação cálcio-proteína aumenta a solubilidade do cálcio, facilitando a manutenção deste mineral em solução. Outros fatores importantes para a utilização das proteínas do soro são suas propriedades funcionais, tais como: emulsificação,

alta solubilidade, gelificação, formação de espumas, capacidade de reter água e viscosidade. Proteínas do soro na sua forma original são estruturas globulares de cadeia. Sendo muito específicas quanto à sua solubilidade numa faixa de pH de 3,5 - 5,5 e também estáveis em processamento em alta temperatura. A desnaturação e pequena perda de solubilidade ocorrem quando as proteínas são submetidas à temperatura superiores a 60°C e uma solução com valores de pH de 4,6 - 6,0 (MING, 2000).

Assim, a extração/recuperação das proteínas do soro é alternativa tanto para minimizar os problemas causados pela inadequada disposição do soro, como para obter um aglomerado protéico que represente um alimento de baixo custo. O aproveitamento deste aglomerado protéico tem significativa aplicabilidade, sobretudo nas fazendas e queijeiras do Nordeste brasileiro como alimentação alternativa, bem como na sua utilização na substituição parcial ou total das proteínas da carne e dos derivados da soja, como ingredientes para substituir alimentos de alto valor calórico como maionese, margarina e molhos em geral e ainda em sobremesas, pães, bolos, biscoitos, sorvetes, além da ricota e seus derivados (FLORENTINO, 2006).

Existem vários métodos de separação das proteínas do soro. Atualmente a obtenção dessas proteínas realiza-se basicamente por tratamento térmico; separação por membranas e por precipitação.

A ultra filtração, a osmose inversa e a eletrólise têm sido cada vez mais utilizadas na indústria alimentícia de todo o mundo para a obtenção de proteínas *in natura*. Entretanto, esses processos são caros devido à alta tecnologia de suas membranas e as pressões altíssimas utilizadas em suas operações (RICHARDS, 2002).

Agentes floculantes, como polifosfato sódico, hexametáfosfatosódico, diversos sais férricos e diversos polieletrólitos são eficientes em termos de precipitação, porém impróprio para indústria alimentícia. O tratamento térmico é um procedimento simples e bastante utilizado. Consiste basicamente na combinação do calor e ajuste de pH até o ponto isoeletrico das proteínas através de um ácido orgânico (SINGH, 2004).

A identificação de alternativas para um adequado aproveitamento do soro de leite é de fundamental importância em função de sua qualidade nutricional, do seu volume e seu poder poluente. Dentre as alternativas podem ser citadas o uso do soro *in natura* para alimentação animal, fabricação de ricota, fabricação de bebida láctea, concentração, produção de soro em pó, separação das proteínas e lactose com posterior secagem, as quais constituem formas de valorização deste derivado láctico, ao mesmo tempo contribuindo para a melhoria do meio ambiente e proporcionando ganhos às indústrias (GIROTO & PAWLOWSKY, 2001).

A coagulação do soro pode ser realizada por acidificação direta com adição de um ácido orgânico ao soro aquecido. O fenômeno que ocorre na coagulação ácida é diferente daquele que ocorre na coagulação

enzimática. Sabe-se que as proteínas têm múltiplas cargas, as quais estão situadas ao longo da cadeia protéica. Assim, quando há excesso de um único tipo de carga, a proteína apresenta uma estrutura aberta devido, em parte à repulsão existente entre os sítios de uma mesma carga (LEMAN & KINSELLA, 1989). Por outro lado, quando o pH da solução envolvida se aproxima do ponto isoeletrico das proteínas (4,6), as cargas elétricas das partículas coloidais unem-se formando o coágulo ou gel. Isto se deve à ação conjunta do calor e ácido, aumentando a taxa de colisão entre as partículas e desidratando parcialmente as proteínas. Desse modo, a diminuição do pH é suficiente para acelerar a precipitação, com formação de flocos ou grãos (RAPACCI, 1997).

A coagulação completa das proteínas do soro aquecido depende das forças ativas de coesão, adesão e hidratação aplicadas às partículas protéicas, o que é bastante influenciado pela quantidade de ácido adicionado. Por outro lado, com a elevação da temperatura a carga elétrica líquida das proteínas é reduzida e o sistema atinge o equilíbrio final quando as proteínas se precipitam. Além disso, quando a temperatura é alta, ocorre um aumento na taxa de colisão das partículas, o que facilita a precipitação do coágulo (SINGH, 2004). Pela ação do calor, são rompidas as ligações que asseguram as estruturas secundárias e terciárias das moléculas, sendo que o rearranjo das moléculas desnaturadas provoca a insolubilidade das proteínas. Desse modo, o lactosoro diminui o teor protéico na razão direta do grau de desnaturação térmica. Entretanto, a desnaturação pode não comprometer o valor nutritivo da proteína láctea, e hoje se acredita que a proteína desnaturada seja melhor digerida, visto a maior exposição das cadeias peptídicas à ação das enzimas proteolíticas (SILVA & ALMEIDA, 2004).

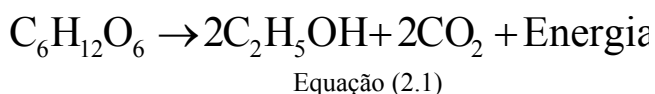
A fermentação é o processo inicial da formação de álcool etílico (etanol ou OH) a partir de glicose, sacarose e frutose (Gl, Fr e Sc). É um conjunto de reações especificamente bioquímicas realizadas a partir de três fatores fundamentais: presença de açúcares (Gl, Fr e Sc), microorganismos que sejam capazes de transformar esse açúcar em OH e gás carbônico e ausência de oxigênio. Os microorganismos responsáveis por essas reações são as leveduras. As leveduras são uma espécie de “bolor” e são encontradas na natureza ou “criadas” em laboratórios. Entre as leveduras, a utilizada para esse processo é a *Saccharomyces cerevisiae*. A fermentação alcoólica ocorre devido ao fato de que as células de levedo produzem a energia que lhes é necessária para sobreviver, através de dois fenômenos de degradação da matéria orgânica: a respiração que necessita do oxigênio do ar ou a fermentação que ocorre na ausência de oxigênio do ar. A fermentação alcoólica corresponde a uma má utilização de energia. Assim, a levedura necessita transformar muito açúcar e álcool, para assegurar suas necessidades energéticas. Nessas condições a multiplicação da levedura é pequena; ao contrário, o rendimento da transformação do açúcar em álcool é grande, em relação ao peso da

levedura. A composição exata do açúcar foi determinada por Gay-Lussac. Por isso as concentrações alcoólicas são descritas em °GL (GRØNBAEK *et al.*, 2000).

O processo fermentativo consiste basicamente no desdobramento do açúcar (sacarose) em álcool. Entretanto, a depender de como essa transformação é realizada, pode-se obter maior ou menor quantidade de aguardente e produto de melhor ou pior qualidade. Geralmente o processo fermentativo tem a duração média de 24 horas, com reciclagem do inóculo, ou seja, após decorrer essas 24 horas, as leveduras irão se depositar no fundo da dorna de fermentação e será adicionado um novo caldo diluído, cuja temperatura deverá estar em torno de 30°C. O que será utilizado para a destilação é o sobrenadante desse caldo, cujo Brix deve ser igual a zero. O acompanhamento da fermentação é feito por meio de medições de teor de °Brix, da temperatura, do tempo de fermentação, do cheiro característico, da acidez e do pH. Pode-se ainda realizar análises microscópicas do fermento para determinar o rendimento e a produtividade da fermentação e também verificar a produção de compostos secundários (YOKOYA, 1995).

Entre os microorganismos mais eficientes na fermentação, estão as leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marcianus* e a bactéria *Zymomonas mobilis*, destacando-se o gênero *Saccharomyces* pela alta produção e tolerância a altas concentrações de etanol (SCHWAN, 2001).

Segundo FLORENTINO citado por; FLORENCIO (2008), a fermentação alcoólica ocorre devido ao fato de que as células de levedo produzem a energia que lhes é necessária para sobreviver, através de dois fenômenos de degradação da matéria orgânica: a respiração que necessita do oxigênio do ar ou a fermentação que ocorre na ausência de oxigênio do ar. A composição do açúcar foi determinada por Gay-Lussac e é ainda de sua autoria a Equação (2.1) que descreve a fermentação alcoólica:



Ou seja, 180g de glicose, resulta em 92g de álcool etílico e 88g de CO₂. A proporção de etanol contida no vinho é medida em grau alcoólico, segundo o princípio de Gay-Lussac.

O gênero *Kluyveromyces* tem recebido grande destaque na fermentação continua para a produção de biomassa e também a conversão de lactose em etanol. Já a *Saccharomices cerevisiae* não degrada a lactose, havendo então a necessidade de adição de sacarose.

Os glicídios ou açúcares do leite são essencialmente constituídos pela lactose, cujo teor médio é de 4,5 a 5,0g/l e aos quais se deve o seu sabor adocicado. Encontram-se ainda presentes outros açúcares, mas em quantidades vestigiais. A lactose tem a mesma fórmula molecular da sacarose da qual difere, contudo, na

configuração molecular, no poder edulcorante, na solubilidade e na reatividade química. A lactose não está inteiramente em dissolução no leite, pois mesmo sem nenhum tratamento térmico prévio cerca de 11% do açúcar encontra-se naturalmente ligado às proteínas. A lactose comercial é uma lactose monohidratada e os seus isômeros distinguem-se por algumas de suas propriedades físicas. No que respeita a solubilidade, a lactose é um açúcar pouco solúvel, cerca de dez vezes menos que a sacarose. A lactose alimentar (pureza > 98%) é utilizado em bebidas, especialmente as achocolatadas e de frutos, porque exalta o seu sabor aumentando a aceitação dos produtos. São utilizados em confeitaria em função de absorver facilmente os aromas e os corantes na fabricação de biscoitos, bolachas, pães, alimentos dietéticos e charcutaria. Quanto ao valor nutritivo da lactose, este difere dos outros açúcares por alguns aspectos do seu comportamento fisiológico. Algumas das diferenças atribuem-se à própria molécula, mas outras são devidas à galactose que se liberta durante a hidrólise. As propriedades pelas quais a lactose mais se destaca são as seguintes: no lactente exerce uma ação positiva sobre a flora láctica intestinal; constitui uma fonte de energia; contribui para a acidificação do tubo digestivo e para a implantação de uma flora láctica que se opõe à fixação da flora de putrefação; é um auxiliar precioso para uma melhor assimilação de certos elementos tais como das proteínas e do próprio colesterol (VALSECHI, 2001).

Por cada litro de soro é desperdiçados cerca de 50 g de lactose e 10 g de proteína com elevado valor nutricional e funcional, criando condições para poder pensar-se num processo de valorização do soro com simultânea redução da carga poluente. Hoje em dia, o concentrado de proteínas de soro é a maior produção obtida a partir do soro de queijo, apenas ultrapassada pelas do soro em pó e do soro em pó desmineralizado (HORTON, 1996). O valor comercial deste produto está diretamente relacionado com o seu teor protéico, podendo servir de aditivo na indústria de panificação (concentrados de 35 % de proteína) ou de ingrediente na confecção de alimentos infantis (concentrados com 92 % de proteína), este último com um preço dez vezes superior ao primeiro. O concentrado protéico é obtido tipicamente por ultrafiltração, originando uma fração rica em lactose, o permeado do soro de queijo. A obtenção do concentrado protéico, por si só, não se apresenta economicamente viável uma vez que apenas 1/6 do volume de soro serve para a produção de proteína, restando ainda um considerável volume de permeado de soro de queijo a manusear (BARRY, J. A.; 1982). O permeado do soro pode ser utilizado para diversos fins, como alimentação de animais, produção de lactose, galactose, glucose, álcool, ácido láctico ou como constituinte em diversos produtos farmacêuticos e mesmo cosméticos. O fator determinante será, novamente, o aspecto econômico. Alguns processos que utilizam o permeado do soro como substrato para fermentação alcoólica já se encontram implementados, nomeadamente na *New Zealand Cooperative Dairy Co.* na

Nova Zelândia, na *Barbery Milk* Produtos Lda., na Irlanda e em *Wisconsin*, nos E.U.A. O álcool obtido neste processo é essencialmente de dois tipos: álcool industrial e potável. O primeiro encontra aplicabilidade como combustível e o segundo como retificador de bebidas alcoólicas.

Outro aspecto em que os processos de fermentação da lactose são passíveis de melhoramento não se prende com o processo em si, mas com o microrganismo utilizado na fermentação alcoólica da lactose. O microrganismo mais utilizado é a levedura do gênero *Kluyveromyces*, que fermenta naturalmente este açúcar apresentando, no entanto, problemas de inibição por etanol. As leveduras do gênero *Saccharomyces* são largamente utilizadas na produção de alimentos e bebidas alcoólicas, representando os microrganismos de eleição para fermentação alcoólica.

Apesar de a levedura *Saccharomyces cerevisiae* fermentar uma grande variedade de açúcares, não é capaz de metabolizar a lactose, devido à ausência da enzima β -galactosidase (que hidrolisa este açúcar em glucose e galactose) e da permease da lactose, que permite a entrada da lactose para o interior das células. Têm surgido nos últimos anos, várias abordagens para a fermentação da lactose por *S. cerevisiae*. Uma das primeiras a surgir, utiliza a técnica de fusão de protoplastos, construindo híbridos de estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* e *Kluyveromyces lactis* utilizadores de lactose (FARAHNAK *et al.*, 1986). No entanto, neste caso específico, a clonagem e transformação em *S. cerevisiae* é uma abordagem preferível e mais precisa.

O planeamento consciente dos experimentos que devem ser realizados para determinar, e mesmo quantificar, a influência das variáveis sobre as respostas desejadas, é indispensável para que resultados confiáveis sejam obtidos e para que análises estatísticas consistentes possam ser realizadas. Nesse contexto, considera-se que desenvolver produtos e processos através de procedimentos de tentativa e erro, conforme registros do início do século passado foram, de fato, importantes naquele momento. No entanto, a forte competitividade, a difusão da tecnologia, bem como a competência e a responsabilidade dos pesquisadores atuais inviabiliza tais procedimentos (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A falta de planeamento muitas vezes é a causa do insucesso de uma investigação, no entanto raros são os pesquisadores que pensam em estatística antes de realizar seus experimentos. Em geral eles costumam achar que uma análise dos seus dados, não importa como tenham sido obtidos, eventualmente levará sua pesquisa a bom termo (BARROS NETO *et al.*, 1996).

Na utilização do planeamento experimental há uma redução de experimentos ou repetições e uma melhoria na qualidade das informações obtidas através dos resultados. Isto significa uma sensível diminuição do trabalho e, conseqüentemente, do tempo e do custo final (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A essência de um bom planejamento consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que se procura (BARROS NETO *et al.*, 1996).

CAPITANI *et al.* (2005) objetivando a recuperação e o fracionamento das proteínas do soro de queijo de fabricação industrial do tipo minas frescal por meio da técnica de coacervação e utilização do polissacarídeo carboximetilcelulose sódica (CMC) com concentrações de 0,1% a 0,9% CMC p/v, foi obtido, ao utilizar os valores de pH 3, precipitação das proteínas totais (PT/CMC); de pH 4, precipitação da β -lactoglobulina (β -Lg/CMC) e de pH 3,2, precipitação de maior proporção de α -La/CMC). Sendo os coacervados separados por aplicação de força centrífuga e caracterizados em relação à composição centesimal e perfil eletroforético. O maior rendimento foi verificado no fracionamento da β -lactoglobulina, com 86% de recuperação dessa classe de proteína do soro desnatado.

FLORENTINO (2006) investigou formas para o aproveitamento do soro resultante da fabricação de queijos por coagulação enzimática. As proteínas foram retiradas pelo método ácido térmico e pela coagulação/floculação com quitosana, sendo o primeiro método mais vantajoso. Também foi estudado o processo de fermentação acética e fermentação alcoólica utilizando as leveduras *Kluyveromyces lactis* ATCC 5698 e a *Saccharomyces cerevisiae*, a primeira não obteve resultados, por isso foi feita a utilização da *Saccharomyces cerevisiae* com adição de sacarose, em 30°C e agitação de 180rpm por 12 horas, sendo acompanhada por 48 horas, apresentando um teor alcoólico de 7-8°GL. Após o processo de fermentação alcoólica foi inoculada com *Acetobacter aceti* CCT 0190 para a fermentação acética a 30°C. As condições que apresentaram maior potencial para a fermentação acética foram: aeração 1,0v.v.m.; agitação de 50rpm e 25% de inóculo, atingindo uma acidez volátil de 5,2g de ácido acético/100 ml após 240 horas de cultivo, apresentando um rendimento de 72%.

FLORÊNCIO *et al.* (2007a) caracterizando o soro de queijo tipo coalho de queijeiras artesanais da zona rural da cidade de Montadas na Paraíba, demonstrou o alto índice protéico e de lactose lançado no meio ambiente. No seu estudo foram encontrados valor de 1,7% de proteína, aproximadamente 50% das proteínas presentes no leite; para a lactose foram encontrados valores de 4,13% que corresponde a 0,47% do leite integral. Pelo pH (6,59) foi considerado um soro doce. Sendo evidenciada ainda uma alta concentração de sais minerais (0,55%), extrato seco total (6,71%) e gordura (0,3%), no entanto o soro poderia ser aproveitado para várias formulações.

SOUZA *et al.* (2006) estudou a fermentação simultânea à hidrólise, de soro de queijo, utilizando lactase e *Saccharomyces cerevisiae*, avaliando alguns parâmetros visando à otimização na produção de etanol, em relação a temperatura, pH, agitação, nutrientes, concentração de leveduras, concentração de enzima (lactase) e a concentração de substrato soro. Foi usada a

temperatura de 30°C e pH de 4,5, com ensaios conduzidos com 60g de soro, 0,4g de enzima e 30g de inóculo em 1 L de meio, obtiveram uma produtividade de etanol em torno de 2,39g/L.h e um rendimento de 90,01%. Quando para 90g de soro, 0,4g de enzima e 70g de inóculo, a melhor produtividade atingiu 3,66g/L.h e o rendimento 93,9%. Sendo o menor tempo de fermentação 8 horas. Foi desconsiderada a agitação, pois nesse caso não influenciou nos resultados.

TORRES NETO, *et al.* (2006) no seu estudo cinético e de caracterização do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale* L.) obteve um produto fermentado suave por possuir teores de açúcares residuais acima de 20g/L e um teor de álcool etílico de 11,5% (v/v), sendo sua acidez total final do fermentado de 7,2 (g/L), estando dentro dos padrões estabelecidos pela legislação que é de 3,3 a 7,8 g/L.

MATERIAL E MÉTODOS

A matéria-prima utilizada durante esta pesquisa foi o soro resultante da produção de queijo “Tipo coalho” fabricado em indústria de laticínio localizada na zona rural da cidade de Caturité/PB (Cooperativa Agropecuária do Cariri Ltda.). Após ser coletado e refrigerado, o soro foi armazenado em recipientes plásticos e transportado para o Laboratório de Microbiologia do Departamento de Química do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba, onde foi caracterizado, antes e após a extração das proteínas. Através das seguintes determinações:

A análise do soro foi realizada em duas etapas: soro *in natura*, visando conhecer os componentes presentes no mesmo, e depois da operação de extração das proteínas totais, através das seguintes determinações:

Determinada utilizando o método Dornic, que se baseia na titulação do soro com a solução Dornic (N/9), empregando a fenolftaleína como indicador do ponto final da titulação. O resultado é expresso em Dornic (°D) que corresponde a 1 mL de solução de NaOH 0,1N consumido na titulação, equivalendo a 0,0090g de ácido b

O teor de gordura foi determinado empregando-se o método volumétrico de Gerber, que consiste na separação da gordura através da centrifugação após a digestão do material protéico com o ácido sulfúrico. O método baseia-se na leitura direta da porcentagem (%) de gordura na escala do butirômetro de Gerber (BRASIL, 2006).

O pH foi determinado utilizando um pHmetro digital (BRASIL, 2006).

O teor de proteínas foi determinado utilizando o método de BRADFORD (1976).

Sais minerais (cinzas) foi quantificado por gravimetria após incineração em forno de mufla à 550°C. O método fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado a 525°C, com a destruição da matéria orgânica, sem apreciável decomposição dos

constituintes do resíduo mineral ou por perda de volatilização (BRASIL, 2006).

A lactose foi determinada através do método volumétrico com Licor de Fehling. Determina o teor de lactose no soro através da redução do ácido cúbrico a ácido cuproso (BRASIL, 2006).

O Extrato seco total (E.S.T.) foi determinado pelo método padrão de estufa, 105°C por 24 horas (BRASIL, 2006).

Para a extração das proteínas presentes no lacto soro foi utilizando o método Ácido Térmico, seguindo metodologia utilizada em trabalho anterior por FLORENCIO *et al.* (2008), visto que o mesmo testou 5 diferentes temperaturas para a remoção das proteínas e observou que a melhor temperatura seria a de 90°C.

Inicialmente o soro foi aquecido à 90°C, e seu pH reduzido para 4,6, utilizando ácido cítrico. Após obtenção do floculado, o soro foi mantido em repouso até atingir temperatura ambiente e o aglomerado protéico retirado por filtração, seguindo a mesma metodologia empregada por FLORENTINO (2006).

Ensaio da Fermentação Alcoólica

O microrganismo utilizado foi a *Saccharomyces cerevisiae* (fermento comercial) da marca Fleischman, com 70% de umidade, obtido em supermercados da cidade de Campina Grande – PB.

A chaptalização é a etapa do processo em que se adiciona a sacarose, ao mosto para se obter um produto com a graduação alcoólica dentro das especificações da Legislação Brasileira (BRASIL 1997). A chaptalização geralmente é realizada quando o meio não tem quantidade suficiente de açúcares.

Para o estudo da fermentação alcoólica utilizando a *Saccharomyces cerevisiae*, e adicionando sacarose ao meio, por saber-se que a *Saccharomyces cerevisiae* não sintetiza a β -galactosidase, enzima capaz de hidrolisar a lactose, o que significa que nesta estratégia o soro representa essencialmente a fonte de sais minerais necessários ao processo.

O cultivo é conduzido à temperatura de 30°C, durante 48 horas. Sabendo-se que é feito uma alimentação de 50% do cultivo após 24h do início da fermentação, em intervalos regulares serão retiradas amostras para acompanhamento da produção do etanol, concentração dos açúcares, concentração celular e pH.

Com o objetivo de avaliar quantitativamente a influência das variáveis de entrada (sacarose e inóculo) sobre a resposta ($^{\circ}$ GL) foi realizado um planejamento fatorial. Na Tabela 3 estão expostos os níveis reais e codificados das variáveis independentes de entrada para o planejamento fatorial 2^2 , observado pela Tabela 4 que totaliza 7, sendo 4 distintos e 3 no ponto central. Os níveis das variáveis independentes de entrada foram propostos de observações na literatura.

TABELA 3. Valores reais e codificados das variáveis de entrada.

Níveis	Sacarose (%)	Inóculo (%)
-1	5	0,5
0	7,5	0,75
+1	10	1

TABELA 4. Matriz do planejamento fatorial completo 2^2 .

Experimentos	Sacarose (%)	Inóculo (%)
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1
5	0	0
6	0	0
7	0	0

Concluído o planejamento experimental foi utilizado o experimento que obteve melhor porcentagem de teor alcoólico, para o estudo cinético.

O reator com capacidade de 6 litros foi inicialmente alimentado com 4.5 litros de soro

desproteínizado e adicionado as composições definidas (níveis das variáveis de entrada) para o experimento que obteve melhor teor alcoólico, após as 24h foi feita a alimentação com 500 ml do cultivo. Foram estudados os efeitos das variáveis controladas (entrada) sobre a cinética

fermentativa. Amostras, em tempos regulares (4 em 4 horas) eram coletadas para acompanhar o aumento do teor alcoólico, redução dos açúcares redutores, aumento da concentração de células, e pH (estudo cinético da fermentação alcoólica).

Métodos analíticos: Teor alcoólico

Determinado através da leitura direta em ebulliômetro que mede a porcentagem alcoólica (°GL - Graus Gay Lussac).

Açúcares redutores totais (ART)

O método para obtenção de ART baseia-se na redução do DNS (ácido 3,5 dinitrosalicílico) a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico ao mesmo tempo com a oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo carboxílico. Com o aquecimento a solução torna-se alaranjada, onde é lida através do equipamento espectrofotômetro a 540nm.

$$ART = Abs \times F \times V_{diluição} \times 5$$

Equação (3.1)

Onde:

ART = Teor de açúcares redutores totais

Abs = Absorbância

F = fator da solução (1,5773)

$V_{diluição}$ = volume da diluição da amostra

5 = Soma das resultantes das soluções de 1mL HCl 2N, 3mL de NaOH 1N e 1mL da amostra.

Determinação da concentração celular

Na determinação da concentração celular adotou-se o método de massa seca (TRÍBOLI, 1989). A massa seca foi determinada pela diferença entre o peso final e o peso inicial e expresso em g/L. As determinações foram feitas em duplicatas.

Determinação do pH

O pH das amostras era medido para verificar sua variação ao longo do processo fermentativo medido diretamente no potenciômetro.

Sólidos solúveis totais (°BRIX)

A leitura foi realizada através do equipamento chamado refratômetro (BRASIL 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A constituição de matérias-primas depende do material de origem, da manipulação, do tratamento entre outros fatores. Para o soro de queijo, em especial, vai depender do clima, da manipulação e do processo de fabricação do queijo. Com a finalidade de conhecer os componentes presentes neste soro, visando utilizá-lo como substrato para a fermentação alcoólica, foi realizada sua composição.

As médias dos resultados das análises físico-químicas efetuadas no soro resultante do queijo “Tipo Coalho”, proveniente de uma indústria de laticínio localizada na zona rural da cidade de Caturité, são apresentadas na Tabela 5.

TABELA 5. Média dos resultados das análises físico-químicas do soro de queijo “Tipo Coalho” de uma indústria de laticínio localizado no Cariri paraibano.

Componentes	Média dos resultados
pH	6,34 ± 0,54
Acidez (°D)	11,00 ± 1,16
Gordura (%)	0,33 ± 0,06
Lactose (%)	4,25 ± 0,05
Extrato seco total (%)	6,43 ± 0,08
Sais minerais (%)	0,60 ± 0,01
Proteína (%)	1,25 ± 0,06
Extrato seco desengordurado (%)	6,10 ± 0,11
Umidade (%)	93,57 ± 0,08

Observando os resultados da Tabela 5, verifica-se que os valores de: pH (6,34), sais minerais (0,60%) e lactose (4,25%), estão próximos aos encontrados por FLORENTINO (2006) que trabalhou com soro de queijo

“Tipo Coalho” de queijaria artesanal; já analisando os valores de extrato seco total (6,43%), gordura (0,33%) e proteína (1,25%), evidência que o método de produção do queijo “Tipo Coalho” com obtenção do subproduto soro

de queijo é mais eficiente em queijeiras industriais visto que há uma padronização em seu processo, diminuindo com isto a perda de rendimento.

A acidez (11°D) encontrada no soro *in natura* está próxima à média dos valores observados por FLORENCIO *et al.* (2007), quando caracterizaram o soro de queijo de coagulação enzimática, de produção artesanal (9 °D) da zona rural da cidade de Montadas – PB.

Segundo MORRA (1990) o soro doce tem valores de pH entre 6,10 – 6,60, logo verifica-se que o valor de 6,34 está dentro dessa faixa, indicando a possibilidade do uso deste soro como ingrediente para várias formulações, inclusive a fermentação. Valores semelhantes foram encontrados por FLORENTINO (2006) e por FLORENCIO *et al.* (2007).

A proteína encontrada no leite está em torno de 3,5 a 3,6% (BEHMER, 1991). O teor de 1,25%, observado no soro de queijo “Tipo Coalho”, representa aproximadamente 35% das proteínas totais do leite, que por muitas vezes é inaproveitada.

Considerando a média da lactose encontrada no leite (4,6%) há uma diferença de 0,35% do valor da mesma encontrada no soro (4,25%), segundo FLORENCIO *et al.* (2007) pode ser resultante da retenção

da lactose na caseína do queijo e da hidrólise dos microrganismos lácticos. Também encontrado por DOMINGUES *et al.* (1999) em Lisboa – Portugal, uma concentração de lactose elevada (4,8%).

Ainda de acordo com a Tabela 5, o teor de gordura (0,33%) se encontra dentro da média dos queijos de coagulação enzimática, produzidos em escala industrial adotando técnicas apropriadas (0,2 a 0,5% de gordura) (FURTADO, 1991).

O valor do extrato seco total (6,43%) está bem próximo ao encontrado por FURTADO (1991) que foi 6,34%, valor médio obtido normalmente na produção de queijo de coagulação similar produzidos com técnicas apropriadas.

Para separação das proteínas do soro de queijo utilizou-se o método ácido térmico que se baseia na adição de ácido orgânico para baixar o pH até o ponto isoelétrico das proteínas e adição de calor (90°C), foi escolhida como melhor temperatura por FLORENTINO (2006). A proteína foi separada por filtração.

A Tabela 6 apresenta a composição do soro de queijo após a remoção da proteína através do método ácido térmico.

TABELA 6. Médias dos componentes do soro de queijo desproteínizado.

Componentes	Média dos resultados
pH	5,10 ± 0,10
Gordura (%)	Traços
Lactose (%)	3,60 ± 0,27
Extrato seco total (%)	4,43 ± 0,02
Sais minerais (%)	0,50 ± 0,27
Proteína (%)	0,33 ± 0,16

Com a média dos resultados do soro de queijo desproteínizado, observa-se que ainda há uma alta concentração de lactose no soro (3,6%). Verificando a remoção das proteínas, houve uma redução de 73,60% da existente no soro *in natura*. O pH (5,10) ainda se encontra dentro da faixa esperada, pois pode ser reduzido para utilização do soro na fermentação alcoólica (4,0 – 4,5).

Na análise da Tabela 6, observa-se que após a precipitação das proteínas pelo método ácido térmico, houve uma remoção quase que da sua totalidade da gordura, tendo um resultado satisfatório, visto que a gordura não seria necessária no processo fermentativo, além de que é um dos compostos que mais polui nas indústrias de laticínio, quando o soro é descartado sem tratamento prévio. Valores semelhantes foram encontrados por FLORENTINO (2006) quando utilizou a mesma temperatura e o mesmo método na precipitação, comprovando com isto a eficiência, na absorção do método ácido térmico.

Para a lactose (3,6%) houve decréscimo (15,29%) do valor encontrado no soro *in natura*, possivelmente ocorrido pela retenção da lactose no aglomerado protéico. Valores semelhantes foram encontrados por FLORENTINO (2006). Comparando-se com os resultados obtidos por FLORENCIO *et al.* (2008), verifica-se uma redução significativa visto que o mesmo trabalhando com desproteínização do soro de queijo “Tipo Coalho” artesanal obteve uma remoção de 22%.

Para produção de etanol foi utilizada a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (comercial), fermento da marca Fleischmann. Os ensaios foram realizados em biorretor acompanhando o processo por 48 horas, com adição de sacarose e inóculo em diferentes porcentagens como mostra os dados da Tabela 7, sendo a sacarose dividida em duas etapas, 50% no início da fermentação e 50% após 24 horas da fermentação, seguindo o planejamento fatorial 2² + 3 pontos centrais e estabelecendo como variável resposta a % de etanol.

TABELA 7. Condições dos ensaios do planejamento experimental.

Experimentos	Sacarose (S)	Inóculo (I)	% etanol (°GL)
1	- (50 g/L)	- (5 g/L)	4,52
2	+ (100 g/L)	- (5 g/L)	7,33
3	- (50 g/L)	+ (10 g/L)	4,52
4	+ (100 g/L)	+ (10 g/L)	7,33
5	0 (75 g/L)	0 (7,5 g/L)	5,9
6	0 (75 g/L)	0 (7,5 g/L)	5,9
7	0 (75 g/L)	0 (7,5 g/L)	6,2

Os resultados foram analisados utilizando o programa Statistica 5,0, verificando que se apresentou estatisticamente significativo para 95% de confiança, como mostra a Equação 4.1.

$$\% \text{ Conversão} = 5,957143 + 1,405 S + 0 I + 0 SI \quad \text{Eq. 4.1}$$

A Figura 1 apresenta o gráfico de Pareto com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.

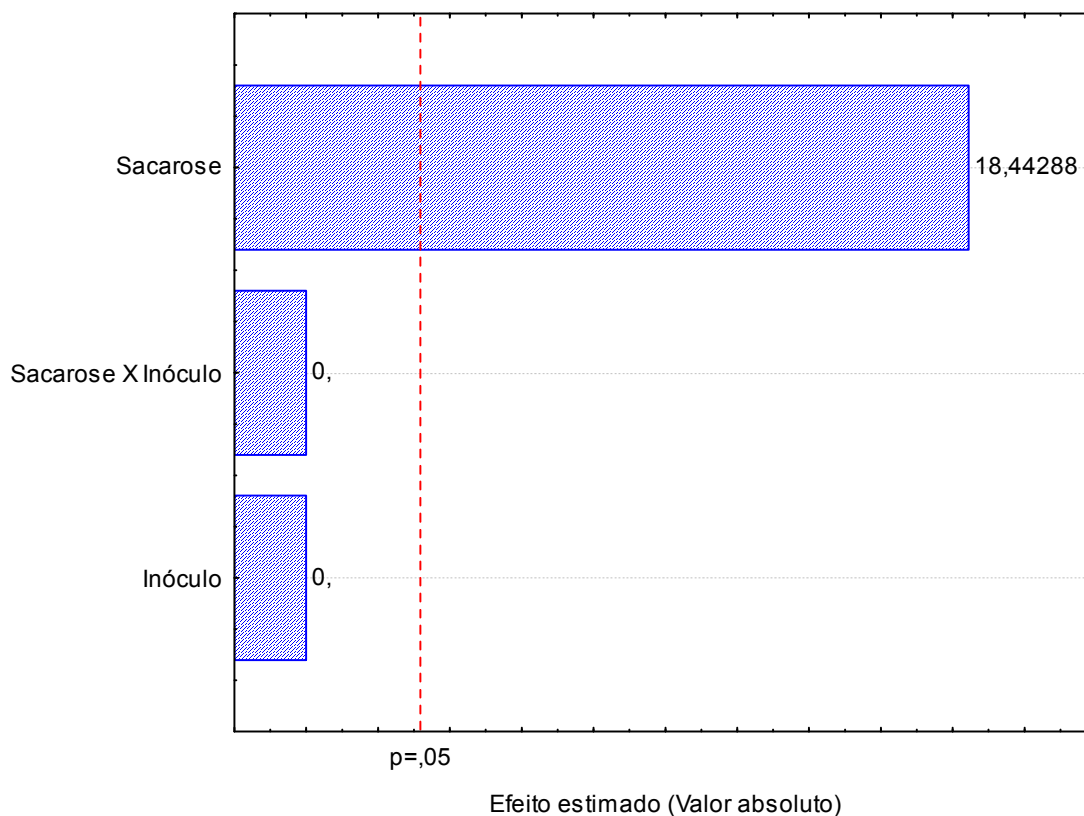


FIGURA 1. Gráfico de Pareto para o etanol

Analisando a Figura 1, verifica-se que os efeitos da concentração de sacarose, para o efeito principal, se mostram estatisticamente significativo.

Segundo Barros Neto *et al.* (1996), para que o modelo tenha validade estatística, de acordo com o Teste

F, o valor da razão F calculado em relação a F tabelado deve ser acima de 1,0. O $F_{\text{calculado}}$ e o F_{tabelado} foi de 338,738 e 9,28. A razão entre os dois é de 36,50, logo é estatisticamente significativo e também é preditivo.

Os valores de concentração de etanol estão representados na Figura 2.

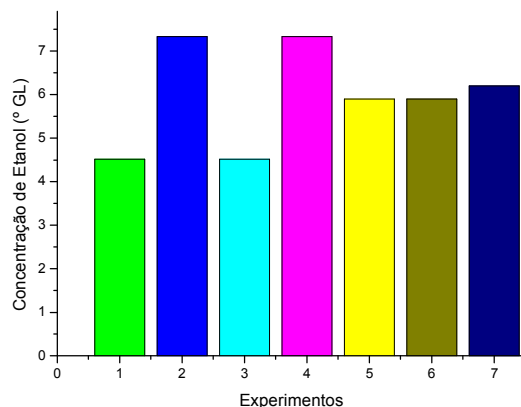


FIGURA 2. Histograma dos valores de concentração de etanol para os 7 experimentos realizados.

De acordo com a Figura 2, observamos que os experimentos 4 (7,33°GL), utilizando 100 g/L de sacarose e 10g/L de inóculo, obteve a mesma concentração de etanol que o experimento 2 (7,33 °GL), utilizando 100g/L de sacarose e 5g/L de inóculo, percebendo que ambos obtiveram maior porcentagem de etanol (°GL). O experimento escolhido para realização da cinética foi o experimento 4, visto que o mesmo utilizou maior quantidade de inóculo evitando sua inibição pela sacarose. Em trabalho utilizando o soro de queijo nas seguintes condições: 160g/L de sacarose e 90 g/L de inóculo ARAÚJO(2008) com adição da *Saccharomyces cerevisiae* foi obtido uma produção de etanol de 6,6 °GL, valor inferior ao citado em estudo.

Segundo SILVA *et al.* (2003), a produção de etanol citada em estudo esta bem próximo ao empregado na fabricação de aguardente de cana de açúcar, para produção de aguardente de cana de açúcar, o teor alcoólico resultante do processo de fermentação deve situar-se entre 7 a 10°GL, pois valores acima de 10°GL podem ocasionar uma diminuição da eficiência da levedura nas fermentações subseqüentes, enquanto que um teor abaixo de 7°GL, prejudica o rendimento da fermentação.

A cinética foi realizada no Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba. Foi utilizado 1 reator de 6 litros alimentado individualmente com 4,5 litros de soro de queijo desproteínizado, nas condições do experimento de maior produção de etanol (100g/L de sacarose e 10g/L de inóculo). Foi realizada 1 bateladas do experimento, com as mesmas condições operacionais, buscando observar a reprodutibilidade dos dados experimentais.

A Figura 3 apresenta os perfis de decaimento do ART ao longo do tempo da fermentação alcoólica.

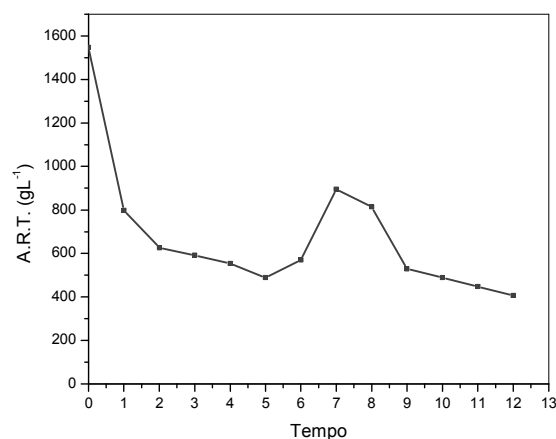


FIGURA 3. Comportamento do ART durante a fermentação alcoólica

Verifica-se que nas primeiras 20 horas houve um decaimento acentuado do substrato, com a realimentação no tempo de 24h observou-se que após o ponto seguinte houve um decaimento quase que constate, se estendendo até o final da fermentação. Percebendo-se com isso que houve um consumo de sacarose em média de 68,42%, durante as 20 horas de fermentação, com a realimentação no tempo de 24 horas no ponto seguinte ate o final da fermentação o consumo de sacarose foi de 54,55%. Verifica-se que há uma boa reprodutibilidade dos dados. De acordo com FLORENTINO (2006) trabalhando com soro de queijo artesanal para fermentação alcoólica obteve um consumo de 66,81% da sacarose adicionada no processo fermentativo, sendo esse valor um pouco abaixo do encontrado neste trabalho devido as condições aplicadas em estudos.

A Figura 4 apresenta o perfil de crescimento do microrganismo ao longo do processo fermentativo.

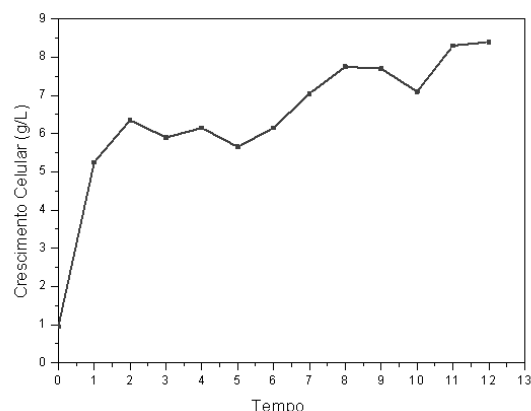


FIGURA 4. Comportamento de crescimento celular durante a fermentação alcoólica

Na Figura 4 verifica-se que houve um crescimento uniforme da levedura nas primeiras 8 horas da fermentação, onde também já estava estável a graduação alcoólica (4,52°GL) logo em seguida no tempo de 12 horas inicia-se uma pequena variação no crescimento

celular até o final da fermentação obtendo um crescimento de 8,4 g/L no final da fermentação. Onde também já estava estável a graduação alcoólica (7,33°GL). TORRES NETO *et al.* (2006), adicionando 20 g/L de levedura no início da fermentação do suco do pedúnculo do caju, observou um crescimento constante da levedura nas primeiras 15 horas (38 g/L em massa seca). FLORENTINO (2006) acompanhando o crescimento celular durante 48 horas de fermentação do soro de queijo, adicionando 3,95 g/L de inóculo, observou uma produção celular de 7,9 g/L, valor semelhante ao encontrada neste estudo.

A Figura 5 apresenta o perfil de produção de etanol ao longo do tempo de fermentação.

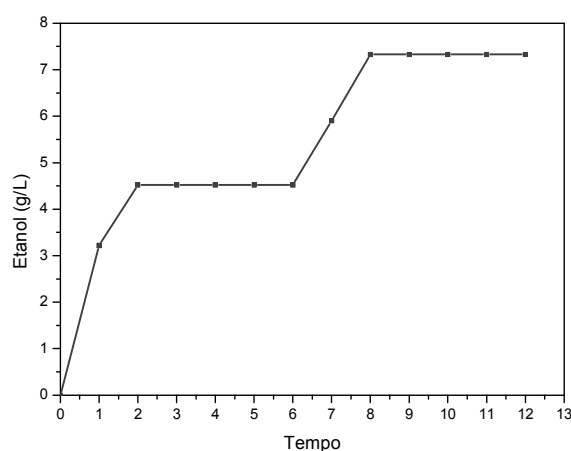


FIGURA 5. Comportamento da produção de etanol durante a fermentação alcoólica.

Observa-se pela Figura 5 que nas primeiras horas da fermentação ocorreu uma produção de etanol significativa, com um aumento gradativo, e se estendendo até as 8 horas onde começou a estabilização e não foi observada uma mudança relativa durante a continuação do processo fermentativo. Foi realizada uma nova alimentação no tempo de 24 horas, verificando-se que a produção de etanol reiniciou e manteve-se constante a partir das 32 horas. No final da fermentação obteve-se 7,33°GL, valor semelhante ao citado por FLORENTINO (2006), 7°GL (v/v) de etanol.

A Figura 6 apresenta o comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação alcoólica.

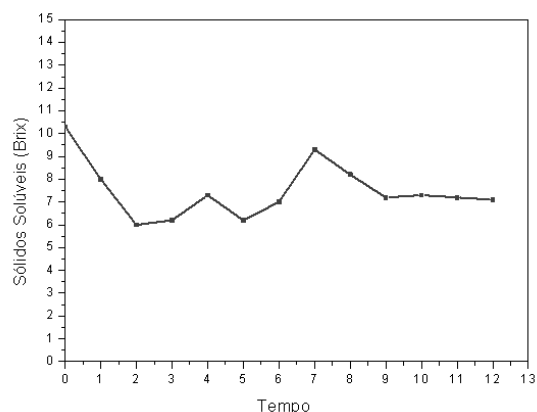


FIGURA 6. Comportamento dos sólidos solúveis durante a fermentação alcoólica

Na fermentação alcoólica os sólidos solúveis (°Brix) obtiveram valores de decaimento rápido (10,3 – 6 °Brix em média), nas primeiras 8h, iniciando-se uma variação até o final da fermentação, onde foi obtido um Brix de (7,1°Brix) de acordo com a Figura 6. FLORÊNCIO *et al.* (2008) trabalhando com sorgo sacarino, obteve um teor de sólidos solúveis de 12,1 e 11,6 °Brix (colmos limpos e colmos com folhas respectivamente) para o início da fermentação e ao término foi de 5 °Brix (para ambos), valores semelhantes citados acima.

A Figura 7 apresenta o comportamento do pH durante a fermentação alcoólica.

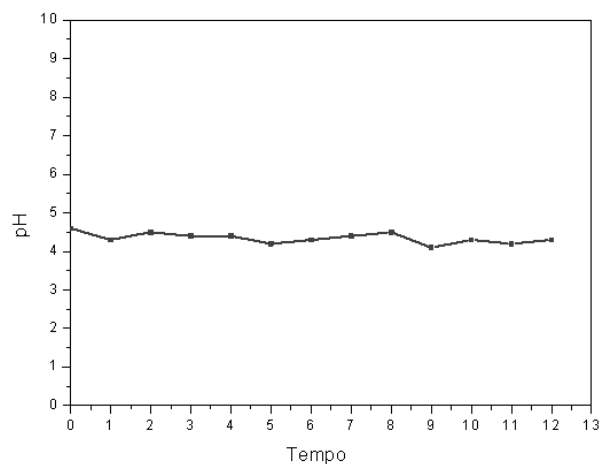


FIGURA 7. Comportamento do pH durante a fermentação alcoólica

Iniciando-se a fermentação do soro do queijo com pH 4,6 com adição da *Saccharomyces cerevisiae* e terminando após 48 horas com pH de 4,3, como mostra a Figura 7, Houve uma variação pequena para os valores encontrados de pH sendo a esperada visto que trabalhos de processos fermentativos que utilizaram a *Saccharomyces cerevisiae*, também encontraram valores relativamente próximos (FLORENTINO, 2006). Valores semelhantes foram também observados por BORTOLINI *et al.* (2001), CORAZZA *et al.* (2001), ANDRADE *et al.* (2003),

TORRES NETO *et al.* (2006) e FLORÊNCIO *et al.* (2008) com 3,9; 3,33; 3,88; 3,5 e 4,5 respectivamente ao término da fermentação. Já FLORENTINO (2006) iniciou a fermentação do soro de queijo com adição da *Saccharomyces cerevisiae* com um pH de 5,92 e terminou a fermentação após 48 horas com pH de 4,18, valores superiores ao encontrado neste estudo.

CONCLUSÃO

Avaliou-se, no presente trabalho, o aproveitamento do soro de queijo de coalho coagulação enzimática que, após a extração das proteínas, foi utilizado para o processo de fermentação alcoólica e para a produção de aguardente. Com os resultados deste estudo pode-se concluir que:

Quanto à composição do soro de queijo, e de acordo com a sua média

De acordo com a média do valor de pH encontrado no soro de queijo (6,34), ele é considerado tipo doce, possível de ser facilmente reaproveitado para várias formulações.

O soro ainda é rico em proteínas e contém, em média, 35% das proteínas encontradas no leite, lactose de 4,25%, extrato seco total de 6,43% e sais minerais de 0,60%, significando tratar-se de um meio rico em nutrientes e com acidez média de 11 °D, sendo um valor de acidez baixo podendo ser facilmente utilizado na fermentação alcoólica.

Quanto à desproteínização do soro de queijo pelo método ácido térmico, na utilização

Na utilização do método ácido térmico ocorreu uma remoção de 73,60% das proteínas do soro de queijo comparadas com as do soro *in natura* focalizando, com isto, que o método é eficiente para a redução das proteínas.

Embora em pequena proporção (15,29%), a lactose também foi reduzida pela utilização deste método, podendo ter ficado retida na proteína.

A média do valor de pH (5,10), ainda esteve dentro do esperado visto que o soro ainda seria utilizado na fermentação alcoólica com variação de pH de 4,0–4,5.

Quanto à fermentação alcoólica

A melhor produção de etanol foi obtido ao se adicionar 100 g/L de sacarose e 10 g/L de inóculo, com valor de 7,33°GL.

Quanto à conclusão geral do trabalho

A levedura (*Sacharomyces cerevisiae*) se mostrou bastante eficiente para a produção de etanol. A adição de sacarose na matéria-prima pode aumentar a produtividade de etanol utilizando a *Sacharomyces cerevisiae*, obtendo uma fermentação com uma produção de etanol satisfatória.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. R.; Leite e derivados – caracterização físico-química, qualidade e legislação. **Textos acadêmicos**. Universidade Federal de Lavras. Ed. Centro de editoração/FAEPE. 2005. 151p.

ALMEIDA, K.E.; BONASSI, I.A.; ROÇA, R.O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas. Ciências e tecnologias de alimentos, V 21, PP. 187-192.2001.

ANDRADE, L.A.B. Cultura da cana-de-açúcar. In: _____. **Produção artesanal de cachaça de qualidade**. Lavras: UFLA, 2003. p. 01-17.

ANDRADE, M. do C., Bibliotecária da Fundação Joaquim Nabuco – Disponível em: <http://www.fundaj.gov.br/notitia> - acesso em: 20 set. 2008.

ARAUJO, S. M. Produção de etanol a partir do Soro de queijo, Tipo Coalho. **Texto acadêmico**. Universidade Estadual da Paraíba 2008. P.51. Graduação (Química industrial)-Universidade Estadual da Paraíba, 2008.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E.; **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Editora da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas – SP. 299 f.1996. ISBN 85-268-0336-0.

BARRY, J.A. 1982. Alcohol production from cheese whey. *Dairy Industry International* 47, 19-22.

BEHMER, M. L. A. Tecnologia do leite. 15 ed, São Paulo. Ed. Nobel. 1991. 320pp.

BEZERRA, A. C. B.; TOLEDO, O. A. Nutrição, dieta e cárie. In: KRIGER, L. ABOPREV: Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1997. p. 44-65.

BORTOLINI, F.; SANT'ANNA, E. S.; TORRES, R. C.. Comportamento das fermentações alcoólica e acética de sucos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); comportamento dos mostos e métodos de fermentação acética. **Ciência e**

- tecnologia de alimentos.** Campinas – SP, n.21, v. 2. p. 236-243, mai/ago 2001.
- BRADFORD, M. M. A. Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding. *Analytical biochemistry*, v.72, pp.248-254. 1976.
- BRASIL, Ministério da fazenda. Receita federal. **Decreto nº 2.314, de 04 de setembro de 1997.** Disponível
- BRASIL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Brasília, 4º ed., 1018p. 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de Dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos (revoga Instrução Normativa nº 22, de 14 de Abril de 2003). **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de Dezembro 2006, Seção 1, Página 8, 2006.
- BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria n.146, de 7 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de produtos lácteos. *Diário Oficial da União*, Brasília, n.48, 11 mar.1996. p.3977-3986.
- BURRINGTON, K. Aditivos: Os Benefícios do Soro. **Leites & Derivados**, 50: Jan./Fev., 2000.
- CAPITANE, C. D.; PACHECO, M. B.; GUMERATO, H. F.; VITALI, A.; SCHMIDT, F. L.; Recuperação de proteínas do soro de leite por meio de coacervação com polissacarídeo. *Pesq. Agropec. Bras.* Brasília – DF, v. 40, n. 11, p. 1123-1128. Nov. 2005.
- CARDOSO, M. G.; Produção de aguardente de cana-de-açúcar. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 264 p.
- CARMINATTI, C. A.; Ensaios de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizada Beta-Galactosidase *Kluyveromyces lactis*. Florianópolis. 2001. 79 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.
- CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química nova**. v. 24. n. 4. p. 449. 2001.
- COSTA, R. C. Obtenção da lactose a partir de permeado de soro e queijo e permeado de leite. Dissertação (Mestrado). UNICAMP: Campinas, 75p. 1995.
- DALLAS, P. Uso de derivados do soro em aplicações de produtos de consumo. *Revista Leite e Derivados*. v. 8, n. 46, p.48-50, 1999.
- DOMINGUES, L., TEIXEIRA J.A. e LIMA N. 1999. Construction of a flocculent *Saccharomyces cerevisiae* fermenting lactose. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 621-626.
- FARAHNAK, F., SEKI, T., RYU, D.Y. e OGRYDZIAK, D. 1986. Construction of lactoseassimilating and high ethanol producing yeasts by protoplast fusion. *Applied Environmental Microbiology* 51, 362-367.
- FLORENCIO, I. M.; ALVES, R. M.; RIBEIRO FOLHO, N. M.; ARAUJO, M. S.; SILVA, R. A. S.; ARAUJO, A. dos S.; FLORENTINO, E. R.; Caracterização do soro de queijo “Tipo Coalho” proveniente de queijeiras artesanais da zona rural da cidade de Montadas – PB. In: **I Congresso Norte-Nordeste de Química**. Anais. Natal – RN. 2007.
- FLORÊNCIO, I. M.; Estudo do aproveitamento do Lactosoro de coagulação Enzimática para Fermentação e Produção de Aguardente. 2008. 71p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina grande, 2008.
- FLORÊNCIO, I. M.; RIBEIRO FILHO, N. M.; ROCHA, A. S.; SILVA, F. L. H. da; FLORENTINO, E.R.. Produção de aguardente a partir do caldo do sorgo sacarino [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 17, 2008, Recife, PE. Anais... Recife: Mar Hotel, 2008. 1 CD-ROM.
- FLORENTINO, E. R. **Aproveitamento do soro de queijo de coagulação enzimática**. 2006. 150f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – UFRN, Natal, RN, 2006.
- FURTADO, Múcio Mansur. **A Arte e a Ciência do Queijo**. 2. Ed. São Paulo: Editora Globo, 1991. 297 p.
- GIROTO, J.M., PAWLOWSKY, U., O Soro do leite e as alternativas para o seu beneficiamento. *Brasil Alimentos*, n.10, p.43-46, set./out. de 2001. Disponível em: <WWW.brasilalimentos.com.br/BA/pdf/10/10%20-%20Laticinios.pdf> Acesso em: 07 set. 2008.
- HOLSINGER, V.H.; POSATI, L.P.; DEVILBISS, E.D. Whey beverages: A review. *Journal of Dairy Science*, v.57, p.849-859, 1974.
- HORTON, B. 1996. Wheys of recovery. *Whey processing* 5, 39-40.

- HUGUNIM, A. O Uso de Produtos de Soro em Iogurtes e Produtos Lácteos Fermentados. *Leites & Derivados*, 49: 22-33, 1999.
- KOSIKOWSKI, F.U. Greater utilization of whey powder for human consumption and nutrition. *Journal of Dairy Science*, v.50, n.8, p.1343-1345, 1967.
- KOSIKOWSKI, F.U. Whey utilization and whey products. *Journal of Dairy Science*, v.62, p.1149-1160, 1979.
- LANGE, C. C.; BRITO, J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. (Ed.) **Diagnóstico da Qualidade do Leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de Antibióticos**. Brasília, DF: Embrapa, 2003. p. 117-138.
- LEITE JÚNIOR, A. F. S. *et al.* Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, em Campina Grande-PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.74, p. 53-59, 2000.
- LEMAN, J.; KINSELLA, J.E.; Surface activity, film formation and emulsifying properties of milk proteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Boca Raton, v.28, n.2, p.115-138, 1989.
- M. GRØNBÆK, U. BECKER, D. JOHANSEN, A. GOTTSCHAU E P. SCHNOHR; **Fonte:** *Annals of Internal Medicine*; 133(6): 411-419, 2000. (<http://www.annals.org>).
- MING, P. Propriedades nutricionais das proteínas de soro de leite. **Revista leite e derivados**, v. 9, n. 52, p. 64-68, 2000.
- MORRA, C. V. Effect of heating and elevated temperature storage on chesse whey. *Journal of Food Science*, v. 55, n.4, p. 1177-119, 1990.
- NELSON, F.E.; BROWN, W. Corrosion whey utilization in fruit juice drinks. *Journal of Dairy Science*, v.52, n.6, p.901, 1969.
- NEVES, B.S. Elaboração de bebidas lácteas a base de soro. Artigo Técnico. *Rev. Leite e Derivados*, n.10, p. 50-54, 1993.
- PHILIPPI, S. T.; CRUZ, A. T.; COLUCCI, A. C. Pirâmide alimentar para crianças de 2 a 3 anos. *Rev Nutr*, Campinas, v.16, n. 1, p. 5-19, jan./mar. 2003.
- PONSANO, E.H.G.; CASTRO-GOMEZ, R.J.H. Fermentação de soro de queijo por *Kluyveromyces fragilis* como uma alternativa para a redução de sua carga poluente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 15, p. 170-173, 1995.
- RAPACCI, M., VAN DENDER, A.G.F.; Estudo comparativo das características física e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctea e acidificação direta. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade estadual de Campinas, Campinas, 1997.
- REBELO, A. G. Queijo: notas sobre queijos regionais da Beina. Coleção Agros, Lisboa, 220p. 1983.
- RICHARDS, N.S.P.S. Soro lácteo: Perspectivas Industriais e Proteção ao meio ambiente. **Revista Food Ingredients**, n.17, p. 20-24, (mar/abril), 2002.
- ROCHA, A. S.; SILVA, F. L. H. da; BARACHO, T. H. A.; SILVA, C. G. da; CANUTO, M. F. C. S.. Avaliação físico-química da aguardente do fruto da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* MILL). In: **Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 17, 2008, Recife, PE. Anais... Recife: Mar Hotel, 2008. 1 CD-ROM.
- RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F.; Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia sequencial de planejamentos. 1 ed. Editora Casa do Pão. Campinas – SP. 326f. 2005.
- ROSENBERG, M. Current and future applications for membrane processes in **dairy industry**. **Trends in Food Science and Technology**. v. 6, p. 12-19, 1995.
- SANTOS, J. P.V.; FERREIRA, C. L. L. F. Alternativas para o aproveitamento de soro de queijo nos pequenos e médios laticínios. *Revista do instituto de Laticínios*, v. 56, n. 321, p. 44-50, 2001.
- SCHOLZ, W. **Elaboración de quesos de oveja y de cabra**. Zaragoza: Acribia, 1997. 145p.
- SCHWAN, R.F. Fermentação. In: CARDOSO, M.G. (Ed.). **Produção de aguardente de cana-de-açúcar**. Lavras: UFLA, 2001. 260p.
- SERPA, L.; Concentração de proteínas de soro de queijo por evaporação à vácuo e ultrafiltração. Erechim. 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, 2005.
- SGARBIERI V.C Proteínas em alimentos protéicos. São Paulo: Varela, 1996.
- SHAHID, F.; ARACHCHI, J. V., JEON, Y. J. Food applications of chitin and chitosans. **Food science & technology** v. 10 n° 2 p. 37-51, 1999.

- SILVA, C. A., HERMAN-GOMEZ, R. C.; **Qualidade protéica do soro de leite fermentado pela levedura *Kluyveromyces fragilis***. Ciência Rural, Santa Maria. v.30, p.515-520, 2000.
- SILVA, G. C.; MATA, C. M. R. E. M.; BRAGA, D. E. M.; QUEIROZ, S. V. Extração e fermentação do caldo da algaroba (*Prosopis juliflora*) para produção de aguardente. Revista brasileira de produtos agroindustriais, Campina Grande, v.5, n.1, p.51-56, 2003.
- SILVA, P. H.F.; ALMEIDA, M.C.F. Estabilidade térmica do leite. **Atrius** – Artigos para Download p.1-8, 2004.
- SINGH, H. Heat stability of milk. **International Journal of Dairy Technology**, v.57,n.2/3,p.111-119,2004.
- SOUZA, K. M.; ANDRADE, A. C.; ARAÚJO, E. H. Estudo da fermentação simultânea à hidrólise, de soro de queijo, utilizando lactase e *Saccharomyces cerevisiae*. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em iniciação científica. **Anais**. 2006.
- TORRES NETO, A. B.; SILVA, M. E.; SILVA, W. B.; SWARNAKAR, R.; SILVA, F. L. H.. Cinética e caracterização físico-química do fermentado do pseudofruto do caju (*Anacardium occidentale L.*). **Química nova**. v.29. n.3. p. 489-492. 2006.
- TRIBOLI, E. P. D. R.. Métodos analíticos para o acompanhamento da fermentação alcoólica. 1989. 52f. **Apostila – Laboratório de Engenharia Bioquímica e de Alimentos**, Escola de Engenharia de Mauá, Instituto Mauá de tecnologia, São Caetano do Sul.
- USDEC - U. S. DAIRY EXPORT COUNCIL. Ingredientes lácteos para uma alimentação saudável. USDEC News, v. 2, n. 4, p.1-3, 2002.
- USDEC - U. S. DAIRY EXPORT COUNCIL. Ingredientes lácteos para uma alimentação saudável. USDEC News, v. 2, n. 4, p.1-3, 2000.
- VALSECHI, O. A.; O Leite e seus Derivados; Universidade Federal de São Carlos. Centro de Ciências Agrárias Raras, SP 2001.
- YOKOYA, F. **Fabricação de aguardente de cana**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1995. 283p.
- ZANIN, G. M.; NEITZEL, I.; MACHADO, N. R. Laboratório de Engenharia Química III – **Notas de Aula**. 1998. 51f. Apostila – Centro de Tecnologia Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Maringá, Maringá – PR.