



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS AVANÇADO ALTO PARAPEBA

ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Construção e avaliação de biofiltros para efluente de laticínios
utilizando biocarvão e bagaço de cana triturados

Fillipe Herbert de Oliveira

Orientador: José Carlos de Magalhães

Ouro Branco-MG
2014

Construção e avaliação de biofiltros para efluente de laticínios utilizando biocarvão e bagaço de cana triturados

Fillipe Herbert de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em cumprimento às exigências do Curso de Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos da Universidade Federal de São João del-Rei.

Orientador: José Carlos de Magalhães

Ouro Branco-MG

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Construção e avaliação de biofiltros para efluente de laticínios utilizando biocarvão e bagaço de cana triturados

Fillipe Herbert de Oliveira

A Banca Examinadora, composta pelos membros abaixo, avaliou este TCC:

Nome 1 – Orientador

Nome 2 – Antônio Helvécio Tótola

Nome 3 – Dane Tadeu Cestarolli

Ouro Branco, ____/____/____

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, à minha família que sempre me apoiou durante toda a minha graduação, em especial aos meus pais, aos meus professores e ao meu orientador com o qual tive uma agradável experiência de trabalho, que favoreceu minha aprendizagem profissional.

AGRADECIMENTO

Dirijo-me com muito respeito e gratidão a todas as pessoas que colaboraram para a realização deste meu trabalho. Agradeço, enfim:

Primeiramente a Deus, que na sua infinita bondade me permitiu concretizar este trabalho.

Aos meus pais, Andréa e Márcio, que tanto me ensinaram. Aos meus avós, em especial meu vô Val, que hoje está junto ao “Pai”. Aos meus tios e tias que tanto amo, aos meus primos e primas que sempre torceram pelo meu sucesso, enfim, a todos os meus familiares e amigos que estiveram ao meu lado nesta caminhada.

A Universidade Federal de São João Del-Rei, através de seus funcionários, que tanto me ajudaram durante a graduação.

Ao meu orientador do Trabalho de Conclusão de Curso, José Carlos de Magalhães, pelo conhecimento que me foi transmitido.

Ao Prof. Dr. Antônio Helvécio Tótola pelo apoio na elaboração deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que tudo isto fosse possível.

RESUMO

A questão do gerenciamento de poluentes no ambiente vem ganhando, cada vez mais, espaço nos meios de comunicação e no cotidiano das pessoas, devido à sua associação com os impactos ambientais. Com o aumento da produção, e consequente consumo mundial do leite e derivados, aumentou-se também a produção do soro, que em muitos casos, vem sendo descartado sem nenhum tratamento, prejudicando o meio ambiente. O soro de leite apresenta alta carga orgânica, com elevados teores de carboidratos, gorduras, proteínas e lactose, de modo que seu poder poluidor é cerca de cem vezes maior que do esgoto doméstico. Dessa forma, buscam-se alternativas tanto para o reaproveitamento dos componentes do soro, principalmente das proteínas e da lactose e também uma destinação adequada desse efluente. Um filtro biológico pode representar um processo eficiente na remoção de contaminantes orgânicos, de modo a ser utilizado para o tratamento de efluentes de diversas origens. O presente trabalho propôs a construção e a avaliação de um sistema de filtros biológicos, em mini escala, os quais permitem a passagem do efluente (soro de leite) nos interstícios, promovem o crescimento e a aderência de massa biológica na superfície do meio suporte, e tem como funções chave baixar a carga orgânica e promover a melhoria na clarificação do efluente. O sistema proposto, além de baixo custo, é de fácil manuseio, e os materiais utilizados escolhidos como suporte/leito foram biocarvão triturado e o bagaço de cana de açúcar triturado. Como parâmetros de avaliação da eficiência no processo de biofiltração, foram avaliados o pH, a demanda química de oxigênio (DQO), a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a condutibilidade elétrica, o teor de proteínas totais por meio dos métodos de Lowry e Bradford, e o teor de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson. O monitoramento desses itens, antes e após o processo de biofiltração, mostrou uma melhoria significativa em todos os parâmetros estudados, indicando que os sistemas propostos podem representar uma alternativa viável. Os dados permitem concluir que, em escala industrial, o tratamento por meio desse sistema poderia ser utilizado para reduzir de forma significativa o impacto ambiental gerado por efluente a partir de uma indústria de laticínios.

Palavras-chave: Gerenciamento de poluentes, soro de leite, Filtro Biológico e clarificação do efluente.

ABSTRACT

The issue of pollutants in the environment management is gaining more space in the media and in daily life due to its association with environmental impacts. With the increased production and consequent global consumption of milk and dairy products has also increased up to serum production, which in many cases has been discarded without any treatment, damaging the environment. The whey has a high organic load with high levels of carbohydrates, fats, proteins and lactose, so that their pollution power is about one hundred times greater than domestic sewage. Thus, alternatives are sought for both the reuse of serum components, mainly proteins and lactose and also a proper disposal of the effluent. A biofilter may represent an efficient process for the removal of organic contaminants to be used for the treatment of effluents of different origins. This paper proposed the construction and evaluation of a biological filter system in miniescala, which allow the passage of effluent (whey) in the interstices, and promote the growth and adhesion of biological mass at the surface of the support means, and its key features lower the organic load and promote better clarification of the effluent. The proposed system, and low cost, is easy to handle, and the materials used chosen as support / bed biochar were crushed and the crushed sugarcane bagasse. As parameters to assess the efficiency of biofiltration process were evaluated pH, chemical oxygen demand (COD), biochemical oxygen demand (BOD), electrical conductivity, total protein content by the Lowry methods and Bradford and the content of reducing sugars by the Somogyi-Nelson method. The monitoring of these items before and after the biofiltration process, showed a significant improvement in all the parameters studied, indicating that the proposed system may represent a viable alternative. The data shows that, on an industrial scale, treatment through this system could be used to significantly reduce the environmental impact generated by effluent from a dairy industry.

Keywords: Management of pollutants, whey, Biological filter and clarification of the effluent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Molécula de Beta-Lactoglobulina.....	24
Figura 2- Molécula de Alfa-Lactoalbumina.....	24
Figura 3- Estrutura química da lactose.....	25
Figura 4 - Sistema de tratamento.....	30
Figura 5- Representação da reação gerada utilizando o método Somogyi-Nelson...	38
Figura 6 – A) Equipamento construído para o processo de biofiltração.....	40
Figura 6- B) Representação esquemática do equipamento de biofiltração contendo os materiais suporte/leito.....	40
Figura 7 - Curva de calibração de lactose utilizando método de Somogyi-Nelson....	49
Figura 8- Determinação da quantidade de açúcar redutor (lactose) no soro do leite.....	50
Figura 9- Curva de calibração do soro-albumina bovina utilizada para o método de Lowry.....	51
Figura 10- Determinação de proteína no soro do leite nas etapas pelo método de Lowry.....	51
Figura 11- Curva de calibração do soro-albumina bovina utilizada para o método de Bradford.....	52
Figura 12 - Determinação de proteína no soro do leite nas etapas pelo método de Bradford.....	53
Figura 13 - Gráfico da concentração de Lactose (em mg/mL) em função do tempo de passagem através dos diferentes biofiltros (0, 24 e 48 horas).....	54
Figura 14- Gráfico de dosagem proteica através do método de Lowry em função do tempo.....	55
Figura 15 -. Gráfico de dosagem proteica através do método de Bradford em função do tempo.....	55
Figura 16 - Gráfico comparativo entre os métodos de Lowry e Bradford para dosagem proteica em função do tempo.....	56
Figura 17 - Retenção de lactose em função do tempo para cada biofiltro utilizado pelo método de Somogyi-Nelson.....	56

Figura 18 - Retenção de proteína em função do tempo para cada biofiltro utilizado pelo método de Lowry.....	57
Figura 19 - Retenção de proteína em função do tempo para cada biofiltro utilizado pelo método de Bradford.....	57
Figura 20 - Valores de pH obtidos das amostras retiradas dos biofiltros após 24 horas.....	59
Figura 21 - Variação de pH das amostras retiradas dos biofiltros.....	59
Figura 22 - Valores de DQO obtidos das amostras retiradas dos biofiltros.....	61
Figura 23 - Demanda Química de Oxigênio em relação ao tempo de passagem/permanência através dos biofiltros.....	61
Figura 24 - Valores de DBO obtidos das amostras retiradas dos biofiltros.....	62
Figura 25 - Demanda Bioquímica de Oxigênio em relação ao tempo de passagem através do biofiltro.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio para diferentes tipos de águas residuárias.....	18
Tabela 2- Composição média do soro doce e ácido.....	20
Tabela 3- Composição físico-química do leite e do soro de leite doce.....	21
Tabela 4- Características físicas das principais proteínas do soro de leite bovino.....	23
Tabela 5- Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de Lowry.....	36
Tabela 6: Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de Bradford.....	37

LISTA DE SIGLAS OU ABREVIATURAS

α -La- Alfa-Lactoalbumina

β -Lg- Beta-Lactoglobulina

DBO- Demanda Bioquímica de Oxigênio

DQO- Demanda Química de Oxigênio

Ig- Imunoglobulinas

SN-I- Reagente de Somogyi-Nelson I

SN-II - Reagente de Somogyi-Nelson II

Teste de SN- Somogyi-Nelson

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	13
2- OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3- REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	16
3.1 Indústria Láctea.....	16
3.2 Efluente Líquido	17
3.3 Soro de Leite.....	19
3.4 Proteínas do Soro de Leite.....	22
3.4.1 Beta-lactoglobulina	23
3.4.2 Alfa-lactoalbumina	24
3.5 O açúcar do leite / Lactose.....	25
3.6 As destinações do soro de leite	26
3.7 Biofiltração e Biofiltro	29
3.7.1 Meio filtrante	32
3.8 Carvão Ativado.....	33
3.9 Biocarvão	34
3.10 Dosagem de proteínas totais	35
3.10.1 Método de Lowry	35
3.10.2 Método de Bradford.....	36
3.11 Método de Somogyi-Nelson	38
4- MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 Obtenção da amostra e materiais.....	39
4.2 Preparação do Soro	39
4.3 Montagem dos biofiltros em mini escala.....	40
4.4 Reagentes Analíticos	42
4.4.1 Reagentes utilizados para análise de Lactose.....	42
4.4.2 Reagentes utilizados para análise de Proteína	43
4.4.3 Reagentes utilizados para análises da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	43

4.4.4 Reagentes utilizados para análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	44
4.5 Métodos Analíticos – Caracterização do Soro do Leite.....	44
4.5.1 pH	44
4.5.2 Quantificação de Lactose	45
4.5.3 Dosagem Proteica para Método de Bradford.....	45
4.5.4 Dosagem Proteica para Método de Lowry.....	46
4.5.5 Análise da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO).....	46
4.5.6 Análise da Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	47
5- RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 Dosagem de Lactose (açúcar redutor) do soro do leite.....	48
5.2 Dosagem de Proteína Método de Lowry	50
5.3 Dosagem de Proteína Método de Bradford.....	52
5.4 Interpretação da análise de Dosagem de Lactose (Somogyi-Nelson) e Proteína Total (Bradford e Lowry)	53
5.5 Análise na alteração do pH	58
5.6 Produção e Capacidade Poluente do soro de Leite	60
6- CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS.....	72

1- INTRODUÇÃO

Um recurso geralmente é obtido a partir do meio ambiente para atender às necessidades e aos desejos, de modo que os recursos renovados por processos naturais serão considerados sustentáveis caso seu uso não seja mais rápido do que a sua reposição (MILLER, 2011).

Qualquer processo de fabricação na indústria que resulta em um produto gera resíduo e, conseqüentemente, causa a degradação do meio ambiente. Porém, a geração desse resíduo depende do segmento da indústria, matéria prima utilizada e processo de fabricação. Pode se tratar de um resíduo sólido, líquido ou gasoso, que causará a poluição do solo, ar ou água (ALMEIDA, 2004).

Há décadas, existe a preocupação sobre o caráter poluente dos processos industriais que utilizam grandes volumes de água que contribuem com a contaminação dos corpos d'água, em razão de não possuírem um sistema de tratamento para os grandes volumes de efluentes que produzem. A geração de efluentes potencialmente poluidores aos recursos hídricos vai depender das características físicas desse efluente, como odor, temperatura, cor e características relacionadas à presença de compostos orgânicos ou inorgânicos (ALMEIDA, 2004).

A indústria de laticínios representa uma grande importância na economia mundial e uma dos mais importantes do Brasil. Os efluentes de laticínios, compostos por leite e seus subprodutos, que não tenham tratamento prévio geram nos corpos hídricos diversos impactos ambientais, com conseqüente elevação da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) da água, provocando a diminuição do oxigênio dissolvido no meio, a eutrofização dos corpos hídricos e a proliferação de doenças veiculadas pela água (SANTOS, 2009).

Neste contexto, a utilização do filtro para remoção de contaminantes orgânicos é importante para o tratamento de efluentes de diversas origens, principalmente do soro de leite, que possui características nutricionais que possibilitam seu reaproveitamento, embora seja considerado um rejeito e não matéria-prima pelas indústrias de laticínios.

Por meio do lançamento direto aos cursos d'água, o soro de leite que não é aproveitado gera um grave impacto ambiental, dessa forma surgem as seguintes indagações: i) Como a implementação de um filtro biológico poderia minimizar o impacto ambiental gerado pelo descarte do efluente do soro de leite no meio ambiente? ii) Quais seriam os tipos de filtros e mais eficientes? iii) Quais seriam os parâmetros de avaliação quanto às eficiências desses sistemas?

Assim, o presente trabalho teve como objetivo geral a construção e a avaliação de sistemas de biofiltros para soro de leite, testando sua eficiência para promover sua clarificação com redução de carga orgânica e a melhoria da qualidade ambiental desse efluente. A construção foi feita utilizando-se diferentes meios suportes, entre eles biocarvão e bagaço de cana triturados. Parâmetros como demanda biológica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), proteína total (Lowry e Bradford) e açúcares redutores (Somogyi-Nelson) foram utilizados para avaliar a eficiência dos biofiltros propostos.

2- OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Construir e avaliar dois sistemas de biofiltros, visando à melhoria na clarificação do soro de leite, a redução na carga orgânica com vistas à redução do impacto ambiental no efluente de laticínios.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1) Comparar dois sistemas biofiltros utilizando-se como materiais suporte/leito biocarvão e/ou bagaço de cana triturados;

2.2.2) Avaliar a redução de carga orgânica total e clarificação do soro, analisando, antes e após as filtrações, os seguintes parâmetros:

- a) Determinação do pH;
- b) Demanda química de oxigênio (DQO);
- c) Demanda bioquímica de oxigênio (DBO);
- d) Dosagem de proteínas totais (métodos de Lowry e Bradford);
- e) Dosagem de açúcares redutores (método de Somogyi-Nelson).

3- REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1 Indústria Láctea

O setor lácteo tem sofrido grandes transformações, sobretudo na estrutura da indústria. Os países mais desenvolvidos possuem uma produtividade mais elevada e em maior escala produtiva em relação à indústria de laticínios, envolvendo processos produtivos diferentes.

Com a concentração da produção mundial de leite em 20 países, gera a tendência de estabilizar ou diminuir sua produção, de modo que poucos são capazes de crescer de modo expressivo (BORTOLETO, 2001).

A Fonterra com um volume total de 18,6 milhões de toneladas/ano, segundo estudo realizado pelo International Farm Comparison Network (IFCN), se destaca na lista dos grandes captadores mundiais de leite. Em seguida, surgem a Dairy Farmers of America e a Nestlé (CARVALHO; OLIVEIRA, 2010).

De acordo com VILELA et al. (2001), o surgimento da agroindústria de laticínios no Brasil teve início no século XX, com produção primária comercial, nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Atualmente, o Brasil é o sexto maior produtor mundial de leite, representando o laticínio o segmento mais expressivo da indústria de alimentos brasileira. Historicamente, os estados onde há maior produção de leite e consumo de produtos lácteos possuem o maior número de indústrias.

A região Sudeste brasileira é a maior produtora de leite, seguida da Região Sul. No ano de 2008, a região Sudeste teve uma produção de 10,1 bilhões de litros,

sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor, com cerca 7,6 bilhões de litros, representando 27,76% do total nacional (CARVALHO E CARNEIRO, 2010).

Com um aumento significativo no número de indústrias de laticínios no ano de 2010 no país, 34,4% destas se encontram em Minas Gerais e apenas uma pequena parcela possui um sistema de tratamento de efluentes líquidos (NEVES *et al.*, 2010).

As indústrias de laticínios geram 3 subprodutos: soro de leite, o leiteiro e o leite ácido. O soro de leite possui maior importância, visto que possibilita sua reutilização, seja por causa do seu poder poluente e também volume produzido (Martins *et al.*, 2000).

3.2 Efluente Líquido

Em todas as partes do mundo a discussão sobre a poluição do meio ambiente tornou-se fundamental. Os problemas provocados pela contaminação do meio ambiente são resultantes da extração da matéria-prima e consequente transformação em produtos para fins de consumo.

Em termos de poluição de águas receptoras, a indústria de laticínios possui uma contribuição significativa, sendo necessário um tratamento prévio de seus despejos líquidos antes de um descarte final, pois atualmente os principais impactos ambientais gerados estão relacionados ao lançamento destes efluentes, onde a alta carga de material orgânico é característica desse tipo de efluente. Porém esses impactos ambientais também são gerados por resíduos sólidos e emissões atmosféricas. A tabela 1 mostra valores de demanda bioquímica de oxigênio (DBO) a partir de diferentes tipos de efluentes, uma vez que se trata do parâmetro mais largamente utilizado para medir a poluição orgânica de águas receptoras.

Tabela 1- Valores de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) para diferentes tipos de águas residuárias. (GLAZER e NIKAIDO, 1995)

Águas Residuárias	DBO (mg/L)
Esgotos Sanitários	200-600
Efluente de Alimentos-enlatados	500-2000
Efluente de Cervejarias	500-2000
Efluente de processamento de óleo comestível	15000-20000
Efluente de destilaria de álcool (vinhaça)	15000-20000
Percolado de aterros sanitários (chorume)	15000-20000
Efluente de matadouros (sem recuperação de resíduo)	30000
Efluente de curtume	2468-3436
Efluente de laticínios (sem recuperação de soro de queijo)	40000-48000

Cem quilos de soro líquido contêm, em média, 3,5 kg de demanda biológica de oxigênio (DBO), uma força poluidora que equivale ao esgoto produzido por cerca de 45 pessoas (MARTINS, 2013).

A produção de queijo é responsável pela geração de grande quantidade de efluente, sendo considerado um grave problema ambiental, em razão de sua elevada carga orgânica e difícil biodegradabilidade.

Para cada quilo de queijo produzido são gerados de 27 a 55 Kg de soro, ou seja, para cada litro de leite utilizado na fabricação de queijo são gerados de 0,6 a 0,9 litro de soro (MATOS, 2005).

Quando o soro de leite é despejado juntamente com os outros resíduos líquidos de laticínios, isso gera uma elevação da DBO da água, acarretando uma diminuição do oxigênio dissolvido no meio, provocando alteração da temperatura, e aumento na turbidez e eutrofização dos corpos hídricos.

Empresas que produzem 300 mil litros de soro por dia, produzem uma quantidade de carga orgânica equivalente a uma população de 150 mil pessoas (SILVA, 2006).

As indústrias de laticínios de pequeno e médio porte possuem dificuldades financeiras e tecnológicas para obterem um tratamento eficaz de seus efluentes, por isso lançam os efluentes sem qualquer tratamento. Com isso, surge à necessidade de buscar uma solução para a enorme quantidade de soro produzida pela indústria agro-alimentar.

3.3 Soro de Leite

O soro de leite é um subproduto líquido com uma coloração branca à amarelada, possuindo sabor e odor característicos, representando a parte líquida do leite, a qual se separa do coágulo durante a fabricação de queijos. Contém cerca de 55% dos sólidos existentes no leite integral e representa 80 a 90% do volume de leite usado para fabricação de queijos.

O soro de leite pode ser de dois tipos: ácido ou doce. O soro ácido apresenta um pH de 4,6 a 4,7, enquanto o soro doce apresenta o pH em torno de 6,3 a 6,7.

De acordo com FILHO (2010):

Em geral, soros obtidos a partir de queijos coagulados por renina desenvolvem os mais baixos níveis de acidez (soro doce), enquanto a produção de queijos frescos ácidos, como a Ricota ou queijo Cotage, resulta em soro meio ácido ou ácido. O soro obtido da coagulação da caseína por adição de ácido é considerado altamente ácido [...]. (FILHO, 2010, p. 96)

O soro doce apresenta maior teor de lactose e o soro ácido possui maior índice de minerais, sendo que ambos apresentam composição semelhante em relação às proteínas. Na tabela 2 é feita uma comparação entre as composições dos soros ácido e doce.

Tabela 2- Composição média do soro doce e ácido (LEINDECKER, 2011).

Componente (%)	Soro Doce	Soro Ácido
Proteína	0,8	0,7
Lactose	4,9	4,4
Minerais	0,5	0,8
Gordura	0,2	0,04
Água	93	93,5

A composição do soro de leite é caracterizada pelos componentes do leite usados na produção do queijo, da variedade do queijo produzido e do processo produtivo empregado. A tabela a seguir faz uma comparação entre os componentes presentes no leite e no soro de leite doce:

Tabela 3- Composição físico-química do leite e do soro de leite doce.

Determinações	Leite	Soro Doce
Sólidos Totais (ST) %	13,0	6,4
Proteína %	3,6	0,8
Gordura %	3,9	0,5
Lactose %	4,6	4,6
Cinza %	0,8	0,5
Ácido Lático %	-	0,05

Fonte: ANTUNES, 2003.

Dentre os componentes presentes no soro de leite, a lactose e as proteínas solúveis são os mais importantes, uma vez que representam, respectivamente, uma fonte de material energético para processos biotecnológicos e as proteínas possuem aminoácidos essenciais com alto valor nutricional (TIMOFIECSYK *et al*, 2000).

O Brasil produz em média 1,72 milhão de toneladas de soro/ano, das quais 1,58 milhão são descartados, significando uma perda de 11,7 mil toneladas de proteína/ano (ALMEIDA *et al*, 2013).

Em função de uma crescente demanda por alimentos nutricionais e pelas leis ambientais severas, aumenta-se o interesse pelo reaproveitamento do soro de leite. Muitas pesquisas estão sendo realizadas para o aproveitamento do soro na produção de biogás, etanol e proteínas concentradas (SERPA; PRIAMO; REGINATTO, 2009). As áreas de probióticos, prebióticos e virulência viral indicam que há um bom potencial para a produção de alimentos e cosméticos funcionais e saudáveis a partir do soro de leite.

3.4 Proteínas do Soro de Leite

Após a retirada da caseína do leite, resta em solução um grupo de proteínas do soro ou proteínas solúveis, representando de 20 a 25% das proteínas originais do leite.

As proteínas do soro são de origem globular, sendo mais solúveis que as caseínas em água. Se diferenciam da caseína em razão de serem insensíveis às coagulações ácidas, de forma que durante a coagulação das caseínas na elaboração do queijo, as proteínas e parte da lactose permanecem em solução (BALDASSO, 2008).

Representando 70 a 80% da composição das proteínas presentes no soro, as principais proteínas são a beta-lactoglobulina (β -Lg) e as alfa-lactoalbumina (α -La) (HARAGUCHI *et al.*, 2006). As outras proteínas são Albumina do soro bovino (BSA), Imunoglobulinas (Ig), Lactoferrina, Glicomacropéptídeos, Proteose-peptonas, Aminoácidos livres, etc. A tabela a seguir mostra as principais proteínas do soro e suas características físicas como concentrações no soro, massa molar e ponto isoelétrico.

Tabela 4- Características físicas das principais proteínas do soro de leite bovino.

Proteínas do soro	Concentração (g L⁻¹)	Massa Molecular* (kDa)	Ponto isoelétrico
β – lactoglobulina	2,7	18,36	5,2
α – lactalbumina	1,2	14,15	4,5-4,8
Imunoglobulinas	0,65	150-1000	5,5-8,3
BSA	0,4	69,0	4,7-4,9
Lactoferrina	0,1	78,0	9,0
Lactoperoxidase	0,03	89,0	9,5
Glicomacropeptídeo	1,2-1,5	7,0	<3,8

* característica importante para determinar a massa molar de corte da membrana

Adaptado de ZYDNEY (1998).

3.4.1 Beta-lactoglobulina

A beta-lactoglobulina (β-Lg) é a principal proteína do soro do leite, representando cerca de 10% da proteína total do leite ou 50% da proteína soro. Possui em sua estrutura um grupo tiol livre, que permite a associação a outras proteínas hidrofóbicas e duas ligações de dissulfeto internas. A molécula possui nove segmentos na forma de folhas β antiparalelas as quais se arranjam formando um barril achatado que é capaz de ligar pequenas moléculas hidrofóbicas em seu interior (POPPI *et al.*, 2010).

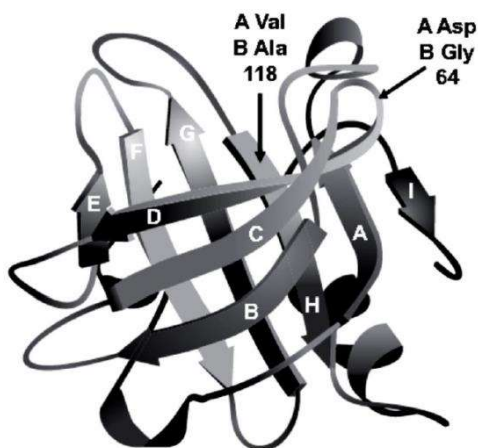


Figura 1- Molécula de β -Lg. (SGARBIERI, 2004)

3.4.2 Alfa-lactoalbumina

A alfa-lactoalbumina (α -La) é a segunda proteína mais abundante no soro do leite, representando 2% das proteínas totais do leite e 13% das proteínas totais do soro (ANTUNES, 2003). Possui uma estrutura globular contendo cerca de 123 resíduos de aminoácidos. Em valores de pH acima de 6,6, comporta-se como monômero e abaixo desse valor como dímero. Apresenta uma fração antimicrobiana contra bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (HARAGUCHI; ABREU; PAULA, 2005).

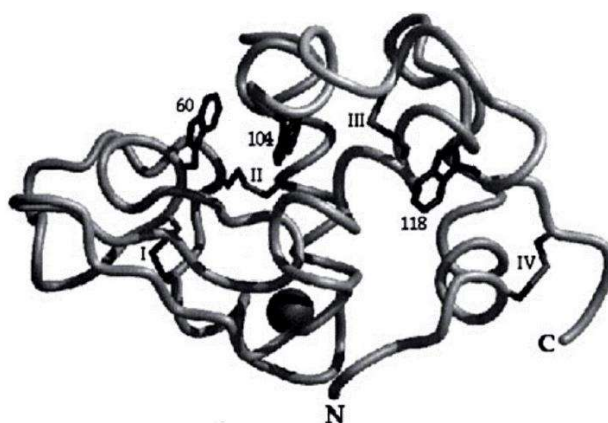


Figura 2- Molécula de α -La.(SGARBIERI,2004)

3. 5 O açúcar do leite/Lactose

Conhecido como o açúcar do leite, a lactose é o carboidrato característico do leite. É um dissacarídeo redutor formado por galactose e glicose e é o componente em maior proporção na massa seca do leite.

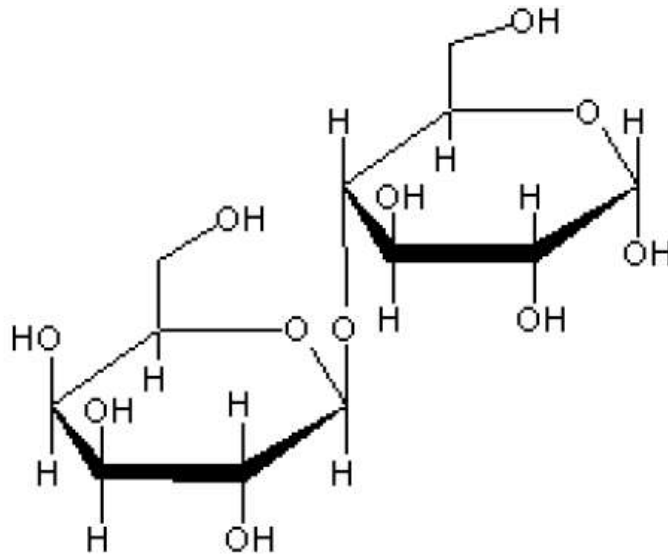


Figura 3- Estrutura química da lactose. (SILVA, 2005)

A lactose pode ser encontrada no leite como no soro de leite, de modo que em termos de sólidos totais corresponde a 40% no leite integral, 50% no leite desnatado e 75% no soro de leite.

Devido a sua baixa solubilidade, seu fraco poder adoçante e não poder ser fermentada por alguns micro-organismos, sua utilização tem sido limitada como alimento e também industrial (CARMINATTI, 2001).

A lactose é utilizada em larga escala em edulcorantes e produtos farmacêuticos, e também pode ser empregada em formulações de alimentos infantis.

Sendo a principal responsável pela alta demanda biológica de oxigênio no soro de leite, tem sido aplicada em diversos processos fermentativos. Tanto o soro de leite quanto a lactose são utilizados como substratos para crescimento microbiano, uma vez que visa à obtenção de produtos com maior valor agregado (GUIMARÃES, 2008). Muitos estudos têm sido realizados para diminuir a carga poluidora do soro de leite, em razão da grande quantidade de lactose presente no soro (TAVARES, 2008).

Para que ocorra a decomposição tanto da lactose quanto das proteínas, é necessária uma alta demanda de oxigênio, e isso gera um impasse em relação ao efluente do laticínio que é descartado sem um tratamento.

Comercialmente, fontes de β -galactosidase são utilizadas para hidrólise da lactose, principalmente espécies de leveduras *Kluyveromyces* sp. e espécies do fungo do gênero *Aspergillus*.

3.6 As destinações do soro de leite

A ideia de que se tem de utilizar o soro de leite como rejeito e não como matéria-prima tem dificultado o aproveitamento deste produto. O soro é aproveitado de maneira inadequada nos locais onde é produzido, desde sua estocagem até o seu descarte. Alguns obstáculos impedem que ocorra o aproveitamento do soro de leite:

- a maioria das indústrias é de pequeno e médio porte, dificultando a implantação de seu aproveitamento ou tratamento;
- nestas indústrias a quantidade de soro de leite gerado é pequena;
- não há mão de obra qualificada nessas unidades produtivas;

- grandes distâncias dos centros urbanos dificulta o rápido escoamento deste produto, fazendo com que os produtores descartem de maneira inadequada em corpos hídricos sem um tratamento prévio.

Diversas são as aplicações do soro, englobando indústrias lácteas, carnes, aromatizantes, panificação, chocolate, aperitivos e bebidas, etc. Desse modo, apenas 50% do soro produzido nos Estados Unidos e na Europa, por exemplo, são usados em formulação de produtos, o restante é tratado como despejo (ANDRADE; MARTINS, 2002).

A seguir estão citadas algumas das possibilidades de utilização do soro conforme revisado por CHIARADIA; FERREIRA, (1999):

1- Adubo: o soro contém os elementos essenciais às culturas, contendo nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, sódio e magnésio. Em países como os Estados Unidos, dependendo da localidade e de fatores econômicos, cerca de 20 a 100% do resíduo são utilizados para benefício das características químicas e físicas do solo. Porém, aplicação do soro em grandes quantidades e por longo período sobre o solo degrada-o, atingindo o lençol freático. As matérias orgânicas se decompõem na superfície, provocando emissões gasosas nocivas.

2- Alimentação animal: o soro de queijo fresco ou fermentado pode ser empregado com sucesso na complementação das rações. Sua utilização gera vantagens na alimentação de monogástricos, principalmente suínos. O soro pode substituir em até 20% da dieta de suínos em fase de crescimento e terminação (Bertol *et al.* 1993). Contudo, a oferta diária tem que ser controlada, porque o excesso de soro na dieta pode provocar diarreia.

3- Fabricação de Queijos: alguns queijos podem ser fabricados a partir do soro, entre eles destacam-se o Sérac francês e Ricota italiana.

4- Fabricação de bebidas: existem bebidas à base de soro líquido na Alemanha, Rússia e Estados Unidos. Os produtos no Brasil são à base de soro fermentado, ou então o soro é adicionado ao iogurte na fabricação de bebidas lácteas.

5- Soro concentrado: tem por objetivo aumentar o extrato seco, reduzindo o volume para abaixar os custos de transporte e o consumo pelos animais. O soro de queijo concentrado possui vantagens em termos de estocagem, porque o produto se conserva adequadamente devido à baixa atividade de água, de forma que o volume produzido a estocar é menor e o custo de armazenagem também se reduz.

6- Soro desidratado ou em pó: a valorização do soro líquido ou concentrado é relativamente limitada e como seus componentes nobres são aqueles que fazem parte do extrato seco. Para que ocorra um melhor aproveitamento do soro são empregados técnicas de desidratação, mediante as quais se obtém o produto seco, com ou sem modificações.

7- O soro lácteo como substrato de fermentações: o soro fermentado, enriquecido com leveduras pode ser empregado diretamente na alimentação animal, porém sua aplicação mais importante é a produção de leveduras alimentares purificadas e secas, fracionadas ou não. A levedura purificada e seca é usada na alimentação animal e humana. Através de suas propriedades texturizantes é muito empregada em salsicharia e na fabricação de biscoitos, sorvetes e chocolates.

No anexo 2 e 3 são apresentadas tabelas exemplificando aplicações de produtos derivados de soro de queijo e suas funções.

3.7 Biofiltração e Biofiltro

A biofiltração ocorre quando um efluente líquido ou gasoso passa através de um meio poroso biologicamente ativo. Compostos como água, gás carbônico, sais minerais e micro-organismos são absorvidos e então são biologicamente degradados. O equipamento para efetuar o processo é simples e requer pouca energia. Inclui uma combinação de adsorção, absorção e degradação microbiana.

Em um biofiltro, o material poluído passa por um material de enchimento biologicamente ativo, o substrato, onde os poluentes orgânicos ou inorgânicos são degradados por micro-organismos e transformados em produtos inócuos. Esse processo é diretamente influenciado pelo fluxo do fluido que atravessa o reator, pelas características dos materiais filtrantes, pela umidade, temperatura e pelo pH. É necessário um rigoroso controle para que o ambiente esteja o mais próximo das condições ótimas para os micro-organismos, garantindo uma reserva de nutrientes.

A figura 4 a seguir exemplifica um processo de tratamento de efluente utilizando um biofiltro na indústria de laticínios, com seus vários estágios para se obter uma água residual com elevado teor de pureza.

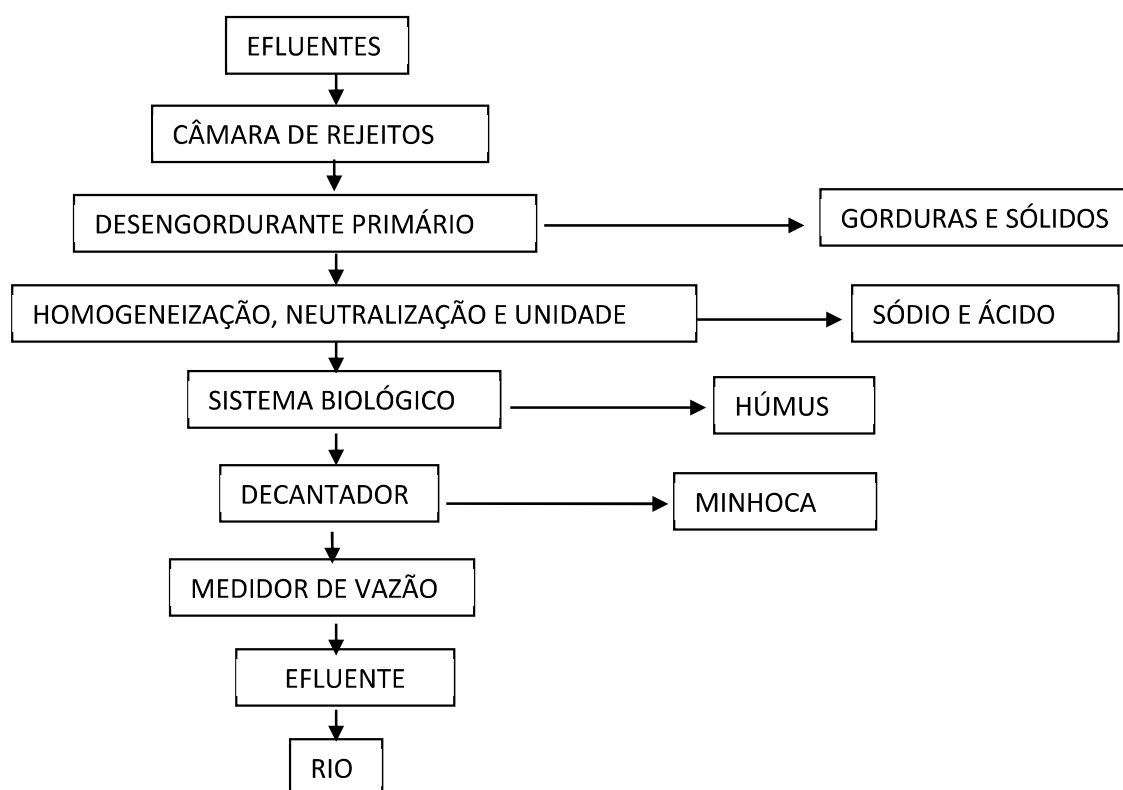


Figura 4- Sistema de tratamento (SILVA, F. K.; EYNG, Jonathan, 2011).

Uma das utilizações do processo consiste na filtragem de soro do leite em indústrias lácticas. O soro do leite, quando não tratado e descartado no meio ambiente, torna-se um forte agente poluidor. Assim, para que ocorra o descarte do soro inutilizado, é necessária a realização de seu pré-tratamento, podendo ser o processo de biofiltração.

Os primeiros biofiltros foram criados nos Estados Unidos e Alemanha com o intuito de controlar odores em sistemas de tratamento de esgotos, sendo derivados de plantas de compostagem, desde então estão sendo cada vez mais utilizados para a depuração de emissões. No ano de 1991, existiam cerca de 50 unidades instaladas nos Estados Unidos e 500 unidades na Holanda e Alemanha (SILVA, F. K.; EYNG, Jonathan, 2011).

Em um processo de biofiltração verificam-se os efeitos da umidade do ar, temperatura, entrada e saída do poluente orgânico e a população de micro-organismos para se determinar a taxa de degradação, uma vez que depende do tipo de poluente e das características físicas e biológicas do leito filtrante.

O parâmetro que diretamente interfere no bom funcionamento do biofiltro é o conteúdo ótimo do teor de umidade. Este é essencial ao controle da atividade, a sobrevivência e a atividade dos micro-organismos. Um baixo teor de umidade pode provocar uma diminuição da atividade microbiana, o quebraimento e a contração do leito, aumentando os custos. Em contrapartida, um aumento na taxa desse parâmetro causa a oclusão de poros, que reduzem a eficiência da filtração.

Em sistemas biológicos, o efeito da alteração do valor de pH interfere diretamente na velocidade das reações enzimáticas. Na biofiltração, a atividade máxima está inserida entre os valores de pH 5,0 e pH 9,0. Em biofiltros, cujo material a ser tratado é um líquido, pode ocorrer a acidificação do meio com o acúmulo de compostos como ácidos clorídrico, sulfúrico e nítrico. Esse acúmulo faz com que ocorra uma diminuição drástica da atividade microbiana, comprometendo a eficiência do biofiltro.

Outro fator importante que influencia no crescimento microbiano e na atividade enzimática é a temperatura. Em biofiltros, a maioria dos micro-organismos é de mesófilos, ou seja, vivem em temperaturas entre 20°C a 40°C. As velocidades de reação e de difusão aumentam em altas temperaturas; entretanto, um brusco aumento na temperatura pode causar a morte dos micro-organismos (CONVERTI, A.; ZILLI, M, 1999).

3.7.1 Meio Filtrante

A descoberta do material filtrante ideal é de extrema importância para garantir a eficiência do biofiltro, otimizando a retirada dos compostos, minimizando o volume da reação e diminuindo o consumo de energia, paralelamente aos custos da manutenção. Em geral, os materiais mais usados são terras adubadas, esterco e turfa, uma vez que garantem uma grande área superficial, alto índice de retenção de água, nutrientes e uma elevada capacidade de imobilização celular. Porém, esses materiais ao longo do processo podem envelhecer, perdendo sua capacidade de filtração e inativando o biofiltro. Para prevenir esse tipo de transtorno, estes materiais são misturados com materiais inertes, como esferas de poliestireno, bolinhas de vidro, argila, serragem, pedras, entre outros, para aumentar a superfície reativa e a durabilidade do leito.

A porosidade e a uniformidade de tamanho das partículas em um biofiltro são importantes para gerar uma grande área superficial e habilidade para suportar a microflora.

O solo tem sido extremamente utilizado em razão de sua alta disponibilidade, o fato de ele conter matéria orgânica, ser poroso e suportar a população microbológica (SILVA, 2008). Trata-se de um tipo de suporte mais estável do que os resíduos de compostagem, reduzindo a probabilidade de compactação do leito.

O bagaço de cana é o maior resíduo da agroindústria brasileira, sendo a matéria-prima usada para geração de energia por meio da incineração, o excedente deste resíduo que não é utilizado, vem causando sérios problemas de estocagem e de poluição ambiental. Uma das alternativas é a sua utilização como meio suporte para filtros desodorizadores (SILVA, 2008).

Podem ocorrer dois tipos de fenômenos entre o meio filtrante e os solutos: adsorção ou solubilidade dos poluentes através de interações de Van der Waals entre a superfície do substrato e o soluto, e pode ocorrer a metabolização através da ação dos micro-organismos (CARVALHO *et al*, 2001).

3.8 Carvão Ativado

O carvão ativado é um conjunto de materiais carbonosos amorfos que apresentam um elevado grau de porosidade sendo utilizado em processos de purificação onde se deseja purificar, recuperar e remover odores, de modo que moléculas poluentes se concentram sobre a superfície do carvão ativado e são removidas.

São fabricados a partir de materiais como madeira, casca de coco, sementes, ossos, coque turfa, petróleo, etc., os quais são carbonizados e ativados para que se crie uma estrutura porosa e de grande área superficial, onde os contaminantes se aderem (SILVA, 2005).

As propriedades utilizadas do carvão para o tratamento de efluente incluem área superficial, distribuição do tamanho dos poros, densidade do carvão, resistência à abrasão, teor de umidade, dureza, conteúdo de cinzas, tamanho da partícula, etc. (SILVA, 2005).

A estrutura dos poros é que determina as condições para que ocorra a adsorção, uma vez que o material adsorvente pode interagir com muitas superfícies simultaneamente.

O carvão ativado encontra-se disponível sob duas formas, pó ou granular. Partículas menores de carvão ativado do tipo granular são mais eficientes em relação à capacidade de adsorção, o que está diretamente ligada ao tamanho das partículas (CICHOWICZ, 2010).

3.9 Biocarvão

Biocarvão é um produto formado a partir da decomposição térmica da biomassa, em ambiente fechado, através de suprimento limitado de oxigênio e de temperaturas relativamente baixas. Apresenta um elevado teor de carbono e grande área superficial por possuir uma porosidade consequente do processo de queima (MADARI *et al.* 2009).

Absorve compostos orgânicos solúveis em sua superfície por apresentar atividade química, por ser capaz de reter água e servir de abrigo para micro-organismos (Benites *et al.* 2005).

O biocarvão pode ajudar a resgatar dióxido de carbono da atmosfera e fornecer energia, aumentando a produtividade agrícola quando misturado ao solo. Quando morrem, as plantas liberam dióxido de carbono que absorveram novamente no ambiente, mas a pirólise retém de 20% a 50% desse carbono.

A mineração contribui para a poluição do solo, pois produzem grandes quantidades de rejeitos, muitas vezes com elevados teores de Ni, Cr, Cu, Pb, Cd e Zn, que afetam a vegetação. Esses metais por não serem degradados pelos microrganismos geram um sério problema ambiental (Ribeiro Filho *et al.* 2001). Dessa forma, o biocarvão pode ser utilizado visando a remediação de tais áreas.

3.10 Dosagem de proteínas totais

Para a determinação do teor de proteínas totais, torna-se necessário desenvolver estudos das técnicas espectrofotométricas que são de grande utilidade em diferentes áreas, abrangendo desde a indústria de alimentos até laboratórios de análises clínicas (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

As proteínas do leite possuem características físico-químicas que resultam em propriedades funcionais que são de grande interesse tecnológico: solubilidade; absorção e retenção de água e gordura; capacidade emulsificante e estabilidade das emulsões e geleificação.

Entre os métodos que mais se destacam para análise de proteínas totais, temos o de biureto, Lowry, Bradford, Smith e de absorção de proteínas no ultravioleta (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

3.10.1 Método de Lowry

Método para determinação de proteínas totais e foi proposto por Wu em 1922, sendo o método mais utilizado para determinação de proteínas (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

O método se baseia numa mistura de molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin Ciocalteau) que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador Cu^{+2} e produz um composto em absorção máxima de 750nm. Os aminoácidos cromógenos são tirosina e triptofano. O desenvolvimento da cor do ensaio parece ser bastante estável até 4 horas após a adição do reagente de Folin-Ciocalteau (SANTOS, 2012).

Tem sido utilizada para determinação da concentração de proteínas totais devido sua alta sensibilidade, além de apresentar menor consumo de amostra. Porém esse método muitas vezes pode estar sujeito a interferentes, apresentar longo tempo de análise, possuir absorvidade específica variável para diferentes proteínas, e representar a lei de Beer-Lambert apenas numa faixa pequena de concentração de proteínas. A tabela 5 mostra alguns dos interferentes para o método de Lowry.

Tabela 5- Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de Lowry (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

Interferentes	Comentários
Lipídios	Provocam turbidez das amostras
Detergentes	Provocam a formação do precipitado
Tampão Tris-HCL	Reage com o reativo de Folin-Ciocalteu resultando em falso positivo
Açúcares	Reagem com o reativo de Folin-Ciocalteu resultando em falso positivo
RNA	Aumenta a absorção das amostras

3.10.2 Método de Bradford

Método utilizado para determinação de proteínas totais em soluções aquosas, eliminando certos problemas que acontecem em outros procedimentos utilizados, o qual processa um número grande de amostras.

O método de Bradford depende da interação que ocorre entre o corante Coomassie Brilliant Blue BG-250 e macromoléculas de proteínas que contêm

aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. Ocorre interação entre a proteína e o corante BG-250 (vermelho) no pH da reação, de modo que irá provocar um deslocamento do equilíbrio do corante para a sua forma aniônica (azul), absorvendo a 595nm (ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

O processo de ligação entre a proteína e o corante é bastante rápido e a cor adquirida é estável durante 1 hora. Poucas são as substâncias interferentes no método de Bradford. Geralmente esses interferentes interrompem a ligação com o corante BG-250 ou reagem com o corante, resultando em um complexo com maior absorbância. A tabela a seguir mostra os interferentes mais comuns ao método de Bradford:

Tabela 6: Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de Bradford.

Interferentes	Comentários
Ureia	Fornecer resultado falso positivo, acima de 45 g/L.
Cloreto de sódio e de potássio	Fornecem resultado falso negativo, acima de 1 M.
Detergentes (Triton X-100, SDS, Tween-20)	A larga banda de absorção em 650 nm, devido a reação entre o corante e os detergentes, interfere na banda em 595 nm, resultando em falso positivo.
Lipídios	Causam turbidez na amostra.
Fluoreto	Diminui a absorção da amostra.

3.11 Método de Somogyi-Nelson

Método que se baseia nas propriedades redutoras dos açúcares através da reação da hidroxila hemiacetálica dos monossacarídeos (açúcares simples não hidrolisáveis) (MALDONADE, 2013).

Para ocorrer o descarte do soro de leite se torna necessário um pré-tratamento, podendo ser os processos de biofiltração, para se reduzir a porcentagem de açúcares redutores. Após a biofiltração, o nível de açúcares redutor será determinado através do método de Somogyi-Nelson.

Os açúcares redutores possuem um grupo aldeído ou cetona, os quais em soluções alcalinas reduzem a íons de cobre, prata, bismuto e mercúrio, compostos de valência menor (MALDONADE, 2013).

Neste método empregam-se oxidantes como os íons cúpricos (Cu^{2+}) em meio alcalino e a cor produzida (azul) pela oxidação da glicose é comparada por análise colorimétrica com um padrão de glicose. A intensidade da coloração azul é diretamente proporcional à quantidade de lactose na amostra (Protocolo método de Somogyi-Nelson).

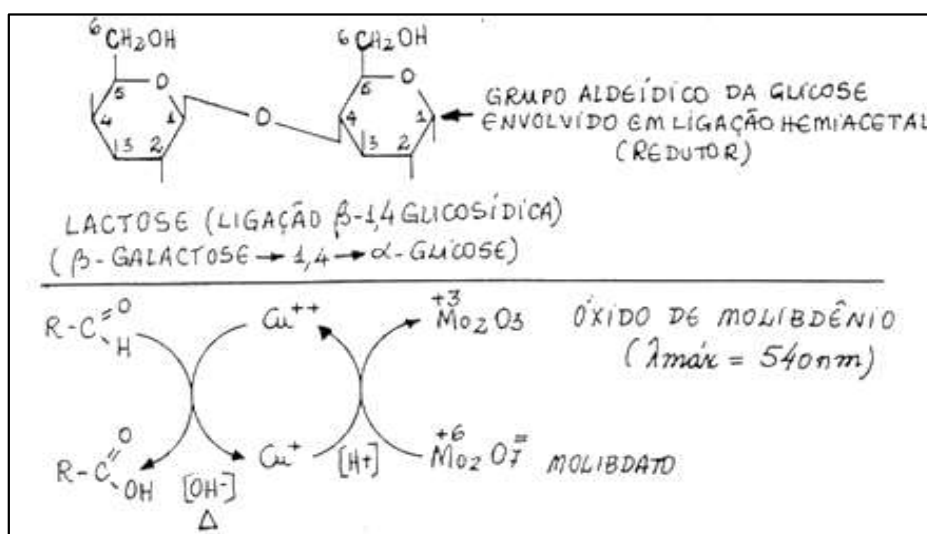


Figura 5- representação da reação gerada utilizando o método Somogyi-Nelson. (MOURA, 2012)

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção da amostra e materiais

Para este trabalho, foi utilizado o soro de leite, em pó, (Marca Tangará Alimentos – Vila Velha, Brasil) gentilmente cedido pelo Professor Bruno Meireles Xavier do Laboratório Biotecnológico do Campus Alto Paraopeba da Universidade Federal de São João del-Rei.

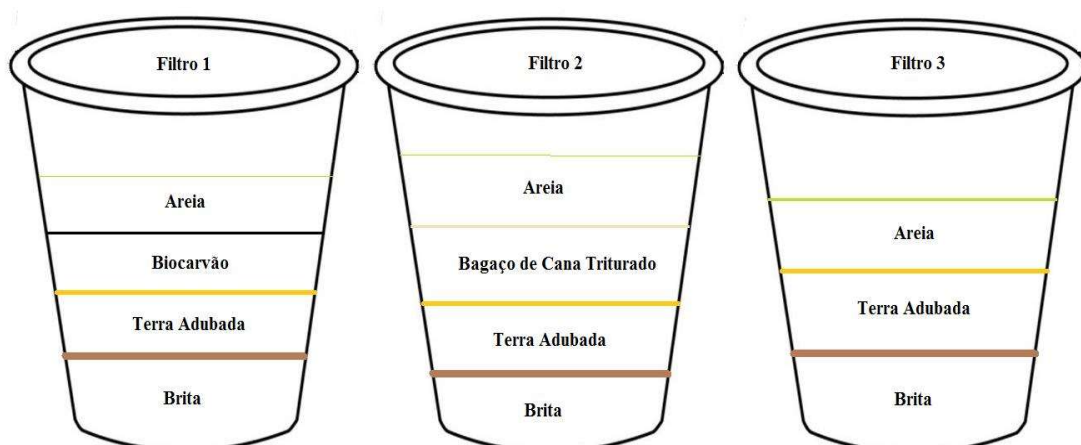
Em relação aos materiais utilizados como suporte/leito para a construção dos biofiltros, foram utilizados brita, areia e terra adubada, comuns a todos os biofiltros e biocarvão e/ou bagaço de cana-de-açúcar como objetos deste trabalho. A brita, tipo zero, e a areia fina foram obtidas em casas de materiais de construção da cidade de Ouro Branco. A terra orgânica foi doada pela Floricultura Pingo de Ouro, da cidade de Ouro Branco. O bagaço de cana-de-açúcar triturado foi fornecido por um comerciante local no município de Ouro Branco. O biocarvão triturado foi obtido junto ao Grupo PET Biotecnologias para a Sustentabilidade - UFSJ/CAP (Pet BioSus).

4.2 Preparação do Soro

Para a obtenção do soro de leite, uma solução a partir do soro em pó foi preparada na concentração 4% (m/v) em água, à temperatura ambiente (27 °C). As amostras foram armazenadas em refrigerador a 8°C até o momento da realização das análises. Amostras que não foram imediatamente utilizadas foram armazenadas em freezer a -4°C.

4.3 Montagem dos biofiltros em mini escala

O processo de biofiltração foi realizado em um sistema de bancada localizado no Laboratório Biotecnológico do Campus Alto Paraopeba da UFSJ. Os sistemas de biofiltração estão representados na figura 6 A e B.



Figuras 6 - A) Sistemas em PVC construídos para o processo de biofiltração. Composto de balde de 6 litros, adaptado com torneira de $\frac{1}{2}$ polegada. B) Representação esquemática dos sistemas de biofiltração contendo os materiais suporte/leito dispostos nas seguintes porcentagens (m/m): 25% brita, 25% terra adubada, 25% biocarvão, 25% areia e 25% bagaço de cana-de-açúcar.

Os potes foram preenchidos com as camadas dos diferentes elementos citados, formando os biofiltros. O biofiltro de número 1 foi preenchido com brita, terra adubada, biocarvão e areia, nesta ordem. Já no biofiltro de número 2 utilizou-se brita, terra adubada, bagaço de cana-de-açúcar triturado e areia. Finalmente, no biofiltro de número 3 (Controle) foram utilizadas apenas brita, terra adubada e areia. Em todos os sistemas, a terra adubada foi utilizada como fonte de inóculo microbiano.

Os materiais utilizados como suporte/leito foram lavados com água e, em seguida, foram deixados para secagem durante 24 horas. Com uma capacidade de 6 litros, foram colocados em cada biofiltro cerca de 3 litros de materiais suporte/leito para que se pudesse armazenar a amostra do soro de leite posteriormente. Após a montagem dos biofiltros, foi feita a lavagem usando cerca de 3 litros de água sendo colocados 500mL em intervalos de tempo de um minuto, para evitar a formação de canais preferenciais que provocam a redução do tempo de residência, deixando a torneira aberta até que saísse o máximo de água possível. Em seguida, foi aplicado cerca de 3 litros da amostra de soro de leite em cada biofiltro deixando em repouso durante 48 horas.

4.4 Reagentes Analíticos

4.4.1 Reagentes utilizados para análise de Lactose

- Reagente de Somogyi-Nelson I (SN-I):

Para o preparo da SN-1, preparou-se, sob aquecimento, a solução contendo 0,4% (m/v) de sulfato de cobre anidro (CuSO_4), 2,4% (m/v) de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) e 1,2% (m/v) de tartarato duplo de potássio, com volume final de 1000mL. A solução foi colocada em repouso por um dia, em ambiente escuro, filtrada em papel de filtro e armazenada em frasco âmbar.

- Reagente de Somogyi-Nelson II (SN-II):

≥ Solução A: Para esta solução, foram pesadas 50g de molibdato de amônio anidro ou 53,09g de molibdato de amônio tetra hidratado em 900mL de água destilada. Adicionar 42mL de H_2SO_4 concentrado lentamente.

≥ Solução B: para a solução B, 6g de arseniato dibásico de sódio anidro foram dissolvidos em 50mL de água destilada.

As soluções A e B foram misturadas e colocadas em repouso por 24 horas a 37°C, em estufa. A seguir foi armazenada em frasco âmbar por até 30 dias a 20-25°C.

4.4.2 Reagentes utilizados para análises de Proteína

- Dosagem Proteica por Método de Bradford

A solução do corante foi preparada a partir da dissolução de 10mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 em 5mL de etanol. Sob agitação e por gotejamento, adicionaram-se 10mL de ácido ortofosfórico 85%, elevando-se o volume em balão para 100mL com H₂O destilada, filtrando-se a solução em filtro de papel faixa azul (filtração lenta).

- Dosagem Proteica por Método de Lowry

Preparou-se o reagente A, que consistiu na adição de 20g de bicarbonato de sódio em um litro de hidróxido de sódio 0,1N. O reagente B consistiu em adicionar 1g de tartarato de sódio em 100mL de água e acrescentou-se 0,5g de sulfato de cobre pentahidratado. O reagente C foi preparado somente na hora do uso e consistiu em misturar 50 partes do reagente A com 1 parte do reagente B. O reagente D, também preparado na hora do uso, consistiu em Reagente Folin-Ciocalteu diluído em proporção 1:1 em água.

4.4.3 Reagentes utilizados para análises da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

Para esta solução, foram adicionadas, com indicação do fabricante, pastilhas de hidróxido de lítio em cada garrafa de amostra cuja finalidade era remover o

dióxido de carbono produzido pelos micro-organismos que oxidam a matéria orgânica. Também, conforme indicação do fabricante foi adicionada o nutriente do kit de DBO em cada garrafa de amostra de modo a se obter um ótimo crescimento das bactérias.

4.4.4 Reagentes utilizados para análises da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

Preparou-se uma solução padrão de dicromato de potássio (0,25N), dissolvendo 12,259g de dicromato de potássio (previamente seco a 103°C) em 1000mL de água destilada. Uma solução de ácido sulfúrico 20% (v/v) foi preparada, a qual faz parte do procedimento de análise de DQO.

4.5 Métodos Analíticos - Caracterização do Soro de Leite

4.5.1 pH

O termo pH representa a concentração de íons hidrogênio em uma solução. O eletrodo de medida de vidro é imerso em eletrólito onde entra em contato com a amostra formando uma ponte salina, desenvolvendo um potencial de junção mínimo. A diferença de potencial do eletrodo de medida e o de referência será a resposta à variação do pH na solução de interesse, através da atividade do íon H^+ (CECCHI, 2007).

A análise de pH foi realizada no laboratório biotecnológico da Universidade Federal de São João del-Rei Campus Alto Paraopeba. Os valores foram

determinados utilizando pHmetro digital modelo mPA-210, devidamente calibrado com soluções tampão de pH 4 e 10 de acordo com as instruções do fabricante.

4.5.2 Quantificação de Lactose

A dosagem de lactose no soro do leite foi feita utilizando-se o método de Somogyi-Nelson que mede o teor de açúcares redutores.

A análise foi realizada no laboratório biotecnológico da Universidade Federal de São João del-Rei Campus Alto Paraopeba. Para determinação de açúcares redutores, pipetou-se 1,0mL da amostra em um tubo de ensaio e adicionou-se 2,0mL do reagente SN-I. O tubo foi agitado e aquecido em banho maria (em ebulição) por 6 minutos. Resfriou-se o tubo em banho de gelo por 5 minutos. 2,0mL de SN-II foram adicionados, seguido de agitação e repouso por 5 minutos à temperatura ambiente. Foram adicionados 25mL de água destilada e feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540nm. O branco consistiu em substituir 1,0mL da amostra ou padrão por água destilada.

Para a construção da curva padrão de açúcar redutor, foram feitas diluições da solução padrão de glicose (500mg/L) com água destilada em tubos de ensaio (Tabela 01). Em seguida, os tubos foram homogeneizados e retirada uma alíquota de 1,0mL para o teste de SN.

4.5.3 Dosagem Proteica por Método de Bradford

Para cada solução de reagente de Bradford, foi preparada uma curva de calibração com soluções de albumina de soro bovino de concentração até 1 mg/mL.

A análise foi realizada no laboratório biotecnológico da Universidade Federal de São João del-Rei Campus Alto Paraopeba. Os frascos foram homogeneizados e lidos em 595nm após 2 minutos e antes de 1 hora. A partir da leitura das absorbâncias, determinou-se a concentração de proteínas presentes na amostra utilizando a equação da curva padrão.

4.5.4 Dosagem Proteica por Método de Lowry

A análise foi realizada no laboratório biotecnológico da Universidade Federal de São João del-Rei Campus Alto Paraopeba. Em um tubo de ensaio colocou-se 0,5mL de amostra e 2,5mL de reagente C foram adicionados. Os tubos foram agitados e deixados em descanso por 10 minutos à temperatura ambiente. A seguir, adicionou-se 0,25mL de reagente D seguida de homogeneização. As amostras foram lidas a 750nm após 30 minutos ou mais, à temperatura ambiente.

Para cada solução de reagente de Lowry, foi preparada uma curva de calibração com soluções de albumina de soro bovino de concentração até 1 mg/mL.

4.5.5 Análise da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

O parâmetro mais utilizado para medir a poluição orgânica de águas é a demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Refere-se à quantidade de oxigênio dissolvido na água necessária para a oxidação bioquímica das substâncias orgânicas presentes na água durante certo período de tempo. Também pode ser definida como a quantidade de oxigênio requerida pelos micro-organismos para estabilizar a matéria orgânica que se consegue decompor sob condições aeróbicas.

A análise da DBO foi realizada no laboratório de Controle da Qualidade de Água da empresa Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) do município de Pirapora-MG. Foi utilizado o aparelho DBOTrak-HACH da marca Hexis Científica para determinação da DBO, onde o efluente foi incubado por 5 dias a 20°C. O método consiste na medição do oxigênio utilizado pelos micro-organismos, dentro de um sistema fechado, pela diminuição de pressão causada, que é proporcional ao CO₂ liberado, sendo este absorvido pelas pastilhas de Hidróxido de Lítio, com medida inicial e ao longo dos 5 dias (STANDARD METHODS, 20th ed.)

Colocou-se uma barra magnética dentro de cada âmbar contendo a amostra e aplicou-se uma pasta vedante na boca da garrafa. Em seguida, foi adicionado o hidróxido de lítio a cada garrafa, as quais foram colocadas no aparelho e todo o conjunto colocado na incubadora a 20°C, sendo ligado o aparelho de DBO com o tempo de duração de teste de 5 dias.

4.5.6 Análise da Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) é definida como a quantidade de oxigênio necessária para oxidar quimicamente a matéria orgânica e inorgânica oxidável de uma determinada água.

No lugar do oxigênio dissolvido, é usado o íon dicromato, Cr₂O₇⁻², dissolvido em ácido sulfúrico juntamente com sulfato de prata (catalisador) e sulfato de mercúrio (para minimizar a interferência de cloreto), resultando em um poderoso agente oxidante, mas também um poderoso resíduo poluente contendo mercúrio, prata e cromo (ALVES, 2010).

A análise da DQO foi realizada no laboratório biotecnológico da Universidade Federal de São João del-Rei Campus Alto Paraopeba. Esta determinação foi realizada em sistema fechado, onde foram adicionados em tubos de ensaio de 2,5mL da amostra do soro de leite, 1,5mL da solução de dicromato de potássio e 3,5mL da solução de ácido sulfúrico. Os tubos foram submetidos à digestão a 150°C por 2 horas no bloco digestor para fazer a digestão da amostra, de acordo com a metodologia do Standard Methods of Examination of Water and Wastewater.

Após resfriamento do sistema, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro em comprimento de onda de 620nm, quando valor obtido no espectrofotômetro já é expresso em mg O₂/L de DQO. Por meio de curva de calibração com solução padrão de biftalato de potássio a 1500 mg/L (equivalente a 1880.mg.O₂/L), a absorbância obtida foi convertida em concentração de O₂ em mg/L.

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Dosagem de lactose (açúcar redutor) do soro do leite

Para dosagem de açúcar redutor, utilizou-se o método de Somogyi-Nelson, como descrito no item 4.5.2, cuja leitura foi realizada a 540nm. Para as análises de dosagem de lactose, foram retiradas alíquotas da amostra inicial do soro de leite, e em intervalos de 24 e 48 horas após a amostra ficar em repouso no biofiltro, sendo todas as alíquotas retiradas em triplicata.

Uma curva padrão de calibração, utilizada para posterior determinação da concentração de açúcar redutor no soro do leite, foi feita utilizando-se lactose como apresentado na Figura 7.

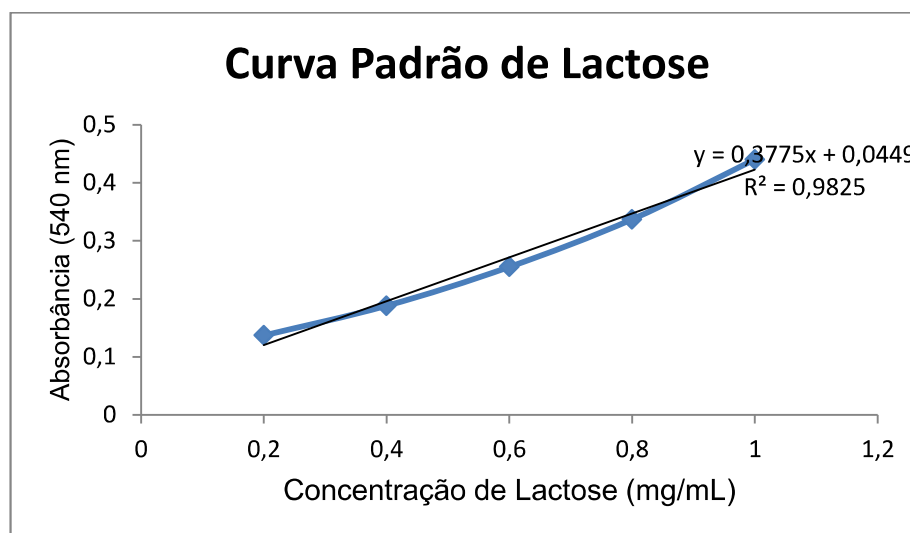


Figura 7- Curva de calibração de lactose utilizando método de Somogyi-Nelson.

Para se determinar as concentrações de açúcar redutor foi utilizada a seguinte equação da curva padrão de lactose:

$$y = 0,3775x + 0,0449$$

A seguir, uma figura que apresenta os valores obtidos nas dosagens em mg/mL:

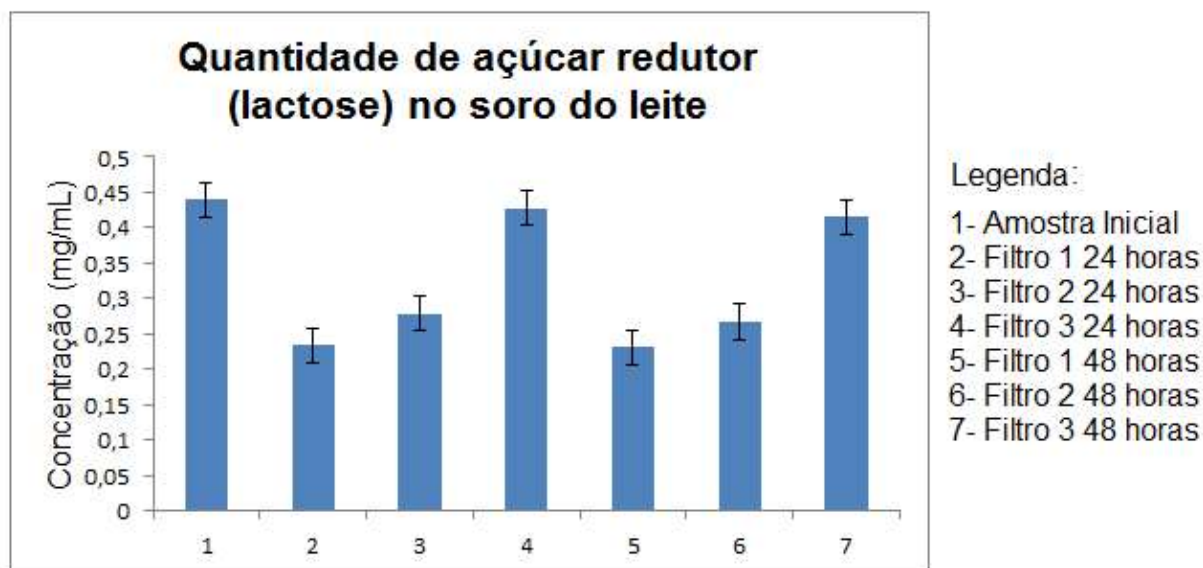


Figura 8- Determinação da quantidade de açúcar redutor (lactose) no soro do leite.

Pode-se notar pela figura que, após o tratamento utilizando os biofiltros, os valores encontrados de açúcar redutor foram inferiores em relação aos valores iniciais, demonstrando que os processos de tratamento realizados foram eficazes na retirada de açúcar redutor (lactose). Essa constatação ficou ainda mais evidente para os dois elementos avaliados como suporte para os biofilmes microbianos, quais sejam, respectivamente, adição de biocarvão, no caso do filtro 1, e bagaço de cana no filtro 2, comparados ao controle apenas areia e inóculo (filtro 3). Os resultados representam médias das 3 medições em triplicata.

5.2 Dosagem de Proteína Método de Lowry

A dosagem de proteínas, feita por meio do método de Lowry, teve a leitura feita a 750nm, quantificando os seguintes resultados que seguem abaixo. Todas as amostras foram medidas em triplicata. Com isso, foi construída uma curva padrão utilizando a Albumina (1mg/mL) a partir dos seguintes cálculos de concentração e

absorbância, de modo que as concentrações utilizadas foram 7,5µg/mL, 15µg/mL, 22,5µg/mL, 30µg/mL, 45µg/mL, 60µg/mL e 75µg/mL.

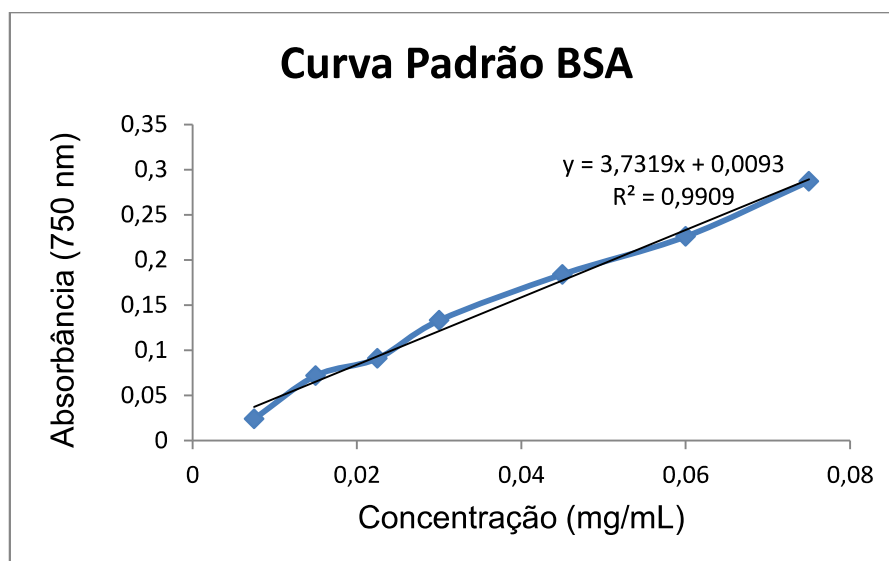


Figura 9- Curva de calibração da soro-albumina bovina utilizada para o método de Lowry.

A figura a seguir demonstra os resultados obtidos com as dosagens de proteína no soro do leite em mg/mL nas três etapas de processamento. A partir da figura, podem-se notar diferenças existentes entre as dosagens de proteínas:

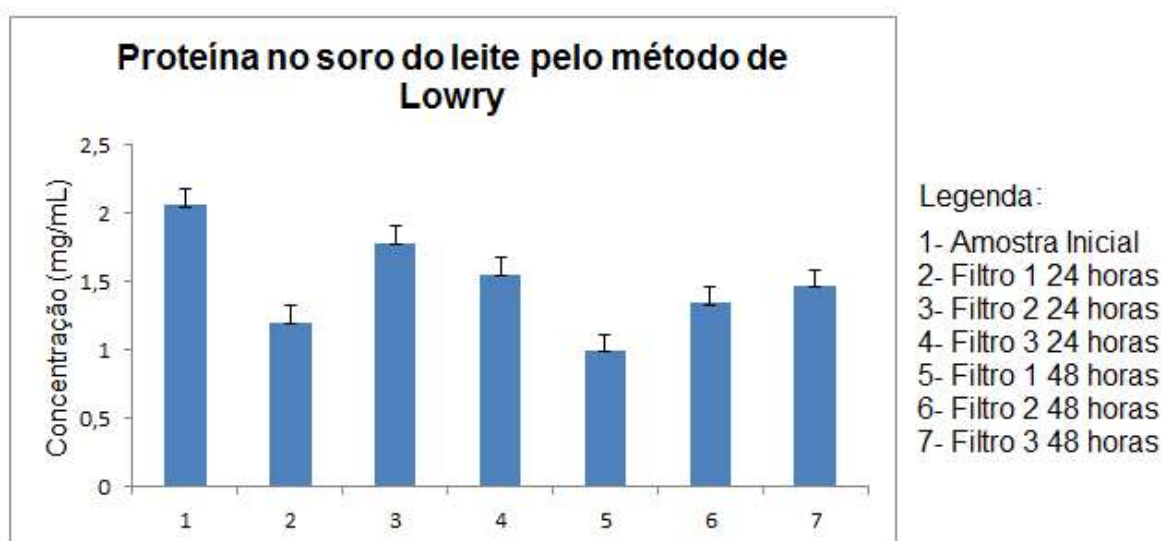


Figura 10- Determinação de proteína no soro do leite nas etapas pelo método de Lowry.

Em 24 horas, o biofiltro 2 contendo bagaço de cana-de-açúcar triturado obteve maior concentração de proteína total. Pode-se observar que somente após 48 horas se obtém resultados significativos, ou seja, trata-se do tempo necessário para que o biofiltro 2 comece a criar as condições favoráveis para uma melhor retenção da proteína.

5.3 Dosagem de Proteína Método de Bradford

Todas as amostras foram medidas em triplicata, com a leitura feita a 595nm, quantificando os seguintes resultados que seguem abaixo. Foi utilizada a mesma curva padrão utilizada na dosagem de proteínas pelo método de Lowry.

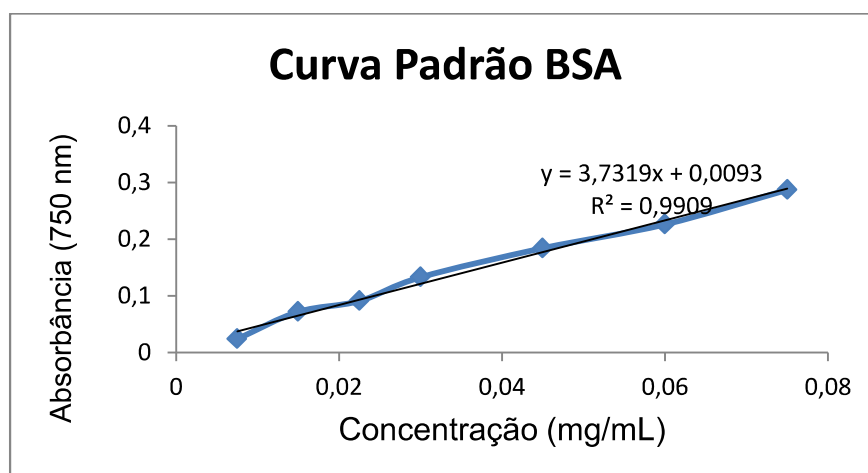


Figura 11- Curva de calibração da soro-albumina bovina utilizada para o método de Bradford.

A figura a seguir demonstra os resultados obtidos com as dosagens de proteína no soro do leite em mg/mL nas três etapas de processamento:

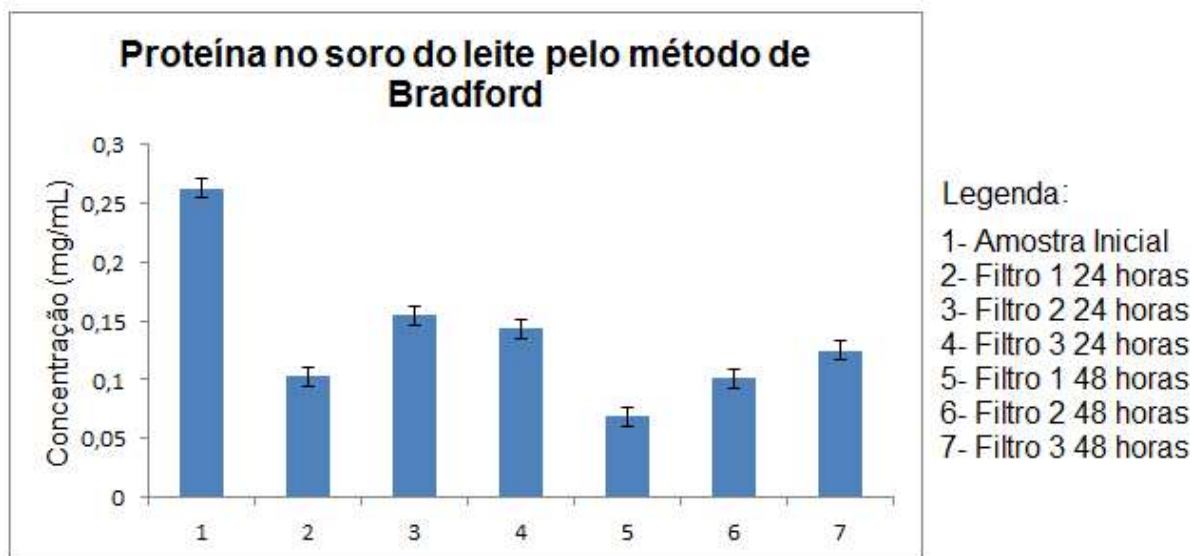


Figura 12- Determinação de proteína no soro do leite nas etapas pelo método de Bradford.

5.4 Interpretação da dosagem de lactose (Somogyi-Nelson) e proteína total (Bradford e Lowry)

A lactose é responsável por 80% da capacidade poluidora contra 20% da fração proteica, dentre todos os componentes do soro, sendo que essa variação nos valores está relacionada a diversos fatores. A quantidade de proteínas totais presentes no soro está relacionada, na sua maioria, às proteínas Albumina de Soro Bovino (BSA), α -lactoalbumina (α -la) e β -lactoglobulina (β -lg). (HARAGUCHI *et al*, 2005).

A lactose presente no soro do leite interfere na análise pelo método de Lowry e de Bradford. A lactose, sendo um açúcar redutor, reduz o cobre presente na solução de dosagem de proteína, provocando com isto um aumento na coloração, e consequentemente valores superestimados de proteína.

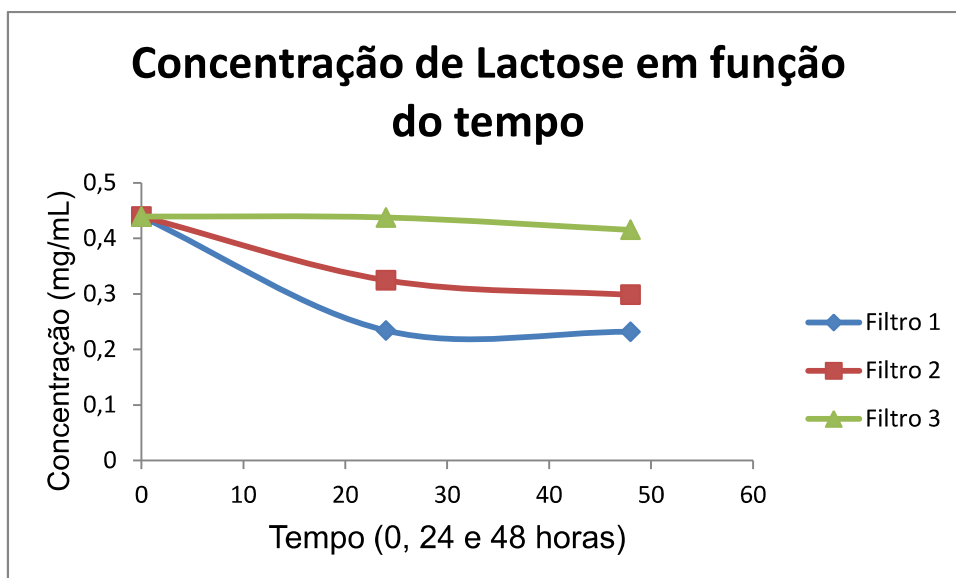


Figura 13- gráfico da concentração de Lactose (mg/mL) em função do tempo de passagem através dos diferentes biofiltros (0, 24 e 48 horas).

Como foi visto na figura, o açúcar redutor foi diminuído após a passagem pelo biofiltro, colaborando desta forma para a dosagem real da quantidade de proteínas no soro tratado, tentando fazer com que o fator “presença de açúcar redutor” fosse reduzido ao máximo possível. O filtro 3 (controle), que contém apenas brita, terra adubada (inóculo) e areia, foi o que obteve maior concentração de lactose entre todos os biofiltros, o que pode ser justificado por se tratar do biofiltro que obteve menor índice de retenção, de modo que o biofiltro 1 representa o biofiltro com maior índice de retenção de lactose. Em seguida, foram construídos gráficos comparativos entre os métodos de Lowry e Bradford para dosagem de Proteína Total.

A seguir são apresentadas as figuras que demonstram as dosagens proteicas obtidas dos métodos de Lowry e Somogyi-Nelson em função do tempo nos biofiltros:

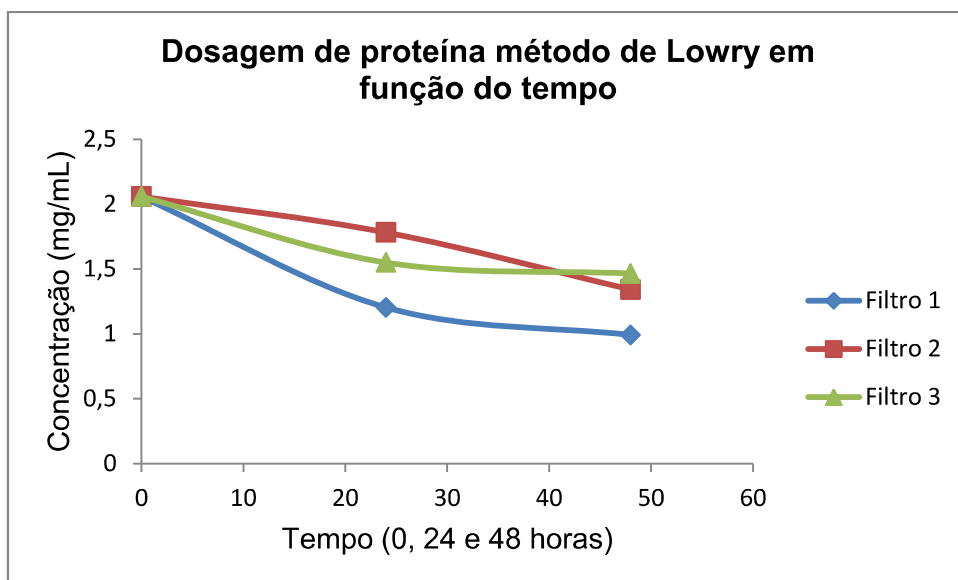


Figura 14- gráfico de dosagem proteica através do método de Lowry em função do tempo.

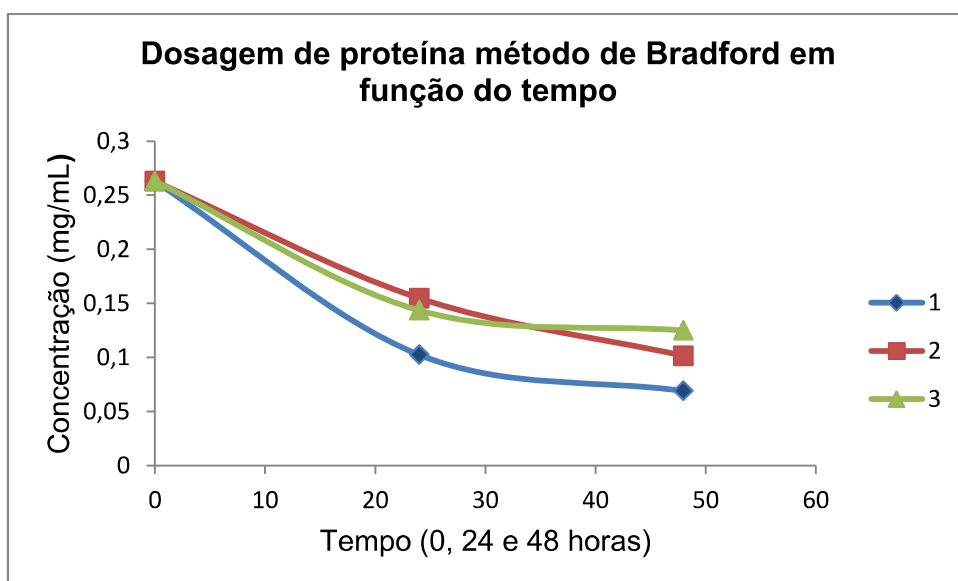


Figura 15- gráfico de dosagem proteica através do método de Bradford em função do tempo.

Com o decorrer do tempo observa-se que o biofiltro 1, contendo o biocarvão, obteve a menor concentração de proteína em relação aos demais biofiltros nos dois métodos utilizados para dosagem proteica (Lowry e Somogyi-Nelson). A seguir será

demonstrada a figura que faz uma comparação entre os dois métodos de dosagem proteica:

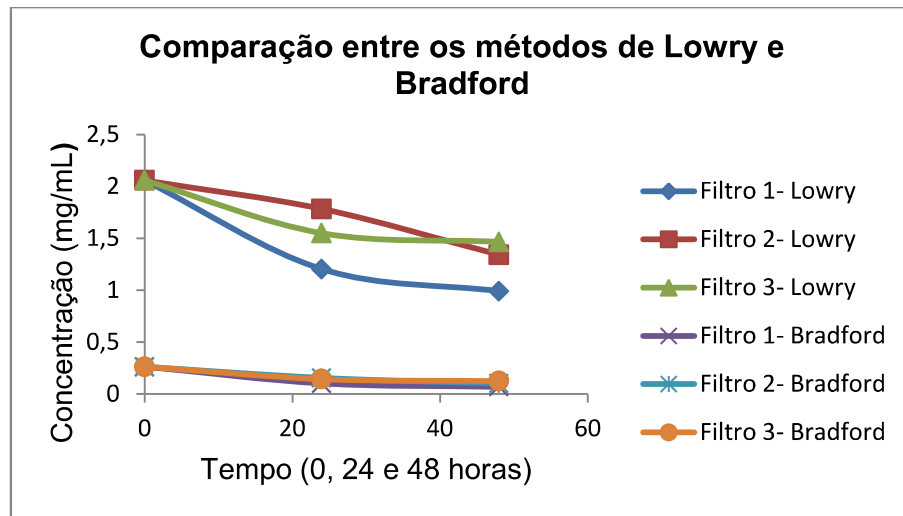


Figura 16- gráfico comparativo entre os métodos de Lowry e Bradford para dosagem proteica em função do tempo.

As figuras a seguir demonstram os gráficos da retenção observada em função do tempo de cada biofiltro, para os métodos de dosagem de lactose e para os métodos de proteína total. Para isso, foi feita a diferença entre as amostras após a passagem nos biofiltros em 24 e 48 horas em relação à amostra inicial.

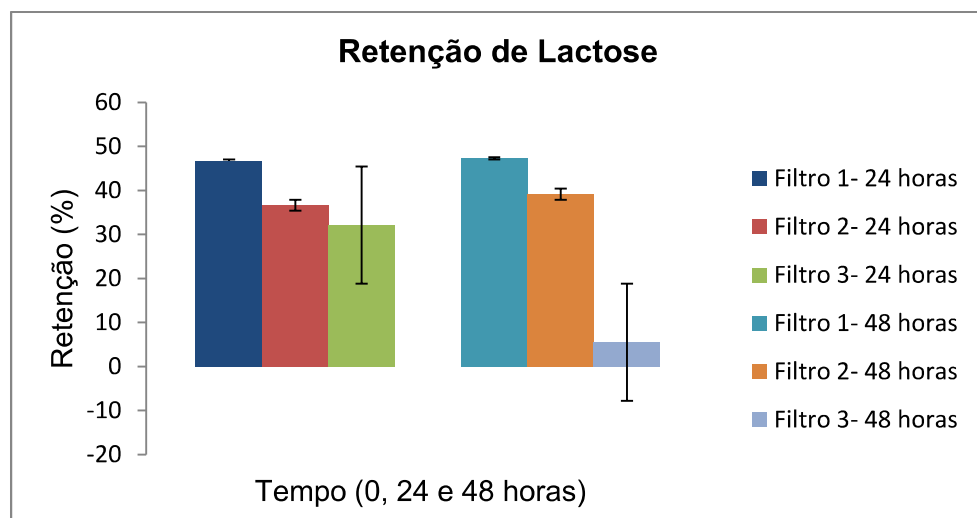


Figura 17- retenção de lactose em função do tempo para cada biofiltro através do método de Somogyi-Nelson.

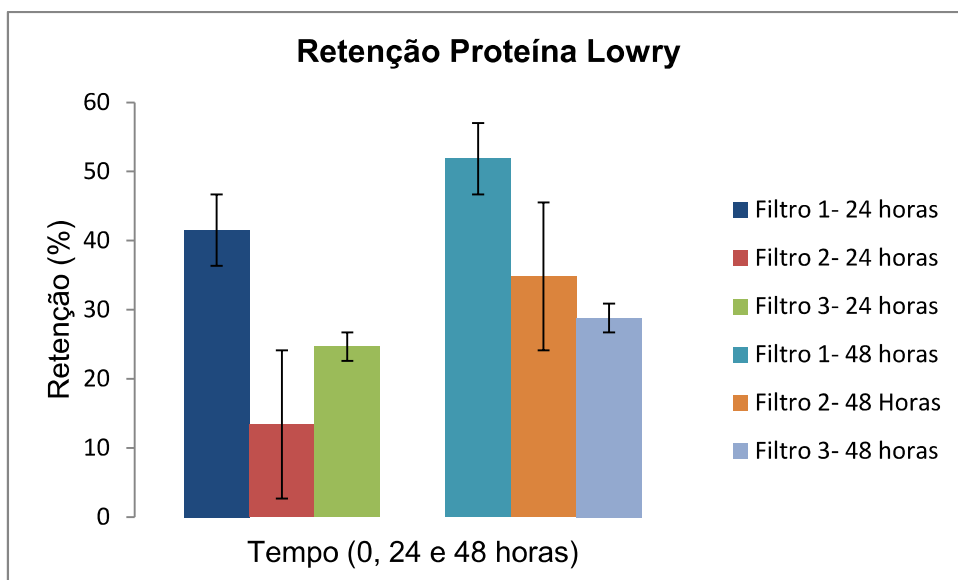


Figura 18- retenção de proteína em função do tempo para cada biofiltro através do método de Lowry.

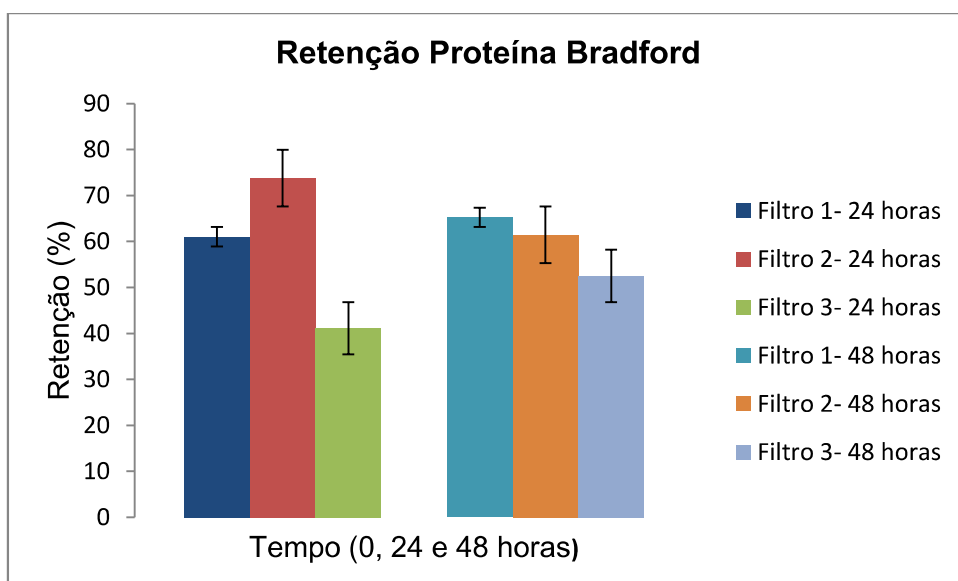


Figura 19- retenção de proteína em função do tempo para cada biofiltro através do método de Bradford.

Por meio da análise dos gráficos, pode-se observar que a retenção de lactose e proteína através dos sistemas de biofiltros, em média, foi efetiva obtendo-se resultados satisfatórios, onde os melhores resultados foram obtidos pelo biofiltro 1 (biocarvão) tanto para a dosagem proteica, quanto de lactose nos diferentes tempos

de 24 e 48 horas. Para a análise da porcentagem de retenção de proteína pontuamos algumas observações:

- Nos dois métodos de dosagem proteica (Lowry e Bradford), à medida que se aumenta o tempo da passagem através do biofiltro, aumenta-se a porcentagem de retenção de proteína. O biofiltro 1 (Biocarvão) utilizado para o método de dosagem proteica foi o que obteve a menor concentração de proteína total entre os dois métodos de dosagem e os demais biofiltros, sendo o biofiltro que possui o maior índice de retenção de proteína. Isso se deve pelo fato do biocarvão possuir uma maior porosidade, significando em uma maior retenção proteica.

- Nos dois métodos de dosagem proteica, o método de Bradford foi o método que obteve maiores índices de retenção de proteínas, ou seja, trata-se do método de dosagem proteica mais eficiente para tratar o resíduo do soro de leite.

Fazendo-se uma análise em relação aos índices de retenção de proteína total e lactose, utilizando o método de Bradford para dosagem proteica obteve-se resultados satisfatórios de 60 a 75% quando comparado com o método de dosagem de Lactose (Somogyi-Nelson) que obteve resultados de 35 a 45% de retenção.

5.5 Análise na alteração do pH

O valor de pH da amostra de soro de leite antes da passagem pelo biofiltro foi de 6,8. Posteriormente foram aferidos os valores de pH para todas as amostras de soro de leite após a passagem pelos biofiltros nos tempos 24 e 48 horas, e os valores estão representados nas figuras a seguir.

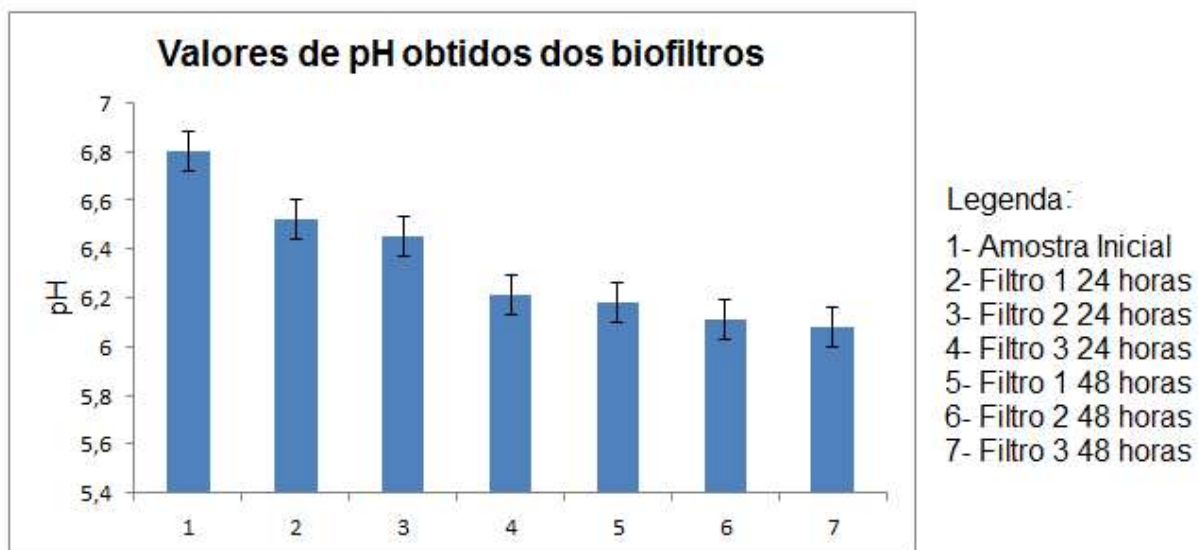


Figura 20- Valores de pH obtidos das amostras retiradas dos biofiltros.

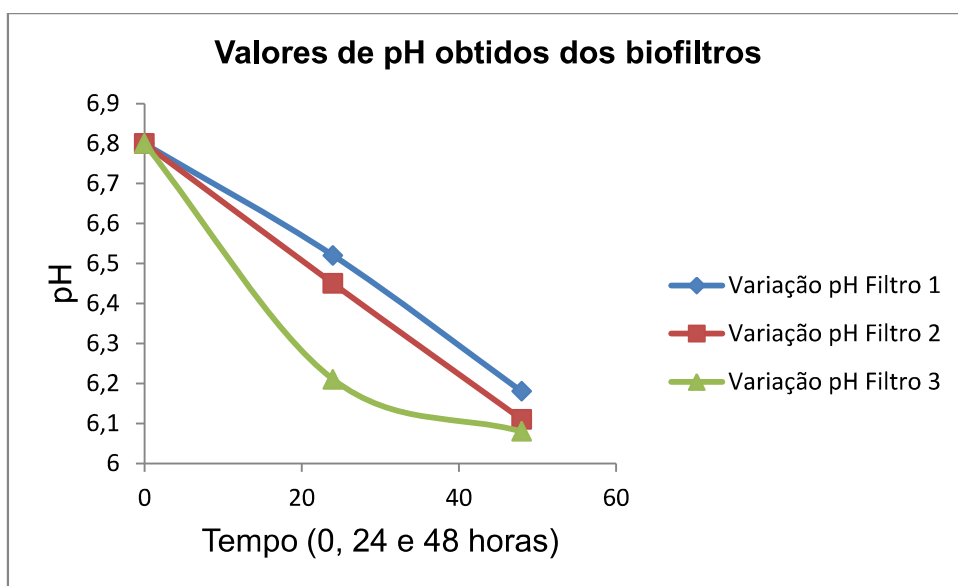


Figura 21- Variação de pH das amostras retiradas dos biofiltros.

O soro do leite produzido a partir da coagulação da caseína em seu ponto isoelétrico, pela ação da renina e o soro proveniente da precipitação ácida, são classificados respectivamente como “soro doce” e “soro ácido”, de modo que para

valores maiores que 5,6 ele é classificado como soro doce, e inferior a esse valor representa o soro ácido (Pelegriane; Carrasqueira, 2008).

Os valores encontrados são característicos de soro doce e se enquadram nos valores pré-estabelecidos pela Resolução Conama 430/2011, entre 5,0 e 9,0, para o lançamento de efluentes, ou seja, em uma análise individual dos parâmetros de lançamento o pH encontrado não seria uma condicionante ambiental a se resolver.

Em razão das altas concentrações de lactose, o rejeito de soro de leite tende a acidificar o meio rapidamente, consequentemente, resultando no abaixamento do pH. Como o soro de leite possui baixa capacidade tamponante, o abaixamento de pH inibe a atividade de micro-organismos metanogênicos, o que compromete o tratamento do efluente.

5.6 Produção e capacidade poluente do soro de leite

Embora a Resolução CONAMA 357/05 não faça referência ao parâmetro DQO na classificação dos corpos d'água e nos padrões de lançamento de efluentes líquidos, algumas legislações ambientais estaduais estabelecem limites máximos para este parâmetro em seus padrões de lançamento. A demanda química de oxigênio (DQO) é um parâmetro global utilizado como indicador do conteúdo orgânico de águas residuárias e superficiais, e bastante utilizado no monitoramento de estações de tratamento de efluentes líquidos (DANIEL, 2008).

A partir da curva de calibração utilizada para a Demanda Química de Oxigênio (DQO) e para posterior determinação da concentração, foi obtida a equação da reta que se encontra a seguir:

$$y = 4909.x - 39,354$$

A figura a seguir apresenta os valores obtidos de DQO em mg/mL de O₂/mL.

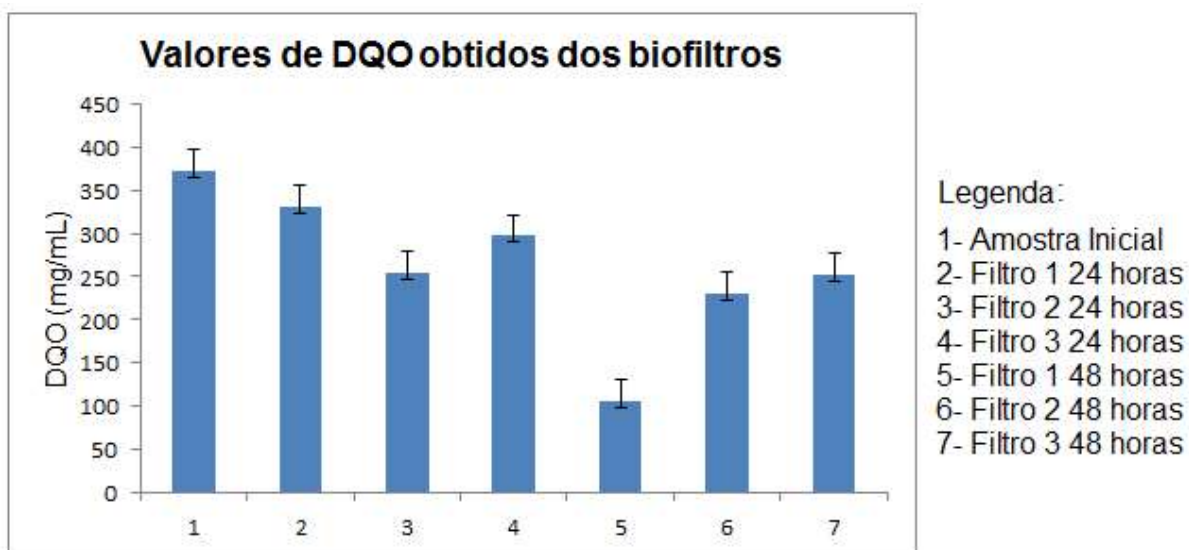


Figura 22- Valores de DQO obtidos das amostras retiradas dos biofiltros.

O Gráfico que relaciona a Demanda Química de Oxigênio em relação ao tempo de passagem/permanência através do biofiltros nos tempos de 24 e 48 horas é demonstrado a seguir. Conforme pode ser observado, uma sensível queda nesse parâmetro é observada nos sistemas de biofiltros empregados.

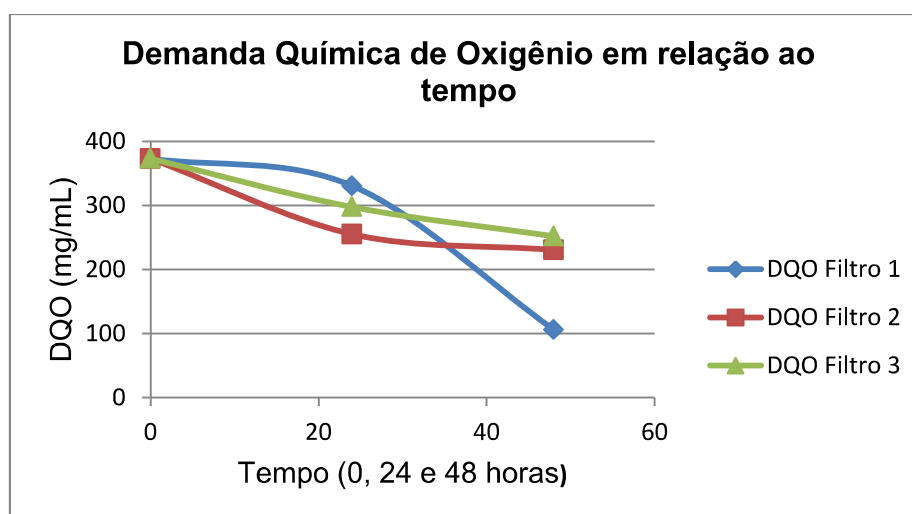


Figura 23- Demanda Química de Oxigênio em relação ao tempo de passagem/permanência através dos biofiltros.

Enquanto na DQO o fenômeno é provocado pela ação de uma substância química, na DBO se tem uma oxidação realizada pela ação microbiana. Dessa forma, a DBO mede o peso do oxigênio dissolvido utilizado no decorrer do processo biológico de degradação de matérias orgânicas. Os valores obtidos para a Demanda Bioquímica de Oxigênio, após o tempo de incubação de 5 dias, está apresentado na figura abaixo e, de forma semelhante, esse parâmetro também demonstrou efetivos os sistemas de biofiltros utilizados na redução da DBO.

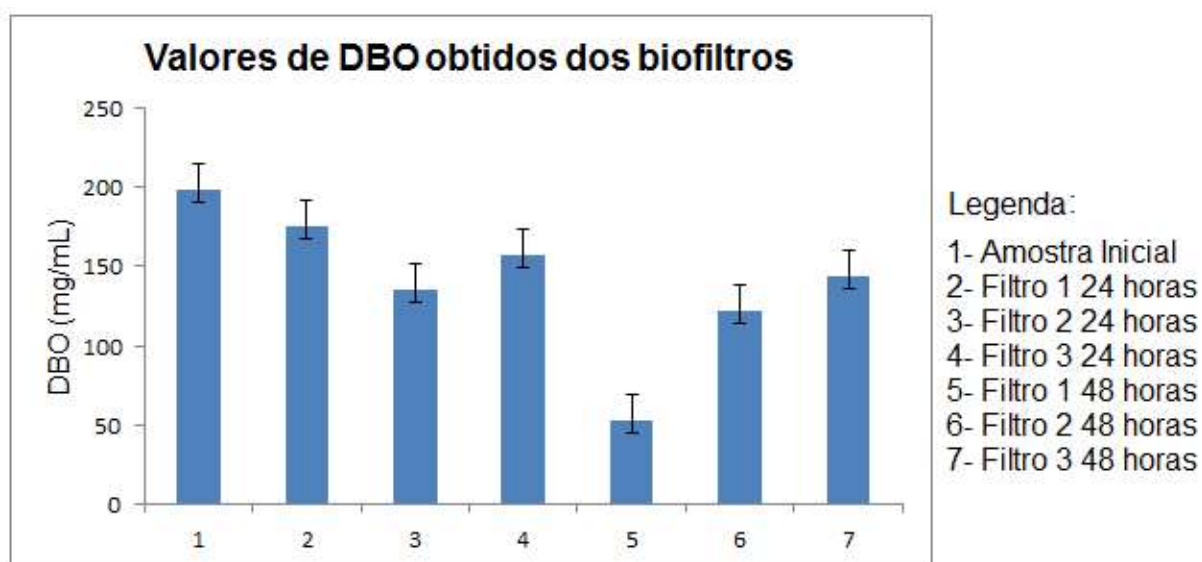


Figura 24- Valores de DBO obtidos das amostras retiradas dos biofiltros.

O Gráfico que relaciona a Demanda Bioquímica de Oxigênio em relação ao tempo de passagem através do biofiltros nos tempos de 24 e 48 horas é demonstrado a seguir:

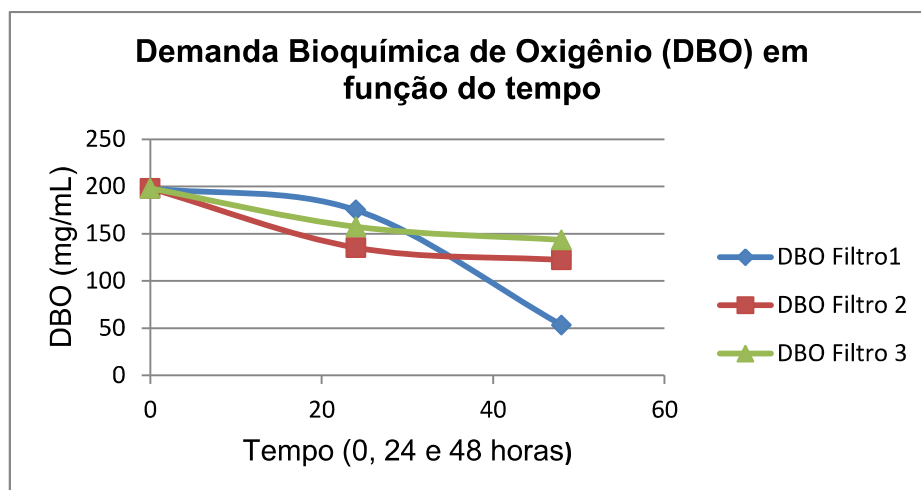


Figura 25- Demanda Bioquímica de Oxigênio em relação ao tempo de passagem através do biofiltro.

Cabe ressaltar que, comparando com dados da literatura, os valores da DQO são maiores que da DBO nos testes de laboratório, de tal forma que a DQO é realizada num prazo muito menor que a DBO, sendo determinada em primeiro lugar e os resultados servem de orientação para o teste da DBO (DERISIO, 2002).

Em nossos sistemas de biofiltros, tanto os valores da Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio foram reduzidos, demonstrando que o tratamento de efluente foi eficiente, sendo um método alternativo para redução da carga orgânica do rejeito, ou seja, a diminuição do potencial contaminante do soro de leite.

A eficiente degradação da matéria orgânica ocorre no biofiltro 1 (Com adição de biocarvão), onde se obteve a maior diminuição da carga orgânica do soro de leite.

6- CONCLUSÃO

O soro de leite é considerado um subproduto da indústria de laticínios devido sua composição em lactose, proteínas e gordura. Tratamentos convencionais de efluentes nas indústrias de laticínios não são eficientes para diminuir o seu potencial poluidor, portanto, é necessário buscar formas alternativas para a diminuição da carga orgânica do soro de leite. A utilização do biofiltro foi eficiente, uma vez que os índices de retenção de proteína total e de lactose foram satisfatórios, ocorrendo a diminuição do potencial poluente, estimada através da Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio.

Os resultados de DBO podem ser afetados por fatores ligados à atividade das bactérias, sendo que os resultados de DQO são independentes destes fatores. Pelo fato de ser uma oxidação química, na DQO todo o material existente no efluente é oxidado. Sendo assim, os resultados de DQO são maiores aos resultados da DBO. Os resultados experimentais demonstram que após a passagem do efluente através do biofiltro, ocorreu uma diminuição nos valores de DQO e DBO mostrando a eficiente degradação da matéria orgânica, sendo o biofiltro 1 (Com adição de biocarvão) aquele onde se obteve a maior diminuição da carga orgânica do soro de leite.

Os valores de pH encontrados são característicos de soro doce, cujos valores são superiores a 5,6, e encontram-se dentro dos valores estabelecidos pela Resolução Conama 430/2011, sendo que este valor demonstra que as amostras de soro de leite utilizadas (em pó) não representam agravante para se gerar um impacto ambiental.

A concentração do açúcar redutor (Lactose) foi diminuída após a passagem pelo biofiltro. O filtro 3 (controle) sem adição de biocarvão ou bagaço de cana (apenas brita, terra adubada e areia), foi o que obteve maior concentração de lactose entre todos os biofiltros, sendo o que apresentou menor índice de retenção, e o biofiltro 1 (biocarvão), maior índice de retenção/diminuição de lactose. É possível admitir que nessa condição uma maior atividade biológica, utilizando o biocarvão, tenha ocorrido em função do favorecimento do desenvolvimento de biofilmes microbianos.

Quando se aumenta o tempo da passagem/permanência através do biofiltro, aumenta-se a porcentagem de retenção de proteína. O biofiltro 3, utilizado para o método de dosagem proteica, foi o que obteve a maior concentração de proteína total entre os dois métodos de dosagem e os demais biofiltros, sendo o biofiltro que possui o menor índice de retenção de proteína. Isso também indica uma atuação eficiente dos elementos avaliados como leitos (carvão e bagaço) nos sistemas 1 e 2 na degradação de proteína residual.

Entre os dois métodos de dosagem proteica utilizados, o método de Bradford foi o que obteve maiores índices de retenção de proteínas, ou seja, trata-se do método de dosagem proteica mais eficiente para se tratar o resíduo do soro de leite.

Fazendo-se uma análise em relação aos índices de retenção de proteína total e lactose, a dosagem de proteína total por meio do método de Bradford foi o mais eficiente para detectar retenção de proteínas obtendo até 75% de retenção, e na retenção de lactose pelo método de dosagem de lactose (Somogyi-Nelson) obteve 45% de retenção.

Assim, o monitoramento desses diferentes itens, antes e após o processo de biofiltração, mostrou uma melhoria significativa em todos os parâmetros estudados,

indicando que os sistemas propostos podem representar uma alternativa viável. Os dados permitem concluir que, em escala industrial, o tratamento por meio desse sistema poderia ser utilizado para reduzir de forma significativa o impacto ambiental gerado por efluente a partir de uma indústria de laticínios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C.C., *et al.* **Proteína do Soro de Leite: Composição e suas Propriedades Funcionais.** Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2013.

ALMEIDA, Edna dos Santos. **Tratamento do efluente da indústria de queijos por processos biológicos e químicos.** Dezembro de 2004. Disponível em: <<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtls000345134.pdf>>. Acessado em: 14/10/2014.

ALVES, T. C. **Acompanhamento de análises ambientais: efluentes, águas e alimentos.** Relatório de estágio apresentado ao curso de Química, do Centro de Ciências Exatas e Naturais da Universidade Regional de Blumenau, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química. Blumenau, Santa Catarina, 2010.

ANDRADE, Rafael Leite Pinto de; MARTINS, José Francisco Pereira. **Influência da adição da fécula de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) sobre a viscosidade do permeado de soro de queijo.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 22, n. 3, p.249-253, dez. 2002.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de Proteínas do Soro de Leite Bovino.** Barueri: Manole, 2003.

BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas.** Dissertação (Mestrado). Porto Alegre: Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. p.179.

BENITES, V.M., MADARI, B.E., MACHADO, P.L.O.A. **Matéria Orgânica do Solo.** In Wadt, P.G.S. (ed) Manejo do Solo e Recomendação de Adubação para o Estado do Acre. Rio Branco: Embrapa Acre, 2005. p. 93-120.

BERTOL, T.M.; GOMES, J.D.F. & SILVA, E.D. **Soro de leite integral na alimentação de suínos em crescimento e terminação.** R. Soc. Bras. Zootec., 22:993–1002, 1993.

BORTOLETO, Eloisa Elena. **Os maiores exportadores e importadores de lácteos no mundo.** 2001. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=482>>. Acessado em: 14/10/2014.

CARMINATTI, C.A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidade *Kluyveromyces lactis*.** Dissertação (Mestrado). Florianópolis: Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2001. p.79.

CARVALHO, C. M.; WOLFF, B. D.; RIBEIRO, L. G.; CHIARANDA, S. H.; COSTA, R. H. R.; BELLI FILHO, P. **Biofiltração para desodorização em reatores anaeróbio**. In: CONGRESSO DA ABES, 21, 2001, João Pessoa. Anais... João Pessoa: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), 2001.

CARVALHO, Glauco Rodrigues; OLIVEIRA, Clesiane de. **Indústria de laticínios, Brasil no contexto internacional**. 2010. Disponível em: <http://www.agroanalysis.com.br/materia_detalhe.php?idMateria=870>. Acessado em: 14/10/2014.

CARVALHO, Glauco Rodrigues; CARNEIRO, Alziro Vasconcelos. **Principais indicadores leite e derivados: boletim eletrônico mensal**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, v. 3, n. 19, 07 jan. 2010.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2ª edição. Campinas: Editora Unicamp, 2007. 207 p.

CHIARADIA, A. C. N; FERREIRA, P. E. **Redução do impacto ambiental causado pelo soro de queijo**. 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Belo Horizonte MG, Brasil, 1999. Disponível em: <<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/brasil20/vi-081.pdf>>. Acessado em: 19/11/2014.

CICHOWICZ, T. M. **Avaliação de um sistema de pós-tratamento composto por filtro de areia e filtro de carvão**. Universidade Comunitária da Região de Chapecó-UNOCHAPECÓ. Chapecó, Santa Catarina, 2010.

CONVERTI, A.; ZILLI, M. **A biofiltração: uma tecnologia já afirmada no tratamento de emissões gasosas**. Genova, 1999. Acessado em: 14/10/2014.

DANIEL, Devanir Donizeti. **Avaliação de processos biológicos utilizados no tratamento de efluentes de laticínios**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade de Ribeirão Preto para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental. Ribeirão Preto, 2008.

DERISIO, J.C. **Introdução ao controle de poluição ambiental**. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

FILHO, Waldemar Gastoni Venturini. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia**, volume 2. São Paulo: Blucher, 2010.

GLAZER, A.N.; NIKAIDO, H. **Microbial biotechnology: Fundamentals of applied microbiology**. New York: W. H. Freeman & Company, 1995.

GUIMARÃES, Marta Fonseca Martins. **O setor agroindustrial do leite no Brasil**: Revista Leite e Derivados, v.19, n.122, p.26-31, 2010. Disponível em: <<http://www.brqualityconsultoria.com.br/o-setor-agroindustrial-do-leite-no-brasil/>>. Acessado em: 14/10/2014.

GUIMARÃES, P. M. R. **Physiology of yeasts alcoholic fermentation processes**. Braga: Escola de Engenharia, Universidade do Minho, 2008. p.238. Tese (Doutorado).

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W.C. de; PAULA, H. de. **Proteínas do soro de leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana**, 2006. Disponível em: <<http://www.vitafor.com.br/artigos/wheyprotein.PDF>>. Acessado em: 14/10/2014.

LEINDECKER, G. C. **Separação das Proteínas do Soro de Leite in natura por Ultrafiltração**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MADARI, B. E. et al. **Carvão vegetal como condicionador do solo para arroz de terras altas (cultivar Primavera): um estudo prospectivo**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA, 2006. 6p. (Comunicado técnico, 125).

MAJOREK, K.A.; POREBSKI, P.J.; CHRUSZCZ, M.; ALMO, S.C.; MINOR, W. **Crystal structure of Bovine Serum Albumin**. Protein Data Bank (PDB), 2011.

MARTINS, S.D.; Guyomar, P.P.; RIBEIRO, E.R. & XAVIER, A.M.F. **Tratamento Anaeróbio em duas etapas do soro de queijo empregando-se duas configurações de reatores UASB**. In: Oficina e Seminário Latino-Americano de Digestão Anaeróbia, 6., Recife, 2001. Anais. Recife, Universidade Federal de Pernambuco, 2000. p.9-12.

MARTINS, T. L. T. **Soro de leite e glicerina veiculados à água para borregos**. Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG. Belo Horizonte-MG, 2013. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUOS98CFY/disserta__o_final_1.pdf?sequence=1>. Acessado em: 14/10/2014.

MATOS, A.T. **Tratamento de Resíduos Agroindustriais**. Curso sobre tratamento de resíduos agroindustriais. Universidade Federal de Viçosa, 2005. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dec/simea/apresentacoes/CursoMatosFEAM2005.pdf>>. Acessado em: 14/10/2014.

MILLER, G. Tyler. **Ciência Ambiental**. Tradução All Tasks. Revisão Técnica Welington Braz Carvalho Delitti. São Paulo: Cengage Learning, pág. 7-8, 2011.

MOURA, S. H., et al. **Roteiros de Aulas Práticas Bioquímica**. Departamento de Ciências Biológicas. Universidade de São Paulo- USP. Piracicaba- São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/luagallo/Apostila%20Pratica2012.doc>>. Acessado em: 14/10/2014.

NEVES, Henrique de Castro; STEPHANE, Rodrigo; CARVALHO, Glauco Rodrigues; <http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2013/cot_86.pdf>. Acessado em: 14/10/2014.

PELEGRINE, D. H. G.; CARRASQUEIRA, R. L. **Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas**. Braz. J. Food Technol. n.7, 2008.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO P. G. B.; FERREIRA, N. A.; MOULIN, B. S. F. **Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson**, 2013. Disponível em: http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2013/cot_86.pdf >. Acessado em: 14/10/2014.

RIBEIRO FILHO, M. R. et al. **Fracionamento e biodisponibilidade de metais em solo contaminado, incubado com materiais orgânicos e inorgânicos**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, v. 25, p. 495-507, 2001.

SANTOS, Flavia Regina dos. **Método de Lowry: Validação e Estimativa do Cálculo da Incerteza**. Dissertação de Mestrado, Universidade estadual Paulista, UNESP. Araraquara, 2012.

SANTOS, A. M.; SILVA, S. R.; CARVALHO, S.H. V.; SOLETTI, J. I. **Tratamento de efluentes lácteos através de coagulação química e sedimentação**. In: VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 2009, Uberlândia. Disponível em: <<http://www.cobeqic2009.feq.ufu.br/uploads/media/80813851.pdf>>. Acessado em: 14/10/2014.

SERPA, L.; PRIAMO, W. L.; REGINATTO, V. **Destino Ambientalmente Correto a Rejeitos de Queijaria e Análise de Viabilidade Econômica**. Universidade Federal de Santa Catarina. Departamento de Engenharia Química e de Alimentos. 2009.

SGARBIERI, V. C. **Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite**. Rev. Nutr., v.17, n.4, p. 397-409, 2004.

SILVA, A. S. **Avaliação da capacidade de remoção de saxitoxinas por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil**. 2005. 115 f. Dissertação – Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade de Brasília, Brasília, 2005.

SILVA, Danilo José Pereira. **Diagnóstico do consumo de água e da geração de efluentes em uma indústria de laticínios e desenvolvimento de um sistema multimídia de apoio**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

SILVA, F. K.; EYNG, Jonathan. **O tratamento de águas de indústria de laticínios: um estudo comparativo entre os métodos de tratamento com biofiltro e com o sistema convencional de lagoas**. Gestão Sustentável Ambiental, 2011. Disponível em: <[file:///C:/Users/User/Downloads/1082-2129-2-PB%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/1082-2129-2-PB%20(3).pdf)>. Acessado em: 14/10/2014.

SILVA, Marjorye Boldrini. **Influência do tipo de meio suporte no desempenho de biofiltros aplicados à remoção de H₂S do ar atmosférico em sistemas de esgoto sanitário**. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Tecnológico. Vitória, 2008.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 20th edition. American Public Health Association, Washington DC.

TAVARES, Gabriela Cordeiro. **Concentração de Proteínas de Soro do Leite Utilizando Gel Polimérico Termossensível Poli(N-Isopropilacrilamida)**. Dissertação de Mestrado, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, 2011.

TIMOFIECSYK, *et al.* Minimização de resíduos em indústria de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 18, p. 221-235, 2000.

VILELA, D., BRESSAN, M., CUNHA, A.S. **Cadeia de Lácteos no Brasil: Restrições ao seu Desenvolvimento**. Brasília: MCT/CNPq, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. 484 p.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. **Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes**. Química Nova, v. 21, n. 6, 1998.

ZYDNEY, A. L. **Protein separations using membrane filtration: New opportunities for whey fractionation**. Int. Dairy Journal, 8, 243 – 250, 1998.

ANEXOS

A- Materiais Suporte/Leito



Foto 1- Brita.



Foto 2- Terra Adubada.



Foto 3- Bagaço de Cana-de-Açúcar.



Foto 4- Biocarvão.



Foto 5- Areia.

B - Aparelhos utilizados para análise da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)



Foto 6- Garrafa âmbar DBO.



Foto 7- aparelho DBOTrak - HACH, produzido pela Hexis.



Foto 8- incubadora DBO.

C- Aparelhos utilizados para análise da Demanda Química de Oxigênio (DQO)



Foto 9– bloco digestor de DQO (reator para DQO)- Dry Block.

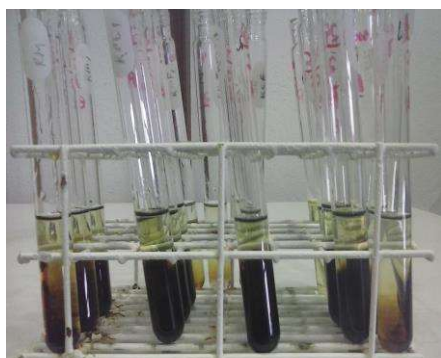


Foto 10- reação formada antes de se colocar no reator para DQO.



Foto 11- reação formada após passar pelo reator para DQO.

D- Possíveis aplicações dos produtos derivados de soro de queijo.

PRODUTO	APLICAÇÃO
Creme de soro	Manteiga de soro
Soro láctico pasteurizado	Bebidas com soro, sopa, queijos
Proteína de soro láctico	Hidrolisados proteicos, queijos, queijo processado, alimentação para animais, produtos de panificação
Soro desidratado	Sopa, queijo processado, alimentação para animais, produtos de panificação, caramelos
Soro em pó	Sobremesas congeladas, produtos de panificação
Soro em pó com teor de lactose reduzido	Queijos processados, molhos, carnes industrializadas
Soro em pó desmineralizado	Fórmulas infantis, sobremesas congeladas, produtos de confeitaria
Concentrado proteico de soro	Produtos de panificação e confeitaria, queijos, sobremesas congeladas, produtos nutricionais, produtos lácteos fermentados, bebida
Isolado proteico de soro	Produtos lácteos, produtos de panificação e confeitaria, <i>snacks</i> , salgadinhos, carnes processadas
Soro láctico condensado	Sopa, queijo processado, alimentação para animais, produtos de panificação, caramelos
Soro láctico condensado (doce)	Produtos de panificação, caramelos
Lactose	Caramelos, alimentos infantis, xarope de lactose, hidrolisada, preparados em pó para bebidas e sopas, produtos de confeitaria, sobremesas congeladas, produtos de panificação, penicilina, pastilhas
Riboflavina	Alimentação para animais, concentrados de riboflavina, acetona/álcool butílico
Álcool etílico	Vinagre
Ácido láctico	Acidulantes, resina, tratamento do couro, plásticos

E- Principais produtos de soro e suas funções.

PRODUTOS DE SORO	EXEMPLOS DE PROPRIEDADES FUNCIONAIS
Soro de leite em pó	• desenvolvimento de cor e sabor • adição de sólidos • dispersão
Concentrado proteico com 34% de proteínas	• alto valor proteico e nutricional • emulsificante • solubilidade • baixa viscosidade • desenvolvimento de cor e sabor
Concentrados proteicos com 80% proteínas ou isolados protéicos com teor de proteínas > 80%	• alto valor proteico e nutricional • emulsificante • espumante • agente ligante de gorduras • solubilidade • gelificante • agente ligante de água • retenção de umidade • agente texturizante
Lactose	• retenção de cor e sabor • dispersão • excipiente