

A UTILIZAÇÃO DO LEITELHO COMO AGENTE ESTABILIZANTE DE EMULSÕES DO TIPO ÓLEO-EM-ÁGUA: UMA PERSPECTIVA SOBRE A VALORIZAÇÃO DO PRODUTO

RAMON RAMOS DE PAULA^{1*}
LUANA CAROLINA BOSMULER ZÜGE²
AGNES DE PAULA SCHEER²

O leitelho é um dos subprodutos mais importantes da indústria de laticínios e as grandes e promissoras possibilidades de aplicação, além de sua estrutura única, tem causado um aumento da atenção sobre ele. Possui uma composição muito próxima do leite desnatado, inclusive sua matriz proteica, exceto pelo seu teor de fosfolipídeos, que é maior devido ao rompimento da membrana do glóbulo de gordura durante a produção da manteiga. O caráter anfifílico dos fosfolipídeos, juntamente com a capacidade de suas proteínas em formar filmes viscoelásticos em interfaces de óleo e água, permite a sua utilização como agente emulsificante e estabilizante de emulsões. Além disso, pode atuar como fonte de carbono e nitrogênio para microrganismos fermentadores e produtores de biossurfatantes, ou surfatantes verdes, que tem se mostrado uma ótima alternativa aos surfatantes sintéticos, dado que o substrato é de natureza biodegradável e não tóxica.

PALAVRAS-CHAVE: SURFATANTE; BIOSSURFATANTE; MANTEIGA; SUBPRODUTO; FOSFOLIPÍDEOS.

¹Doutorando, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos/UFPR

²Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos/UFPR

*E-mail para correspondência: ramonramos1988@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Já é conhecido que o leite e seus derivados possuem uma composição rica em macro e micronutrientes, que se associam e se modificam consideravelmente a depender do seu processamento ou da sua condição físico-química. A composição de aminoácidos, conformação estrutural e interações proteína-proteína, além da presença de outros componentes como a gordura, torna estes produtos de grande importância por conferir benefícios tecnológicos, dentre outros, a formação e manutenção da estabilidade de emulsões (WALSTRA; WOUTERS; GEURTS, 2006).

Neste contexto, estão alguns resíduos da indústria de laticínios, como o leitelho, que hoje é considerado um coproducto valioso por muitas indústrias, visto a sua composição química e as possibilidades de aproveitamento. Possui inúmeras possibilidades de aplicações em produtos alimentícios, dada a capacidade dos componentes, sozinhos ou combinados, interferirem no comportamento reológico e características sensoriais, permitindo a formação e a manutenção da estabilidade de emulsões. No entanto, ainda ocorre o seu descarte indevido.

Os derivados de petróleo são os principais matérias-primas da grande maioria dos surfatantes disponíveis comercialmente. No entanto, o aumento da preocupação ambiental, a criação de novas legislações de controle do meio ambiente, aliado ao fato de que a tendência é diminuir a oferta de recursos derivados de combustíveis fósseis, o interesse por tensoativos verdes utilizando substrato de natureza biodegradável e não tóxica como resíduos industriais, tem aumentado consideravelmente e possibilita prever a longo prazo, a ultrapassagem deste mercado frente ao mercado de tensoativos sintéticos (NITSCHKE; PASTORE, 2002; FARIA et al., 2021; ABBOT et al., 2022).

Diante disto, o propósito desta revisão é apresentar os avanços na reutilização do leitelho, bem como analisar seu *status* de subproduto de valor agregado, especificamente pela sua aplicação como surfatante natural e como fonte de energia na produção de biosurfatantes.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 A influência da composição do leitelho na estabilização de emulsões

A fabricação da manteiga envolve essencialmente a conversão de uma emulsão óleo-em-água (creme de leite) para uma de água-em-óleo. A agitação mecânica promove a quebra da Membrana do Glóbulo de Gordura do Leite (MGGL) e a coalescência da gordura do interior do glóbulo, formando os grãos de manteiga que aprisionam parte da água e componentes solúveis. Neste momento ocorre a separação da fase de soro do creme, chamada de leitelho (FOX; McSWEENEY, 1998).

Portanto, o leitelho é considerada a fração solúvel do leite obtida durante o processo de fabricação da manteiga e é obtido com uma composição próxima à do leite desnatado. A principal diferença está na presença de quantidades consideráveis de fosfolipídios, além de proteínas, derivadas da MGGL e, por isso, possui características específicas (GOULAS; GRANDISON, 2008; VANDERGHEM et al., 2010).

As proteínas do leitelho são compostas por caseínas e proteínas do soro, assim como no leite, as quais possuem habilidade de mudar sua conformação para criar interfaces água-óleo e óleo-água ou ar-água, justificando o seu uso como agente funcional para formação e estabilidade de espuma e emulsões. (FOX; MCSWEENEY, 1998; LAJNAF et al.; 2021).

As propriedades agregativas e a natureza das interações entre as proteínas podem ser alteradas mediante à modificação de parâmetros como a temperatura, o pH e a hidrólise enzimática. O calor desnatura parcial ou completamente a estrutura, o que pode expor frações hidrofóbicas antes escondidas e a modificação do pH influencia no grau de aglomeração das proteínas ou até mesmo provocar sua precipitação. Já a hidrólise enzimática atua na quebra e mudança estrutural das proteínas, o que também causa diferenças na forma de interação quando se compara as proteínas intactas e hidrolisadas (RYAN; O'REGAN; FITZGERALD, 2020; HINNENKAMP; ISMAIL, 2021).

Concentrados, isolados ou hidrolisados de proteínas de leite e de coprodutos associados a produção de derivados, como o soro de queijo e o leitelho, tem sido foco nas indústrias e a sua utilização como ingrediente tecnológico e funcional em vários produtos já é uma realidade (ALKAN et al., 2019; HINNENKAMP; ISMAIL, 2021; KACHRIMANIDOU, 2022; NASCIMENTO et al., 2022; VARELA et al., 2022).

Além das características proteicas, o caráter anfifílico dos fosfolipídios presentes no leitelho, confere a capacidade de adsorção das interfaces óleo-água em uma emulsão, além de estabilizar gotículas lipídicas. Em interfaces óleo-água, as caudas de ácidos graxos apolares se projetam para dentro da fase oleosa, enquanto os grupos hidrofílicos se projetam para a fase aquosa circundante. Em algumas circunstâncias, os fosfolipídios formam mono ou múltiplas camadas ao redor de gotículas de óleo, o que pode afetar a estabilidade e as propriedades das emulsões (McCLEMENTS; GUMUS, 2016).

A percepção do potencial de valor do leitelho é recente, porém, tem evoluído, permitindo o seu aproveitamento como ingrediente direto em vários produtos alimentícios, complementando formulações de alimentos e atuando como agente encapsulante e emulsificante. Pesquisas sobre o leitelho e a MGGL tem ganhado força, pois é a base para o desenvolvimento de ingredientes com presença de fosfolipídeos e glicoproteínas (FONTECHA et al., 2020; RAVINDRA et al., 2022).

2.2. O leitelho como fonte de carbono e nitrogênio para produção de biossurfatantes

Os biosurfatantes (BS) são produzidos principalmente por microrganismos que utilizam fontes de carbono (C) e nitrogênio (N) como energia. Assim como os surfatantes sintéticos e todas as moléculas tensoativas, os BS contêm uma ou várias porções hidrofóbicas e hidrofílicas (CAMPOS et al., 2013).

A sua utilização é considerada vantajosa em relação ao uso de tensoativos sintéticos por possuírem baixa toxicidade, disponibilidade de matéria-prima com baixo custo, biodegradabilidade, boa resistência a fatores extrínsecos, biocompatibilidade e digestibilidade que permitem sua aplicação como aditivos alimentares (NITSCHKE; COSTA, 2007; MARCHANT; BANAT, 2012; BHADORIYA et al., 2013).

Esses produtos, ao serem utilizados como emulsificantes no processamento de produtos alimentícios, auxiliam no controle da aglomeração de glóbulos de gordura, na estabilização de sistemas aerados e na melhoria da consistência de produtos gordurosos (KAPADIA; YAGNIK, 2013; LIRA et al., 2022).

A rota de síntese dos BS dita suas características moleculares, levando a uma ampla diversidade estrutural e consequentes propriedades funcionais. Aqueles produzidos por microrganismos se dividem em dois grupos: BS de baixo peso molecular (BPM), que incluem as classes dos lipopeptídios, fosfolipídios, glicolipídios e ácidos graxos e alto peso molecular (APM), que incluem os polissacarídeos, proteínas, lipoproteínas e lipopolissacarídeos (NGUYEN et al., 2010; BANAT et al., 2010; JAHAN et al., 2020).

Muitos estudos envolvem a utilização de produtos derivados de leite como fonte C e N para o desenvolvimento de BS e o leitelho também tem sido alvo de pesquisas neste sentido. Zouari e colaboradores (2015) testaram a utilização de leitelho, água destilada e resíduos do processamento de aves na tentativa de otimizar a produção de BS por *Bacillus subtilis* SPB1 em fermentação submersa. O melhor rendimento de produção foi de cerca de $12,61 \pm 0,7$ g/L de biosurfatante lipopeptídico bruto, três vezes mais que os valores relatados na produção de biosurfatantes por *B. subtilis* SPB1. Para isso, se utilizou uma relação leitelho/água destilada de 1,5 e 23 g/L de resíduos processamento de aves.

Ainda em 2015, Sharma e colaboradores desenvolveram um estudo com o objetivo de isolar bactérias do ácido láctico produtoras de BS de leitelho fermentado e realizar sua caracterização funcional e estrutural. O BS isolado e parcialmente purificado foi classificado como um glicolipídio e este foi capaz de reduzir a tensão superficial de 72,0 para $40,2\text{ mN m}^{-1}$. A concentração micelar crítica (CMC) de BS foi de $2,25\text{ mg ml}^{-1}$ com eficiência de emulsificação após 24 h de 64%. O BS mostrou-se estável a mudanças de pH na faixa de 4,0-12,0, sendo mais eficaz em pH 7 e não apresentou perda aparente de tensão superficial e eficiência de emulsificação após tratamento térmico a 120°C por 15 min. Além disso, os resultados demonstraram uma menor toxicidade em comparação com SDS e ramnolipídios e que também interferiu na adesão microbiana.

Santos et al. (2021) desenvolveram uma pesquisa para a produção de BS com crescimento de *Yarrowia lipolytica* em meios contendo produtos

lácteos como o leitelho, soro de queijo ou soro de ricota. Altos índices de emulsificação de óleo em água foram detectados, sendo os melhores resultados obtidos a partir do leitelho, indicando possível aplicação na indústria alimentícia.

2.3 Aplicação do leitelho como surfatante natural

A utilização de fosfolipídeos e fragmentos de MGGL provenientes do leitelho foram alvo de alguns estudos com o objetivo de utilizá-los como surfatantes naturais.

Jukkola e colaboradores (2014) consideraram a MGGL como um potencial substituto de lecitinas ao obter emulsões finas e estáveis em pH acima de 6,0, contendo uma proporção de 90% de água e 10% de óleo. Ainda foi testado a estabilidade de emulsões na presença de cálcio, o que ocasionou a coalescência, e de caseínas, o que provocou aumento da estabilidade. Considerou-se que a capacidade de ligação das proteínas ao cálcio presente na MGGL inibiu a floculação de caseína, levando a uma rede altamente interativa que impede a separação de fases e emulsões alimentares estáveis.

O efeito dos fosfolipídios lácteos na estabilidade térmica de emulsões de leite em pó reconstituído e óleo também foi avaliado. Para isso, foram utilizados um pó de resíduo de creme oriundo da produção de óleo de manteiga e um pó de leitelho doce. As amostras foram preparadas em concentrações de 0 a 6% e aquecidas por vários intervalos de tempo a 121 °C. O efeito estabilizador de ambos os produtos foi diretamente proporcional à sua concentração, sendo que a adição em 6% de ambos os produtos resultou em uma distribuição de tamanho de partícula e viscosidade semelhantes em comparação com a emulsão original antes do aquecimento. Determinou-se que a adição dos produtos enriquecidos com fosfolipídios reduziu o aumento da carga de proteína de superfície após a esterilização, causando, consequentemente, menor interação induzida pelo calor entre as proteínas lácteas (KASINOS; TRAN LE; VN DER MEEREN, 2014).

O potencial de utilização do leitelho de origem industrial também foi estudado com o intuito de estabilizar emulsões óleo-em-água e todos os resultados demonstraram que o produto é eficaz, mesmo em baixas concentrações (cerca de 1% p/p) na estabilização de emulsões feitas com óleo de soja (10% p/p), bem como após o tratamento térmico (CORREDIG; DALGLEISH, 1998; GUGGISBERG et al., 2012).

Ainda, estudos recentes envolvem a utilização de leitelho como estabilizante de leite fluido, submetidas a diferentes tratamentos como a homogeneização por alta pressão e por ultra-alta pressão, bem como agente encapsulante em emulsões secas por spray com o intuito de incorporar ingredientes funcionais, para substituir a gordura e aumentar seu valor agregado. Sabe-se que a homogeneização aumenta o número, diminui o diâmetro e aumenta a área de superfície dos glóbulos de gordura no leite, o que é otimizado pela adição de leitelho, além de possuir a capacidade de melhorar propriedades de fluidez, coesão e estabilização oxidativa, levando em consideração a combinação com outros tratamentos e a quantidade de leitelho

adicionado, visto que o excesso de fosfolipídios pode exercer um efeito contrário (GARCZEWSKA-MURZYN; KIEŁCZEWSKA; SMOCZYŃSKI, 2022; VARELA et al., 2022).

3. CONCLUSÃO

Pelo exposto nesta revisão, percebe-se que há evidências sólidas em apoio ao alto valor do leitelho e que existem inúmeras possibilidades de sua aplicação em emulsões do tipo óleo-em-água. Estudos envolvendo a modificação da estrutura de seus componentes, através da alteração de parâmetros físico-químicos, se mostraram muito importantes para otimização das condições de estabilização de emulsões.

Além disso, o leitelho se apresentou como uma ótima fonte de carbono e nitrogênio para os microrganismos produtores de biosurfatantes, que são eficazes na redução da tensão interfacial entre o óleo e a água, o que, consequentemente, aumentam a estabilidade destas emulsões.

Desta forma, a reutilização do leitelho para esses dois fins é claramente um caminho promissor para a valorização deste produto, dentre várias outras aplicações já conhecidas e podem representar uma solução para o seu descarte, infelizmente ainda visto como um efluente residual da fabricação de manteiga por muitas indústrias de laticínios.

THE USE OF BUTTERMILK AS A STABILIZING AGENT FOR OIL-IN-WATER EMULSIONS: A PERSPECTIVE ON PRODUCT VALORIZATION

ABSTRACT: Buttermilk is one of the most important by-products of the dairy industry and the great and promising possibilities for its application, as well as its unique structure, have caused increased attention to it. It has a composition very close to skimmed milk, including its protein matrix, except for its phospholipid content, which is higher due to the disruption of the fat globule membrane during butter production. The amphiphilic nature of phospholipids, together with the ability of its proteins to form viscoelastic films at oil and water interfaces, allows it to be used as an emulsifying agent and emulsion stabilizer. In addition, it can act as a source of carbon and nitrogen for fermenting microorganisms and producers of biosurfactants, or green surfactants, which have proved to be an excellent alternative to synthetic surfactants, given that the substrate is biodegradable and non-toxic.

REFERÊNCIAS

ABOOT, V.; PALIWAL, D.; SHARMA, A.; SHARMA, P. A review on the physicochemical and biological applications of biosurfactants in biotechnology and pharmaceuticals. **Heliyon**, v. 8, 2022.

- ALKAN, Z.; ERGİNKAYA, Z.; KONURAY, G.; ÜNAL TURHAN, E. Production of biosurfactant by lactic acid bacteria using whey as growth medium. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**. v. 43, p. 676-683, 2019.
- BANAT, I.M.; et al. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 87, p. 427-444, 2010.
- BHADORIYA, S.S.; MADORIYA, N.; SHUKLA, K.; PARIHAR, M.S. Biosurfactants: a new pharmaceutical additive for solubility enhancement and pharmaceutical development. **Biochemical Pharmacology**, v. 2, n. 2, 2013.
- CAMPOS, J.M., STAMFORD, T.L.M., SARUBBO, L.A., LUNA, J.M., RUFINO, R.D.; BANAT, I.M. Microbial biosurfactants as additives for food industries. **Biotechnology Progress**, v. 29, p. 1097–1108, 2013.
- CORREDIG, M.; DALGLEISH, D.G. Buttermilk Properties in Emulsions with Soybean Oil as Affected by Fat Globule Membrane-Derived Proteins. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 476-480, 1998.
- FARIAS, C.B.B.; et al. Production of green surfactants: Market prospects. **Electronic Journal of Biotechnology**. v. 51, p. 28-39, 2021.
- FONTECHA, J.; et al. Sources, Production, and Clinical Treatments of Milk Fat Globule Membrane for Infant Nutrition and Well-Being. **Nutrients**, v. 12, 2020.
- FOX, P.F; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. 1 ed. London: Blackie Academic & Professional, 1998.
- GARCZEWSKA-MURZYN, A.; KIEŁCZEWSKA, K.; SMOCZYŃSKI, M. The influence of buttermilk powder on the stability of emulsion and colloidal phases of homogenized milk. **European Food Research and Technology**, 2022.
- GOULAS, A.; GRANDISON, A.S. Applications of Membrane Separation. In: BRITZ, T.J.; ROBINSON, R.K. (eds.) **Advanced dairy science and technology**. 1 ed. Blackwell Publishing, 2008.
- GUGGISBERG, D.; CHOLLET, M.; SCHREIER, K.; PORTMANN, R.; EGGER, L. Effects of heat treatment of cream on the physical-chemical properties of model oil-in-buttermilk emulsions. **International Dairy Journal**, v. 26, p. 88-93, 2012.
- HINNENKAMP, C.; ISMAIL, B.P. Enhancing emulsion stability: the synergistic effect of combining procream and partially hydrolyzed whey protein. **International Dairy Journal**, 119, 2021.
- JAHAN, R.; BODRATTI, A.M.; TSIANOU, M.; ALEXANDRIDIS, P. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants:

physicochemical properties and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**. v. 275, 2020.

JUKKOLA, A.; et al. Food emulsifiers based on milk fat globule membranes and their interactions with calcium and casein phosphoproteins. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 30-37, 2019.

KACHRIMANIDOU, V.; et al. Cheese whey utilization for biosurfactant production: evaluation of bioprocessing strategies using novel *Lactobacillus* strains. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2022.

KAPADIA S.G.; YAGNIK B. N. Current trend and potential for microbial biosurfactants. **Asian J. Exp. Biol. Sci**, v. 4, n.1, 2013.

KASINOS, M.; TRAN LE, T.; VAN DER MEEREN, P. Improved heat stability of recombined evaporated milk emulsions upon addition of phospholipid enriched dairy by-products. **Food Hydrocolloids**, v. 34, p. 112-118, 2014.

LAJNAF, R.; GHARSALLAH, H.; ATTIA, H.; AYADI, M.A. comparative study on antioxidant, antimicrobial, emulsifying and physico-chemical properties of purified bovine and camel β -casein, **LWT- Food Sci. Technol.**, v. 140, 2021.

LIRA, I.R.A.S; et al. Microbial Biosurfactant: Production, Characterization and Application as a Food Emulsions. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, 2022.

MARCHANT, R.; BANAT, I.M. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? **Biotechnology letters**, v. 34, p.1597–1605, 2012.

McCLEMENTS, D.J.; GUMUS, E.R. Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 234, p. 3-26, 2016.

NASCIMENTO, M.F.; BARREIROS, R.; OLIVEIRA, A.N.; FERREIRA, F.C.; FARIA, N.T. *Moesziomyces* spp. cultivation using cheese whey: new yeast extract-free media, β -galactosidase biosynthesis and mannosylerythritol lipids production. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2022.

NGUYEN, T.T.L.; EDELEN, A.; NEIGHBORS, B.; SABATINI, D.A. Biocompatible lecithin-based microemulsions with rhamnolipid and sophorolipid biosurfactants: formulation and potential applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, n. 2, p. 498-504, 2010.

NITSCHKE, M.; COSTA, S.G.V.A.O. Biosurfactants in food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 18, n. 5, p. 252-259, 2007.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G.M. Biosurfactantes: Propriedades e Aplicações. **Química Nova**. v. 25, n. 5, 2002.

RAVINDRA, M.R.; SHARMA, KRISHNEGOWDA, R.; SANGMA, A. Valorization of By-Products of Milk Fat Processing. In: HUSSAIN, C.M; KADEPPAGARI,

R.K. (eds.). **Biotechnology for Zero Waste**: Emerging Waste Management Techniques. WILEY-VCH, 2022.

RYAN, G.; O'REGAN, J.; FITZGERALD, R.J. Emulsification properties of bovine milk protein isolate and associated enzymatic hydrolysates. **International Dairy Journal**, v. 110, 2020.

SANTOS, F.F.; et al. Butter whey and corn steep liquor as sole raw materials to obtain a bioemulsifier from *Yarrowia lipolytica* for food oil-in-water emulsions. **Ciência Rural**, v. 51, n. 4, 2021.

SHARMA, D.; SAHARAN, B.S.; CHAUHAN, N.; PROCHA, S.; LAL, S. Isolation and functional characterization of novel biosurfactant produced by *Enterococcus faecium*. **Springer Plus**, v. 4, 2015.

VANDERGHEM, C.; et al. Milk fat globule membrane and buttermilks: from composition to valorization. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.** v. 14, n. 3, p. 485-500, 2010.

VARELA, C.; AGHABABEI, F.; CANO-SARABIA, M.; TURITICH, L.; TRUJILLO, A.J.; FERRAGUT, V. Characterization and oxidation stability of spray-dried emulsions with omega-3 oil and buttermilk processed by ultra-high-pressure homogenization (UHPH). **LWT – Food Science and Technology**, v. 162, 2022.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Food Science and Technology**. 2 ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006.

ZOUARI, R.; ELLOUZE-CHAABOUNI, S.; GHRIBI, D. Use of butter milk and poultry-transforming wastes for enhanced production of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant in submerged fermentation. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 4, n. 5, p. 462, 2015.