



ELABORAÇÃO DE MEIO DE CULTURA A BASE DE SORO DE QUEIJO PARA A CONTAGEM DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES

**Clara G. PONTES¹; Ana Cristina F.M. SILVA²; Taciano B. FERNANDES³; Luis Paulo D.
SALGADO⁴; Jéssika MICHELLI⁵; Fernanda C.P. ROSA⁶**

RESUMO

O soro é o principal resíduo da fabricação do queijo e a sua eliminação inadequada pode ocasionar grande impacto ambiental. Foram elaborados três meios de culturas com soro de queijo e comparados entre si e com um meio de cultura comercial (VRB). Não foi possível fazer comparação estatística entre esses meios. Porém, nos meios onde havia indicativo de mudança de cor foi possível identificar crescimento de colônias, mas sem a possibilidade de contagem pela falta de agente precipitante.

INTRODUÇÃO

Soro é o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína (BRASIL, 2005). Esse subproduto retém cerca de 55% dos nutrientes do leite, sendo considerado relevante, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional (LEITE et al., 2012).

Em média, para fabricação de um quilo de queijo são necessários dez litros de leite, com recuperação de nove litros de soro (BARBOSA et al., 2010).

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: clagpontos@gmail.com

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: ana.ferreira@ifsuldeminas.edu.br;

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: taciano.fernandes@ifsuldeminas.edu.br;

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: 1510@ifs.ifsuldeminas.edu.br

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: jessika.michelli@yahoo.com.br

⁶ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: fernanda.pinheiro@ifsuldeminas.edu.br

O mais importante dos subprodutos provenientes da produção de queijos é o soro, o qual corresponde a 75% a 85% do volume de leite. Sendo assim é composto por 94% de água, 0,8% de proteína, 4,8% de lactose, 0,2% de matéria gordurosas e 0,5% de cinzas e vitaminas, componentes estes semelhantes aos presentes no leite. No entanto, esta composição pode variar, uma vez que a mesma depende do tipo de leite bem como dos processamentos utilizados na fabricação do queijo (VILANI, 2001).

Com o aumento da produção de queijo, ao longo dos anos e um controle mais rigoroso da disposição dos efluentes, a produção do soro é, atualmente, um dos problemas mais críticos para a indústria de laticínios (BALDASSO, 2008).

No Brasil, o soro de queijo é utilizado principalmente na fabricação de ricota e bebida láctea, enquanto que os produtos derivados do soro desidratado têm sido utilizados em diversos alimentos como sorvetes, iogurtes, carnes processadas, embutidos, massas para tortas, pães e bolos, doces em barras, balas, bombons, achocolatados, bebidas para esportistas e suplementos nutricionais (USDEC, 2000).

A utilização de proteínas de soro como ingredientes em alimentos funcionais lácteos e não lácteos está aumentando progressivamente conforme tem aumentado a capacidade tecnológica da indústria para produzir concentrados de proteínas de soro, isolados de proteínas ou, mais recentemente, frações enriquecidas em proteínas de soro individuais (RICHARDS, 2002).

As aplicações do soro são inúmeras, englobando as indústrias de lácteos, carnes, aromatizantes, panificação, chocolate, aperitivos e bebidas, entre outras (ANDRADE; MARTINS, 2002).

Por esse motivo, há uma preocupação recorrente em gerar aplicabilidade ao soro de queijo em novos alimentos, visto que, no território brasileiro, cerca de 50% do soro não é aproveitado, gerando desperdícios nutricional e financeiro. Gerando, também, impactos ambientais relevantes ao ser descartado na natureza, por ser um resíduo com alto teor orgânico (MAGALHÃES et al., 2011).

A fim de oferecer alternativas para evitar esse tipo de poluição, novas tecnologias e produtos vêm sendo desenvolvidos como opções para a utilização do resíduo de soro. Como, por exemplo, no desenvolvimento de produtos para microbiologia.

Poucos são os trabalhos que avaliaram a microbiota do soro. Quanto à qualidade microbiológica, o soro pode ser um produto de curta vida útil devido ao

elevado valor nutritivo, às condições de umidade e ao pH, que são favoráveis ao crescimento microbiano. Alguns trabalhos demonstraram que é preocupante a contaminação por coliformes (CHIAPPINI et al., 1995). Desta forma podemos considerar pertinente seu uso na elaboração de meios de cultura para quantificação/enumeração de microrganismos do grupo coliformes.

Os coliformes se diferenciam em dois grupos, totais e termotolerantes. Os totais são usados para avaliar as condições higiênicas, podendo ser ou não de origem entérica. Os termotolerantes são utilizados para determinar as condições higiênico-sanitárias (SIQUEIRA, 1995).

Os coliformes estão presentes no meio ambiente podendo contaminar alimentos em qualquer etapa de produção ou mesmo após o produto acabado, dependendo, evidentemente, dos cuidados higiênicos e higiênico-sanitários durante o processo de fabricação.

As técnicas mais utilizadas para a detecção de bactérias do grupo coliformes são: plaqueamento em profundidade e a Técnica dos Tubos Múltiplos. Onde utilizam-se o Ágar Vermelho Violeta Bile 2% (VRB) para plaqueamento de coliformes totais e termotolerantes com sua posterior confirmação através da inoculação em Caldo Verde Brilhante e Caldo EC, respectivamente. Desta maneira, este trabalho tem como alvo de estudo o aproveitamento do soro de queijo para o desenvolvimento de meios de cultura sólidos compostos por soro, ágar e indicativos de mudanças de cores.

MATERIAL E MÉTODOS

O soro de queijo foi obtido no laticínio da Fazenda-Escola do IFSULDEMINAS – Câmpus Inconfidentes e mantido em recipientes esterilizados, sob-refrigeração (4 - 10°C) até o momento de preparo dos meios de cultivo.

A elaboração dos meios experimentais foi baseada na metodologia testada por Costa et al. (2012) e executado no Laboratório de Microbiologia do IFSULDEMINAS – Câmpus Inconfidentes. As seguintes etapas foram realizadas: 2 litros de soro de leite foi deixado em repouso por 12 horas sob-refrigeração. O precipitado obtido (40% do soro total) teve o pH ajustado para 4,5 com HCl 1 M, obtendo-se um meio mais límpido. Em seguida, o precipitado foi submetido a fervura por 30 minutos e o concentrado obtido (20% de redução) foi filtrado em papel-filtro e

neutralizado até pH 7,0 com NaCl 1 M. Os meios receberam as seguintes denominações: Soro Ágar Púrpura de Bromocresol (SAPB), Soro Ágar Peptona (SAP) e Soro Ágar Peptona Púrpura de Bromocresol (SAPPB), de acordo com a formulação estabelecida para cada meio. O meio SAPB consistiu da adição de 15 g de ágar, 28 g de indicador de viragem de cor (púrpura de Bromocresol) e 5 g de NaCl. Já o meio SAP recebeu 15 g de ágar, 10 g de peptona e 5 g de NaCl. E o meio SAPPB foi acrescido de 15 g de ágar, 10 g de peptona, 28 g de indicador de viragem de cor púrpura de Bromocresol e 5 g de NaCl. Os meios foram esterilizados a 121 °C por 15 minutos. O preparo do VRB foi baseado na Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003) onde foi utilizado 41,53 g de VRB em 1 litro de água destilada previamente fervida para dissolver o meio completamente. O meio foi esfriado a 45°C.

Para avaliar o crescimento bacteriano, as análises foram feitas em triplicata (plaqueamento). Inoculou-se 2 mL de resíduo líquido de água de lavagem de suinocultura em 100 mL de Caldo Lactose recuperando as bactérias do grupo coliformes. Para obter-se o inóculo foi diluída em solução peptonada até o padrão de turbidez de 0,5 da escala de McFarland. Os meios de cultura foram incubados em estufa a 44,5°C por 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi possível a comparação dos meios propostos com o meio principal, VRB, pois os meios desenvolvidos não possibilitaram o crescimento de colônias devido à falta de agentes precipitantes, portanto, não houve comparação estatística entre os meios desenvolvidos e o VRB. No meio Soro Agar Peptona não foi possível a identificação do crescimento de colônias e nem a alteração do meio, esse resultado deve-se, à ausência do indicativo de mudança de cor. Já nos meios Soro Agar Púrpura de Bromocresol e Soro Agar Peptona Púrpura de Bromocresol houve o crescimento de colônias, porém não houve a formação de um precipitado que possibilitasse a identificação das colônias, o crescimento das colônias só foi possível devido à identificação da alteração da cor dos meios devido à presença da Púrpura de Bromocresol, indicativo de mudança de cor.

CONCLUSÕES

A utilização de soro de queijo, produto rico em nutrientes, para desenvolver produtos para microbiologia é uma alternativa para diminuir a poluição causada pelos resíduos das indústrias de laticínios. Como a metodologia empregada no experimento não previa o uso de agentes precipitantes, não foi possível fazer comparação estatística entre os meios desenvolvidos e o VRB. Porém, nos meios onde se utilizou Púrpura de Bromocresol houve alteração na coloração do meio, indicando crescimento de colônias, mas sem a possibilidade de identificação pela falta de agente precipitante.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. L. P.; MARTINS, J. F. P. 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.

BALDASSO, C. **Concentração, purificação e fracionamento das proteínas do soro lácteo através da tecnologia de separação por membranas**. 2008. 179 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BARBOSA, A. S. et al. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde**, v.5, n.1, p.7-25, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de agosto de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (Dispoa). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, que aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de

produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set. 2003.

CHIAPPINI, C. C. J. ; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação do soro de queijo quanto aos coliformes totais e coliformes fecais. **Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes**, v. 50, p.253-257, 1995.

COSTA, R. A. et al. Uso de soro de leite bovino para elaboração de meios de cultura para *Staphylococcus aureus*. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012, 71(1): 198-201.

LEITE, M. T. et al. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v.2012, ID 303874, 9p, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijce/2012/303874/>>. Acesso em: 13 ago. 2015. doi:10.1155/2012/303874.

MAGALHÃES, K. T. et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, v.126, p.249-253, 2011.

RICHARDS, N. Soro lácteo: perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. **Food Ingredients**, São Paulo, v. 3, n. 17, p.20-27, abr. 2002.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA. 1995, 159 p.

USDEC. Ingredientes lácteos para uma alimentação saudável. **The United States Dairy Export Concil**. V.2, n.4, p. 1-3, 2000.

VILANI, C. **Tratamento Sequencial do Soro de Queijo desnatado empregando a Ultrafiltração acoplada ao tratamento Anaeróbio do Permeado**. Uberlândia. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal de Uberlândia, 2001.p.145.